

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

katedra botaniky a fyziologie rostlin



**Fakulta agrobiologie,
potravinových a přírodních zdrojů**

**Vliv sucha na klíčení vybraných genotypů hrachu
(*Pisum sativum* L.)**

Bakalářská práce

**Autor práce: Karolína Humešová
Obor studia: Zahradnictví (HORTIB)**

**Vedoucí práce: prof. Ing. Václav Hejnák, Ph.D.
Konzultant: Ing. Jiří Krucký**

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci "Vliv sucha na klíčení vybraných genotypů hrachu (*Pisum sativum* L.)" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 22.4. 2024

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala panu prof. Ing. Václavu Hejnákovi, Ph.D. za vedení při psaní mé bakalářské práce. Také bych ráda poděkovala mému konzultantovi panu Ing. Jiřímu Kruckému za spoustu cenných rad, poznatků a času, který mi věnoval. Dále děkuji za poskytnutí semen hrachu pěstiteli Ing. Vítu Svatošovi ze ZEP s.r.o. Zemědělská výroba, Bezděz. Nesmím opomenout ani Ing. Janu Českou, bez které bych nemohla ve své práci zpracovat analýzu anatomických změn v pletivech kořene klíčících rostlin. Velké díky patří také mé rodině, a to především mé tetě Mgr. Heleně Chmelové, Ph.D. za tvorbu snímků klíčícího hrachu v servisní laboratoři světelné mikroskopie Ústavu molekulární genetiky AV ČR, v. v. i.

Vliv sucha na klíčení vybraných genotypů hrachu (*Pisum sativum* L.)

Souhrn

Se stále více výraznou změnou klimatu se musíme my lidé přizpůsobit. Budoucnost našeho přizpůsobení je v odolných genotypech námi užívaných plodin, které budou schopné stejné produkce jako doposud. Sucho je velmi klíčovým faktorem klimatické změny. Tato práce se zabývá suchem jako jedním z významných stresorů rostlin, zejména v období klíčení, kdy je voda velmi důležitá a nenahraditelná. Cílem práce bylo porovnání genotypů 'Astronaute' a 'Eso' hrachu setého polního (*Pisum sativum* L.) a jejich celkové reakce na laboratorně simulované podmínky sucha.

Experiment byl založen na katedře botaniky a fyziologie rostlin, FAPPZ, ČZU v Praze. Vydezinfikované osivo 1% NaClO (chlornan sodný) bylo rozděleno do tří variant roztoku polyethylene glycol-6000 (PEG) a to do variant 5% PEG, 10% PEG, 15% PEG a čtvrté kontrolní varianty ošetřené destilovanou vodou. Každá varianta byla zastoupena po pěti Petriho miskách. Semena byla umístěna do teplotně řízeného klíčícího boxu s teplotou 23 °C. Tím bylo možné dosáhnout stejných podmínek pro klíčení pro oba genotypy. Hodnocení parametrů klíčivosti probíhalo ve třech termínech (3., 5. a 7. den) od založení experimentu. Mezi hodnocenými parametry byly klíčivost semen, energie klíčení, rychlost klíčení, index klíčivosti, délka nadzemní a kořenové části. Po závěrečném měření (7. den) bylo provedeno oddělení nadzemní (shoot) a kořenové části (root), následné zvážení těchto částí a umístění do sušícího boxu. Ze suché hmoty rostlin byl stanoven poměr ROOT:SHOOT. Dále byly v rámci doplňující analýzy zkoumány anatomické řezy kořenů klíčících rostlin vystavených suchu a na nich pozorované změny v pletivech kořene.

Hypotéza experimentu byla potvrzena. Existují genotypové rozdíly v rychlosti klíčení, klíčivosti a růstových parametrech semen v závislosti na působení vodního stresu. Bylo prokázáno, že klíčivost genotypu 'Eso' byla ve všech variantách o procento až dvě vyšší než u genotypu 'Astronaute'. Se zvýšením koncentrace PEG došlo u obou genotypů k viditelnému snížení v parametrech rychlost klíčení, a také energie klíčení. Genotyp 'Eso' měl oproti genotypu 'Astronaute' výrazně nižší propad jak v energii klíčení, tak i v rychlosti klíčení ve variantě 10% PEG. Parametr index klíčivosti poukázal na skutečnost, že ve variantě 10% PEG u genotypu 'Astronaute' došlo ke snížení o celou jednotku více oproti genotypu 'Eso', avšak ve variantě 15% PEG byl tolerantnější (o desetiny) genotyp 'Astronaute'. Zajímavým zjištěním bylo také to, že kořenová část vždy dominovala ve variantách 10% a 15% PEG u obou genotypů. Genotyp 'Astronaute' měl vyšší podíl nadzemní části ve variantě Kontrola. Genotyp 'Eso' měl u všech variant po celou dobu experimentu vyšší podíl kořenové části než té nadzemní. PEG se projevil i na anatomických řezech klíčících rostlin. Celkovou vizualizací obou genotypů bylo potvrzeno, že se tolerantněji vůči suchu jevil genotyp 'Eso'.

Klíčová slova: hrách, klíčivost, vodní stres, abiotický stresor, růstové parametry

Effect of drought on germination of selected pea genotypes (*Pisum sativum* L.)

Summary

With climate change becoming more and more pronounced, we humans have to adapt. The future of our adaptation lies in resilient genotypes of the crops we use, which will be able to produce as well as before. Drought is a significant factor in climate change. This study focuses on drought as one of the major stressors on plants, especially during the germination period when water is very important and irreplaceable. The aim of this work was to compare 'Astronaute' and 'Eso' genotypes of field pea (*Pisum sativum* L.) and their overall response to laboratory simulated drought conditions.

The experiment was based at the Department of Botany and Plant Physiology, FAFNR, CULS in Prague. Disinfected seeds with 1% NaClO (sodium hypochlorite) were divided into three variants of polyethylene glycol-6000 (PEG) solution, namely, 5% PEG, 10% PEG, 15% PEG and a fourth control variant was treated with distilled water. Each variant was represented by five petri dishes. The seeds were placed in a temperature controlled germination box at 23°C. This allowed the same germination conditions to be achieved for both genotypes. Parameters of germination process were evaluated on three particular days (day 3, 5 and 7) from the establishment of the experiment. The parameters were seed germination, germination energy, germination rate, germination index, shoot and root length. After the final measurement (day 7), the shoot and root parts were separated, then weighed and placed in a drying box. The ROOT:SHOOT ratio was determined from the dry mass of the plants. In addition, anatomical sections of roots of germinated plants exposed to drought and the changes observed in the root tissues were examined as a complementary analysis.

The hypothesis of the experiment was confirmed. There are genotypic differences in germination rate, germination and growth parameters of seeds depending on water stress. It was shown that the germination rate of the 'Eso' genotype was one to two percent higher than that of the 'Astronaute' genotype in all variants. With an increase in PEG concentration, there was a visible decrease in both genotypes in the parameters germination rate, and also germination energy. The 'Eso' genotype had a significantly lower drop in both germination energy and germination rate in the 10% PEG variant compared to the 'Astronaute' genotype. The parameter germination index indicated that in the 10% PEG variant, the 'Astronaute' genotype showed a decrease by one unit more compared to the 'Eso' genotype, but in the 15% PEG variant, the 'Astronaute' genotype was more tolerant (by decimals). Another interesting finding was that the root part always dominated in the 10% and 15% PEG variants in both genotypes. The 'Astronaute' genotype had a higher proportion of shoot in the Control variant. Genotype 'Eso' had a higher proportion of root part than shoot in all variants throughout the experiment. PEG was also evident in anatomical sections of germinating plants. Overall visualization of both genotypes confirmed that genotype 'Eso' was more tolerant to drought.

Keywords: pea, germination, water stress, abiotic stressor, growth parameters

Obsah

1 Úvod	- 8 -
2 Cíl práce.....	- 9 -
3 Literární rešerše.....	- 10 -
3.1 Hrách setý (<i>Pisum sativum</i> L.)	- 10 -
3.1.1 Historie pěstování hrachu ve světě a v ČR	- 10 -
3.1.2 Botanická a morfologická charakteristika hrachu	- 10 -
3.1.3 Členění rodu <i>Pisum</i>	- 11 -
3.1.4 Registrace odrůdy	- 12 -
3.1.5 Typy osiva	- 12 -
3.2 Klíčení semen.....	- 13 -
3.2.1 Definice klíčení, průběh klíčení.....	- 13 -
3.2.2 Typy klíčení – hypogeické/epigeické	- 14 -
3.2.3 Faktory ovlivňující klíčení.....	- 15 -
3.3 Stres u rostlin.....	- 16 -
3.3.1 Obecná definice stresu	- 16 -
3.3.2 Stresové faktory – biotické/abiotické	- 16 -
3.3.3 Stresová reakce	- 17 -
3.4 Sucho	- 18 -
3.4.1 Definice sucha	- 18 -
3.4.2 Vliv nedostatku vody (sucha) na klíčení	- 19 -
3.4.3 Příjem vody rostlinou	- 19 -
3.4.4 Vliv nedostatku vody na růst rostlin	- 19 -
4 Metodika	- 23 -
4.1 Rostlinný materiál.....	- 23 -
4.2 Experimentální část	- 23 -
4.2.1 Charakteristika experimentu	- 23 -
4.3 Hodnocené parametry	- 25 -
4.3.1 Klíčivost semen	- 25 -
4.3.2 Energie klíčení	- 25 -
4.3.3 Rychlost klíčení	- 25 -
4.3.4 Index klíčivosti	- 25 -
4.3.5 Poměr ROOT:SHOOT.....	- 25 -
4.3.6 Délka nadzemní a kořenové části	- 26 -
4.3.7 Analýza anatomických změn v pletivech kořene	- 26 -
4.3.8 Mikroskopická vizualizace variability zkoumaných vzorků	- 26 -

5	Výsledky	- 27 -
5.1	Klíčivost SG	- 27 -
5.2	Energie klíčení GE	- 27 -
5.3	Rychlost klíčení GR.....	- 28 -
5.4	Index klíčivost GI.....	- 29 -
5.5	Poměr ROOT:SHOOT	- 30 -
5.5.1	Podíl ROOT:SHOOT	- 31 -
5.6	Délka kořenové části	- 32 -
5.7	Délka nadzemní části	- 33 -
5.8	Analýza anatomických změn v pletivech kořene.....	- 34 -
5.9	Mikroskopická vizualizace variability zkoumaných vzorků.....	- 35 -
6	Diskuze	- 39 -
6.1	Klíčivost, energie klíčení, rychlost klíčení, index klíčivosti	- 39 -
6.2	ROOT:SHOOT	- 40 -
6.3	Délka nadzemní/kořenové části a mikroskopická vizualizace vzorků ..	- 41 -
6.4	Analýza anatomických změn v pletivech kořene.....	- 41 -
7	Závěr.....	- 43 -
8	Bibliografie	- 44 -

1 Úvod

Změny klimatu, vyvolané jistou měrou i člověkem, mají vliv na problémy se zranitelností zemědělských systémů v souvislosti s extrémními jevy počasí (Del Buono 2021).

Stres je označován za výraznou odchylku od dokonalého života rostliny (Larcher 2003). Podle enviromentálních faktorů se stres dá dělit na stresové faktory abiotické a biotické (Aguirre-Becerra et al. 2021). Jedním z aktuálně velmi diskutovaných témat v rámci změny klimatu je jako stresový faktor uváděn nedostatek vody, který je spojen buď to s vyšší teplotou a tím i nadměrným odpařováním anebo s nižšími úhrny srážek (Larcher 2003; Shahzad et al. 2016). Do abiotických stresorů se řadí sucho vyvolávající v rostlině vodní stres. Dalšími abiotickými stresory jsou například extrémní teploty, těžké kovy, zasolení a nedostatek živin (Krucký et al. 2022; Mareri et al. 2022; Shao et al. 2022). Vznik sucha lze definovat jako lidmi vyvolané změny navzájem propojené s komplexem přírodních jevů (AghaKouchak et al. 2021).

Posuzovaný hrách setý patří mezi dlouho pěstovanou jednoletou samosprašnou kulturní rostlinu (Malý 2003). Spadá do čeledi *Fabaceae* – bobovité (Metwally & Abdelhameed 2024). Do Evropy se hrách setý dostal pravděpodobně ze Středomoří nebo západní Asie okolo 10. století, kdy byl sklizen pouze v botanické zralosti. Sklizeň v mléčné zralosti se pojí až s 15. stoletím (Malý 2003). Významnou modelovou rostlinou se stal při zakládání moderní genetiky, která se pojí s Mendelem a jeho zákony dědičnosti (Smýkal et al. 2012). O významnosti a rozšíření tohoto druhu svědčí i to, že většina evropských národů má svůj vlastní název pro hrách setý (Ludvíková & Griga 2022). Významnými producenty v EU je Německo a Francie. Česká republika je na 52 % průměrných ročních výnosů Německa a Francie. Pěstební plocha hrachu se v ČR v roce 2021 pohybovala na 38 527 ha a sklizeno bylo 104 423 t hrachu (Ministerstvo zemědělství 2022).

Nedostatek vody se na plodině projevuje nejen změnou ve struktuře samotné rostliny, ale významný vliv má na výnos a kvalitu produkce (Shahzad et al. 2016). Vlivem sucha se nemění jen výnos a kvalita, ale také růst rostlin, hladina jejich metabolitů, obsah sacharidů a bílkovin, a v neposlední řadě klíčení semen (Al-Quraan et al. 2021). Kritický je nedostatek vody ve třetí fázi procesu nasávání, ve kterém může být velmi omezena klíčivost semen (Pereira et al. 2020).

Již několik studií se zabývalo mechanismy, které rostliny používají při vodním deficitu. Získané informace jsou důležité pro naše přizpůsobení se při vývoji a výběru vůči suchu tolerantních genotypů, které zajistí stabilní výnosy a produkci i do budoucna (Krucký et al. 2022; Mareri et al. 2022).

2 Cíl práce

Klíčení semen je ovlivněno působením abiotických stresorů. Sucho, jako významný abiotický stresor, je v současné době velmi aktuální téma. Cílem práce je vyhodnotit vliv navozeného vodního stresu na semena vybraných genotypů hrachu.

Hypotézou experimentu je, že existují genotypové rozdíly v rychlosti klíčení, klíčivosti a růstových parametrech semen v závislosti na působení vodního stresu.

3 Literární rešerše

3.1 Hrách setý (*Pisum sativum* L.)

3.1.1 Historie pěstování hrachu ve světě a v ČR

Původ hrachu setého není přesně znám, ale za pravděpodobná místa se určuje Středomoří nebo západní Asie (Malý 2003). Podle Houby (2018) se tento rod objevoval na Blízkém východě, v severozápadní Africe, jihovýchodní Asii, a i v jižní Evropě. Semena hrachu byla nalezena v Sýrii v Tell El-Kerkh. Jejich stáří se datuje z dob pěstování před deseti tisíci lety. Obiloviny, čočka a hrách se staly začátkem zemědělské revoluce starého světa (Ludvíková & Griga 2022).

Hrách setý se jako kulturní rostlina řadí mezi dlouho pěstované druhy. Vypovídá o tom také pěstování za doby starověkého Řecka a Říma. Poté se dostává více do Evropy, děje se tak okolo 10. století (Malý 2003). Do Evropy přišel tento druh od jihovýchodu a následně se dostával hlouběji do evropského vnitrozemí (Ludvíková & Griga 2022). V té době je hrách sklizen pouze v botanické zralosti, to znamená v době plného vyzrání zrn, kdy jsou zrna tvrdá. Až s 15. stoletím se přichází na sklizeň hrachu v mléčné zralosti, to je v období, kdy je zrno měkké a nevyzrálé (Malý 2003).

Hrách setý hrál také svou roli při základu moderní genetiky, a to při Mendelově objevu zákona dědičnosti, právě hrách setý se stal modelovým organismem (Smýkal et al. 2012). O velkém rozšíření hrachu v Evropě svědčí také to, že většina evropských národů má vlastní název pro hrách (Ludvíková & Griga 2022).

Dnes je pěstitelsky významnými zeměmi EU především Francie a Německo. Česká republika svým průměrným ročním výnosem je na 52 % výnosů Francie a Německa. I tak je hrách setý nejrozšířenější luskovinou pěstovanou u nás, čítající 90 % všech ploch luskovin pěstovaných na zno. Přesto je hrách zastoupen v osevních sledech méně než jiné kulturní druhy. Ovšem s rokem 2021 stoupl počet na 1,6 % orné půdy. Plocha pěstovaného hrachu na orné půdě v roce 2021 činila celkem 38 527 ha, hrachu bylo celkově sklizeny 104 423 t a průměrný hektarový výnos byl 2,7 t/ha. Pro porovnání, zemědělsky vyspělé země dosahovaly průměrného hektarového výnosu 4 t/ha. Nárůst ploch se od minulých let zvýšil díky rentabilitě pěstování. Do budoucna je očekáván podobný stav pěstebních ploch. (Ministerstvo zemědělství 2022).

3.1.2 Botanická a morfologická charakteristika hrachu

Hrách setý je jednoletou, samosprašnou bylinou (Malý 2003). Podle Metwally & Abdelhameed (2024) je rod *Pisum* řazen do čeledi bobovitých (*Fabaceae*).

Kořenovou soustavu tvoří hlavní kořen a z něj vyrůstající boční kořeny, na nichž jsou upoutány hlízkové bakterie schopné přijímat vzdušný kyslík. Tím jsou významným zdrojem dusíku jak v přírodním ekosystému, tak i v zemědělském ekosystému. Hrách setý obsahuje bílkoviny, vlákninu, minerály, škrob, vitamíny a mimo jiné i isoflavonoidy, které díky svým protirakovinným účinkům a dalším schopnostem podporují lidské zdraví. Isoflavonoidy jsou například obraným mechanismem rostlin proti hmyzu a mikrobiálním organismům. Dále jsou isoflavonoidy důležitou součástí kooperace bobovitých rostlin a hlízkových bakterií. Další

druhy, u kterých se vyskytují isoflavonoidy jsou z čeledí Rosaceae, Chenopodiaceae, Apocynaceae, Pinaceae (Dixon & Sumner 2003; Smýkal et al. 2012).

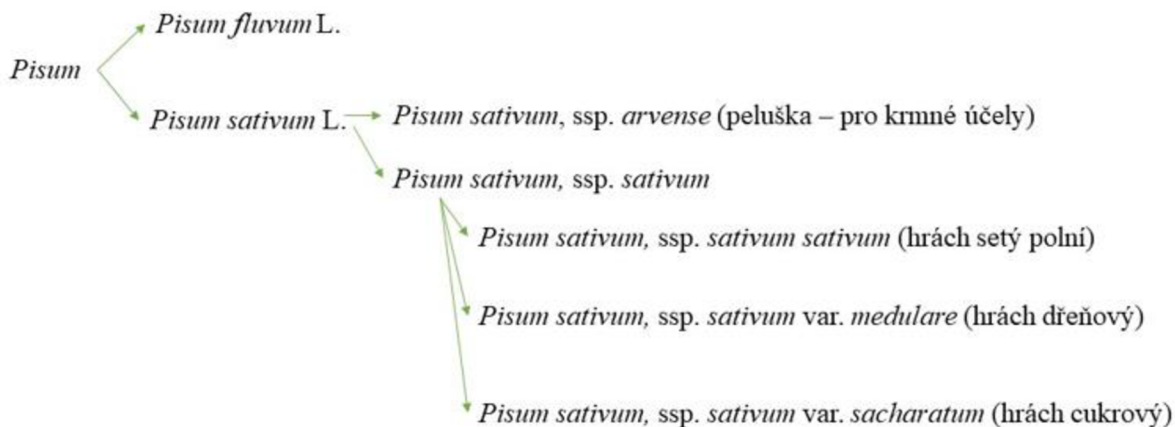
Listy hrachu jsou sudozpeřené, spirálovitě vyrůstající. Dále má hrách setý palisty, které objímají poléhavou lodyhu a úponky vzniklé přeměnou listů (Malý 2003). Dnes se s převahou pěstuje typ s úponky z přeměněných listů tzv. afile typ nebo semileafless jehož výhodami je nepoléhavost a tím i menší ztráty při sklizni. Další výhodou je lepší proudění vzduchu mezi stojícími stonky, které zlepšuje celkový zdravotní stav rostlin. Nevýhodou je zvýšená aplikace herbicidů z důvodu většího zaplevelení. Ke klíčícímu plevelu na povrchu půdy se vlivem rovných stonků hrachu dostává více světla (Houba 2018).

