

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra botaniky a fyziologie rostlin



Vliv osmotického stresu na akumulaci prolinu u listové zeleniny

Bakalářská práce

Autor práce: Barbora Tunklová

Obor studia: Zahradnictví

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

©2018 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci "Vliv osmotického stresu na akumulaci prolinu u listové zeleniny " 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 11.4.2018

Poděkování

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

Vliv osmotického stresu na akumulaci prolinu u listové zeleniny

Souhrn

Zasolení je celosvětový problém v oblasti zemědělství, proto je důležité zkoumat odolnost plodin k zasolení. Cílem této bakalářské práce bylo zhodnotit, jak rozdílné působení soli ovlivňuje obsah prolinu a relativní obsah vody (RWC). K pokusům bylo vybráno pět druhů listových zelenin: locika setá 'Orion' (*Lactuca sativa* L.), roketka setá 'Astro' (*Eruca sativa* Mill.), kozlíček polníček (*Valerianella locusta* L.), šrucha zelná 'Green Purslane' (*Portulaca oleracea* L.), čtyřboč rozložitá [*Tetragonia tetragonioides* (Pallas) O. Kuntze].

Pokus byl založen v experimentálním a pokusném skleníku ČZU FAPPZ Katedry botaniky a fyziologie rostlin 15.3.2016, kde bylo vyseto pět druhů listových zelenin. Osmotický stres byl navozen různými koncentracemi roztoku chloridu sodného NaCl. Kontrolní rostliny byly zalévány destilovanou vodou, stresované varianty poté různými koncentracemi NaCl (50 mmol.l⁻¹, 100 mmol.l⁻¹, 200 mmol.l⁻¹ a 300 mmol.l⁻¹).

Měření obsahu prolinu byla prováděna na spektrofotometru podle metodiky Bateše (1973). Vše probíhalo v laboratorních podmínkách, a to po dobu padesáti dnů od založení pokusu. Dále byl stanoven relativní obsah vody v listech (RWC) podle Smart and Bingham (1974).

Obsah prolinu u varianty zalévané roztokem soli o koncentraci 300 mmol.l⁻¹ byl u šruchy 11,74 μg.g⁻¹, roketky 230,97 μg.g⁻¹, salátu 74,14 μg.g⁻¹ a čtyřboče 66,12 μg.g⁻¹, u polníčku vlivem vysoké koncentrace soli došlo k úhynu rostlin. Při koncentraci 300 mmol.l⁻¹ byly naměřeny následující hodnoty RWC u šruchy 69,21 %, salátu 61,55 %, roketky 48,4 % a čtyřboče 54,88 %. Čím vyšší byla koncentrace soli, tím vyšší byl obsah prolinu a nižší hodnota RWC.

Na závěr můžeme konstatovat, že dle obou způsobů měření na zasolení reagovaly z testovaných rostlin nejcitlivěji rostliny polníčku a salátu, jako odolnější k zasolení se jevíly rostliny šruchy, roketky a čtyřboče.

Klíčová slova: osmotický stres, prolin, RWC, listová zelenina, zasolení

Effect of osmotic stress on proline accumulation in leafy vegetables

Summary

The salinity is a global problem in the field of agriculture, so it is important to examine the resistance of crops to salinity. The topic of this bachelor's thesis is to evaluate how salinity affect proline concentration and relative water content (RWC). There were selected five types of leafy vegetables were selected: lettuce 'Orion' (*Lactuca sativa* L.), rocket salad 'Astro' (*Eruca sativa* Mill.), lamb's lettuce (*Valerianella locusta* L.), purslane 'Green Purslane' (*Portulaca oleracea* L.), New Zealand spinach [*Tetragonia tetragoniodes* (Pallas) O. Kuntze] for this thesis.

The experiment was conducted in the experimental greenhouse of CULS FAFNR Department of Botany and Plant Physiology, March 15th 2016, where five species of leafy vegetables were sown. Osmotic stress was induced by different concentrations of NaCl salt solution. The control plants were watered with distilled water, stressed variants with various concentrations of NaCl (50 mmol.l⁻¹, 100 mmol.l⁻¹, 200 mmol.l⁻¹ a 300 mmol.l⁻¹).

Proline content measurement was performed on a spectrophotometer according to Bates methodology (1973). It took place in the laboratory conditions, fifty days after the beginning of experiment. Furthermore, the relative water content of the leaves was determined by Smart and Bingham (1974) methodology.

The proline content of the variant with a salt concentration 300 mmol.l⁻¹ was for purslane 11,74 µg.g⁻¹, for rocket salad 230,97 µg.g⁻¹, for lettuce 74,14 µg.g⁻¹ and New Zealand spinach 66,12 µg.g⁻¹, in lamb's lettuce due to high salt concentration, plant death occurred. At concentration 300 mmol.l⁻¹ the following values were measured RWC for purslane 69,21 %, for lettuce 61,55 %, for rocket salad 48,4 % and New Zealand spinach 54,88 %. The higher the salt concentrations, the higher the proline content and a lower value RWC.

In conclusion, we can state, that according to both methods lamb's lettuce and lettuce responded more sensitively, purslane, rocket salad and New Zealand spinach plants were more resistant to salinity.

Keywords: osmotic stress, proline, RWC, leafy vegetables, salinity

Obsah

1	Úvod.....	1
2	Cíl práce.....	2
3	Literární přehled.....	3
3.1	Zasolení půd.....	3
3.1.1	Typy zasolení	4
3.1.2	Rozdělení rostlin podle schopnosti tolerovat zasolení.....	5
3.1.2.1	Glykofyty	5
3.1.2.2	Halofyty.....	5
3.1.3	Omezení salinizace půd	6
3.2	Stres rostlin	8
3.2.1	Rozdělení stresů rostlin.....	9
3.2.2	Přizpůsobení rostlin stresu	9
3.3	Osmotický stres	11
3.3.1	Osmolyty.....	12
3.4	Prolin	13
3.4.1	Syntéza prolinu	13
4	Materiál a metodika	15
4.1	Charakteristika jednotlivých druhů listových zelenin.....	15
4.2	Založení pokusu.....	16
4.3	Zpracování a vyhodnocení rostlinného materiálu	19
4.3.1	Stanovení hodnot prolinu	19
4.3.2	Stanovení relativního obsahu vody (RWC)	19
5	Výsledky.....	20
5.1	Hodnoty prolinu	20
5.1.1	Šrucha zelná (<i>Portulaca oleracea</i> L.).....	20
5.1.2	Locika setá (<i>Lactuca sativa</i> L.).....	21
5.1.3	Roketa setá (<i>Eruca sativa</i> Mill.)	21
5.1.4	Kozlíček polníček (<i>Valerianella locusta</i> L.).....	22
5.1.5	Čtyřboč rozložitá [<i>Tetragonia tetragoniodes</i> (Pallas) O. Kuntze].....	23
5.1.6	Porovnání jednotlivých variant u vybraných druhů rostlin.....	25
5.1.6.1	Kontrolní varianta	25
5.1.6.2	Varianta zalévána roztokem 50 mmol.l ⁻¹	25
5.1.6.3	Varianta zalévána roztokem 100 mmol.l ⁻¹	26
5.1.6.4	Varianta zalévána roztokem 200 mmol.l ⁻¹	26
5.1.6.5	Varianta zalévána roztokem 300 mmol.l ⁻¹	27
5.2	Relativní obsah vody (RWC).....	28

5.2.1	Šrucha zelná (<i>Portulaca oleracea</i> L.)	28
5.2.2	Locika setá (<i>Lactuca sativa</i> L.)	29
5.2.3	Roketa setá (<i>Eruca sativa</i> Mill.)	29
5.2.4	Čtyřboč rozložitá [<i>Tetragonia tetragoniodes</i> (Pallas) O. Kuntze].....	30
5.2.5	Porovnání jednotlivých variant u vybraných druhů rostlin.....	31
6	Diskuze	32
7	Závěr	35
8	Seznam použité literatury.....	37

1 Úvod

Rostliny jsou během svého života vystaveny celé řadě nepříznivých faktorů, se kterými se musí vyrovnat, aby přežily. Podmínky vyvolávající stres zahrnují abiotické a biotické faktory. Problematika osmotického stresu je v oblasti zemědělství velmi řešené téma. Zvýšená koncentrace osmotických látek v půdě, respektive v závlivkové vodě zhoršuje dostupnost vody pro rostlinu. Deficit vody a zasolení ovlivňuje základní fyziologické procesy rostlin. Vlivem zasolení dochází ke snižování výnosů a biomasy.

Podle schopnosti tolerovat zasolení se rostliny dělí do dvou skupin. První skupinu tvoří halofyty rostliny, které jsou přirozeně schopné růst v půdě s vyšší koncentrací iontů a jsou k soli tolerantní. Druhou skupinou rostlin jsou glykofyty, které jsou na rozdíl od halofytů k nižší koncentraci iontů v roztoku citlivé. A již při nižších koncentracích soli v půdě může dojít k úhynu rostlin. Naprostá většina rostlin na naší planetě je tvořena právě glykofyty. Rostliny vyvinuly celou řadu strategií, způsobeným zasolením vypořádat. Při vysoké koncentraci soli v roztoku rostliny vyrovnávají vysoký osmotický tlak ve vakuole, osmoticky aktivními látkami v cytosolu. Jedná se převážně o aminokyselinu prolin, kterou rostliny akumulují jako odpověď na osmotický stres. Prolin je proto ukazatelem reakce rostliny na zasolení.

Tato práce se zaměřuje na to, jak osmotický stres ovlivňuje obsah prolinu a relativní obsah vody (RWC) u vybraných druhů listových zelenin.

2 Cíl práce

V současné době je problematika osmotického stresu velmi řešeným tématem v oblasti zemědělství. Zvýšená koncentrace osmotických látek v půdě, respektive v závlivkové vodě zhoršuje dostupnost vody pro rostliny a tím ovlivňuje základní fyziologické procesy rostlin. Cílem této bakalářské práce je zjistit a zhodnotit, jak osmotický stres ovlivňuje obsah prolinu a relativní obsah vody (RWC) u vybraných druhů listových zelenin. A dále porovnat a vyhodnotit, které druhy vybraných zelenin jsou citlivé nebo naopak odolné k zasolení.

3 Literární přehled

3.1 Zasolení půd

Zasolení (salinita) půdy je způsobená nahromaděním lehce rozpustných solí, které pocházejí ze spodní nebo zálivkové vody, a z minerálních hnojiv v horní vrstvě půdy (Rod a kol., 2005). Salinita zahrnuje solné, sodné a alkalické půdy (van Beek and Tóth, 2012). Je způsobena akumulací solí převážně sodíku, hořčíku, vápníku (Blum, 2013). Zpočátku se zasolení půd nevěnovala velká pozornost, dnes je to pro svět hlavní hrozba způsobující degradaci půd (Daliakopoulos et al., 2016). Munns and Tester (2008) charakterizovali salinitu jako jeden z nejzávažnějších faktorů ovlivňující produktivitu zemědělských plodin. V důsledku zasolení je snížena klíčivost semen, snížen výnos rostlin a také omezen jejich růst. Dále je ovlivněna řada fyzikálně chemických vlastností půdy a její ekologická rovnováha. Zasolená půda je obecně definována jako taková, v níž je elektrická vodivost (ES) nasyceného roztoku (EC_e) v kořenové zóně vyšší než 4 dS m^{-1} , což odpovídá (40 mM NaCl). Soli v půdě se vyskytují jako ionty. Jsou uvolňovány z půdních minerálů v půdě. Do půdy se mohou dostat i prostřednictvím zavlažovací vody nebo s hnojivy (Shrivastava and Kumar, 2015).

Zvyšující se koncentrace soli ovlivňuje rostlinu tím, že (Hasegawa et al., 2000; Munns, 2002; Munns et al., 1995; Munns and Tester, 2008):

1. je narušena schopnost kořene přijímat vodu
2. sůl může být sama o sobě pro rostlinu toxická, což inhibuje některé fyziologické a biochemické procesy v rostlině

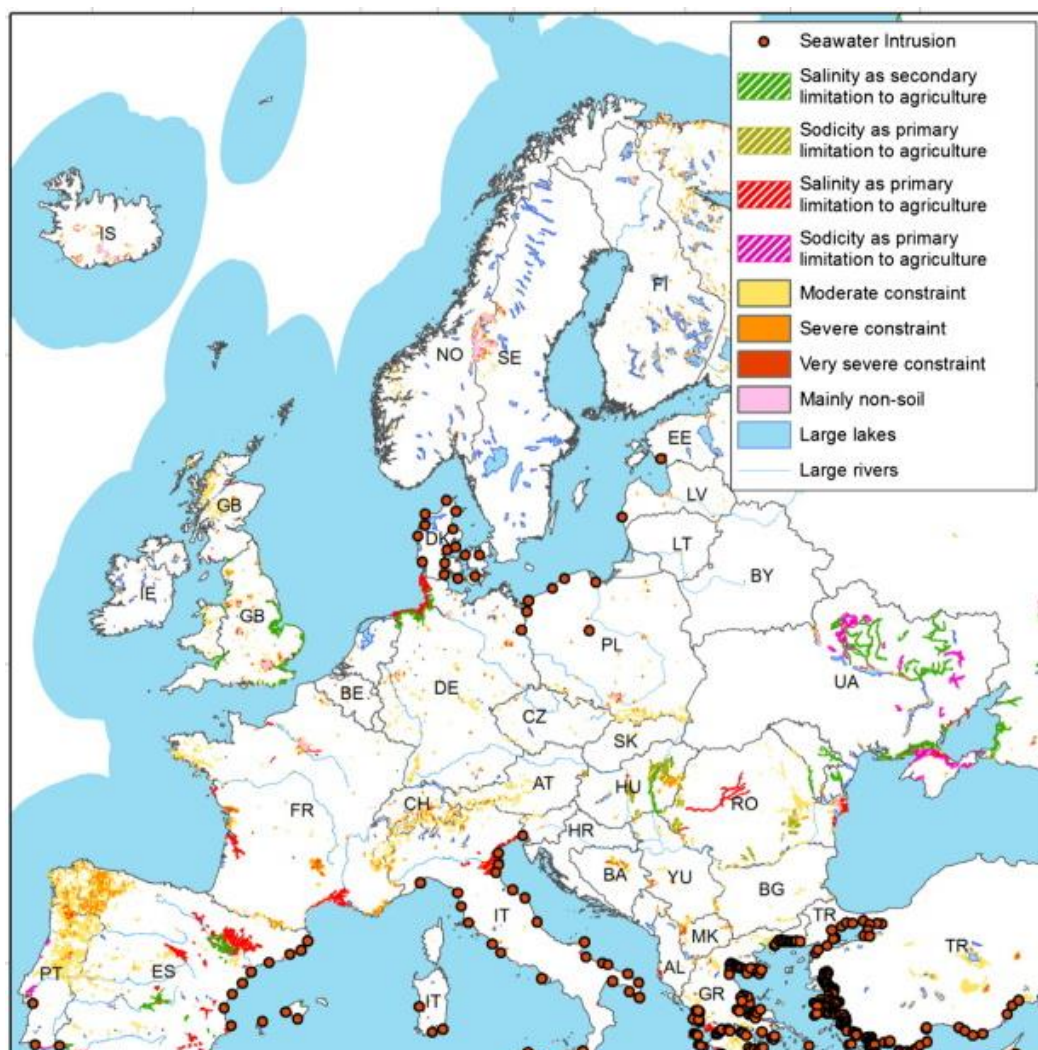
Odhaduje se, že na světě je zasolením zasaženo přes 6 % půd (Munns, 2005), v Evropě je zasaženo asi 3 Mha (Melendez-Pastor, 2012). Situace se rok od roku zhoršuje, podle Jamil et al. (2011) bude do roku 2050 více než 50 % půd ovlivněno salinizací. V České republice území ovlivněná zasolením zaujímají plochu 6 600 ha. Nejedná se o typické zasolení (zvýšené množství NaCl), ale o slabé ovlivnění hlubších částí půdních profilů., kde je zvýšen obsah Na_2SO_4 (území Šaratice, Zaječí). Zasolení půd v naší republice není vážným problémem, jelikož se týká velmi malého území (Brtnický a kol., 2012)

3.1.1 Typy zasolení

Existují dva typy zasolení:

Primární je způsobeno akumulací soli po určitou dobu (v půdě nebo podzemních vodách). Přírodní zasolení se vyskytuje, tam kde jsou nízké srážky a sůl zůstává uložena v kořenech v podloží (Rengasamy, 2002; Shabala, 2017)

Sekundární zasolení způsobuje člověk nevhodnými lidskými zásahy (nevhodným zavlažováním, nedostatečné odvodnění pozemků (Owens, 2001). Podle Daliakopoulos et al. (2016) sekundární salinizace postihuje v Evropě 3,8 Mha. Evropské půdy trpí nízkou až střední úrovní salinizace (Van Camp et al., 2004). Jha (2010) ve své knize uvedl, že celosvětový rozsah primární salinizace činí 955 Mha, zatímco sekundárním zasolením je poškozeno asi 77 Mha (Obrázek 1).



