



**Stanovení stresové odezvy smrku ztepilého na suché
a zamokřené prostředí**

Diplomová práce

Vedoucí práce:
Dr. Ing. Helena Fišerová

Vypracovala:
Jana Pavlíčková

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

Zpracovatelka: **Bc. Jana Pavlíčková**
Studijní program: Fytotechnika
Obor: Biotechnologie rostlin
Konzultant: Ing. Roman Gebauer Ph.D.
Název tématu: **Stanovení stresové odezvy smrku ztepilého na suché a zamokřené prostředí**
Rozsah práce: 50-60 stran

Zásady pro vypracování:

1. Smrk ztepilý je dřevinou s vysokou produkcí dřeva a proto převládá v tzv. hospodářských lesech, které se stávají vlivem nedostatku či nadbytku vody nestabilní.
2. Posluchačka se seznámí s optimálními podmínkami klíčení semen a růstu a vývoje smrku ztepilého (minerální výživa, pH, klimatické podmínky).
3. Posluchačka bude sledovat vliv sucha a zamokření na produkci etylenu a CO₂ rostlinou, obsah abscisové kyseliny v jehlicích a růstové parametry rostlin v nesterilních podmínkách na dvouletých rostlinách v čedičové vatě či v substrátu v kontejnerech s diferencovanou zálivkou a v podmínkách in vitro na klíčnicích rostlinách, kde budou podmínky zamokření simulované médiem bez agaru (nosným materiálem pro rostliny budou skleněné kuličky přelité médiem) a podmínky sucha budou vytvořeny zvyšující se koncentrací sacharózy a polyetylglykolu.

Seznam odborné literatury:

1. Dubert, F. – Krekule, J. – Macháčková, I.: Analytical methods in plant stress biology. Kraków: Polish Academy of Science, 2004. 166 s. ISBN 83-86878-19-3.
2. Kováč, J., 1995. Explantátové kultury rostlin. 1-přepracované vydání. P. 26-132.
3. Larcher, W. Fyziologická ekologie rostlin. Praha: academia, 1988. 368 s.
4. periodika
5. Procházka, S., Šebánek, J. a kol., 1997. Regulátory rostlinného růstu, AVČR, 1 – 395.
6. Vlašánková, E.: Vliv syntetických brassinosteroidů na růstové a hormonální reakce řepky olejné (*Brassica napus* L.) a pšenice seté (*Triticum aestivum* L.), disertační práce MZLU v Brně, 1 – 107, 2008.

Datum zadání diplomové práce: listopad 2013

Termín odevzdání diplomové práce: duben 2015

Pavličková

Bc. Jana Pavličková
Autorka práce



Fišerová

Dr. Ing. Helena Fišerová
Vedoucí práce

L. Havel

prof. RNDr. Ladislav Havel, CSc.
Vedoucí ústavu

L. Zeman

prof. Ing. Ladislav Zeman, CSc.
Děkan AF MENDELU

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že jsem práci: „**Stanovení stresové odezvy smrku ztepilého na suché a zamokřené prostředí**“ vypracovala samostatně a veškeré použité prameny a informace uvádím v seznamu použité literatury. Souhlasím, aby moje práce byla zveřejněna v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách ve znění pozdějších předpisů a v souladu s platnou *Směrnicí o zveřejňování vysokoškolských závěrečných prací*.

Jsem si vědoma, že se na moji práci vztahuje zákon č. 121/2000 Sb., autorský zákon, a že Mendelova univerzita v Brně má právo na uzavření licenční smlouvy a užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona.

Dále se zavazuji, že před sepsáním licenční smlouvy o využití díla jinou osobou (subjektem) si vyžádám písemné stanovisko univerzity, že předmětná licenční smlouva není v rozporu s oprávněnými zájmy univerzity, a zavazuji se uhradit případný příspěvek na úhradu nákladů spojených se vznikem díla, a to až do jejich skutečné výše.

V Brně dne:.....

.....

podpis

Tímto bych chtěla poděkovat především paní Dr. Ing. Heleně Fišerové za její trpělivost, ochotu a přístup při psaní mé diplomové práce. Jsem vděčná za tuto spolupráci a velmi si vážím veškeré pomoci a cenných rad, které mi poskytla.

Dále bych ráda poděkovala panu Ing. Petru Kalouskovi za pomoc s anatomickými změnami smrku, za jeho čas, který mi věnoval, a za jeho rady.

V poslední řadě, ale v nemenší míře děkuji své rodině za psychickou a materiální podporu v průběhu celého mého studia.

Diplomová práce „Stanovení stresové odezvy smrku ztepilého na suché a zamokřené prostředí“ se zabývá působením abiotického stresu na semenáčky smrku ztepilého (*Picea abies* (L.) Karsten) – vliv nedostatku a nadbytku vody. V teoretické části je popsán význam vody v rostlině, stres u rostlin a jeho dopady na rostliny a kultivace rostlin *in vitro*. Podmínky zamokření byly simulovány médiem bez agaru, podmínky sucha byly vytvořeny zvyšující se koncentrací sacharózy a polyetylenglykolu. V průběhu pokusu byly měřeny odpovědi rostlin na stres – koncentrace plynů etylenu, etanu a CO₂ v kultivačních nádobách. V závěru pokusu byla stanovena koncentrace O₂, kvantový výtěžek fotosyntézy, růstové parametry rostlin, obsah rostlinných barviv v jehlicích a anatomické změny stonku (kmene) a kořene smrku.

klíčová slova: abiotický stres, etylen, kvantový výtěžek fotosyntézy, rostlinná barviva, anatomické změny

The diploma thesis „Determination of the stress response of Norway spruce to dry and waterlogged conditions“ deals with the effects of abiotic stress on seedlings of Norway spruce (*Picea abies* (L.) Karsten) – the impact of water deficit and abundance. In the theoretical part is described the importance of water in plant, stress and its impact on plants and the cultivation of plants *in vitro*. Experimental part consists of experiments *in vitro*. Waterlogging conditions were simulated the medium without agar, drought conditions were created by increasing concentration of sucrose and polyethylene glycol. In the course of experiment were measured plant responses to stress – concentration of ethylene, ethane and CO₂ in the culture vessels. At the end of the experiment was measured concentration of O₂, quantum yield of photosynthesis, plant growth parameters, content of plant pigments in needles and anatomical changes in the stem and root of Norway spruce.

keywords: abiotic stress, ethylen, quantum yield of photosynthesis, plant pigments, anatomical changes

1 ÚVOD	9
2 LITERÁRNÍ PŘEHLED.....	10
2.1 Obecná charakteristika smrku ztepilého	10
2.2 Optimální podmínky pro klíčení semen, růst a vývoj smrku ztepilého	11
2.3 Význam vody v rostlině	12
2.4 Příjem a transport vody	13
2.4.1 Vodní potenciál, voda v půdním prostředí.....	15
2.5 Stres u rostlin.....	16
2.5.1 Stresové faktory a obrana rostlin proti stresu.....	16
2.5.2 Půdní prostředí jako stresor.....	21
2.5.3 Stres ze sucha	26
2.5.4 Stres z nadbytku vody	31
2.5.5 Pletiva dřevin, anatomická stavba stonku a kořene a jejich změny za stresových podmínek	33
2.5.6 Etylen, etan a CO ₂ jako signální ukazatelé stresu	40
2.6 Kultivace rostlin v podmínkách <i>in vitro</i>	42
2.6.1 Sterilizace	43
2.6.2 Kultivační médium.....	44
3 CÍL PRÁCE	46
4 MATERIÁL A METODY	47
4.1 Charakteristika použitého materiálu a manipulace s ním	47
4.2 Charakteristika použitých médií	47
4.3 Stanovení koncentrace plynů v kultivační nádobě, rychlosti fotosyntézy, obsahu chlorofylů a karotenoidů a růstových parametrů rostlin.....	48
4.4 Metoda sledování anatomických změn ve stonku a kořeni smrku.....	51
5 VÝSLEDKY A DISKUSE	53
5.1 Stanovení koncentrace etylenu, etanu a CO ₂ v kultivační nádobě.....	53
5.2 Změna O ₂ , kvantový výtěžek fotosyntézy a růstové parametry	56

5.3 Obsah chlorofylů a karotenoidů	67
5.4 Hodnocení anatomických změn ve stonku a kořeni smrku.....	68
6 ZÁVĚR	78
7 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	80
8 SEZNAM OBRÁZKŮ A TABULEK	86

1 ÚVOD

Lesní porosty jsou během svého života vystaveny mnoha stresovým faktorům. Dlouhodobější srážkové a teplotní výchyly počasí a znečištění atmosféry cizorodými látkami s toxickým působením jsou hlavními faktory vyvolávajícími poškození porostů. Nepříznivá stanoviště, jako jsou např. chudé vysychavé půdy nebo naopak trvale zamokřené půdy ještě zesilují působení uvedených stresových faktorů.

Smrk ztepilý je jednou ze základních dominant evropských lesů a v České republice patří mezi nejrozšířenější a hospodářsky nejvýznamnější dřeviny. Roste dnes na více než 50 % porostní plochy. Je dřevinou s vysokou produkcí dřeva, proto také převládá v tzv. hospodářských lesích, které se však stávají vlivem nedostatku nebo nadbytku vody nestabilními. Tento problém je čím dál více závažný především v lesích severní a severovýchodní Evropy, kde je smrk ztepilý domácí dřevinou a je zde souvisle rozšířen. Změny v podmínkách růstu pro smrk ztepilý souvisí s klimatickou změnou prostředí, kdy se mění vlhkostní podmínky přirozených stanovišť, i s tím, že smrk je vzhledem ke své hospodářské významnosti čím dál častěji vysazován i na místa mimo areál svého původního výskytu, která nejsou pro jeho růst ideální. Předpokládá se, že v budoucnosti se budou extrémní klimatické jevy zvyšovat v četnosti i době trvání. V kombinaci se zvýšenou průměrnou teplotou budou klimatické extrémy negativně působit na náchylnost stromů (tedy zvyšovat citlivost) k sekundárnímu poškození škůdci a patogeny (SCHLYTER a kol., 2006; OSAKABE, 2011).

Experimentální část diplomové práce tvoří pokus v podmínkách *in vitro*, kdy byly semenáčky smrku vystaveny simulaci podmínek stresu zamokřením a suchem. Průběžně u nich byla sledována koncentrace etylenu, etanu a CO₂ v kultivačních nádobách a v závěru pokusu byla vyhodnocena rychlost fotosyntézy a obsah chlorofylu v jehlicích, délka a hmotnost rostlin a dále byly zhotoveny příčné řezy kořene a stonku za účelem pozorování anatomických změn u těchto orgánů. Jednotlivé výsledky by tedy měly ukazovat na to, jaký vliv mají na smrk ztepilý dané stresové faktory (sucho, zamokření) a které podmínky jsou pro růst smrku neoptimálnější. Vzhledem k tomu, že experimentální část diplomové práce v podmínkách *in vitro* byla časově náročnější, než se předpokládalo při zadávání diplomové práce, bylo od experimentu v nesterilních podmínkách upuštěno.

2 LITERÁRNÍ PŘEHLED

2.1 Obecná charakteristika smrku ztepilého

Smrk ztepilý (*Picea abies* (L.) Karsten, Norway spruce) patří mezi hospodářsky nejdůležitější dřeviny. Souvisle je rozšířen v severní a severovýchodní Evropě, odkud také původně pochází. Ve střední a jihovýchodní Evropě se původně vyskytoval jen ostrůvkovitě, a to v horách a podhůřích. V České republice se přirozeně vyskytuje v nadmořských výškách nad 800 metrů. Zde tvoří čisté porosty horských klimaxových, popř. podmáčených smrčín. V nižších polohách je původní výskyt smrku jen ojedinělý na specifických lokalitách, nejčastěji v inverzních polohách na dostatečně vlhkých stanovištích. Lesnický je smrk intenzivně pěstován od konce 18. století, a to i na zcela nepůvodních stanovištích (UHLÍŘOVÁ, KAPITOLA, 2004).

Smrk ztepilý je jedním z nejrychleji rostoucích druhů, dosahuje stáří až 650 let, výšky 40-60 metrů, průměru kmene až 1,5 m a objemu kmene přes 30 m³. Má pravidelnou kuželovitou korunu, silný kmen s horizontálními bočními větvemi, které mívají svěšený charakter, postupně jak strom zraje. Jehlice jsou krátké (1-3 cm) a silné, čtyřhranné, zašpičatělé, lesklé a jejich tmavě zelená barva je jednou z jeho nejvíce atraktivních vlastností. Jsou uspořádány spirálovitě a na stromě vydrží 6-9 let. Kořenový systém smrku je rozvinut do plochy, bývá proto v půdě slabě ukotven a často může docházet k vývratům. Samčí šištice, které jsou umístěny po celé koruně v paždí jehlic na loňských větvíčkách, jsou drobné, červené, po rozkvětu žluté, samičí šištice se nacházejí v horní části koruny na koncích loňských větvíček a jsou vzpřímené, zelené nebo červené. Šišky smrku ztepilého jsou převislé, dlouhé a štíhlé, nerozpadavé, 10-16 cm dlouhé, opadající druhým rokem. Okraje šupin jsou velmi různě tvarovány. Semeno smrku má tmavohnědou barvu, vejcovitý tvar s blanitým křídlem, které jde snadno oddělit. Červenohnědá, poměrně hladká kůra se ve stáří mění na hnědou až šedou. Smrkové dřevo je silné, má žlutobílou barvu a zřetelné letokruhy. Smrk je jednodomý, kvete v dubnu až květnu. Množení probíhá přirozeně generativně – výsevy semen. Některé hybridní kultivary však klíčivá semena vůbec neprodukují, je tedy potřeba množení vegetativní, to je štěpování a řízkování (ÚRADNÍČEK a kol., 2009; MOJŽÍŠEK, 2005).

Smrk se zpracovává na řezivo, papír i palivo. Zvláštní použití má jako zdroj dřeva pro výrobu zvukových desek různých nástrojů, dříve se používala pryskyřice jako suro-

vina pro výrobu bednářské smůly, kalafuny a terpentýnu a kůra jako zdroj tříslovin. Mladé letorosty a pupeny jsou bohaté na vitamín C. Smrky ztepilé mohou výborně sloužit jako větrolamy, přirozená ochrana proti sněhu nebo jako úkryt pro divokou zvěř. V parcích středních a vyšších poloh se používají jako výplň mezi jedle a douglasky, na stanovištích se vysazují do rozvolněných i zapojených skupin. Dobře snáší řez, v sadovnictví se využívají hlavně jeho zakrslé kultivary. V zahradách pěstujeme velké množství variet, které se liší vzrůstem, rozvětvením, postavením a zbarvením jehlic (JENÍK, 1984; ÚRADNÍČEK, 2003; ÚRADNÍČEK a kol., 2009).

2.2 Optimální podmínky pro klíčení semen, růst a vývoj smrku ztepilého

Na půdu a geologický podklad nemá smrk zvláštní nároky, nejlépe však roste na čerstvých, hlinitopísčitých půdách. Smrk patří mezi světlomilné dřeviny, i když hlavně v mládí snáší i zástin. V horách se jeho nároky na světlo zvyšují. Vyžaduje dostatek srážek, vyšší vzdušnou vlhkost a je náročný na půdní vlhkost. Smrk snáší dobře nadbytečnou vlhkost a vydrží i stagnující vodu rašelinišť a bažin, ale naopak nedostatek vláhy je pro něj limitujícím faktorem. V nižších a sušších polohách trpí suchem a hnilobami. Smrk je přizpůsoben spíše krátké vegetační době, nejlépe mu vyhovuje krátké a chladné léto. Příliš mírná zima a dlouhá vegetační doba při nedostatku vláhy patří k dalším limitujícím faktorům smrku, protože tyto podmínky mají za následek časné rašení a snadné podlehnutí houbovým škůdcům. Optimum výskytu je v našich podmínkách v oblastech, které mají roční úhrn srážek nad 700 mm. Roste většinou na kyselých půdách s vrstvou surového humusu, středně až silně vlhkých, opad se rozkládá pomalu a zvyšuje půdní kyselost (UHLÍŘOVÁ, KAPITOLA, 2004; POKORNÝ, 1963; ÚRADNÍČEK, 2003.)

