

**Univerzita Hradec Králové**  
**Přírodovědecká fakulta**  
**Katedra biologie**

**Vliv vodního deficitu na  
metabolismus rostlin**

Bakalářská práce

Autor: Jaromír Janoušek

Studijní program: B1501

Studijní obor: Systematická biologie a ekologie

Vedoucí práce: doc. Ing. Jiří Tůma, CSc.

Katedra biologie

Hradec Králové

květen 2020



## Zadání bakalářské práce

**Autor:** Jaromír Janoušek  
**Studium:** S17BI006BP  
**Studijní program:** B1501 Biologie  
**Studijní obor:** Systematická biologie a ekologie  
**Název bakalářské práce:** **Vliv vodního deficitu na metabolismus rostlin**  
**Název bakalářské práce AJ:** Influence of water deficit on plant metabolism

### Cíl, metody, literatura, předpoklady:

Ze všech abiotických faktorů, které omezují růst a produktivitu rostlin na kontinentech naší planety, stojí na prvním místě nedostatek vody. Vodní deficit v rostlin významně ovlivňuje důležité fyziologické a biochemické procesy. Rostliny vyvíjejí různé obranné strategie, počínaje modifikacemi v genové expresi a následně v buněčném metabolismu. Dochází ke změnám koncentrace rostlinných hormonů např. ABA, zvyšuje se obsah osmolytů např. sacharidů, prolinu a glycinu-betainu, polyaminů a dalších látek. Cílem této rešeršní práce je s využitím dostupných zdrojů, především databází (WOS, Scopus, Ebsco - Environment complete) zpracovat přehled změnách v metabolismu rostlin v důsledku vodního deficitu. Uvést příklady řešené problematiky v posledním období.

Brestič, M.- Olšovská, K. (2001): Vodný stres rostlín. Příčiny, důsledky, perspektívy. SPU Nitra, 149 s. ISBN 80-7137-902-6

Cvikrova, M. et al. (2013): Effect of drought and combined drought and heat stress on polyamine metabolism in proline-over-producing tobacco plants. *Plant Physiology and Biochemistry* 73: 7-15. DOI: 10.1016/j.plaphy.2013.08.005

Montesinos-Pereira, D. et al. (2014): Genotype differences in the metabolism of proline and polyamines under moderate drought in tomato plants. *Plant biology* 16 (6): 1050-1057. DOI: 10.1111/plb.12178

Reddy, A.R. et al. (2004): Drought-induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. *Journal of plant physiology* 161 (11): 1189-1202. DOI: 10.1016/j.jplph.2004.01.013

**Garantující pracoviště:** Katedra biologie,  
Přírodovědecká fakulta

**Vedoucí práce:** doc. Ing. Jiří Tůma, CSc.

**Datum zadání závěrečné práce:** 6.1.2018

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci zpracoval samostatně, a že jsem v seznamu použité literatury uvedl všechny prameny, ze kterých jsem čerpal

V Hradci Králové dne 10. 05. 2020

Jaromír Janoušek

**Poděkování:**

Na tomto místě bych rád poděkoval svému školiteli panu doc. Ing. Jiřímu Tůmovi, CSc. za spoustu cenných rad a trpělivé vedení mé bakalářské práce. Poděkování patří i mé rodině za jejich podporu a pomoc v průběhu studia.

## **Anotace**

JANOUSEK, J. Vliv vodního deficitu na metabolismus rostlin. Hradec Králové 2020. Bakalářská práce na Přírodovědecké fakultě Univerzity Hradec Králové. Vedoucí bakalářské práce doc. Ing. Tůma Jiří CSc. 51 s.

Tato bakalářská práce rešeršního charakteru popisuje vliv vodního deficitu na metabolismus rostlin. Nedostatek vody značně omezuje růst a produktivitu rostlin na naší planetě. Sucho nebo jeho kombinace s jinými abiotickými faktory vyvolává u rostlin vodní stres, před kterým se brání různými mechanismy. Dochází ke změnám produkce fytohormonů např. kyseliny abscisové (ABA), zvyšuje se obsah osmolytů např. prolinu a glycinu-betainu, polyaminů a dalších látek. Prvním z obranných mechanismů je uzavření průduchů, čímž rostlina zamezí dalším ztrátám vody. Uzavření průduchů spouští změny v metabolismu rostlin, které mnohdy vedou k hromadění reaktivních forem kyslíku (ROS), způsobující poškození rostlinných buněk, které mohou rostliny kompenzovat zvýšenou aktivitou antioxidačních systémů. Cílem této práce je s využitím dostupných zahraničních zdrojů zpracovat přehled změn odehrávajících se v metabolismu rostlin v důsledku vodního deficitu.

### **Klíčová slova**

voda, vodní stres, vodní deficit, metabolismus, ROS, prolin

## **Annotation**

JANOŮŠEK J. Influence of water deficit on plant metabolism. Hradec Králové, 2020. Bachelor thesis at Faculty of Science University of Hradec Králové. Thesis Supervisor doc. Ing. Tůma Jiří CSc. 51 p.

This bachelor recherche thesis describes water deficit influence on plant metabolism. The shortage of water significantly limits the growth and plant productivity on our earth. The drought and its combination with other abiotic factors leads to plant's water stress. The plants fight the water shortage stress with several mechanism. There is phytohormonal production change for example like abscisic acid /ABA/ change. There are increases in osmolyte concentrations like prolin and glycin-betain, increases in polyamins and other substances. The first one of many protective mechanims is closing pores, which helps plants to lack more water. The pores closing triggers metabolic changes, which generally leads to accumulations of reactive oxygen substances /ROS/ causing molecular damage later compensated by increased activity of antioxidative systems. The aim of this recherche thesis is to analyse the summery of undergoing plant metabolic changes in consequence of water shortage. Available international scientific sources should be used for that purpose.

### **Keywords**

water, water stress, water deficit, metabolism, ROS, proline

# Obsah

1. Úvod.....	9
2. Literární přehled .....	10
2.1. Voda, koloběh vody a její význam pro rostliny .....	10
2.1.1. Zvyšování sucha globálním oteplováním.....	11
2.1.2. Interakce rostlin a prostředí .....	12
2.1.3. Vodní bilance rostlin .....	13
2.1.4. Transport vody v rostlinách.....	14
Difuze .....	14
Osmóza .....	14
Transpirace.....	15
2.2. Stres u rostlin.....	16
2.2.1. Stresová reakce.....	16
2.2.2. Oxidační stres.....	17
2.2.3. Role škrobu při reakci rostlin na stres.....	18
2.3. Vodní deficit .....	18
2.3.1. Vodní stres rostlin .....	19
Fyziologické a anatomické procesy za sucha .....	20
Vliv nedostatku vody na asimilaci CO <sub>2</sub> .....	20
Fotosyntéza C <sub>4</sub> rostlin a vodní stres.....	21
Vliv kyseliny salicylové na rostliny za účinku vodního stresu .....	21
Vliv kyseliny jasmonové na poškození membrány a akumulaci ABA při nedostatku vody.....	22
Kombinace k. abscisové a brassinolidu ve vodním stresu .....	23
2.3.2 Role Genů a transkripčních faktorů na toleranci vůči stresu .....	23
Role genové exprese na kyselinu abscisovou .....	23
RING finger 1 protein negativně ovlivňuje expresi genů .....	24
Role GmNAC8 při toleranci rostlin vůči suchu .....	25
2.3.3. Aktivita antioxidantních systémů.....	25
Vliv vodního deficitu na změny aktivity glutathion reduktázy.....	25
Vliv sucha na aktivitu enzymů zachycujících peroxid vodíku v chloroplastech .....	26
Vliv brassinolidů na aktivitu antioxidantních enzymů .....	27
Hromadění osmotických látek a zvýšení antioxidantní aktivity enzymů .....	28
2.3.4. Osmotické přizpůsobení rostlin.....	28

Role glycinu betainu a prolinu na osmo-toleranci rostlin .....	28
Prolin jako klíč k toleranci rostlinného stresu .....	29
Polyaminy a jejich funkce při stresu rostlin .....	30
Vliv kumulace prolinu a polyaminů na toleranci mírného vodního stresu .....	30
Role polyaminu a prolinu během vodního stresu .....	30
Vztah osmotických regulátorů k odolnosti vůči suchu .....	31
Role kyseliny salicylové a glycin betainu na toleranci vůči suchu .....	32
Akumulace osmolytů v kukuřici za podmínek vodního stresu .....	32
2.4. Kombinace vodního stresu a dalších abiotických faktorů.....	33
2.4.1 Kombinace sucha a tepelného stresu.....	33
Vliv kombinace sucha a teplotního stresu na strukturu chloroplastů a mitochondrií .....	34
Kombinované účinky sucha a tepelného stresu na fyziologické pochody .....	35
Vliv kombinace sucha a tepelného stresu na antioxidantní enzymy a jim příbuzné proteiny .....	36
2.4.2. Zasolení a vodní stres .....	37
Produkce ROS během stresu ze sucha a zasolení v chloroplastech, peroxizómech a mitochondriích .....	37
Chloroplasty.....	37
Peroxisomy.....	38
Mitochondrie .....	39
Difúzní omezení fotosyntézy rostlin C3 vlivem sucha a zasolení.....	39
Účinky zavlažování slanou vodou a s omezeným množstvím vody.....	40
Růst triticum aestivum v závislosti na zasolení NaCl a suchu.....	40
2.4.3. Vliv kombinace zvýšené hladiny ozónu a nedostatku vody .....	41
2.5. Vliv minerálních prvků na zmírnění vodního stresu.....	41
Vliv křemíku na zmírnění stresu vyvolaným nedostatkem vody .....	41
Úloha draslíku při vodním deficitu .....	42
Zmírnění vodního stresu aplikací draselných hnojiv .....	43
3. Závěr.....	44
Přehled literatury: .....	46



# 1. Úvod

Žijeme v době, kdy se ve vědě zkracuje vzdálenost mezi fantazií a skutečností, mezi vědeckým poznáním a praktickou aplikací. Pokud chceme komunikovat s přírodou musíme jí porozumět. Člověk by se měl stát ochráncem Země a ne jejím vykořisťovatelem. Pokud by tomu tak bylo, nebyly by problémy související s globálními změnami klimatu a stresy způsobenými nepříznivými podmínkami prostředí.

Stresové podmínky životního prostředí spouštějí širokou škálu rostlinných reakcí, od pozměnění genové exprese a buněčného metabolismu až po změny v rychlosti růstu a výnosech plodin. Existuje celá řada reakcí rostlin k obcházení potenciálně škodlivých účinků způsobených širokým rozsahem abiotických i biotických stresů, včetně poškození světlem, suchem, zasolením, vysokými teplotami a patogenními infekcemi (Reddy et al., 2004). Ze všech abiotických faktorů, které omezují růst a produktivitu rostlinstva na naší planetě, stojí na prvním místě nedostatek vody. Voda, na rozdíl od minerálních živin, má velmi rychlý koloběh v ekosystémech a její zásoba v rostlinách i v půdě stačí jen na poměrně krátkou dobu (Gloser, 1998).

Stres ze sucha ovlivňuje morfologické a anatomické znaky rostlinných orgánů. Dále narušuje vodní vztahy rostlin a snižuje účinnost využití vody. Stres zahrnuje celou řadu fyziologických a biochemických reakcí na buněčné úrovni, ale i na úrovni celého organismu. Rostliny se brání uzavřením průduchů, což se negativně projeví na poškození membrány a aktivitě enzymů asimilujících CO<sub>2</sub>. Proto rostliny vytváří řady mechanismů, kterými se brání stresu vyvolaným suchem. Hlavním mechanismem je zabránění ztrátám vody, čehož lze dosáhnout akumulací rostlinných fytohormonů, osmoticky aktivních látek a dostatečným zásobením některých důležitých minerálních látek, jako je například Draslík.

Cílem této rešeršní práce je s využitím dostupných zdrojů a především databází (WOS, Scopus, Ebsco-Environmentcomplete) zpracovat přehled o změnách v metabolismu rostlin v důsledku vodního deficitu a uvést příklady řešené problematiky v posledním období.

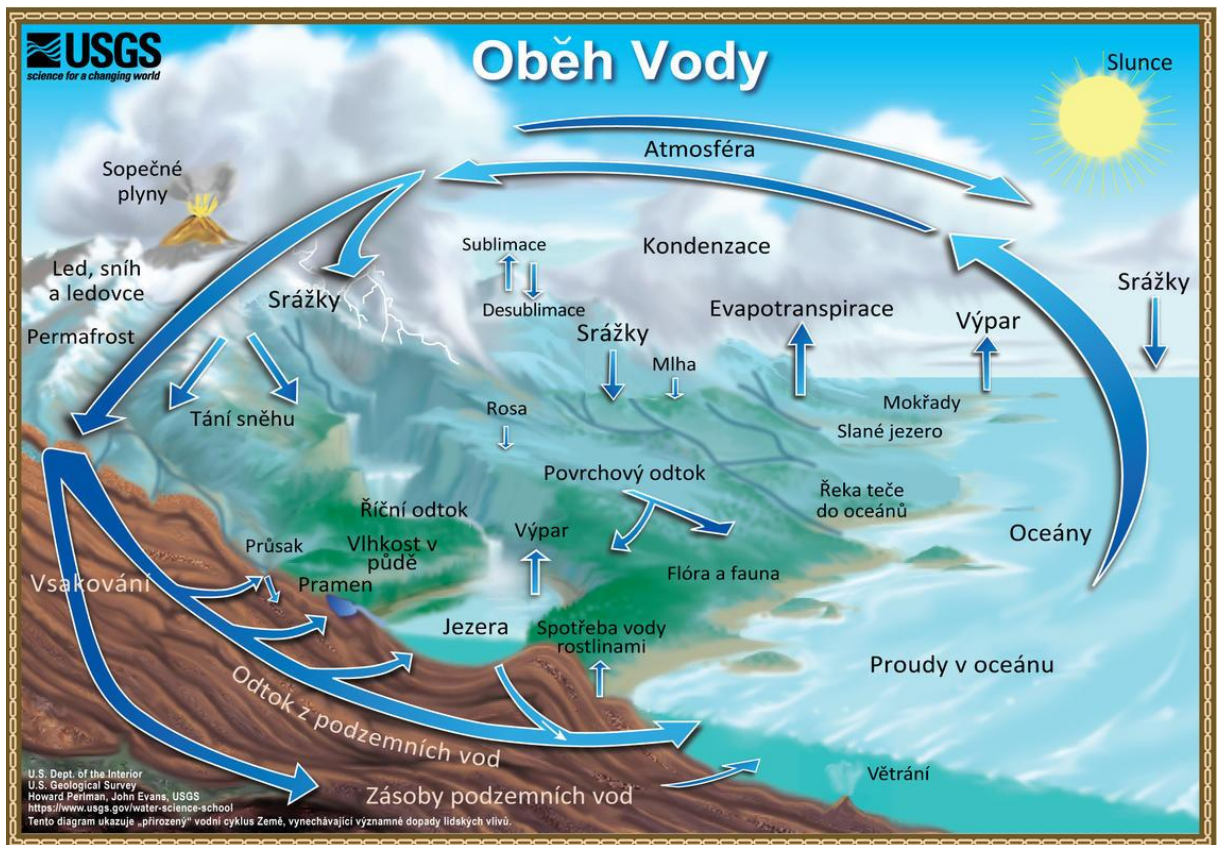
## 2. Literární přehled

### 2.1. Voda, koloběh vody a její význam pro rostliny

První živé organismy s největší pravděpodobností vznikly v moři a evoluce musela využít vlastností prostředí, ve kterém probíhala. Právě proto jsou všechny buněčné funkce a struktury přizpůsobeny fyzikálním a chemickým vlastnostem vody (Šantrůček, 1998).