Obrázek 1 Mapa Evropy znázorňující půdu postiženou salinizací (EEA, 1999; Daskalaki and Voudouris, 2008; Fisher et al., 2008)

3.1.2 Rozdělení rostlin podle schopnosti tolerovat zasolení

3.1.2.1 Glykofyty

Glykofyty jsou skupinou rostlin, které nejsou tolerantní k zasolení (Zakharin and Panichkin, 2009). Naprostá většina flóry na naší planetě je tvořena právě glykofyty. K úhynu dochází, pokud je překročena koncentrace 100–200 mM NaCl (Carillo et al., 2011). Dajic (2006) uvádí, že již při obsahu soli v půdě vyšším než 0,01 % dochází u glykofytů ke zpomalení růstu. Důvodem je, že se tato skupina rostlin vyvinula za podmínek nízké půdní slanosti. Proto nejsou tolerantní k zasolení (Munns and Termaat, 1986).

3.1.2.2 Halofyty

Druhou skupinou rostlin jsou halofyty, tyto rostliny jsou schopné přirozeně růst v půdě s vyšší koncentrací soli, jsou k soli tolerantní (Cheeseman, 2015; Azooz and Ahmad, 2016). Nedělá jim problém přežít v půdě, kde se slanost pohybuje nad 300–400 mM. Halofyty tvoří asi 1 % světové flory (Hasanuzzaman, 2014). Nejvíce halofytních druhů nalezneme v čeledi *Chenopodiaceae* (přibližně 550), dále pak v čeledích *Poaceae*, *Fabaceae* a *Asteraceae* (Mořková a kol., 2014).

Halofyty lze rozdělit na:

1. Pravé (obligátní) halofyty pro optimální růst potřebují koncentraci chloridu sodného v půdě 0,5 – 1 %. Do této skupiny patří *Suaeda fruticosa*, *Cressa cretica*, *Aeluropus lagopoides*, *Salsola baryosma*, *Haloxylon recurvum* a *Zygophyllum simplex*.
2. Fakultativní halofyty rostou dobře v zasolených půdách jako pravé halofyty, ale nevdají jim půda nezasolená. Mezi fakultativní halofyty patří *Trianthema triquetra*, *Tamarix dioica*, *Launaea nudicaulis*, *Eragrostis ciliaris*, *E. pilosa*, *Salvadora persica*, *Pulicaria wightiana* a mnoho dalších.
3. Přechnodné halofyty rostou na nezasolených půdách, ale zvládají i půdy přechnodně zasolené. Patří sem *Sporobolus marginatus*, *S. helvolus*, *Haloxylon salicornicum* a *Datyloctenium indicum* (Sen et al., 1982; Dagar, 2005).

Mechanismy přizpůsobení rostlin pro růst v zasolených půdách jsou na úrovni fyziologické, anatomické a biochemické, a lze je dělit na (Koyro et al. 2008; Joshi et al., 2015):

1. omezení příjmu soli kořeny
2. fenologické vyhnutí (rostliny dokončují životní cyklus růstu a vývoj v nepříznivém vegetačním období)
3. aktivní vylučování iontů solnými vlásky a solnými žlázami
4. sukulence
5. aktivní akumulace a komparace soli (iontů) do vakuoly
6. biochemická tolerance prostřednictvím přizpůsobení organel a makromolekul na vyšší obsah solí v buňce
7. akumulace kompatibilních solutů

Z obilnin se podle European Commission (2016) v Evropě nejvíce pěstuje pšenice, ječmen, tritcale a žito. Tyto rostliny lze považovat za tolerantní k solím. Na rozdíl od kukuřice, která je k zasolení citlivá. Většina zeleninových plodin vykazuje vyšší citlivost k zasolení, s výjimkou chřestu, červené řepy a tykve „squashu“ (Shannon and Grieve, 1998; Machado and Serralheiro, 2017). Shannon and Grieve (1998) uvedli, že ze zelenin je na sůl citlivá cibule, mrkev a fenykl. Oproti celeru, salátu, špenátu a šruše, které dokáží růst v mírně zasolené půdě

3.1.3 Omezení salinizace půd

Rekultivace půdy

Zasolenost je problém, který se těžko překonává, vyžaduje odstranění soli z kořenové části (rekultivace). Rekultivace je proto možná nejefektivnější a dlouhotrvající způsob, jak minimalizovat nebo dokonce eliminovat škodlivý účinek zasolení (Munns et al., 2002). Nicméně tento proces vyžaduje dostatek kvalitní vody. Odvodnění půdy je navíc velmi zdoluhavé a nákladné stejně, jako celý proces rekultivace. Není často snadné sehnat kvalitní vodu, jelikož vodní zdroje v blízkosti zasažené půdy, budou pravděpodobně zasolením také zasaženy.

Hnojení

Hnojení je další ze zdrojů zasolení půd. K snížení slanosti je potřeba snížit negativní dopad hnojení (změnit způsob hnojení).

Salinizaci lze dále snížit také vhodným způsobem zavlažováním pozemku (Machado and Serralheiro, 2017). Singh et al. (2015) navrhli jako jedno z opatření zvýšit odběr podzemní

vody, využívat podzemní vodu společně s kvalitní vodou v kanálech nebo pěstovat rostliny, které sůl tolerují.

3.2 Stres rostlin

Stres má přesnou definici z fyzikální vědy – jde o sílu na jednotku plochy, která jedná na základě materiálu, navozuje napětí a vede k morfologickým, vývojovým a metabolickým změnám (Hnilička a Středa, 2016).

Levitt (1980, 1982) poprvé použil pojem stres a strain. Stres definoval jako tlak vnějšího prostředí, které na rostlinu působí. Strain popsal jako fyziologickou změnu, která je výsledkem reakcí působení environmentálního stresu. Podle autora lze strain (napětí, zátěž, deformaci) rozdělit na reversibilní, vratnou (elastickou) nebo ireversibilní, nevratnou (plastickou) (Larcher, 2003; Shabala, 2017). Levitt (1980) popisoval lehký stres jako elastickou zátěž rostliny. Elastická deformace reprezentuje vratné změny metabolismu při nových podmínkách. Pokud se efekt stresoru stává značným, následují nevratné změny, které ve své nejtěžší formě reprezentují buněčnou smrt.

Larcher (2003) definoval stres jako změnu ve fyziologii, ke které dochází, pokud jsou druhy vystaveny nepříznivým podmínkám (Karnner et al., 2010).

Grimy (1979) ale chápe stres jako jakékoliv působení prostředí, které omezuje fotosyntézu (např. extrémní teploty, nedostatek vláhy či zastínění). V Grimově teorii lze pojem stres nahradit za „extrémní podmínky“.

Lichtenthaler (1996) a Karnner et al. (2010) vnímají stres jako každý nepříznivý stav, který nějakým způsobem ovlivňuje nebo blokuje růst rostlin.

Michel (1994) uvádí, že anglický výraz „stress“ lze přeložit jako „tlak, důraz, tíseň či nesnáze“. Jako technický termín neoznačuje podnět, příčinu nebo poškození organismu, ale jeho stav. Stres je tedy stav, ve kterém se živý organismus nachází při mobilizaci, obranných, nápravných procesů vůči podnětům přesahujícím obvyklé rozpětí homeostáze. Toto pojetí stresu je naprosto odlišné od Grimovy teorie z roku 1979. Stresové reakce mají obvykle též charakter bez ohledu na druh podnětu (nejsou nijak specifické ve vazbě na příčinu stresu). V odolnosti vůči podnětu se jedinci téhož druhu značně odlišují. Odolnost vůči stresu není striktně geneticky determinována (může být do určité míry individuálně modifikována).

Keddy (2007) definoval stres jako jakýkoliv nepříznivý faktor, který snižuje u rostlin produkci biomasy. Ke stejné teorii pojetí stresu u rostlin došel i Buchanan (2001).

Shabala (2017) mluví o stresu jako o „znevýhodňujícím vlivu“, který působící na rostlinu pomocí biotických a abiotických faktorů (infekce, teplo, voda nebo nedostatek kyslíku).

3.2.1 Rozdělení stresů rostlin

Biotický stres (faktor) vzniká interakcí mezi organismy, zatímco abiotický stres závisí na interakci mezi organismy a fyzikálním prostředím (Ashraf and Harris, 2006).

Podle Bláhy (2003) je stresor abiotický, biotický nebo komplex faktorů, který vyvolává stres u rostlin.

Abiotický stres:

- Teplotní extrém (vysoká teplota, chlad, mráz)
- Voda (sucho, nadbytek vody)
- Záření (UV, světlo, ionizující záření)
- Chemický stres (zasolení, deficit soli, těžké kovy, pesticidy)
- Vítr, pohyby půd
- Ostatní faktory (magnetické a elektrické pole)

Biotický stres

- Herbivoři
- Parazitismus
- Infekce
- Konkurence, rivalita (Schulze et al., 2005)

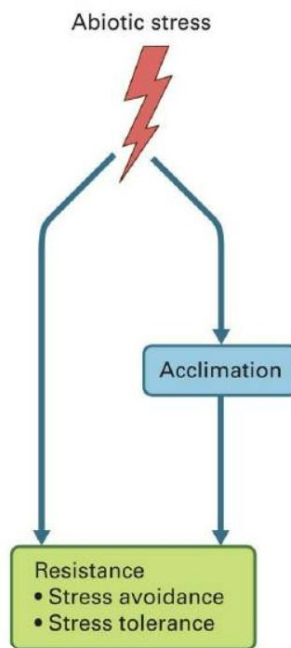
3.2.2 Přizpůsobení rostlin stresu

Rostliny vyvinuly různé mechanismy, aby se vyrovnaly s důsledky stresu. Většinou se jedná o mechanismy zahrnující vývojové, morfologické, fyziologické, biochemické, molekulární a genetické taktiky, aby se dokázali vypořádat s negativními účinky stresu (Redondo-Gómez, 2013; Munns, 2005).

Organismus se tak může v reakci na stres adaptovat buď zvýšením stupně stresu, pod kterým vzniká zátěž (strain) nebo snížením zátěže (strain) produkované určitým stresem (Keddy, 2017).

V prvním případě může organismus zabránit pronikání napětí do tkáně, přičemž vnější stres zůstává stejný-jde o tzv. zamezení stresu (stress avoidance). „Tento způsob obrany obvykle zahrnuje mechanickou bariéru, která má převážně pasívní nebo dlouhotrvající charakter (silná vrstva kutikuly na listech, výrazná impregnace buněčných stěn, rezervoáry vody a řada organických látek)“ (Piterková et al., 2005). Obvykle je použita nějaká překážka zabraňující stresu v působení strainu. Nebo může organismus dovolit stresu v pronikání do tkání, ale zabraňuje vzniku poškození (Keddy, 2017).

Organismus s tolerancí ke stresu (stress tolerance) je schopen zabránit, omezit nebo zhojit rány způsobené stresem. Piterková (2005) říká že tzv. aktivní obrana rostlin (tolerance mechanism) omezuje negativní dopad stresorů až po jejich proniknutí k plazmatické membráně buněk a do symplastu. V takovém případě dojde ke spuštění řetězce změn (stresová reakce). Průběh a výsledek reakce na stres závisí na intenzitě a délce působení stresového faktoru a také na rostlině samotné (stadium vývoje, vitality atd.). Studium stresoru v přírodních podmínkách je obtížné, jelikož často působí několik stresových reakcí najednou. A stres také ve většině případů působí pouze na část rostliny (Obrázek 2).



Obrázek 2 Přizpůsobení se podmínkám prostředí

Lichtenthaler (1998) definoval pozitivní adaptivní stres spuštěný malou mírou stresoru jako „eustres“ a negativní stres způsobený velkou mírou stresoru jako „distres.“ Eustres způsobuje úpravu metabolismu a vede k optimálnímu stavu pod novými okolními podmínkami, zatímco distres vede k destruktivnímu vlivu. Rovnováha mezi těmito stresy určí, zda bude rostlina prospívat nebo hynout (Shabala, 2017).

3.3 Osmotický stres

Voda difunduje přes semipermeabilní membránu buňky ve směru nižší koncentrace do místa s vyšší koncentrací – tento jev nazýváme osmóza. Pokud nastane situace, že je koncentrovanější vnější prostředí buňky než její okolí, dochází k plazmolýze (Munns and Tester, 2008; Reid, 2012). Zvýšená koncentrace soli (iontů Na^+ a Cl^-) v půdním roztoku způsobuje osmotický stres, který je někdy nazýván stresem ze zasolení (Munns and Tester, 2008). Osmotický stres je způsoben změnami koncentrace rozpuštěných molekul v prostředí, které obklopuje buňku, čímž se mění dostupnost vody. Osmotický stres zapříčiní, že dojde ke snížení vodního potenciálu v okolí kořenů rostliny (rostlina obtížněji přijímá vodu a živiny). Rostlina se proto snaží vyrovnat hladiny koncentrací tím, že vypudí vodu z rostlinného těla do okolního prostředí (El-Hendawy et al., 2005; Tamás and Hohmann, 2003). Dojde ke snížení turgoru v buňce a snížení objemu cytoplazmy. Tím, že došlo ke snížení objemu buňky, zvyšuje se koncentrace různých intracelulárních iontů, které mohou být pro buňku toxické. Rostlina proto zvyšuje koncentraci osmoticky aktivních látek, aby se vyhnula osmotickému stresu (Verma, 1999). Dle Buchanana (2015) vysoká koncentrace soli v kořenové zóně způsobí, že dojde ke snížení vodního potenciálu půdy a pro rostlinu se stává obtížnější přijímat vodu, dochází k dehydrataci buněk a nastává osmotický stres. Pokud tento stav přetrvává, může dojít k úhynu celé rostliny.

Někdy bývá osmotický stres označován jako „fyziologické sucho“, jelikož je pro rostlinu zhoršen příjem vody, která je nezbytná pro její vývoj (Venkateswarlu et al., 2011). Osmotický stres (osmotický šok) je náhlá změna v koncentraci roztoku kolem buňky, způsobující rychlý pohyb vody skrz membránu (Sejian et al., 2012).

Rostliny vyvinuly celou řadu taktik, aby se dokázaly vypořádat s negativními účinky salinitního stresu (Munns, 2005). Je zřejmé, že lepší mechanismy k přizpůsobení osmotickému stresu mají halofytní rostliny (k soli tolerantní) oproti rostlinám glykofytním (netolerantní k zasolení) (Khan et al., 2006). Halofyty jsou skvěle adaptovány k zasolení, protože mají dokonale řízený příjem soli pomocí plazmatické membrány, která brání pronikání nadbytečných iontů do buněk kořenů. Druhým adaptačním mechanismem je zvýšené ukládání solí do vakuoly nebo apoplastu, kdy část soli je transportována do nadzemní části a následně i vylučována na povrch listu. Vysoký osmotický tlak – vakuolní šťávy musí být vyrovnán zvýšenou koncentrací osmoticky aktivních látek v cytosolu (Mořková a kol., 2014; Flowers and Colmer, 2015). Zatímco glykofyty tak dokonale vyvinuté mechanismy vůči zasolení nemají

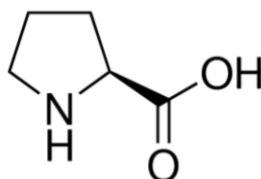
(Acosta-Motos et al., 2017). Problém glykofytů je, že na rozdíl od halofytů nejsou schopny zabudovat nadbytečné ionty Na^+ do vakuoly (Minhas et al., 2017).