Smrk je velmi citlivý na zvýšené koncentrace průmyslových imisí v ovzduší, zejména pak oxidu siřičitého. V okolí významných zdrojů znečištění dochází k závažným poškozením porostů. Imise celkově ovlivňují fyziologický stav smrku. Následkem jsou poté barevné změny jehličí, jejich předčasný opad a snížená odolnost vůči škodlivým organismům. Stromy smrku potřebují také dostatečnou výživu, dusík, fosfor, hořčík, sodík, vápník, draslík, bor, mangan, měď, molybden a zinek. Pokud je prvků nedostatek, jehličí se zbarvuje do žluta až žlutohněda a postupně opadá, růst koruny je zpo-

malený, protože letorosty buď vůbec nevyraší, nebo jsou krátké. Poškození se objevuje na minerálně chudých nebo extrémně kyselých půdách. Podobné příznaky má i poškození suchem. Jehličí žloutne a postupně opadává, hlavně ve vnitřní části koruny. Toto poškození se vyskytuje na extrémně suchých stanovištích po delším období bez srážek a při vyšších teplotách (UHLÍŘOVÁ, KAPITOLA, 2004; KOLAŘÍK a kol., 2010; STOLINA a kol., 2001).

2.3 Význam vody v rostlině

Voda je důležitým faktorem, který vstupuje do ekosystému a účastní se v něm všech hlavních pochodů spojených s koloběhem hmoty v ekosystému, vstupuje do potravních řetězců a veškerého metabolismu rostlin. Voda je základním prostředím, ve kterém mohou probíhat biochemické procesy a podílí se nejvíce ze všech látek na stavbě rostlinného těla. Pro některé rostliny je také jejich životním prostředím. Cytoplazma obsahuje v průměru 85-90 % vody, buněčné organely bohaté na lipidy, jako jsou mitochondrie a chloroplasty, obsahují kolem 50 % vody. Listy a jemné kořeny obsahují kolem 80 % vody, vodivá část dřeva asi 50 %, zvláště velké množství vody obsahují plody (85 až 95 % čerstvé hmotnosti). Nejméně vody obsahují zralá semena, obvykle 10-15 %. U rostlin i krátkodobý pokles množství vody v listech pod 60 % vede k nevratnému poškození pletiv až k smrti orgánu. U dřevin se obsah vody mění během dne (ve dne klesá, v noci se zvyšuje), během roku (nejvíce vody dřeviny obsahují ve vegetačním období), během jejich ontogenetického vývinu (stářím obsah vody klesá), jejich život je na existenci vody zcela vázán. Voda u jehličnanů umožňuje transport látek, vytváří prostředí pro veškeré biochemické reakce, funguje jako rozpouštědlo, zdroj iontů, termoregulátor (díky vysokým hodnotám výparného tepla chrání pletiva před důsledky prudkých teplotních změn), je součástí procesu fotosyntézy a médiem umožňujícím transport živin z půdy k fotosyntetickému aparátu. Utváří mechanickou oporu buněk a pomáhá při rozšiřování jehličnanů (SLAVÍKOVÁ, 1986; LARCHER, 1988; PROCHÁZKA a kol., 1998; ŠPINLEROVÁ, 2014).

V závislosti na schopnosti rostlin kompenzovat krátkodobé kolísání obsahu vody a přežívat ztrátu vody, je dělíme na rostliny poikilohydrické a homoiohydrické. Poikilohydrické rostliny (houby, některé řasy a lišejníky) přizpůsobují obsah vody vlhkosti okolí, při vyschnutí zmenší svůj objem a jejich životní funkce jsou potlačeny, aniž by docházelo k poškození protoplastu. Homoiohydrické rostliny, mezi které patří i stromy,

udržují obsah vody v určitých mezích vodou obsaženou ve vakuole, takže na cytoplazmu působí méně měnící se vnější podmínky. Přítomnost velké vakuoly ale vede ke ztrátě schopnosti buněk snášet vysušení. Proti vysušení se rostliny brání ochrannou kutikulou snižující výpar a regulací transpirace průduchy (LARCHER, 1988; KOLAŘÍK a kol., 2010).

Voda funguje v rostlině jako rozpouštědlo, umožňuje příjem, transport a metabolismus látek. Má termoregulační schopnost, schopnost výparu při různé teplotě, čímž stabilizuje teplotu rostliny a chrání ji proti přehřátí. Také poskytuje rostlině důležité prvky: vodík a kyslík a v tom smyslu je stavebním materiálem rostliny. Rostlina udržuje v jednotlivých částech svého těla určité množství vody a tím udržuje pevnost rostlinných pletiv, tvar orgánů i habitus celé rostliny. Voda je v rostlině v neustálém pohybu, podle poměru mezi příjmem a výdejem vody dochází k dosycování pletiv vodou nebo naopak ke vzniku vodního deficitu. Denní spotřeba vody rostlinou závisí na rostlinném druhu a faktorech vnějšího prostředí. Většina denní spotřeby vody rostlin je použita na transpiraci, k vlastním biochemickým procesům slouží pouze malá část (PROCHÁZKA, 2009; PENKA, 1985; KINCL, KRPEŠ, 2000).

Voda je také nezbytná pro zachování optimální hydratace základní cytoplazmy a průběh oxidoredukce přímo v procesu fotosyntézy. Hydratace listových pletiv reguluje rychlost difúze CO₂ mezi prostředím a intercelulárními prostory listového mezofylu, permeabilitu buněčných stěn i cytoplazmy pro CO₂, přímo či nepřímo rychlost enzymatických procesů, rozvádění asimilátů po celé rostlině, vedení iontů a ovlivňuje růst asimilační plochy rostliny. Při nedostatku vody rostliny uzavírají průduchy, čímž se druhotně narušuje výměna plynů mezi rostlinou a prostředím, zamezuje se přístupu CO₂ do listů, a proto se fotosyntéza zastavuje. Nedostatkem vody se snižuje příjem minerálních látek, snižuje se růst, a tím i celková asimilační plocha rostlin. Při přebytku vody v půdě trpí nedostatkem kyslíku kořeny rostlin a to se opět projeví snížením intenzity fotosyntézy (KINCL, KRPEŠ, 2000; SELLIN, 2000).

2.4 Příjem a transport vody

Zdrojem vody pro ekosystém, a tím i pro rostliny jsou hlavně atmosférické srážky, které dopadají vertikálně nejen ve formě kapalné, jako déšť, ale také ve formě tuhé, jako je sníh. Jako zdroj vody se uplatňují také horizontální (kondenzační) srážky, projevující

se ve formě mlhy a rosy. Rostliny bezcévné, jako např. bakterie, řasy, houby, lišejníky a mechy, mohou přijímat vodu celým svým povrchem. Terestrické cévnaté rostliny, které mají nadzemní části kryté kutikulou, přijímají vodu především kořeny z půdy. Jen u některých cévnatých rostlin se vyvinuly adaptace, které jim umožňují také příjem vodní páry ze vzduchu nasyceného vodní párou. U cévnatých rostlin je hlavním zdrojem vody dostupná půdní voda, obsažena v půdě ve skupenství plynném a kapalném. Kolik vody je rostlinám k dispozici, závisí nejen na absolutním obsahu vody v půdě, ale hlavně na tom, jakými silami je tato voda poutána na půdní částice. Dostupnost vody je tedy závislá na fyzikálních a chemických vlastnostech půdy, kdy fyzikální vlastnosti jsou určovány především texturou tj. zrnitostí půdy, která rozhoduje o vazbě srážkové vody, která se vsákne do půdy (SLAVÍKOVÁ, 1986; HINCKLEY, CEULEMANS, 1989; ÖRDÖG, MOLNÁR, 2011).

Kořeny jsou hlavním místem vstupu vody z vnějšího prostředí do rostliny. Přijímají vodu současně s rozpuštěnými minerálními látkami a rozvádějí jejich roztoky dřevní částí cévních svazků do celé rostliny. Vodné roztoky minerálních solí v rostlinách neustále proudí ve vzestupném proudu, zatímco sestupný proud asimilátů postupuje lýkovou částí cévních svazků. Neaktivnější zóna příjmu kořenů leží asi 10 až 50 mm od kořenové špičky, kde dochází k největší tvorbě kořenových vlásků. V této části kořene bývají dokonale vyvinuty vodivé elementy xylému. Příjem vody z půdy do kořenů je možný pouze za okolností, kdy je vodní potenciál půdního roztoku vyšší než vodní potenciál vody v kořenech. Rychlost příjmu vody závisí jednak na velikosti rozdílů vodních potenciálů, jednak na hydraulické vodivosti kořenových pletiv v radiálním směru, od epidermis ke xylému (PROCHÁZKA, 2009; KOZLOWSKI, 1972; KINCL, KRPEŠ, 2000).

Veškerý příjem vody do rostliny a její transport uvnitř rostliny je spojen s transportem přes biologické membrány. Podélný transport vody v rostlinách probíhá v největší míře ve specializovaných transportních pletivech, vodivé složky dřeva (xylému) tvoří u krytosemenných rostlin cévy (tracheje) a cévice (tracheidy), u nahosemenných pouze tracheidy. Transport vody probíhá od rhizodermis, přes primární kůru k cévním svazkům kořenového systému, z nichž je transportována do cévních svazků nadzemního systému, především stonku a listů. Obvykle se rozlišují tři teoretické možnosti pohybu vody v příčném směru: 1. apoplastická cesta, kdy voda nevstupuje do cytoplazmy, ale pohybuje se buněčnými stěnami a volnými mezibuněčnými prostory,

2. symplastická cesta, kdy voda vstupuje do cytoplazmy již v epidermis a pokračuje v dalším pohybu v symplastu, 3. vakuolární cesta, při které voda vstupuje do cytoplazmy a posléze do vakuoly. U dřevin probíhají dva vzájemně související koloběhy vody – koloběh vody v buňce (malý koloběh) a koloběh vody v celé rostlině (velký koloběh). Malý koloběh udržuje kontinuální výměnu látek v buňce, velký je zajišťován transpiračním a asimilačním proudem (PENKA, 1985; LARCHER, 1988; KOLAŘÍK a kol., 2010; PROCHÁZKA, 2009).

Dostupnost půdní vody pro kořeny rostlin je dvojího druhu – statická a dynamická. Statická dostupnost určuje, jak je voda v půdě vázaná, což je dáno hodnotou jejího vodního potenciálu. Pojem dynamická dostupnost vody v půdě vychází ze skutečnosti, že tok vody z půdy do kořene nezávisí jen na rozdílu vodních potenciálů, ale i na odporu, který je tomuto toku v půdě kladen na rozhraní půdy a kořenů, a na velikosti aktivního povrchu kořenů (SLAVÍKOVÁ, 1986).

2.4.1 Vodní potenciál, voda v půdním prostředí

Vodní potenciál (ψ) vyjadřuje stav vody pomocí její volné energie a rozhoduje o jejím pohybu, vyjadřuje míru hydratace čili schopnost buňky nasávat vodu. Čistá a fyzikálně nevázaná voda má maximální vodní potenciál – nulový. Vodní potenciál je obvykle snižován vazbou vody, především vazbou vody látkami v ní rozpuštěnými (osmotická složka vodního potenciálu) nebo vazbou vodních molekul různými silami především na povrchu pevné fáze (matriční složka vodního potenciálu). Naopak tlak vodní potenciál zvyšuje (tlaková složka vodního potenciálu). Vodní potenciál buněk je dán rozdílem osmotického potenciálu buněčné šťávy vakuoly a protitlaku buněčné stěny. Je závislý na podmínkách prostředí, mění se především v závislosti na půdní vlhkosti. Čím je stanoviště sušší, tím bývá vodní potenciál buněk nižší. Mění se také během dne, za poledne se snižuje, pak stoupá, mění se i podle postavení pletiv ke světovým stranám (SLAVÍKOVÁ, 1986; KOZLOWSKI, 1968; KINCL, KRPEŠ, 2000).

Vodní potenciál se vyjadřuje v jednotkách energie na hmotnost vody ($\text{J}\cdot\text{kg}^{-1}$) nebo v jednotkách tlaku (Pa). Vodním potenciálem vyjádřený stav vody rozhoduje o tom, kterým směrem se voda pohybuje. Voda se vždy transportuje z místa vyššího (tj. méně negativního) vodního potenciálu na místo nižšího vodního potenciálu. Transport vody

mezi půdou a kořenem rostliny je tedy určován spádem (gradientem) vodního potenciálu (SLAVÍKOVÁ, 1986; KOZLOWSKI, 1968).

Čím větší je povrch kořenového systému, tím rychleji dokážou kořeny vodu přijímat. Naopak příjem vody kořeny rostlin se snižuje v případě, že vodní potenciál směřuje k hodnotě bodu vadnutí. Bod trvalého vadnutí je takové množství vody, při němž rostlina trvale vadne, tj. není schopna vodu opět přijímat a obnovit svůj turgor. Rostlina s charakteristickou zásobou vody má charakteristické hodnoty vodního potenciálu listů před východem slunce cca do -0,5 MPa. O silný stres se jedná při hodnotách pod -1,5 (-2) MPa. Při dlouhotrvajícím vodním potenciálu nižším než -2,5 MPa většinou dochází k odumírání rostlin (GEBAUER a kol., 2010; SLAVÍKOVÁ, 1986).

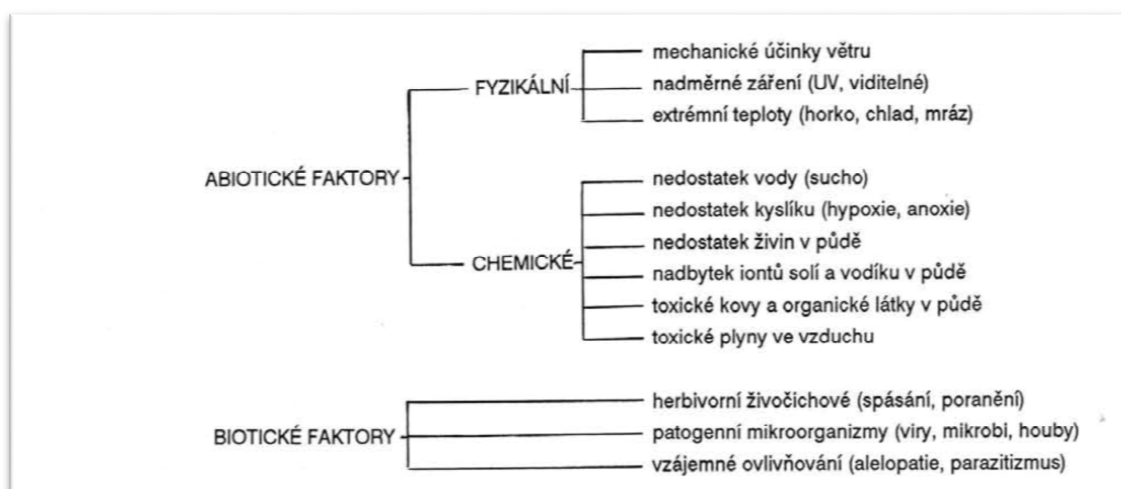
2.5 Stres u rostlin

Rostliny jsou během svého života vystavovány proměnlivým podmínkám prostředí. Ty mohou zpomalovat jejich životní funkce, poškozovat jednotlivé orgány a v krajním případě vést až k jejich uhynutí. Ke změnám morfologie a funkcí organismů nedochází pouze pod vlivem proměnlivého prostředí, ale někdy i v optimálních podmínkách např. u některých genetických mutací. Každý rostlinný druh toleruje určité rozpětí jednotlivých faktorů a interval mezi minimální a maximální tolerovanou hodnotou nazýváme ekologickou valencí faktoru. Optimum je taková hodnota faktoru, při které se organismus vyvíjí nejlépe. Koncept pokusů posuzujících dopad stresu vždy zahrnuje měření určitého fyziologického jevu rostlinných druhů v suboptimálních stresových podmínkách ve srovnání s měřením téhož fyziologického jevu za optimálních podmínek u těch samých druhů rostlin (PROCHÁZKA a kol., 1998; BLÁHA a kol., 2003; ÖRDÖG, MOLNÁR, 2011).

2.5.1 Stresové faktory a obrana rostlin proti stresu

Nepříznivé vlivy vnějšího prostředí závažně ohrožující rostlinu jsou označovány jako stresové faktory (stresory). Ty se dělí na abiotické a biotické faktory (obr. 1). Mezi abiotické faktory patří např. mechanické poškození sněhem a námrazou, nárazovými povětrnostními vlivy, poškození suchem, poškození pozdním přízemním mrazem, imisemi, zimní transpirací, nedostatek základních živin, šok z přesazení, poškození přízemním ozonem. Mezi biotické faktory patří bezobratlí živočichové (hmyzí škůdci),

obratlovci a houbové a jiné choroby. Častými biotickými houbovými původci poškození u smrku jsou např. kořenovník vrstevnatý (hniloby), václavka smrková, plíseň šedá nebo sypavka smrková. Mezi hmyzí škůdce napadající smrky patří bekyně mniška, ploskohřbetka smrková, pilatka smrková, obaleč modřínový, obaleč smrkový a klikoroh borový, kteří škodí žírem, dále sviluška smrková, která poškozují smrk sáním a lýkožrouti – lýkožrout smrkový, lýkožrout lesklý. Rostliny narozdíl od živočichů žijí přisedlým způsobem života, který jim neumožňuje únik před působením stresorů (PROCHÁZKA a kol., 1998; OSAKABE, 2011; UHLÍŘOVÁ, KAPITOLA, 2004; ČERNÝ, 1976; KRÍSTEK, URBAN, 2013).