Voda je chemická sloučenina tvořena dvěma atomy vodíku a jedním atomem kyslíku. Jedná se o čirou, bezbarvou a nezapáchající kapalinu. Spolu se vzduchem tvoří základní podmínky pro existenci života na Zemi. Každá živá buňka je až z 80% tvořená vodou. Voda se v přírodě vyskytuje ve třech skupenstvích, ale ze všech třech je nejdůležitější právě kapalné.

Koloběh vody začíná dopadem srážek na povrch kontinentů. Srážky vznikají fyzikálním procesem evapotranspirace, při kterém se voda přeměňuje na vodní páru. Tato vodní pára je získána pomocí evaporace, což je výpar z půdního povrchu a vodních ploch, které dodávají téměř 90% vzdušné vlhkosti do atmosféry. Druhým mechanismem je transpirace, při kterém se voda odpařuje z vegetace. Tímto způsobem se zhruba odpaří přes 50% srážek, dalších 30% srážek steče do potoků, řek a moří a zbývajících cca 10% se vsákne do země. Celý cyklus se neustále opakuje, ačkoliv v posledních letech dochází v naší zemi k úbytku dopadajících srážek. Z biologického hlediska má tedy význam volně přístupná voda podzemní a kapilární. Průměrný obsah vody v rostlině tvoří 70-80% její hmotnosti těla. Obsah vody přitom představuje značně proměnlivou veličinu, přičemž je ovlivňován zejména vnějším prostředím, stářím rostliny a vegetačním obdobím. Nenahraditelná úloha vody v životě rostlin se projevuje v řadě funkcí. Zejména v transportu, udržení vnitřního prostředí, účasti na metabolických, termoregulačních dalších procesech (Schneider et al., 2011).



Obr. 1 Oběh vody na Zemi (dostupný z [www: < https://www.usgs.gov/special-topic/water-science-school/science/oob-h-vody-water-cycle-czech?qt-science\\_center\\_objects=0#qt-science\\_center\\_objects >](https://www.usgs.gov/special-topic/water-science-school/science/oob-h-vody-water-cycle-czech?qt-science_center_objects=0#qt-science_center_objects))

### 2.1.1. Zvyšování sucha globálním oteplováním

Záznamy o srážkách, proudech a indexech sucha vykazují globální změny zvýšením aridních podmínek od roku 1950. Provedené analýzy simulací vlhkosti půdy, indexů sucha a úbytku srážek poukazují na zvýšené riziko sucha v 21. století. Studie ukazují, že změny povrchových teplot moří mají velký vliv na atmosférické srážky. Spojené modely nejsou schopné reprodukovat mnoho pozorovaných regionálních změn v dopadajících srážkách na zemský povrch, což je spojeno s nedostatkem pozorovaných a do značné míry přirozených změn teplot mořských povrchů (Dai, 2013).

Předvídaná budoucí aridita je prezentována na základě posledních studií a analýzy simulace modelů. Suchá období trvající v rozmezí tří let až několik desítek let se

mnohokrát vyskytly v Severní Americe, západní Africe a východní Asii. Sucho bylo pravděpodobně způsobeno neobvyklými teplotami povrchu tropického moře. Změny teplot tropických moří způsobovaly podobně La Nino Severní Americe a El Nino ve východní Číně. V Africe je za sucho v oblasti Sahelu zodpovědný přesun teplejších povrchových vod moří do jižního Atlantiku a oteplování v Indickém oceánu. Od 70. let 20. století se globální sucho zvýšilo nad Afrikou, jižní Evropou, východní a jižní Asii a východní Austrálii. Toto vysoušení zmíněných kontinentů doprovázela oscilace ENSO, změny teplot tropických oceánů a asijské monzuny. Poté náhlé oteplování zvýšilo vzdušnou vlhkost, a tak nejspíše změnilo cirkulace proudů v atmosféře, což vede ke stále zvyšujícímu se suchu. Zvýšené sucho se projevilo v 21. století na většině kontinentů Afriky, jižní Evropy a Středního východu, většině Ameriky, Austrálie a jihovýchodní Asie. Některé regiony, jako Spojené státy se během posledních 50 let vyhnuly dlouhodobému suchu, právě díky přirozeným klimatickým změnám. V budoucích 20 - 50 letech se, ale přetrvávajícím suchům zřejmě nevyhnou. Budoucnost v předpovědi sucha, tak nejspíše bude založena na schopnosti modelů předpovídat změny teplot tropických moří (Dai, 2011).

### **2.1.2. Interakce rostlin a prostředí**

Na zemi známe několik oblastí tzv. biomy, ty jsou charakterizovány výraznou vegetací, která je závislá na místním klimatu a dostupnosti vody. Evoluční procesy vytvořily rostliny se souhrnnými morfologickými, anatomickými a fyziologickými vlastnostmi, které úspěšně udržují populace rostlin v různých podmínkách životního prostředí. Navzdory tomu určité biofyzikální a biochemické limitace struktur a funkcí omezují jejich výkonnost. Vynucují si změnu mnohých vlastností, které v dané lokalitě mohou vlastnit. Dlouhodobé procesy v evolučním měřítku představují kompromisy mezi specifickými adaptačními syndromy, rychlostí růstu a nebo reprodukčními potenciály. Přinášejí společně zvláště příznivé kombinace vlastností, jenž jsou přiměřené selekčnímu tlaku podmínek prostředí, biotických a abiotických faktorů. Počet a povaha kombinací těchto vlastností jsou tedy kompromisem mezi adaptacemi na klima a vzájemným působením biotických adaptací (Brestič et Olšovská, 2001).

### **2.1.3. Vodní bilance rostlin**

Vodní režim rostlin zahrnuje procesy příjmu, vedení a výdeje vody. Optimální vodní bilance nastává tehdy, kdy je rostlina dostatečně nasycená vodou. Po vyčerpání dostupné vody v půdě dochází k dočasnému či trvalému poklesu nasycení rostliny vodou, což se projeví negativními účinky na rostliny. Vodní bilanci lze tak rozdělit na aktivní, při které dochází k dosycení rostliny vodou a negativní, jenž má za následek vodní deficit v rostlině (Brestič et Olšovská, 2001). Nižší rostliny a vyšší vodní rostliny přijímají vodu celým povrchem těla. Příjem vody u vyšších rostlin probíhá hlavně pomocí kořenového systému, nejvíce kořenovými vlásky.

Příjem vody rostlinou je zejména ovlivňován teplotou půdy a obsahem kyslíku. Voda je v rostlině v neustálém pohybu, který se děje na základě spádu vodního potenciálu v systému půda – rostlina – atmosféra. Pro obsah vody v půdě jsou důležité fyzikální a chemické vlastnosti půdy a složení minerálního a organického podílu půdy (Kořenková, 2011).

Základem efektivního příjmu vody kořenem je úzký kontakt mezi povrchem kořenu a půdou. Plocha kontaktu se zvětšuje množstvím kořenových vlásků. Rostlina kontroluje pohyb vody v buňce a pletivech regulací toku vody akvaporíny. Ty jsou součástí membránových proteinů a vyznačují se tím, že vytvářejí selektivní póry v membráně pro vodu. Při delším transportu se voda pohybuje přes vodivé elementy xylému (cévy, cévice). Xylém tvoří vlastně nejdelší cestu transportu vody v rostlině až na povrch mezofylových buněk, kde se voda přeměňuje z kapalného skupenství na plynné a dochází k vytvoření zpětné vazby mezi rostlinou a atmosférou (Slováková et Mistrík, 2011). Nadměrný výpar vede pak k vodnímu deficitu tj. k vadnutí rostliny. Každé vadnutí způsobuje rostlině stres, což se projevuje snížením růstu nadzemních částí až do zastavení samotného růstu.

## 2.1.4. Transport vody v rostlinách

### Difuze

Difuze je fyzikální děj kdy látky pronikají z míst vyšší koncentrace do míst o nižší koncentraci roztoku. Podílí se na transpiraci a fotosyntéze. Tento proces probíhá na krátké vzdálenosti, což je cca 1 cm. V biologii mluvíme proto o difuzní vodivosti, charakterizuje jak druh difundující látky (například molekuly určité látky a media, ve kterém k difuzi dochází), tak dráhu, po které difuzní proces probíhá. Její jednotka je totožná s jednotkou rychlosti. Pojem difuzní vodivost je často spojována se strukturami rostlinného těla např. difuzní vodivost průduchů. Difuze svojí podstatou vede k náhodnému a rovnoměrnému rozdělení molekul. Je velmi rychlá na krátkou vzdálenost, ale na delší vzdálenost je mimořádně pomalá (Šantrůček, 1998).

### Osmóza

Osmóza je vlastně zvláštní případ difuze, kdy rozpuštěné látce zabráníme pronikat do rozpouštědla tzv. polopropustnou membránou. Rostlinná buňka má relativně tuhou celulozní buněčnou stěnu, která omezuje roztahování elastické plasmalemy. Ta je dobře propustná pro vodu, a málo propustná pro volně difundující ionty. Pokud je vně buňky hypotonický roztok, pak dochází k difuzi vody do buňky a současně tím zvětšuje svůj objem. Zvětší se i hydrostatický tlak na vnitřní straně buněčné stěny, což je turgorový tlak, který je současně totožný s osmotickým tlakem. Následkem toho buněčná stěna může i prasknout. Naopak v hypertonickém prostředí dochází k úniku vody z buňky ven. To způsobí smrštění protoplastu a jeho oddělení od buněčné stěny. Celkově tak tento jev nazýváme plazmolýzou (Kincl, 2008).

Prostřednictvím turgoru jednotlivých buněk získává rostlina svoji pevnost. Nadměrná ztráta vody vede k poklesu turgoru a rostlina vadne. Při hraniční plazmolýze je turgorový tlak roven nule. Vodní potenciál je základním pojmem

vodního režimu rostlin. Vodní potenciál v sobě zahrnuje koncentraci, tlak i gravitaci což jsou zmíněné hybné síly transportu. Zcela turgescenční buňka tzn. zcela nasycená vodou má vodní potenciál nulový. Při ztrátě vody se snižuje kladný turgorový potenciál a jak se zvyšuje koncentrace osmoticky aktivních látek, klesá osmotický potenciál do negativních hodnot. Vodní potenciál tudíž vypovídá o fyziologickém stavu rostliny. Z fyziologických procesů je nejcitlivější na pokles vodního potenciálu růst a pochody tvorby buněčné stěny a dále syntéza proteinů. Pro růst buněčné stěny a zvětšování objemu buňky je rozhodující pozitivní tlaková síla vodního potenciálu. Vedením vody na delší vzdálenosti se uplatňují cévy a cévice. Pohyb vody v těle rostlin vyžaduje souvislý trvalý sloupec vody ve vodivém pletivu. Dřevní částí cévních svazků rostliny stoupá transpirační proud rychlostí 1-50 m/hod. a končí v listech. Při pohybu vody v rostlině se uplatňuje zejména transpirace, koheze a kořenový vztlak (Šantrůček, 1998).

## **Transpirace**

Transpirace se podílí na výdeji vody. Představuje významný fyziologický děj vypařování vody nadzemní částí rostliny zejména z listů. Jedná se o pasivní děj, který od rostliny nevyžaduje žádný přísun energie. Průduchová transpirace tvoří 95% a zbytek 5% kutikulární transpirace. Tento děj se děje difuzí a hnací silou výdeje vody z rostliny do atmosféry je gradient koncentrace vodní páry v atmosféře a gradient vodního potenciálu v rostlině. Evaporace je výpar vody z půdního povrchu. Transpirace a evaporace tvoří celkový výpar vody tzv. evapotranspirací. Výdej vody z listu závisí na třech faktorech:

- a) koncentračním gradientu vodní páry mezi intracelulární a vnější atmosférou
- b) difuzním odporu transportu vodní páry z listu do atmosféry
- c) fyzikálních vlastnostech atmosféry

Kromě gradientu koncentrace vodní páry je dalším regulátorem výdeje vody z listu difuzní odpor transpirační cesty. Na této cestě existují dva důležité odpory, odpor hraniční vrstvy vzduchu nad povrchem listu a odpor průduchové štěrbině (Střelcová a Kučera, 2011).

Rychlost transpirace vychází z rozdílu tlaků vodní páry uvnitř listu a okolním vzduchu. Během dne vykazuje značné kolísání, maximum je před polednem, v poledne klesá, odpoledne opět stoupá a k večeru klesá. Polední pokles je způsoben poklesem vody v listech a tak uzavřením průduchů a současně k dočasnému zastavení příjmu CO<sub>2</sub>. Nadměrný výpar vede k vytvoření vodního deficitu, který představuje množství vody v chybějící rostlině k jejímu plnému nasycení. V důsledku toho klesá buněčný turgor a dochází k vadnutí rostliny. Obvykle se tento deficit během noci vyrovná, kdy je transpirace minimální. Každé vadnutí tak negativně ovlivňuje všechny fyziologické pochody, probíhající v rostlinném organismu, zvláště fotosyntézu a růst (Brestič et Olšovská, 2001).

## **2.2. Stres u rostlin**

Rostliny jsou během svého života neustále vystavovány proměnlivým podmínkám vnějšího prostředí. Tyto podmínky mohou zpomalovat jejich životní funkce, poškozovat jednotlivé orgány a v krajním případě vést k jejich uhynutí. Nepříznivé vlivy vnějšího prostředí ohrožující rostliny označujeme jako stresové faktory (stresory). Nachází-li se rostlina ve stresu, nejedná se nikdy o ustálený jev a snadně definovatelný stav, ale spíše o dynamický komplex mnoha reakcí. Problematika stresu u rostlin je komplikovaná a to nejen přisedlým způsobem života, který znemožňuje únik před působením stresových faktorů, ale i tím, že rostliny mají mnohem větší mezidruhovou variabilitu a heterogenitu vnitřního prostředí. Tato odlišnost se projevuje značným kolísáním fyzikálně-chemických parametrů v průběhu jejich „normálního“ fungování. (Gloser et Prášil 1998)

### **2.2.1. Stresová reakce**

Průběh a výsledek stresové reakce závisí na délce a intenzitě působení stresového faktoru, ale i na samotné rostlině, zejména na jejím genotypu, na stádiu vývoje, vitalitě a adaptačních schopnostech.