Nejčastěji bílé květy jsou tvořeny korunou a srůstem pěti kališních lístků. V paždí listu je po jednom, dvou nebo třech umístěn květ, který se ještě před rozkvětem opylí. Poté se květ změní ve dvouchlopnový lusk, pukající při plné zralosti ve dvou švech. Luštitelnost hrachu závisí na přítomnosti pergamenové vrstvy. V lusu se nacházejí po sedmi až osmi (někdy i 12) zrnech. Tyto semena tvoří kulaté až svrasklé tvary, světlé až tmavé zelené barvy (Malý 2003).

Nevýhodou hrachu je citlivost vůči velkému množství patogenů. Vlivem napadení se poškozují vegetativní i generativní orgány, důsledkem napadení je snížení kvality a výnosu produkce (Ministerstvo zemědělství 2022).

3.1.3 Členění rodu *Pisum*

Rod se člení do dvou botanických druhů (Obr. 1).



Obr. 1 Struktura členění rodu (zdroj: autor práce)

Prvním druhem je *Pisum fluvium* L. neboli planá forma hrachu. Vyniká řadou významných rezistencí, a proto se používá při šlechtění s druhým druhem kulturně užívaným *Pisum sativum* L. hrách setý (Houba 2018). Dle Hellwig et al. (2021) se dnešní výzkum a šlechtění hrachu zaměřuje na tolik neprobádaný divoce rostoucí druh *P. fluvium* jako zdroj pro genetické vylepšení kulturního hrachu. *P. sativum* se člení na *P. sativum*, ssp. *arvense* (peluška – pro krmné účely) a na *P. sativum*, ssp. *sativum* a ten se dále dělí do tří variant. První variantou je var. *sativum* (hrách setý polní) jehož velká většina odrůd jsou odrůdy jarní, méně pak odrůdy

ozimé. Odrůdy vynikají hladkostí semen používaných v potravinářství, ale i jako krmivo nejčastěji ve směskách (Houba 2018).

Druhou variantou je var. *medulare* (hrách dřevný). V botanické zralosti má semena svraštělá a nevhodná k vaření. Semena jsou konzumována v mléčné zralosti známá jako hrášek. Na rozdíl od předchozích dvou variant, třetí var. *sacharatum* (hrách cukrový) má semena v plné zralosti s hladkým povrchem, která jsou vhodná i k vaření. Častěji se ale tato varianta, díky absenci pergamenové vrstvy na stěnách lusku a vysokým obsahem cukru, konzumuje jako celý nezralý lusk (Malý 2003; Houba 2018).

3.1.4 Registrace odrůdy

Prvně jsou odrůdy hrachu polního jarního hodnoceny během registračních pokusů prováděných zkušebními stanicemi ÚKZÚZ a s místy s ní spolupracujícími, kdy po jejich konci teprve následuje možnost podat žádost ke zkouškám, aby odrůda mohla být zařazena do Seznamu doporučených odrůd. Do zkoušek ji má možnost přihlásit udržovatel nebo zmocněný zástupce. Zkoušky provádí zkušební stanice ÚKZÚZ a s ní spolupracující organizace se zkušebními místy. Celý proces je podroben jednotné metodice a na pokusy dohlíží pracovníci z Národního odrůdového úřadu ÚKZÚZ. Hodnotí se například parametry jako odolnost proti chorobám, především kořenových částí, odolnost proti poléhání, výnos semene, obsah dusíkatých látek a v neposlední řadě také aktivita trypsin – inhibitoru. Podle výsledků je pak po třech letech možné zařadit odrůdu do seznamu, ale pouze pod názvem – předběžně doporučené. Minimálně po čtyřletých zkouškách se odrůda na základě výsledků může označit jako doporučená (D). Odrůdou ostatní je pak nazývána odrůda, která nesplnila některé z kritérií pro doporučení. Cílem seznamu doporučených odrůd je objektivní a nezávislé přezkoumání odrůd, popis a snadnější orientace v jednotlivých odrůdách. Tyto informace jsou důležitým zdrojem nejen pro pěstitele, ale i pro zpracovatele rostlinných produktů. Seznam doporučených odrůd lze získat s každoroční obměnou na stránkách ÚKZÚZ (Mezlik 2020; ÚKZÚZ 2023).

Postup je zakotven v zákoně č. 219/2003 Sb., o uvádění do oběhu osiva a sadby pěstovaných rostlin a o změně některých zákonů (zákon o oběhu osiva a sadby).

3.1.5 Typy osiva

Hrách setý je množen generativně semenem. Množené osivo je zařazeno do jednotlivých kategorií v rámci jednoho genotypu podle stupně množení. Počátečním stupněm je superelita. Z dále množené superelity vzniká kategorie elita, která je užívaná pro udržovací šlechtění daného genotypu zapsaného v Seznamu odrůd. Množením elity vzniká certifikované osivo běžně používané v praxi. Nejen u registrace odrůdy ale i u jednotlivě odstupňovaných kategorií množitelských porostů provádí evidenci a kontrolu ÚKZÚZ. Mimo běžně produkované osivo se smí u hrachu vyrábět i tzv. farmářské osivo. Jedná se o osivo, které si pěstitel získá z rostlin vzniklých z osiva známého původu. Tato skupina má jasně vymezená pravidla. Z osiva se mimo jiné platí licenční poplatek majiteli odrůdy. Vypěstované farmářské osivo je určeno pouze pro vlastní potřebu, nelze s ním za žádných podmínek obchodovat (Houba 2018).

3.2 Klíčení semen

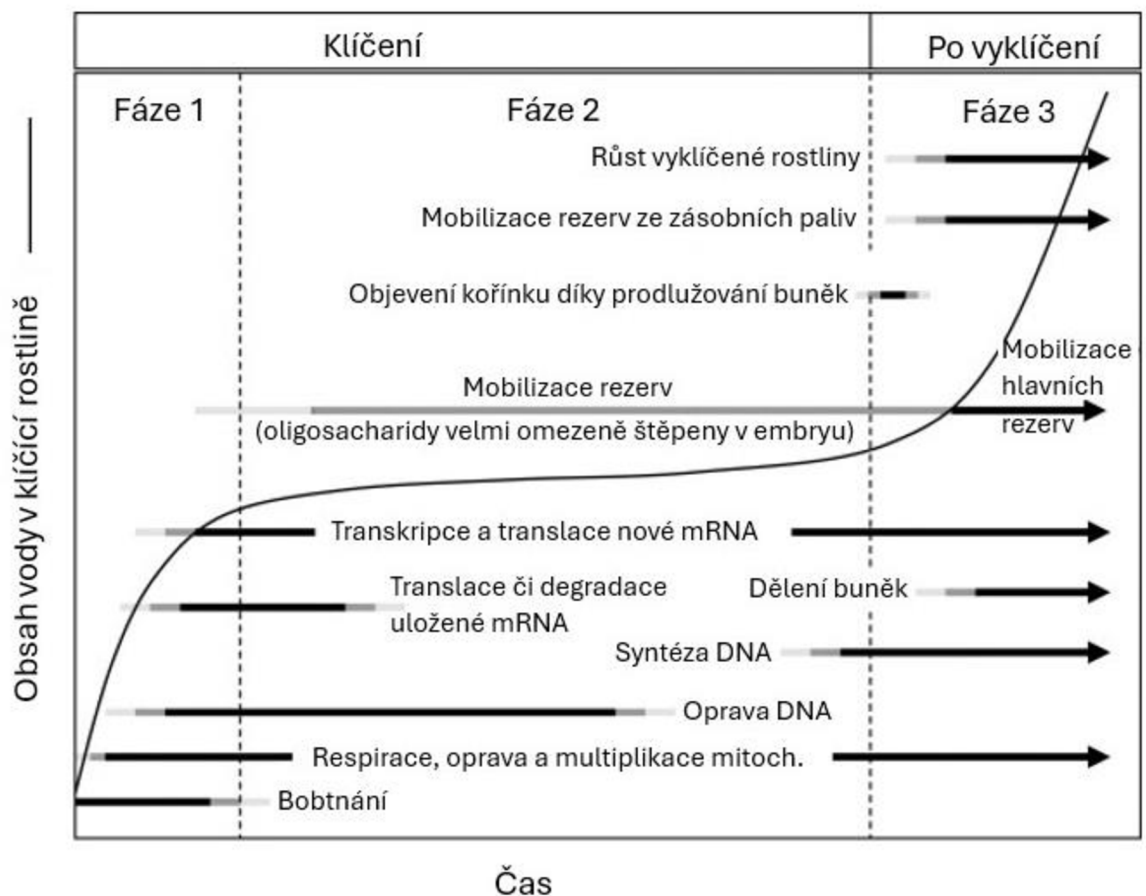
3.2.1 Definice klíčení, průběh klíčení

Klíčení semen, můžeme charakterizovat jako proces závisící na vnějších podmínkách a na vnitřních vlastnostech semene. Příkladem vnějších podmínek jsou světlo, teplo a voda (Bláha & Šerá 2014).

Klíčení je období, kdy semeno pomocí příjmu vody přechází z klidového stavu do stupně životaschopného metabolismu. Proces klíčení končí v době, kdy se začíná prodlužovat embryonální osa, nejčastěji prodlužováním kořínku. Samotný proces klíčení zahrnuje množství biologických, biochemických a fyzikálních procesů (Ehrenbergerová 2014). Detailnější popis procesu klíčení je znázorněn v Obr. 2.

Při klíčení semen dochází k rozpadu endospermu, děje se tak díky rovnováze fytohormonů, světla a teploty. Kyselina abscisová, gibbereliny a další fytohormony se podílejí na prasknutí semene. Světlo a teplota usměrňují cesty fytohormonů, které vyvolávají jak dormanci, tak i klíčení semen, pomocí syntézy ROS (Farooq et al. 2022).

Dle Houby (2018) snese hrách setý při raných fázích vývoje nízké teploty. Počátek klíčení hrachu je již při 1 °C. Optimální teplotou je 14–18 °C. Rostliny snesou i snížení teploty na – 5 °C. Pokud mluvíme o klíčení u cukrového hrachu, měli bychom počítat s teplotou 6 °C a více (Malý 2003).



Obr. 2 Fáze klíčení (upraveno: Nonogaki et al. 2010)

3.2.2 Typy klíčení – hypogeické/epigeické

Rostliny se od sebe liší nejen samotným tvarem semen, ale i rozdílnými strukturami embrya uvnitř semene. Zjednodušeně se semeno skládá z embrya, endospermu, perispermu a testy. Samotné embryo se skládá z embryonální osy a z jedné nebo více děloh. Větší počet děloh mají jehličnany. Embryonální osu tvoří embryonální kořen, hypokotyl s děložními listy a vzrostný vrchol s prvním pravým listovým primordiím. Jednotlivé části embrya jsou lépe viditelné na dvouděložných embryích. Mezi hlavní funkce endospermu během klíčení patří zajišťování zásob a regulace vodní rovnováhy embrya (Bewley et al. 2012).

Epigeické a hypogeické klíčení se navzájem liší prostředím vývoje děložních lístků při klíčení. Při epigeickém klíčení se tedy děložní lístky vyvíjejí nad zemí a první článek (nadděložní článek) stonku se nazývá hypokotyl. U hypogeického klíčení se děložní lístky vyvíjejí pod zemí a první článek stonku je označován jako epikotyl (Obr. 3). Ten se nachází mezi dělohami a kořínkem. U hypogeického klíčení se děložní lístky vyvíjejí pod zemí a nad půdou se nachází už pravé listy. Hrách setý má hypogeické klíčení (Malý 2003). Detailnější pohled na rozdílnost epigeického a hypogeického klíčení je u Obr. 4, kde je porovnáván rozdíl mezi genotypem hrachu 'Astronaute' a sójou genotypem 'Mayrika'.

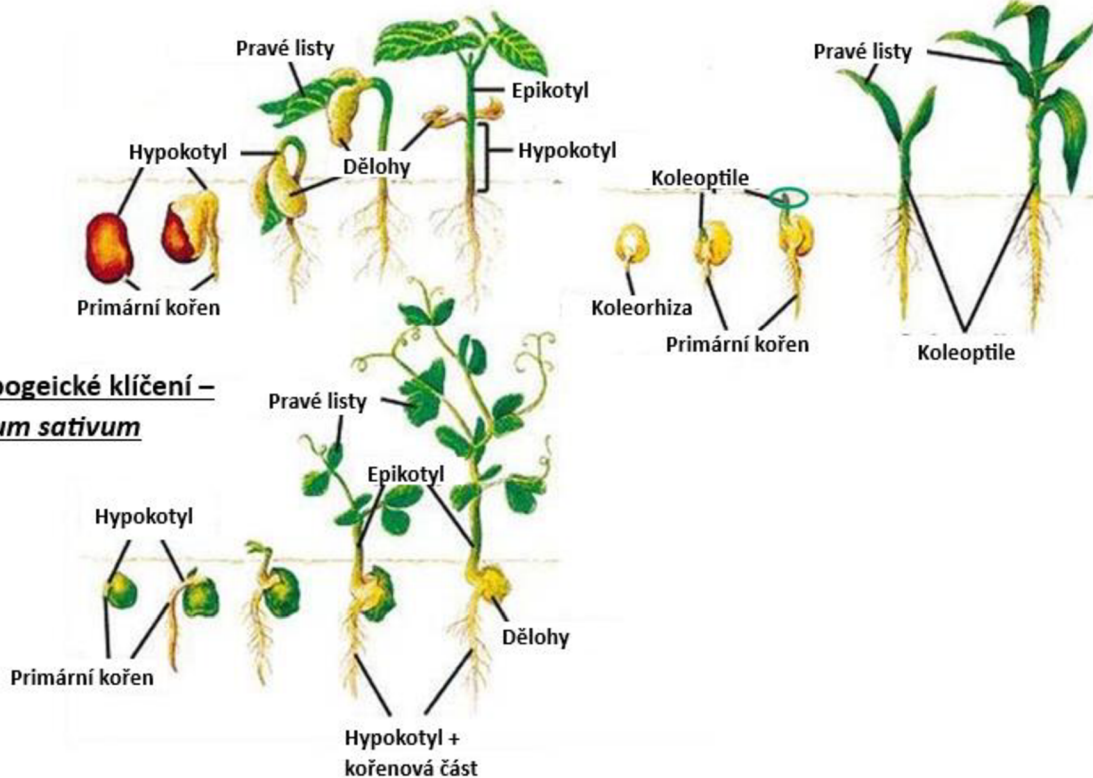
Klíčení DVOUDĚLOŽNÝCH rostlin

Klíčení JEDNODĚLOŽNÝCH rostlin

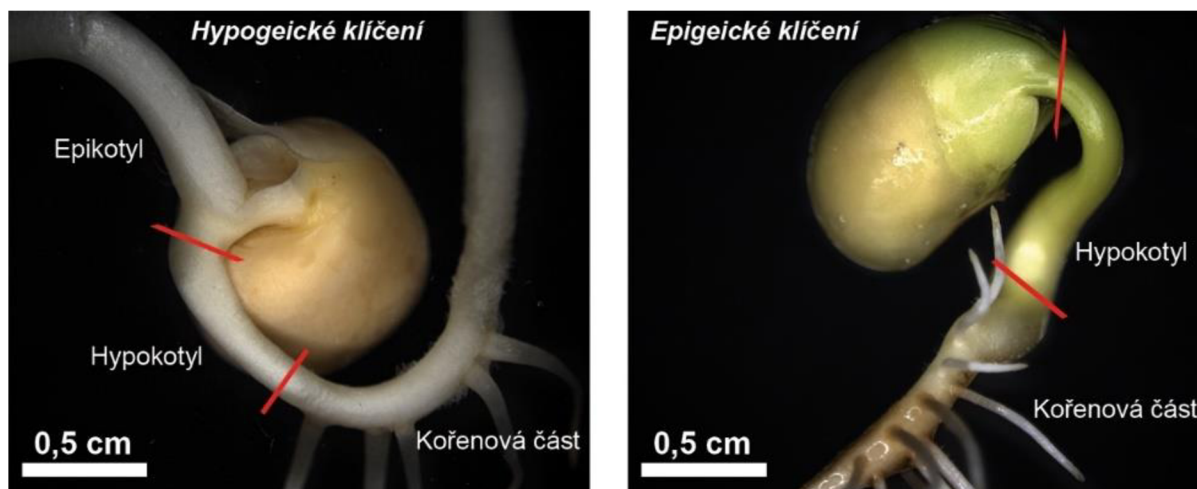
Epigeické klíčení – *Phaseolus vulgaris*

Hypogeické klíčení – *Zea mays*

Hypogeické klíčení – *Pisum sativum*



Obr. 3 Klíčení jednoděložných a dvouděložných rostlin (upraveno: Moore et al. 1995)



Obr. 4 Rozdíl mezi hypogeickým klíčením hrachu genotypu 'Astronaute' a epigeickým klíčením sóji genotypu 'Mayrika' (zdroj: autor práce)

3.2.3 Faktory ovlivňující klíčení

Proto aby semena vyklíčila potřebují vhodné vnější podmínky. Základem je dostatek vody pro příjem do semene a s tím spojené bobtnání a další vývoj klíčku. Dalšími faktory je přístup vzduchu, teplota pohybující se okolo 15–30 °C (záleží na druhu semen) a v neposlední řadě i na světelných podmínkách (Ehrenbergerová 2014).

Vlivem domestikace (*P. sativum*), ztratila semena schopnost dormance. Endosperm neboli obal semene krytosemenných rostlin, pochází z mateřské rostliny. Ta má klíčovou roli při vývoji semene, chrání embryo, usnadňuje šíření semen, ale hlavně obstarává klíčení a dormanci semen. V procesu domestikace byli změněny vlastnosti právě mateřských rostlin (Zablatzká et al. 2021).

Mezi základní vlastnosti semen se řadí klíčivost a vitalita semen. Vlastnosti semen jsou ovlivňovány například genotypem nebo původem rostliny, ale i třeba vlivem zemského magnetismu. Nezávisle na dormanci byla pozorována změna klíčivosti v jednotlivých měsících roku. Největší klíčivost byla na jaře a v létě, naopak minimální klíčivost byla v lednu a únoru. Průběh klíčení během roku se skoro shoduje s průběhem magnetické deklinace. Magnetická deklinace je úhel mezi magnetickým polem Země a zeměpisným polem. Pouze malá část genotypů má konzistentní klíčení během roku. V praxi by tento jev mohl znamenat rozdílné výsledky u genotypů s velkou variabilitou klíčivosti testovaných pro certifikaci osiva, pokud by osivo bylo testováno na začátku nebo konci roku. (Bláha & Hermuth 2016).