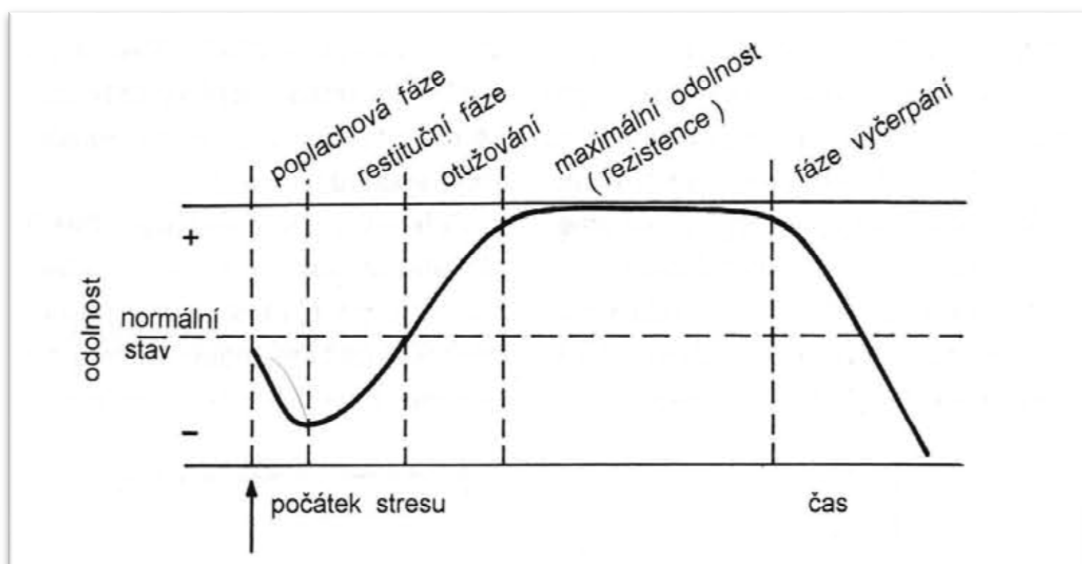


Obr. 1: Rozdělení stresových faktorů (PROCHÁZKA a kol., 1998)

Výzkum vztahů mezi stresem a vnějším prostředím obvykle začíná studiem přenosu podnětů vyvolávajících stres na rozhraní orgánů rostliny a vnějšího prostředí a dále přenosem signálu uvnitř rostliny. Proces narušení a hledání nové rovnováhy se u rostlin odehrává na úrovni buněčných membrán a organel, týká se jednotlivých buněk, jednotlivých pletiv (především systémů meristemických, fotosyntetických a vodivých), jednotlivých orgánů až nadorganových systémů, nakonec se týká i celých jedinců, tj. autonomních prvků v ekosystému. Stresové faktory pronikají do vnitřního prostředí rostlin různých druhů nesterjně snadno, a to především díky různě vyvinutým ochranným strukturám. Tento způsob ochrany má především pasivní a dlouhodobý charakter, jedná se např. o tlustou kutikulu na listech, výraznou impregnaci buněčných stěn apod. Jde vlastně o schopnost vyhnout se stresu a přispívají k němu také vhodně načasované životní cykly (PROCHÁZKA a kol., 1998; KOLAŘÍK a kol., 2010).

Z fyziologického hlediska jsou zajímavější mechanismy adaptace, která znamená přizpůsobení citlivé struktury tak, že snese účinek stresoru – jde o dosažení tolerance, a

aktivní odolnosti (stress tolerance), které omezují negativní dopad stresorů až poté, co proniknou k plazmatické membráně buněk a do symplastu. Odolnost vůči určité míře účinku vede k dosažení rezistence. Při stresové odpovědi dochází ke spuštění řetězce změn, označovaném jako stresová reakce. Bezprostředně po začátku působení stresového faktoru dochází k narušení buněčných struktur a životních funkcí rostliny – poplachová fáze, při které se zastavují všechny dosavadní funkce, zejména syntézy nejrůznějších látek a zastavuje se růst. Části, které jsou zasažené, intenzivně dýchají a rozkládají dosavadní struktury, katabolismus převládá nad anabolismem. Záhy dochází k mobilizaci kompenzačních mechanismů, syntéze bílkovin a ochranných látek, příp. náhradě starých částí novým růstem (restituční fáze) – za předpokladu, že intenzita působení stresoru nepřekračuje letální úroveň. Na stresory, které se pravidelně opakovaly během fylogenie taxonu, reagují některé rostliny, např. dřeviny s předstihem, tzv. fází otužování (aklimace). Během této fáze jsou nahrazovány např. osmotika, složky buněčných membrán, je omezována volná voda, která by mohla zmrznout v ledové krystaly apod. Kompenzační mechanismy směřují ke zvýšení odolnosti rostliny vůči působícím faktorům (fáze rezistence). Při dlouhodobém a intenzivním působení stresového faktoru může být tato fáze vystřídána dalším poklesem (fáze vyčerpání) a chronickým poškozením (obr. 2). (PROCHÁZKA a kol., 1998; KOLAŘÍK a kol., 2010; ÖRDÖG, MOLNÁR, 2011).



Obr. 2: Průběh stresové reakce (PROCHÁZKA a kol., 1998)

Výsledkem stresové reakce je určitá úroveň adaptační schopnosti. Procesem aklimace může být přechodně zvýšena i úroveň odolnosti vůči abiotickým faktorům. Během

tohoto období rostliny obvykle reagují na stres změnou fyziologických procesů v krátkodobém i dlouhodobém hledisku. Krátkodobé procesy podléjící se na aklimaci mohou být zahájeny během sekund nebo minut po expozici stresem, ale bývají přechodné. To znamená, že i když tyto procesy mohou být detekovány velmi brzy po začátku stresu, jejich aktivity také poměrně rychle mizí. Naproti tomu dlouhodobé procesy jsou méně přechodné, a tak obvykle vykazují delší životnost. Životnost těchto procesů se v čase překrývá tak, že krátkodobé procesy představují prvotní reakci na stres, zatímco dlouhodobé procesy jsou zjištěny později v procesu aklimace. Aklimace obvykle zahrnuje diferenciální expresi specifických sad genů spojených s expozicí vůči konkrétnímu stresu. Schopnost regulovat expresi genů v reakci na životní prostředí v čase je základem rostlinné plasticity (genotypová plasticita). Kromě genetických změn mohou jednotlivé rostliny také vykazovat fenotypovou plasticitu, tedy mohou reagovat na výkyvy prostředí přímou změnou své morfologie a fyziologie (ÖRDÖG, MOLNÁR, 2011; BLÁHA a kol., 2003; KOLAŘÍK a kol., 2010).

Řada rostlin se dokáže vyhnout působení stresů, většinou se však pokouší o nastolení tolerance vůči stresu. Negativní abiotické a biotické stresory se mohou uplatňovat vnitrodruhově mezi rostlinami stejného druhu nebo mezidruhově mezi rostlinou a ostatními organismy. Působení biotických stresorů bývá zesilováno abiotickými faktory a naopak. Výsledkem je oslabená rostlina s méně kvalitním semenem, stresory se tak negativně projevují i v životních pochodech rostlin následující generace, přestože již původní negativní vlivy přímo nepůsobí (BLÁHA a kol., 2003; KOLAŘÍK a kol., 2010).

Pokud proměnlivost negativních faktorů vnějšího prostředí překročí určitou mez (tolerance rostliny), lze hovořit o stresu rostliny, což znamená, že se objeví poruchy struktur jednotlivých funkcí a následně i orgánů rostliny. Stres je tedy definicí stavu, ve kterém se rostliny nachází pod vlivem stresorů. Z hlediska obecně biologického působí stresor na různých úrovních rostliny i v různých časových dimenzích. Veškeré biologické regulace adaptací rostlin ve stresových podmínkách se konají vždy na molekulární úrovni. Co je pro jeden druh stresovým prostředím, může být naprosto přirozeným prostředím pro jiný druh (BLÁHA a kol., 2003; KOLAŘÍK a kol., 2010).

Řada stresových reakcí je nescifická, na úrovni buněk se mění aktivita enzymů (reduktáz, peroxidáz), dále dochází k biosyntéze polyaminů a antioxidantů, změně typu a obsahu osmotik, syntéze sekundárních látek, syntéze stresových hormonů, změny vlastností membrán, zvýšení dýchání a snížení fotosyntézy. Výsledkem změny vztahu

mezi respirací a fotosyntézou je vyčerpání organismu a nedostatek okamžité dostupné energie. Je snížena produkce biomasy, dochází k růstovým nepravidlostem, snižuje se i plodnost a dřevina předčasně stárne – zvyšuje podíl nekromasy, neboli odumřelé hmoty koruny, kmene a kořenů. Vnitřní faktory, jenž rozhodují o odolnosti nebo citlivosti dřevin vůči danému stresoru jsou taxon a příslušnost k ekoelementu (druh stinný, polostinný apod.), fáze ontogenie a fáze klidu, resp. fáze plné vegetační aktivity. Vůči stresovým faktorům jsou dřeviny velmi citlivé v mladších ontogenických fázích (např. fáze klíčící rostliny, juvenilní, virginální, fáze mladší dospělosti), zároveň se v těchto fázích nejlépe adaptují na své prostředí. Od fáze pozdní dospělosti dřeviny se její adaptabilita snižuje a citlivost vůči střídání a častému výskytu stresorů se zvyšuje (KOLAŘÍK a kol., 2010).

Kořeny jsou ovlivňovány stresory stejně jako ostatní části rostliny. Za nepříznivých podmínek dochází u kořenového systému ke změnám v příjmu živin. Zásobní látky se přesouvají z nadzemních částí rostliny a jsou pak využívány ke tvorbě nových kořenů. Vlivem stresorů se mění i jednotlivé znaky kořenů, které jsou často pro daný typ stresoru typické. Tyto změny pak mohou u citlivějších odrůd ovlivňovat vlastnosti semen. Ta jsou obvykle méně životaschopná, často se změnami anatomické stavby, především v části oplodí a osemení, ale také v embryonální části se sníženým množstvím naakumulované energie. Změna vlastností semen, která jsou pod vlivem negativních vnějších podmínek, má za následek změnu fyziologických funkcí u rostlin následné generace. Mění se také poměr kořenů a nadzemní části rostliny (BLÁHA a kol., 2003; KOLAŘÍK a kol., 2010).

Obecně lze říci, že existují společné obranné reakce u rostlin, jako je tvorba stresových fytohormonů, stresových proteinů a osmoregulačních sloučenin s ochrannou funkcí, které vznikají nebo se aktivují při působení abiotických a biotických stresorů. Vytváří se např. aktivní kyslík s antimikrobiálními účinky (peroxid vodíku s kyselinou salicylovou indukuje tvorbu některých stresových proteinů) a mnoho dalších obecně platných či zcela specifických způsobů obrany (BLÁHA a kol., 2003; ÖRDÖG, MOLNÁR, 2011).

2.5.2 Půdní prostředí jako stresor

Půda je přírodním útvarům, který je představován systémem minerálních látek tvořeným za účasti klimatu, povětrnostních vlivů a živých organismů, zvětráváním geologického substrátu z povrchových zvětralin zemské kůry a organických zbytků. Jedná se o velice složitý komplex anorganických a organických součástí přírody. Vzájemným působením jednotlivých složek je dáno složení, struktura a vlastnosti půdy. V půdě se vyskytuje celá řada prvků, které pocházejí z matečné horniny. Ty, které rostlina využívá pro svoji výživu ve větším množství, označujeme jako makrobiogenní prvky, ionty prvků, které rostlina potřebuje ke svému životu pouze ve stopových množstvích, jsou mikrobiogenní prvky. Prvky, které rostliny využívají ve velmi nízkých koncentracích, se nazývají ultramikroelementy (BLÁHA a kol., 2003; LARCHER, 1988; WWW 1).

Pro zdárně rostoucí a rozmnožující se rostlinu je nezbytné, aby byly živiny v půdě v optimálním poměru a ve formě pro ni vhodné. Kontrastní hladina živin je samostatnou vědní disciplínou. Mimořádné předávkování živinami má za následek podobné efekty jako zasolení. Oproti tomu nedostatek živin se projevuje tím, že limitujícím faktorem pro rostlinu je vždy ten prvek, který je minimálně dostupný, jak vyplývá z Liebigova zákona minima. Důležitým faktorem je vliv extrémních živin na metabolismus rostliny. Živiny patří mezi nejdůležitější faktory vnějšího prostředí, které formují dřeviny a určují jejich vitalitu (ČERNÝ, 1976; BLÁHA a kol., 2003).

Na minerální výživu mají vliv různé faktory, většinou se jedná o účinné faktory, teplotu, přítomnost vody, světlo apod. Zvyšující se teplota zrychluje rychlost příjmu živin, dosáhne-li však teplota půdy 40 °C, příjem živin se snižuje a poté se zastavuje v důsledku postupné inaktivace enzymatických systémů účastnících se příjmu živin. Snížení teploty do 0 °C vede ke snížení příjmu vody i živin. Světlo působí na příjem živin nepřímo, tj. prostřednictvím procesu fotosyntézy a s ní související tvorby sloučenin ATP, jež jsou energeticky bohaté. Kromě toho je světlem ovlivňována transpirace a tím je urychlováno pasivní nasávání vody a transport vody xylémem. Nedostatek světla příjem živin snižuje. Koncentrace O₂ a CO₂ ovlivňují příjem živin skrze procesy respirace a fotosyntézy, nedostatek kyslíku vede ke snížení respirace a tím i snížení aktivního příjmu živin, nedostatek CO₂ brzdí fotosyntézu, snižuje tvorbu sloučenin bohatých na energii a tím také snižuje příjem živin (PROCHÁZKA a kol., 2009; BLÁHA a kol., 2003).

K nepříznivému poměru mezi O_2 a CO_2 dochází při nevhodné agrotechnice, na půdách slabě provzdušněných, půdách zatopených vodou. Přístupnost a příjem iontů pro rostliny ovlivňuje vlhkost půdy, v suchých půdách dochází ke snížení přístupnosti živin, zeslabuje se růst kořenů a jejich absorpční povrch. Škodlivě může působit naopak i nadbytečná vláha. Existují mnohé vazby mezi komplexy procesů, např. fotosyntézou a metabolismem minerálních živin. Vysoká intenzita fotosyntézy se obvykle odráží i ve vysokém příjmu živin. Příjem a metabolismus živin souvisí s rostlinným růstem a vývojem rostlin. Příjem živin je ovlivňován metabolickou aktivitou buněk, symbiotickými jevy, mykorhizou, genetickými vlastnostmi organismu apod. (PROCHÁZKA, 2009; KOLAŘÍK a kol., 2010).

Uhlík, kyslík a vodík jsou prvky zásadní důležitosti s velkým množstvím funkcí. Uhlík svými vazebnými vlastnostmi zprostředkuje tvorbu biopolymerů. Je také konečným akceptorem elektronů v cukerném metabolismu při redukci trióz. Procesy, kde je napojen kyslík, se dají považovat za evolučně mladší, např. citrátový cyklus a tok elektronů v mitochondriální membráně s konečným akceptorem elektronů – kyslíkem. Vodík je využíván při hydrogenačních a dehydrogenačních pochodech, při redukci látek, přenosu energie a mnohých jiných (PROCHÁZKA, 2009; LARCHER, 1988).

Dusík je zastoupen v přírodě především jako plynný N_2 , ten je však rostlinám nepřístupný, jedině v symbióze s některými bakteriemi či aktinomycetami může být některými druhy rostlin z čeledi *Fabaceae* využit. Rostlina získává dusík ve formě NO_3^- nebo NH_4^+ iontů z různých látek. Dusík má nenahraditelnou úlohu v metabolismu mnoha biopolymerů – aminů, bílkovin, amidů, růstových látek, pigmentů aj., je základní složkou protoplazmy a enzymů. Je znám jako spolutvůrce biomasy, často rozhoduje o její kvantitě a kvalitě. Nedostatek se projevuje chřadnutím rostliny, chlorózou (blednutím), zakrslým nebo trpasličím vzrůstem, větvenovitým tvarem rostliny, poměr nadzemních prýtů ke kořenům je posunut ve prospěch kořenů a objevuje se také žloutnutí listů (žlutozelená barva jehlic). Nedostatkem dusíku trpí dřeviny nejčastěji na písčitých, hlinito-písčitých a písčito-hlinitých půdách, neboť mají nízký obsah organických látek a jejich zvýšená kyselost brání nitrifikačním procesům v půdě (PROCHÁZKA, 2007; LARCHER, 1988; ČERNÝ, 1976; BLÁHA a kol., 2003; ŠEBÁNEK a kol., 1989).