3.3.1 Osmolyty

Osmolyty jsou netoxické, vysoce rozpustné chemické sloučeniny, které se vyskytují ve všech organismech (Slama et al., 2015; Taiz and Zeiger, 2006). Aby se buňka při osmotickém stresu vyhnuly dehydrataci cytoplazmy při hromadění Na^+ uvnitř vakuoly, zvýší koncentraci rozpuštěných látek v cytoplazmě (Jenks and Wood, 2009). Výhodou akumulace osmolytů je, že udržují hlavní fyziologické funkce buněk aktivní a mohou být syntetizovány ve všech vývojových fázích rostlin (Slama et al., 2015). U halofytů je jejich koncentrace mnohonásobně vyšší (Munns and Tester, 2008). Kompatibilní soluty jsou látky různé povahy. Zahrnují sacharidy (sacharózu a trehalózu), cukerné alkoholy (mannitol), aminokyseliny (prolin, glutamát) a mnoho dalších (Kalsoom et al., 2016). Prolinu je věnovaná následující kapitola.

3.4 Prolin

Akumulace prolinu je způsobena narušením fyziologického stavu (zasolení, sucho, extrémní teploty atd.). Aby se rostliny vyrovnaly změnám, hromadí řadu metabolitů, zejména aminokyselin. Které jsou považovány za prekurzory a složky bílkovin a hrají důležitou roli v metabolismu a vývoji rostlin (Hayat et al., 2012). Prolin (Obrázek 3) je jedinou proteogenní aminokyselinou, kde je α – aminoskupina přítomna jako sekundární amin (Verslues and Sharma, 2010). Patří mezi důležité kompatibilní osmolyty a osmoprotektivní sloučeniny (Ábrahám et al., 2010). Prolin je díky amfifilní povaze schopen zadržovat vodu uvnitř buňky za podmínek osmotického stresu, čímž stabilizuje cytoplazmatické proteiny a membrány. Prolin snižuje kyselost (aciditu) cytoplazmy (Hare et al., 1998; Wang et al., 2003). Po odeznění stresu se stává zdrojem uhlíku, dusíku, energie a redukujících ekvivalentů, které usnadňují obnovení fyziologických funkcí v buňce (Bartels and Sunkar, 2005; Hare et al., 1998). Stabilizuje vnitrobuněčné struktury a vyrovnává redoxní potenciál při stresu (Chinnusamy et al., 2005).



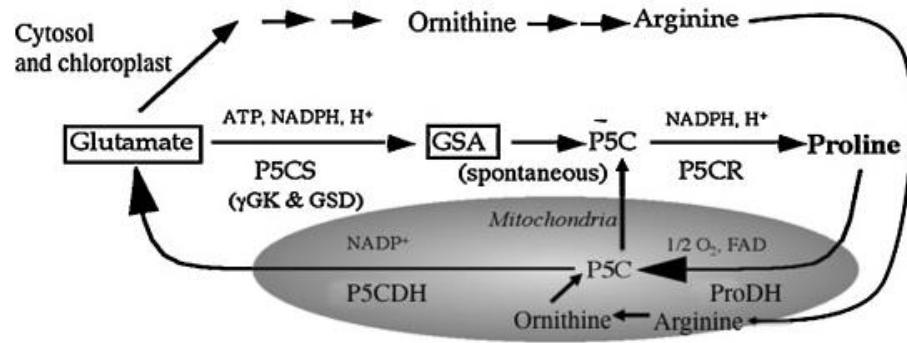
Obrázek 3 Molekula prolinu (Kalsoom et al., 2016)

Prolin vzniká v cytoplazmě a chloroplastech z glutamátu, naopak jeho degradace je v mitochondriích zpět na glutamát (Fraire-Velázquez and Balderas-Hernández, 2013; Mansour and Ali, 2017)

3.4.1 Syntéza prolinu

Rostliny syntetizují prolin (Obrázek 4) dvěma biosyntetickými drahami buď z glutamátu, nebo z ornitinu. Podle Buchanana (2001) není ornitinová dráha syntézy prolinu pro stresované rostliny významná. Při vystavení rostlin stresu převažuje glutamátová cesta syntézy prolinu (Stein et al., 2011). Syntézu prolinu z glutamátu zajišťují dva enzymy P5CS a P5CR. P5CS plní dvě funkce. Napřed katalyzuje fosforylaci a redukci glutamátu na glutamát- γ -semialdehyd (GSA), který se samovolně přeměňuje na Δ^1 -pyrrolin-5-karboxylát (P5C). Pomocí P5C-reduktázy (P5CR) je pak P5C přeměněn na prolin (Buchanan et al., 2001).

Plant:



Obrázek 4 Syntéza prolinu v rostlinách (Stein et al., 2011)

4 Materiál a metodika

4.1 Charakteristika jednotlivých druhů listových zelenin

Locika setá 'Orion' (*Lactuca sativa* L.):

Raný hlávkový salát máslového typu, který je vhodný k rychlení. Výsev provádíme od února do hloubky 2 cm. Semena klíčí rychle (7-14 dnů). Vysazujeme na stanoviště s dostatkem světla do sponu 25 × 25 cm. Tato odrůda vytváří středně velké pevné hlávky (Seva Moravia s.r.o., 2018). Pravděpodobně vznikl z plané lociky kompasové (*Lactuca serriola* L.). Jde o jednoletou, chladuodolnou zeleninu (Vogel, 1996).

Roketa setá 'Astro' (*Eruca sativa* Mill.):

Je známá také pod názvem rukev, roketa, rukola nebo eruca. Je to rychle klíčící zelenina, s vysokým obsahem vitamínu C, podporující chuť k jídlu a čistící krev. Lze vysévat celoročně (SEMO a.s., 2018). Vynikající odrůda s atraktivními velkými, lesklými listy s jemnou štiplavou chutí (Doležalová et al., 2013). Nenáročná na půdu, pouze nesnáší zamokřená stanoviště. Odolná vůči předčasnému vyběhání do květu (Biggs, 1997).

Vysévá se ve sponu 25 × 10 cm do hloubky 1 cm, ve sklenících v únoru až červenci a při polním pěstování v dubnu až červenci (KIEPENKERL, 2018).

Kozlíček polníček (*Valerianella locusta* L.):

Nenáročná listová zelenina s krátkou vegetační dobou, která se pěstuje pro přízemní listové růžice. Listy mají vyšší nutriční hodnotu než salát. Vysévá se brzy na jaře nebo v červenci. Rostliny vyseté na podzim necháme přezimovat a listové růžice sklízíme brzy z jara. Rostlinky sázíme 10 × 10-15 cm od sebe, do hloubky 1-2 cm. Sklízíme od ledna do dubna podle výsevu. Listy jsou bohaté na vitamín C. (SEMO a.s., 2018)

Šrucha zelná 'Green Purslane' (*Portulaca oleracea* L.):

Léčivá rychle rostoucí rostlina. Konzumují se mladé listy s vysokým obsahem minerálů a vody. Je vhodná jako náhrada špenátu. Má běžné nároky na závlahu a je tolerantní k suchu. Po vykvetení získávají listy ostrou, štiplavou chuť. Výsev provádíme přímo na stanoviště od dubna do srpna do sponu 20-25 × 4 cm. Sklízíme v květnu až říjnu v závislosti na době výsevu (SEMO a.s., 2018).

Čtyřboč rozložitá [*Tetragonia tetragoniodes* (Pallas) O. Kuntze]:

Český název čtyřboč i vědecké pojmenování rostliny *Tetragonia* je odvozen od čtyřrohého až osmírohého tvaru plodu, který je považován za semeno. Čtyřboč je rostlina pravému špenátu botanicky velmi vzdálená, špenátem se nazývá jen pro stejný způsob využití

(Welbaum, 2015; Vogel, 1996). Tato jednoletá bylina tvoří mohutné trsy s rozvětvenými, až 1 m dlouhými lodyhami. U nás se nejčastěji pěstuje z předpěstované sadby. Vyséváme na začátku března do pařeniště. Rostliny jsou teplomilné a vlhkomilné. Ven vysazujeme, až když nehrozí mrazy do sponu 80 × 40 cm. Na rozdíl od špenátu v letních měsících nevybíhá do květu (SEMO a.s., 2017)

4.2 Založení pokusu

Pokus byl založen v experimentálním a pokusném skleníku ČZU FAPPZ Katedry botaniky a fyziologie rostlin na počátku března (15.3.2016). Do výsevních truhlíků se zahradnickým substrátem byly vysety semena čtyřboče, salátu, rokety, polníčku a šruchy. Každý truhlík byl označen jmenovkou a datem výsevu (Obrázek 5). Zprvu byly výsevy zalévány vodou, aby nedocházelo k proschnutí substrátu. Po týdnu začaly klíčit první rostliny (salát, roketka, čtyřboč), polníček a šruha vyklíčily až následující týden (Obrázek 6). Ve fázi dvou pravých listů (podle BBCH fáze 12 dle Bleiholder et al., 1997) byly rostliny rozsazeny do samostatných květináčů o rozměrech 10 × 10 cm, vždy po 3-5 rostlinách (Obrázek 7). I nadále byly rostliny zalévány vodou. Po ujmoutí byly rostliny rozděleny do pěti variant (Obrázek 8), a to podle následného způsobu zálivky. Kontrolní varianta byla nadále zalévána vodou, stresované rostliny byly zalévány 50 ml roztoku NaCl o různých koncentracích (50 mmol.l⁻¹, 100 mmol.l⁻¹, 200 mmol.l⁻¹ a 300 mmol.l⁻¹). Každá varianta čítala 10 rostlin od každého druhu, vyjma čtyřboče, který byl rozdělen po 7 rostlinách (nedostatek semen ve výsevu). Všechny varianty salátu čítaly 50 květináčů, stejně tak varianty polníčku, šruchy a rokety, varianty čtyřboče měly pouze 38 rostlin. Celkem bylo osazeno 235 květináčů. Zálivka byla prováděna ob dva až tři dny v závislosti na počasí a teplotě ve skleníku (za teplého počasí bylo nutné rostliny zalévat každý den). Během celého pokusu nebylo nutné rostliny plít, jelikož zaplevelení bylo minimální.



Obrázek 5 Vysetá semena vybraných listových zelenin



Obrázek 6 Rostliny první dny po vzejití



Obrázek 7 Rostliny připravené k přepíchání



Obrázek 8 Rostliny přepíchané a rozdělené do jednotlivých variant

4.3 Zpracování a vyhodnocení rostlinného materiálu

4.3.1 Stanovení hodnot prolinu

Pokus byl ukončen 4.5.2016 (po padesáti dnech od založení), kdy byly rostliny přemístěny do laboratoře ČZU (Katedry botaniky a fyziologie rostlin). Pro vyhodnocení pokusu byla zvolena metodika podle Batese (1973) pro stanovení obsahu prolinu v listech. Probírkou byly z jednotlivých variant odebrány listy. Bylo naváženo 0,5 g listového pletiva. Listy byly rozetřeny v roztoku 1 ml 3 % kyseliny sulfosaliciové. Když směs zhomogenizovala, přidali se do třetí misky 4 ml 3 % kyseliny sulfosaliciové. Následně se směs přefiltrovala do kádinek. Byl odebrán 1 ml filtrátu do označené zkumavky (název rostliny a koncentrace NaCl). K filtrátu byla přidána reakční směs tvořená 1 ml ninhidrinu a 1 ml koncentrované kyseliny octové. Zazátkované zkumavky byly protřepány na třepačce po dobu 20 minut. Poté byly zkumavky přemístěny do vodní lázně, kde se 30 minut vařily. Následně bylo nutné vzorky zchladit a přidat 3 ml toluenu a znovu je protřepat. Protřepané zkumavky se nechaly 20 minut odstát, při odstátí došlo k oddělení fází vzorku.

Koncentrace prolinu byla měřena pomocí spektrofotometru (Helios Gamma), kde byla měřena vrchní fáze vzorku při vlnové délce 520 nm. Jako blank byl použit čistý toluen. Měření každého vzorku bylo třikrát opakováno, aby se předešlo chybám. Výsledky byly zpracovány do grafů.

4.3.2 Stanovení relativního obsahu vody (RWC)

Stanovení relativního obsahu vody v listech (RWC) bylo provedeno podle metodiky Smart and Bingham (1974).

Probírkou byly z jednotlivých variant rostlin odebrány listy. Pomocí korkovrtu bylo vyříznuto z listů 10 terčičků. Terčičky byly ihned zváženy na torzních vahách. Poté se terčičky nechaly nasytit vodou po dobu asi 4 hodin. Po úplném nasycení byly terčičky opět zváženy a následně dány do sušárny na teplotu kolem 85°C. Po úplném vysušení byl vzorek opět zvážen.

Relativní obsah vody byl vyhodnocen podle následující rovnice:

$$\text{RWC (\%)} = \frac{\text{FW} - \text{DW}}{\text{TW} - \text{DW}} \times 100 \%$$

FW – fresh weight (čerstvá hmotnost)

DW – dry weight (hmotnost po vysušení)

TW – turgid weight (hmotnost po nasycení vodou)

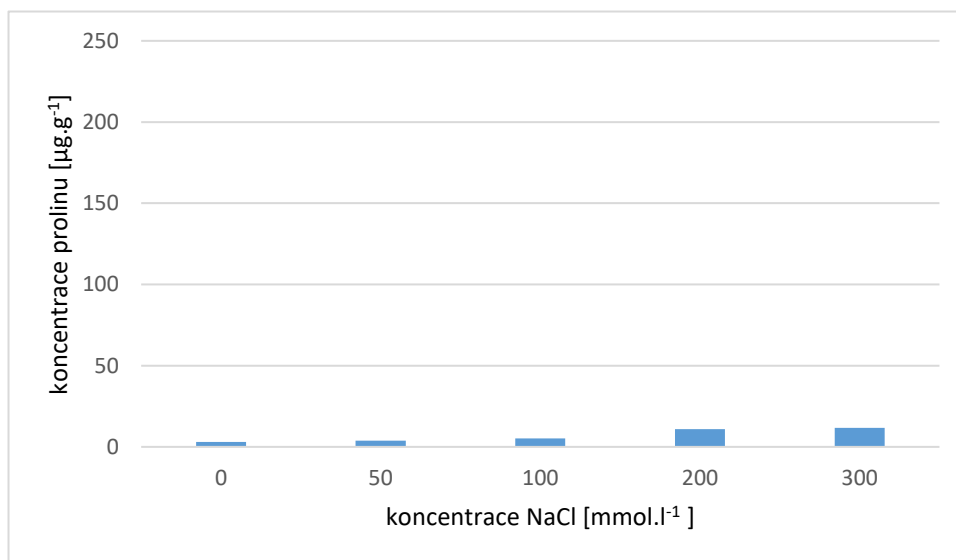
5 Výsledky

5.1 Hodnoty prolinu

Byly sledovány měnící se hodnoty prolinu a relativní obsah vody (RWC) u pěti druhů listových zelenin (šruchy zelné, lociky seté, kozlíčku polníčku, rockety seté, čtyřboče rozložitě). Sledovány byly varianty zalévané vodou (kontrolní) a varianty stresované. Tyto varianty byly zalévány různými koncentracemi roztoku soli NaCl (50 mmol.l⁻¹, 100 mmol.l⁻¹, 200 mmol.l⁻¹ a 300 mmol.l⁻¹).

5.1.1 Šrucha zelná (*Portulaca oleracea* L.)