Hodnocení klíčení probíhá na základě procenta klíčivosti a rychlosti klíčení, u které se posuzuje objektivita, uniformita, rychlost a kvalitní vysvětlení. Vyjádřením podílu klíčivých semen vyklíčených za dobrých podmínek v určitém časovém úseku v testovém vzorku charakterizujeme pojem procenta klíčivosti (Ehrenbergerová 2014). Neboli kolik procentuálně vyklíčí semen v daném čase za příhodných podmínek (Bláha & Šerá 2014).

Vzorek pro stanovení procenta klíčivosti hodnotíme na konci předem stanoveného období. Problémem je však rozdílná intenzita růstu, a proto se hodnotí i rychlost klíčení, která je posuzována na základě hodnoty energie klíčení dle metodik ISTA. Existují dva pohledy na klíčivost semen. Fyziolog posuzuje snížení klíčivosti semen pouze o semena dormantní a neživá. Z pohledu semenáře snižují klíčivost i semena u poškozených či anomálních jedinců, proto se jako klíčivá semena započítávají pouze semena produkující životaschopné jedince (Ehrenbergerová 2014).

3.3 Stres u rostlin

3.3.1 Obecná definice stresu

Odvozením od latinského *stringere* můžeme slovo stres v překladu vnímat jako nesnáze nebo úzkost. Stres je podstatnou odchylkou od ideálního života rostlin, tomuto tvrzení odpovídá řada definic. Stresem jsou vyvolávány změny a reakce celé rostliny. Změny a reakce mohou být krátkodobého nebo stálého charakteru. Přesáhnutím hranice adaptační schopnosti rostlin se reakce projevuje chronickým onemocněním nebo nevratným poškozením (Larcher 2003).

Lichtenthaler (1996) popisuje stres jako nepříznivý stav nebo látku, která jakýmkoliv způsobem ovlivňuje nebo omezuje vývoj, metabolismus nebo růst rostlin.

Stres můžeme dělit podle síly a délky na eustres a distres. Při eustresu dochází k aktivaci sekundárního metabolismu, naproti tomu distres je stavem destruktivním a může vést až ke smrti rostliny (Galviz et al. 2022). Dělení na eustres a distres je blíže znázorněno v Obr. 5 Dělení stresu pod kapitolou Stresová reakce.

Opakovaným vystavením enviromentálnímu stresu, který rostlina vždy přežije se spouští reakce umožňující adaptaci a ochranu. Enviromentálním stresem jsou míněny negativní vlivy vnějšího prostředí jako je například sucho, škůdci, patogeny nebo chlad (Hilker et al. 2016; Harris et al. 2023). Farooq et al. (2009) uvádí, že mezi adaptační mechanismy patří změny ve velikosti listové plochy a změny otevírání průduchů vedoucí ke snížení transpirace.

3.3.2 Stresové faktory – biotické/abiotické

Stres můžeme také dělit dle enviromentálních faktorů na stresové faktory abiotické a biotické, při jejich účincích mimo jiné pozorujeme rostlinné reakce ve formě produkce sekundárních metabolitů (Aguirre-Becerra et al. 2021).

Galviz et al. (2022) uvádí jako stresory všechny abiotické i biotické faktory. Na suchozemské rostliny působí abiotické a biotické stresy. Mezi abiotické stresy řadíme sucho, chlad, extrémní teploty, těžké kovy, vysoké zasolení, ozón, UV záření, nedostatek živin (Shao et al. 2022; Mareri et al. 2022). Mezi hlavní abiotické stresory patří sucho, které v rostlině vyvolá vodní stres. Bojem proti negativním účinkům sucha je pěstování tolerantních genotypů vybraných na základě hlubokých znalostí fyziologického chování rostlin daných genetickou výbavou. Genotypy tolerantní vůči suchu jsou budoucí nutností pro stabilní produkci a výnosy plodin (Krucký et al. 2022).

Dnes patří mezi velmi diskutovaný stresový faktor nedostatek vody, ať už je zapříčiněn vyšší teplotou nebo nižšími úhrny srážek. Důsledky nedostatku vody přijímané rostlinou mají

nejen vliv na změny v rostlině samotné, ale mají také významný vliv na výnosy sklizně a na kvalitu produkce (Shahzad et al. 2016).

Mareri et al. (2022) zjišťují, že jak přímá, tak nepřímá změna klimatu má velký vliv na abiotické stresy, a tím i vliv na samotný růst rostlin a jejich následnou produkci.

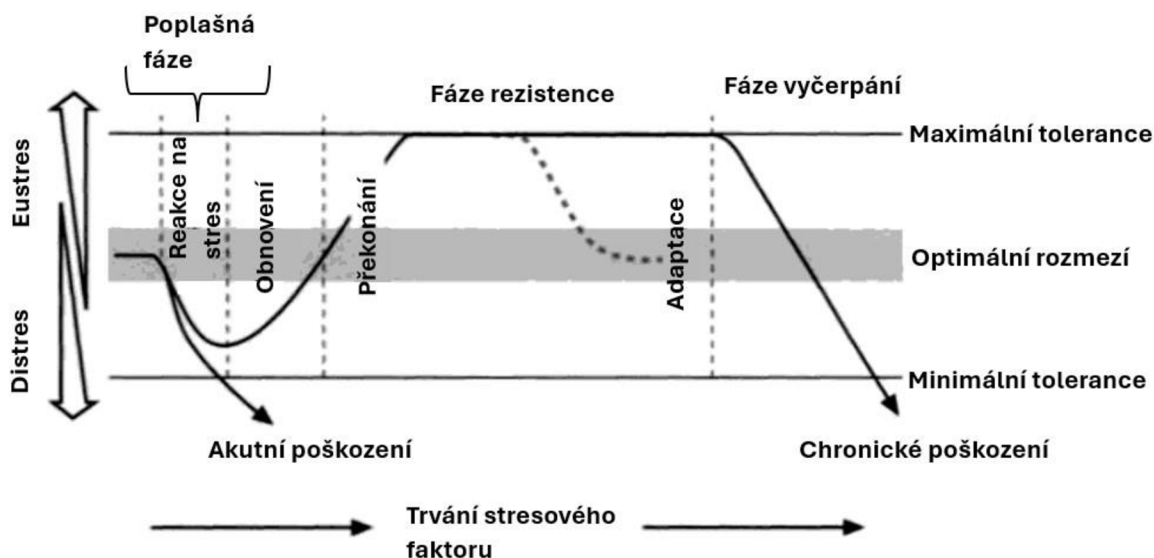
Mezi biotické faktory patří napadení rostlin býložravci nebo mikrobiálními patogeny. Rostliny, ale odpovídají řadou obraných mechanismů, kterými se brání napadení. Může se jednat buď o předem připravený mechanismus, na ten rostlina ukládá sekundární toxické metabolity, nebo vyvolaný, na který rostlina reaguje obranou po odhalení útoku ze strany patogenu (Chowdhury et al. 2021). Podle Pathak et al. (2022) dochází i k interakci rostlin a mikrobiálních společenstev. Z této sounáležitosti mají obě strany prospěch a rostliny jsou vyrovnanější vůči biotickým i abiotickým stresům.

3.3.3 Stresová reakce

Rostlinná reakce se odvíjí podle délky a intenzity působícího stresu, genotypu rostliny, kombinace působících stresů a vývojové fáze rostliny (Demirevska et al. 2009; Mareri et al. 2022).

Počáteční fází stresové reakce je fáze poplachová nebo také poplašná (Obr. 5). Při této fázi nastává destabilizace nejen biochemických procesů, ale také dochází ke změnám na úrovni biomembrán a proteinů. Pokud je stresový defekt rozsáhlý, může se závažně narušit buněčná integrita. Rostliny našly způsob, jak se stresem vyrovnat, a to ve formě obraných opatření. V případech, kdy se nemění intenzita stresu rostliny, nastartují své reparační procesy. Příkladem může být syntéza ochranných látek a proteinů. Se zvyšující se odolností se proces přesouvá do fáze rezistence. V této fázi mohou nastat dvě možnosti. První je, když se rostlina dostane do stavu "přizpůsobení", kdy jsou její životně důležité funkce v normálu i třeba za přítomnosti stresu. Druhá možnost je zároveň přechodem do závěrečné fáze vyčerpání, kdy rostlina čelí stresu, který se zvýšil anebo trvá moc dlouhou dobu. Tato fáze může být pouze dočasná, ale pokud je překročena určitá hranice může vést následek stresu k trvalému poškození nebo dokonce ke smrti rostliny (Lichtenthaler 1996; Larcher 2003).

Přesto mají rostliny do určité míry schopnost adaptace, například změnou růstu nebo i samotnou změnou struktury rostlinného těla. Další možnou přeměnou prochází osmotický potenciál pletiv a antioxidační obranyschopnost (Duan et al. 2007). Tolerance vůči suchu je ovlivňována mnoha geny, jedná se tudíž o komplexní strukturu genů, na které navazuje množství reakcí. Tyto reakce se mohou lišit nejen vzájemně, ale také typem intenzity a trváním vodního deficitu (Hellal et al. 2018). Hlavními dvěma složkami, které ovlivňují fenotyp (soubor znaků) jsou prostředí a genotyp. Znaky agronomicky významné a kvantitativně děděné (dají se změřit, poměřit) jsou často ovlivněny faktory prostředí (Hittalmani et al. 2003).



Obr. 5 Dělení stresu (upraveno: Larcher 2003)

3.4 Sucho

3.4.1 Definice sucha

Sucho jako jeden z faktorů vyvolávající u rostlin stres je zde definováno jako málo vody ve vhodném termodynamickém stavu. Tento stres může být vyvolán mnoha důvody jako je suchost půdy, vysoký výpar, v zasolených a zmrzlých půdách osmotické vazby půdy. Sucho z pohledu nedostatku vody v půdě můžeme definovat i takto. Rostliny trpí nedostatkem vody, protože se její obsah v půdě vlivem sucha silně snížil. Sucho je ve velkém rozsahu kombinací nadměrného odpařování a mála srážek (Larcher 2003)

Podle AghaKouchak et al. (2021) je předchozí definice nedostatečná. Tito autoři, zjednodušeně řečeno uvádí, že sucho je souhrnem vzájemně propojených přírodních jevů a lidmi vyvolaných změn, které se řídí přirozenou proměnlivostí vody, změnou klimatu, lidskou činností v rámci hospodaření s půdou a vodou, které vedou ke změně mikroklimatu. Snahou bylo poukázat na zpětné vazby a procesy v systému člověk – příroda vytvářející rozvoj antropogenního sucha. Kvůli člověkem vyvolaným změnám klimatu nastávají problémy v zemědělských systémech, které jsou zranitelné vůči extrémním jevům počasí (Del Buono 2021).

Na problém sucha vyvolávajícího vodní stres se můžeme dívat dvěma pohledy. Z pohledu agronoma je sucho závažné z důvodu výnosu plodin. Fyziolog na problém nahlíží tak, že navrhuje odolné rostliny vůči prostředí stresovanému nedostatkem vody (Luo 2010; Blum 2018). Prvopočátkem stresu ze sucha je měnící se klima, při němž dochází k nedostatku půdní vody. Základem již několika studií bylo zjistit mechanismy, které rostlina při nedostatku vody použije. Tyto poznatky jsou důležitým základem pro naše přizpůsobení, dále také pro výběr a vývoj námi používaných plodin (Mareri et al. 2022).

3.4.2 Vliv nedostatku vody (sucha) na klíčení

Sucho má vliv na hladinu metabolitů, klíčení semen, růst, obsah sacharidů a bílkovin. Dvacetiprocentní kapacita půdní vody je hraniční hodnotou. Pokud se hodnoty půdní vody vyskytují pod touto úrovní u (*P. sativum*) je vidět výrazný pokles procenta klíčivosti (Al-Quraan et al. 2021).

Snížení procenta klíčivosti může být způsobeno prodloužením období ve třetí fázi procesu nasávání, kdy semeno intenzivně nasává vodu a kořínek začíná prorůstat semenem do vnějšího prostředí. V laboratorních podmínkách je sucho simulováno pomocí roztoků polyethylenglykolu. Kvůli své vysoké viskozitě se neabsorbují, a navíc omezuje rychlost difúze O₂, čímž ohroží dostupnost kyslíku v rostlině (Pereira et al. 2020).

Bewley & Black (1994) uvádí, porozumění fyziologie klíčení má zásadní význam pro zemědělství a zahradnictví, a to především z hlediska klíčivosti semen.

3.4.3 Příjem vody rostlinou

Kořenové vlásky nacházející se na kořenech rostlin jsou nejvíce vodu poutající částí rostlinného těla. Hustota a místo vzniku kořenových vlásků má zásadní vliv na příjem vody rostlinou. Ekologické podmínky místa růstu dané rostliny ovlivňují rozsah kořenů. Voda do kořenových vlásků proudí přes lipidovou vrstvu na základě gradientu vodního potenciálu mezi půdou a kořenovými buňkami. To znamená, že rostlina čerpá vodu z půdy jen za předpokladu, že je vodní potenciál kořene nižší než vodní potenciál půdy (Bhatla & Lal 2023). Papendick & Campbell (1981) vysvětlují vodní potenciál jako sumu sil, které ovlivňují nebo zadržují vodu.

Udržení požadovaného vodního potenciálu je v půdním prostředí komplikované, využívá se proto různých osmotických materiálů vytvářejících osmotický potenciál. Simulace sucha pomocí těchto látek je jednou z neúčinnějších metod pro výzkum dopadů sucha na klíčící rostliny (Ibrahim et al. 2001). Mezi osmotické látky patří například Polyethylenglykol 6000 zkráceně PEG, který je sloučeninou, která kvůli své vysoké molekulové hmotnosti nemůže projít buněčnou stěnou rostlin. Proto ovlivňuje vodní potenciál při simulaci sucha. Ovlivňuje proudění vody mezi roztokem a rostlinou buněčnou stěnou (Hellal et al. 2018; Batoool et al. 2022).

Okçu et al. (2005) pomocí experimentu zjistili, že se během simulovaného sucha pomocí roztoku látky polyethylenglykol, bylo ovlivněno nejen samotné klíčení, ale i potlačení růstu nadzemní části v porovnání s růstem kořenů.

3.4.4 Vliv nedostatku vody na růst rostlin

Na projevy sucha rostliny reagují specifickým řetězcem chování ve snaze přežít. (Anjum et al. 2011). Rostliny se brání stresu ze sucha pomocí komplexních mechanismů. Nejvýznamnějšími z nich je tolerance sucha a vyhýbání se suchu. Tolerancí rostlin vůči suchu se rozumí odolávání dehydrataci pomocí fyziologických procesů, například použitím osmolytů. Vyhýbání se suchu je následným pokračováním započatých fyziologických procesů. Příkladem je třeba regulace průduchů a vývoj kořenového systému (Manavalan et al. 2009; Luo 2010; Ilyas et al. 2021).

Vliv nedostatku vody se nejen projevuje změnou růstu, ale také změnou reprodukce rostlin, snižováním chlorofylu a dalších rostlinných pigmentů. V konečném dopadu to má vliv na výnos a kvalitu plodin (Shahzad et al. 2016).

Vodní deficit narušuje optimální výměnu plynů, a to má v konečném výsledku vliv na výnos plodin a celkový růst rostlin (Farooq et al. 2009). Výměna plynů se omezí jedním ze základních mechanismů a tím je stočení listů a uzavření průduchů. Tak se rostlina brání výparu. Po určité době dochází k nedostatku CO₂. Oxidační stres neboli nadbytek reaktivního kyslíku je pro rostliny až smrtelný (Shahzad et al. 2016).

Sucho se prokazatelně projevuje i na buněčné úrovni, kde se rostliny snaží řídit produkci a spotřebu reaktivního kyslíku. Další zkoumanou reakcí je hromadění osmolytů s cílem oddálit dehydrataci. Celkově se také zhoršuje efektivní využití vody (Anjum et al. 2011).

3.4.4.1 Morfologická reakce

Pod morfologickou reakcí zahrnujeme viditelné změny na růstu a výnosu rostlin. Sucho působí na růst a vývoj buněk. Nebezpečnou změnou je snížení turgoru. Dále se inhibuje prodlužování buněk a narušuje buněčná mitóza. Tím je možné vidět následky i pouhým pohledem. U rostlin můžeme sledovat menší velikost, počet a životnost listů (Anjum et al. 2011). Vliv na růst listu je jednou z prvně se vyskytujících morfologických reakcí, která je jasnou negativní známkou sucha. Snížení listových přírůstků je ještě dřívějším projevem než snížení procesu fotosyntézy (Farooq et al. 2009). S nedostatkem vody listy vadnou a okraje žloutnou. To se poté projeví na celkové produktivitě rostlin, avšak rostliny mají řadu adaptací jako je například vznik silné vrstvy kutikuly na listech za účelem nižší transpirace, nebo další adaptační mechanismy jako je snížení počtu průduchů, drobnější a silnější listy a více trichomů. (Ilyas et al. 2021)

Se snížením listové plochy se snižuje proces fotosyntézy. Následujícím viditelným dopadem sucha je snížení celkové velikosti rostliny. Následně se kvůli těmto okolnostem sníží produkce čerstvé a suché biomasy. S tím se sníží související výnos v důsledku uzavření průduchů a nedostatku vody v půdě, kdy se snížil obsah oxidu uhličitého a tím se snížila fotosyntéza. Nedostatek vody má také neblahý dopad i na produkci květů, který se projeví na menším výnosu. Sucho dále způsobuje potlačení produkce sušiny. U výnosu zrna dochází ke snížení velikosti a počtu zrn, v důsledku snížení asimilátového dělení a aktivity enzymů (Anjum et al. 2011).

3.4.4.2 Fyziologická reakce

Výraznou fyziologickou reakcí je změna v otevírání a zavírání stomat. Ta jsou mnohem více ovlivňována suchem než ostatní části rostlinného těla. Efektivnějšími vůči ztrátám vody jsou rostlinné druhy odolné vůči suchu, avšak i pod velkým nápořem sucha se předtím tak účinné snížení ztrát velmi zhoršuje a účinek se snižuje. S otevíráním a zavíráním průduchů souvisí fungování kořenové signalizace. V podmínkách vodního deficitu jsou vysílány signály vedoucí od kořenů pomocí xylému do výhonků (nadzemních částí). Tímto způsobem pomáhají cytokininy, které se tvoří v kořenech, se signalizací sucha (Anjum et al. 2011).

Podle Castro-Valdecantos et al. (2021) s vysycháním půdy se snižovala koncentrace cytokininů v xylému. V každém případě bylo zjištěno, že se zvyšujícím suchem v půdě, se vlivem cytokininů může zesilovat otevírání průduchů anebo nikoli. Vše záleží na typu cytokininu, jeho koncentraci a reakci jednotlivých druhů rostlin.

Mezi další látky přispívající signalizaci patří ethylen, malát a další dosud neidentifikované faktory. Důležitou obrannou reakci plní i kyselina abscisová (ABA), která napomáhá odtoku iontů K^+ z ochranných buněk (stomatálních buněk). S odtokem K^+ iontů dochází ke ztrátám vnitřního tlaku, tím následnému uzavření průduchů a snížení ztrát vody. Avšak bylo zjištěno, že ABA se nepodílí na signalizaci mezi kořenem a nadzemní částí. Celkově je ale velmi významná pro kontrolu růstu a transpirace (Anjum et al. 2011; Wach & Skowron 2022). Rostlinám vystaveným suchu se snížil vodní potenciál a relativní obsah vody. Naopak se současně zvýšila teplota listů. Všechny tyto jevy jsou následkem nižší rychlosti fotosyntézy (Siddique et al. 2000).