Fosfor je rostlinami přijímán jako aniont, je především sorbován jako ortofosfát $H_2PO_4^-$ nebo HPO_4^{2-} . V půdě je zastoupen minimálně, také v rostlině může jeho množství kolísat. Jakmile po napojení na substrát (cukr) skončí jeho funkce, je ihned odpojen

a může být znovu využit. Fosfor je vázán na nukleotidy (ADP, AMP) nebo na cukry. Je rychle přesouván a nikdy nemění svoji molekulovou strukturu. Je základním prvkem pro přenos a uchování energie, z čehož vyplývá i jeho účast ve fotosyntéze a dýchání. Mimo to je zastoupen i v nukleových kyselinách, v membráně aj. Jeho nedostatek se projevuje nižším růstem a hlavně tím, že rostlina nekvete a neplodí, je tedy škodlivý zvláště v období tvorby generativních orgánů. Nedostatek způsobuje tmavě zelené nebo bronzově fialové zbarvené listů, u jehličnanů zasychání špiček jehlic, nadměrné hromadění chlorofylu v listech a jehlicích a prodloužení vegetační doby. Je-li fosfor v nadbytku oproti draslíku a dusíku, zvyšuje odolnost dřevin vůči chorobám. Poruchy z nedostatku fosforu se mohou vyskytovat na všech typech půd, ale především na sušších půdách s kyselou reakcí (PROCHÁZKA, 2009; LARCHER, 1988; ČERNÝ, 1976; BLÁHA a kol., 2003).

Síra se vyskytuje v přírodě v četných sloučeninách a je rostlinami sorbována jako sulfát SO_4^{2-} . Prvními sloučeninami jsou adenosin-5-fosfosulfát (APS) a 3-fosfoadenosin-5-fosfosulfát (PAPS). Sulfát je redukován a první funkční sloučeninou je cystein, z něho dále vznikají cystin, glutation, koenzym A a metionin. Síra tvoří vysoce energeticky bohaté vazby, které jsou směnitelné za ATP. Tvorba vazeb S-S má velký vliv na oxidoredukční potenciál buňky, síra v některých rodech rostlin vstupuje do sekundárních metabolitů a je součástí hořčičných silic, glykosidů aj. s charakteristickou vůní a funkcí. Příznaky nedostatku jsou podobné jako při nedostatku dusíku, objevuje se mezižeberní chloróza mladých listů (PROCHÁZKA, 2009; LARCHER, 1988; WWW 1).

Draslík je v přírodě bohatě zastoupen. Je přijímán jako K^+ iont, je neobyčejně pohyblivý, což mu umožňuje vysokou účast v osmotických procesech buňky. Pro většinu rostlin je tato funkce nahraditelná iontem Na^+ , avšak v katalytických funkcích je draslík nenahraditelný. Účastní se především cukerného metabolismu, zvyšuje hydrataci koloidů, působí stimulačně během tvorby chlorofylů přes efektivnější využití Fe. Celkem je známo asi 60 míst v metabolismu, kde draslík funguje jako kofaktor. Zvláště významná je jeho funkce jako osmotika v regulaci otevírání a zavírání průduchů. Jeho nedostatky se projevují poruchami vodní bilance, zvlněnými okraji starších listů, předčasným opadem starých ročníků jehlic u jehličnanů a kořenovou hnilobou. Nedostatek draslíku se zpravidla vyskytuje na půdách bohatých na vápník a hořčík, neboť hořčík brzdí přijímání draslíku. Zevní příznaky z nedostatku draslíku se projevují v závislosti na klimatic-

kých podmínkách, objevují se obvykle po delším období horkého a suchého počasí (PROCHÁZKA, 2009; LARCHER, 1988; ČERNÝ, 1976; BLÁHA a kol., 2003).

Vápník může v půdním roztoku vystupovat jako dominantní prvek, např. jako uhličitán vápenatý. Může být i v jiných formách, v aridních oblastech například jako síran vápenatý. Vápník je značně nepohyblivým prvkem, je přijímán aktivně jako Ca^{2+} , radiální transport vede většinou apoplastem. Je funkčně spojen s permeabilitou plazmalemy i dalších membrán. Je zapojen do řady metabolických procesů, při tvorbě pektinů se např. napojuje na kyselinu tetragalakturonovou. Jeho nedostatek se velmi rychle projeví zastavením růstu a černáním vegetačních vrcholů. Dalšími příznaky nedostatku jsou poruchy při dělivém růstu, deformace listů a zbrzděný růst kořenů. Přebytek vápníku může vyvolat chlorózu, znesnadňuje přijímání jiných živin, zejména fosforu a draslíku (PROCHÁZKA, 2009; LARCHER, 1988; ČERNÝ, 1976; BLÁHA a kol., 2003).

Potřeba vápníku u dřevin se začíná projevovat již v nejranějším stádiu vývoje, tj. v době klíčení semen. Při velkém nedostatku vápníku klíčící dřeviny začínají strádat dříve, než jsou vyčerpány zásoby ze semene a může to vést až k hynutí rostlin. Vápník má velký význam při vyrovnávání fyziologické rovnováhy půdního roztoku v případech, kdy jednostranně převládají různé kationty. Odstraňuje škodlivý účinek prvků zvyšujících kyselost v živném prostředí a umožňuje tak rostlinám snazší příjem živin. Přítomnost iontů vápníku v půdním roztoku je především v kyselém prostředí nezbytná pro normální růst kořenů. V životě rostlin má dále význam jako detoxikant produktů látkové výměny, především kyseliny šťavelové. Chybí-li vápník, je kyselina šťavelová vázána jen na draslík a nahromadí-li se šťavelan draselný, působí na rostliny jedovatě. Vápník má také vliv na zlepšení fyzikálních vlastností půdy, omezuje rozvoj škodlivých půdních mikroorganismů apod. (PROCHÁZKA, 2009; LARCHER, 1988; ČERNÝ, 1976; BLÁHA a kol., 2003; BAUDYŠ a kol., 1959).

Hořčík je aktivně přijímán jako Mg^{2+} ze sulfátů. Jeho funkce jsou mimo jiné významné v chlorofylu, v aktivaci řady enzymů a ve vzniku vápenatohořečnatých solí kyseliny tetragalakturonové. Také se účastní katalýzy při syntéze ATP. Nedostatek se projevuje tvorbou chlorotických listů a zakrslým vzrůstem. Nedostatek hořčíku se v první řadě projevuje na starších částech rostliny. U borovice lesní žloutnou při nedostatku hořčíku špičky jehlic. Při vyloučení či při velkém nedostatku hořčíku se jednoleté semenáčky borovice lesní vyvíjí lépe než při vyloučení nebo nedostatku fosforu. Na podzim se již zdálo objevuje nápadné pestré zbarvení jehlic. Špičky mají světle oranžo-

vou barvu, ve středu přechází barva v červenou a pak teprve v normální zeleň na spodní části jehlic. V oranžově žlutých jehlicích byl chemickými rozbory zjištěn nápadný úbytek obsahu hořčíku (PŘÍHODA, 1959; PROCHÁZKA, 2009; LARCHER, 1988; ČERNÝ, 1976; BLÁHA a kol., 2003).

Železo se v půdě vyskytuje v četných sloučeninách, sorpce však není nikdy snadná. Je značně závislá na obsahu kyslíku v půdě i na sloučenině Fe. Železo je katalyzátorem syntézy chlorofylu, součástí oxidoredukčních systémů a enzymů např. ferredoxinu, cytochromů aj. Je-li jeho příjem či transport blokován, dochází k intenzivní chloróze rostlin, v extrémních případech k bílému zbarvení mladých listů (žilnatina zelená) a potlačené tvorbě apikálních pupenů (PROCHÁZKA, 2009; LARCHER, 1988; ČERNÝ, 1976; BLÁHA a kol., 2003).

Mikrobiogenní prvky jsou vesměs zabudovány jako kofaktory v enzymatických či jiných systémech a jsou nenahraditelné. Mangan je funkčně vázán na energetiku fotosyntézy, ve fotosystému II, je zapojen v tvorbě bílkovin a ve spojení ribozomálních subjednotek. Nedostatek vyvolává skvrnitou či pruhovitou chlorózu a nekrózu mladých listů, inhibuje růst a způsobuje opad listů. Měď je napojena v oxidoredukčních systémech, má vliv na stabilizaci chlorofylu při fotosyntéze. Nedostatek se projevuje zasycháním vrcholků, zkroucenými listy a chlorotickými skvrnami na mladých listech. Kobalt byl prokázán při fixaci vzdušného dusíku a má vliv na stabilizaci chlorofylů. Zinek, bór a další mikroelementy jsou nutné v nejmenším množství vesměs jako stimulatory některých specifických procesů, např. syntézy auxinu, odstraňují nebo zabraňují vzniku nemocí (PROCHÁZKA, 2009; LARCHER, 1988; ČERNÝ, 1976; BLÁHA a kol., 2003).

Rostlinné živiny jsou v půdě obsaženy buď vázané, nebo v roztoku. V půdním roztoku je rozpuštěn jen nepatrný podíl (méně než 0,2 %) celkové půdní zásoby živin, asi 98 % biogenních prvků, které jsou obsaženy v půdě, je uloženo v opadu, humusu a těžko rozpustných anorganických sloučeninách, nebo zabudováno v minerálech. Ty tvoří živinovou zásobu, která se stává pro rostliny přístupnou velmi pomalu, tím jak zvětrávají nerosty a mineralizuje se humus. Zbývající 2 % živin jsou navázána na půdní koloidy (LARCHER, 1988).

2.5.3 Stres ze sucha

Sucho je všeobecně definované jako nedostatek vody. Další definice rozlišují mnoho druhů sucha, např. meteorologické, hydrologické, zemědělské, socioekonomické, půdohospodářské, fyziologické a další. Sucho by se dalo nejlépe definovat jako komplexní přírodní jev, projevující se nedostatkem srážek a následně sníženým obsahem vody v půdě, kdy se evapotranspirace vyrovnává se srážkami. Se sníženým obsahem vody v půdě je spojen snížený obsah vody v rostlině, který následně limituje růst a negativně ovlivňuje produkci biomasy. Tato definice odpovídá definici fyziologického sucha, která je pro tuto práci nejvhodnější. Z biologického hlediska můžeme rozlišit sucho na půdní a atmosférické. Sucho atmosférické je charakteristické vysokou teplotou a relativně malou vlhkostí vzduchu, půdní sucho je charakterizováno nízkým obsahem fyziologicky dostupné vody v půdě. Příčinou nedostatku vody pro rostliny jsou klimatické poměry a průběh počasí, vlastní příjem vody rostlinou je závislý na obsahu živin a solí v půdě i na půdní reakci, přičemž stres ze sucha ovlivňuje často též zasolení. Sucho je nejvíce limitující stresor pro rostliny, zpomaluje jejich růst a snižuje aktivitu enzymů v rostlině (BLÁHA a kol., 2003; ELIÁŠ, 2014; NOVÁK, 2014; PENKA, 1985).

U dřevin rozlišujeme přísušek, což je akutní nedostatek vody způsobený nerovnoměrnou distribucí srážek v průběhu roku a sucho, tj. dlouhodobější chronický nedostatek. Nejškodlivější vliv má přísušek v období tvorby asimilačních orgánů a maximálního růstu, tedy v jarním období (duben-květen) a dále na konci léta, kdy se tvoří rezervní látky pro periodu zimního klidu. Poškození dřevin suchem může mít akutní a chronický charakter. Při akutním vadnou a usychají výhonky, listy, jehlice, květy či plody, poškozují se kořeny. Chronický charakter vede v poklesu přírůstku. Oslabené stromy jsou častěji napadány kamboxylofágy, dřevními houbami, ve zvětšené míře se uplatňují některé patogeny listových pletiv (KOLAŘÍK a kol., 2010; STOLINA a kol., 2000).

Při působení stresu ze sucha se snižuje především růst a fotosyntéza. Důležitou funkcí vody je udržování turgidity, turgor má u rostlin hlavní úlohu při růstu a prodlužování buněk, další důležitá funkce je při otevírání průduchů, pohybů listů a květních obalů. Při snižování turgoru dochází nejdříve k redukci prodlužování listů, teprve později k redukci fotosyntézy, z čehož plyne, že růst je na snižování turgoru citlivější než fotosyntéza. Růst začíná tím, že se zvětšuje objem buňky absorpcí vody do vakuol a zvětšuje se plocha povrchu buněčné stěny. Nedostatek vody způsobuje inhibici dlouhého růstu ve fázi tzv. plošného růstu buněčných stěn, kdy na primární buněčné stěně

probíhá proces ukládání nových stavebních látek mezi staré (BLÁHA a kol., 2003; ŠPINLEROVÁ, 2014; YORDANOV a kol., 2003).

Měřitelné zpomalení růstu nastává již při velmi malých ztrátách vody, kdy klesne turgor jen o 0,1-0,2 MPa, růst se zastaví úplně při poklesu turgoru na -0,3 až -0,4 MPa. U nově se vyvíjející buňky se při nedostatku vody méně rozpínají buněčné stěny a velikost buňky je menší. Klesá-li vodní potenciál dále zhruba na -0,2 až -0,8MPa, tak dochází k rychlým změnám aktivity enzymů, snižuje se aktivita enzymů nitrátreduktázy, stoupá činnost alfaamylázy, hydrolázy, ribonukleázy, zpomaluje se buněčné dělení a snižuje se syntéza cytokininů a proteinů. Při poklesu vodního potenciálu k hodnotám -1 MPa dochází k tvorbě aminokyseliny prolinu, alkoholů, cukrů a dalších látek. Pokud nedostatek vody pokračuje, tak se začínají projevovat další metabolické změny, především u transportních pochodů v buňce a fotosyntézy (BLÁHA a kol., 2003; PROCHÁZKA a kol., 1998; ŠPINLEROVÁ, 2014).

Nedostatek vody u vyšších rostlin ovlivňuje hlavně průduchy, jejich uzavírání zpomaluje výměnu CO₂. Fotosyntéza může být limitována stomatální a nestomatální inhibicí. Rostlina reaguje na nedostatek vody tvorbou látek, které zvyšují osmotický tlak v buňkách. Zvyšuje se koncentrace kyseliny abscisové (ABA) v listech a to má za následek zavírání průduchů rostlin. ABA patří také k významným mediátorům exprese pro stresové proteiny. Zavíráním průduchů je omezena výměna plynů, a tím se snižuje rychlost fotosyntézy i dýchání. Při postupném vysychání se snižuje hydratace protoplazmy a tím je snížena i fotosyntetická kapacita. Příjem CO₂ dosahuje standardních rychlostí pouze v úzkém rozsahu dostatečného zásobování vodou, mimo tento rozsah příjem CO₂ klesá a nakonec se zastaví (BLÁHA a kol., 2003; PROCHÁZKA a kol., 1998; CHRISTMANN, 1995).

S rychlostí fotosyntézy má souvislost i transpirace. Pokud je množství vody, která se vypaří větší než množství srážek, pak nastává postupně sucho. V případě, že není k dispozici dostatek srážek, začnou rostliny omezovat otevírání průduchů a zkracují dobu jejich otevření. Na začátku stresu se transpirace snižuje v poledních hodinách s pozdějším opětovným obnovením, při pokračujícím nedostatku vody se opětovné odpolední zvýšení transpirace přestává objevovat, ještě později se průduchy otevírají jen ráno, při relativním ochlazení. Nakonec zcela ustává průduchová transpirace a rostliny transpirují pouze kutikulárně a peridermálně. Nejúčinněji snižují transpiraci CAM rostliny, jejich průduchy jsou v období sucha zcela uzavřeny po celý den, otevírají se jen

v noci (BLÁHA a kol., 2003; GREGOROVÁ a kol., 2006; LARCHER, 1988; SELLIN, 2001).

Pro stromy je charakteristická polední deprese rychlosti transpirace v jasných dnech. Transpirace není omezená ve všech částech koruny stromů stejně. Nejdříve se snižuje v zastíněných částech koruny, potom se snižuje transpirace listů (jehlic) ve spodních částech a nakonec ve vrcholových částech koruny. Vodní potenciál se snižuje výrazněji na osluněných vrcholcích stromů než v zastíněných částech. Během stresu z nedostatku vody se také zvyšuje degradace chlorofylu a klesá jeho koncentrace. Omezuje se transport látek, hromadění energeticky bohatých látek, akumulace sušiny, hromadí se toxické látky. S tím také souvisí výskyt chloróz listů a prosychání korun stromů. Při silném vodním stresu může dojít k narušení membrán a uhynutí rostlin (BLÁHA a kol., 2003; GREGOROVÁ a kol., 2006).