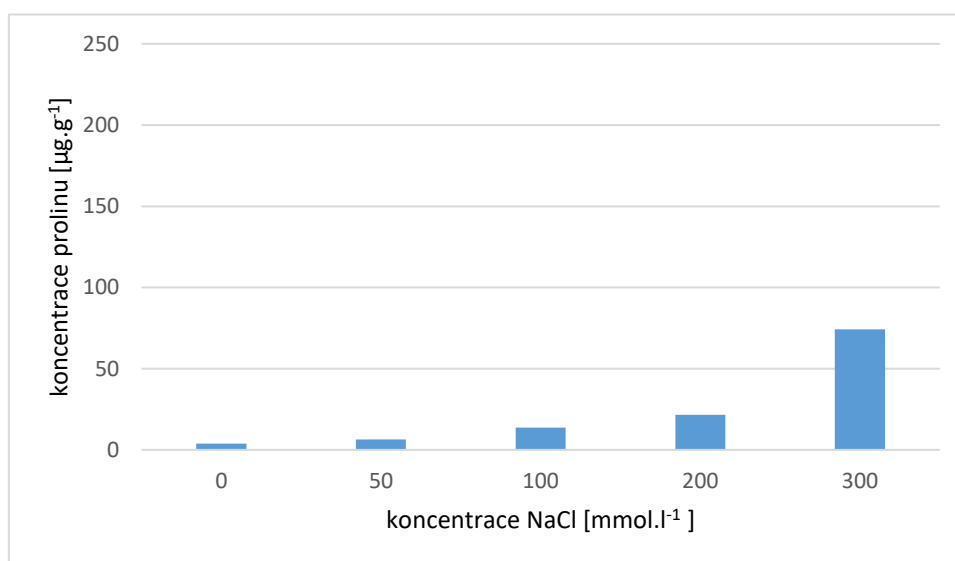
Na Obrázek 9 jsou znázorněny hodnoty prolinu u rostlin šruchy zelné (*Portulaca oleracea*), které jsou vystavena osmotickému stresu v důsledku zasolení. Nejnižší naměřená hodnota činila u kontrolní varianty 3,02 μg.g⁻¹. Se zvyšující se koncentrací soli v roztoku docházelo k nárůstu hodnot prolinu. Pro varianty 50, 100, 200 a 300 mmol.l⁻¹ byly hodnoty 3,79; 5,24; 10,84 a 11,74 μg.g⁻¹. Nejvyšší hodnoty prolinu byly naměřeny u varianty 300 mmol.l⁻¹. U stresované varianty s koncentrací soli v roztoku 300 mmol.l⁻¹ došlo ke zvýšení hladiny prolinu téměř čtyřnásobně oproti nestresovaným rostlinám.



Obrázek 9 Koncentrace prolinu (μg.g⁻¹) v závislosti na koncentraci NaCl (mmol.l⁻¹)

5.1.2 Locika setá (*Lactuca sativa* L.)

Obrázek 10 zobrazuje hodnoty prolinu u rostlin lociky seté (*Lactuca sativa*). Naměřené hodnoty prolinu se pohybují od 3,86 do 74,14 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, přičemž nejvyšší hodnoty byly naměřeny u varianty s koncentrací 300 $\text{mmol}\cdot\text{l}^{-1}$ NaCl. Oproti kontrolní variantě došlo u koncentrace 300 $\text{mmol}\cdot\text{l}^{-1}$ roztoku soli téměř k dvacetinásobnému zvýšení hladiny prolinu. U vyšších koncentrací soli v roztoku (100, 200 a 300 varianta) docházelo k usychání listů a okrajovým nekrotickým, a to v důsledku poškození rostlin vysokou hodnotou soli v půdním roztoku (Obrázek 11).



Obrázek 10 Koncentrace prolinu ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) salátu v závislosti na koncentraci NaCl ($\text{mmol}\cdot\text{l}^{-1}$)

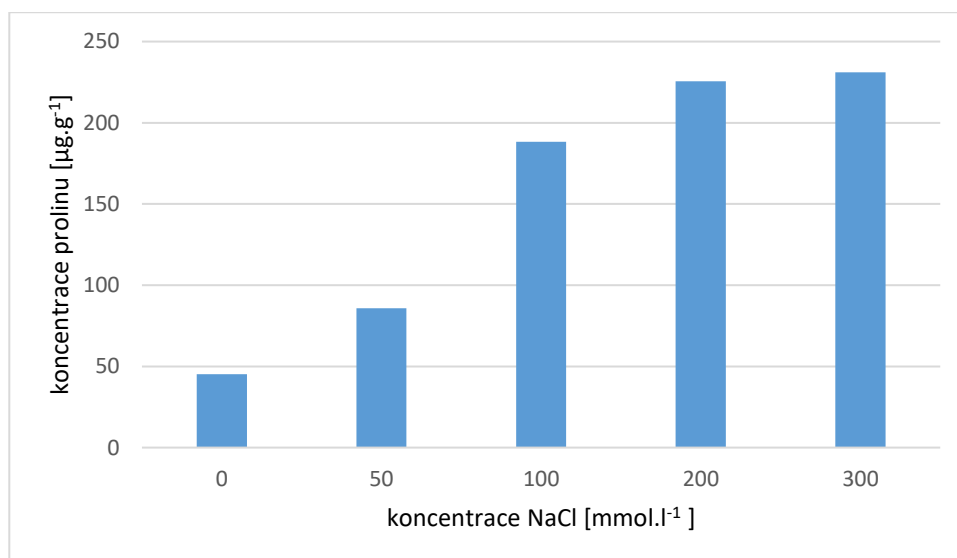


Obrázek 11 Rostliny salátu poškozené vysokou koncentrací soli

5.1.3 Roketa setá (*Eruca sativa* Mill.)

Obrázek 12 znázorňuje měnící se hodnoty prolinu u rostlin roketky seté (*Eruca sativa*). Nejnižší naměřená hodnota byla u kontrolní varianty 45,22 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. Se zvyšující se koncentrací

soli v roztoku docházelo k výraznějšímu nárůstu hodnot prolinu u jednotlivých variant. Pro varianty 50, 100, 200 a 300 vycházely hodnoty prolinu na 85,76; 188,29; 225,5; 230,97 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. Nejvyšší hodnotu vykazovala rostlina s koncentrací NaCl 300. Na rostlinách roketky nebylo nijak viditelné výrazné poškození způsobené zvýšenou koncentrací soli v roztoku (Obrázek 13).



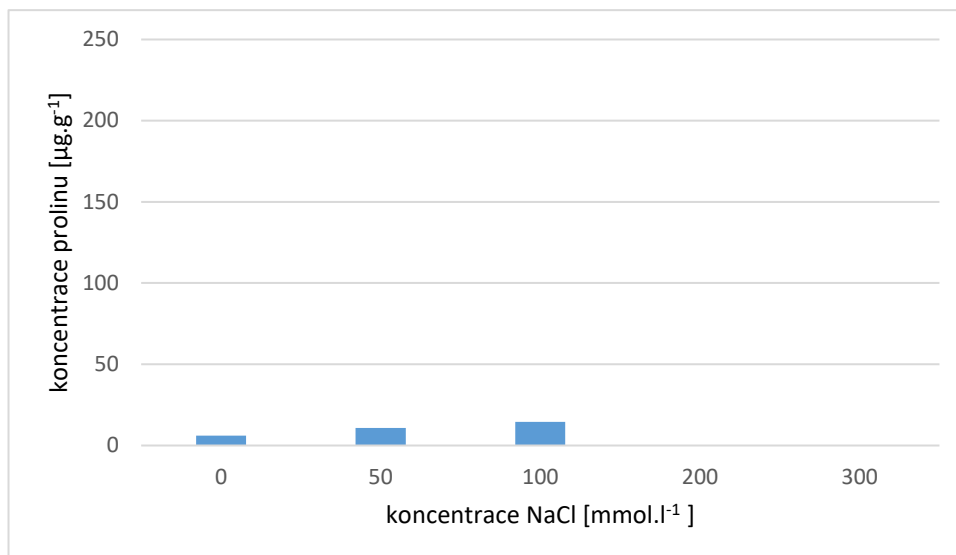
Obrázek 12 Koncentrace prolinu ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) roketky v závislosti na koncentraci NaCl ($\text{mmol}\cdot\text{l}^{-1}$)



Obrázek 13 Rostliny roketky nepoškozené vysokou koncentrací soli

5.1.4 Kozlíček polníček (*Valerianella locusta* L.)

Obrázek 14 ukazuje, jak se měnily hodnoty prolinu u rostlin kozlíčku polníčku (*Valerianella locusta*). U kontrolní varianty byla naměřena hodnota prolinu $6 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. U koncentrace 50 a $100 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$ byla naměřena hodnota 10,7 a $14,51 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. U následujících variant nebylo možné hodnoty změřit, jelikož došlo k úhynu rostlin (Obrázek 15).



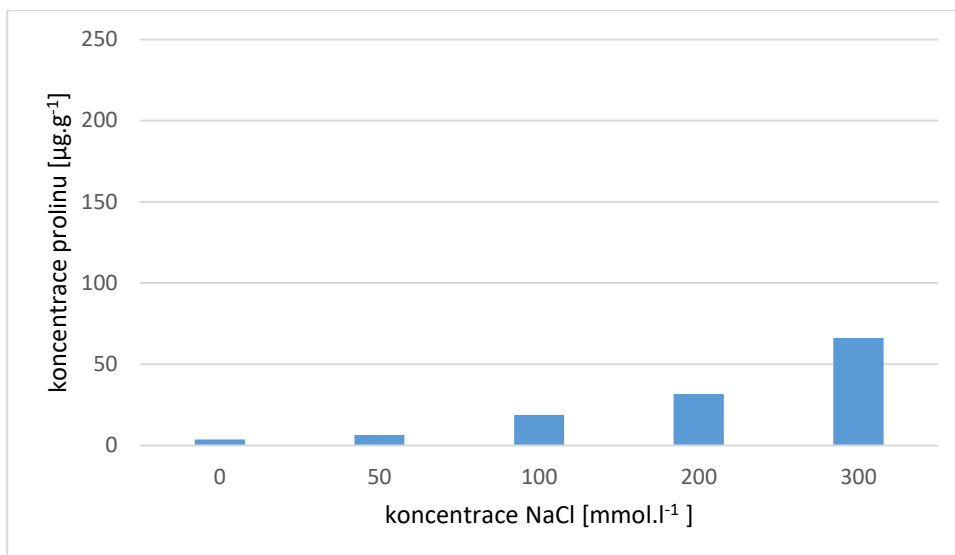
Obrázek 14 Koncentrace prolinu ($\mu\text{g.g}^{-1}$) polníčku v závislosti na koncentraci NaCl (mmol.l^{-1})



Obrázek 15 Rostliny polníčku poškozené vysokou koncentrací soli

5.1.5 Čtyřboč rozložitá [*Tetragonia tetragoniodes* (Pallas) O. Kutze]

Obrázek 16 sleduje, jak se mění hodnoty prolinu u rostlin čtyřboče rozložitě (*Tetragonia tetragonoides*). Měřené hodnoty prolinu se pohybují od 3,65 do 66,12 $\mu\text{g.g}^{-1}$. Přičemž nejnižší hodnoty byly neměřeny u kontrolní varianty 3,65 $\mu\text{g.g}^{-1}$. Se zvyšující se koncentrací rostla hladina prolinu. Rostliny čtyřboče působily vitálně a nebyly pozorovatelné změny poškození rostlin způsobené zvýšenou koncentrací soli v roztoku (Obrázek 17). Nejvyšší hodnota byla změřena u varianty 300 mmol.l^{-1} 66,12 $\mu\text{g.g}^{-1}$. U stresované varianty s koncentrací soli v roztoku 300 mmol.l^{-1} došlo ke zvýšení hladiny prolinu téměř osmnáctinásobně oproti nestresovaným rostlinám.



Obrázek 16 Koncentrace prolinu ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) čtyřboče v závislosti na koncentraci NaCl ($\text{mmol}\cdot\text{l}^{-1}$)



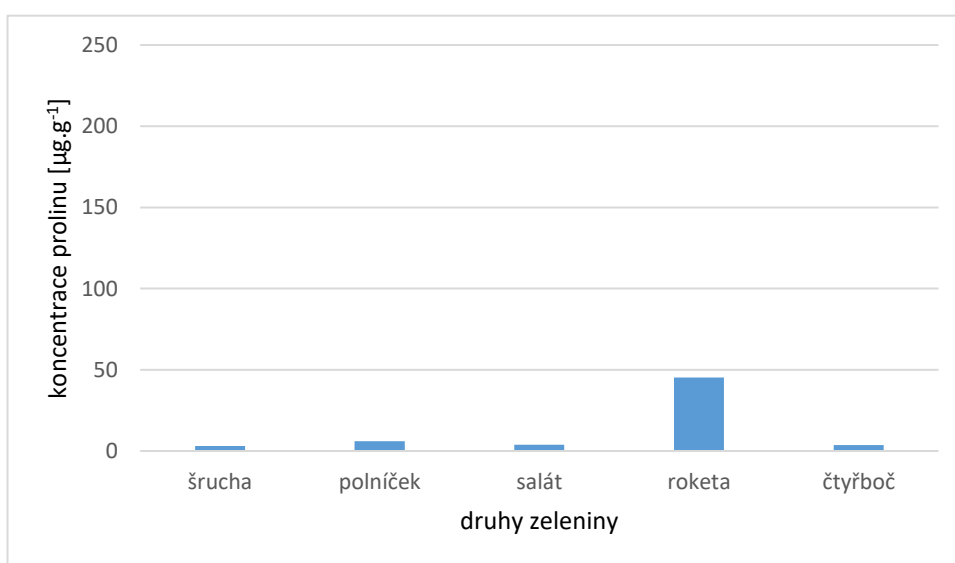
Obrázek 17 Rostliny čtyřboče nepoškozené vysokou koncentrací soli

5.1.6 Porovnání jednotlivých variant u vybraných druhů rostlin

Následující grafy zobrazují, jak se měnily hodnoty prolinu u jednotlivých variant a druhů rostlin.

5.1.6.1 Kontrolní varianta

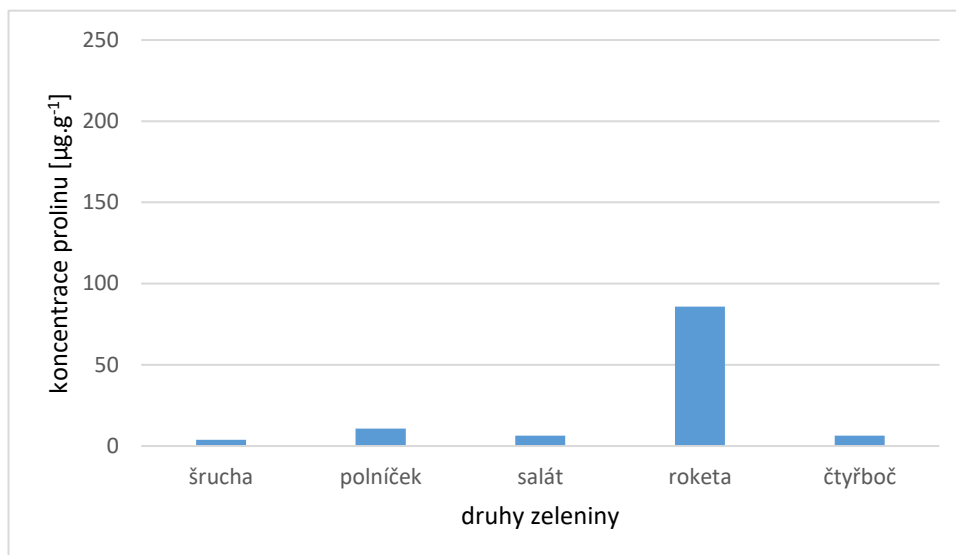
Pro kontrolní variantu (Obrázek 18) byly naměřeny hodnoty prolinu u šruchy $3,02 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, polníček $6 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, salátu $3,85 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, roketu $45,22 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ a čtyřboč $3,65 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. Hladina prolinu u roketu vyšplhala až na $45,22 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, což byla nejvyšší naměřená hodnota. Nejnižší hodnota naopak byla naměřena u rostlin šruchy.