**Poplachová fáze** - narušení buněčných struktur a funkcí bezprostředně po začátku působení stresového faktoru

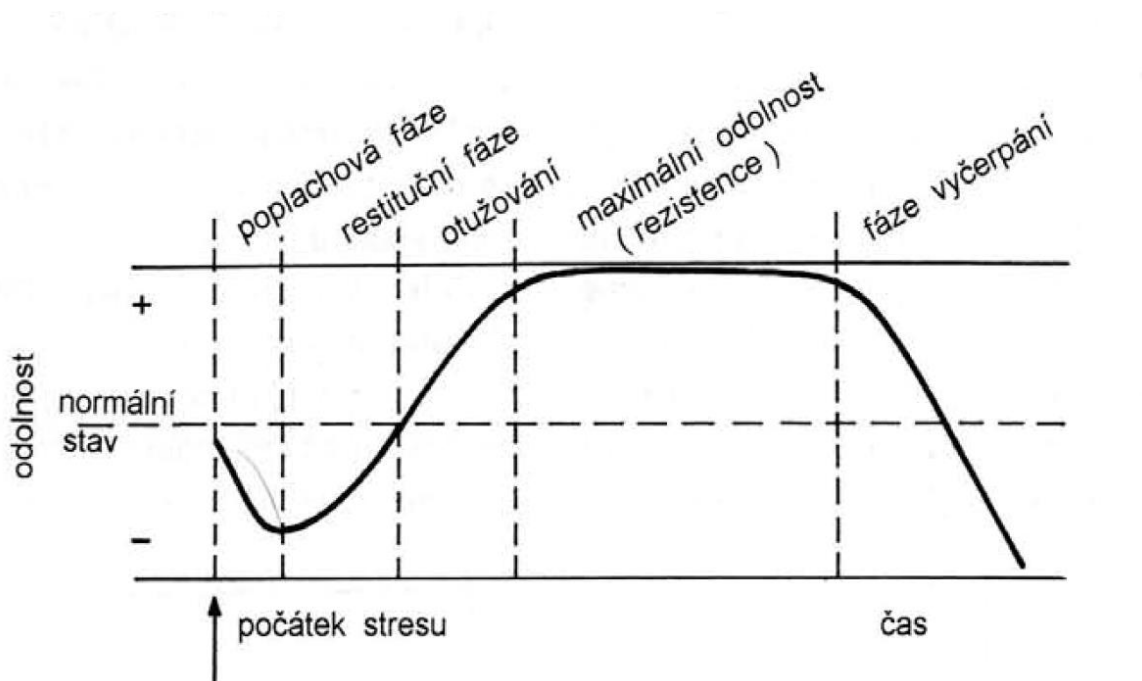


**Restituční fáze** - mobilizace kompenzačních mechanismů (od této fáze přechází stresová reakce v případě, že intenzita stresu nepřekračuje letální úroveň)

**Fáze rezistence** - zvýšení odolnosti rostliny vůči působícím faktorům; většinou je spojeno se zvýšenou spotřebou energie na úkor jiných životních funkcí (např. růst či produkce potomstva)

**Fáze vyčerpání** - může nastoupit při dlouhodobém a intenzivním působení stresového faktoru

(Larcher, 1995)



Obr. 2 Průběh stresové reakce (Larcher, 1995)

## 2.2.2. Oxidační stres

Produktivita plodin je narušena biotickými nebo abiotickými stresovými faktory. Mezi hlavní faktory patří patogeny, choroby, hmyz, nachlazení, teplo, zasolení, sucho, záření a jiné. Současně mezi nepříznivé abiotické faktory patří sucho, které se negativně podílí na vývoji plodin. Tento nepříznivý vliv obecně vyvolává akumulaci reaktivních forem kyslíku (ROS). Tyto molekuly vyvolávají

oxidační stres a ve vysokých koncentracích způsobují poškození buněk, jako je ztráta funkcí organel, únik elektrolytů a snížení metabolické účinnosti. Vysoké koncentrace ROS v buňkách mohou způsobit molekulární poškození proteinů, aminokyselin a lipidů, což může vést až k buněčné smrti. Aby rostliny zmírnily toto poškození, zvyšují enzymatickou antioxidační aktivitu a obsah neenzymatických antioxidantů. Pro život rostliny jsou ROS nezbytné, vykonávají buněčné funkce, jako jsou signální a obranné reakce (Schneider, 2019).

### **2.2.3. Role škrobu při reakci rostlin na stres**

V zásobních a vodivých pletivech rostlin má škrob významnou fyziologickou roli. Vedou se diskuze, že změny v metabolismu škrobu usnadňují adaptace využití zdrojů uhlíku při ochraně před stresem způsobeným podmínkami životního prostředí. Byly popsány role a mechanismy, kterými metabolismus škrobu reaguje na krátkodobý nebo dlouhodobý vodní deficit, zasolení nebo extrémní teploty. Existuje řada příkladů související se stresovými reakcemi a metabolismem škrobů, kde byly zkoumány uhlohydráty a příbuzné enzymy v zásobních a vodivých pletivech. Při reakci rostlin na stres je životně důležitý rozklad škrobu na cukry, které zajišťují osmotickou ochranu. Při stresových reakcích je nadměrná akumulace škrobu spojena s jeho rozdělením od nejvíce zasažených až po nejméně ovlivněná místa. Vzájemná přeměna škrobu a cukru může být společným bodem pro regulaci využití uhlíku při toleranci stresu na úrovni celé rostliny (Dong et Beckles, 2019).

## **2.3. Vodní deficit**

Ze všech abiotických faktorů, které omezují růst a produktivitu rostlinstva na naší planetě, stojí na prvním místě nedostatek vody. Voda, na rozdíl od minerálních živin, má velmi rychlý koloběh v ekosystémech a její zásoba v rostlinách i v půdě stačí jen na poměrně krátkou dobu (Gloser, 1998). Vodní deficit rostlin vede k narušení vodní bilance a k nesouladu mezi příjmem vody a požadavky na vodu po dobu ontogeneze. Vodní stres je jedním z nejfrekventovanějších limitů realizace biologického potenciálu rostlin. Je jedním z průvodních jevů probíhajících klimatických změn. Na Zemi jsou oblasti s permanentním nedostatkem vody, kde výdej vody převažuje nad příjmem (např. Saharská Afrika, Indie). V současném období se problém stává

globálním, protože reálně narůstají ekologické problémy spojené s nárůstem skleníkového efektu, globálním oteplováním a zvyšováním frekvence periodicky se vyskytujících období sucha. Dnes je všeobecně známé, že vodní deficit způsobuje na buněčné úrovni jednotlivých orgánů celou řadu změn morfologického a fyziologického charakteru, a to zásadně limituje produkční aktivitu rostlin (Olšovská et al., 2001).

### **2.3.1. Vodní stres rostlin**

Stresové podmínky životního prostředí spouštějí širokou škálu rostlinných reakcí, od pozměnění genové exprese a buněčného metabolismu až po změny v rychlosti růstu a výnosech plodin. Existuje celá řada reakcí rostlin k obcházení potenciálně škodlivých účinků způsobených širokým rozsahem abiotických i biotických stresů, včetně poškození světlem, suchem, zasolením, vysokými teplotami a patogenními infekcemi. Mezi jedny z nejvíce nepříznivých faktorů růstu a produktivity rostlin patří stres ze sucha (Reddy et al., 2004). Stres ze sucha snižuje velikost listů, rozšiřování stonků, šíření kořenů, narušuje vodní vztahy rostlin a snižuje účinnost využití vody. Jedná se složitý jev, který zahrnuje fyziologické a biochemické reakce na buněčné úrovni, ale i na úrovni celého organismu. Uzavření průduchů, poškození membrány a aktivity různých enzymů snižují asimilaci CO<sub>2</sub> (Farooq et al., 2009). Reddy et al. (2004) uvádí, že stres způsobený suchem snižuje obsah a aktivitu fotosyntetických enzymů redukčního cyklu uhlíku, včetně klíčového enzymu ribulóza-1,5-bifosfát karboxylázy / oxygenázy. Zvýšený tok metabolitů fotorespirační cestou zvyšuje oxidační zatížení pletiv, protože oba procesy vytvářejí reaktivní formy kyslíku (ROS). Poškození způsobené reaktivními druhy kyslíku při stresu ze sucha patří mezi hlavní překážky růstu. Rostliny vytváří řadu mechanismů, kterými se brání stresu vyvolaným suchem. Hlavním mechanismem je zabránění ztráty vody. Toho lze dosáhnout zvýšením difúzní odolnosti, absorpcí vody pomocí hlubokých kořenových systémů, sukulentními listy ke snížení transpirace a samotným efektivnějším využitím vody. Některé prvky, jako například ionty draslíku pomáhají při osmotické úpravě a křemík zlepšuje rovnováhu vody v buňkách. Zásadní pro udržení buněčných funkcí za sucha jsou osmolity s nízkou molekulovou hmotností, včetně glycin betainu, prolinu a některých aminokyselin.

Růstové hormony, jako je kyselina salicylová (SA), auxiny, gibberelliny, cytokininy a kyselina abscisová modulují reakce rostlin na suchu. Polyaminy, citrulin a některé enzymy působí jako antioxidanty a snižují nepříznivé účinky nedostatku vody. Tolerance rostlin vůči suchu lze například dosáhnout šlechtěním, hromadným screeningem, exogenní aplikací hormonů na semena nebo vzrostlé rostliny (Farooq et al., 2009).

### **Fyziologické a anatomické procesy za sucha**

Hodnocen byl vliv nedostatku vody u rostlin rajčete v nepravidelně se opakujících cyklech sucha. Posouzena byla hydrostatická a osmotická hydraulická vodivost kořenových systémů, průměr elementů xylému, vodní potenciál stonků, koncentrace kyseliny abscisové (ABA) v listech a vodivost průduchů. Rostliny vystavené suchu měly nižší kořenovou hydrostatickou vodivost o 36% a osmotickou hydraulickou vodivost o 65%. Oproti zavlažovaným rostlinám se zmenšily elementy xylému o 27% a celková plocha xylému o 57%. Počet cév xylému byl mezi oběma ošetřeními podobný. Nízký obsah vody v půdě zvýšil v listech koncentraci kyseliny abscisové (ABA) o více jak 65% u obou testovaných cyklů vůči suchu. Snižená vodivost průduchů se projevila u rostlin jak v prodloužených, tak v opakovaných podmínkách sucha. To mohlo ohrozit asimilaci uhlíku a snížit biomasu výhonků. V reakci na nedostatek vody vykazovaly rostliny rajčete sníženou hydraulickou vodivost kořenů a dlouhodobé anatomické změny kořenů (Hernandez-Espinoza et Barrios-Masias, 2020).

### **Vliv nedostatku vody na asimilaci CO<sub>2</sub>**

Za sucha klesá míra asimilace CO<sub>2</sub> již při mírných deficitech vody v listech. Část inhibice je připisována nestomatickým účinkům na úrovni chloroplastů, přičemž hlavním cílem inhibice je transport elektronů a fosforylace. Tato zjištění jsou zpochybňována přímým měřením fotosyntetické kapacity u systémů, které nejsou omezeny průduchy (např. Plátky listů v roztoku nebo listy při vnějších koncentracích CO<sub>2</sub> přesahujících 5%). Zde byla fotosyntéza spíše necitlivá na dehydrataci až na 50–70% relativního obsahu vody a různé druhy rostlin odpovídaly velmi podobným způsobem. Těžší dehydratace ovlivňuje nejen fotosyntézu, ale i fixaci CO<sub>2</sub> a pravděpodobně také fotorespiraci. O reverzibilní a

nespecifické inhibici se předpokládá, že jsou zprostředkovány hlavně zvýšenou koncentrací rozpustných látek v dehydratovaných buňkách. Inhibice fotorespirace by mohla upřednostňovat foto-inhibici, pokud je dlouhodobý vodní stres spojen s plným slunečním světlem. Foto-inhibice spolu s obecnými jevy stárnutí se mohou podílet na dlouhodobých účincích vodního stresu v podmínkách přirozeného sucha. To poskytuje vysvětlení pro protichůdné výsledky krátkodobých experimentů s vodou a studií provedených za polních podmínek (Werner M. Kaiser, 1987).

### **Fotosyntéza C4 rostlin a vodní stres**

Klíčovým znakem fotosyntézy C4 rostlin je provoz mechanismu koncentrace CO<sub>2</sub> v listech, který slouží k nasycení fotosyntézy a potlačuje fotorespiraci v okolním ovzduší. Fotosyntéza C4 rostlin je vysoce citlivá na vodní stres. S klesajícím obsahem vody v listech se rychlost asimilace CO<sub>2</sub> a vodivost průduchů rychle snižují. Fotosyntéza prochází třemi po sobě jdoucími fázemi. Počáteční, tedy stomatální fáze, může nebo nemusí být zjištěna jako pokles míry asimilace v závislosti na podmínkách prostředí, neboť mechanismus koncentrace CO<sub>2</sub> je schopen nasytit fotosyntézu C4 rostlin i při relativně nízkých mezibuněčných koncentracích CO<sub>2</sub>. Pravděpodobné je, že fotorezistentní CO<sub>2</sub> bude opětovně zadržen před únikem ze svazku pochvy. Dále následuje smíšená stomatální a nestomatální fáze. Mezi hlavní faktory poslední nestomatální fáze patří snížená aktivita fotosyntetických enzymů, potlačení asimilace dusičnanů, indukce časného stárnutí a změny anatomie a ultrastruktury listů. Když jsou rostliny C4 vystaveny suchu v jejich přirozeném prostředí, tak zvýšená koncentrace CO<sub>2</sub> zmírňuje vliv nedostatku vody na produktivitu rostlin, a to nepřímo zlepšením vlhkosti půdy a stavu rostlinné vody snížením vodivosti průduchů a transpirace listů. Fotosyntéza C4 je stejně nebo i více citlivá na vodní stres než fotosyntéza C3, a to i přes větší kapacitu a účinnost využívání vody (Ghannoum, 2009).

### **Vliv kyseliny salicylové na rostliny za účinku vodního stresu**

Jesus et al. (2015) říká, že strategie ochrany rostlinného deficitu vody vedly ke zvýšení obsahu chlorofylů, karotenoidů, peroxidaci lipidů, fenolů a množství rozpustných cukrů. Exogenní aplikace kyseliny salicylové u stromu *Eucalyptus*

*globulus* zlepšila odolnost vůči nedostatku vody zlepšením vodního potenciálu s pozitivním dopadem na primární metabolismus (rychlost fotosyntézy, rozpustné cukry), ale také na sekundární metabolismus a obranné mechanismy (vyšší celkový obsah fenolů a menší peroxidací lipidů) v nejvyšší koncentraci kyseliny salicylové (5,0 mM). Byly zjištěny také změny endogenních hladin kyseliny abscisové a salicylové, gibberellinů 4 a 7 a specifických cytokininů v rostlinách s nedostatkem vody s aplikací kyseliny salicylové. Výsledky naznačují, že aplikace kyseliny salicylové by mohla být potenciální strategií chemické aktivace, která by zmírnila účinky nedostatku vody na rostliny *E. globulus*. To již dříve potvrdila Bandruska et al (2005), která studovala vliv vodního deficitu na obsah SA listech a kořenech ječmene cv. *Marsei* a *Hordeum spontaneum*. Nedostatek vody zvýšil obsah SA v kořenech zatímco v listech se nezměnil. Ošetření rostlin SA před stresem snížilo škodlivé působení na buněčnou membránu v listech. Navíc ošetřením SA zvýšilo i obsah kyseliny abscisové v listech a množství prolinu u *H. spontaneum*. Výsledky této studie, tak poukazují na to, že ABA a prolin mohou přispívat k rozvoji antistresových reakcí.

### **Vliv kyseliny jasmonové na poškození membrány a akumulaci ABA při nedostatku vody**

Bandruska et al. (2003) popisuje působení kyseliny jasmonové (JA) na ječmenu (cv. *Maresi* a *Hordeum spontaneum*). Rostliny byly ošetřeny 5  $\mu\text{m}$  a 15  $\mu\text{m}$  JA po dobu 24 hodin. Poté byly vystaveny působení vodního stresu (-1,5 MPa). Kyselina jasmonová zvýšila obsah kyseliny abscisové (ABA) obou genotypů ječmenu. Akumulace přitom nezávisela na použité koncentraci JA. Ošetření rostlin před působením stresových podmínek vodního deficitu mělo pozitivní vliv na rozsah poškození membrány. Ošetření nižší koncentrací JA (5  $\mu\text{m}$ ) způsobilo v obou genotypech podstatné snížení poškození membrán vyvolaného stresem. U koncentrace JA (15  $\mu\text{m}$ ) došlo ke snížení poškození membrány pouze u *H. spontaneuma*. Kyselina jasmonová neměla přitom žádný vliv na stav vody v listech, ale mohla vyvolat zvýšenou akumulaci ABA a zmírnit poškození buněčné membrány při nedostatku vody.