Pro rostliny mírného pásma je důležité, nastalo-li sucho v průběhu vegetace, nebo jestli rostlina roste v suchu již od počátku vegetace. V prvním případě je vliv na metabolismus silnější. Rostlina rostoucí v suchu od začátku vegetace má hlouběji pronikající kořenový systém, méně průduchů, silnější kutikulu a relativně menší listovou plochu. Příjem vody a živin je dán schopností kořenů zabezpečit jejich příjem do nadzemních orgánů rostlin. V případě nedostatku vody od počátku vegetace je kořenový systém inhibován, zpočátku dochází k jeho prodlužování, ale na úkor tvorby postranních kořenů i kořenového vlášení. Při dalším pokračování vodního stresu nastává redukce kořenového systému, nevytváří se kořenové vlášení, nakonec se růst kořenů zcela zastaví a kořen uhyne. U dřevin odolávají kořeny suchu hůře než pupeny (BLÁHA a kol., 2003; GREGOROVÁ a kol., 2006).

Vliv nedostatku vody od začátku růstového cyklu na nadzemní orgány je takový, že je redukována listová plocha a uhlíkový přírůstek po celou dobu růstového období. Snižuje se hmotnost a mění se vodní a výživový model. Pokud se turgor snižuje při vývoji květenství, redukuje se počet květů, pokud až během dozrávání plodů, tak se snižuje hmotnost semen a může se zvýšit opad plodů. Tvorba semen a plodů je omezena tak, aby byl zajištěn produkční potenciál rostliny, semena mají často menší velikost, nižší klíčivost a méně zásobních látek. Změny jsou viditelné i v embryonální části, i když i za velkého sucha rostliny některých druhů dokáží vytvořit poměrně kvalitní semena. Rostliny při nedostatku vody většinou zvyšují aktivitu hydrolytických enzymů a obvykle nesnižují intenzitu transportních procesů, pak přesouvají zásobní látky hlavně do gene-

rativních orgánů. Ve stárnoucích květních orgánech a listech převládá rozklad bílkovin (BLÁHA a kol., 2003; YORDANOV a kol., 2003).

Rostlina může trpět suchem také v zimě, protože rostliny jsou schopny přijímat vodu pouze v kapalném skupenství a voda se sněhové pokrývky je pro ně v tom případě nepřístupná. U dřevin mají často význam vlhkostní poměry v předchozím roce. Zimní sucho způsobuje zpomalení růstu v následujícím vegetačním období (BLÁHA a kol., 2003; GREGOROVÁ a kol., 2006).

Odolnost rostlin vůči suchu můžeme rozlišit jednak biologickou, jednak hospodářskou. Biologická odolnost představuje schopnost přizpůsobit se v jistých obdobích ontogeneze podmínkám trvalého nebo dočasného půdního i atmosférického sucha, a tak v těchto podmínkách přežít, tedy zajistit více méně normální růst, zakončení individuálního vývoje a reprodukci. Hospodářská odolnost rostlin vůči suchu je dána schopností kulturních rostlin přizpůsobit se v jistých obdobích ontogeneze podmínkám trvalého nebo dočasného půdního i atmosférického sucha, a tak v těchto podmínkách přežít a navíc poskytnout produkci takové kvality a kvantity, která je hospodářsky nezbytná. Rostliny s vysokou odolností k vyschnutí vykazují změny v metabolických cestách, všechny vyschlé rostlinné orgány mají minimální metabolickou aktivitu. Při vysychání se minimalizují vakuoly a obsah škrobu, počet mitochondrií je zvýšen a tvoří se zvláštní pochvy kolem organel. Dřeviny se mohou bránit účinkům sucha jen do jisté míry. Patří mezi rostliny, které snášejí vysušení velmi málo, jejich odolnost je dána především schopností se vysušení vyhnout (BLÁHA a kol., 2003; GREGOROVÁ a kol., 2006; LARCHER, 1988; KOLAŘÍK a kol., 2010; STOLINA a kol., 2000; PENKA, 1985; HINCKLEY, CEULEMANS, 1989; YORDANOV a kol., 2003).

Pokud jsou rostliny vystaveny suchu několik týdnů a vyčerpají zásoby vody v půdě, tak je jejich vodní bilance zhoršena. Klesající relativní vlhkost a zvyšující se rychlost proudění vzduchu a rostoucí teplota vede k větším ztrátám vody. Dřeviny omezují spotřebu vody tak, že otevírají průduchy méně a na kratší dobu. V některých případech shazují dřeviny v období sucha listy, opad listů je způsoben vyšší hladinou ABA a etylenu. Během nedostatku srážek je pro dřeviny významná voda uložená v masivních orgánech, jako jsou kmeny a velké větve. Dřeviny mohou na sucho reagovat předčasným zklidněním svých růstových aktivit, tj. predormancí (BLÁHA a kol., 2003; GREGOROVÁ a kol., 2006; LARCHER, 1988; KOLAŘÍK a kol., 2010).

Hlavní anatomické, morfologické a funkční způsoby adaptace rostlin na nedostatek vody v půdě, popř. na nízkou stanovištní vlhkost můžeme shrnout následovně: 1. zvýšení příjmu vody z půdy tak, že se zvětšuje kořenový systém – buď je povrchový a plošně rozsáhlý, nebo velmi hluboký; 2. snižuje se minimální vodní potenciál kořenů a tím se zvýší jejich „savá síla“; 3. modifikace listů, popř. stonků – silná kutikula, epidermální buňky malých rozměrů, malé průduchy apod.; 4. snížená plocha transpirujících orgánů, stáčení listů; 5. vzrůst poměru podzemní biomasy k nadzemní; 6. snížení transpirace zavíráním průduchů v průběhu dne; 7. přetrvávání sucha v dormantním stavu (ve formě semen nebo v podzemních orgánech) nebo v bezlistém stavu; 8. přítomnost zásobních pletiv s vodou – zásoby vody v kořenech nebo kmenech; 9. osmotické adaptace – akumulace osmoticky aktivních látek (glukóza, bílkoviny, organické látky, ionty), vedoucí ke snížení osmotického potenciálu a tím k zachování buněčného turgoru (SLAVÍKOVÁ, 1986; LARCHER, 1988; KOLARÍK a kol., 2010).

Při zvládání stresu ze sucha rostlinami hrají roli také genetické vlastnosti. Za nedostatku sucha se tvoří proteiny indukované dehydratací, exprese některých genů pro tuto skupinu proteinů podléhá regulačnímu působení zvýšené koncentrace ABA a jejich tvorba je často orgánově specifická. Zvláštní skupinou stresových proteinů, které se tvoří při nedostatečném obsahu vody v buňkách, jsou dehydriny. Jejich tvorba je pro přežití silné dehydratace nezbytná. Předpokládá se, že v budoucnosti budou čelit suchu větší oblasti než doposud, místa, která dosud trpěla jen občasných suchem, budou podléhat suchu častěji a vážněji, tedy déle. Nicméně podrobnější hodnocení bude muset brát v úvahu sezónní variabilitu klimatu, stejně jako místní/regionální půdní a další faktory, které se vztahují k růstu a fyziologii. Sucho má také negativní vliv na konkurenceschopnost dřevin a působí jako faktor, který je činí citlivější k sekundárním stresovým faktorům, jako jsou fytopatogeny, hmyz nebo další suchá období. Lesy jsou v současné době pěstovány v hustých porostech, a to ještě přispívá tomu, že se hmyz může snadno šířit a oslabené porosty jsou o to více ohroženy epidemií hmyzu (ÖRDÖG, MOLNÁR, 2011; SCHLYTER a kol., 2006; BIGLER a kol., 2006; BEIER a kol., 1995; YORDANOV a kol., 2003).

Nedostatek vody se dá řešit zálivkou, ale dávky vody musí být omezeny na nezbytně nutné minimum, protože jinak se snižuje nebo ustává účinnost obranných mechanismů dřevin vůči suchu. K tomuto účelu se používají horizontální i vertikální zavlažovací zařízení. Nejčastěji používané jsou tzv. kořenové sondy, které jsou instalovány při vý-

sadbě. Tato opatření se používají hlavně v extrémních podmínkách městských center. V lesnictví se uplatňují především vodoochranné lesní pásy zabraňující povrchovému odtoku vody (KOLAŘÍK a kol., 2003; KINCL, KRPEŠ, 2000; BERGHA a kol., 1998).

2.5.4 Stres z nadbytku vody

Vodní stres z nadbytku vody vzniká při vysoké hladině podzemní vody, při velkých příválových srážkách, rychlém tání sněhu nebo při zaplavení stanoviště. Při zamokření se snižuje fyziologická aktivita kořenů, pro kořenovou respiraci (hlavně pro oxidativní fosforylaci) se stává limitující nedostatek kyslíku. Zamokření či zavodnění způsobuje nedostatek kyslíku (hypoxii) až úplnou absenci kyslíku (anoxii). Kořeny potřebují kyslík ke svému růstu a správné funkci. V půdě je koncentrace kyslíku 10-21 %, pokud tato koncentrace klesne pod 10 %, kořeny začínají trpět a když je koncentrace kyslíku menší než 3 %, zastavují svůj růst. Při stresu z nadbytku vody je snížena produkce NADPH^+ a ATP, aktivní přenašeči iontů minerální výživy jsou bez energie, a tak se snižuje schopnost rostliny přijímat minerální živiny. Je zpomalena až zastavena funkce elektronového transportního řetězce v mitochondriích a hromadí se NADH inhibuje činnost citrátového cyklu. K inhibici glykolýzy nedochází, protože nevyžaduje kyslík a její hlavní produkt – pyruvát – může být zpracován anaerobní cestou (fermentací) (KOLAŘÍK a kol., 2010; GREGOROVÁ a kol., 2006; PROCHÁZKA a kol., 1998; STOLINA a kol., 2000; ŠPINLEROVÁ, 2014).

Přechod na anaerobní disimilační procesy má pro rostlinu vážné dopady. Jejich energetická účinnost je malá, takže na pokrytí normálních energetických potřeb musí rostlina v prostředí bez kyslíku spotřebovat mnohonásobně větší množství organických látek, což vede k jejímu brzkému vyčerpání. Produkty anaerobní glykolýzy (obvykle etanol a kyselina mléčná) a redukované formy kovů podporují rozvoj hnilob na kořenech a působí na kořeny toxicky. Kořenová sorpční plocha se redukuje v důsledku odumírání kořenů, nejdříve odumírají parenchymatické buňky kořenových vlásků, později jsou poškozeny i kořeny vyššího řádu. Dochází také k prosychání korun stromů. Déle trvající zamokření bývá důvodem náhlého odumření celého stromu. Tyto podmínky také přispívají k napadení stromů různými patogeny (KOLAŘÍK a kol., 2010; GREGOROVÁ a kol., 2006; PROCHÁZKA a kol., 1998; ŠPINLEROVÁ, 2014).

Kromě přímého negativního působení nedostatku kyslíku na fyziologické procesy dochází k řadě změn i v chemizmu půdy a tyto změny působí nepřímo na rostliny. Mnoho druhů půdních organismů má schopnost při svých respiračních procesech využívat místo kyslíku jiné látky jako akceptory elektronů a převádět je do redukováného stavu. Jsou schopny redukovat nitrát na molekulární dusík (denitrifikace), nebezpečnější je ale redukce síranů na sirovodík a uvolnění dvojmocných iontů železa a manganu z oxidovanějších nerozpustných forem. Látky, které vznikají, jsou ve vyšších koncentracích toxické a Fe^{2+} váže volné fosfátové ionty do nerozpustné soli. Při nedostatku kyslíku je inhibována činnost nitrifikačních bakterií, většina přijatelného dusíku je proto ve formě amonných iontů a ty mohou působit ve vysoké koncentraci na některé druhy rostlin inhibičně až toxicky. Dochází k hnití a kvašení, tvoří se kyselina mléčná, máselná a vznikají alkoholy (PROCHÁZKA a kol., 1998; ŠPINLEROVÁ, 2014).

V průběhu aklimační reakce na náhlé snížení koncentrace kyslíku dochází ke změnám v koncentraci fytohormonů a k syntéze stresových proteinů. Zvyšuje se syntéza ABA, která zprostředkovává regulaci řady procesů v nadzemních orgánech. Tvorba cytokininů a etylenu v kořenech je naopak zpomalena. Přesto koncentrace etylenu v kořenech narůstá, protože jsou omezeny jeho ztráty difúzí do okolního prostředí. Při hypoxii stoupá také citlivost buněk k působení etylenu. I přes nepříznivé účinky hypoxického prostředí na rostliny je známa celá řada druhů, které úspěšně rostou v trvale zamokřených nebo zaplavených půdách. Tyto rostliny tvoří rozsáhlé interceluláry v parenchymatických pletivech kořenů a stonků, tím je transportován kyslík do kořenů a ten je využit k respiračním procesům i k detoxikaci rizosféry, především k oxidaci Fe^{2+} a Mn^+ na nerozpustné sloučeniny. Adaptované rostliny jsou schopny také dokonale řídit rychlost glykolýzy, konečné produkty fermentace (hlavně etanol) vylučují velmi účinně z kořenů do vnějšího prostředí a někdy u nich také převažují méně toxické produkty, jako např. malát a alanin. Stromy rostoucí v podmáčené půdě jsou charakteristické slabou schopností kontroly průduchů, což má za následek velké ztráty vody z listů. I když jsou však stromy v tomto prostředí vystaveny neekonomickému využívání vody, mají k dispozici mechanismy (např. osmotické úpravy), které dovolují listům tolerovat nízký vodní potenciál, zatímco průduchy zůstávají otevřené (PROCHÁZKA a kol., 1998; ŠPINLEROVÁ, 2014; SELLIN, 2001).

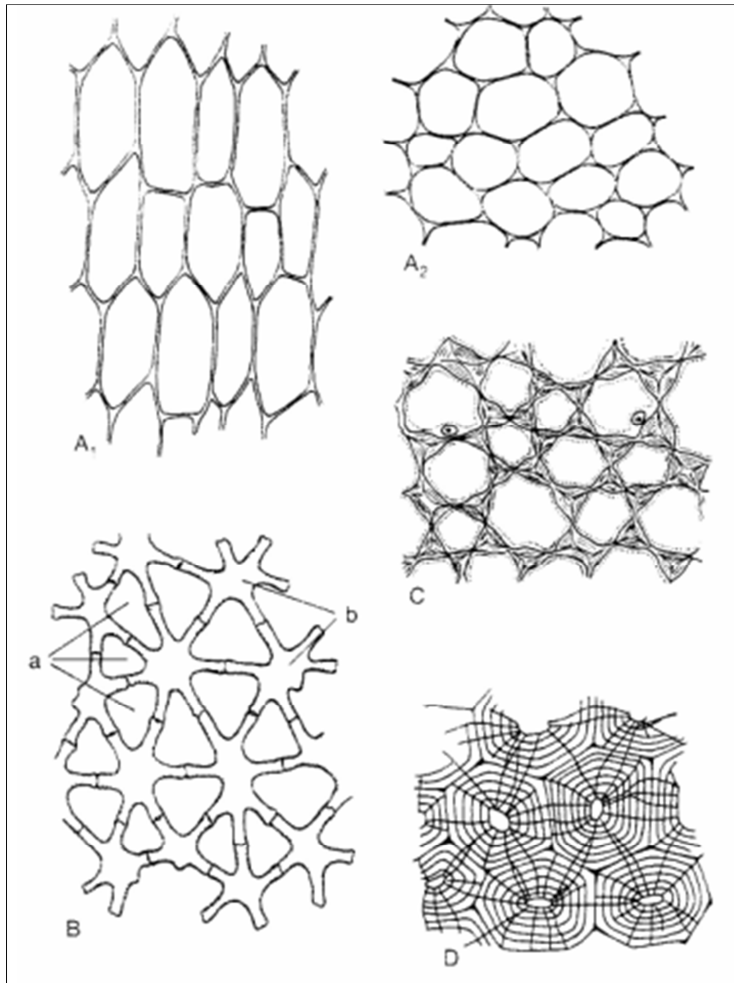
Jelikož stres z nadbytku vody vzniká i v důsledku záplav, ochranná opatření patří částečně do oblasti vodohospodářské. V lesních porostech je důležitá pravidelná péče o

příkopy, propustky a hlavně udržování dobrého stavu cest, především v horských oblastech (STOLINA a kol., 2000).