Následkem uzavření průduchů dochází ke zvýšení respirace a snížení transpirace tím se vysvětluje pokles CTD (Canopy Temperature Depression). CTD je rozdílem mezi teplotou vzduchu a teplotou listu. CTD je ukazatelem odolnosti plodin vůči suchu (Chowdhury et al. 2021).

Zvýšený růst kořenů při nedostatku vody se projevil nárůstem kořenů u *Catharanthus roseus*, ale už nebyl potvrzen u kukuřice. Více se při suchu u rostlin pozoruje mnohem určitější ukazatel, a to je poměr root-shoot (kořen-nadzemní část). Sucho zvyšuje tento poměr a více škodí mladým výhonkům než kořenům (Anjum et al. 2011). Sucho postihuje také proces fotosyntézy. Uzavřením průduchů je snížena rychlost fotosyntézy, a to velmi významně. Nedostatek vody narušuje celý proces, má také vliv na poškození membrán a narušuje aktivitu enzymů, důležitých při syntéze ATP (Farooq et al. 2012).

Je potvrzené vzájemné působení a vzájemná reakce mezi vodním potenciálem listů a průduchovou vodivostí. Navíc byla zjištěna signalizace listů a kořenů při vodním deficitu probíhající při vysychání půdy přes transpirační proud. Snížení aktivity fotosyntézy jako následek sucha je ovlivňováno, jak stomatálními mechanismy, jak už bylo zmíněno, tak i nestomatálními mechanismy. Mezi nestomatální mechanismy patří změny ve struktuře chloroplastu, změny syntézy chlorofylu a poruchy spojené s transportem, akumulací a rozmístěním asimilátů (Samarah et al. 2009; Anjum et al. 2011).

S rychlostí fotosyntézy souvisí relativní obsah chlorofylu, fotosyntetického pigmentu umístěného v chloroplastech. Následkem sucha se snižuje až degraduje obsah chlorofylu a dalších pigmentů důležitých pro fotosyntézu. Ztráty chlorofylu jsou nejzásadnější příčinou zastavení fotosyntézy. Hladina chlorofylu se s nedostatkem vody buď nemění nebo se snižuje, vše závisí na délce, intenzitě sucha a druhu rostliny. Nejčastěji se ztráty objevují v mezofilních buňkách (Shahzad et al. 2016).

S tím se pojí i další fyziologická reakce a tou je reakce rostlin na vodu. Konkrétně to znamená: rychlost transpirace, stomatální odpor, potenciál vody v listech a teploty v listech. Dalším, a to velice důležitým pojmem je ukazatel rostlinného vodního stavu a tím je relativní obsah vody (RWC). V ranějších fázích vývoje listů je RWC vyšší. Oproti tomu v dozrávajících listech hodnota RWC klesá (Anjum et al. 2011).

Poslední složkou fyziologické reakce je akumulace osmolytů. Regulace osmotického potenciálu neboli osmoregulace je důležitá v rostlinách s nízkým vodním potenciálem.

Osmuregulace je závislá na syntéze osmolytů nebo osmoprotektivních látek. Mezi tyto látky patří například rozpustné proteiny, aminokyseliny (prolin, glycin betain), cukry a cukerné alkoholy, které jsou rozpuštěny v cytosolu buněk. Tyto látky jsou důležité z toho důvodu, aby snižovaly osmotický potenciál a tím také udržovaly buněčné napětí (Farooq et al. 2012; Ozturk et al. 2021).

Listový turgor lze tedy udržet pomocí látek, které mají za následek lepší přísun vody z vysychající půdy. Děje se tak pomocí osmotické úpravy, kdy dochází k akumulaci prolinu (nejrozšířenější látky akumulované v prvotní reakci), glycinbetainu, sacharózy, dalších rozpustných sacharidů a dalších rozpuštěných látek. Proces akumulace látek je označován pojmem osmotické přizpůsobení (Anjum et al. 2011).

3.4.4.3 Biochemická reakce

Mezi látky usměrňující reakci rostlin na nedostatek vody patří růstové fytohormony jako jsou gibereliny, cytokininy, auxiny a kyselina abscisová s kyselinou salicylovou (Farooq et al. 2012)

Biochemická reakce ale především řeší problematiku reaktivní formy kyslíku (ROS) a antioxidantních enzymů. Dle García-Caparrós et al. (2021) jsou reaktivní formy kyslíku hlavně tvořeny v apoplastu mitochondrií, v chloroplastech a peroxisomech. Jejich důležitou funkcí je buněčná signalizace. Ovšem nadměrná produkce ROS způsobuje degradaci proteinů, snížení stability membrán, zvýšení peroxidace lipidů, rozpad DNA. Nakonec může dojít až k buněčné smrti. Moran et al. (1994) zmiňují u listů hrachu (*P. sativum*) při vodním deficitu dvojnásobné až čtyřnásobné zvýšení hladiny peroxidovaných lipidů.

Neméně významnou biochemickou reakcí je aktivace antioxidantních enzymů, jako obranného systému proti nadměrnému působení a poškození reaktivních forem kyslíku. Důležité však zůstává udržení hladiny ROS a antioxidantních enzymů v rovnováze. Pokud se sníží ROS může být ovlivněna odolnost vůči suchu (Anjum et al. 2011). Při běžných podmínkách sledujeme rovnováhu mezi tvorbou a eliminací ROS. Rovnováhu však narušují stresové faktory jak abiotické, tak biotické. Nízké osvětlení, vystavení těžkým kovům, patogenům, teplotním extrémům, to vše způsobuje zvýšení ROS (García-Caparrós et al. 2021). Farooq et al. (2012) popisují vliv antioxidantních látek jako jsou polyaminy, citrulin a určité enzymy na snížení negativních účinků sucha. Antioxidantní enzymy se dělí na dvě skupiny. Za prvé na neenzymatické antioxidanty. Příkladem je kyselina askorbová, karotenoidy, flavonoidy a redukovaný glutathion. Ty se přímo nepodílí na vychytávání reaktivních forem kyslíku, ale pomáhají při oxidačním stresu udržet integritu fotosyntetických membrán. Za druhé enzymatické antioxidanty neboli enzymy schopné vychytávat ROS. Do této skupiny například patří superoxid-dismutáza, kataláza, obecné peroxidázy. Jak enzymatické, tak i neenzymatické antioxidanty v podobě metabolitů a enzymů mají hlavní cíl vychytávat ROS. Dále se podílejí na určování rostlinné signalizace, imunitních odpovědích, a nakonec i při samotném růstu a vývoji rostlin (García-Caparrós et al. 2021).

4 Metodika

4.1 Rostlinný materiál

Jako rostlinný materiál byl vybrán hrách setý polní (*Pisum sativum* L.), u kterého byly zvoleny 2 genotypy – 'Astronaute', 'Eso'.

'Astronaute' je poloraný žlutosemenný genotyp, který vykazuje semena válcovitého tvaru. Udržovatelem je firma Sociétés RAGT 2n, Francie, který zastupuje v České republice firma SAATEN – UNION CZ s.r.o. Registrace genotypu 'Astronaute' proběhla v roce 2014. Ve druhé zkušební oblasti se stal jeho předností vysoký výnos semene. Dalším pozitivem jsou nevýrazná pěstitelská rizika.

'Eso' byl druhým testovaným genotypem. Ten odpovídá popisu žlutosemenného středně raného genotypu. Na rozdíl od genotypu 'Astronaute' je semeno oválného tvaru. Udržovací firmou je SELGEN, a.s. Genotyp byl registrována v roce 2012. Podobně jako první vybraný genotyp nemá ani tento výrazná pěstitelská rizika (ÚKZÚZ 2023).

Genotypy 'Astronaute' a 'Eso' byly vybrány hned z několika důvodů. Jedním z důležitých aspektů je dlouhá doba uvedení na trhu, tím i zkušenost a časté pěstování těchto genotypů u pěstitelů.

4.2 Experimentální část

Experimentem byla zjišťována genotypová rozdílnost u hrachu setého polního v uměle navozených podmínkách sucha v době klíčení. Experiment a řezy klíčících rostlin se uskutečnily v laboratorních podmínkách na katedře botaniky a fyziologie rostlin, FAPPZ, ČZU v Praze.

Pořízené souhrnné mikroskopické snímky klíčících rostlin byly snímány v Servisní laboratoři světelné mikroskopie na Ústavu molekulární genetiky AV ČR, v. v. i.

Na základě podobných experimentů, zkušeností a předchozích pokusů byly nastaveny podmínky toho experimentu.

4.2.1 Charakteristika experimentu

Experiment vycházel z jednotného založení a také stejného průběhu (až na výjimky dále popsané), ze kterého byla získávána data pro hodnocení zvolených parametrů a analýz anatomických změn v pletivech kořene. Bylo zvoleno laboratorní prostředí s teplotně řízeným klíčícím boxem. Teplota v něm byla nastavena na 23 °C. Tím bylo možné dosáhnout stejných podmínek pro klíčení pro oba genotypy. Druhou částí byl již samotný pokus se zkušenostmi a poznatky z předchozího pozorování.

4.2.1.1 Založení pokusu

Pro záznam výsledků byl určen den založení jako den nula. Semena obou genotypů byla dezinfikována 1% NaClO (chlornan sodný). Sucho bylo simulováno pomocí roztoku PEG (polyethylene glycol-6000). Na základě předcházejícího experimentu o nastavení vhodných

podmínek, konajícího se přímo na katedře a dalších již v literatuře uvedených pokusů, byly zvoleny následující koncentrace PEG. Nejnižší koncentrací byl 5% PEG, poté 10% PEG a posledním 15% PEG. Následně byla stanovena kontrolní varianta (Kontrola) ve formě destilované vody. Vybrané koncentrace PEG a roztok 1% NaClO byly připravovány v destilované vodě. Vydezinfikovaná semena byla rozdělena do čtyř variant (tři koncentrace PEG a Kontrola) tak, že každá varianta byla zastoupena po pěti Petriho miskách (Obr. 6). V každé Petriho misce ležela semena na filtračním papíře zalitým 10 ml dané koncentrace PEG nebo destilované vody. Uložení semen pinzetou nebylo náhodné, ale určené pomocí předem připravené šablony, která se podsunula pod průhlednou Petriho misku. Takto bylo možné zaznamenávat celý průběh klíčení každého semene. V každé misce bylo rozmístěno dvacet semen. Každá varianta tedy testovala 100 semen. Celkově bylo na pokus použito 800 semen obou genotypů hrachu.

Nakonec se semena každé misky uzavřela druhou stranou Petriho misky, náležitě nadepsala a vložila do předem temperovaného klíčícího boxu.

4.2.1.2 Průběh pokusu

Měření probíhalo ve třech termínech a to třetí, pátý a sedmý den. V den měření bylo každé semeno vyjmutο z Petriho misky a změřeno. Následně bylo umístěno, na stejnou pozici jako v původní misce, do nové Petriho misky s novým filtračním papírem a s přidanými 10 ml nového roztoku stejné koncentrace, jako byl v původní misce. Znovu přikryté misky byly nadepsány a vloženy do klíčícího boxu.

4.2.1.3 Ukončení pokusu

Posledním dnem měření byl sedmý den od založení pokusu. Bylo provedeno poslední měření jako v předchozím třetím a pátém dni. Následně se u semen po každé Petriho misce provedlo oddělení nadzemní (shoot) a kořenové části (root). Tyto části se poté zvážily. Části se potom ve váženkách (každá Petriho miska měla dvě) na dně s filtračním papírem umístily do sušícího boxu nastaveného na cca 70 °C na dva dny sušení. Sledovaným parametrem byl poměr ROOT:SHOOT, na základě suché hmoty kořenové a nadzemní části.

	počet Petriho misek	počet testovaných semen	
		'Astronaute'	'Eso'
KONTROLA	5	100	100
PEG 5%	5	100	100
PEG 10%	5	100	100
PEG 15%	5	100	100
dny měření	3	5	7

Obr. 6 Shrnutí experimentu (zdroj: autor práce)

4.3 Hodnocené parametry

4.3.1 Klíčivost semen

Klíčivost semen se určuje za optimálních podmínek a v určeném čase pro klíčení (do doby ukončení kultivace), ve kterém sledujeme procentuální množství vyklíčených semen v daném vzorku (Bláha & Šerá 2014).

Klíčivost semen (%): $SG = Gf/S * 100$

Gf... počet vyklíčených semen na konci kultivace

S... celkový počet testovaných semen

4.3.2 Energie klíčení

Energie klíčení (germination energy) určuje vyrovnanost a intenzitu klíčení. Ukazuje množství vyklíčených semen daného vzorku v jednotlivých termínech měření – třetí, pátý a sedmý den od založení experimentu (Bam et al. 2006; Bláha & Šerá 2014).

Energie klíčení (%): $GE = Gt/S * 100$

Gt... počet vyklíčených semen ve dne t

S... celkový počet testovaných semen

4.3.3 Rychlost klíčení

Rychlost klíčení (speed of germination) hodnotí celkovou vitalitu testovaných semen, a to podle počtu vyklíčených semen na začátku a na konci kultivace (Houba & Hosnedl 2002).

Rychlost klíčení (%): $SG \text{ (v experimentu GR dle Saeed S et al. 2022)} = Gt/Gf * 100$

Gt... počet vyklíčených semen ve dne t

Gf... počet vyklíčených semen na konci kultivace

4.3.4 Index klíčivosti

Bláha & Šerá (2014) dále do parametrů přidávají Index klíčivosti. Kader (2005); Saeed et al. (2022) mezi parametry měření zařazují Germination Rate Index (GRI), který se vypočítá stejně jako GI podle Bláhy & Šeré (2014).

Index klíčivosti: $GI = \Sigma(Gt/Dt)$

4.3.5 Poměr ROOT:SHOOT

Pereira et al. (2020) určují poměr ROOT:SHOOT pomocí poměru sušiny kořenů ku sušině nadzemní části počítanou v gramech.

4.3.6 Délka nadzemní a kořenové části

Okçu et al. (2005) i Pereira et al. (2020) ve svých studiích o hrachu setém používají pro hodnocení výsledků mimo jiné parametry i délku nadzemní a kořenové části.

V experimentu byl porovnáván přírůstek kořenové části (ROOT) a nadzemní části (SHOOT) v cm při každém termínu měření.

4.3.7 Analýza anatomických změn v pletivech kořene

Analýzou byl zkoumán vliv vodního deficitu na anatomické změny v kořenových částech rostlin. Analyzovány byly klíčící rostliny ze všech koncentrací a obou genotypů v sedmý den experimentu. Pro tuto analýzu použité klíčící rostliny měly stejné datum založení a průběhu experimentu, jako semena používaná pro měření parametrů popsanych na předešlé straně. Semena však nebyla během experimentu nijak zahrnována do předešlých parametrů měření, ale měla stejné podmínky klíčení. Mikroskopické řezy byly prováděny ve vzdálenosti 1 cm od kořenové špičky, řezy byly nebarvené příčné. Pro pozorování pletiv byl použit mikroskop Nikon 200 s DS kamerovou hlavou a ukládání snímků probíhalo pomocí aplikace NIS-Elements na katedře botaniky a fyziologie rostlin. Zvětšení sledovaných objektů bylo stonásobné a u detailu dvěstěásobné.

U mikroskopických řezů byly sledovány následující parametry – střední válec (cévní svazek), primární kůra (endodermis, parenchym primární kůry), rhizodermis.

4.3.8 Mikroskopická vizualizace variability zkoumaných vzorků

Další doplňující analýzou bylo celkové vizuální posouzení rozdílů genotypů a rozdílnost kontrolních vzorků ku jednotlivým koncentracím PEG. Pořízené snímky byly snímány na stereo zoom mikroskop Zeiss AxioZoom.V16, na kterém byl použit objektiv PlanNeoFluar Z 1.0x/0.25. Tyto snímky poté byly sestaveny a zpracovány pomocí softwaru ZEN Blue 2.3. a dále prošly formátovou úpravou programem Adobe Photoshop 2024.

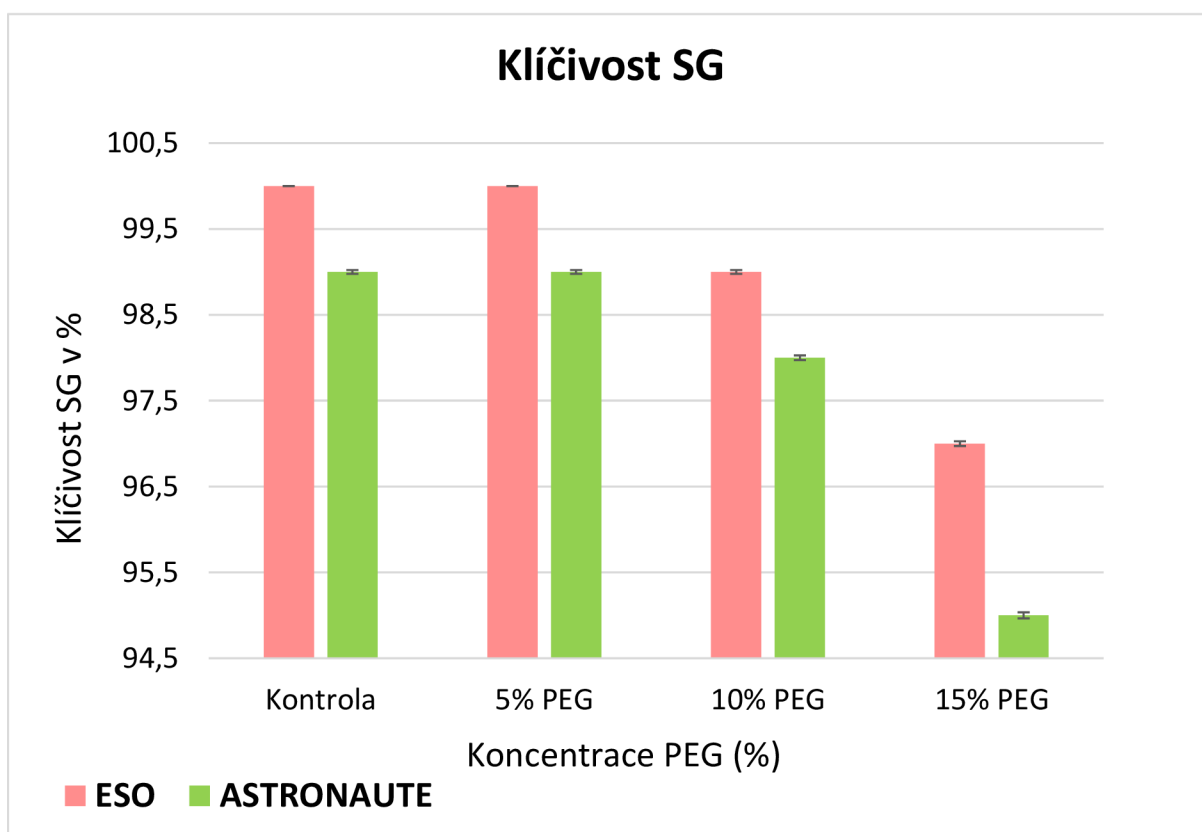
Tato část experimentu se uskutečnila v Servisní laboratoři světelné mikroskopie na Ústavu molekulární genetiky AV ČR, v. v. i.