## **Kombinace k. abscisové a brasinollidu ve vodním stresu**

Kyselina abscisová (ABA) a brassinolid (BR) jsou dva důležité stresové hormony regulující fyziologické procesy rostlin a růst při vodním deficitu. Experiment provedený na trávniku (*Festuca arundinacea* Schreb.) odhalil, že aplikace ABA a BR za účasti vodního stresu značně snížily relativní vodivost a malondialdehyd, naopak se výrazně zvýšil relativní obsah vody v listech, antioxidační enzymatická aktivita a obsah prolinu. Aplikace ABA plus BR byla stejně účinná při zlepšování aktivity antioxidačního enzymu jako samotná aplikace ABA při vyšší koncentraci. ABA snížila stomatální vodivost a snížila jak transpiraci, tak rychlost fotosyntézy ( $P_n$ ). Ke zvýšení  $P_n$  došlo po aplikaci BR, které navíc zvýšily obsah chlorofylu, čímž vylepšily účinnost využití vody (WUE). Kombinací obou zmíněných hormonů (ABA, BR) byla vyšší  $P_n$  a WUE stejně jako u BR jedinou aplikaci. Ukázalo se, že aplikace kombinací ABA a BR zvýšily fotosyntetickou kapacitu a snížily účinek na ztrátu fotosyntézy způsobenou ABA v důsledku vodního stresu. Všechny tyto pokusy potvrdily, že aplikace ABA dohromady s BR vykazovala synergickou interakci při zvyšování snášenlivosti sucha a fotosyntéze ve vodním stresu (Chen et al., 2018).

### **2.3.2 Role Genů a transkripčních faktorů na toleranci vůči stresu**

Abiotický stres mnohokrát ovlivňuje výnosy rostlin, které se tak mohou snížit až na 50%. Geny a transkripční faktory související s abiotickými faktory mají mnoho funkcí, zvyšují obsah prolinu, snižují rychlost transpirace uzavřením průduchů, podporují tvorbu ochranných stresových enzymů. Prostřednictvím těchto funkcí zvyšují toleranci rostlin vůči stresu. Mnoho genů a transkripčních faktorů bylo transformováno do mnoha rostlin kultivovaných proti suchu a jiným abiotickým stresům. Transgenní rostliny vykazují zlepšené morfologické a fyziologické vlastnosti než netrasgenní rostliny (Shinwari et al., 2020).

#### **Role genové exprese na kyselinu abscisovou**

Ubikvitinace má významnou roli v reakci rostlin na abiotický stres a na kyselinu abscisovou (ABA). Bylo zjištěno, že RING-finger obsahující E3 ligázu (OsSDIR1)

může být vhodným genem rostlin pro snášenlivost sucha. OsSDIR1 byl zachycen ve všech pletivech rýže, navíc je zvýšeně regulován zasolením, suchem, ale nikoli ABA. OsSDIR1 gen by mohl doplnit fenotyp rostlinných mutantů *sdir1* citlivých na sucho. Nadměrně exprimující transgenní *Arabidopsis* se prokázaly jako citlivější na ABA, což naznačuje, že OsSDIR1 je funkčně homologním genem SDIR1 genu. Za sucha OsSDIR1-transgenní rýže ve srovnání s kontrolními rostlinami lépe snášela nedostatek vody. V těchto rostlinách bylo více uzavřených průduchů než v těch kontrolních (Gao et al., 2011). Pozitivní role signalizace ABA genem SDIR1 byla popsána již dříve Zhang et al. (2007). Rostliny exprimující Pro *SDIR1* - $\beta$ -glukuronidázu (*GUS*) vykazují silnou indukci exprese *GUS* v průduchových buňkách a buňkách listového mesofylu za sucha. Také bylo prokázáno, že SDIR1 je E3 ubikvitin ligáza a její aktivita je závislá na oblasti RING finger. Nadměrná exprese SDIR1 způsobuje přecitlivělost na ABA a fenotypy spojené s ABA, uzavření průduchů ABA a zvýšené toleranci sucha. Hladiny exprese genů ABA a stresových markerů se mění při nadměrné expresi SDIR1 a u mutantních rostlin *sdr1-1*. Geny ABA-INSENSITIVE 5 (*ABI5*), ABRE BINDING FACTOR 3 (*ABF3*) a *ABF4* mohou zachránit fenotyp necitlivý na ABA mutantu *sdir1-1*, ale SDIR1 nemůže zachránit mutanty *abi5-1*. SDIR1 tedy nejspíše působí proti genům leucinového typu a pozitivně reguluje signalizace ABA.

### **RING finger 1 protein negativně ovlivňuje expresi genů**

Kim et al. (2020) popsal molekulární funkci RING finger E3 ligázy. U *Oryza sativa* za sucha, vysoké teploty a zasolení byl indukován RING finger 1 (*OsDHSRP1*) protein, který se prostřednictvím proteozomového Ub / 26 S systému účastní na regulaci tolerance abiotického stresu rostlin. Genové transkripty (*OsDHSRP1*) během zmíněných abiotických stresů byly vysoce exprimovány. In vitro testy ubikvitinace odhalily, že *OsDHSRP1* má doménu typu RING-H2, která poskytuje ligázovou funkčnost. Doplňující testy naznačují, že *OsDHSRP1* je schopen regulovat substráty proteinu glyoxaláza (*OsGLYI-11.2*) a cystein proteináza 1 (*OsACP1*), který je vyvolaný abiotickým stresem. Tyto substrátové proteiny byly ubikvitinovány *OsDHSRP1* E3 ligázou, která prostřednictvím systému proteozomu Ub / 26S způsobila rozklad proteinů. Ve srovnání s kontrolními rostlinami snížily rychlost klíčení a délku kořenů rostliny nadměrně exprimující *OsDHSRP1*. Nižší hladiny



proteinu glyoxalázy vedly ke zvýšení množství methylglyoxalu v transgenních rostlinách. Kim et al. (2020) při pokusu aplikace ABA za účelem léčby rostlin s nadměrnou expresí OsDHSRP1 neobjevil žádné významné změny. Dospěl k závěru, že ligáza OsDHSRP1 působí jako negativní regulátor a její rozklad substrátových proteinů má vliv na regulaci reakcí abiotického stresu nezávisle na ABA.

### **Role GmNAC8 při toleranci rostlin vůči suchu**

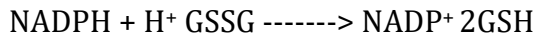
Transkripční faktor proteinů NAC je zapojen do regulace vývoje rostlin a reakce na abiotický stres. Byla provedena studie u sóji za účelem objasnění role GmNAC8 při regulaci tolerance stresu vůči suchu. Exprese genu GmNAC8 byla vyvolána reakcí na suchu, ošetřením kyselinou abscisovou (ABA), ethylenem a kyselinou salicylovou (SA). Byly vytvořeny linie nadměrné exprese GmNAC8 (OE1 a OE2) a předčasného ukončení GmNAC8 (KO1 a KO2). V porovnání s rostlinou divokého typu (WT) vykazovaly nadměrné linie vyšší a předčasně ukončené linie nižší toleranci k suchu. Aktivita superoxid dismutázy (SOD) a obsah prolinu byly vyšší u nadměrné exprese a výrazně nižší u předčasně ukončené exprese GmNAC8 než u WT. Dále bylo zjištěno, že protein GmNAC8 fyzicky interaguje s proteinem GmDi19-3, který se navíc projevoval stejně jako GmNAC8 protein. Linie nadměrné exprese GmDi19-3 vykazovaly zvýšenou toleranci vůči suchu ve srovnání s rostlinami divokého typu. Z uvedených výsledků vyplývá, že GmNAC8 působí pozitivně při regulaci tolerance vůči suchu u sóji. Je možné, že protein GmNAC8 funguje na principu interakce s jiným regulačním proteinem, jako je GmDi19-3. (Yang et al., 2020).

### **2.3.3. Aktivita antioxidačních systémů**

#### **Vliv vodního deficitu na změny aktivity glutathion reduktázy**

Antioxidační enzym glutathion reduktáza (GR) udržuje v buňkách fyziologický poměr oxidovaný glutathion (GSSG) / redukovaný glutathion (GSH) (10:1). Tento enzym katalyzuje přeměnu oxidovaného glutathionu na redukovaný glutathion za spotřeby NADPH. Aktivita glutathion reduktázy se stanovuje na základě úbytku množství NADPH v reakci (Matoušková et al, 2014).

GR



Vliv vodního stresu na aktivitu glutathion reduktázy (GR) a katalázy (GK) byl pozorován v listech pšenice ozimé (*Triticum aestivum L.*). Pšenice byla vyseta do zavlažovaných a suchých podmínek. Vrcholky listů u rostlin z oblastí vystavených suchým podmínkám, jenž byly vysety rychlostí 60 kilogramů / hektar neprokázaly žádnou změnu aktivity (GR) ani (GK) na jednotku plochy listu, zatímco listy z bazální části stonku vykazovaly 273% zvýšení aktivity (GR) a 60% zvýšení aktivity (GK) vůči rostlinám v zavlažovaných podmínkách. Aktivita (GR) v rostlinách vystavených suchým podmínkám, které byly zasety rychlostí 120 kilogramů / hektar vůči zavlažovaným vzrostla o 25% ve vrcholcích listů a o 225% v bazálních listech. Zvýšení aktivity (GR) v reakci na vodní stres bylo pozorováno, když byla aktivita vyjádřena buď na ploše listové plochy, proteinu nebo chlorofylu. Když byla enzymatická aktivita vyjádřena na proteinové bázi, nebyla zjištěna žádná změna katalázové aktivity. Výsledky naznačují, že vliv vodního deficitu na aktivitu (GR) je ovlivněn pozicí vrcholu rostliny a hustotou osazování. Zvýšení aktivity glutathion reduktázy u rostlin vystavených suchu bylo větší u bazálních listů než u listů sklizených z vrcholu rostliny (Gamble P. E. et Burke J. J., 1984).

### **Vliv sucha na aktivitu enzymů zachycujících peroxid vodíku v chloroplastech**

Smirnoff et Colombé (1998) zkoumali vliv sucha na aktivitu enzymů (askorbát peroxidázy (AP), glutathion reduktázy (GR), monodehydroaskorbát reduktázy (MDAR)) v listech ječmene (*Hordeum vulgare*) a miličky (*Eragrostis tef*) zachycujících peroxid vodíku v chloroplastech. Silný deficit vody v listech dosahující -30 MPa zvýšil aktivitu GR a MDAR v ječmenu a AP a MDAR v miličce. Specifická aktivita všech detoxikačních enzymů byla vyšší v suchých rostlinách. Činnost (na základě suché hmotnosti) kontrolních enzymů, malátdehydrogenázy (ječmene) a fosfoenolpyruvát karboxylázy (tef), nebyly suchem ovlivněny. Výzkum naznačil, že sucho může způsobit zvýšení kapacity systému pro zachycování peroxidu vodíku, a proto může zvýšit rychlost tvorby peroxidu vodíku v chloroplastech. Groden a Beck (1979) popisují, že tepelně labilní enzymatická aktivita a tepelně stabilní

neenzymatická peroxidační aktivita lamel chloroplastů by mohla ve spojení s relativně vysokou koncentrací askorbátu v chloroplastech představovat důležitý nástroj pro detoxikaci  $H_2O_2$ , který je v těchto organelách produkován.

### **Vliv brassinolidů na aktivitu antioxidantních enzymů**

Brassinolidy (BR) jsou přirozeně se vyskytující látky zlepšující toleranci plodin vůči abiotickým stresům, modulací růstu a vývoje rostlin. Anjum, (2011) vyhodnotil možnou roli exogenní aplikace brassinolidu (BR) při zmírnění poškozujících účinků sucha na kukuřici. Ta byla chráněna před deštěm po dobu šesti dnů. Následně byly listy ošetřeny postřikem BR. Kontrolní rostliny vykazovaly při nedostatku vody snížení výškového růstu, plochy listů a biomasy celkově. Podstatně se snížila výměna plynů (fotosyntézy, transpirace, průduchů), účinnost spotřeby vody (WUE), účinnost okamžité spotřeby vody (WUE<sub>i</sub>) a intercelulární  $CO_2$  ( $C_i$ ). Rostliny, které byly exogenně ošetřeny BR výrazně zlepšily výměnu plynů, výšku rostlin, plochu listů, klasy, hmotnost sušiny jak za podmínek sucha, tak za zavlažených podmínek. Zlepšení růstu, fyziologických a metabolických aktivit zapříčiněno exogenní aplikací BR bylo zprostředkováno zvýšením syntézy proteinů. Zmíněné navýšení osmolytů tak umožňuje udržovat potenciál vody pletiv a aktivitu antioxidantních enzymů snižujících peroxidaci lipidů za sucha.

Rolí exogenní aplikace brassinolidu při zmírňování škodlivých účinků sucha se také zabýval Gill et al., (2017), který vystavil sazenice ječmene hladinám polyethylenglykolu (PEG) po dobu 2 týdnů a následně aplikaci postřiku BR na list za účelem vyhodnocení změn v růstu, výměně plynu, obsahu chlorofylu, antioxidantní enzymové aktivitě a ultrastrukturální změny. Vyvolané sucho PEG výrazně potlačovalo růst ječmene, obsah chlorofylu, rychlost fotosyntézy, rychlost transpirace, stomatální vodivost a výměnu plynů. Po exogenní aplikaci BR došlo k výraznému zlepšení výměny plynů, obsahu chlorofylu a růstu rostlin jak u exponovaných PEG, tak i u kontrolních sazenic. Postřik snížil produkci malondialdehydu (MDA) a reaktivních forem kyslíku (ROS) v listech a kořenech zvýšením enzymatických antioxidantních aktivit při stresu ze sucha. Zkoumáním mikroskopických struktur se ukázalo, že exogenní aplikace BR u rostlin postižených suchem zlepšila buněčnou strukturu a umožnila buňce vlastnit dobře vyvinutý

chloroplast s thylakoidními membránami. Z výsledků lze usoudit, že exogenní aplikace BR by mohla zmírnit stres ze sucha u ječmene zmírněním fotosyntetických parametrů a zlepšením enzymatických aktivit antioxidantů.

### **Hromaděním osmotických látek a zvýšení antioxidační aktivity enzymů**

(Shakeel, 2012) zkoumal dva kultivary (Shanshu-2001 a Nongchengjiao-2) papriky (*Capsicum annuum L.*), aby objasnil množství vody v listech, akumulaci osmolytů, peroxidaci lipidů v membráně a aktivitu antioxidačních enzymů podle jednotlivých úrovní vzrůstajícího sucha. Kultivary vystavil přívodu 80% (kontrola), 60% (mírný), 40% (střední) a 20% (silný vodní stres) vody polní kapacity. Během experimentu dosáhl Shanshu-2001 vyššího obsahu vody v listech, vyšší akumulace proteinů a prolinu, která se postupně zvyšovala s rostoucím suchem. Oproti druhému kultivaru vykazoval Nongchengjiao-2 ve všech režimech zavlažování nižší obsah vody v listech a akumulaci proteinů a prolinu. Se snižujícím se přísunem vody pokračoval v růstu pouze prolin, ale s nižší rychlostí než u prvního kultivaru. Zvýšená aktivita peroxidace lipidových membrán a únik elektrolytů s prodlužujícím se suchem se projevila u kultivaru Nongchengjiao-2. Superoxiddismutáza (SOD), peroxidáza (POD) a aktivita katalázy (CAT) dosahovaly vyšších hodnot u Shanshu-2001 než u Nongchengjiao-2. Na konci experimentu vykazoval zlepšený růst a výnos kultivar Shanshu-2001. Dle výsledků lze usoudit, že tento kultivar je schopen lépe snášet podmínky při nedostatku vody. Lze předpokládat, že jeho vyšší odolnost vůči suchu byla zapříčiněna sníženou peroxidací lipidů, zvýšením antioxidačních enzymů, vyšší akumulací osmolytů a schopností udržet lepší obsah vody v pletivech.

### **2.3.4. Osmotické přizpůsobení rostlin**

#### **Role glycinu betainu a prolinu na osmo-toleranci rostlin**

Glycin betain (GB) a prolin jsou dva hlavní organické osmolyty, které se hromadí v různých druzích rostlin v reakci na environmentální zátěž, jako je sucho, zasolení, extrémní teploty, UV záření a těžké kovy. I když skutečné role v osmo-toleranci rostlin zůstávají předmětem výzkumu. Předpokládá se, že obě sloučeniny mají

pozitivní vliv na integritu enzymů a membrán spolu s adaptivními rolemi při zprostředkování osmotického přizpůsobení u rostlin pěstovaných za stresových podmínek. Mnoho studií naznačilo, že akumulace GB a prolinu má pozitivní vztah k toleranci ke stresu rostlin. Jiné tvrdily, že zvýšení jejich koncentrací při stresu je produktem a nikoli adaptivní reakcí na stres (Ashraf et Foolad, 2007).