Obrázek 18 Porovnání jednotlivých variant u vybraných druhů zelenin

5.1.6.2 Varianta zalévaná roztokem $50 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$

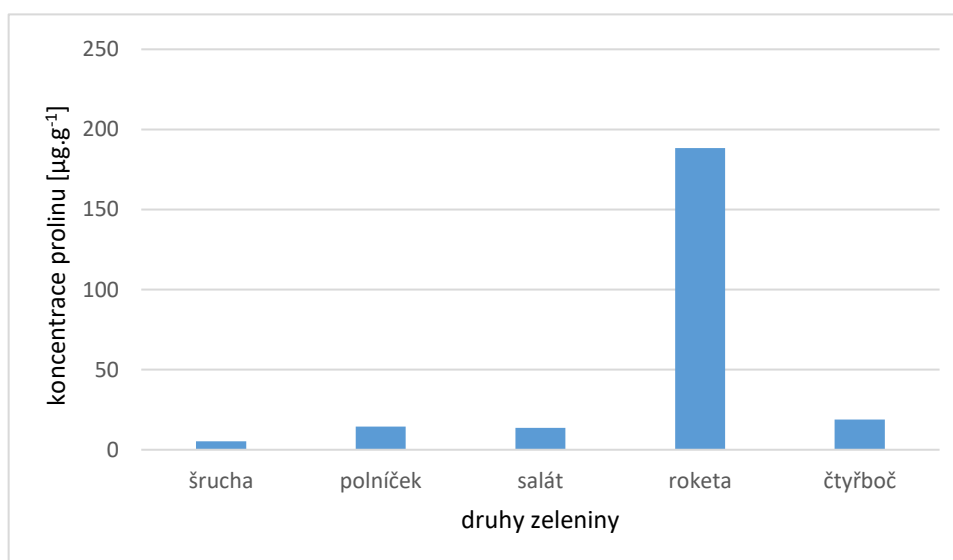
U varianty (Obrázek 19) zalévané touto koncentrací soli nejvyšší naměřenou hodnotu vykazovala opět roketu, poté následoval polníček, salát a čtyřboč. Naopak nejnižší byla naměřena u rostlin šruchy.



Obrázek 19 Porovnání jednotlivých variant u vybraných druhů zelenin

5.1.6.3 Varianta zalévaná roztokem 100 mmol.l⁻¹

U této varianty (Obrázek 20) můžeme pozorovat nárůst hladiny prolinu u roket téměř čtyřnásobně oproti kontrolní variantě. U salátu a čtyřboče byly hodnoty prolinu podobné. Nejnižší hodnotu opět vykazovala šrucha.

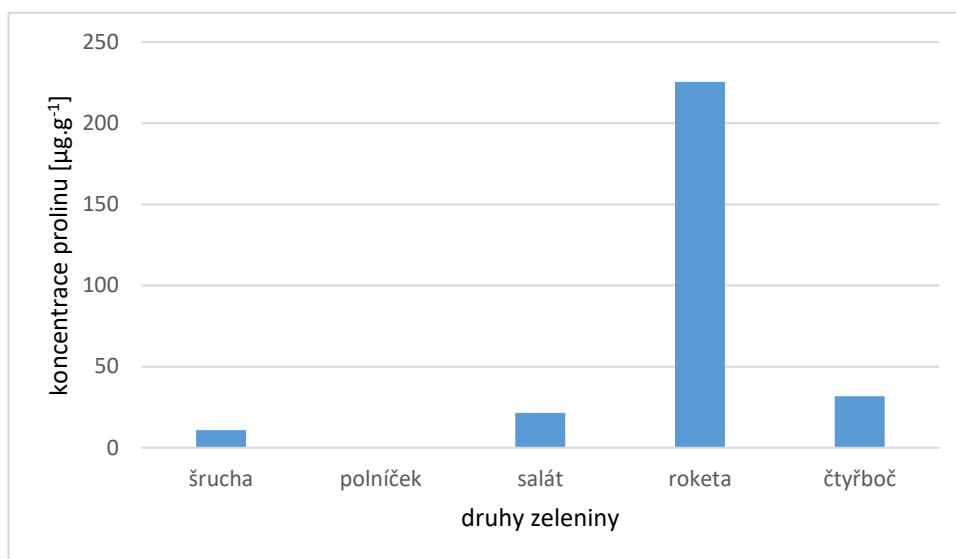


Obrázek 20 Porovnání jednotlivých variant u vybraných druhů zelenin

5.1.6.4 Varianta zalévaná roztokem 200 mmol.l⁻¹

Šrucha u těchto hodnot nevykazovala výrazné poškození zvýšenou hladinou soli (Obrázek 21). Lze tedy předpokládat, že rostliny šruchy jsou odolné vůči zasolení, i když

naměřená hodnota byla nejnižší (Obrázek 22). Naopak u polníčku došlo k úhynu rostlin, proto nebylo možné tyto hodnoty změřit. Hodnoty pro salát a čtyřboč byly téměř stejné. Nejnižší hodnoty byly změřeny u šruchy naopak nejvyšší u roketky.



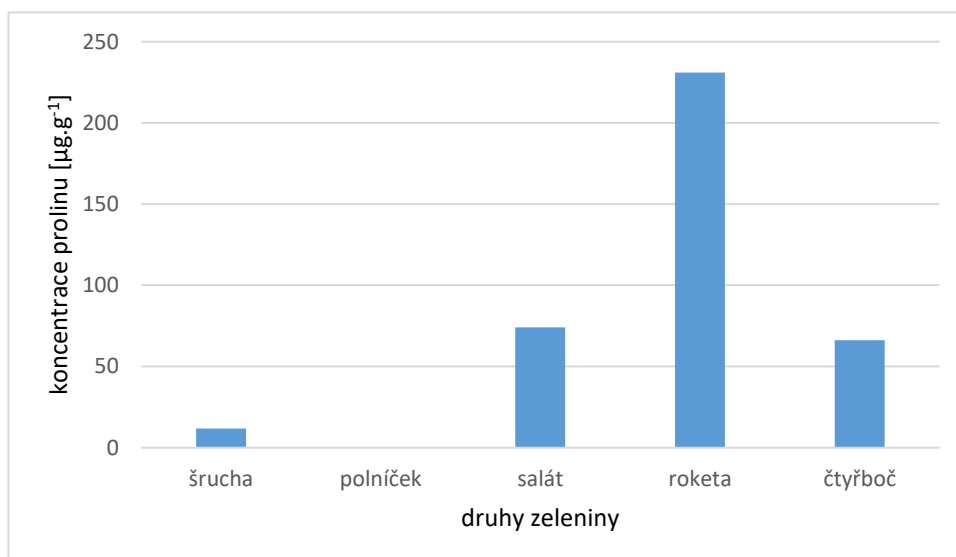
Obrázek 21 Porovnání jednotlivých variant u vybraných druhů zelenin



Obrázek 22 Rostliny šruchy nepoškozené vysokou koncentrací soli

5.1.6.5 Varianta zalévaná roztokem $300\text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$

I u této varianty (Obrázek 23) nebylo možné změřit hodnoty u rostlin polníčku. Nejvyšší hodnota byla naměřena u šruchy, oproti kontrolní variantě došlo k nárůstu hladiny prolinu $11,74\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. Hodnota naměřená pro salát $74,14\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ byla přibližně stejná jako pro čtyřboč $66,12\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$.

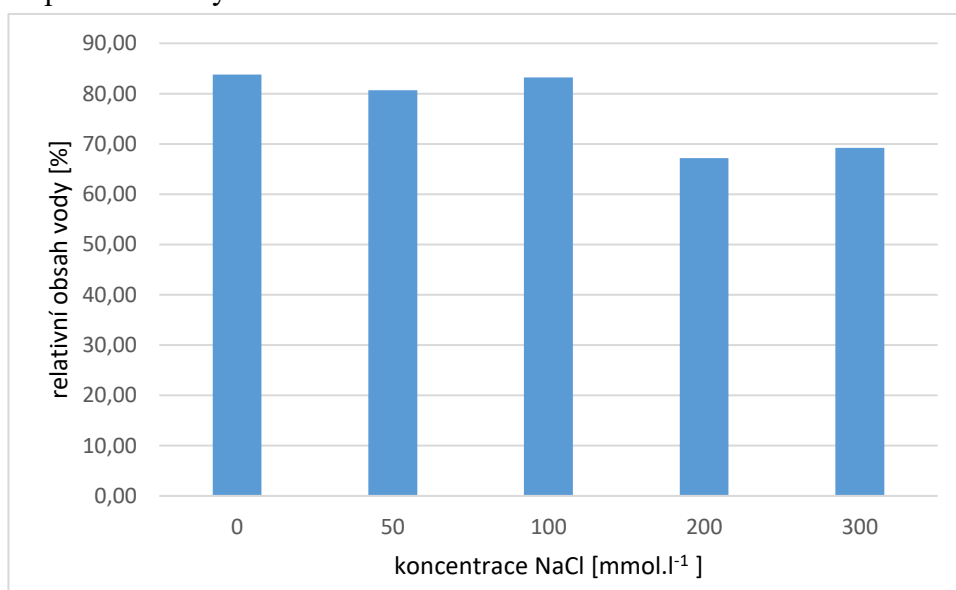


Obrázek 23 Porovnání jednotlivých variant u vybraných druhů zelenin

5.2 Relativní obsah vody (RWC)

5.2.1 Šrucha zelná (*Portulaca oleracea* L.)

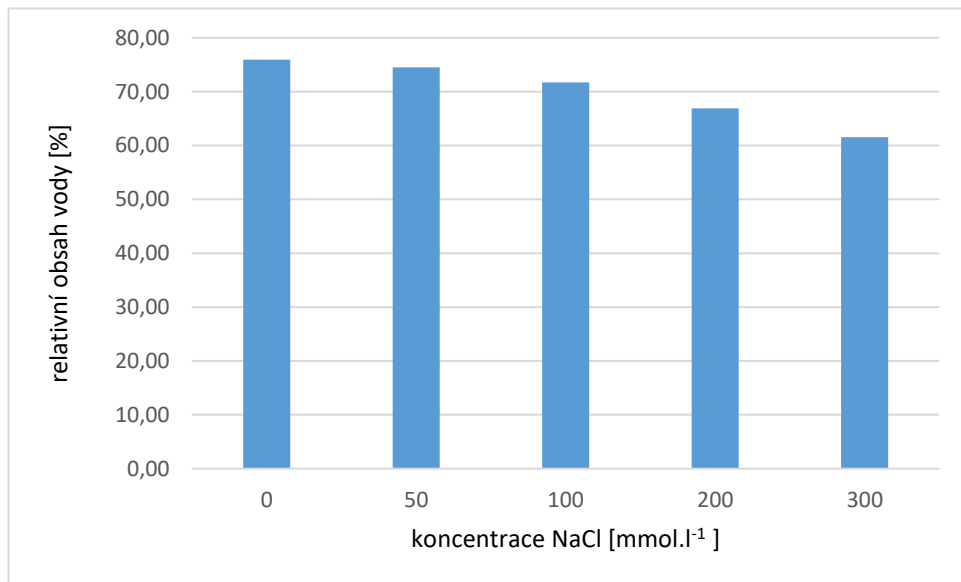
Obrázek 24 zobrazuje měnící se hodnoty RWC u sledovaných rostlin šruchy. Kontrolní varianta s $0 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$ byla zalévána destilovanou vodou. Pro tuto variantu byla hodnota RWC 83,78 %. Pro varianty 50,100,200 a 300 vycházely hodnoty relativního obsahu vody na 80,7; 83,19; 67,19 a 69,21 %. Nejvyšší naměřená hodnota RWC byla u nestresovaných rostlin. Nejnižší naopak u varianty $200 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$.



Obrázek 24 Hodnoty RWC (%) u šruchy pro jednotlivé koncentrace soli v zálivce ($\text{mmol}\cdot\text{l}^{-1}$)

5.2.2 Locika setá (*Lactuca sativa* L.)

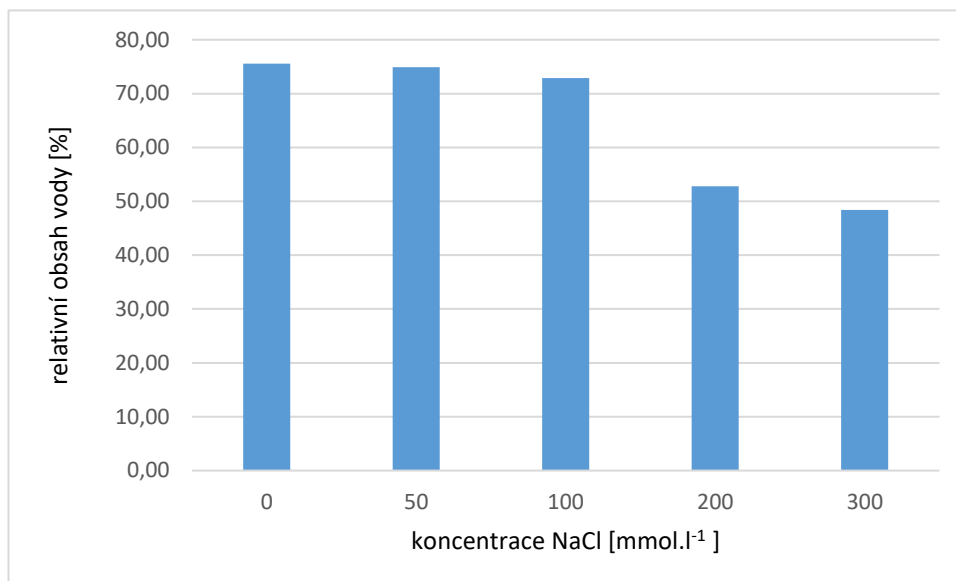
Obrázek 25 zaznamenává měnící se hodnoty RWC u rostlin salátu. U kontrolní varianty byla naměřena hodnota 75,95 %. Se zvyšující se koncentrací soli v roztoku docházelo ke snižování relativního obsahu vody u sledovaných rostlin. Rozdíl mezi nejvyšší a nejnižší hodnotou činil 14,4 %



Obrázek 25 Hodnoty RWC (%) u lociky pro jednotlivé koncentrace soli v zálivce (mmol.l⁻¹)

5.2.3 Roketa setá (*Eruca sativa* Mill.)

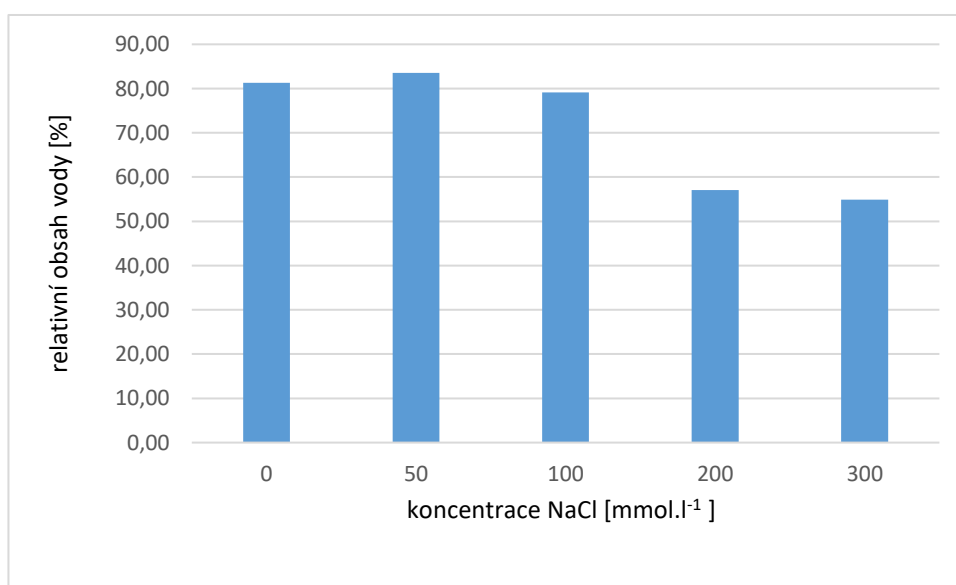
Obrázek 26 sleduje měnící se hodnoty relativního obsahu vody u rostlin roketky seté. U nestresovaných rostlin byla naměřena nejvyšší hodnota RWC 75,55 %. Jak se zvyšoval obsah soli v roztoku docházelo ke snížení hodnot RWC na 48,4 %, což byla vůbec nejnižší naměřená hodnota u sledovaných rostlin.