5 Výsledky

5.1 Klíčivost SG

Genotyp 'Eso' vykazoval ve variantě Kontrola a ve variantě 5% PEG stoprocentní klíčivost. U varianty 10% PEG u genotypu 'Eso' byla klíčivost na 99 %, s větším rozdílem se projevila varianta 15% PEG, kde klíčivost činila 97 %. Varianta Kontrola a 5% PEG u genotypu 'Astronaute' se klíčivost pohybovala na 99 %, ve variantě 10% PEG se hodnota pohybovala na 98 % klíčivosti. Větších rozdílů bylo ve variantě 15% PEG, kdy bylo dosaženo 95% klíčivosti.

Klíčivost genotypu 'Astronaute' byla ve všech variantách o procento až dvě nižší než u genotypu 'Eso'. U genotypu 'Astronaute' bylo pozorováno větší snížení v klíčivosti mezi variantami 10% a 15% PEG než u genotypu 'Eso'. V Obr. 7 lze pozorovat pokles klíčivosti mezi variantou Kontrola a variantou 15% PEG, jak u genotypu 'Astronaute' tak i u genotypu 'Eso'. U genotypu 'Astronaute' rozdíl činí 3 % a u genotypu 'Eso' jsou to 4 %.



Obr. 7 Klíčivost SG

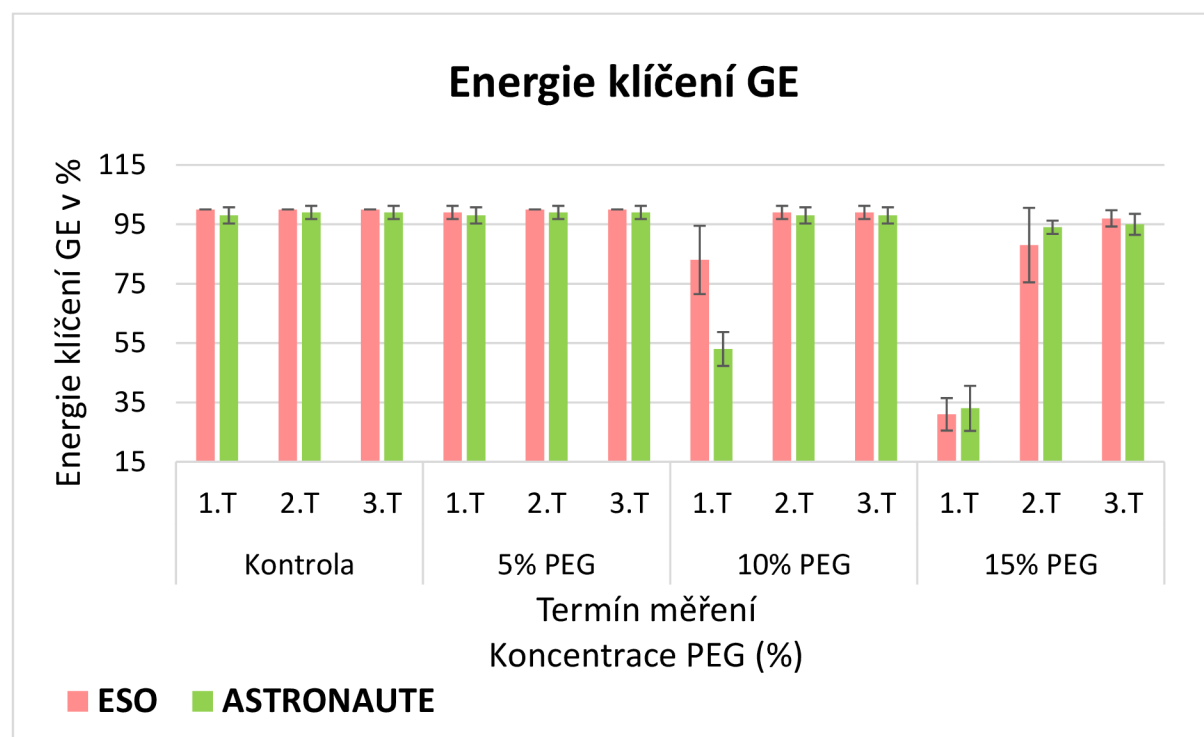
5.2 Energie klíčení GE

Z Obr. 8 lze určit, že se vyrovnanost klíčení v jednotlivých termínech měření výrazně projevila až u varianty 10% PEG v prvním termínu měření.

Ve variantě 10% PEG u genotypu 'Eso' se energie klíčení pohybovala při prvním termínu měření na 83 %. Druhé měření stejného genotypu a stejné koncentrace PEG ukázalo zvýšení

energie klíčení až na 99 %. Tato hodnota se však nezměnila při posledním třetím měření. U stejného genotypu ve variantě 15% PEG se vývoj trochu lišil. První měření se pohybovalo okolo 30 %, druhé měření dosáhlo energie klíčení 88 %. Při posledním měření hodnota mírně stoupla, a to na 97 %. U genotypu 'Astronaute' se ve variantě 10% PEG při prvním měření dosáhlo hodnoty klíčivosti pouze 53 %, ta jako u předchozího genotypu stoupla při druhém měření na 98 % a tato hodnota byla naměřena i při posledním měření. U varianty 15% PEG se genotyp 'Astronaute' pohyboval také okolo 30 %, při druhém měření stoupla na 94 % a při třetím měření se hodnota zvýšila ještě o jedno procento.

Celkově byl u genotypů znát velký rozdíl nejen mezi jednotlivými variantami (od varianty 10% PEG), ale rozdíl byl i u samotných genotypů. Lepší energii klíčení ve variantě 10% PEG měl genotyp 'Eso'. U genotypu 'Astronaute' byla ve variantě 10% roztoku PEG energie klíčení na lehce přesahujících padesáti procentech. Avšak při druhém a třetím měření už byla u varianty 10% PEG roztoku u obou genotypů energie klíčení skoro stoprocentní. U varianty 15% roztoku PEG při prvním měření byly hodnoty obou genotypů na cca třiceti procentech energie klíčení a při dalších termínech měření se pohybovaly okolo devadesáti procent. Z toho lze usoudit, že genotyp 'Eso' neměl při prvním termínu měření ve variantě 10% PEG takový propad v energii klíčení jako genotyp 'Astronaute'.



Obr. 8 Energie klíčení GE

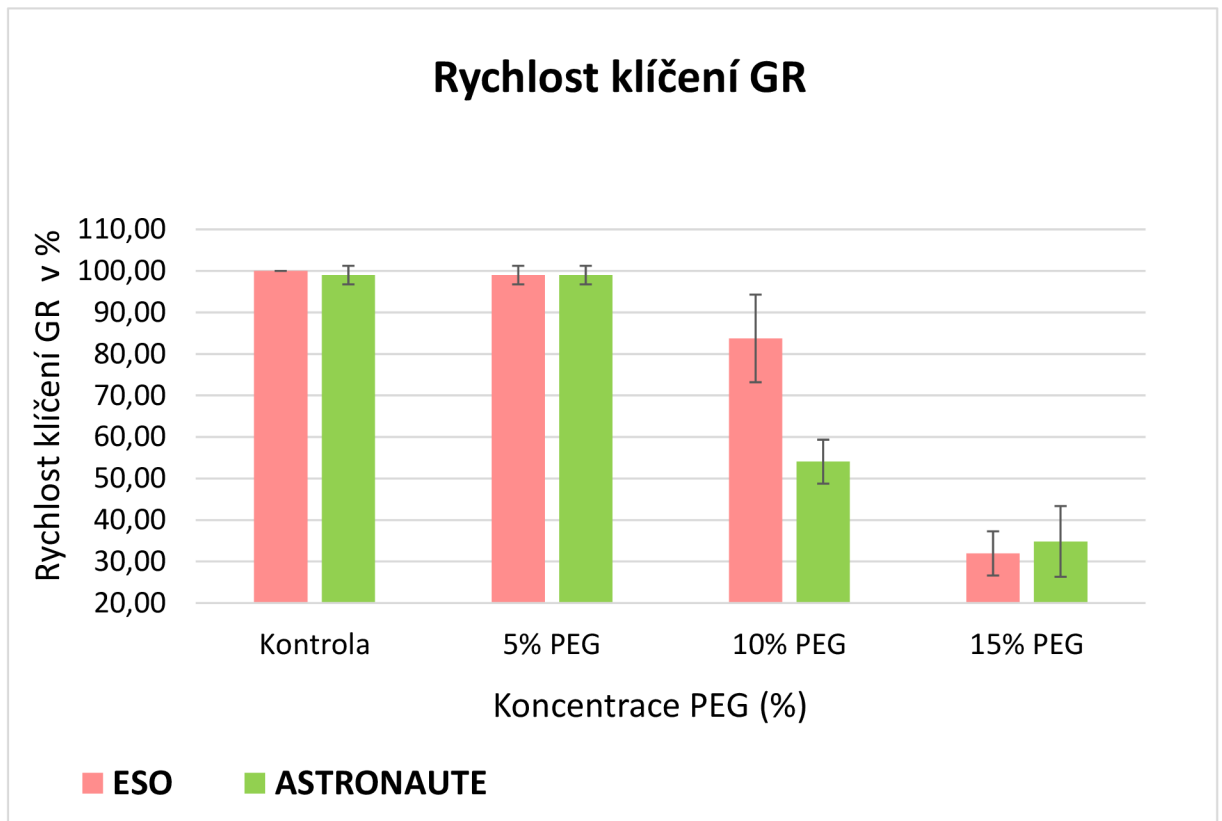
5.3 Rychlost klíčení GR

Rychlost klíčení rapidně klesla až u varianty 10% PEG a ještě větší pokles byl zaznamenán u varianty 15% PEG u obou genotypů. Tyto a další výsledky měření značí Obr. 9.

Dalším výsledkem je pokles celkové vitality ve variantě 10% PEG, kdy se u genotypu 'Astronaute' snížila rychlost klíčení ze 100 % na necelých 60 %. U varianty 15% PEG byla

rychlost klíčení na 35 %. U genotypu 'Eso' nebyl pokles ve variantě 10% PEG tak výrazný, jednalo se o snížení rychlosti klíčení o necelých 20 %. Ve variantě 15% PEG roztoku byla rychlost klíčení 32 %.

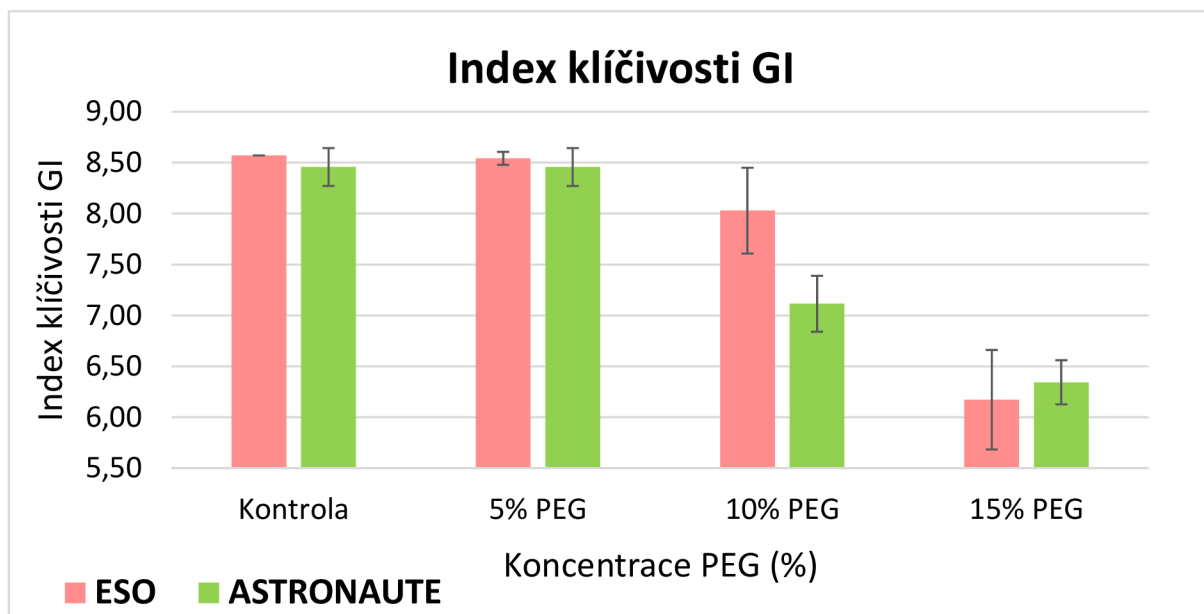
Poměrně stejnými hodnotami v obou genotypech se jevíly varianty 15% PEG, kde se hodnoty pohybovaly mezi třiceti až pětatřiceti procenty. Genotyp 'Astronaute' měl výraznější propad v rychlosti klíčení a to o 45 % mezi variantou 5% PEG a variantou 10% PEG, než genotyp 'Eso', který se ve stejných variantách propadl jen o 16 %.



Obr. 9 Rychlost klíčení GR

5.4 Index klíčivost GI

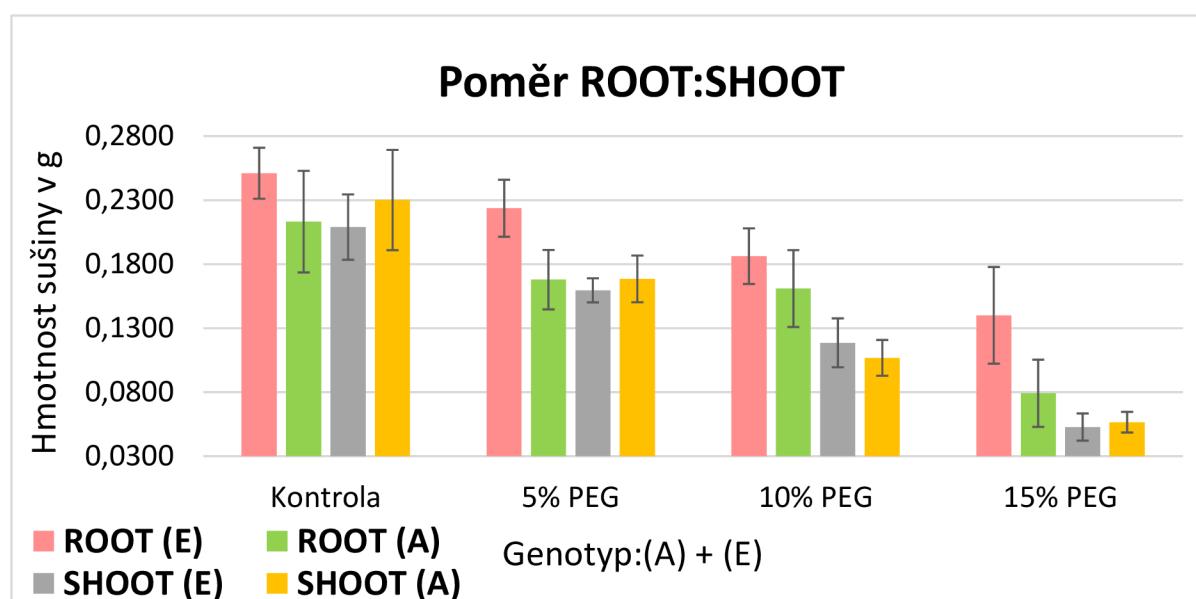
U indexu klíčivosti (Obr. 10) byl zaznamenán výraznější pokles až u varianty 10% PEG. Hodnota genotypu 'Eso' se ve variantě 10% PEG nesnížila ani o celou jednotku oproti variantě 5% PEG, ovšem genotyp 'Astronaute' poklesl z 8,5 na 7. Větší snížení indexu klíčivosti potom mělo 'Eso' ve variantě 15% PEG a to z 8 na 6. Genotyp 'Astronaute' naopak dopadl ve variantě 15% PEG o trochu lépe (desetiny procent) než genotyp 'Eso'.



Obr.10 Index klíčivosti

5.5 Poměr ROOT:SHOOT

Z Obr. 11 jednoznačně vyplývá převaha hmotnosti vysušené kořenové části (ROOT) u genotypu 'Eso' u všech variant oproti kořenové části všech variant genotypu 'Astronaute'. U nadzemní části (SHOOT) převažoval až na variantu 10% PEG genotyp 'Astronaute'. Ve všech koncentracích u genotypu 'Eso' kořenová část převyšovala nadzemní. Ve variantě 15% PEG byl nejvýraznější poměr mezi ROOT a SHOOT pro oba genotypy. Rozdíl v jednotlivých variantách byl u genotypu 'Astronaute', kde ve variantě Kontrola měla více gramů nadzemní část než ta kořenová. U varianty 5% PEG byla jak nadzemní, tak kořenová část přibližně stejná. U posledních dvou variant už kořenová část výrazněji převyšovala tu nadzemní.

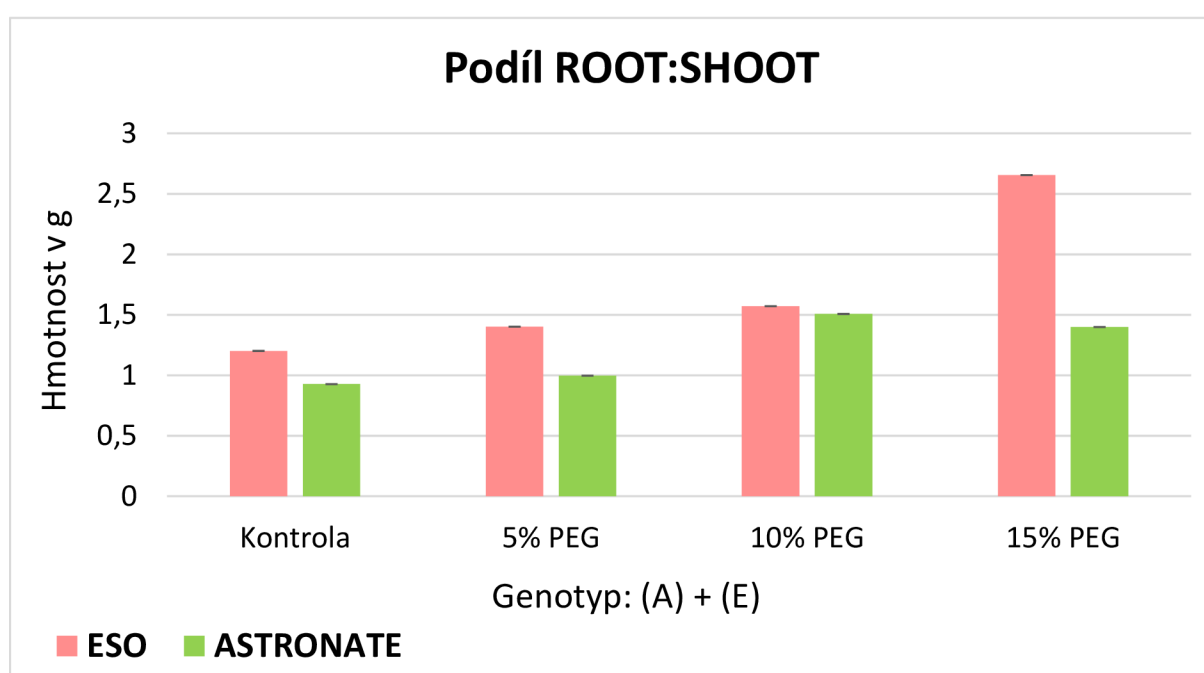


Obr. 11 Poměr ROOT:SHOOT

5.5.1 Podíl ROOT:SHOOT

Pokud od ROOT dělíme SHOOT dostaneme výsledky z Obr. 12. Podíl ROOT:SHOOT. Výsledky ukazovaly, že u genotypu 'Eso' byl vždy podíl ROOT:SHOOT vyšší než u genotypu 'Astronaute'.