Některé geneticky upravené rostliny obsahující transgeny pro produkci GB nebo prolinu jsou omezeny dostatečným množstvím produkce těchto sloučenin pro zmírnění stresových účinků. Exogenní aplikace GB nebo prolinu na rostliny ve stresových podmínkách ukazuje, že v mnoha případech vede k významnému nárůstu růstu a konečného výnosu plodiny. Uvádí se řada příkladů úspěšné aplikace těchto sloučenin ke zlepšení tolerance rostlin vůči stresu. K dostatečnému odůvodnění užitečných a ekonomických aplikací těchto sloučenin je zapotřebí dalších zkoušek, aby se stanovily nejúčinnější koncentrace a počty aplikací. Veškeré faktory se mohou u jednotlivých druhů lišit. Proto se očekává, že lepší porozumění mechanismům působení exogenně aplikovaného GB a prolinu ve stresovém prostředí pomůže jejich efektivnímu využití v rostlinné produkci. Nejúčinnější koncentrace a počet aplikací v konkrétních fázích růstu rostliny se mohou u jednotlivých druhů lišit (Ashraf et Foolad, 2007).

### **Prolin jako klíč k toleranci rostlinného stresu**

Akumulace prolinu je běžnou fyziologickou odpovědí u rostlin vystavených různým abiotickým stresům. Jeho hromadění může být způsobeno opětovnou syntézou, sníženou degradací, nižším využitím nebo hydrolýzou proteinů. K extenzivnímu prolinovému transportu dochází mezi cytosolem, chloroplasty a mitochondriemi. Veškeré funkce prolinu v toleranci ke stresu nejsou stále ujasněny. Navrhuje se, že prolin přispívá ke stabilizaci subcelulárních struktur, zachycování volných radikálů a tlumení buněčného redoxního potenciálu. Chelátuje těžké kovy, moduluje buněčné funkce a spouští expresi genů. Zjistilo se, že jeho metabolismus je spojen s pentózofosfátem, kyselinou trikarboxylovou, cykly močoviny a přispívá k syntéze purinů a fenylypropanoidní cestě. I přes to, že molekulární základ regulace metabolismu prolinu je velmi nejasný, genetické inženýrství obsahu prolinu by

mohlo vést k novým možnostem dosažení tolerance rostlinného stresu (Kaur et Asthir, 2015).

### **Polyaminy a jejich funkce při stresu rostlin**

Studie a výzkumy rostlinných polyaminů poukazují na jejich zapojení do různých reakcí zátěže podmínek prostředí. Genetické, transkryptomické a metabolické přístupy objevily funkce různých polyaminů v regulaci vůči abiotickému stresu. Přesné molekulární mechanismy polyaminů, kterými reagují na stresové podněty jsou však většinou neznámé. Nedávné studie naznačují, že se polyaminy podílejí na přímé interakci s různými metabolickými cestami a komplikovanou hormonální interakci. Dále se diskutuje o vztazích mezi polyaminy a kyselinou abscisovou, procesy signalizace reaktivních forem kyslíku, tvorba oxidu dusnatého, modulace aktivit iontových kanálů a  $\text{Ca}^{2+}$  homeostáza (Alcazar et al., 2010).

### **Vliv kumulace prolinu a polyaminů na toleranci mírného vodního stresu**

Účinky prolinu a polyaminu za stresových podmínek na udržení osmotické rovnováhy byly široce popsány u mnoha druhů rostlin. Byla provedena studie na kultivarech rajčete cherry (*Solanum lycopersicum*)L.) za účelem objasnění metabolismu prolinu a polyaminu na mechanismus tolerance mírného vodního stresu. Kultivar (Zarina) nejvíce odolný vůči stresu z nedostatku vody vykazoval zvýšený pokles prolinu spojený se zvýšenou syntézou polyaminu, s vyšší koncentrací spermidinu a sperminu. Naopak kultivar (Josefina), nejcitlivější na vodní stres, vykazoval po vystavení vodnímu stresu hromadění prolinu spojené se zvýšenou syntézou po vystavení stresu. V tomto kultivaru nebyl detekován žádný nárůst syntézy polyaminu. Závěrem lze říci, že metabolismus polyaminu se více podílí na toleranční reakci na mírný vodní stres (Montesinos-Pereira D et al., 2014).

### **Role polyaminu a prolinu během vodního stresu**

Zkoumány byly role prolinu a polyaminů a transformanty exprimující modifikovaný gen pro prolin enzym Delta 1-pyrrolin-5-karboxylát syntetáza u tabákových rostlin při působení stresu ze sucha, z nadměrné teploty a jejich kombinace. V obou

genotypech došlo za sucha k poklesu relativního obsahu vody, který se nejméně projevil na vrchních listech rostlin. Současně došlo ke zvýšení hladiny polyaminů. Vystavení rostlin krátké době (2 hodin) působení nadměrného tepla 40°C nijak výrazně hladiny prolinu ve vrchních listech a kořenech neovlivnilo. Nárůst prolinu byl zaznamenán ve spodních listech obou genotypů. Po působení stresu se hladiny vrátily do normálu, ale u transformantů a u rostlin vystavených kombinovaným účinkům bylo zotavení pomalejší. V porovnání s kontrolními rostlinami stres způsobený suchem snížil hladiny spermidinu, putrescinu a zvýšil hladiny sperminu diaminopropanu. Hladiny spermidinu mohly být sníženy jeho spotřebou při biosyntéze sperminu při nebo oxidaci polyamin oxidázou. Po dodání vody se hladiny spermidinu a putrescinu rychle obnovily a zvýšila se i aktivita biosyntézy polyaminů v kořenech a listech. Toto zvýšení se projevilo více u transformantů. Během sucha se zvýšil obsah Malondialdehydu ve spodních listech, menší nárůst byl zaznamenán u transformantů při kombinovaném stresu. Obsah malondialdehydu v horních listech byl po celou dobu poměrně stálý, což naznačuje, že tyto listy jsou přednostně chráněny (Cvikrová et al., 2013).

### **Vztah osmotických regulátorů k odolnosti vůči suchu**

Byl proveden pokus na odrůdách cukrové třtiny (RB72454 a RB92579). Po 105 dnech byly rostliny vystaveny nedostatku vody. Odrůda RB72454 byla citlivější na stres ze sucha, díky nízké akumulaci prolinu (Pro), beze změny koncentrace glycinu betainu (GB) a většímu úniku elektrolytů (EL). Došlo k vysokému fotochemickému poškození v PSII, maximální kvantové účinnosti fotosystému ( $F_v / F_m$ ) a efektivní kvantové účinnosti fotosystému II ( $\Phi$ PSII). Sucho také snížilo rychlost přenosu elektronů a zvýšilo ochranu před nepříznivými účinky vysoké intenzity světla, což mohlo přispět k dlouhodobější regeneraci odrůdy po zavlažování. Odrůda RB92579 vykazovala vyšší akumulaci Pro, GB a nižší EL, fotoinhibici a malý pokles ( $F_v / F_m$ ), rychlosti přenosu elektronů a ( $\Phi$ PSII) a mírný nárůst nefotochemického zhášení (qN). Díky tomu v období sucha nedošlo k tak velkému poškození PSII jako u předchozí odrůdy. Navíc to přispělo k udržení turgoru buněk a ochraně membránových struktur chloroplastů. Po opětovném zalití se tak odrůda RB92579 rychleji zotavila (Maia et al., 2020).

Dos Santos et al. (2019) se také zabývali problematikou vztahů osmotických regulátorů a vodního stresu v cukrové třtině. Pro svou práci vybrali šest odrůd, a to SP79-1011, RB855113, RB92579, RB867515, RB72454 a RB855536. V poledních hodinách během intenzivní růstové fenofáze různé odrůdy cukrové třtiny vykazovali větší pokles vody a osmotického potenciálu za sucha. Odrůdy RB855113 a RB855536 byly v této fenofázi nejvíce postižené suchem, vykazovaly větší snížení vody a osmotického potenciálu. Tyto odrůdy měly v reakci na suchu vyšší akumulaci osmoregulátorů, ale nikoliv dostačující na to, aby zabránily dehydrataci. Žádná významná změna osmotického potenciálu neproběhla u odrůd RB867515 a RB92579, i přes to, že měly nízký potenciál listové vody. Odrůdy byly produktivnější a vykazovaly větší potenciál aklimatizace na suchu.

### **Role kyseliny salicylové a glycin betainu na toleranci vůči suchu**

Odrůdy Spirit, Born, Arinda a Banda byly podrobeny zavlažovacím režimům (30% a 60% půdní kapacity) a hladinám kyseliny salicylové (SA) a glycinu betainu GB. Byla pozorována činnost askorbát peroxidázy (APX), superoxiddismutázy (SOD), celková antioxidační kapacita (TAC), únik iontů, fluorescenční chlorofyl (Fv / Fm), chlorofylový pigment, suchá hmota kořenů (RDM) a suchá hmotnost rostlin (PDM). Došlo k zvýšení antioxidačních enzymů a úniku iontů, ale další charakteristiky se při vodním deficitu výrazně snížily. Tolerantní kultivary (Spirit a Born) vykazovaly vyšší aktivitu SOD, obsah chlorofylu, PDM a nižší únik iontů než netolerantní odrůdy (Arinda a Banda). Výzkum tak poskytl důkaz, že SA a GB ovlivňují antioxidační enzymy, zvyšují chlorofylové pigmenty a PDM. Rozpětí zvýšení se zdálo být větší, když byly kultivary brambor pěstovány za podmínek nedostatku vody. Podle toho lze předpokládat, že SA a GB by mohly zmírnit škodlivé účinky způsobené nedostatkem vody (Alhoshan et al., 2019).

### **Akumulace osmolytů v kukuřici za podmínek vodního stresu**

Studie byla provedena za účelem posouzení výkonu tří různých hybridů kukuřice (Dong Dan 80, Wan Dan 13 a Run Nong 35) za dobře zavlažovaných, nízkých, středních a SD podmínek udržovaných na 100%, 80%, 60% a 40% (SD) polní kapacity. Stres způsobený suchem vyvolal produkci a akumulaci různých osmolytů ve všech hybridech kukuřice. Koncentrace prolinu, uhlohydrátů, SS, fenolik,



proteinů a TFA byly výrazně vyšší za podmínek SD ve srovnání s dobře zavlažovanou kontrolou. Čím více byly rostliny podrobeny suchu, tím více se zvyšovala akumulace těchto osmotických látek. Rozdíly týkající se akumulace osmolytů u hybridů kukuřice dosahovaly maxima u Dong Dan 80, poté Wan Dan 13 a Run Nong 35. To znamená, že odrůda Dong Dan 80 může být lepší za podmínek vodního deficitu (Anjum et al., 2017).

## **2.4. Kombinace vodního stresu a dalších abiotických faktorů**

### **2.4.1 Kombinace sucha a tepelného stresu**

Účinky kombinace sucha a tepelného stresu byly zkoumány na růstu a produktivitě rostlin. Dospělo se k závěru, že tato kombinace stresu způsobuje neúměrné poškození ve srovnání s každou z jeho jednotlivých složek stresu. Je třeba zmínit, že stresové posloupnosti způsobující suchu a teplo nemění globální reakci na kombinované napětí. Některé rostliny byly vystaveny nejprve podmínkám sucha a poté tepla. Jiné byly vystaveny působení tepla a následně uvedeny do suchých podmínek. A další byly současně vystaveny působení sucha a tepla. U těchto rostlin byly obecně pozorovány podobné fyziologické reakce. Rostliny vystavené kombinovanému působení obou stresů byly poškozeny více, než když by byly určité stresové faktory aplikovány jednotlivě. Z toho lze usoudit, že existuje zafixovaný obranný mechanismus pro řešení kombinace sucha a tepla mezi různými druhy rostlin. Rostliny vykazují různé reakce na různá napětí v závislosti na jejich vývojové fázi (Zandalinas et al., 2018). Například reprodukční pletiva jsou citlivější než vegetativní pletiva na suchu, tepelný stres a jejich kombinace. Oba individuální stesy ovlivňují reprodukční procesy odlišně (Barnabas et al., 2008). U jarní pšenice může suchu inhibovat hmotnost zrna, vývoj květu pestíku a funkce vajíček, naproti tomu tepelný stres ovlivňuje plodnost pylu a počet zrn (Prasad et al., 2011). Podstatné je, že kombinované účinky obou stresů na reprodukční pletiva jsou větší, než účinky sucha nebo tepelného stresu samotného, a to má za následek vyšší škodlivý účinek této kombinace stresu na výnos plodiny.

## **Vliv kombinace sucha a teplotního stresu na strukturu chloroplastů a mitochondrií**

Grigorova et al. (2012) provedla pokus na sazenicích pšenice (*Triticum aestivum* L.) odrůdy odolné vůči suchu Katya a náchylné k suchu Sadovo při působení nedostatku vody, vysoké teploty a jejich kombinaci po dobu 7 dnů. Kontrolní chloroplasty obou odrůd měly protáhlý nebo ledvinovitý tvar a jejich délka překročila dvojnásobek šířky. Chloroplasty měly dobře vyvinutý vnitřní membránový systém, složený z gran a dlouhých stromálních thylakoidů. Grana byla pravidelně distribuována do částí chloroplastů a granální thylakoidy byly dobře vyvinuté a těsně spolu zabaleny (v průměru 10-15 thylakoidů na granum v obou odrůdách,  $n=116$ ). Jednotlivá škrobová zrna a nízký počet plastoglobulů malé velikosti byly rozptýleny ve stromatu chloroplastů. Mitochondrie kontroly Katya i Sadovo byly většinou oválného tvaru s elektronově hustou maticí a jasně viditelnými kristami. Kvantifikace mitochondriální morfologie prokázala přítomnost velmi malého počtu mitochondrií postrádajících kristy a neporušenou vnitřní mitochondriální strukturu.

Kombinace sucha a vysoké teploty ovlivnila ultrastrukturu listových buněk odlišně od sucha nebo tepelného šoku aplikovaného jednotlivě. Působení kombinace sucha a vysoké teploty ve srovnání s kontrolními vzorky vedly k celkovému zvýšení velikosti a počtu plastoglobulů a chloroplastů u odrůdy Katya. Chloroplasty byly oteklé a zaoblené náhodně orientovanými grany složenými z krátkých thylakoidů. U Sadovo byly nepravidelně tvarovány a shlukovány dohromady, často vytvářely agregace s vážně poškozenými mitochondriemi. Chloroplasty Katya měly relativně větší velikost než Sadovy, protože tato velikost se navíc zvýšila za sucha o 30% a kombinovaného stresu o 24%. V Katya vystavené kombinovanému stresu byl průměr plastoglobulů větší než tento v Sadovo. Velká část mitochondrií byla zbavena krist a vypadala prázdně podobně jako vakuoly. Zaznamenána byla také přítomnost mitochondrií s průhlednou maticí a velmi malým počtem krist. Vůči suchu tolerantní odrůda Katya překročila dvojnásobně svou velikost mitochondrií při kombinovaném namáhání. Ve všech experimentech měla Katya přibližně o 20% větší mitochondrie než Sadovo. Celkový počet mitochondrií se po expozici

kombinovaného stresu zvýšil více než 2,6 krát v Katya a 1,6 krát v Sadovo (Grigorova et al., 2012).