Obrázek 26 Hodnoty RWC (%) u roketky pro jednotlivé koncentrace soli v zálivce (mmol.l⁻¹)

5.2.4 Čtyřboč rozložitá [*Tetragonia tetragoniodes* (Pallas) O. Kutze]

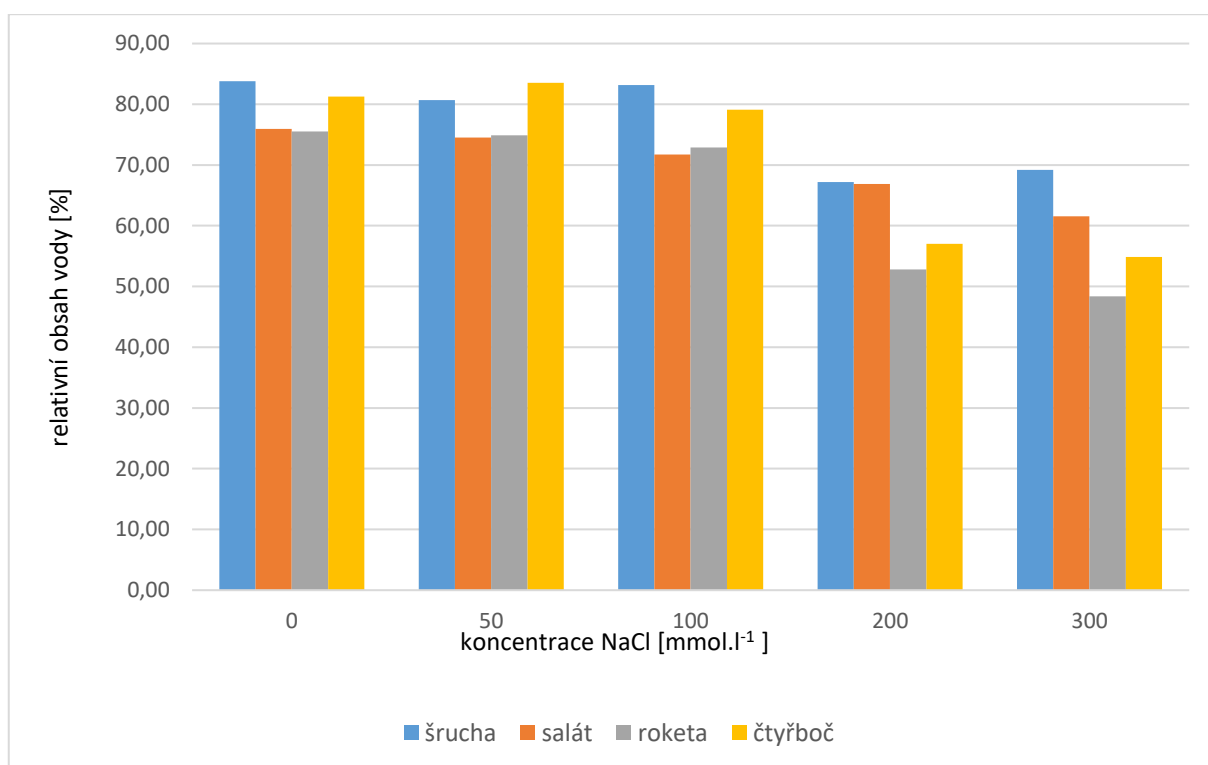
Obrázek 27 ukazuje hodnoty RWC u rostlin čtyřboče. U sledovaných rostlin docházelo k mírným výkyvům hodnot. U kontrolní varianty byla naměřena hodnota RWC 81,29 %. U koncentrace 50 mmol.l⁻¹ došlo k mírnému zvýšení RWC na 83,55 %. Poté hodnota relativního obsahu vody opět klesla na 79,13 % a dále se snižovala na 57,04 a 54,88 %. Rozdíl mezi nejvyšší a nejnižší hodnotou byl 28,67 %.



Obrázek 27 Hodnoty RWC (%) u čtyřboče pro jednotlivé koncentrace soli v zálivce (mmol.l⁻¹)

5.2.5 Porovnání jednotlivých variant u vybraných druhů rostlin

Obrázek 28 zobrazuje hodnoty relativního obsahu vody u vybraných druhů listových zelenin. U kontrolní varianty byla naměřena nejvyšší hodnota RWC šruchy, poté následoval čtyřboč, salát a nakonec roкета. U koncentrací soli v roztoku 50 mmol.l⁻¹ byla naměřena nejvyšší hodnota u čtyřboče, naopak nejnižší byla u salátu a roketky. Při 100 mmol.l⁻¹ NaCl se hodnota relativního obsahu vody u šruchy zvýšila na 83,19 %. U salátu došlo ke snížení na hodnotu 71,73 %. U stresované varianty s koncentrací roztoku NaCl 200 mmol.l⁻¹ byly nejvyšší hodnoty naměřené u rostlin šruchy a salátu. Nejnižší hodnoty byly naměřeny u rostlin roketky. U nejvyšší koncentrace 300 mmol.l⁻¹ NaCl nejvyšší hodnotu RWC vykazovaly rostliny šruchy, poté salát, čtyřboč a nakonec roкета. Rozdíly RWC mezi kontrolní variantou a nejvyšší koncentrací roztoku soli u jednotlivých rostlin činí u šruchy 14,57 %, salátu 14,4%, roketky 27,15 % a čtyřboče 26,41 %. Nejvyšší hodnota RWC byla naměřena u kontrolní varianty rostlin šruchy. Nejnižší relativní obsah vody byl naměřen u nejvyšší koncentrace soli v roztoku u rostlin roketky.



Obrázek 28 Porovnání hodnot RWC u všech sledovaných druhů zelenin

6 Diskuze

Účinky salinity jsou výsledkem komplexních interakcí mezi morfologickými, fyziologickými a biochemickými procesy, které ovlivňují téměř všechny aspekty vývoje rostlin. Jako je klíčivost semen, růst a příjem vody a živin (Akbarimoghaddam et al., 2011; Singh and Chatrat, 2001; Shrivastava and Kumar, 2015). Vysoká koncentrace soli v okolí kořenů vede ke snížení vodního potenciálu půdy, což omezuje dostupnost vody pro rostlinu. Dochází k dehydrataci buněk a nastává osmotický stres (Stępień and Kłbus, 2006).

Je dobře známo, že biosyntéza prolinu je obecnou odpovědí na stres ze zasolení u všech druhů rostlin, které ji používají jako hlavní osmolyt (Boscaiu et al., 2012). V rostlinách tvoří prolin méně než 5 % z celkového počtu volných aminokyselin za normálních podmínek. Při stresu se tato úroveň může zvýšit až na 80 % (Chen a Dickman 2005). Normálně se vyskytuje v cytosolu, významně přispívá k vyrovnávání osmotického tlaku, má funkci ve stabilitě membrán a zmírňuje účinky NaCl na buněčné membrány (Parvaizet et al., 2008).

Při 0 mmol.l⁻¹ koncentraci soli v roztoku byl u rostlin čtyřboče rozložitého [*Tetragonia tetragonoides* (Pallas) O. Kuntze] obsah prolinu 3,65 µg.g⁻¹. Čím vyšší byla koncentrace NaCl, tím vyšší byl obsah prolinu. Lamhamdi et al. (2013) ve své práci uvádí, že obsah prolinu se u rostlin špenátu zvyšuje vlivem působení toxických látek v půdě. Autoři výzkumu místo roztoku soli NaCl použili roztok soli dusičnanu olovnatého [Pb(NO₃)₂]. Hodnoty prolinu naměřené u čtyřboče mají obdobný trend jako výsledky, které naměřil Yousif et al. (2010) u suché hmoty. Yousif et al. (2010) označil čtyřboč za halofytní rostlinu a doporučil ji na zasolené stanoviště.

U nestresovaných rostlin kozlíčku polníčku (*Valerianella locusta* L.) byl naměřen obsah prolinu 6 µg.g⁻¹. Při koncentraci 200 a 300 byla vitalita *V. locusta* tak špatná, že došlo k úhynu rostlin. Zanin et al. (2011) udává snížení výnosu v důsledku salinity již na úrovni 30 mmol.l⁻¹ NaCl. Což svědčí o vysoké citlivosti *V. locusta* k zasolení.

U rostlin lociky seté (*Lactuca sativa* L.), které byly zalévány destilovanou vodou, byl obsah prolinu 3,86 µg.g⁻¹. Se zvyšující se koncentrací soli v roztoku byl i vyšší obsah prolinu. Při záливce 300 mmol.l⁻¹ NaCl jsme naměřili koncentraci 74,14 µg.g⁻¹. Bartha et al. (2015) zkoumali, jak se mění hodnoty prolinu u pěti kultivarů salátů a nejvyšší hodnota byla naměřena u *Lactuca sativa* var. *romana* 'Paris Island' (salát římský). Schrader (2017) porovnával odolnost dvou skupin salátů (kultivary římského a ledového salátu). Jako odolnější vůči zasolení se projeví kultivary salátu římského, u kterého došlo oproti kontrole téměř k pětadvacetinásobnému zvýšení koncentrace prolinu při záливce NaCl 100 mmol.l⁻¹. Ünlükara et al. (2008) označil salát jako rostlinu značně citlivou k zasolení. Na stresovaných rostlinách *L.*

sativa bylo viditelné poškození listů (okrajové nekrózy listů), což je podle Poss et al. (1999) typický příznak nadměrného zasolení.

U rostlin roketky seté (*Eruca sativa* Mill.) byly při koncentracích 0 mmol.l⁻¹ NaCl naměřeny hodnoty prolinu 45,22 μg.g⁻¹. Se zvyšující se koncentrací NaCl docházelo ke zvyšování obsahu prolinu. Ashraf (1994) naměřil při stejné koncentraci NaCl obsah prolinu 1500 μg.g⁻¹, obsah prolinu se oproti kontrole šestinásobně zvýšil, což je srovnatelné s námi naměřeným nárůstem prolinu. Barbieri et al. (2011) uvádějí, že rosetka je citlivá k zasolení. S tímto tvrzením se nelze ztotožnit, protože na rostlinách nebylo nijak patrné poškození zvýšenou koncentrací solí. Naše výsledky se shodují s tvrzením Ashraf (1994), který označil rosetku za rostlinu odolnou k zasolení.

Nejnižší obsah prolinu byl naměřen u šručky zelné (*Portulaca oleracea* L.). U kontrolní varianty byl obsah prolinu 3,02 μg.g⁻¹. Od nulové koncentrace do 300 mmol.l⁻¹ docházelo ke zvyšování obsahu prolinu na hodnotu 11,74 μg.g⁻¹. Kafi and Rahimi (2011) ve své práci uvádějí, že u nestresovaných rostlin *P. oleracea* nedocházelo k větším nárůstům obsahu prolinu, ale pokud byly rostliny vystaveny stresovým podmínkám, obsah prolinu se u rostlin zvýšil při koncentraci soli 120 a 240 mmol.l⁻¹ na 949 μg.g⁻¹ a 1841 μg.g⁻¹. Obdobný závěr ve své práci uvádí Rahradi et al. (2012), který konstatuje, že vlivem zasolení dochází u rostlin šručky k nárůstu obsahu prolinu. K podobným závěrům došli i autoři Yazici and Türkan (2007), kteří se zabývali odolností šručky k zasolení a nazvali ji halofytem. I když byly hodnoty prolinu u *P. oleracea* nejnižší, rostliny byly stejně velké a bez viditelného poškození. Lze to vysvětlit tím, že se jedná o halofytní rostlinu, která je schopná akumulovat Na⁺ ve vakuole na rozdíl od rostlin glykofytních (Glenn and Brown, 1999). Glykofytní rostliny nejsou schopny za vysoké koncentrace soli v roztoku přijímat vodu kořeny, a to v důsledku vysokého osmotického tlaku v půdě. Dalším problémem soli netolerantních rostlin spočívá v tom, že nejsou schopny zabudovat nadbytečné ionty Na⁺ do vakuoly, což je u halofytních rostlin naprosto běžné (Sairam and Tyagi, 2004). Obsah prolinu pravděpodobně napomáhá rostlinám překonat osmotický stres způsobený zasolením pomocí rovnovážného stavu udržování vody a soli v buňce (Kiliç, 2008; Kafi and Rahimi, 2011; Yazici and Türkan, 2007). Dále autoři označili šručku jako rostlinu vhodnou na zasolené stanoviště.

Z výsledků je patrné, že u všech sledovaných variant rostlin se obsah prolinu vlivem zasolení zvyšoval. Ke stejnému závěru došli i Tal a kol. (1979), Tarakcioglu and Inal (2002) a Kafi and Rahimi (2011). Vůči zasolení je nejvíce odolná rosetka, šručka a čtyřboč. Naopak rostliny salátu a polníčku jsou k zasolení citlivé.

Rozdíl ve vodním potenciálu určuje směr průtoku: voda se pohybuje spontánně z oblasti s vysokým vodním potenciálem do oblasti s nízkým vodním potenciálem. Když příjem vody kořeny těsně odpovídá ztrátě vody listy hodnota RWC se pohybuje od 85 do 95 %. Pokud dojde ke snížení RWC pod kritickou hladinu (50 %), rostlina uhynie. Kritická hodnota RWC se liší podle druhu rostliny (Buchanan, 2015). Vlivem zasolení relativní obsah vody v substrátu klesá (Haddadi et al., 2016).

U kontrolních pokusných rostlin čtyřboče rozložitého [*Tetragonia tetragonioides* (Pallas) O. Kuntze] byly naměřeny hodnoty RWC 81,29 %. Se zvyšující se koncentrací soli v roztoku docházelo ke snižování relativního obsahu vody na 57,04 % (200 mmol.l⁻¹). K podobným závěrům došel i Yousilf et al. (2011), který u kontrolní varianty naměřil hodnotu RWC 87% a u varianty (200 mmol.l⁻¹) 72 %.

U nestresovaných rostlin roketky seté (*Eruca sativa* Mill.) byly při koncentracích NaCl (0 mmol.l⁻¹) naměřeny hodnoty RWC 75,55 %. Ve srovnání s kontrolou došlo u variant 200 a 300 mmol.l⁻¹ ke snížení RWC .Pokles RWC u těchto koncentrací byl o 22,75% a 27,15 %. Nebyly zjištěny významné rozdíly u variant 0,50 a 100 mmol.l⁻¹ NaCl. Zatímco Al Gehani and Ismail (2016) uvedli, že výraznější pokles relativního obsahu vody nastal u roketky kvůli zasolení již při 40 mmol.l⁻¹ NaCl. Oproti kontrole byl u uvedených autorů pokles RWC o 6 %. Ve srovnání s našimi výsledky byl pokles RWC oproti kontrole při koncentraci 50 mmol.l⁻¹ NaCl o 0,65 %.

U kontrolní varianty šruchy zelné (*Portulaca oleracea* L.) byla hodnota RWC 83,78 %. Od nulové koncentrace do 300 docházelo u rostlin ke snižování hodnot RWC na 69,21 %. Kafi and Rahimi (2012) uvedli, že oproti kontrole došlo ke snížení RWC na 79 % (120 mmol.l⁻¹), zatímco při koncentraci 240 mmol.l⁻¹ nedošlo ani k poklesu ani ke zvýšení hodnot RWC . Naopak autoři Yazici and Türkan (2007) uvádějí, že u jejich výzkumu se relativní obsah vody oproti kontrole zvýšil a až u vyšší koncentrace došlo ke snížení RWC.

U rostlin lociky seté (*Lactuca sativa* L.), které byly zalévány destilovanou vodou, byly hodnoty RWC 75,9 %. Čím vyšší byla koncentrace NaCl, tím se snižovala hodnota RWC na 61,5 %.