2.5.5 Pletiva dřevin, anatomická stavba stonku a kořene a jejich změny za stresových podmínek

Pletiva jsou obecně definovaná jako soubory buněk stejného tvaru a funkce, dřeviny mají pletiva pravá – mají původ v jedné buňce. Jejich buněčné stěny jsou zvnějšku navzájem soudržné mezibuněčnou hmotou (středními lamelami). Živá těla buněk, protoplasty, jsou navzájem propojena plazmadezmami – cytoplazmatickými vlákny s tubulárním endoplazmatickým retikulem. Jejich prostřednictvím tvoří všechny buňky celého systému jeden celek – symplast. Dalším znakem je přítomnost intercelulár, mezibuněčných prostorů. Ty mají význam při transportu plynů a vody a při shromažďování a izolaci obranných látek. Schizogenní interceluláry s provětrávací funkcí jsou zvětšovány v případě snížené aerace vnitřních pletiv (např. v kořenech při zamokření půdy) a v tomto případě se pletivo označuje jako aerenchym. Mezibuněčné prostory a vnitřní prostory odumřelých dřevních buněk vytvářejí síť apoplastu (KOLAŘÍK a kol., 2010; VOTRUBOVÁ, 1996; LHOTSKÝ, 1963; KAVINA, 1950; RAZDORSKIJ, 1954).

Pletiva dřevin se dělí na základě charakteru buněčné stěny, životnosti buněk a funkce pletiva na parenchym, kolenchym a sklerenchym (obr. 3). Parenchymatická pletiva mají buňky tenkostěnné, převážně živé. Kolenchymatická mají buňky živé, s nepravidelně ztloustlými celulózami stěnami. Rozeznáváme kolenchym deskový, rohový a houbový (obsahuje interceluláry). Sklerenchymatická pletiva fungují jako mrtvé buňky, jejich funkci zastává silná lignifikovaná stěna. Stěny mají prostoupeny různými typy ztenčenin nebo ztlustěnin. Podle míry diferenciací se pletiva rozlišují na primární a sekundární dělivá a primární a sekundární trvalá. Pletiva trvalá se diferenciací buněk odvozují od pletiv dělivých a jsou v prostoru orgánů funkčně uspořádána do systému pletiv krycích, vodivých a základních (KOLAŘÍK a kol., 2010; VOTRUBOVÁ, 1996; LHOTSKÝ, 1963; KAVINA, 1950; RAZDORSKIJ, 1954).



Obr. 3: Typy pravých pletiv podle tloušťky buněčných stěn a živého obsahu. A. parenchym na podélném (A1) a příčném řezu (A2), B. aerenchym (parenchym s mezibuněčnými prostory), a – mezibuněčné prostory, b – hvězdicovité buňky, C. rohový kolenchym, D. sklerenchym na příčném řezu, a – plazmodermy, b – vrstvy celulózy impregnované ligninem (KINCL, 1981, KULTJASOV, 1953).

Na povrchu orgánů nacházíme primární krycí pletiva, u nadzemních orgánů epidermis, pokrytou kutikulou a epikutikulárními vosky, s vyvinutými průduchy, u kořenů rhizodermis s tenkou buněčnou stěnou, bez kutikuly a průduchů. U stonků jsou vrstvy, které leží pod epidermis, označované jako hypodermis. Buňky kořene obsahují z vnější plochy slizovou vrstvu, vnitřní vrstva je celulózní. U kořenů se tvoří rhiziny – kořenové vlásky, které mají nasávací funkci. Primární kůra, cortex, je základní mnohobuněčné pletivo mezi vodivými pletivy a pokožkou, u kořenů je široká. U stonků je tvořena dvěma až třemi vrstvami – vnější vrstva kůry je tvořena kolenchymem, často s chloroplasty a sklerenchymatickými pruhy. Buňky vnější vrstvy (exodermis) kořenů mají ochrannou funkci (později z korkovatělé nahrazují rhizodermis), střední vrstvy (mezodermis) funkci transportní a zásobní. Mezodermis je u dřevin významná, protože

často obsahuje rozsáhlé mezibuněčné prostory (aerenchym), zejména za podmínek zavlhčení půdy a nedostatku kyslíku. Kromě provzdušňovací funkce má základní korový parenchym roli zásobní – pro škrob, bílkoviny, lipidy; exkretční – hromadění tříslovin, slizů, éterických olejů a také krystalů, hlavně solí obsahujících Ca a další. Vnitřní vrstvu, endodermis, tvoří buňky se zesíleným, zkorkovatělým pruhem buněčné stěny (Casparyho proužky) a buňky nad dřevními skupinami, které jsou propustné. U stonků má kůra fotosyntetickou, zásobní (parenchymatické buňky) a mechanickou (provazce či pruhy kolenchymu a sklerenchymu) funkci. Primární kůra je s centrální částí kořenů a stonků spojena dřevnými paprsky. Ty zabezpečují horizontální transport, ukládají se do nich krystalické látky, fenolické látky, zplodiny látkové přeměny či toxické látky. U mnohých nahosemenných dřevních paprsky probíhají horizontální pryskyřičné kanálky. Uvnitř stonků bývá dřev, jejíž tenkostěnné buňky mohou obsahovat u mladých stonků chloroplasty i škrob, později rekrey, sekrety a lignin ve stěnách (KOLARČÍK a kol., 2010; VOTRUBOVÁ, 1996; LHOTSKÝ, 1963; KAVINA, 1950; RAZDORSKIJ, 1954; OSAKABE, 2011).

Vodivá soustava – cévní svazky – jsou uspořádány pod středním válcem (na jeho obvodu je pericykl) a rozvádějí vodné roztoky s minerálními živinami, sacharidy a regulační molekuly. Cévní svazky obsahují dřevní (xylemovou) a lýkovou (floemovou) část. U stonků nahosemenných dřevin jsou cévní svazky kolaterální, otevřené (pruhy prokambia se jen částečně diferencují, takže mezi dřevní a lýkovou částí zůstává činné kambium), uspořádané do kruhu, oddělované mezi sebou paprsky parenchymu. Na příčném řezu vytvářejí kruh, obklopený na vnější straně primární kůrou, na vnitřní straně dřevní. Dřev stonku je vyplněna středem, tvořena tenkostěnnými buňkami, obvykle volně spojenými s buněčnou stěnou, která je někdy slabě lignifikovaná. Dutiny článků dřevě bývají vyplněny vodou nebo vzduchem. Protoxylem je při vnějším okraji dřevě, jde o endarchní xylem, jehož nejstarší části jsou blízko středu centrálního válce, vně se nachází metaxylem, na který plynule v prvním roce růstu stonku a kořene navazuje druhotný xylem. Od okraje centrálního válce je již nefunkční protozoem, dostředivě metazoem a směrem ke kambiu dokonale vyvinutý deuterofloem. Na počátku růstu kořenů je v nich cévní svazek radiální, se skupinami dřeva a lýka, které leží na samostatných paprscích. U nahosemenných jsou jemné kořeny monarchní (s jednou skupinou dřeva a jednou lýka), kořeny válcovité, dlouhivé bývají triarchní. Záhy se u nich zakládá kambium pod skupinami lýka, později pod skupinami dřeva a radiální cévní svazek přechází

na velký počet otevřených cévních svazků kolaterálních, uspořádaných do kruhu a oddělených mezi sebou lýkodřevními paprsky, dřev u kořene většinou chybí (KOLAŘÍK a kol., 2010; VOTRUBOVÁ, 1996; LHOTSKÝ, 1963; KAVINA, 1950; RAZDORSKIJ, 1954).

U dřevin je primární stavba zachována jen krátkodobě. Prokambium přechází v sekundární bočný meristém – kambium. Kambiální iniciály tvoří pod vnějšími vrstvami buněk souvislý plášť válce, jenž se na příčném řezu jeví jako kambiální kruh. Obsahuje úseky svazkového kambia, které působí rozrůstání cévních svazků a úseky mezi-svazkového kambia, díky kterému vznikají lýkodřevní paprsky. Svazkové kambiální iniciály oddělují dostředivým směrem mateřské buňky sekundárního dřeva, směrem odstředivým mateřské buňky sekundárního lýka. Činností kambia tloustne stonkový i kořenový systém. U stonkového systému se během jednoho vegetačního období vytváří většinou jeden letokruh a počet letokruhů tak víceméně odpovídá věku. V průběhu roku vykazuje kambium v kořenech aktivitu v jiné době než je tomu u kambia nadzemních systémů, aktivita kambia se v téže době může lišit i mezi kořeny jednoho jedince i v rámci jednoho kořene. Letokruhy jsou v kořenech užší než ve stoncích a obtížně rozeznatelné. Druhotné dřevo kořenů je charakteristické intenzivním vývinem vodivých drah a vyšším zastoupením parenchymu, je zřetelný snížený výskyt dřevních vláken. Celkově jsou buňky kořenů větší než buňky kmenů a stonků, a to jak ve světlosti, tak v délce (KOLAŘÍK a kol., 2010; VOTRUBOVÁ, 1996; LHOTSKÝ, 1963; KAVINA, 1950; RAZDORSKIJ, 1954).

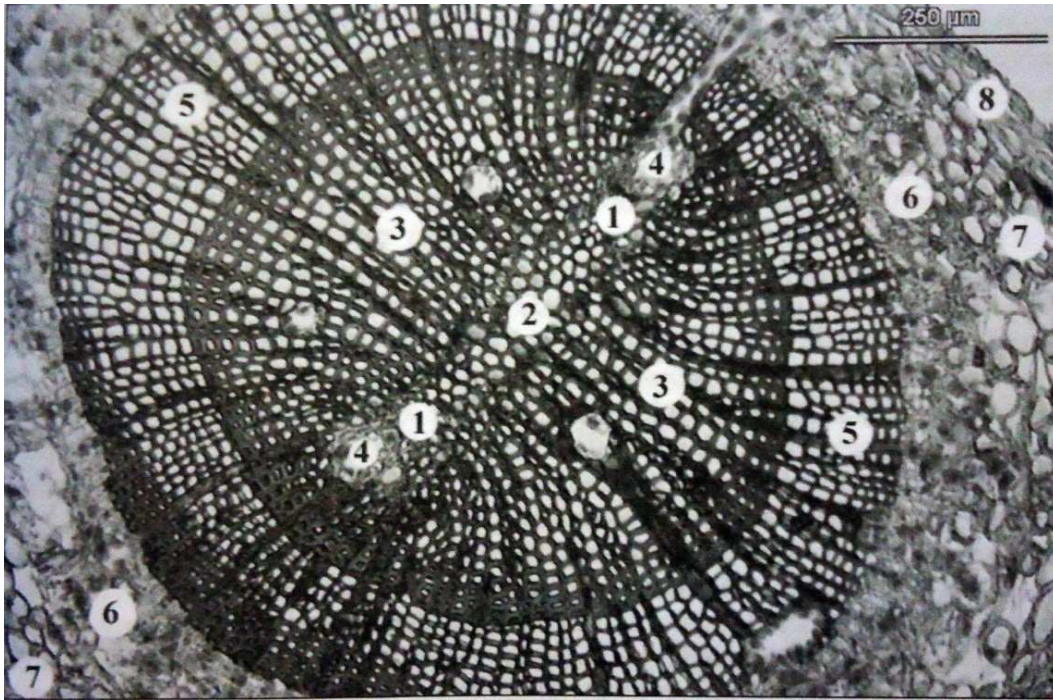
Lýko, floém, je vodivé pletivo, jímž proudí sacharidy z míst jejich syntézy do míst spotřeby, u nahosemenných rostlin ho tvoří krátce žijící buňky sítkové se sítkovými políčky, hustě rozmístěné hlavně ve stěnách u napojení na bílkovinné buňky, které souvisejí s dřevnými paprsky. Sítkovice mohou být provázeny lýkovým parenchymem (měkké lýko) i sklerenchymatickými vlákny (tvrdé lýko). Primární lýko vzniká z buněk prokambia, sekundární lýko vzniká v rámci otevřených cévních svazků nahosemenných z buněk oddělovaných kambiálními iniciálami (diferenciací tzv. mateřských buněk lýka), je obnovováno každý rok. Dřevné paprsky se při sekundárním, tloušťkovém růstu jednoletého stonku a kořenů prodlužují. Po ukončení délkového i tloušťkového růstu jednoletého stonku se dají v dřevní části cévních svazků rozlišit buňky proxylemu, které jsou drobné, silnostěnné. Vně od proxylemu jsou buňky dřeva světlejší (metaxylem), následují buňky sekundárního dřeva (jarního typu) a poté postupně buňky letního dřeva.

Na jaře a v dalších letech navazuje na úzké buňky letního dřeva vrstva jarního dřeva, tvořeného velmi světlými buňkami s tenčími stěnami – tak jsou patrné letokruhy (KOLAŘÍK a kol., 2010; VOTRUBOVÁ, 1996; LHOTSKÝ, 1963; KAVINA, 1950; RAZDORSKIJ, 1954).

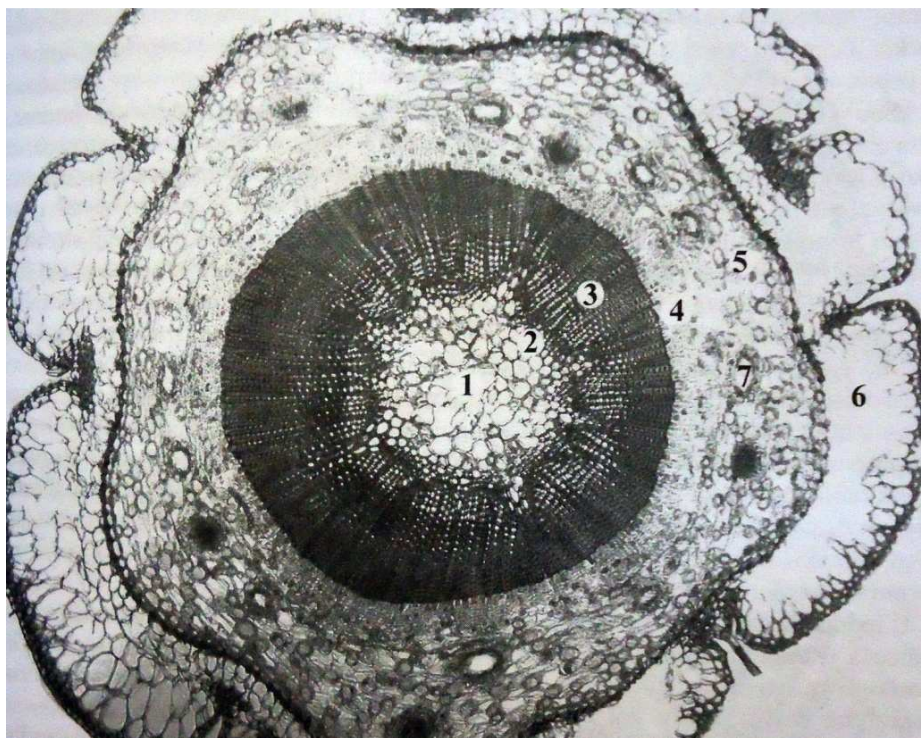
Podle typu buněk dřeva patří nahosemenné mezi homoxylické dřeviny. Mají jednodušší stavbu dřeva, vodivou i mechanickou funkci vykonávají tracheidy, protáhlé prozenchymatické buňky bez perforací příčných přepážek. Parenchym je ve dřevě přítomen ojediněle, převážně ve formě paprsků o různé šířce a výšce. Hranice letokruhu, resp. šířka letního dřeva s tracheidami se silnými a lignifikovanými stěnami o malé světlosti je bariérou proti poškození mrazem. Důležitým obranným mechanismem je síť pryskyřičných kanálků. Činností kambia a s každým novým přírůstkem dřeva, lýka a parenchymu paprsků je zvětšován průměr centrálního válce a vzniká tlak v radiálním směru na vnější vrstvy buněk stonků, větví a kořenů. V reakci na to se v prostoru od pokožky zakládá další boční sekundární meristéum – felogen. Felogen také dvoustranně odděluje dceřinné buňky, přičemž vnitřní dceřinné buňky mají delší životnost a tvoří tzv. felodermu, vnější dceřinné buňky ukládají do svých stěn suberin, korkovatí, nepropouštějí vodu ani plyny, takže jejich živé tělo brzy odumře. Poté fungují jako mrtvé pletivo – korek (felém) a chrání vnitřní část dřeviny před vnějšími vlivy. Vrstva felému, felogenu a felodermu tvoří periderm, sekundární kůru. Takový systém krycích pletiv je nepropustný, proto v sekundární kůře vznikají čočky (lenticely) rychlým oddělováním parenchymatických buněk buňkami felogenu směrem vně stonků. Sekundární meristéumy a jejich deriváty mohou reagovat na změnu prostředí kořenů, např. když je snížena provzdušněnost, tak vzniká anomální dřevo i lýko se zvýšeným podílem parenchymu (KOLAŘÍK a kol., 2010; VOTRUBOVÁ, 1996; LHOTSKÝ, 1963; KAVINA, 1950; RAZDORSKIJ, 1954; MARCIZSEWSKA, TULIK, 2013).