### **Kombinované účinky sucha a tepelného stresu na fyziologické pochody**

Poškození membrán, snížená oxidační schopnost buněk, stomatální vodivost, funkce PSII a obsahu chlorofylu v listech u cizrny (*Cicer arietinum L.*) dosáhlo vyššího poškození při kombinovaném stresu, než při individuálním stresu. Aktivita enzymu Rubisco v listech cizrny kombinací obou stresových faktorů výrazně klesala. Koncentrace sacharózy a škrobu se snížila se snížením biosyntetických enzymů. Projevy účinků byly závažnější u genotypů, které byly více citlivé na teplo a sucho, než u genotypu, které jsou do určité míry tolerantní (Awasthi et al., 2014). U kultivarů bavlníku tolerantních vůči suchu zvyšoval samotný tepelný stres nebo v kombinaci se suchem teplotu listů, snížil rychlost fotosyntézy a vodivost průduchů, což vedlo ke škodlivějšímu dopadu za podmínek kombinovaného stresu. Kultivary citlivé na sucho vykazovaly větší změny v těchto pochodech, vykazovaly nižší aktivitu Rubisco ve srovnání s kultivary tolerantní k suchu v kombinaci se stresem (Carmo – Silva et al., 2012). Tyto výsledky naznačují, že udržování fotosyntetické aktivity je důležité pro aklimatizaci rostlin na kombinaci sucha a tepelného stresu, a že omezení vyvolaná suchem i teplem působí současně a inhibují fotosyntézu za kombinovaných stresových podmínek v terénu.

Změny v otevření stomat jsou primární s rychle se vyskytující odpovědí na environmentální zátěže zaměřené na regulaci toku CO<sub>2</sub>, teploty listů (prostřednictvím transpirace) a ztráty vody. Stomatální reakce na kombinaci sucha a tepla představují náročnou situaci, při které se musí rostliny preventivně vyrovnat se ztrátou vody a s jejich přehřátím. Ve většině případů teplo způsobuje zvýšení stomatální vodivosti, když se rostlina pokouší ochladit své listy transpirací, zatímco opačný účinek má sucho, aby se zabránilo ztrátě vody (Mittler et Blumwald, 2010). Několik zpráv zdůraznilo význam udržování teploty listů pod kontrolou pro snášenlivost rostlin s kombinací sucha a tepla. Tabákové rostliny vystavené této stresové kombinaci vykazovaly vyšší teplotu listů než rostliny vystavené pouze tepelnému stresu, pravděpodobně v důsledku neschopnosti rostlin

pod stresovou kombinací zvýšit transpiraci, protože jejich stomata jsou uzavřena (Rizhsky et al., 2002). Množství průduchů je také ovlivněno kombinací sucha a tepelného stresu. Vile a kol. (2012) uvedli, že rostliny *Arabidopsis* podrobené suchu a kombinaci sucha a tepla zvýšily jejich množství, zatímco teplo mělo opačný účinek, což naznačuje, že vývojové procesy rostlin jsou zřejmě určovány silnějším stresem. V tomto případě kombinace především suchem.

### **Vliv kombinace sucha a tepelného stresu na antioxidantní enzymy a jim příbuzné proteiny**

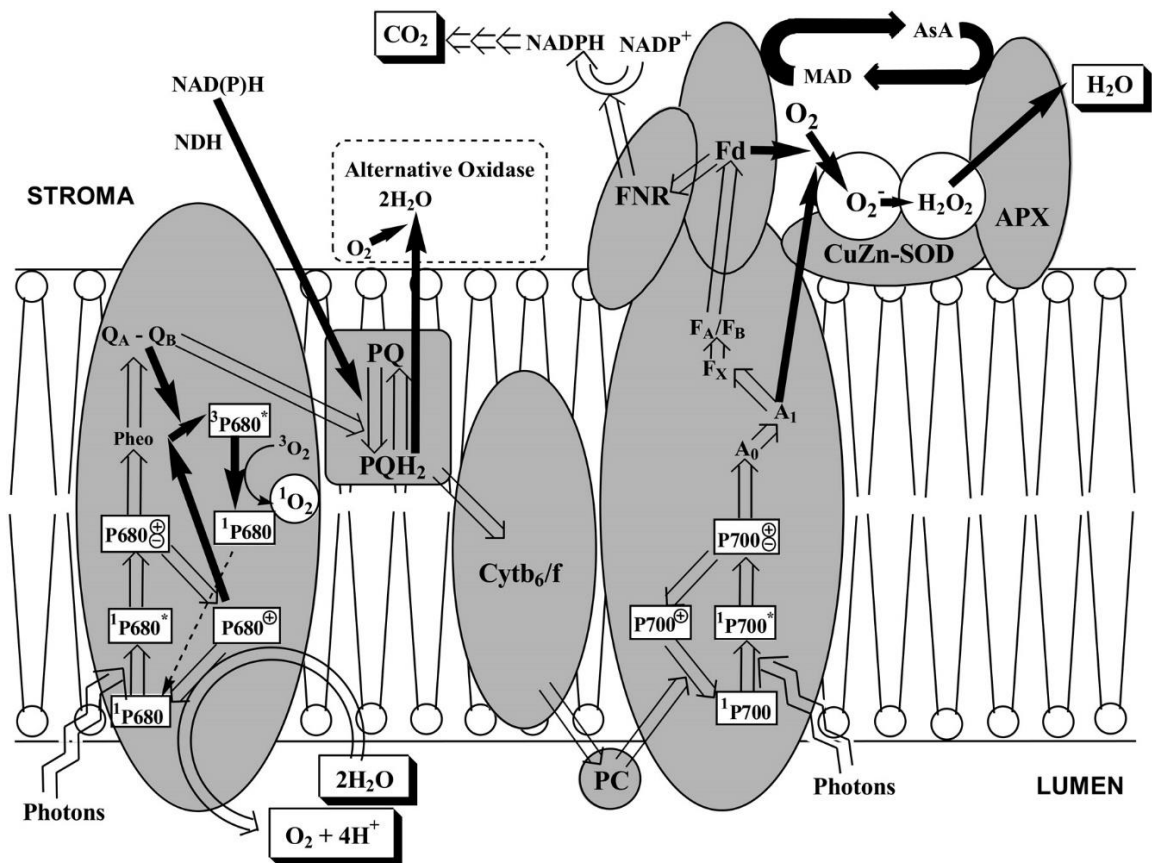
U rostlin *P. yunnanensis* vystavených kombinovanému stresu během prvního dne bylo indukováno pouze malé množství  $H_2O_2$  a  $O_2^-$ . Zároveň byly také stimulovány antioxidantní enzymy jako jsou superoxid dismutáza (SOD), katalázy (CAT) glutathion reduktázy (GR) askorbát peroxidázy (APX). Následující den se hladiny (reaktivních forem kyslíků) ROS podstatně zvýšily, ale antioxidantní enzymové aktivity se postupně snižovaly, to napovídá tomu, že antioxidantní systémy rostlin mohly být narušeny. Zajímavé zjištění bylo, že několik antioxidantních proteinů, jmenovitě 2-Cys peroxiredoxin, askorbát peroxidáza APX5, kataláza 2, glutathion S-transferáza 16 a peroxidáza 43, se dramaticky lišily v úrovni exprese. MDA se běžně používá jako index úrovně buněčné oxidace, aby odrážel stav rovnováhy ROS. Při této studii se obsah MDA u rostlin *P. yunnanensis* postupně zvyšoval v průběhu různých stresových ošetření, přičemž největší nárůst byl zaznamenán při kombinovaném stresu. Výsledky tak naznačují, že nová rovnováha ROS byla vytvořena za podmínek jediného stresoru tepla nebo sucha, aby se zabránilo oxidačnímu poškození. Při kombinovaném stresu byla nastolena nová rovnováha v časném stádiu (0–24 h), ale v pozdním stádiu (24–48 h) došlo k závažnému oxidačnímu poškození a ke zjevným fenotypovým změnám (Li et al., 2014).

## 2.4.2. Zasolení a vodní stres

### Produkce ROS během stresu ze sucha a zasolení v chloroplastech, peroxizómech a mitochondriích

#### Chloroplasty

Reakční centra fotosystému I (PSI) a fotosystému II (PSII) v thylakoidech chloroplastů jsou hlavním místem vzniku ROS. Fotoprodukce ROS je ovlivněna fyziologickými faktory a podmínkami životního prostředí. Rychlost fotoprodukce ROS se zvyšuje za podmínek vyšší intenzity fotonů, než jaká je požadována pro asimilaci CO<sub>2</sub>. Ve vodních stresových podmínkách je snížena dostupnost CO<sub>2</sub> v důsledku uzavření průduchů a vystavení nepřetržitému nadměrnému světlu, což vede k přímému přenosu elektronů směrem k molekulárnímu kyslíku, čímž se v PSI Mehlerovou reakcí vytvářejí superoxidové ionty. Membránově vázaný superoxid měď/zinek (Cu/ZnSOD) převádí v okolí PSI superoxidové radikály na peroxid vodíku a membránově vázaný thylakoid-askorbát peroxidáza (tylAPX) přeměňuje H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> na vodu. Tento proces se označuje jako cyklus voda-voda. Kyslík (<sup>1</sup>O<sub>2</sub>) se vytváří ve PSII excitovaným tripletovým chlorofylem v reakčním centru P680 a v komplexu pro sběr světla, za předpokladu, že transportní řetězec elektronů je snížen. Peroxid vodíku (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) má pozitivní vliv na snížení tvorby <sup>1</sup>O<sub>2</sub> a jeho exogenní aplikace podporuje oxidaci chinonu A (QA), primárního akceptoru elektrochinonového (PQ), který zvyšuje fotosyntetický tok transportu elektronů a snižuje tvorbu <sup>1</sup>O<sub>2</sub> během stresu (Asada et al., 2006). Cytotoxická <sup>1</sup>O<sub>2</sub> způsobuje peroxidaci lipidů a rozsáhlé poškození listových pletiv za fotooxidačních podmínek, které mohou vést k buněčné smrti. U rostlin *Arabidopsis* vyvolal fotooxidační stres v listech nadměrnou peroxidaci lipidů, která byla zprostředkována <sup>1</sup>O<sub>2</sub> a vedla k buněčné smrti (Triantaphylides et al., 2008).



Obr. 3 Produkce  $^1\text{O}_2$  v PSII a  $\text{O}_2^-$  v PSI v thylakoidech chloroplastů. (dostupné z WWW: < <http://www.plantphysiol.org/content/141/2/391.short> >)

## Peroxisomy

Peroxisomy produkují  $\text{H}_2\text{O}_2$  a  $\text{O}_2^-$  vysokou rychlostí v závislosti na metabolických procesech. Množství ROS v peroxisomech je regulováno rovnováhou mezi produkcí a jejich detoxikací. Nedostatek vody a uzavření průduchů snižují poměr  $\text{CO}_2$  ke  $\text{O}_2$  v mezofylových buňkách. Dále zvyšují fotorespiraci a produkci glykolátu v chloroplastech. Ten je v peroxisomech oxidován glykolát-oxidázou, která tak produkuje  $\text{H}_2\text{O}_2$  během fotorespirace. Dalším zdrojem produkce  $\text{H}_2\text{O}_2$  v peroxisomech je  $\beta$ -oxidace mastných kyselin. CATS vyskytující se zejména v peroxisomech jsou hlavními antioxidačními enzymy pro detoxikaci  $\text{H}_2\text{O}_2$  během zvýšené fotorespirace. APX a cyklus AsA – GSH mohou také přispět k detoxikaci  $\text{H}_2\text{O}_2$  v peroxisomech. Kyslík ( $\text{O}_2^-$ ) je produkován xanthin oxidázou (XOD) v matrici peroxisomů listů a SOD převádí  $\text{O}_2^-$  na  $\text{O}_2$  a  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Kromě toho bylo prokázáno, že environmentální stres, jako je vysoušení a zasolení, narušuje redoxní stav, inhibuje

antioxidační mechanismy a zvyšuje produkci ROS v peroxisomech (Miller et al. 2010).

## **Mitochondrie**

Mitochondrie také produkují ROS, ale v menším množství než chloroplasty a peroxizomy. Hlavním místem produkce ROS je komplex I a III, jež je součástí elektron transportního řetězce. Ubisemiquinonový produkt komplexu I a III vytváří  $O_2^-$ , který je opět redukován na  $H_2O_2$ . Zvýšené dýchání mitochondrií může přispět k tvorbě ROS během stresu přenosem elektronů z cytochromového elektronového transportního systému do  $O_2$ . Bylo potvrzeno, že produkce ROS v mitochondriích roste za podmínek abiotického stresu, zejména za sucha a zasolení (Moller et al., 2007). Atkin et Macherel (2009) uvádí, že dýchací frekvence se zvyšuje při silném suchu, protože se zvyšuje poptávka po mitochondriálním ATP, aby se kompenzovala snížená rychlost syntézy ATP chloroplastů, což způsobuje zvýšenou produkci ROS v mitochondriích. Mitochondriální alternativní oxidáza (AOX) slouží k udržení redukčního stavu fondu UQ a nižší produkce ROS v mitochondriích, zatímco Mn-SOD převádí  $O_2^-$  na  $H_2O_2$  a  $O_2$  v počátečním kroku detoxikace ROS. Studie rostlin *Arabidopsis* prokázala, že se ztrátou funkce mitochondriální AOX1 jsou tyto rostliny citlivé na kombinaci sucha a mírného světelného stresu, navíc vykazují pozměněnou expresi transkriptů účastnících se antioxidačních mechanismech v chloroplastech a mitochondriích (Giraud et al., 2008). U rostlin rajčete se ukázalo, že kultivary tolerantní vůči zasolení vykazují vyšší aktivitu mitochondriální SOD než kultivary, které jsou citlivější na zasolení (Mittova et al., 2003).

## **Difúzní omezení fotosyntézy rostlin C3 vlivem sucha a zasolení**

Kombinace sucha a zasolení vede k nízké dostupnosti vody pro rostliny. Mírný a vyšší vodní stres způsobuje uzavření průduchů, což omezuje fotosyntézu. Uzavřením průduchů se fotosyntéza většinou téměř úplně zastaví, dříve než je ovlivněn metabolismus rostliny. Dlouhou dobu se diskutuje o tom, zda zasolení a vodní stres se účastní na omezení fotosyntézy difúzním odporem nebo metabolickým poškozením. Kontrolním měření *in vitro* a *in vivo* se dospělo k závěru, že zasolení a vodní stres má vliv na difúzi  $CO_2$  v listech snížením vodivosti průduchů

a mezofylu. Zasolení a vodní stres neomezují biochemické schopnosti asimilace CO<sub>2</sub>, a to ani při nízkých a vysokých úrovních stresu. Poruchy metabolismu při silnějším stresu podněcují vznik sekundárního oxidačního stresu, a to hlavně za podmínek nadměrného osvětlení. Nepravidelné uzavírání průduchů a relativní zvýšení kožní vodivosti, vede ke snížení vodivosti mezofylu, což může způsobit podstatně nižší koncentrace CO<sub>2</sub> v chloroplastech než koncentrace CO<sub>2</sub> mezi buňkami. Měřením CO<sub>2</sub> v chloroplastech lze potvrdit, že fotosyntetická kapacita je zachována, ale fotosyntéza je omezena difuzními odpory v suchu a slabě namáhaných listech (Flexas et al., 2004).

### **Účinky zavlažování slanou vodou a s omezeným množstvím vody**

Rostliny *Pistacia lentiscus* byly ošetřeny zavlažováním do 100%, 60% a 40% zadržovací kapacity a fyziologickým roztokem stejného množství jako u kontroly po dobu 11 měsíců. Hromadění biomasy bylo více ovlivněno zavlažováním než slaností. Tolerance soli u *P. lentiscus* byla spojena s omezeným zachyceným Cl<sup>-</sup> a jeho ukládáním v kořenech. Zavlažování slanou vodou zahrnovalo nadměrnou akumulaci Na<sup>+</sup> a Cl<sup>-</sup> v listech, což přispělo k výraznému poklesu fotosyntézy. Zavlažované rostliny se silným vodním deficitem a rostliny ošetřeny solným roztokem vykazovaly během experimentu mírnou dehydrataci. V důsledku nízké dostupnosti substrátové vody vykazovaly nižší potenciál vody v listech a relativní obsah vody. Rostliny následně reagovaly uzavřením průduchů a sníženou rychlostí fotosyntézy, což omezovalo růst a výšku rostlin, zejména v prvních měsících experimentu, po kterém mohlo dojít k mírné aklimatizaci těchto rostlin. Při mírnějším nedostatku vody byla většina těchto reakcí zmírněna. Salinita vyvolala aktivní osmotickou úpravu a sníženou elasticitu listového pletiva (Alvarez et al., 2018).