Z výsledků je patrné, že relativní obsah vody se vlivem zasolení snižuje Uvedený závěr potvrzují Al Gehani and Ismail (2016), kteří zkoumali, jak se vlivem zasolení změní hodnoty RWC u rostlin roketky seté.

Z výsledků je patrné, že nejvyšší naměřené hodnoty RWC byly u rostlin šruchy, čtyřboče a poté následovaly rostliny salátu a roketky. U polníčku nebylo možné změřit relativní obsah vody, jelikož nebyl dostatek rostlinného materiálu potřebného pro měření.

7 Závěr

V pokusu, který probíhal po dobu padesáti dnů, bylo pěstováno pět druhů vybraných listových zelenin, a to locika setá 'Orion' (*Lactuca sativa* L.), roseta setá 'Astro' (*Eruca sativa* Mill.), kozlíček polníček (*Valerianella locusta* L.), šruha zelná 'Green Purslane' (*Portulaca oleracea* L.) a čtyřboč rozložitá [*Tetragonia tetragonioides* (Pallas) O. Kuntze]. Kontrolní varianty byly zalévány destilovanou vodou a stresované rostliny 50 ml roztoku NaCl o různých koncentracích (50 mmol.l⁻¹, 100 mmol.l⁻¹, 200 mmol.l⁻¹ a 300 mmol.l⁻¹). Cílem této práce bylo zjistit, jak zasolení ovlivňuje obsah prolinu a relativní obsah vody (RWC). Ze získaných výsledků vyplývá, že:

- U rostlin *Lactuca sativa* bylo zjištěno, že se zvyšující koncentrací (50,100,200,300 mmol.l⁻¹ NaCl) docházelo k nárůstu hodnot prolinu: 6,42; 13,68; 21,57 a 74,14 μg.g⁻¹ a poklesu RWC: 74,51; 71,73; 66,89 a 61,55 %

- U rostlin *Eruca sativa* bylo zjištěno, že se zvyšující koncentrací (50,100,200,300 mmol.l⁻¹ NaCl) docházelo k nárůstu hodnot prolinu: 85,76; 188,29; 225,5 a 230,97 μg.g⁻¹ a poklesu RWC: 74,9; 72,91; 52,8 a 48,4 %.

- U rostlin *Valerianella locusta* bylo zjištěno, že se zvyšující koncentrací (50,100 mmol.l⁻¹ NaCl) docházelo k nárůstu hodnot prolinu: 10,7 a 14,51 μg.g⁻¹. U koncentrace 200 a 300 mmol.l⁻¹ NaCl došlo k úhynu rostlin.

- U rostlin *Portulaca oleracea* bylo zjištěno, že se zvyšující koncentrací (50,100,200,300 mmol.l⁻¹ NaCl) docházelo k nárůstu hodnot prolinu: 3,79; 5,24; 10,84 a 11,74 μg.g⁻¹ a poklesu RWC: 80,7; 83,19; 67,19 a 69,21 %.

- U rostlin *Tetragonia tetragonioides* bylo zjištěno, že se zvyšující koncentrací (50,100,200,300 mmol.l⁻¹ NaCl) docházelo k nárůstu hodnot prolinu: 6,42; 18,8; 31,73 a 66,12 μg.g⁻¹ a poklesu RWC: 83,55; 79,13; 57,04 a 54,88 %.

- Velice vitálně působila *Portulaca oleracea*, která ovšem vykazovala vysoké hodnoty RWC, ale nejnižší obsah prolinu. Vysvětlením může být fakt, že obsah prolinu pomáhá rostlině překonat osmotický stres pomocí rovnovážného udržování vody a soli v buňce, což je typické pro halofytní rostliny.

- Rovněž rostliny *Eruca sativa* a *Tetragonia tetragonioides*, mohou být považovány za druhy tolerantní vůči zasolení.

- Jako nejcitlivější druh vůči zasolení lze označit *Valerianella locusta*, u kterého došlo při vyšších koncentracích soli k úhynu rostlin. Znatelné poškození v podobě zasychání listů se projevilo u *Lactuca sativa* i tento druh lze označit za citlivý k zasolení.

- Osmotický stres je dnes aktuálním tématem v oblasti zemědělství, kterému by se měla věnovat pozornost. Proto by bylo vhodné zkoumat odolnost vůči zasolení i u jiných skupin rostlin.

8 Seznam použité literatury

ÁBRAHÁM, E., HOURTON-CABASSA, C., ERDEI, L., SZABADOS, L. 2010. Methods for determination of proline in plants. In: Sunkar R. (eds) Plant Stress Tolerance. Methods in Molecular Biology (Methods and Protocols) Humana Press. Vol. 639. p. 317-331.

ACOSTA-MOTOS, J. R., ORTUNO, M. F., BERNAL-VICENTE, A., DIAZ-VIVANCOUS, P., SANCHEZ-BLANCO, M. J., HERNANDEZ, J. A. 2017. Plant responses to salt stress: adaptive mechanisms. *Agronomy*. Vol. 7 (1). p. 1-38. doi: 10.20944/preprints201702.0083.v1

AKBARIMOGHADDAM, H., GALAVI, M., GHANBARI, A., PANJEHKEH, N. 2011. Salinity effects on seed germination and seedling growth of bread wheat cultivars. *Trakia journal of Sciences*. Vol. 9, No 1, p 43-50 .

AL GEHANI, I. A., ISMAIL.T. 2016. Effect of soil amendment on growth and physiological processes of rocket (*Eruca sativa* L.) grown under salinity conditions. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*. Vol. 10 (1). p. 15-20

ASHRAF, M. 1994. Organic substances responsible for salt tolerance in *Eruca sativa*. *Biologia Plantarum*. Vol. 36 (2). p. 255-259.

ASHRAF, M. A., HARRIS, P. J. C. c2006. Abiotic stresses: plant resistance through breeding and molecular approaches. Food Products Press New York, Crop science. p.725. ISBN 1560229640.

AZOOZ, M. M., AHMAD, P. 2016. Plant-environment Interaction: Responses and Approaches to Mitigate Stress. John Wiley & Sons. p. 368. ISBN: 978-1-119-08099-2

BARBIERI, G., BOTTINO, A., DI STASIO, E., VALLONE, S., MAGGIO, A. 2011. Proline and light as quality enhancers of rocket (*Eruca sativa* Miller) grown under saline conditions. *Scientia horticultrae*. Vol. 128 (4). p. 393-400.

BARTELS, D., SUNKAR, R. 2005. Drought and salt tolerance in plants. *Critical reviews in plant sciences*. Vol. 24 (1). p. 23-58.

BARTHA, C., FODORPATAKI, L., MARTINEZ-BALLESTA, M. D. C., POPESCU, O., CARVAJAL, M. 2015. Sodium accumulation contributes to salt stress tolerance in lettuce cultivars. *Journal of Applied Botany and Food Quality*. Vol.88 (1).

- BATES, L. S., WALDREN, R. P., TEARE, I. D. 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and soil*. Vol 39 (1). p. 205-207.
- BIGGS, M. 1997. *Zelenina: velká kniha zeleninových druhů*. Volvox Globator. Praha. p. 256. ISBN 80-7207-053-3
- BLÁHA, L., HNILIČKOVÁ, H., HOLUBEC, V., HNILIČKA, F. 2003. *Rostlina a stres*. Výzkumný ústav rostlinné výroby. Praha. p 156. ISBN 80-86555-32-1.
- BLEIHOLDER, H., FELLER, C., HESS, M., MEIER, U., VAN DEN BOOM, T., LANCASHIRE, P. D., BUHR, L., HACK, H., KLOSE, R., STAUSS, R., WEBER, E., MUNGER, P. 1997. Compendium of growth stage identification keys for mono- and dicotyledonous plants. Extended BBCH scale, Bezug: Allcomm Business Communication. p 131 ISBN 3-9520749-3-4
- BLUM, W. E. H. 2013. Soil and land resources for agricultural production: general trends and future scenarios-a worldwide perspective. *International Soil and Water Conservation Research*. Vol.1 (3). p. 1-14.
- BOSCAIU, M., LULL, C., LLINARES, J., VICENTE, O., BOIRA, H. 2012. Proline as a biochemical marker in relation to the ecology of two halophytic *Juncus* species. *Journal of Plant Ecology*. Vol. 6 (2). p. 177-186.
- BRTNICKÝ, M., VOPRAVIL, J., VRABCOVÁ, T., HLADKÝ, J., KHEL, T., NOVÁK, P., VLČEK, V., KINICKÝ, J. 2012. *Degradace půdy v České republice*. Vyd. 1. [Praha]: Výzkumný ústav meliorací a ochrany půdy. p 91. ISBN 978-80-87361-20-7
- BUCHANAN, B. B. 2015. *Biochemistry and molecular biology of plants*. John Wiley & Sons, Dostupné z: <https://ebookcentral-proquest-com.infozdroje.czu.cz/lib/czup/detail.action?docID=4035886>. >
- BUCHANAN, B. B., JONES R. L., GRUISSEM, W. 2001. *Biochemistry & molecular biology of plants*. 3rd impression. Rockville, Maryland: American Society of Plant Physiologists, p.1367. ISBN 0-943088-39-9.

- CARILLO, P., ANNUNZIATA, M.G., PONTECORVO, G., FUGGI, A., WOODROW, P. 2011. „Salinity stress and salt tolerance.“. In: SHANKER, A., VENKATESWARLU, B, (EDS.). *Abiotic Stress in Plants - Mechanisms and Adaptations* InTech. p.440. ISBN 978-953-307-394-1
- DAGAR, J. C. 2005 Ecology, management and utilization of halophytes. *Bulletin of the National Institute of Ecology*. Vol 15 1). p. 81-89
- DAJIC, Z. 2006. Salt stress. In: *Physiology and molecular biology of stress tolerance in plants*. Springer, Dordrecht. p. 41-99.
- DALIAKOPOULOS, I. N., TSANIKS I.N; KOUTROULIS, A., KOURGIALAS, N. N., VAROUCHAKIS, A.E., KARATZAS, G.P., RITSEMA, C.J. 2016. The threat of soil salinity: A European scale review. *Science of the Total Environment*. Vol. 573. p. 727-739.
- DASKALAKI, P., VOUDOURIS, K. 2008. Groundwater quality of porous aquifers in Greece: a synoptic review. *Environmental Geology*. Vol. 54 (3). p. 505-513.
- DOLEŽALOVÁ, I., DUCHOSLAV, M., DUSEK, K. 2013. Biology and Yield of Rocket. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*. Vol. 41 (2). p. 530-537.
- EEA, 1999. Groundwater quality and quantity in Europe. *Environmental Assessment Report*. European Environment Agency, Copenhagen
- EL-HENDAWY, S. E.; HU, Y., SCHMIDHALTER, U. 2005. Growth, ion content, gas exchange, and water relations of wheat genotypes differing in salt tolerances. *Australian Journal of Agricultural Research*. Vol. 56 (2). p. 123-134.
- FISHER, G., NACHTERGAELE, F., PRIELER, S., Van VELTHUIZEN, H., VERELST, L., WIBERG, D., 2008. *Global Agro-ecological Zones Assessment for Agriculture (GAEZ 2008)*. IIASA, Laxenburg, Austria FAO, Rome, Italy.
- FLOWERS, T. J., COLMER, T. D. 2015. Plant salt tolerance: adaptations in halophytes. *Annals of botany*. Vol. 115 (3). p. 327-331.
- FRAIRE-VELÁZQUEZ, S., BALDERAS-HERNÁNDEZ, V. E. 2013. „Abiotic stress in plants and metabolic responses.“ In: VAHDATI, K., LESLIE, CH. (EDS.). *Abiotic Stress-Plant Responses and Applications in Agriculture*. InTech. p. 418. ISBN 978-953-51-1024-8.

- GLENN, E. P., BROWN, J. J., BLUMWALD, E. 1999. Salt tolerance and crop potential of halophytes. *Critical reviews in plant sciences*. Vol. 18 (2). p. 227-255.
- GRIME, J. P. 1979. *Plant Strategies and Vegetation Processes*. Chichester: J. Wiley and Sons, xi, 222 s., [48] s. obr. příl. ISBN 0-471-99692-0.
- HADDADI, B.S., HASSANPOUR, H., NIKNAM, V., 2016, Effect of salinity and waterlogging on growth, anatomical and antioxidative responses in *Mentha aquatica* L., *Acta Physiol Plant*, Vol. 38 (119), DOI 10.1007/s11738-016-2137-3.
- HARE, P. D., CRESS, W. A., VAN STADEN, J. 1998. Dissecting the roles of osmolyte accumulation during stress. *Plant, cell & environment*. Vol. 21 (6). p. 535-553.
- HASANUZZAMAN, M., NAHAR, K., ALAM, M; BHOWMIK, P.C., HOSSAIN, A., RAHRAM, M.M., VARA PRASATD, M.N., OZTURK, M., FUJITA, M. 2014. "Potential Use of Halophytes to Remediate Saline Soils," *BioMed Research International*, p.12. doi:10.1155/2014/589341
- HASEGAWA P. M., BRESSAN R. A., ZHU J. K., BOHNERT H. J, 2000 Plant cellular and molecular responses to high salinity. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, Vol. 51. p. 463 499.
- HAYAT, S., HAYAT Q., ALYEMENI, MN., WANI, AS., AHMAD, A. 2012. Role of proline under changing environments: a review. *Plant Signaling & Behavior*. Vol. 7 (11). p. 1-11.
- HNILIČKA, F; STŘEDA T. (eds.). 2016. *Rostliny v podmínkách stresu – abiotické stresory*. Praha: Česká zemědělská univerzita v Praze. p.233. ISBN 978-80-213-2680-4.
- CHEESEMAN, J. M. 2015. The evolution of halophytes, glycophytes and crops, and its implications for food security under saline conditions. *New Phytologist*. Vol. 206 (2). p. 557-570.
- CHEN, Ch., DICKMAN, M. B. 2005. Proline suppresses apoptosis in the fungal pathogen *Colletotrichum trifolii*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. Vol. 102 (9). p. 3459-3464.
- CHINNUSAMY, V., JAGENDORF, A., ZHU, Jian-Kang. 2005. Understanding and improving salt tolerance in plants. *Crop Science*. Vol. 45 (2). p. 437-448.

- JAMIL, A., RIAZ, S., ASHRAF, M., FOOLAD, M. R. 2011. Gene expression profiling of plants under salt stress. *Critical Reviews in Plant Sciences*. Vol. 30 (5). p. 435-458.
- JANSKA, A., ZELENKOVÁ S., KLÍMA M., VYVADILOVÁ, M., PRÁŠIL, I. 2010. Freezing tolerance and proline content of in vitro selected hydroxyproline resistant winter oilseed rape. *Czech J. Genet. Plant Breed.* Vol. 46 (1). p. 35-40.
- JENKS, Matthew A.; WOOD, Andrew J. (ed.). 2009. *Genes for plant abiotic stress*. John Wiley & Sons., p. 314. ISBN: 978-0-8138-1502-2
- JHA, M. K. (ed.). 2010. *Natural and Anthropogenic Disasters: vulnerability, preparedness and mitigation*. Springer Science & Business Media. Springer Netherlands, p. 615. ISBN: 978-90-481-2497-8
- JOSHI, R., MANGU, V.M., BEDRE, R., SANCHEZ, L., PILCHER, W., ZANDKARIMI, H. 2015. Salt adaptation mechanisms of halophytes: improvement of salt tolerance in crop plants. In: *Elucidation of Abiotic Stress Signaling in Plants*. Springer, New York, NY. p. 243-279.
- KAFI, M., RAHIMI, Z. 2011. Effect of salinity and silicon on root characteristics, growth, water status, proline content and ion accumulation of purslane (*Portulaca oleracea* L.). *Soil Science and Plant Nutrition*. Vol. 57 (2). p. 341-347.
- KALSOOM, U., BENNETT, I. J., BOYCE, M. C. 2016. A review of extraction and analysis: methods for studying osmoregulants in plants. *J Chromatogr Sep Tech*. Vol.7 (1). p.1-11.
- KEDDY, P. A. 2007. *Plants and vegetation: origins, processes, consequences* [online]. Cambridge: Cambridge University Press. p. 683. ISBN: 0521864800. [cit. 2017-12-01]. Dostupné z: <http://ebookcentral.proquest.com/lib/natl-ebooks/detail.action?docID=311250>.
- KHAN, M. A., WEBER, D. J. (ed.). 2006. *Ecophysiology of high salinity tolerant plants*. Springer Science & Business Media. p.404. ISBN: 978-1-4020-4017-7
- KILIÇ, C. C., KUKUL, Y. S., ANAÇ, D. 2008. Performance of purslane (*Portulaca oleracea* L.) as a salt-removing crop. *Agricultural water management*. Vol. 95 (7). p. 854-858. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378377408000589>

KOYRO, H. W., HUSSIN, S., GEISSLER, N., DEBEZ, A. 2008. „Strategies of halophytes to survive in a salty environment.“ In: KHAN, N. A., SINGH, S. Abiotic stress and plant responses. IK International Publishing House, New Delhi. p. 83-104. ISBN: 978-81-89866-95-2

KRANNER, I., MINIBAYEVA, F. V., BECKETT, R. P., SEAL, CH. E. 2010. What is stress? Concepts, definitions and applications in seed science. *New Phytologist*. Nov. 188 (3). p. 655-673.