Nejmenší rozdíl mezi poměrem ROOT:SHOOT v obou genotypech byl ve variantě 10% PEG, kdy se podíl pohyboval okolo 1,5 g. Naopak největší rozdíl v podílu mezi genotypy byl ve variantě 15% PEG. V této nejvyšší stanovené koncentraci byl podíl genotypu 'Eso' 2,7 g a podíl genotypu 'Astronaute' 1,4. Zajímavým zjištěním byl pokles podílu u varianty 15% PEG u genotypu 'Astronaute' a skokové zvýšení podílu ve stejné koncentraci u genotypu 'Eso'. Genotyp 'Astronaute' ve variantě 10% PEG měl podíl na 1,5 g a ve variantě 15% PEG podíl klesl na 1,4 g. Genotyp 'Eso' se choval opačně ve variantě 10% PEG byl podíl 1,6 g a ve variantě 15% PEG hodnota stoupla na 2,7 g.



Obr. 12 Podíl ROOT:SHOOT

Výsledkem poměru ROOT:SHOOT (Obr. 11) bylo zjištění, že se od sebe nejen lišily reakce mezi testovanými variantami v rámci genotypu, ale i to že rozdílné genotypy, se chovaly ve stejné koncentraci odlišně. Genotyp 'Eso' vlivem simulovaně zvyšujícího sucha měl vyšší podíl kořenové části vůči nadzemní. Genotyp 'Astronaute' měl ve variantě Kontrola vyšší podíl nadzemní části, ve variantě 5% roztoku PEG byla hmotnost obou částí téměř vyrovnaná, ve variantě 10% a 15% koncentraci PEG dominovala kořenová část. Celkově se ale u obou genotypů s přibývajícím suchem snižovala hmotnost obou částí jak ROOT tak SHOOT. Podíl z poměru ROOT:SHOOT (Obr. 12) ukázal, že genotyp 'Eso' měl stále se zvyšující podíl, který výrazně stoupl ve variantě 15% PEG. Naopak genotyp 'Astronaute' zprvu vyhlížel podobně jako předešlý genotyp, avšak ve variantě 15% PEG podíl klesl pod hodnotu ve variantě 10% PEG.

Tyto výsledky poukazují na určité limity klíčících rostlin u genotypu 'Astronaute' za podmínek sucha, kdy se u rostlin omezí růst kořenů a tím klesá šance zvrácení vodního deficitu.

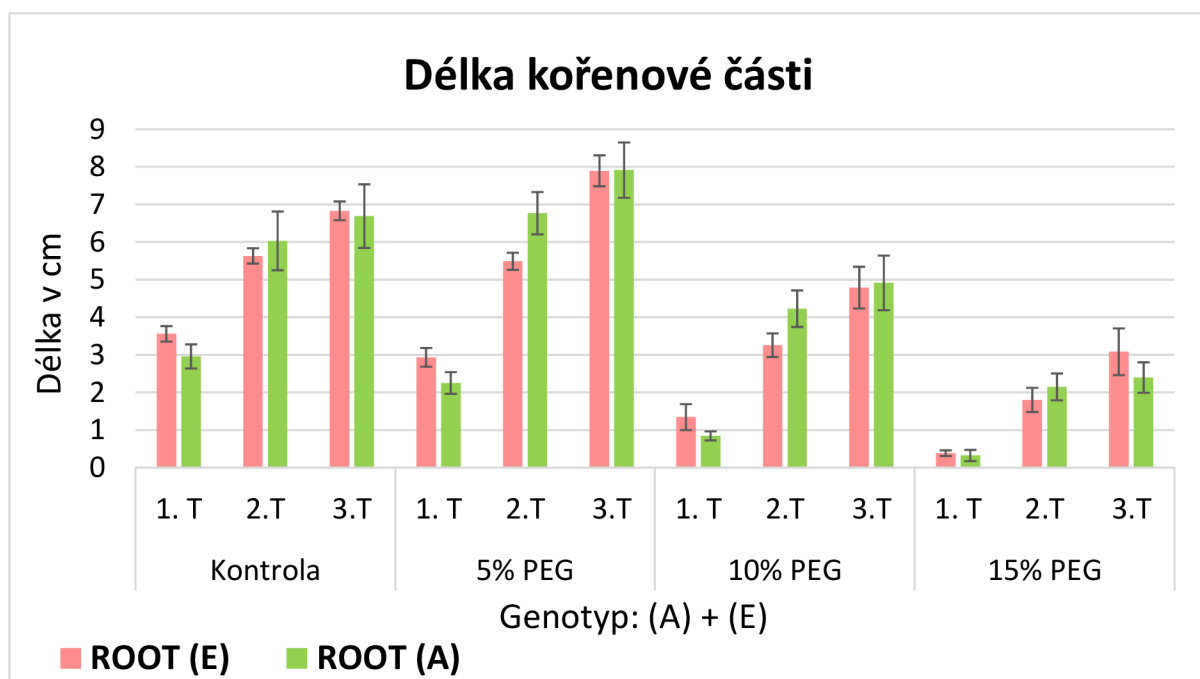
5.6 Délka kořenné části

Jak je z Obr. 13 patrné, délka kořenné části byla proměnlivá v jednotlivých dnech měření na první pohled jen s minimálními rozdíly v genotypech.

Kořenná část u genotypu 'Eso' měla při každém termínu měření ve všech variantách přírůstek v kořenné části. U všech variant byl nárůst kořenné části mezi prvním a druhým měřením okolo 2 cm. Rozdíl byl však mezi druhým a třetím měřením. Varianta Kontrola a varianta 15% PEG stouply o jeden centimetr, varianta 10% PEG vzrostla o 2 cm. Největší přírůstek mezi druhým a třetím měřením ve variantě 5% PEG, kdy délka vzrostla o 3 cm a tím byla na hodnotě 7,9 cm.

U genotypu 'Astronaute' byl největší přírůstek kořenné části ve variantě 5% PEG, kdy mezi prvním a druhým termínem měření vzrostla velikost kořene až o necelých pět centimetrů na konečných 8 cm. O 3 cm mezi prvním a druhým měřením poté vzrostla kořenná část u varianty Kontrola a varianty 10% PEG. Nejmenší přírůstek kořenné části byl ve variantě 15% PEG, kde se délka mezi prvním a druhým měřením lišila o dva cm. Zajímavé bylo, že se hodnota mezi druhým a třetím měřením moc nelišila u jednotlivých variant. Jak u varianty Kontrola, tak i u varianty 5% a 10% PEG kořinek vyrostl mezi druhým a třetím měřením pouze okolo jednoho centimetru. Skoro neměnná byla kořenná část u varianty 15% PEG mezi druhým a třetím měřením.

Oba genotypy měly největší přírůstek kořenné části ve variantě 5% PEG. Genotyp 'Eso' oproti genotypu 'Astronaute' měl výraznější přírůstek v kořenné části i ve variantě 15% PEG mezi druhým a třetím měřením.



Obr. 13 Délka kořenné části

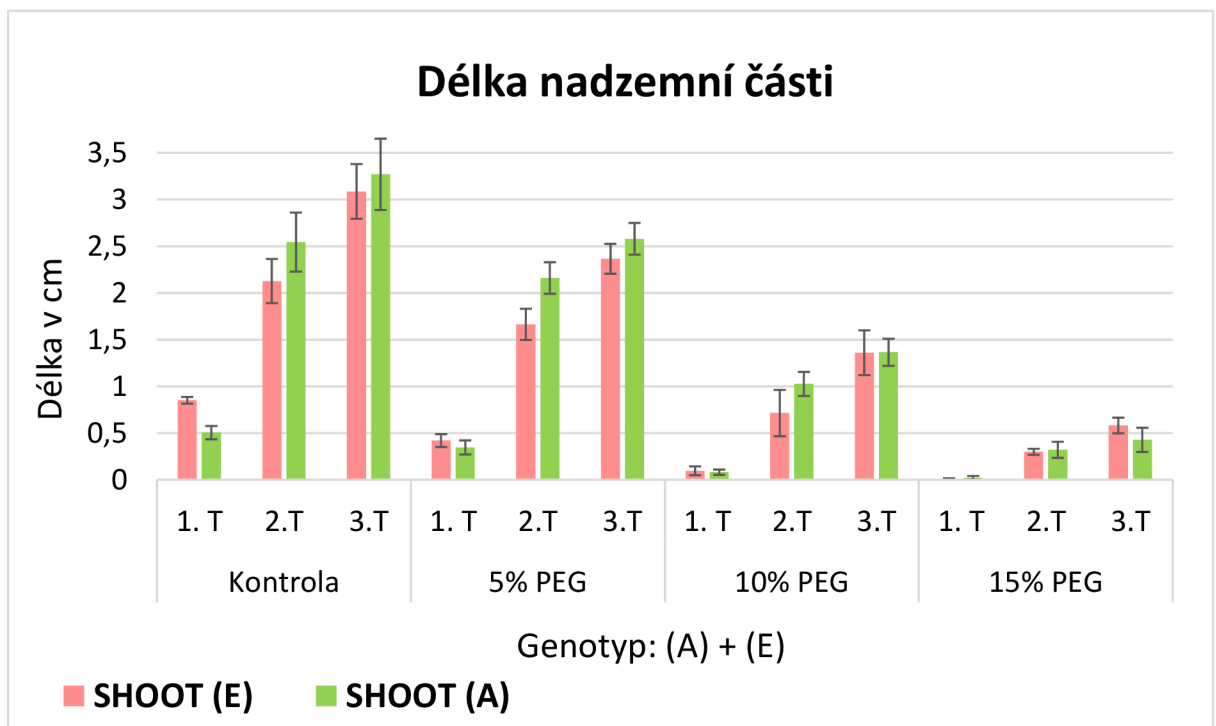
5.7 Délka nadzemní části

Délka nadzemní části byla s každým měřením delší. To platilo pro oba genotypy ve všech variantách (Obr. 14). Jednotlivé rozdíly v délce nadzemní části mezi genotypy se liší v desetinách centimetru.

U genotypu 'Eso' byl vyšší nárůst kořenové části v prvním termínu měření než u genotypu 'Astronaute', až na variantu 15% PEG. Nejdelší nadzemní části dosáhl genotyp 'Eso' ve variantě Kontrola při posledním měření a to hodnoty 3,1 cm. Naopak nejmenší naměřená délka byla ve variantě 15% PEG při prvním měření.

Genotyp 'Astronaute' měl podobné výsledky jako genotyp 'Eso'. Nejvyšší naměřenou délkou nadzemní části byla hodnota 3,3 cm a to ve variantě Kontrola. Nejmenší naměřená hodnota byla stejně jako u genotypu 'Eso' u varianty 15% PEG.

V celkovém srovnání obou genotypů měl genotyp 'Astronaute' oproti genotypu 'Eso' pomalejší nástup růstu nadzemní části. Lépe než genotyp 'Eso' si, ale vedla při druhém a třetím měření ve variantě Kontrola, 5% a 10% PEG. Ovšem genotyp 'Astronaute' ve variantě 15% PEG při posledním měření byl o desetinu cm kratší než genotyp 'Eso'.

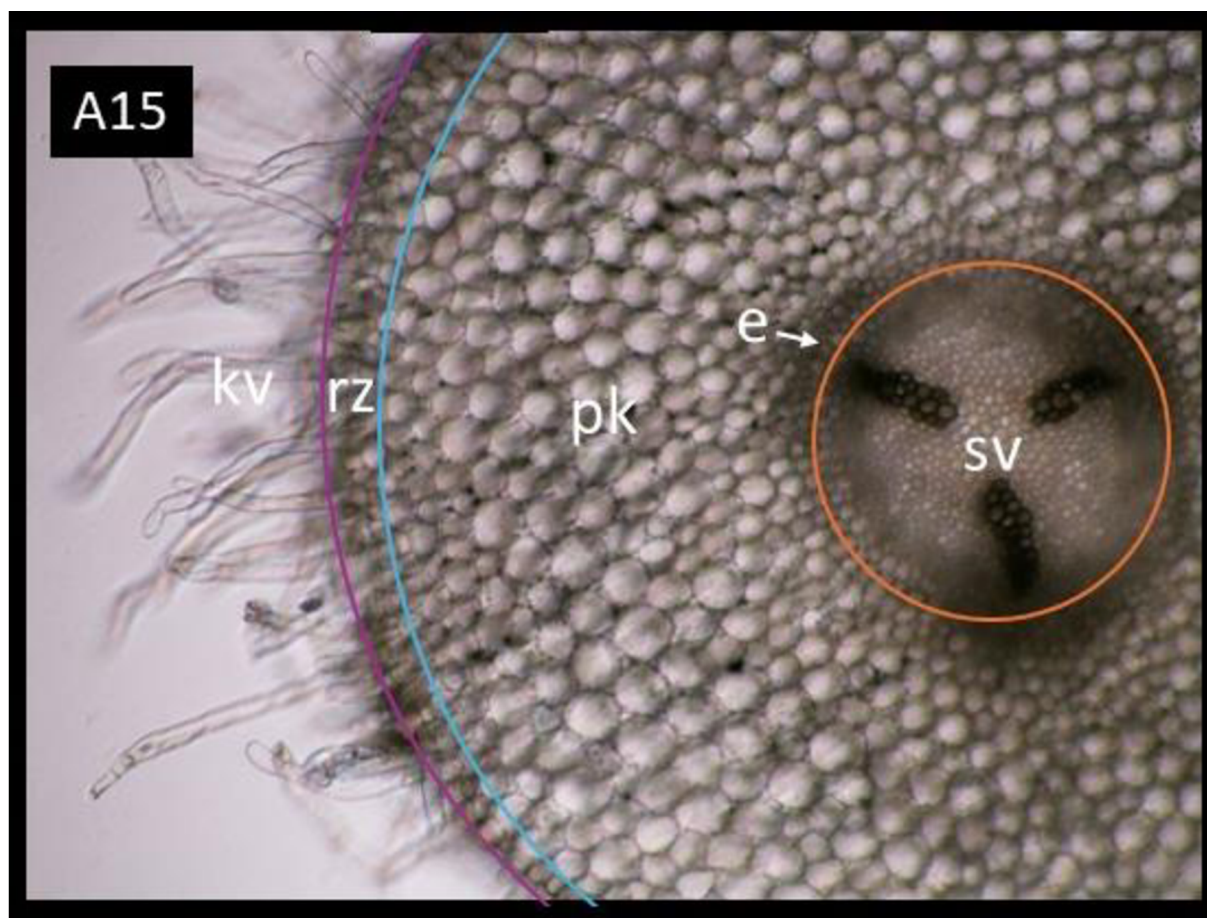


Obr. 14 Délka nadzemní části

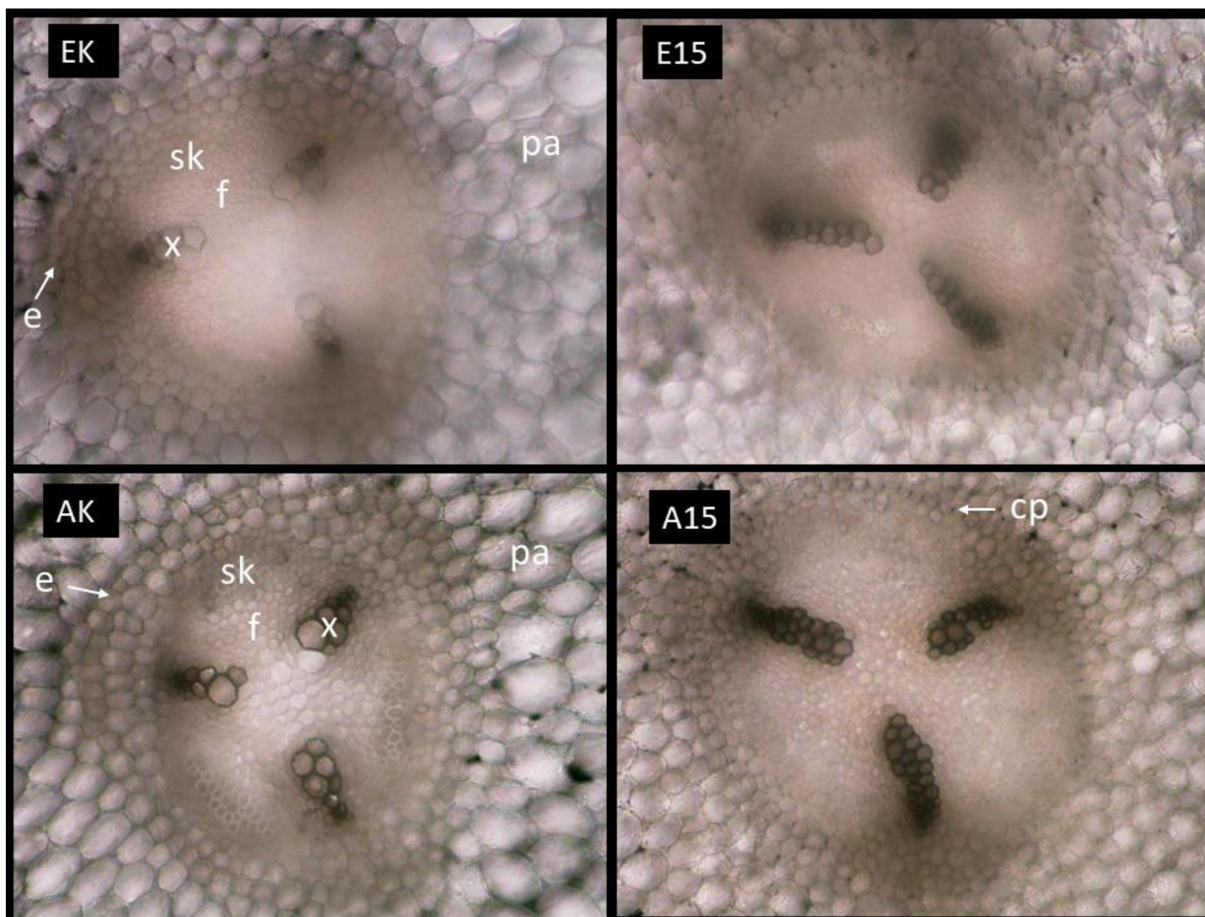
5.8 Analýza anatomických změn v pletivech kořene

Po porovnání anatomických řezů lze konstatovat, že úroveň koncentrace PEG ovlivnila u obou genotypů zejména diferenciaci xylému v cévním svazku včetně tvorby mechanického pletiva svazku a diferenciaci endodermis. Odlišná diferenciace xylému i endodermis jednotlivých variant vcelku odpovídá reakci na zvyšující se nedostatek příjmu vody (tedy úrovni simulace stresu suchem). Projevily se i určité rozdíly v reakci jednotlivých sledovaných genotypů, v některých parametrech citlivěji reagoval genotyp 'Eso'.

Níže jsou uvedeny ilustrační vybrané fotografie od obou genotypů (Obr. 15, Obr. 16).