### **Růst *triticum aestivum* v závislosti na zasolení NaCl a suchu**

Hamada (1996) říká, že vystavení pšenice (*Triticum aestivum*) rostoucímu zasolení NaCl, suchu a nebo obojímu současně zpomaluje růst rostliny. Navýšení obsahu chlorofylu a karotenoidů se projevuje u rostlin vystavených slanosti, suchu nebo obojím současně. Po většinu času zůstal nezměněný obsah vody v kořenech a



výhoncích. Ke značnému snížení rychlosti fotosyntézy a tempa dýchání došlo až při vysoké úrovni slanosti, ale také i snížením obsahu půdní vlhkosti. Obsah sodíku se navýšil v důsledku vystavení každému ze všech třech stresových faktorů. Výsledné rozdíly v obsahu iontu draslíku, vápníku a hořčíku též souvisely s průběhem všech tří zmiňovaných stresových faktorů.

### **2.4.3. Vliv kombinace zvýšené hladiny ozónu a nedostatku vody**

Ghosh et al. (2020) provedl experiment na kultivaru pšenice (HD 2967) při expozicích O<sub>3</sub> spolu se dvěma různými vodními režimy. Významné snížení růstu v důsledku expozice O<sub>3</sub> se prokázalo, jak u rostlin dobře zavlažovaných, tak u rostlin s vodním deficitem. Asimilační rychlost a vodivost průduchů se výrazně snížila působením kombinace stresových faktorů v porovnání s jejich kontrolními rostlinami. Ve srovnání s kontrolou byl pokles výnosu zrna o 19,8% zaznamenán u rostlin s vodním deficitem, při samotné expozici O<sub>3</sub> výnos klesl o 17,9%. Maximální pokles výnosu zrna o 43,6% byl zapříčiněn kombinací obou zmíněných stresových faktorů. Kromě toho snížená dostupnost vody kontrolovala příjem živin v kořenech, výhoncích a listech, zatímco byla pozorována vyšší akumulace uhlíku s následným zvýšením poměrů C:N a C:K v listech. Omezení příjmu živin a fotosyntetické dostupnosti oslabilo antioxidační obranný systém zkušební pšenice. Experiment ukázal, že obranný systém je obdivuhodně potlačen působením kombinace vodního deficitu a nadměrné expozice O<sub>3</sub>. Z toho lze usoudit, že omezení distribuce uhlíku má inverzní vztah mezi obranným systémem rostliny a růstem.

## **2.5. Vliv minerálních prvků na zmírnění vodního stresu**

### **Vliv křemíku na zmírnění stresu vyvolaným nedostatkem vody**

Biju et al. (2017) uvádí o křemíku (Si), že má příznivý účinek na zmírnění stresu ze sucha v rostlinách. Provedl výzkum, aby zjistil roli Si způsobené stresem ze sucha na klíčení semen a růstu sazenice čočky. Výsledky ukázaly, že během stresu ze sucha se

výrazně snížily vlastnosti klíčení semen a zvýšily koncentrace osmolytů (prolin, glycin betain a rozpustné cukry), reaktivních forem kyslíku (peroxid vodíku a superoxidový anion) a lipidových peroxidů v čočkových sazenicích. O účincích křemíku a jeho příjmu rostlinou se zajímal Ahmed et. al. (2016), který provedl pokus na pšenici (*Triticum aestivum*). Nejvyšší absorpce křemíku dosáhly rostliny ve stádiu tří listů, které byly ošetřeny křemičitým gelem. Příjem křemíku se výrazně zvýšil v reakci na zvýšení koncentrace z 0,5% na 1,5%. Ve srovnání s ostatními koncentracemi zůstal na maximu index stability listové membrány, epikutikulární vosk, relativní obsah vody a prolinu po ošetření silikagelem. Pšenice ošetřená silikagelem s 1,5% koncentrací křemíku dosáhla maximální délky klasu (14,3 cm), biologického výtěžku (7,63 g pot<sup>-1</sup>), hmotnosti sto zrn (3,97 g pot<sup>-1</sup>) a výtěžek zrn (2,46 g pot<sup>-1</sup>). Z vyplývajících výsledků se usoudilo, že silikagel by mohl být dobrou variantou aktivace s 1,5% koncentrací křemíku k založení rostliny pod stresem sucha. Biju et al., (2017) uvedl, že osmotický stres zvýšil aktivitu hydrolytických enzymů a antioxidantních enzymů. Aplikace Si významně zvýšila schopnost rostlin odolávat suchým stresovým podmínkám. Zvýšený obsahu Si se projevil zlepšením aktivity antioxidantů, hydrolytických enzymů, snížením koncentrace osmolytů a reaktivních druhů kyslíku. To již dříve potvrdil Gunes (2008), který zkoumal vliv křemíku na kultivary slunečnice během sucha. U kultivarů slunečnice se projevil nedostatek vody zvýšením odporu průduchů, obsahu peroxidu vodíku (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), prolinu a peroxidace lipidů. Po aplikaci Si se výrazně snížily jejich hladiny a zvýšil se obsah listové vody, který zmírnil poškození permeability membrány. Účinky křemíku se projeví na zvýšení aktivity katalázy (CAT), která byla výrazně snížena stresem ze sucha. Aktivita superoxididismutázy (SOD) a askorbát peroxidázy (APX) se obecně pod velkým suchem zvyšuje, ale aplikací Si došlo ke snížení jejich aktivity. U neenzymatických antioxidantů byla aktivita významně navýšena křemíkem (Si). Celkově lze shrnout, že Si zmírňuje sucho tím, že brání poškození membrány.

### **Úloha draslíku při vodním deficitu**

Draslík (K) jedním z životně důležitých prvků potřebných pro růst a fyziologii rostlin. Draslík je součástí rostlinných struktur a podílí se na regulační funkci v několika biochemických procesech souvisejících se syntézou proteinů, metabolismem uhlohydrátů a aktivací enzymů. Na K jsou závislé fyziologické

procesy, jako je stomatální regulace a fotosyntéza. V posledních desetiletí bylo zjištěno, že K poskytuje abiotickou stresovou toleranci. V podmínkách stresu ze sucha K reguluje otevírání průduchů a pomáhá rostlinám přizpůsobit se nedostatku vody. Mnoho zdrojů naznačuje, že K zvyšuje ochranu antioxidantů v rostlinách, a tak je chrání před oxidačním stresem při různých nepříznivých podmínkách. Dále tento prvek poskytuje nějakou buněčnou signalizaci samostatně nebo ve spojení s jinými signálními molekulami a fytohormony (Hasanuzzaman, 2018).

Pro neustálou výrobu energie během procesu fotosyntézy, ochlazování rostlin, transportu vody a živin je nezbytná správná regulace průduchů (otevírání a zavírání). V přítomnosti  $K^+$  jsou průduchové ochranné buňky nasyceny vodou, což umožňuje otevření stomatu a volný pohyb plynů mezi rostlinami a prostředím. Při nedostatku vody se  $K^+$  odčerpává ze svěrací buňky, díky čemuž dojde k těsnému uzavření průduchové štěrbin.  $K^+$  tedy řídí evapotranspiraci (ET) vody póry při nedostatku vody v půdním prostředí a chrání rostlinu před vodním stresem (Thomas, 2009). Nedostatečné zásobení K nepříznivě ovlivňuje funkčnost stomatu, které může vést ke zpožděnému uzavření průduchů a dokonce i k nedokončenému uzavření pórů. Hromaděním K v kořenech napomáhá osmotický gradient nasávat vodu do kořenových buněk. Snížená dodávka K v rostlině vede ke sníženému příjmu vody a rostlina je, tak vystavena vodnímu stresu způsobeným suchem (Hasanuzzaman, 2018).

### **Zmírnění vodního stresu aplikací draselných hnojiv**

Amanullah et al. (2016) říká, že draselná hnojiva je výhodné využívat pro zlepšení růstu, celkového výnosu a výnosu složek polních plodin vystavených podmínkám stresu z nedostatku vlhkosti v semiaridním klima. Na farmě Zemědělské univerzity v Pešaváru v severozápadním Pákistánu za omezeného zavlažování pole studovali reakce kukuřice (*Zea mays*L., cv. Azam) po aplikaci draslíku na list a půdu. Zlepšený růst, celkový výnos a výnos složek kukuřice se projevil na půdě ošetřené draslíkem. Ze studie dále vyplývá, že postřik aplikovaný na list v poměru 1-3% draslíku a 0,1-0,2% zinku během vegetativní fáze měl za následek lepší růst a vyšší výnos než postřik v reprodukční fázi. Listová výživa polních plodin makro a mikroživinami poskytuje zajištění základních živin a doplňuje nízké a nespolehlivé srážky v

semiaridním podnebí. Lze předpokládat, že tento druh listové výživy může být prospěšný i pro další plodiny v podobných podmínkách. Z druhého pokusu se dospělo k závěru, že aplikace draslíku při vyšší dávce ( $90 \text{ kg K ha}^{-1}$ ) ve dvou stejných poměrech po 50%, při výsevu a v 50 cm výšky rostlin, spolu s trusem skotu ( $5 \text{ t ha}^{-1}$ ) zlepšují růstové znaky kukuřice, zvyšují výnosy a komponenty výnosu za vodního stresu.

### **3. Závěr**

Udržení života na Zemi není možné bez autotrofních rostlin a procesů, které v nich probíhají. Jejich celková kapacita na zemském povrchu tvoří obrovský konvertor, který přeměňuje energii slunečního záření na energii chemických vazeb za současného uvolňování kyslíku, čehož využívají ostatní živé organismy. Zvyšující se sucho v souvislosti s globálním oteplováním na různých místech kontinentů naší planety ovlivňuje výnosy některých hospodářsky využívaných plodin, a to až o 50%. Pěstování nejen hospodářských plodin, ale i volně rostoucích rostlin v souvislosti s nedostatkem vody zvýšilo zájem vědců ke zkoumání fyziologických a biochemických procesů v rostlinách probíhajících za sucha a kombinace sucha se zasolením a vysokými teplotami. V posledních letech byly zveřejněny nejrůznější studie zabývající se problematikou produktivity a růstu rostlin za podmínek vodního deficitu. Dospělo se k závěru, že některé rostlinné hormony, jako je kyselina SA se podílí na akumulaci ABA, čímž zabrání dalším ztrátám vody za účinku vodního stresu. Podílí se i na akumulaci prolinu, který se pozitivně projevuje při toleranci rostlin vůči suchu. Prolin je pravděpodobně spouštěčem změn v genové expresi proteinů pozitivně ovlivňující stresové účinky prostředí. Určité geny a transkripční faktory se podílí na jeho obsahu při nedostatku vody, dále snižují rychlost transpirace uzavřením průduchů a podílí se na tvorbě ochranných stresových enzymů. Na zvýšené akumulaci ABA se podílí i JA, ta ovšem v uvedeném příkladu nemá vliv na stav vody v rostlinách, ale zvýšenou akumulací ABA podporuje uzavření průduchů a tak, zamezí dalším ztrátám vody. ABA může spolu s brasinollidy podněcovat zvýšený obsah prolinu a aktivity enzymatických antioxidantních enzymů. Aktivita SOD, CAT, GR, GK a dalších se podílí na detoxikaci ROS, jenž vznikají v rostlinných organelách důsledkem sucha či jeho kombinaci

s uvedenými abiotickými stresory. ROS vyvolávají oxidační stres, který vede ke ztrátě funkcí organel, úniku elektrolytů a snížení metabolické účinnosti. Nadměrné koncentrace ROS v buňkách mohou způsobit molekulární poškození proteinů, aminokyselin a lipidů, což může vést až k buněčné smrti. Jsou citovány publikace zabývající se danou problematikou, poukazují na možné využití v praxi, např. exogenní aplikace rostlinných fytohormonů pro zlepšení výnosů a růstu některých plodin. Dále uvádí možné využití transgenních rostlin, jejichž geny a transkripční faktory zvyšují obsah některých osmoticky aktivních látek jako je prolin další. Užitečným přínosem v boji s nedostatkem vody může být i aplikace draselných hnojiv spolu s kravským hnojem do půdy. Tato kombinace zlepšuje vlastnosti a schopnost půdy zadržet vodu. Presentované poznatky byly získány především ze zahraničních zdrojů literatury.

## Přehled literatury:

Ahmed M., Qadeer U., Ahmed ZI., Fayyaz-ul H. 2016. Improvement of wheat (*Triticum aestivum*) drought tolerance by seed priming with silicon, *Archives of Agronomy and Soil Science*, 62 (3), 299-315. <https://doi.org/10.1080/03650340.2015.1048235>

Alcazar R., Altabella T., Marco F., Bortolotti C., reymond M., Koncz C., Carrasco P., Tiburcio AF. 2010: Polyamines: molecules with regulatřory functions in plant abiotic stress tolerance, *Planta*, 231 (6), 1237-1249. <https://doi.org/10.1007/s00425-010-1130-0>

Al-Hakimi AMA et Hamada AM 2001. Counteraction of salinity stress on wheat plants by grain soaking in ascorbic acid, thiamin or sodium salicylate, *Biologia Plantarum*, 44, 253-261. <https://doi.org/10.1023/A:1010255526903>

Alhoshan M., Zahedi M., Ramin AA., Sabzalian MR. 2019: Exogenous Application of Salicylic Acid and Glycine Betaine as Tools to Enhance Biomass and Tolerance of Potato Cultivars, *Gesunde Pflanzen*, 71 (1), 25-35. <https://doi.org/10.1007/s10343-018-00438-2>

Alvarez S., Rodriguez P., Broetto F., Sanchez-Blanco MJ. 2018: Long term responses and adaptive strategies of *Pistacia lentiscus* under moderate and severe deficit irrigation and salinity: Osmotic and elastic adjustment, growth, ion uptake and photosynthetic, *Agricultural Water Management*, 202, 253-262. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2018.01.006>

Amanullah, Iqbal A., Irfanullah, Hidayat Z., 2016. Potassium Management for Improving Growth and Grain Yield of Maize (*Zea mays* L.) under Moisture Stress Condition, *Scientific Reports*, 6, 34627. <https://doi.org/10.1038/srep34627>

Anjum SA., Wang LC., Farooq M., Hussain M., Xue LL., Zou CM. 2011. Brassinolide Application Improves the Drought Tolerance in Maize Through Modulation of Enzymatic Antioxidants and Leaf Gas Exchange, *Journal of Agronomy and Crop Science*, 197 (3), 177-185. <https://doi.org/10.1111/j.1439-037X.2010.00459.x>

Anjum SA., Ashraf U., Tanveer M., Khan I., Hussain S., Shahzad B., Zohain A., Abbas F., Saleem MF., Ali I., Wang LC. 2017: Drought Induced Changes in Growth, Osmolyte Accumulation and Antioxidant Metabolism of Three Maize Hybrids, *Frontiers in Plant Science*, 8, 69. DOI: 10.3389 / fpls.2017.00069 Dostupné z WWW: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5292435/> >

Asada K. 2006: Production and Scavenging of Reactive Oxygen Species in Chloroplasts and Their Functions, *Plant Physiology*. DOI:

10.1104/pp.106.082040 Dostupné z WWW: <  
<http://www.plantphysiol.org/content/141/2/391.short> >

Ashraf M. et Foolad MR. 2007: Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance, *Environmental and Experimental Botany*, 59 (2), 206-216. DOI: 10.1016 / j.envexpbot.2005.12.006