Životnost felogenu je u různých druhů různá. U některých druhů jsou buňky felogenu schopné dlouhodobě zvyšovat svůj počet antiklinálním dělením, tj. zvětšovat kruh felogenu podle toho, jak kmen v důsledku činnosti kambia tloustne. Felogen je dlouhodobě živý a kůra těchto druhů je hladká. V jiných případech nejsou buňky felogenu schopné tvořit antikliny a dělí se jen periklinami (příčnými přehrádkami). Pod silicím radiálním tlakem, vyvíjeným novými letokruhy, se felogen trhá a odumírá. V hlubších pletivech kůry a postupně až v živém lýku vznikají následné felogeny, které dávají pod odumřelými svrchními vrstvami vzniknout novým vrstvám peridermu. Procesem

odumírání a vznikání dalších felogenů vzniká histologicky složitý komplex, ve kterém se střídají odumřelé vrstvy primární kůry a peridermů, později odumřelé vrstvy lýka, střídající se s hlouběji tvořenými peridermy. Tento terciární komplex krycích pletiv je borka. Makroskopicky se jeví jako hrubá, podle druhu dřeviny různě rozpraskaná kůra. Stavba kořene a stonku je znázorněna na obr. 4 a 5 (KOLAŘÍK a kol., 2010; VOTRUBOVÁ, 1996; LHOTSKÝ, 1963; KAVINA, 1950; RAZDORSKIJ, 1954)



Obr. 4: Stavba jemného kořene smrku na příčném řezu. Cévní svazek byl na začátku diferenciaci trvalých pletiv radiální, diarchní. Po dvou vlnách kambiální aktivity zůstává uprostřed exarchní primární xylem (1 – protoxylem, 2 – metaxylem) a tzv. juvenilní dřevo (3), které je po uzavření kambiálního kruhu zakončené silnostěnnými tracheidami o malé světlosti. V něm vznikly roztržením pletiva dvě protilehlé interceluláry (4), kolem kterých se stáčejí lýkodřevní paprsky. Ve druhé vlně vznikl další přírůst dřeva (5) a vně úzká vrstva lýka (6); mezi dřevem a lýkem je kruh kambiálních iniciál. Nad vrstvou buněk lýka je pericykl (7) a povrch kořene tvoří zbytky primární kůry (8). Rhizodermis již chybí (KOLAŘÍK a kol., 2010).



Obr. 5: Stavba jednoletého stonku smrku. Uprostřed je dřeň (1) přecházející v protoxylem (2); bez výrazného rozhraní vzniká činností kambiálního kruhu dostředivě sekundární xylem (3), odstředivě vrstva sekundárního lýka (4). Nezřetelné primární lýko navazuje na pericykl (5) s pryskyřičnými nádržkami (7) a listovými stopami. Patrná je primární kůra (6) hraničící endodermální pochvou s pericyklem a pokožkou s vnějším prostředím (KOLAŘÍK a kol., 2010).

U rostlin se pod vlivem stresu ze sucha a nadbytku vody objevují anatomické a morfologické zvláštnosti. Rostliny, které se přizpůsobují stresu ze sucha, mají silnější kutikulu, hlouběji pronikající kořenový systém, méně průduchů a relativně menší listovou plochu. U některých rostlin se tvoří voskový povlak listů, trichomy nebo rostliny svinují a skládají listy. Buňky za nedostatku vody ukončují předčasně prodlužovací fázi a nakonec se jejich růst zastavuje. Pletiva se poškozují, dřeviny vystavené dlouhotrvajícímu suchu výrazně redukuje tvorbu nových buněk lýka a dřeva. Stres ze sucha může významně ovlivnit aktivitu kambia, diferenciační proces anatomických prvků a tím i výsledné šířky letokruhů. Druhy vyvinuté v podmínkách sucha mívají odlišný habitus (potlačení listů, ztlustění stonku) a zpravidla specializovaná pletiva, v nichž mohou uchovávat vodu. Odolnost xylemu vůči kavitaci (přetržení vodního sloupce) je důležitou veličinou, která rozhoduje o odolnosti rostlin vůči suchu. Vodivost xylémů je dána jejich strukturou a velikostí vodivých elementů. Rostlina může reagovat změnou své struktury na snižování vodního potenciálu půdy, pokud se snižuje postupně. U rostlin stresovaných suchem můžeme pozorovat menší průměr vodivých elementů na příčném

řezu. Obecně jsou menší cévy a cévice méně náchylné k embolii (vznik bublinek vzduchu). Jde o mechanismus, který pomáhá rostlině omezit ztrátu vody a zabránit ztrátě funkčnosti xylému za cenu nižší dostupnosti vody v jehlicích. Tok vody v rámci dřevní části je úzce spjat s anatomii vodivých elementů a je funkcí délky a průměru lumenu (buněčné dutiny) (KINCL, KRPEŠ, 2000; ŠPINLEROVÁ, 2014; GEBAUER a kol., 2010; MARCISZEWSKA, TULIK, 2013; OSAKABE, 2011).

U rostlin trpících stresem z nadbytku vody hraje velkou roli etylen, který slouží jako hlavní signál ke spuštění celé řady aklimačních reakcí. Jednou z prvních je indukce tvorby enzymů, které rozkládají pektinové střední lamely buněčných stěn. Rychle se tak tvoří rozsáhlé interceluláry – mezibuněčné prostory, v parenchymatických pletivech kořenů a stonku. Jejich propojením vznikají podélné kanálky, které slouží k přívodu kyslíku z nadzemních částí. Jehličnany, které rostou na podmáčeném stanovišti, mají často povrchový, plochý kořenový systém, mnohdy vyvinutý asymetricky. Nově vytvářené kořeny v prostředí s malým obsahem kyslíku jsou nápadně ztloustlé a velmi málo větvené. Dřeviny mohou v nadzemní části tvořit adventivní kořeny, které napomáhají přísunu kyslíku, v rámci kořenů se zvětšuje vrstva korku a vznikají hypertrofické lenticely (ŠPINLEROVÁ, 2014; PROCHÁZKA a kol., 1998).

2.5.6 Etylen, etan a CO₂ jako signální ukazatelé stresu

Etylen (eten, C₂H₄) je stálý bezbarvý plyn, je to nejjednodušší uhlovodík s dvojnou vazbou, která je nepolární a je nositelem chemické reaktivity. Etylen je často oxidován za vzniku etylenoxidu, etylenglykolu až formaldehydu. Etylen vzniká z aminokyseliny L-metioninu. Tvorba etylenu je ovlivněna mnoha fyzikálními a chemickými faktory, např. teplotou, světlem, hladinou kyslíku a CO₂. Je indukována různými stresory, některými přirozenými a syntetickými regulátory růstu a podléhá i autoregulačním mechanismům. V zelených částech rostlin většinou inhibuje tvorbu etylenu světlo. Tvorba etylenu je ovlivněna fytochromem. Etylen je odbouráván na CO₂ a etylenoxid. Zastoupení těchto metabolitů a schopnost metabolizovat etylen je závislá na druhu, stáří a fyziologickém stavu rostliny. Aplikace auxinů a v mnoha případech i cytokininů a brassinosteroidů zvyšuje tvorbu etylenu. Tvorbu etylenu může zvýšit i přidáním ABA. Polyaminy inhibují produkci etylenu, jako příklad autoinhibice je možné uvést tvorbu stresového etylenu, která je inhibována preinkubací v atmosféře etylenu (PROCHÁZKA a kol., 1997; PROCHÁZKA a kol., 1998; ÖRDÖG, MOLNÁR, 2011).

Etylen je jediný dosud známý plynný hormon, jeho koncentrace v buňce je velmi nízká a je daná rozpustností v cytoplazmě. Většina etylenu proniká do mezibuněčných prostorů a dále průduchy do atmosféry. V cytoplazmě se nachází specifická vazebná místa pro etylen a předpokládá se, že biologický účinek se zprostředkovává vazbou na tyto bílkoviny. Etylen uvolňovaný do atmosféry může ovlivňovat i rostliny ve svém nejbližším okolí. V důsledku působení velmi nízkých koncentrací etylenu je inhibován dlouhivý růst, stimulován radiální růst a dochází ke ztrátě gravitropické reakce. Etylenem je také inhibován růst kořenů. Jeho nejvýraznějším účinkem je stimulace dozrávání některých plodů, při zrání se mnohonásobně zvýší tvorba etylenu a ten pak indukuje biochemické procesy zrání, např. degradaci celulózy, škrobů a pektinů. Podobně stimuluje stárnutí a opad listů, květů a plodů, při tomto procesu stimuluje tvorbu enzymů, které štěpí buněčné stěny. Jehličnany se ve zvýšené koncentraci etylenu vyznačují zakrslým růstem, jejich jehlice jsou často zakrnělé a výhony velmi řídké, jehlice a mladé výhody také předčasně opadávají (PROCHÁZKA a kol., 1997; PROCHÁZKA a kol., 1998; GREGOROVÁ a kol., 2006; ÖRDÖG, MOLNÁR, 2011; OSAKABE, 2011).

Zvýšené tvoření etylenu vyvolává nedostatek i nadbytek vody, teplotní výkyvy, poranění, zasolení, napadení patogeny i toxické látky. Pod vlivem zvýšené hladiny etylenu se zvyšuje tvorba některých fytoalexinů (rostlinných obranných látek), stoupá aktivita některých enzymů účastnících se obranných reakcí rostlin a vzrůstá odolnost některých pletiv k působení lytických enzymů. Buňky jsou citlivější na vliv etylenu v případě nedostatku kyslíku, přestože je jejich syntéza za těchto podmínek snížena, koncentrace etylenu v kořenech se zvyšuje, protože se omezují jeho ztráty difúzí. Etylen je spouštěcí signál pro vytváření mezibuněčných prostor. Ty vznikají v parenchymatických pletivech kořenů a stonků, kde taktéž dochází k tomu, že se rozkládají pektinové lamely buněčných stěn enzymy a vznikají kanálky, kterými je přiváděn z nadzemní části rostliny kyslík. Pokud rostlina přežije, tak má pak nápadně ztloustlé a málo větvené kořeny (ŠPINLEROVÁ, 2014; PROCHÁZKA a kol., 1997; PROCHÁZKA a kol., 1998; ÖRDÖG, MOLNÁR, 2011).

Etan vzniká při oxidaci tuků a je indikátorem lipidové peroxidázy. Je produkován poškozenými buňkami, jeho množství se zvyšuje, když se u rostlin objevují léze (poranění) nebo nekrózy. Produkce etylenu rostlinami se zvyšuje v důsledku environmentálního stresu nebo zranění a měření etylenu tak může být užitečným ukazatelem počátku stresu anebo stupně stresu, kterým rostlina trpí. Množství etylenu se však mění s věkem

pletiva a podmínkami okolního prostředí, a pokud vede stres ke smrti buněk, tak se produkce etylenu snižuje. Oproti tomu množství etanu stoupá lineárně s množstvím nekrózy (KIMMERER, KOZLOWSKI, 1982).

Nedostatek vody u rostlin působí nejdříve na průduchy, jejich uzavírání zpomalí výměnu CO₂. Při dalším vysychání je snižována hydratace protoplazmy a tím i fotosyntetická kapacita. Příjem CO₂ má normální rychlost jen v úzkém rozsahu dostatečného zásobování vodou, mimo něj klesá a nakonec se zcela zastaví. Nedostatek vody vede k poškození protoplazmatických struktur (hlavně biomembrán) a nakonec k odumření celé buňky. Závislost výměny plynů na ztrátě vody zahrnuje dva důležité kritické body: bod přechodu z plného výkonu do oblasti omezení a bod, ve kterém je výměna plynů nulová. Prvnímu kritickému bodu odpovídá takové množství vody, při kterém se průduchy začínají zavírat. Pokud rostlina opět získá vodu, tak nastává rychlá obnova výměny CO₂. V druhém kritickém bodě jsou průduchy plně uzavřeny, projevuje se i přímý účinek nedostatku vody na protoplasmu. Příjem CO₂ z vnějšího prostředí již neprobíhá, avšak CO₂ uvolněný při dýchání může být znovu vázán. Obnovení přísunu vody již nevede k okamžité obnově fotosyntézy, obnova se opoždí a po silném vyschnutí se už nemůže původní fotosyntetická kapacita obnovit. Citlivost výměny CO₂ k nedostatku vody a uvedené kritické body jsou do jisté míry charakteristické pro rostlinné druhy, ale adaptacemi rostlin se mohou měnit (BLÁHA a kol., 2003; ŠPINLEROVÁ, 2014; GREGOROVÁ a kol., 2006; YORDANOV a kol., 2003).

2.6 Kultivace rostlin v podmínkách *in vitro*

V současné době jsou explantátové (*in vitro*) kultury jedním z nejrychleji se vyvíjejících směrů biologického výzkumu. Využívá se jich v řadě odvětví biotechnologické praxe od vegetativního množení bezvirózního sadbového materiálu (mikropropagace a ozdravování), přes mutagenézi rostlin, genové manipulace (genové inženýrství), primární screening rostlin na toxické látky a herbicidy, až po produkci cenných organických látek z buněčných suspenzí (HRADILÍK, 2005; HRADILÍK a kol., 1998).

Explantátem se rozumí každá část živého pletiva rostliny nebo orgánu, či jediná buňka nebo protoplast, která je z rostliny izolována a pěstována v umělých aseptických podmínkách mimo mateřskou rostlinu (tj. *in vitro*). Tyto podmínky mají přesně definované fyzikální (teplota, světlo), hormonální (růstové regulátory) a nutriční (sacharidy,

nitráty) faktory. Po explantaci je explantát zbaven trofického i růstově regulačního vlivu mateřské rostliny. Obnovení celistvosti izolované části rostliny *in vitro* ovlivňuje totipotence buněk, dediferenciace a diferenciaci buněk, polarita a fyziologická regenerace. Cílem většiny kulturací je odvození regenerantů, které budou životaschopné i při následné kultivaci v nesterilních podmínkách (HRADILÍK, 2005; HRADILÍK a kol., 1998).

2.6.1 Sterilizace

Sterilizace nejen technického materiálu, pomůcek a médií (tepelně, UV zářením), ale i rostlinného materiálu chemickou cestou hraje nezastupitelnou úlohu v dosažení aseptického prostředí a aseptické manipulace v *in vitro* kulturách. V explantátové laboratoři zajišťuje sterilitu prostředí aseptický laminární box – flow box. Před prací je nutné vytřít vnitřní prostor laminárního boxu 70% etanolem. Kovové nástroje, sklo, hliníkové fólie atd. mohou být sterilizovány v horkovzdušném sterilizátoru (130-170 °C, 2-4 hodiny). Veškeré předměty je nutno zabalit do alobalu nebo uzavřít do speciálních kovových nádob. Pomocné nástroje jsou ve flow boxu umístěny v kádince či odměrném válci s 95% etanolem. Nástroje se při práci opakovaně sterilizují opálením nad plamenem kahanu. Sterilizace živných médií, která jsou přelita do nádob, probíhá v autoklávu. Autoklávování je sterilizace horkou parou za zvýšeného tlaku, konkrétně probíhá při teplotě 121 °C a přetlaku 105 kPa. Délka sterilizace závisí na objemu médií. Termolabilní složky – proteiny, některé vitamíny a aminokyseliny, gibbereliny, rostlinné extrakty a některé cukry – je nutné sterilizovat filtrací (HRADILÍK, 2005; KOVÁČ, 1992; ŠEBÁNEK, SLADKÝ, 1988; PETRŮ, ŘETOVSKÝ, 1956).

Při sterilizaci rostlinného materiálu chemickou cestou (povrchová sterilizace) je použito různých sterilizačních činidel a délka expozice v nich závislá na povrchu explantátu. Jako nejčastější složky sterilizačních médií se používá etanol, chlorové vápno, chlorid rtuťnatý (sublimát), peroxid vodíku (10-30%), případně chloramin, ajatin a Savo. Po sterilizaci je nutno rostlinný materiál 3x omýt ve sterilní destilované vodě (HRADILÍK a kol., 1998; KOVÁČ, 1992).

2.6.2 Kultivační médium

Vzhledem k odstranění trofického vlivu donorového organismu musí explantát přijímat z média nejen energeticky bohaté látky (cukry), ale také makro a mikroelementy včetně některých aminokyselin, vitamínů a někdy i růstových regulátorů. Z tohoto důvodu obsahují kultivační média makroelementy, mikroelementy, vitamíny, aminokyseliny nebo další zdroj organického dusíku, sacharidy, nedefinované organické složky, růstové regulátory a zpevňující látku – nejčastěji agar (HRADILÍK a kol., 1998; KOVÁČ, 1992; ŠEBÁNEK, SLADKÝ, 1988).