Obr. 15 Části kořene – anatomický řez (A15 – genotyp 'Astronaute' varianta 15% PEG, kv...kořenové vlásky, rz...rhizodermis, pk...primární kůra, e...endodermis, sv... střední válec)

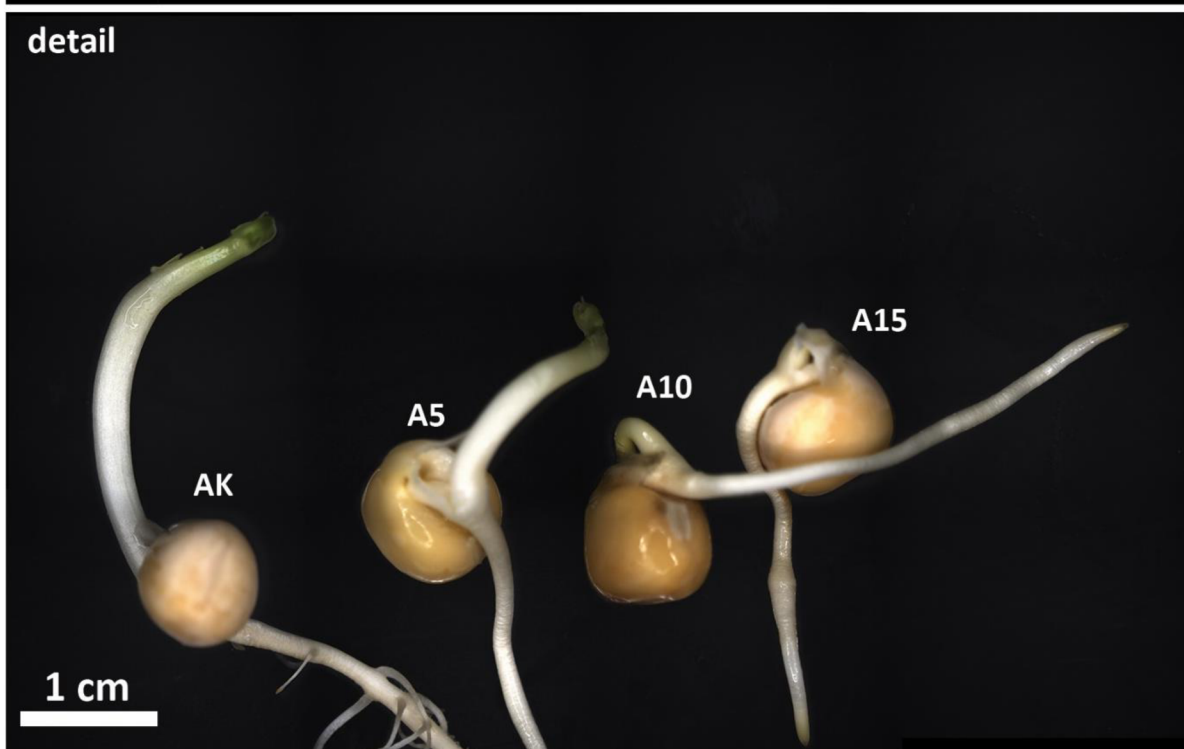


Obr. 16 Anatomické řezy – rozdíly ve variantách v jednotlivých odrůdách (EK – genotyp 'Eso' varianta Kontrola, E15 – genotyp 'Eso' varianta 15% PEG, AK – genotyp 'Astronaute' varianta Kontrola, A15 – genotyp 'Astronaute' varianta 15% PEG, pa...parenchym, x...xylém, sk...sklerenchym, f...floém, e...endodermis, cp...Casparyho proužky)

5.9 Mikroskopická vizualizace variability zkoumaných vzorků

Obr. 17 porovnává celkovou vizualizaci jednotlivých variant genotypu 'Astronaute' a poté v dolní části Obr. 17 je detailněji zachycena část u semene, ze které lze lépe pozorovat vývoj nadzemní části u jednotlivých variant. V kořenové části u varianty Kontrola byly vidět postranní kořeny, které se u dalších variant již nevyskytovaly. Nejdelší kořen byl ale u varianty 5% PEG. U varianty 10% PEG byla kořenová část ještě kratší než u varianty Kontrola a 5% PEG. Nejkratší kořenová část byla ve variantě 15% PEG. Nejdelší nadzemní část byla u varianty Kontrola. Nadzemní část je u varianty 10% PEG a 15% PEG znatelně menší než u varianty 5% PEG.

Vizualizace variant genotypu 'Eso' je v Obr. 18, kde je opět v dolní části vidět přiblížení na klíčící semeno. U tohoto genotypu byly viditelné postranní kořeny nejen ve variantě Kontrola, a ve variantě 5% PEG, ale dokonce i ve variantě 10% PEG. Nejdelší kořínek byl ve variantě 5% PEG, poté následovala varianta Kontrola a po ní varianta 10% PEG. Nejkratší kořínek byl ve variantě 15% PEG. Nadzemní část s postupně vyšší koncentrací PEG klesala od varianty Kontrola po variantu 15% PEG.



Obr. 17 Vizualizace genotypu 'Astronaute' (AK – genotyp 'Astronaute' varianta Kontrola, A5 – genotyp 'Astronaute' varianta 5% PEG, A10 – genotyp 'Astronaute' varianta 10% PEG, A15 – genotyp 'Astronaute' varianta 15% PEG)



Obr. 18 Vizualizace genotypu 'Eso' (EK – genotyp 'Eso' varianta Kontrola, E5 – genotyp 'Eso' varianta 5% PEG, E10 – genotyp 'Eso' varianta 10% PEG, E15 – genotyp 'Eso' varianta 15% PEG)

V souhrnném Obr. 19 lze pozorovat a díky stejnému měřítku i porovnávat jednotlivé varianty obou genotypů.

U varianty Kontrola genotypu 'Astronaute' byla větší tvorba postranních kořenů než u varianty Kontrola u genotypu 'Eso', avšak postranní kořeny se u genotypu 'Eso' projeví i ve dvou následujících variantách. Dále u obou genotypů, co se délky kořenu týče dominovala varianta 5% PEG. Nejkratší kořen byl u obou genotypů ve variantách 15% PEG. V čem se ale genotypy lišily byla velikost kořene, a i nadzemní části u varianty 10% PEG. Genotyp 'Eso' ve variantě 10% PEG byl jasně vitálnější oproti genotypu 'Astronaute' ve stejné variantě. To značí, že genotyp 'Eso' je tolerantnější vůči suchu. U varianty 15% PEG byl genotypový rozdíl menší.



Obr. 19 Porovnání genotypů 'Astronaute' × 'Eso' (AK – genotyp 'Astronaute' varianta Kontrola, A5 – genotyp 'Astronaute' varianta 5% PEG, A10 – genotyp 'Astronaute' varianta 10% PEG, A15 – genotyp 'Astronaute' varianta 15% PEG, EK – genotyp 'Eso' varianta Kontrola, E5 – genotyp 'Eso' varianta 5% PEG, E10 – genotyp 'Eso' varianta 10% PEG, E15 – genotyp 'Eso' varianta 15% PEG)

6 Diskuze

Přisedlý život rostlin je náročný z důvodu změn v jejich prostředí, na který rostliny, proto aby přežily, musí reagovat za pomoci přizpůsobení svého vývoje a fyziologie. Jejich schopnost přizpůsobení jim dala možnost rozšířit se do všech koutů světa (Seth & Sebastian 2024).

6.1 Klíčivost, energie klíčení, rychlost klíčení, index klíčivosti

Studie ukázala vliv deficitu vody na růst a metabolismus rodu *Pisum*. Bylo zjištěno, že sucho snížilo výšku rostlin vlivem nižšího poutání vody, dále pak byly zredukovány enzymatické reakce v klíčících semenech. Významně však bylo inhibováno samotné klíčení semen (Al-Quraan et al. 2021). I v tomto experimentu byly pozorovány změny růstu klíčících rostlin díky simulaci sucha pomocí polyethylene glycol-6000. Rovněž se potvrdilo, že sucho mělo vliv na klíčení semen.

Vus et al. (2020) uveřejnili výsledky výzkumu rozdílného klíčení hrachu a dalších plodin při určitých koncentracích PEG-6000. U hrachu se viditelné klíčení neprojevovalo u 25% koncentrace PEG-6000. Ve variantě 20% a 15% roztoku PEG vyklíčilo pouze jedno semeno. Slibněji se jevila varianta 10% PEG se dvěma vyklíčenými semeny. Poslední zvolená varianta 5% PEG-6000 měla minimální vliv na klíčivost semen. S částečně shodnými výsledky vyšel i tento experiment (Obr. 7) U varianty 5% PEG u genotypu 'Eso' vyklíčila všechna semena. U genotypu 'Astronaute' ve stejné variantě nevyklíčilo po celou dobu experimentu jen jedno semeno z hodnocených sta semen. Ovšem ve variantě 10% PEG nebyl rozdíl ve vyklíčených semenech tak velký, u genotypu 'Eso' nevyklíčilo pouze jedno semeno ze sta testovaných a genotyp 'Astronaute' měl dvě nevyklíčená semena. U varianty 15% PEG nevyklíčila tři semena u genotypu 'Eso' a pět semen u genotypu 'Astronaute'.

Obdobně tak experimentovali Pereira et al. (2020), kteří hodnotili vliv na fyziologickou kvalitu semene a počáteční vývoj u *Pisum sativum* L. Experimentem simulovali stresové podmínky na různé množství vody (pomocí různých koncentrací PEG) a soli v půdě. Výsledkem bylo zjištění, že rostliny byly těmito stresovými situacemi ovlivněny, a to nejen při samotném klíčení, ale i při počátečním růstu. Ovlivněna byla i fyziologická výkonnost semen. Tento experiment potvrdil vliv na fyziologickou výkonnost. Se zvyšující se koncentrací roztoku PEG se snižovala klíčivost semen a následně i růst klíčících rostlin (Obr. 7).

V počátečních fázích vývoje může dobré klíčení a vitalita semen urychlit růst rostlin. U pšenice toleranci vůči suchu ovlivňovala velikost a vitalita jejích semen (Rebetzke & Richards 1999). To ale částečně vyvrátili Lazarova et al. (2016), kteří experimentovali s 39 vzorky pšenice, u kterých nebylo potvrzeno společné působení většího kořenového systému a větší vitality. Při stejném experimentu však potvrdili, že kořenový systém pozdních genotypů byl ovlivněn vitalitou, ale už ne klíčivostí semen. Pokud by se u tohoto experimentu s genotypy 'Astronaute' a 'Eso' porovnávala Rychlost klíčení s Délkou kořenové části, tak by bylo potvrzeno tvrzení od Lazarova et al. (2016). Jak u genotypu 'Eso', tak u genotypu 'Astronaute' byla největší naměřená délka kořenů (7,9 cm) ve variantě 5% PEG, u stejné varianty u obou genotypů byla rychlost klíčení 99%. U genotypu 'Eso' ve variantě Kontrola byla v procentní rychlost klíčení, avšak maximální délka kořínku při posledním měření ve variantě Kontrola byla 6,8 cm (Obr. 9; Obr. 13).

Ahmadloo et al. (2011) uvedli, že při zvýšené koncentraci PEG se snížila nejen rychlost klíčení, ale také energie klíčení. Oba tyto parametry působily na kvalitu a sílu sazenic. U genotypů 'Astronaute' a 'Eso' testovaných v tomto experimentu, bylo jasně viditelné zvýšení koncentrace PEG a tím i jejich odpověď, jak ve snížení rychlosti klíčení (Obr. 9), tak i v energii klíčení (Obr. 8). Snížení energie klíčení se skokově projevilo u varianty 10% PEG u obou genotypů v prvním termínu měření. Dále se snižovalo u varianty 15% PEG u obou genotypů v prvním měření, kdy byla energie klíčení na nejnižší hodnotě ze všech variant a termínů měření. Stejně výrazný pokles ve variantě 10% PEG a ještě větší u varianty 15% PEG u obou genotypů byl zaznamenán i v rychlosti klíčení. Rozdílná ale byla míra poklesu hodnot mezi genotypy. Ve variantě 10% PEG u genotypu 'Eso' byla výrazně vyšší hodnota při prvním měření energie klíčení a i u rychlosti klíčení. Ve variantě 15% PEG byly ale hodnoty obou genotypů skoro vyrovnané v obou zmíněných parametrech. Z toho vyplývá, že genotyp 'Eso' ve variantě 10% PEG ještě neměl takový propad v energii klíčení a rychlosti klíčení jako genotyp 'Astronaute'.

Index klíčivosti vyjadřuje procento klíčení za den. Dále je nejlepším ukazatelem pro popis poměru klíčivosti ku rychlosti klíčení. Saeed et al. (2022) uvádí, že klíčící rostliny s vyššími hodnotami indexu klíčivosti mají lepší rychlost klíčení. Během několika pokusů na různých druzích bylo zjištěno, že se index klíčivosti pohyboval od 18,4 do 50 (Kader 2005). Z tohoto experimentu však vyšly hodnoty indexu klíčivosti nejvyšší 8,6 ve variantě Kontrola u genotypu 'Eso' a nejnižší 6,2 ve variantě 15% PEG u stejného genotypu. Genotyp 'Astronaute' se pohyboval v podobných hodnotách, od 8,5 ve variantě Kontrola po 6,3 ve variantě 15% PEG (Obr. 10).

6.2 ROOT:SHOOT

Určování změn v kořenové části během sucha a jejich význam na vývoji nadzemní části je velmi důležitou součástí výběru genotypů. Příkladem je i tento experiment u kterého se lišil vývoj nadzemní části ku kořenové u obou zkoumaných genotypů. Shipley & Meziane (2002); Kim et al. (2020) popisují, že i za předpokladu produkce určité kořenové části jsou rostliny schopny pomocí změny poměru shoot a stupně citlivosti vyrovnat zdroje, které omezují jejich růst. U genotypu 'Astronaute' byly změny jasně viditelné, u variant s nižšími koncentracemi PEG převažovala nadzemní část nad kořenovou, to se ale u narůstající koncentraci PEG změnilo a u varianty 15% PEG kořenová část jasně převažovala nad tou nadzemní (Obr. 11).

Vlivem přibývajících stresu ze sucha byla snížena čerstvá i suchá hmotnost rostlin (Al-Quraan et al. 2021). To potvrzuje i tento experiment, u kterého se s přibývajícím suchem snížila suchá hmotnost kořenové a nadzemní části klíčících rostlin (Obr. 11). U kořenové části (ROOT) měl genotyp 'Eso' ve variantě Kontrola 0,25 g a ve variantě 15% PEG 0,14 g. Ještě větší pokles gramů s narůstajícím suchem byl pozorován u nadzemní části (SHOOT). U varianty 'Eso' byla nadzemní část ve variantě Kontrola 0,20 g a ve variantě 15% PEG to bylo pouhých 0,05 g.

Výběr nových kultivarů je zaměřen především na zvýšení výnosu. Selektce se provádí za optimálních podmínek s vyměřenými živinami. To často vede k vyselektování rostlin s menšími a méně otužilými kořeny. Dnešní kultivary pšenice mají menší poměr

ROOT:SHOOT a menší poměr kořenů, než dříve vyšlechtěné kultivary (Siddique et al. 1990; Koevoets et al. 2016). Pokud by byl na místě i tento aspekt v tomto experimentu, lze se zaměřit i na rok registrace genotypů 'Eso' a 'Astronaute'. Genotyp 'Astronaute', který při vyšších koncentracích PEG vykazoval horší výsledky především v kořenové části oproti genotypu 'Eso', byl zaregistrována v roce 2014. Genotyp 'Eso' byl zaregistrován o dva roky dříve. Dalším odůvodněním horších výsledků genotypu 'Astronaute' může být i cizí původ tohoto genotypu a tím horší adaptace pro polní podmínky u nás v době nedostatku vody v půdě.

6.3 Délka nadzemní/kořenové části a mikroskopická vizualizace vzorků

Jak Okçu et al. (2005) tak i Pereira et al. (2020) ve svých experimentech používali pro hodnocení klíčících rostlin hrachu setého délku nadzemní a kořenové části.

Se zvyšující se koncentrací PEG docházelo ke snížení délky nadzemní části oproti kořenové. Sazenice, které byly vystaveny různým koncentracím PEG se lišily v délce kořenové ku nadzemní části. (Pereira et al. 2020). Okcu et al. (2005) uvádí, že, během vodního deficitu byl potlačen růst výhonků ve prospěch kořenové části. S těmito výsledky vyšel i tento experiment. Dále také z výsledku Okcu et al. (2005) vyplývá, že nejdelší kořenová část byla naměřena u kontrolních neošetřených variant. Výsledky z tohoto experimentu však ukazují, že nejdelší naměřená kořenová část byla jak u genotypu 'Eso', tak i u genotypu 'Astronaute' v 5% koncentraci PEG (Obr. 13). Toto tvrzení bylo potvrzeno i pomocí mikroskopické vizualizace obou genotypů (Obr. 19).

U nadzemní části byla nejdelší naměřená hodnota v Kontrolách. Tento údaj se shodoval s výsledky od Okçu et al. (2005), kteří naměřili délku nadzemní části v neošetřeném vzorku (Kontrola) u kultivaru Bolero 5 cm dlouhou, u kultivaru Sprinter 4,97 cm a u kultivary Utrillo pouze 1,56 cm. U experimentu s genotypem 'Eso' se v Kontrola při posledním termínu měření pohybovala délka okolo 3,1 cm. Genotyp 'Astronaute' měřený ve stejném termínu a také v Kontrola měl délku 3,3 cm (Obr. 14).

U celkové mikroskopické vizualizace vzorků byly pozorovány postranní kořeny, a to převážně u variant genotypu 'Eso' (Obr. 19). Hazman & Kabil (2022) ve výsledcích svého výzkumu uvádí, že kořenová anatomická reakce na sucho se liší podle ošetření, kultivaru a podle polohy vzorku.

6.4 Analýza anatomických změn v pletivech kořene

Pro pěstování za nepříznivých podmínek sucha, to potvrzuje Kim et al. (2020), je klíčový kořenový systém, který přijímá vodu a živiny. Pro určení růstu a celkové produkci rostlin mají zásadní vliv morfologické a fyziologické vlastnosti kořenů. Řadí se mezi ně struktura a distribuce, dvě důležité vlastnosti pro udržení co nejproduktivnějšího chodu vodního režimu při vodním deficitu (Ghosh & Xu 2014). Z anatomické analýzy prováděné u tohoto experimentu jednoznačně vyplývá morfologická změna struktury kořene (Obr. 16).

Jedním z velkých rozdílů stresovaných a nestresovaných variant je diferenciaci xylému v cévním svazku. U varianty Kontrola byly v obou genotypech jednotlivé buňky vodivých prvků xylému většího průměru a tenčích buněčných stěn. To se s navyšováním PEG změnilo a jednotlivé vodivé prvky xylému zmenšovaly svůj průměr a zesilovaly buněčné stěny. Kromě

varianty 5% PEG se zvyšoval i počet vodivých prvků. Nejlépe byla tato změna viditelná mezi variantou Kontrola a variantou 15% PEG u obou genotypů. Cruz et al. (1992) přišli se stejným výsledkem při experimentu s kořeny čiroku, kdy stresovaná varianta měla menší průměr jednotlivých vodivých prvků xylému než varianta stresovaná.

Rozdílnost xylému mezi kontrolní a stresovanou variantou však možná není pravidlem ani u jednoho druhu, jak uvádí Salih et al. (1999), kteří také testovali čirok, ale jiné kultivary. U jimi vybraných kultivarů kontrolní varianta nevykazovala změny v xylému oproti variantě stresované. Dále uvádí, proč kultivar Gadambalia vykazoval vyšší odolnost vůči suchu. Jeho schopnost odolávat je založena na menším počtu xylémových vodivých prvků, menším počtu adventivních kořenů (kořeny vyrůstající ze stonkových nodů), menší listové ploše a na dobře vyvinutém sklerenchymu. U kořenů genotypů 'Astronaute' a 'Eso' se sklerenchym vyskytoval již sedmý den od založení experimentu, kdy byly pořízeny fotografie řezu klíčících rostlin. U obou genotypů se s rostoucí koncentrací PEG zvyšovala tvorba sklerenchymu (Obr. 16).