Atkin OK., Macherel D. 2009: The crucial role of plant mitochondria in orchestrating drought tolerance, *Annals of Botany*, 103 (4), 581-597. DOI: 10.1093 / aob/mcn094

Awasthi R., Kaushal N., Vadez V., Turner NC., Berger J., Siddique KHM., Nayyar H. 2014: Individual and combined effects of transient drought and heat stress on carbon assimilation and seed filling in chickpea, *Functional Plant Biology*, 41 (10-11), 1148-1167. DOI: 10.1071 / FP13340

Bandruska H., Strojński A., Kubiś J., 2003: The effect of jasmonic acid on the accumulation of ABA, proline and spermidine and its influence on membrane injury under water deficit in two barely genotypes, *Acta Physiologiae Plantarum*, 25, 279-285. <https://doi.org/10.1007/s11738-003-0009-0>

Barnabas B., Jager K., Feher A., 2008: The effect of drought and heat stress on reproductive processes in cereals, *Plant Cell and Environment*, 31 (1), 11-38. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2007.01727.x>

Biju S., Fuentes S., Gupta D. 2017. Silicon improves seed germination and alleviates drought stress in lentil crops by regulating osmolytes, hydrolytic enzymes and antioxidant defense system, *Plant Physiology and Biochemistry*, 119, 250-264. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2017.09.001>

Bláha L. et al. (2011) Vliv abiotických a biotických stresorů na vlastnosti rostlin 2011. Praha: Česká zemědělská univerzita. ISBN: 978-80-213-2160-1

Bláha L. et al. (2011). Aktuální kapitoly z fyziologie rostlin a zemědělského výzkumu 2011. Praha: Powerprint. ISBN: 978-80-7427-069-7

Brestič M. et Olšovská K. (2001). Vodný stres rostlín. Nitra: SPU. ISBN: 80-7137-902-6

Carmo-Silva AE., Gore MA., Andrade-Sanchez P., French AN., Hunsaker DJ., Salvucci ME. 2012: Decreased CO<sub>2</sub> availability and inactivation of Rubisco limit photosynthesis in cotton plants under heat and drought stress in the field, *Environmental and Experimental Botany*, 83, 1-11. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2012.04.001>

Cvikrová M., Gemperlova L., Martincova O., Vankova R. 2013: Effect of drought and combined drought and heat stress on polyamine metabolism in proline-over-

producing tobacco plants, *Plant Physiology and Biochemistry*, 73, 7-15. DOI:10.1016 / j.plaphy.2013.08.005

Dai A. 2011: Drought under global warming: a review, *Wiley Interdisciplinary Reviews-Climate Change*, 2 (1), 45-65. <https://doi.org/10.1002/wcc.81>

Dai A. 2013: Increasing drought under global warming in observations and models, *Nature Climate Change*, 3 (1), 52-58. <https://doi.org/10.1038/nclimate1633>

Dong SY. Et Beckles DM. 2019: Dynamic changes in the starch-sugar interconversion within plant source and sink tissues promote a better abiotic stress response, *Journal of Plant Physiology*, 234, 80-93. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2019.01.007>

Dos Santos CM., Endres L., da Silva ACS., Silva JV., Barbosa GVD., Froehlich A., Teixeira MM. 2019: Water Relations and Osmolite Accumulation Related to Sugarcane Yield Under Drought Stress in a Tropical Climate, *International Journal of Plant Production*, 13 (3), 227-239. <https://doi.org/10.1007/s42106-019-00050-y>

Farooq M., Wahid A., Kobayashi N., Fujita D., Basra SMA. 2009: Plant drought stress: effects, mechanisms and management, *Agronomy for Sustainable Development*, 29 (1), 185-212. <https://doi.org/10.1051/agro:2008021>

Flexas J., Bota J., Loreto F., Cornic G., Sharkey TD. 2004: Diffusive and metabolic limitations to photosynthesis under drought and salinity in C (3) plants, *Plant Biology*, 6 (3), 269-279. DOI: 10.1055 / s-2004-820867

Gamble P. E. et Burke J. J. 1984. Effect of Water Stress on the Chloroplast Antioxidant System, *Plant Physiology*, 76 (3), 615-621. <https://doi.org/10.1104/pp.76.3.615>

Gao T., Wu YR., Zhang YY., Liu LJ., Ning YS., Wang DJ., Tong HN., Chen SY., Chu CC., Xie Q. 2011: OsSDIR1 overexpression greatly improves drought tolerance in transgenic rice, *Plant Molecular Biology*, 76 (1-2), 145-156. <https://doi.org/10.1007/s11103-011-9775-z>

Ghannoum o. 2009: C-4 photosynthesis and water stress, *Annals of Botany*, 103 (4), 635-644. DOI: 10.1093 / aob / mcn093

Ghosh A., Agrawal M., Agrawal SB. 2020: Effect of water stress on an Indian wheat cultivar (*Triticum aestivum* L. HD 2967) under ambient and elevated level of ozone, *Science of Total Environment*, 714, 136837. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.136837>



Gill MB., Cai KF., Zhang GP., Zeng FR. 2017. Brassinolide alleviates the drought-induced adverse effects in barely by modulation of enzymatic antioxidants and ultrastructure, *Plant Growth Regulation*, 82 (3), 447-455. DOI: 10.1007 / s10725-017-0271-6

Giraud E., Ho LHM., Clifton R., Carroll A., Estavillo G., Tan Yew-Foon, Howell KA., Ivanova A., Pogson BJ., Millar AH., Whelan J. 2008: The Absence of ALTERNATIVE OXIDASE1a in Arabidopsis Results in Acute Sensitivity to Combined Light and Drought Stress, *Plant Physiology*, 147, 595-610. <https://doi.org/10.1104/pp.107.115121>

Grigorova B., Vassileva V., Klimchuk D., Vaseva I., demirevska K., Feller U. 2012: Drought, high temperature, and their combination affect ultrastructure of chloroplasts and mitochondria in wheat (*Triticum aestivum* L.) leaves, *Journal of Plant Interactions*, 7 (3), 204-213. DOI: 10.1080 / 17429145.2011.654134. Dostupné z WWW < <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/17429145.2011.654134> >

Groden D et Beck E 1979. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> destruction by ascorbate-dependent systems from chloroplasts, *Biochemica et Biophysica Acta*, 546 (3), 426-435. [https://doi.org/10.1016/0005-2728\(79\)90078-1](https://doi.org/10.1016/0005-2728(79)90078-1)

Gunes D., Pilbeam DJ., Inal A., Coban S., 2008. Influence of Silicon on Sunflower Cultivars under Drought Stress, I: Growth, Antioxidant Mechanisms, and Lipid Peroxidation, *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 39 (13-14), 1885-1903. <https://doi.org/10.1080/00103620802134651>

Hamada AM 1996. Effect of NaCl, water stress or both on gas Exchange and grow of wheat, *Biologia Plantarum*, 38, 405. <https://doi.org/10.1007/BF02896671>

Hanna Bandruska et Andrzej Stroiński 2005. The effect of salicylic acid on barely response to water deficit, *Acta Physiologiae Plantarum*, 27, 379-386. <https://doi.org/10.1007/s11738-005-0015-5>

Hernandez-Espinoza LH., Barrios-Masias 2020: Physiological and anatomical changes in tomato roots in response to low water stress, *Scientia Horticulturae*, 265, 109208. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109208>

Hasanuzzaman M., Bhuyan MHMB., Nahar K., Hossain MS., Al Mahmud J., Hossen MS., Masud AAC., Moumita., Fujita M. 2018: Potassium: A Vital Regulator of Plant Responses and Tolerance to Abiotic Stresses, *Agronomy-Basel*, 8 (3), 31. DOI: 10.3390 / agronomy8030031

- Chen ZF., Wang Z., Yang YG., Li M., Xu BC., 2018. Abscisic acid and brassinolide combined application synergistically enhances drought tolerance and photosynthesis of tall fescue under water stress, *Scientia Horticulturae*, 228, 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.10.004>
- Jakrlová J., Kincl L., Kincl M. (2000). *Biologie rostlin*. Praha: Fortuna. ISBN: 80-7168-736-7
- Jesus C., Meijón M., Monteiro P., Correia B., Amaral J., Escandón M., Cañal M. J., Pinto G. 2015. Salicylic acid application modulates physiological and hormonal changes in *Eucalyptus globulus* under water deficit, *Environmental and Experimental Botany*, 118, 56-66. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2015.06.004>
- Kaur G., Asthir B. 2015: Proline: a key player in plant abiotic stress tolerance, *Biologia Plantarum*, 59, 609-619. <https://doi.org/10.1007/s10535-015-0549-3>
- Kim JH., Lim SD., Jang CS. 2020: *Oryza sativa* drought-, heat-, and salt-induced RING finger protein 1 (OsDHSRP1) negatively regulates abiotic stress-responsive gene expression, *Plant Molecular Biology*, 103, 235-252. <https://doi.org/10.1007/s11103-020-00989-x>
- Larcher W. (1995): *Physiological Plant Ecology*. New York: Springer-Verlag.
- Li X., Yang YQ., Sun XD., Lin HM., Chen JH., Ren J., Hu XY., Yang YP. 2014: Comparative Physiological and Proteomic Analyses of Poplar (*Populus yunnanensis*) Plantlets Exposed to High Temperature and Drought, *Plos One*, 9 (9), e107605. DOI: 10.1371/journal.pone.0107605
- Maia SD., de Andrade JR., dos Santos CM., Silva ALJ., Silva LKD., 2020: Osmoregulators accumulation minimizes the effects of drought stress in sugarcane and contributes to the recovery of photochemical efficiency in photosystem II after rewatering, *Acta Physiologiae Plantarum*, 42 (4), 62. <https://doi.org/10.1007/s11738-020-03050-y>
- Matoušková M., Ruttkay-Nedecký B., Kizek R. 2014. Antioxidační enzymy - biochemické markery oxidačního stresu [online]. Dostupné z WWW: < [http://web2.mendelu.cz/af\\_239\\_nanotech/J\\_Met\\_Nano/0314/pdf/jmn3-13.pdf](http://web2.mendelu.cz/af_239_nanotech/J_Met_Nano/0314/pdf/jmn3-13.pdf) >
- Miller G., Suzuki N., Ciftci-Yilmaz S., Mittler R. 2010: Reactive oxygen species homeostasis and signalling during drought and salinity stresses, *Plant Cell and Environment*, 33 (4), 453-467. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2009.02041.x>
- Mittler R. et Blumwald E. 2010: Genetic Engineering for Modern Agriculture: Challenges and Perspectives, *Annual Review Plant Biology*, 61, 443-462. DOI:10.1146 / annurev-arplant-042809-112416

Mittova V., Tal M., Volokita M., Guy M. 2003: Up-regulation of the leaf mitochondrial and peroxisomal antioxidative systems in response to salt-induced oxidative stress in the wild salt-tolerant tomato species *Lycopersicon pennellii*, *Plant Cell and Environment*, 26 (6), 845-856. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3040.2003.01016.x>

Moller IM., Jensen PE., Hansson A. 2007: Oxidative modification to cellular components in plants, *Annual Review of Plant Biology*, 58, 459-481. DOI: 10.1146 / annurev.arplant.58.032806.103946

Montesinos-Pereira D., Barrameda-Medina Y., Romero L., Ruiz JM., Sanchez-Rodriguez E. 2014: Genotype differences in the metabolism of proline and polyamines under moderate drought in tomato plants, *Plant Biology*, 16 (6), 1050-1057. <https://doi.org/10.1111/plb.12178>

Prasad PVV., Pisipati SR., Momcilovic I., Ristic Z. 2011: Independent and Combined effects of High Temperature and Drought Stress During Grain Filling on Plant Yield and Chloroplasts EF-Tu Expression in Spring Wheat, *Journal of Agronomy and Crop Science*, 197 (6), 430-441. DOI: 10.1111 / j.1439-037X.2011.00477.x

Procházka S., Gloser J. et al. (1998) Fyziologie rostlin. Praha: Academia. ISBN: 80-200-0586-2

Rizhsky L., Liang HJ., Mittler R. 2002: The combined effect of drought stress and heat shock on gene expression in tobacco, *Plant Biology*, 130 (3), 1143-1151. <https://doi.org/10.1104/pp.006858>

Shakeel A. A., Muhammad F., Xio-yu X., Xio-jian L. 2012. Antioxidant defense system and proline accumulation enables hot pepper to perform better under drought, *Scientia Horticulturae*, 140, 66-73. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2012.03.028>

Shinwari ZK., Jan SA., Nakashima K., Yamaguchi-Shinozaki K. 2020: genetic engineering approaches to understanding drought tolerance in plants, *Plant Biotechnology Reports*, 14 (2), 151-162. DOI: 10.1007 / s11816-020-00598-6

Schneider HS. (2011) Encyclopedia of Climate and Weather. 2. vydání, New York: Oxford University Press. ISBN: 978-0-19-976532-4. Dostupné z WWW: < [https://www.usgs.gov/special-topic/water-science-school/science/oob-h-vody-water-cycle-czech?qt-science\\_center\\_objects=0#qt-science\\_center\\_objects](https://www.usgs.gov/special-topic/water-science-school/science/oob-h-vody-water-cycle-czech?qt-science_center_objects=0#qt-science_center_objects) >

Schneider JR., Caverzan A., Cavarria G. 2019: Water deficit stress, ROS involvement, and plant performance, *Archives of Agronomy and Soil Science*, 65 (8), 1160-1181. <https://doi.org/10.1080/03650340.2018.1556789>

- Smirnoff et Colombé 1988: Drought Influences the Activity of Enzymes of the Chloroplast Hydrogen Peroxide Scavenging System, *Journal of Experimental Botany*, 39 (205), 1097-1108. <https://doi.org/10.1093/jxb/39.8.1097>
- Triantaphylides C., Krischke M., Hoerberichts FA., Ksas B., Gresser G., Havaux M. Van Breusegem F., Mueller MJ. 2008: Singlet Oxygen Is the Major Reactive Oxygen Species Involved in Photooxidative Damage to Plants, *Plant Physiology*, 148 (2), 960-968. <https://doi.org/10.1104/pp.108.125690>
- Vile D., Pervent M., Belluau M., Vasseur F., Bresson J., Muller B., Granier C., Simonneau T. 2012: *Arabidopsis* growth under prolonged high temperature and water deficit: independent or interactive effects ?, *Plant Cell and Environment*, 35 (4), 702-718. DOI: 10.1111 / j.1365-3040.2011.02445.x
- Wassie M., Zhang WH., Zhang Q., Ji K., Cao LW., Chen L., 2020. Exogenous salicylic acid ameliorates heat stress-induced damages and improves growth and photosynthetic efficiency in alfalfa (*Medicago sativa* L.), *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 191, 110206. DOI: 10.1016 / j.ecoenv.2020.110206
- Werner M. Kaiser 1987. Effects of water deficit on photosynthetic capacity, *Physiologia Plantarum*, 71 (1), 142-149. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1987.tb04631.x>
- Yang CF., Huang YZ., Lv WH., Zhang YY., Bhat JA., Kong JJ., Xing H., Zhao JM., Zhao TJ. 2020: GmNAC8 acts as a positive regulator in soybean drought stress, *Plant Science*, 293, 110442. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2020.110442>
- Zandalinas SI., Mittler R., Balfagon D., Arbona V., Gomez-Cadenas A., 2018: Plant adaptations to the combination of drought and high temperatures, *Physiologia Plantarum*, 162 (1), 2-12. <https://doi.org/10.1111/ppl.12540>
- Zhang YY., Yang CW., Li Y., Zheng NY., Chen H., Zhao QZ., Gao T., Guo HS., Xie Q. 2007: SDIR1 is a RING finger E3 ligase positively regulates stress-responsive abscisic acid signaling in *Arabidopsis*, *Plant Cell*, 19 (6), 1912-1929. <https://doi.org/10.1105/tpc.106.048488>