LAMHAMDI, M., GALIOU, O. E., BAKRIM, A., NÓVOA-MUNOZ, J.C., ARIAS-ESTÉVEZ, M., LAFONT, R. 2013. Effect of lead stress on mineral content and growth of wheat (*Triticum aestivum*) and spinach (*Spinacia oleracea*) seedlings. *Saudi journal of biological sciences*. Vol. 20 (1). p. 29-36. Dostupné z: <https://www-sciencedirect-com.infozdroje.czu.cz/science/article/pii/S1319562X12000630>

LARCHER, W. 2003. *Physiological plant ecology: ecophysiology and stress physiology of functional groups*. 4th ed. Přeložil Elisabeth HUBER-SANNWALD. Berlin: Springer, p. 513. ISBN 3-540-43516-6.

LEVITT, J. 1980. *Responses of plants to environmental stresses*. Vol. 2, Water, radiation, salt, and other stresses.. *Physiological ecology. A series of monographs, texts, and treatises*. Academic Press. 2nd ed. New York. p.606. ISBN 0-12-445502-6.

LEVITT, J. 1982 *Stress Terminology*. In: Turner, NC. And Kramer P.J. (eds) *Adaptations of plants to water and high temperature stress*. Wiley Interscience, New York . p. 437-439. ISBN: 0471053724

LICHTENTHALER, H. K. 1996. *Vegetation stress: an introduction to the stress concept in plants*. *Journal of plant physiology*. Vol. 148 (1-2). p. 4-14.

LICHTENTHALER, H. K. 1998. *The stress concept in plants: an introduction*. *Annals of the New York Academy of Sciences*. "Vol. 851 (1). p. 187-198.

MACHADO, R. M. A., SERRALHEIRO, R. P. 2017. *Soil salinity: Effect on vegetable crop growth. Management practices to prevent and mitigate soil salinization*. *Horticulturae*. Vol 32. p. 1-13. doi:10.3390/horticulturae3020030

MANSOUR, M. M. F., ALI, E. F. 2017. Evaluation of proline functions in saline conditions. *Phytochemistry*. Vol. 140. p. 52-68.

MELLENDEZ-PASTOR, I., HERNÁNDEZ, E. I., NAVARRO-PEDRENO, J., GÓMEZ, I. 2012. „Mapping soil salinization of agricultural coastal areas in Southeast Spain.“ In: ESCALANTE-RAMIZES, B. (EDS.). *Remote Sensing-Applications*. InTech. p. 528. ISBN 978-953-51-0651-7.

MÍCHAL, I. 1994. *Ekologická stabilita*. 2., Ministerstvo životního prostředí České republiky. rozš. vyd. Praha. p 275. ISBN 80-7212-303-3.

MINHAS, P. S., RANE J., PASALA P. K., ed. 2017. *Abiotic Stress Management for Resilient Agriculture* [online]. Singapore: Springer Singapore. [cit. 2018-02-07]. ISBN 978-981-10-5743-4.

MOŤKOVÁ, K., PODLIPNÁ, R., VANĚK, T., KAFKA, Z. 2014. Halofytní rostliny a jejich možné využití ve fytořemediacích. *Chem. Listy*. Vol. 108. p. 586-591. Dostupné z: http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2014_06_586-591.pdf

MUNNS, R. 2005. Genes and salt tolerance: bringing them together. *New phytologist*. Vol.167 (3). p. 645-663.

MUNNS, R., 2002 Comparative physiology of salt and water stress. *Plant, Cell & Environment*, Vol. 25 (2). p. 239 250.

MUNNS, R., HUSAIN, S., RIVELLI, A. R., JAMES, R. A., CONDOR, A. G., LINDSAY, M. P., LAGUDAH, E. S., SCHACHTMAN, D. P., HARE, R. A. 2002. Avenues for increasing salt tolerance of crops, and the role of physiologically based selection traits. In: *Progress in Plant Nutrition: Plenary Lectures of the XIV International Plant Nutrition Colloquium*. Springer, Dordrecht. p. 93-105.

MUNNS, R., SCHACHTMAN. D., CONDON.A., 1995 The Significance of a Two-Phase Growth Response to Salinity in Wheat and Barley. *Functional Plant Biology*, Vol. 22 (4). p. 561 569

MUNNS, R.; TERMAAT, A. 1986. Whole-plant responses to salinity. *Functional Plant Biology*. Vol. 13 (1). p. 143-160

MUNNS, R.; TESTER, M. 2008. Mechanisms of salinity tolerance. *Annu. Rev. Plant Biol.* Vol. 59. p. 651-681.

OWENS, S. 2001. Salt of the Earth: Genetic engineering may help to reclaim agricultural land lost due to salinisation. *EMBO reports.* Vol. 2 (10). p. 877-879.

PARVAIZ, A., SATYAWATI, S. 2008. Salt stress and phyto-biochemical responses of plants- a review. *Plant Soil and Environment.* Vol. 54 (3). p. 89-99.

PITERKOVÁ, J., TOMÁNKOVÁ, K., LUHOVÁ, L., PETŘIVALSKÝ, M., PEČ, P. 2005. Oxidativní stres: Lokalizace tvorby aktivních forem kyslíku a jejich degradace v rostlinném organismu. *Chem. Listy.* 99. p. 455-466. Dostupné z: http://w.chemicke-listy.cz/docs/full/2005_07_455-466.pdf

POSS, J. A., et al. 1999. Characterization of leaf boron injury in salt-stressed Eucalyptus by image analysis. *Plant and soil.* Vol.206 (2). p. 237-245.

RAHDARI, P.; TAVAKOLI, S.; HOSSEINI, Seyed Meysam. 2012. Studying of salinity stress effect on germination, proline, sugar, protein, lipid and chlorophyll content in purslane (*Portulaca oleracea* L.) leaves. *Journal of Stress Physiology & Biochemistry.* Vol. 8 (1). p. 182-193

REDONDO-GÓMEZ, S. 2013. „Abiotic and biotic stress tolerance in plants.“ In: ROUT, G. R., DAS, A. B. (EDS.). *Molecular Stress Physiology of Plants.* Springer India. p. 440. ISBN: 978-81-322-0807-5.

RENGASAMY, P. 2002. Transient salinity and subsoil constraints to dryland farming in Australian sodic soils: an overview. *Australian Journal of Experimental Agriculture.* Vol. 42 (3). p. 351-361.

ROD, J., HLUCHÝ, M., ZAVADIL, K., PRÁŠIL, J., SOMSSICH, I., ZACHARDA, M, 2005 *Obrazový atlas chorob a škůdců zeleniny střední Evropy.* Biocont Laboratory, Brno, p.392. ISBN: 80-901874-3-9.

SAIRAM, R. K., TYAGI A., 2004, *Physiology and molecular biology of salinity stress tolerance in plants,* CURRENT SCIENCE, Vol. 86 (3). p. 407-421.

- SEJIAN, V., NAQVI, S. M.K., EZEJI, T., LAKRITZ, J., LAL, R. 2012. Environmental stress and amelioration in livestock production. Springer Berlin Heidelberg. p. 570. ISBN: 978-3-642-29205-7
- SEN, D. N.; RAJPUROHIT, K. S.; WISSING, F. W. 1982. „Survey and adaptive biology of halophytes in western Rajasthan, India.“ In: SEN, D. N., RAJPUROHIT, K. S. (EDS.). Contributions to the ecology of halophytes. Springer, Dordrecht. p. 280. ISBN: 978-94-009-8037-2
- SHABALA, S.(ed.). 2017. Plant stress physiology. Wallingford, Oxfordshire Cabi. p. 376. ISBN: 978-17-806-4729-6
- SHANNON, M. C.; GRIEVE, C. M. 1998. Tolerance of vegetable crops to salinity. *Scientia horticulturae*. Vol. 78 (1). p. 5-38.
- SHRIVASTAVA, P.; KUMAR., R. 2015. Soil salinity: a serious environmental issue and plant growth promoting bacteria as one of the tools for its alleviation. *Saudi journal of biological sciences*. Vol. 22 (2). p. 123-131. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1319562X14001715>
- SCHRADER, S. Ella Jean. 2017. Salinity Tolerance of Lettuce Cultivars in Controlled Environment. The University of Arizona.
- SCHULZE, E. D., BECK, E., MÜLLER-HOHENSTEIN, K. 2005. Plant ecology. SPRINGER. Berlin. p. 702. ISBN 3-540-20833-X.
- SINGH K.N., CHATRAT R. Salinity tolerance. In: Reynolds M.P., Monasterio J.I.O., McNab A., editors. 2001. Application of Physiology in Wheat Breeding. CIMMYT; Mexico, DF. pp. 101–110.
- SINGH, A. 2015. Soil salinization and waterlogging: A threat to environment and agricultural sustainability. *Ecological indicators*. Vol. 57. p. 128-130. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1470160X15002058>
- SLAMA, I., ABDELLEY, CH., BOUCHEREAU, A., FLOWRS, T., SAVOURÉ, A. 2015. Diversity, distribution and roles of osmoprotective compounds accumulated in halophytes under abiotic stress. *Annals of Botany*. Vol. 115 (3). p. 433-447.

SMART, R. E.; BINGHAM, G. E. 1974. Rapid estimates of relative water content. *Plant physiology*. Vol. 53 (2). p. 258-260.

STEIN, H., HONIG, A., MILLER, G., ERSTER, O., EILENBERG, H., CSONKA, LN., SZABADOS, L., KONCZ, C., ZILBERSTEIN, A. 2011. Elevation of free proline and proline-rich protein levels by simultaneous manipulations of proline biosynthesis and degradation in plants. *Plant science*. Vol. 181 (2). p. 140-150.

STĘPIEŃ, P.; KŁBUS, G. 2006. Water relations and photosynthesis in *Cucumis sativus* L. leaves under salt stress. *Biologia Plantarum*. Vol. 50 (4). p. 610-616.

TAIZ, L., ZEIGER, E. 2006. *Plant physiology*. 4th ed. Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates, p. 764. ISBN 0-87893-856-7.

TAL, M., KATZ, A., HEIKEN, H., DEHAN, K. 1979. Salt tolerance in the wild relatives of the cultivated tomato: proline accumulation in *Lycopersicon esculentum* MILL., *L. peruvianum* MILL. And *Solanum pennelli* COR. treated with NaCl and polyethylen glycole. *New phytologist*. Vol. 82 (2). p. 349-355. Dostupné z: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1469-8137.1979.tb02660.x/epdf> >

TAMÁS, M. J.; HOHMANN, S. 2003. „The osmotic stress response of *Saccharomyces cerevisiae*.“ In: HOHMANN, S., MAGER, W. H. *Yeast stress responses*. Springer, Berlin, Heidelberg. p.396. ISBN: 978-3-540-45611-7.

TARAKCIOGLU, C.; INAL, A. 2002. Changes induced by salinity, demarcating specific ion ratio (Na/Cl) and osmolality in ion and proline accumulation, nitrate reductase activity, and growth performance of lettuce. *Journal of Plant Nutrition*. Vol. 25 (1). p. 27-41.

ÜNLÜKARA, A., CEMEK, B., KARAMAR, S., ERSAHIN, S. 2008. Response of lettuce (*Lactuca sativa* var. *crispa*) to salinity of irrigation water. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*. Vol. 36 (4). p. 265-273.

VAN BEEK, C. L.; TÓTH, G. 2012. Risk assessment methodologies of soil threats in Europe. *JRC Scientific and Policy Reports EUR*. 24097.p. 92. ISBN 978-92-79-14291-8

- VAN-CAMP, L., BUJARRABAL, B., GENTILE, A. R., JONES, R. J. A., MONTANARELLA, L., OLAZABAL, C., SELVARADJOU, S. K. 2004. Reports of the technical working groups established under the thematic strategy for soil protection. p. 1-79
- VENKATESWARLU, B., SHANKER, K., MAHESWARI, M., SHANKER, CH. (ed.). 2011. Crop stress and its management: perspectives and strategies. Springer Science & Business Media., Springer Netherlands. p. 612. ISBN: 978-94-007-2220-0
- VERMA, D. P. S. 1999. „Osmotic stress tolerance in plants: role of proline and sulfur metabolisms.“ In: SCHINOZAKI, K., YAMAGUCHI-SCHINOZAKI, K. (EDS.). Molecular responses to cold, drought, heat and salt stress in higher plants. p. 170. ISBN: 1-57059-563-1
- VERSLUES, P. E.; SHARMA, Sandeep. 2010. Proline metabolism and its implications for plant-environment interaction. The arabidopsis book. e0140. Nov 3. doi: 10.1199/tab.0140
- VOGEL, G. Handbuch des speziellen Gemüsebaues. Stuttgart: Eugen Ulmer, 1996. 1127 s. ISBN 3-8001-5285-1.
- WANG, W.; VINO CUR, B.; ALTMAN, A. 2003. Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance. *Planta*. Vol. 218 (1). p. 1-14.
- WELBAUM, G. E. Vegetable production and practices. Wallingford: CABI, [2015]. ix, 476 stran. ISBN 978-1-78064-534-6.
- YAZICI, I., TÜRKAN, I., SEKMEN, A. H., DEMIRAL, T. 2007. Salinity tolerance of purslane (*Portulaca oleracea* L.) is achieved by enhanced antioxidative system, lower level of lipid peroxidation and proline accumulation. *Environmental and Experimental Botany*. Vol. 61 (1). p. 49-57. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0098847207000597>
- YOUSIF, B. S., LIU, L. Y., NGUYEN, N. T., MASAOKA, Y., SANEONKA, H. 2010. Comparative Studies in Salinity Tolerance Between New Zealand Spinach (*Tetragonia tetragonioides*) and Chard (*Beta vulgaris*) to Salt Stress. *Agricultural Journal*. Vol. 5 (1). p. 19-24. Dostupné z: <http://docsdrive.com/pdfs/medwelljournals/aj/2010/19-24.pdf> >

ZANIN. G, PONCHIA. G, SAMBO. P, ORTEGA A.E. 2011. Seasonal effects on production of radish and lamb's lettuce grown in a floating system. *Acta Horticulturae*, 893 p. 821–829. doi.10.17660/ActaHortic.2011.893.90

Internetové zdroje:

SEMO a.s. Osivo – semena. [online]. 2018 [cit. 2018-1-06]. Dostupné z <<https://www.semo.cz/osivo-semena/hobby/zelenina/>>.

SEVA MORAVIA s.r.o. Detail [online]. 2018 [cit. 2018-1-06]. Dostupné z <<http://www.prodejosiv.cz/eshop/detail.php?id=635>>

KIEPENKERL Sortiment. [online]. 2018 [cit. 2018-1-06]. Dostupné z http://www.nebelung.de/b2b-archiv/kiepenkerl-international/sortiment_saatgut_ost/13/assets/basic-html/index.html#page37

EC, 2016. European Commission Agriculture and Rural Development [WWW Document]. URL <http://ec.europa.eu/agriculture/> (dostupné 15.11.2017).