Vandeleur et al. (2009) zkoumali ve své studii transport vody přes membrány při stresových reakcích ze sucha u révy vinné. Mimo to také zveřejnili fotografie anatomických řezů, u kterých jsou v endodermis zřetelné Casparyho proužky (CP) jak v kontrolní, tak i ve stresované variantě. U tohoto experimentu byly CP (Obr. 16) viditelné u genotypu 'Eso' již ve variantě Kontrola a u dalších variant byly ještě výraznější. U genotypu 'Astronaute' lze CP sledovat po celé endodermis u varianty 10% a 15% PEG.

7 Závěr

Bakalářská práce se věnovala problematice vlivu sucha na klíčení vybraných genotypů hrachu *Pisum sativum* L. a to konkrétně genotypů 'Eso' a 'Astronaute'. Lze z ní vyvést tyto závěry:

- Byla potvrzena hypotéza experimentu. Existují genotypové rozdíly v rychlosti klíčení, klíčivosti a růstových parametrech semen v závislosti na působení vodního stresu.
- Klíčivost genotypu 'Eso' byla ve všech variantách o procento až dvě vyšší než u genotypu 'Astronaute'.
- Snížení energie klíčení se projevilo až u varianty 10% PEG v prvním termínu měření. Genotyp 'Astronaute' při prvním termínu měření ve variantě 10% PEG měl větší propad v energii klíčení než genotyp 'Eso'.
- Zaznamenán byl propad o 45 % v rychlosti klíčení u genotypu 'Astronaute' mezi variantou 5% PEG a variantou 10% PEG v porovnání s genotypem 'Eso', který se také ve stejných variantách propadl, ale pouze o 16 %.
- Se zvýšením koncentrace polyethylene glycol-6000 (PEG), bylo u obou genotypů jasně viditelné nejen snížení v rychlosti klíčení, ale i v energii klíčení. V energii klíčení a v rychlosti klíčení neměl genotyp 'Eso' ve variantě 10% PEG tak výrazný propad jako genotyp 'Astronaute'.
- Index klíčivosti, který je ukazatelem poměru klíčivosti ku rychlosti klíčení ukazoval ve variantě 10% PEG u genotypu 'Astronaute' snížení o celou jednotku více oproti genotypu 'Eso'. Avšak ve variantě 15% PEG byl genotyp 'Astronaute' o (desetiny) tolerantnější než genotyp 'Eso'.
- Kořenová část vždy dominovala ve variantách 10% a 15% PEG u obou genotypů. Genotyp 'Astronaute' měl vyšší podíl nadzemní části ve variantě Kontrola, ve variantě 5% PEG byla hmotnost obou částí téměř vyrovnaná a v posledních dvou variantách (10% a 15% PEG) dominovala kořenová část. Genotyp 'Eso' měl po celou dobu experimentu vyšší podíl kořenové části než té nadzemní.
- U obou genotypů byla nejdelší kořenová délka ve variantě 5% PEG, rozdílná byla nadzemní část, která byla u obou genotypů nejdelší ve variantě Kontrola.
- PEG se projevil i na anatomických řezech klíčících rostlin.
- Celkově se tolerantněji vůči suchu jevil genotyp 'Eso'. Tato skutečnost byla potvrzena v celkové vizualizaci obou genotypů, kdy byl ve variantě 10% PEG vitálnější genotyp 'Eso' oproti genotypu 'Astronaute'.
- V návaznosti na tuto bakalářskou práci lze konstatovat nejen rozdílnost tolerance rostli vůči suchu, ale i velkou variabilitu rostlinných reakcí na nedostatek vody. Těchto výsledků a mnohých dalších a obsáhlejších bude do budoucna třeba pro vývoj genotypů pěstovaných rostlin přizpůsobených extrémním výkyvům klimatu.

8 Bibliografie

AghaKouchak A, Mirchi A, Madani K, Di Baldassarre G, Nazemi A, Alborzi A, Anjileli H, Azarderakhsh M, Chiang F, Hassanzadeh E, Huning LS, Mallakpour I, Martinez A, Mazdiyasn O, Moftakhari H, Norouzi H, Sadegh M, Sadeqi D, Van Loon A F, Wanders N. 2021. Anthropogenic drought: definition, challenges, and opportunities. *Reviews of Geophysics* (e2019RG000683) DOI: 10.1029/2019RG000683.

Aguirre-Becerra H, Vazquez-Hernandez MC, Saenz de la OD, Alvarado-Mariana A, Guevara-Gonzalez RG, Garcia-Trejo JF, Feregrino-Perez AA. 2021. Role of stress and defense in plant secondary metabolites production. *Bioactive Natural Products for Pharmaceutical Applications*. Pages 151-195.

Ahmadloo F, Tabari M, Behtari B. 2011. Effect of drought stress on the germination parameters of *Cupressus* seeds. *International Journal of Forest, Soil and Erosion (IJFSE)*, **1**:11-17.

Al-Quraan NA, Al-Ajlouni ZI, Qawasma NF. 2021. Physiological and biochemical characterization of the GABA shunt pathway in pea (*Pisum sativum* L.) seedlings under drought stress. *Horticulturae*, **7**:125.

Anjum S, Xie X, Wang L, Saleem M, Man C, Lei W. 2011. Morphological, physiological and biochemical responses of plants to drought stress. *J African Agri Res* **6**:2026-2032.

Bam RK, Kumaga FK, Ofori, K, Asiedu EA. 2006. Germination, vigour and dehydrogenase activity of naturally aged rice (*Oryza sativa* L.) seeds soaked in potassium and phosphorus salts. *CABI Databases*, **5**: 948-955.

Batool M, El-Badri AM, Wang Z, Mohamed IAA, Yang H, Ai X, Salah A, Hassan MU, Sami R, Kuai J, Wang B, Zhou G. 2022. Rapeseed morpho-physio-biochemical responses to drought stress induced by PEG-6000. *Agronomy*, **12**:579.

Bewley JD, Black M. 1994. Dormancy and the control of germination. *Seeds: physiology of development and germination*. Springer New York, New York.

Bewley JD, Bradford K, Hilhorst H. 2012. *Seeds: physiology of development, germination and dormancy*. Springer Science & Business Media.

Bhatla SC, Lal MA. 2023. *Plant physiology, development and metabolism*. Springer Nature, Berlin.

Bláha L, Hermuth J. 2016. Changes of seed germination during the year. *Agricultural Sciences*, **7**:164-174.

Bláha L, Šerá B. 2014. Příspěvky k problematice zemědělského pokusnictví. Praha. Výzkumný ústav rostlinné výroby, **11**:140.

- Blum A. 2018. Plant breeding for stress environments. CRC press, Boca Raton.
- Castro-Valdecantos P, Puértolas J, Albacete A, Dodd IC. 2021. Girdling changes root and shoot hormonal balance but does not alter drought-induced stomatal closure in soybean. *Environmental and Experimental Botany*, **192**:104657.
- Cruz RT, Jordan WR, Drew MC. 1992. Structural changes and associated reduction of hydraulic conductance in roots of *Sorghum bicolor* L. following exposure to water deficit. *Plant Physiology*, **99**:203-212.
- Del Buono D. 2021. Can biostimulants be used to mitigate the effect of anthropogenic climate change on agriculture? It is time to respond. *Science of the Total Environment*, **751**:141763.
- Demirevska K, Zasheva D, Dimitrov R, Simova-Stoilova L, Stamenova M, Feller U. 2009. Drought stress effects on Rubisco in wheat: changes in the Rubisco large subunit. *Acta Physiologiae Plantarum*, **31**:1129-1138.
- Dixon RA, Sumner LW. 2003. Legume natural products: understanding and manipulating complex pathways for human and animal health. *Plant Physiology*, **131**:878-885.
- Duan B, Yang Y, Lu Y, Korpelainen H, Berninger F, Li C. 2007. Interactions between water deficit, ABA, and provenances in *Picea asperata*. *Journal of Experimental Botany*, **58**:3025-3036.
- Ehrenbergerová J. 2014. Odrůdy, osivo a sadba. Mendelova univerzita v Brně, Brno.
- Farooq MA, Ma W, Shen S, Gu A. 2022. Underlying biochemical and molecular mechanisms for seed germination. *International Journal of Molecular Sciences*, **23**:8502.
- Farooq M, Hussain M, Wahid A, Siddique KHM. 2012. Drought stress in plants: an overview. *Plant responses to drought stress: From morphological to molecular features*, Pages 1-33.
- Farooq M, Wahid A, Kobayashi N, Fujita D, Basra SMA. 2009. Plant drought stress: effects, mechanisms and management. *Sustainable Agriculture*, **29**:153-188.
- Galviz Y, Souza GM, Lüttge U. 2022. The biological concept of stress revisited: relations of stress and memory of plants as a matter of space-time. *Theoretical and Experimental Plant Physiology*, **34**:239-264.
- García-Caparrós P, De Filippis L, Gul A, Hasanuzzaman M, Ozturk M, Altay V, Lao MT. 2021. Oxidative stress and antioxidant metabolism under adverse environmental conditions: a review. *The Botanical Review*, **87**:421-466.

Ghosh D, Xu, J. 2014. Abiotic stress responses in plant roots: a proteomics perspective, *Frontiers in plant science*, **5**:66977.

Harris CJ, Amtmann A, Ton J. 2023. Epigenetic processes in plant stress priming: open questions and new approaches. *Current Opinion in Plant Biology*, **75**:102432.

Hazman MY, Kabil FF. 2022. Maize root responses to drought stress depend on root class and axial position. *Journal of plant research*, **135**:105-120.

Hellal FA, El-Shabrawi HM, Abd El-Hady M, Khatab IA, El-Sayed SAA, Abdelly C. 2018. Influence of PEG induced drought stress on molecular and biochemical constituents and seedling growth of Egyptian barley cultivars. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, **16**:203-212.

Hellwig T, Abbo S, Sherman A, Ophir R. 2021. Prospects for the natural distribution of crop wild-relatives with limited adaptability: the case of the wild pea *Pisum fulvum*. *Plant Science*, **310**:110957.

Hilker M, Schwachtje J, Baier M, Balazadeh S, Bäurle I, Geiselhardt S, Kopka J. 2016. Priming and memory of stress responses in organisms lacking a nervous system. *Biological Reviews*, **91**:1118-1133.

Hittalmani S, Huang N, Courtois B, Venuprasad R, Shashidhar HE, Zhuang JY, Khush GS. 2003. Identification of QTL for growth-and grain yield-related traits in rice across nine locations of Asia. *Theoretical and Applied Genetics*, **107**:679-690.

Houba M, Hosnedl V. 2002. *Osivo a sadba: praktické semenářství*. Martin Sedláček, Praha.

Houba M. 2018. *Luskoviny*. Profi Press, Praha.

Chowdhury MK, Hasan MA, Bahadur MM, Islam Md R, Hakim Md A, Iqbal MA, Javed T, Raza A, Shabbir R, Sorour S, Elsanafawy NEM, Anwar S, Alamri S, Sabagh AEL, Islam MS. 2021. Evaluation of drought tolerance of some wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes through phenology, growth, and physiological indices. *Agronomy*, **11**:1792.

Ibrahim M, Zeid NA, Semary E. 2001. Response of two differentially drought. Tolerant varieties of maize to drought stress. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, **4**:779-784.

Ilyas M, Nisar M, Khan N, Hazrat A, Khan AH, Hayat K, Fahad S, Khan A, Ullah A. 2021. Drought tolerance strategies in plants: a mechanistic approach. *Journal of Plant Growth Regulation*, **40**:926-944.

- Kader MA. 2005. A comparison of seed germination calculation formulae and the associated interpretation of resulting data. In Journal & Proceedings of the Royal Society of New South Wales, **138**:65-75.
- Kim Y, Chung, YS, Lee E, Tripathi P, Heo S, Kim KH. 2020. Root response to drought stress in rice (*Oryza sativa* L.). International Journal of Molecular Sciences, **21**:1513.
- Koevoets IT, Venema JH, Elzenga JT, Testerink C. 2016. Roots withstanding their environment: exploiting root system architecture responses to abiotic stress to improve crop tolerance. Frontiers in plant science, **7**:215317.
- Krucký J, Hejnák V, Skalický M, Vachová P, Barboričová M, Filaček A, Tunklová B, Petřů V, Kraus K. 2022. Vliv sucha na vybrané fyziologické parametry genotypů pšenice (*Triticum aestivum* L.). Pages 31-36 in Hnilička F, editors. Vliv abiotických a biotických stresorů na vlastnosti rostlin. Česká zemědělská univerzita v Praze, Ústav ekologie lesa Slovenskej akademie vied, v.v.i, Praha.
- Larcher W. 2003. Physiological plant ecology: ecophysiology and stress physiology of functional groups. Springer-Verlag, Heidelberg.
- Lazarova E, Klimesova J, Streda T. 2016. Seed vigour and root system size as an attribute for drought escape and tolerance. In Proceeding of International PhD Students Conference MendelNet. Pages 102-105.
- Lichtenthaler HK. 1996. Vegetation stress: an introduction to the stress concept in plants. Journal of plant physiology, **148**:4-14.
- Ludvíková M, Griga M. 2022. Pea transformation: history, current status and challenges. Czech Journal of Genetics and Plant Breeding, **58**:127-161.
- Luo LJ. 2010. Breeding for water-saving and drought-resistance rice (WDR) in China. Journal of Experimental Botany, **61**:3509-3517.
- Malý I. 2003. Pěstujeme cibuli, česnek, hrách a další cibulové a luskové zeleniny. Grada, Praha.
- Manavalan LP, Guttikonda SK, Phan Tran LS, Nguyen HT. 2009. Physiological and molecular approaches to improve drought resistance in soybean. Plant and Cell Physiology, **50**:1260-1276.
- Mareri L, Parrotta L, Cai G. 2022. Environmental stress and plants. International Journal of Molecular Sciences, **23**:5416.

Metwally RA, Abdelhameed RE. 2024. Co-application of arbuscular mycorrhizal fungi and nano-ZnFe₂O₄ improves primary metabolites, enzymes and NPK status of pea (*Pisum sativum* L.) plants. *Journal of Plant Nutrition*, **47**:468-486.

Mezlík T. 2020. Seznam doporučených odrůd 2020 Hrách polní jarní, sója Přehled odrůd 2020 Hrách polní ozimý Lupina úzkolistá. Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský, Brno.

Ministerstvo zemědělství Odbor rostlinných komodit MZe. 2022. Situační a výhledová zpráva Luskoviny 2021. Praha.

Moore RC, Vodopich DS, Clark WD, Stern KR. 1995. *Botany: plant diversity*. McGraw-Hill Higher Education, New York.

Moran JF, Becana M, Iturbe-Ormaetxe I, Frechilla S, Klucas RV, Aparicio-Tejo P. 1994. Drought induces oxidative stress in pea plants. *Planta*, **194**:346-352.

Nonogaki H, Bassel GW, Bewley, JD. 2010. Germination-still a mystery. *Plant Sci*, **179**:574-581.

Okçu G, Kaya MD, Atak M. 2005. Effects of salt and drought stresses on germination and seedling growth of pea (*Pisum sativum* L.). *Turkish journal of agriculture and forestry*, **29**: 237-242.

Ozturk M, Turkyilmaz Unal B, García-Caparrós P, Khursheed A, Gul A, Hasanuzzaman M. 2021. Osmoregulation and its actions during the drought stress in plants. *Physiologia Plantarum*, **172**:1321-1335.

Papendick RI, Campbell GS. 1981. Theory and measurement of water potential. *Water potential relations in soil microbiology*, **9**:1-22.

Pathak P, Rai VK, Can H, Singh SK, Kumar D, Bhardwaj N, Kumar A. 2022. Plant-endophyte interaction during biotic stress management. *Plants*, **11**:2203.

Pereira IC, Catão HCRM, Caixeta F. 2020. Seed physiological quality and seedling growth of pea under water and salt stress. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, **24**:95-100.

Rebetzke GJ, Richards RA. 1999. Genetic improvement of early vigour in wheat. *Australian Journal of Agricultural Research*, **50**:291-302.

Saeed S, Ullah A, Ullah S, Noor J, Ali B, Khan MN, Alamri S. 2022. Validating the impact of water potential and temperature on seed germination of wheat (*Triticum aestivum* L.) via hydrothermal time model. *Life*, **12**: 983.

- Salih AA, Ali IA, Lux A, Luxova M, Cohen Y, Sugimoto Y, Inanaga S. 1999. Rooting, water uptake, and xylem structure adaptation to drought of two sorghum cultivars. *Crop Science*, **39**:168-173.
- Samarah NH, Alqudah AM, Amayreh JA, McAndrews GM. 2009. The effect of late-terminal drought stress on yield components of four barley cultivars. *Journal of Agronomy and Crop Science*, **195**:427-441.
- Seth P, Sebastian J. 2024. Plants and global warming: challenges and strategies for a warming world. *Plant Cell Reports*, **43**: 27.
- Shahzad MA, Jan SU, Afzal F, Khalid M, Gul A, Sharma I, Sofu A, Ahmad P. 2016. Drought stress and morphophysiological responses in plants. Pages 452-467 in Ahmad P, editor. *Water Stress and Crop Plants*. Wiley-Blackwell, Chichester.
- Shao H, Zhang Y, Yu Z, Gu F, Peng Z. 2022. The resilience of vegetation to the 2009/2010 extreme drought in southwest China. *Forests*, **13**:851.
- Shipley B, Meziane D. 2002. The balanced-growth hypothesis and the allometry of leaf and root biomass allocation. *Functional Ecology*, **16**:326-331.
- Siddique MRB, Hamid AIMS, Islam MS. 2000. Drought stress effects on water relations of wheat. *Botanical Bulletin of Academia Sinica*, **41**:35-39
- Siddique KHM, Belford RK, Tennant D. 1990. Root:shoot ratios of old and modern, tall and semi-dwarf wheats in a Mediterranean environment. *Plant and soil*, **121**:89-98.
- Smýkal P, Aubert G, Burstin J, Coyne CJ, Ellis NTH, Flavell AJ, Ford R, Hýbl M, Macas J, Neumann P, McPhee KE, Redden RJ, Rubiales D, Weller JL, Warkentin TD. 2012. Pea (*Pisum sativum* L.) in the Genomic Era. *Agronomy*, **2**:74-115.
- Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský. 2023. Seznam doporučených odrůd 2024 hrách polní jarní. Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský, Brno.
- Vandeleur RK, Mayo G, Shelden MC, Gilliam M, Kaiser BN, Tyerman SD. 2009. The role of plasma membrane intrinsic protein aquaporins in water transport through roots: diurnal and drought stress responses reveal different strategies between isohydric and anisohydric cultivars of grapevine. *Plant physiology*, **149**:445-460.
- Vus N, Vasylenko A, Lutenko V, Kobyzeva L, Bezuhla O, Shevchenko L, Ponurenko S, Baili F, Saliy D. 2020. Concentration effect of polyethylene glycol in evaluation of grain legumes for drought tolerance. *Žemės ūkio mokslai* **27**:78-88.

Wach D, Skowron P. 2022. An overview of plant responses to the drought stress at morphological, physiological and biochemical levels. Polish Journal of Agronomy, **50**: 25-34.

Zablatzká L, Balarynová J, Klčová B, Kopecký P, Smýkal P. 2021. Anatomy and histochemistry of seed coat development of wild (*Pisum sativum* subsp. *elatius* (M. Bieb.) Asch. et Graebn. and domesticated pea (*Pisum sativum* subsp. *sativum* L.). International Journal of Molecular Sciences, **22**:4602.