Je-li agar smíchan s vodou, dochází k vytvoření gelu, který se rozvaňuje při 60-100 °C a tuhne při 45 °C. Není rozkládán rostlinnými enzymy a nereaguje s ostatními složkami média. Velmi důležitá je čistota agaru, obsahuje Ca, Mg, K, Na, může obsahovat sacharidy a stopy aminokyselin a vitamínů. Nečistoty se dají odstranit namočením v redestilované vodě na 24 hodin, propláchnutím v etanolu a vysušením při teplotě 60 °C po dobu 24 hodin. Ke zpevnění média je možné použít i agarózu, Phytigel a Gerlite, což jsou syntetické látky. V nepevném médiu bývají používány můstky z filtračního papíru, čedičová vata, polyuretanová pěna či perforovaný celofán (HRADILÍK a kol., 1998; KOVÁČ, 1992; ŠEBÁNEK, SLADKÝ, 1988).

Mezi makroelementy přidávající se do média patří dusík, fosfor, draslík, vápník, hořčík a síra, jejich optimální koncentrace pro dosažení optimálního růstu explantátu závisí na rostlinném druhu. Rostlinné buňky rostou na médiích s dusíkem v nitrátové podobě, ale lepší je, pokud se přidají i amonné soli. Vhodná koncentrace nitrátů je 25-40 mM, amonia 2,-20 mM. Draslík se dodává ve formě dusičnanu nebo chloridu v koncentraci 20-30 mM. Fosfor, hořčík, síra a vápník by měly být obsaženy v koncentracích 1-3 mM (HRADILÍK a kol., 1998; KOVÁČ, 1992; ŠEBÁNEK, SLADKÝ, 1988).

Mikroelementy přidávajícími se do média jsou železo, mangan, zinek, bor, měď, molybden, někdy také kobalt, jod, sodík a chlor. Železo a zinek se používají v chelátové formě. Do kultivačních médií je nezbytné přidávat jako hlavní zdroj uhlíku – stavební složky a energie – sacharózu, glukózu nebo fruktózu v koncentraci 1-3 %. Sacharidy se dodávají z důvodu heterotrofní výživy. Osmoregulace je nejčastěji zajištěna přidáním alkoholických cukrů – manitolu a sorbitolu, či myo-inositolem, sacharidem stimulujícím růst (HRADILÍK a kol., 1998; KOVÁČ, 1992; ŠEBÁNEK, SLADKÝ, 1988).

Vitaminy nezbytné k růstu a vývoji si rostlina syntetizuje sama, jsou katalyzátory metabolických procesů. Pro izolované rostlinné buňky a pletiva mohou však být limitujícím faktorem jejich růstu. Do médií se přidávají vitaminy thiamin, nikotinová kyselina, pyridoxin, kyselina listová, askorbová, pantotenová nebo riboflavin. Buňky jsou schopny syntetizovat nezbytné aminokyseliny, ale jejich přítomnost v médiu stimuluje růst explantátů. Aminokyseliny slouží jako bezprostřední zdroj dusíku, který je v organické formě využíván rychleji než ve formě anorganické. Dusík se dodává ve směsi aminokyselin (např. kasein hydrolyzát), velmi často se přidává také L-glutamin, L-asparagin, glycin a alanin. Vyšší koncentrace aminokyselin můžou růst inhibovat. Aktivní uhlí váže fenolové sloučeniny a absorbuje látky inhibující růst (HRADILÍK a kol., 1998; KOVÁČ, 1992; ŠEBÁNEK, SLADKÝ, 1988).

Jako růstové regulátory jsou používány auxiny, cytokininy, gibereliny a kyselina abscisová. Je důležitá nejen koncentrace hormonů, ale také jejich vzájemný poměr – hlavně auxinu a cytokininu ve vztahu k organogenezi. Auxiny jsou do médií přidávány pro indukci tvorby kalusu (za přítomnosti cytokininů) a buněčné suspenze, k indukci organogeneze (při vyšší koncentraci cytokininů v médiu), k zakořeňování regenerovaných prýtů a k indukci somatické embryogeneze. Cytokininy se používají k indukci buněčného dělení, indukci tvorby prýtů (při snížené koncentraci auxinů v médiu), k indukci tvorby kalusu. Kyselina abscisová (ABA) je používána pro podporu normálního vývinu izolovaných zygotických embryí a k dozrávání somatických embryí. Gibereliny se využívají ke konverzi somatických embryí v rostliny a ke stimulaci růstu regenerantů u transgenních rostlin (HRADILÍK a kol., 1998; KOVÁČ, 1992; ŠEBÁNEK, SLADKÝ, 1988; OSAKABE, 2011).

Rostlinná pletiva produkují i těkavé látky, které se kumulují v kultivační nádobě a ovlivňují růst a morfogenezi. Jedná se o oxid uhličitý, etylen, etan, acetaldehyd a etanol. Mezi nejčastěji používané růstové regulátory patří auxiny (IAA – indolyl-3-octová kyselina, IBA – indolyl-3-másečná kyselina, 2,4-D – dichlorfenoxyoctová kyselina, NAA – α naftyloctová kyselina) a cytokininy (BA – N⁶-benzyladenin) (HRADILÍK a kol., 1998; KOVÁČ, 1992; ŠEBÁNEK, SLADKÝ, 1988, OSAKABE, 2011).

Nejčastěji používaná média jsou média, která popsali White (1963), Murashige and Skoog (MS, 1962), Gamborg et al. (B5, 1968), Gautheret (1942), Shenk and Hildebrandt (SH, 1968), Nitsch and Nitsch (1969) a Lloyd and McCown (WPM, woody plant médi-

um, 1981). U jehličnanů se používá především WPM médium (LLOYD a MCCOWN, 1981). Složení vybraných médií je uvedeno v tab. 1 (KOVÁČ, 1992, ALI a kol., 2009).

Tab. 1: Složení vybraných kultivačních médií (KOVÁČ, 1992; ALI a kol., 2009)

Sloučenina	Množství (mg.l-1)					WPM
	MS	B5	N6	SH	White	
makroelementy						
MgSO ₄ . 7 H ₂ O	370	250	185	400	74	370
KH ₂ PO ₄	170	-	400	-	12	170
NaH ₂ PO ₄ . H ₂ O	-	150	-	-	-	-
KNO ₃	1900	2500	2830	2500	81	-
NH ₄ NO ₃	1650	-	-	-	-	400
CaCl ₂ . 2 H ₂ O	440	150	166	200	-	96
(NH ₄)SO ₄	-	134	463	-	-	-
Ca(NO ₃) ₂	-	-	-	-	142	386
KCl	-	-	-	-	65	-
mikroelementy						
H ₃ BO ₃	6,2	3	1,6	5	-	6,2
MnSO ₄ . H ₂ O	15,6	10	3,3	-	-	22,4
ZnSO ₄ . 7 H ₂ O	8,6	2	1,5	1	-	8,6
NaMoO ₄ . 2 H ₂ O	0,25	0,25	-	0,1	-	0,25
CuSO ₄ . 5 H ₂ O	0,025	0,02	-	0,2	-	0,25
CoCl ₂ . 6 H ₂ O	0,025	0,02	-	0,1	-	-
KI	0,83	0,75	0,8	1	-	-
FeSO ₄ . 7H ₂ O	27,8	-	27,8	15	-	27,8
Na ₂ EDTA	37,3	-	37,3	20	-	37,3
EDTA Na ferric salt	-	43	-	-	-	-
Fe ₂ (SO ₄) ₃	-	-	-	-	2,46	-
sacharóza (g)	30	20	50	30	20	30
vitamíny						
thiaminHCl	0,5	10	1	5	-	1
pyridoxin HCl	0,5	1	0,5	0,5	-	0,5
kyselina nikotino- vá	0,05	1	0,5	5	-	0,5
kvasnicový extrakt	-	-	-	-	100	-
myo-inositol	100	100	-	1000	-	100
pH	5,8	5,5	5,8	5,9	5,8	5,8

3 CÍL PRÁCE

Cílem této práce bylo posoudit vliv sucha a zamokření na semenáčky smrku ztepilého v podmínkách *in vitro*. V průběhu pokusu byly sledovány změny koncentrace ethylenu, etanu a CO₂ plynovou chromatografií a v závěru pokusu obsah O₂ v kultivačních nádobách a kvantový výtěžek fotosyntézy u rostoucích klíčnicích rostlin. Dále byly sle-

dovány růstové parametry rostlin – hmotnost semenáčku, délka kořene, délka nadzemní části a průměr krčku. U odebraných jehlic byl stanoven obsah chlorofylu a, b a karotenoidů. Na závěr byly zhotoveny příčné řezy kořene a stonku (kmene) semenáčků a pozorovány změny v jejich anatomii. Vliv sucha a zamokření byl pozorován od února 2014 do března 2015 a byl 2x opakován (1. výsev 17. 2. 2014, 2. výsev 17. 9. 2014). Vzhledem k časové náročnosti této části zadání diplomové práce bylo upuštěno od sledování reakce rostlin na stres v nesterilních podmínkách.

4 MATERIÁL A METODY

4.1 Charakteristika použitého materiálu a manipulace s ním

Jako výchozí materiál pro pěstování semenáčků smrku v této práci sloužila semena smrku ztepilého (*Picea abies* (L.) Karsten, Norway spruce), která byla dodána Ústavem lesnické botaniky, dendrologie a geobiocenologie (LDF) Mendelovy univerzity v Brně. Semena pocházela z lesní školky v Týništi nad Orlicí. Semena byla sterilizována 0,2% chloridem rtuťnatým (HgCl₂) po dobu pěti minut, poté 3x opláchnuta ve sterilní destilované vodě. Sterilní semena byla přenesena ve flow boxu pomocí pinzety na sterilní poloviční MS médium bez růstových regulátorů. Do každé kultivační nádoby bylo dáno 5 semen. Semenáčky byly kultivovány v kultivační místnosti při teplotě 20 °C s 16 hod. světelnou periodou. Po měsíci byly klíčící rostliny přepasážovány na media simulující stres a pozorovány po dobu 12 měsíců u 1. pokusu (výsev únor 2014, hodnoceno únor 2015) a po dobu 6 měsíců u 2. pokusu (výsev září 2014, hodnoceno březen 2015). V každé variantě bylo založeno 7 – 9 kultivačních nádob pro eventuální náhradu v případě infekce. Složení koncentrace plynů v kultivační nádobce bylo stanovováno u 5 opakování ve variantě.

4.2 Charakteristika použitých médií

Jako základní bylo použito MS médium (MURASHIGE, SKOOG, 1962) bez růstových regulátorů s 7 g l⁻¹ agaru a 30 g. l⁻¹ sacharózy, pH média bylo 5,8. Další varianty byly pozměněny tak, aby simulovaly suché nebo zamokřené prostředí. Celkově bylo 8 variant média, včetně základního (kontrolního). Podmínky zamokření byly simulovány médiem bez agaru, podmínky sucha byly vytvořeny zvyšující se koncentrací sacharózy

a polyetylenglykolu. Polyetylenglykol, PEG, je komerčně nejvýznamnější polyether. Prostřednictvím přidání PEG do kultivačního média lze vyvolat rychlou signalizaci na snížený přístup vody pro rostlinu. PEG neproniká do rostlinných pletiv, zůstává pouze na povrchu rostliny. Působí osmoticky, téměř okamžitě po jeho přidání do média se příjem vody pro rostliny snižuje, až zastavuje. Média byla sterilizována autoklávováním a pravidelně obměňována (rostliny byly v průběhu pokusu 2x přepasážovány na nové médium). Jednotlivé varianty simulující stresové prostředí jsou popsány v tab. 2 (DVOŘÁKOVÁ, 2014; JEDLIČKOVÁ, ZÁMEČNÍKOVÁ, 2007).

Tab. 2: Složení jednotlivých variant médií simulujících stres suchem (2 – 6) a zamokření (7 – 8) - (uvedené hodnoty jsou na 1 l média):

označení média	složení pro 1000 ml média
MS 1 (kontrola)	30 g sacharózy
MS 2	60 g sacharózy
MS 3	90 g sacharózy
MS 4	30 g sacharózy + 30 g PEG
MS 5	30 g sacharózy + 60 g PEG
MS 6	30 g sacharózy + 90 g PEG
MS 7	bez agaru, 20 g sacharózy
MS 8	bez agaru, 30 g sacharózy

Do tekutých médií (7-8) bylo potřeba přidat skleněné kuličky, filtrační papír nebo drátěnou oporu z důvodu zachycení rostlin.

4.3 Stanovení koncentrace plynů v kultivační nádobě, rychlosti fotosyntézy, obsahu chlorofylů a karotenoidů a růstových parametrů rostlin

Během kultivace ve stresových podmínkách byla u modelových rostlin stanovena koncentrace etylenu, etanu a CO₂ v kultivačních nádobách. Koncentrace jednotlivých plynů byly měřeny po dobu 123 dní. Odebírané vzorky plynů byly analyzovány metodou plynové chromatografie s plameno-ionizačním detektorem (FID). Plynová chromatografie je technika, kterou lze látky nejen dělit, ale na základě kalibrační křivky i kvantifikovat. Plynovou chromatografií lze stanovit látky plynné a takové, které se dají bez

rozkladu za normálního tlaku převést do plynné fáze. Jedná se v podstatě o jedinou a univerzální metodu stanovení etylenu. Etylen se snadno dělí od ostatních plynů na různých kolonách. Signál detektoru je zpracován na tzv. chromatogram, který graficky znamená závislost napěťové odezvy v čase (PROCHÁZKA a kol., 1997; KALOUS, 1963; FIŠEROVÁ a kol., 2006; DVOŘÁKOVÁ, 2014).

Pro stanovení koncentrace etylenu, etanu a oxidu uhličitého (CO₂) byl odebrán tuberkulinovou stříkačkou 1 ml ovzduší z kultivačních nádob s kovovým uzávěrem s pryžovým septem. Obsah etylenu a etanu byl analyzován v 1. pokusu na plynovém chromatografu firmy FISSONS INSTRUMENT s kapilární 24 m dlouhou kolonou HP-PLOT/Al₂O₃. Teplota detektoru byla 200 °C, nástřiku 230 °C a kolony 40 °C. Ve 2. pokusu na plynovém chromatografu firmy Master DANI Instruments S.p.A., Italy, s kapilární 30 m dlouhou kolonou RT-Q- BOND/divinylbenzen. Teplota detektoru byla 220 °C, nástřiku 100 °C a kolony 50 °C. Jedná se o nový plynový chromatograf, který je v provozu od ledna 2014 (FIŠEROVÁ, HRADILÍK, 1994, FIŠEROVÁ a kol., 2001, FIŠEROVÁ a kol., 2008).

Obsah oxidu uhličitého byl stanoven na plynovém chromatografu CHROM 5 s katharometrem s 1,5 m dlouhou náplňovou kolonou plněnou PORAPAKem Q. První odběr plynu z kultivačních nádob byl proveden po 24 hodinách od založení pokusu přes pryžovou membránu jehlami s 2 ml stříkačkou, které byly zapíchnuty s odebraným vzorkem plynu do označených pryžových zátek. Pak následovaly odběry 48 hodin od založení pokusu a další cca po 7 dnech po dobu sledování koncentrace plynů (123 dní). Výsledky obou opakování pokusů byly obdobné a v práci jsou uvedeny hodnoty koncentrace plynů z 2. opakování pokusu z pěti měření ve variantě. Statistické hodnocení bylo provedeno po přepočtu na standard etylenu a CO₂ v 1 ml ovzduší z prostoru, ze kterého byl nástřik odebrán. Výsledky byly po statistickém zhodnocení zpracovány graficky (PROKEŠ a kol., 2006; FIŠEROVÁ, HRADILÍK, 1994; FIŠEROVÁ a kol., 2001; FIŠEROVÁ a kol., 2008).

Ve dvou kultivačních nádobách z každé varianty byla měřena změna O₂ kyslíkovou elektrodou digitálním oxymetrem GMH 3691. Obsah O₂ byl měřen po 12 měsících u 1. pokusu a po 6 měsících u 2. pokusu Způsob odběru plynů z kultivačních nádob do injekčních stříkaček a měření O₂ je zobrazen na obr. 6 (PROKEŠ a kol., 2006; FIŠEROVÁ a kol., 2001; FIŠEROVÁ a kol., 2008).



Obr. 6: Způsob odběru plynů z kultivačních nádob a měření kyslíku (FIŠEROVÁ, 2013)

Pomocí přístroje FluorPen FP 100, firmy PhotonSystem Instrument byl změřen kvantový výtěžek elektronového transportu fotosystému II. FluorPen FP 100 je přenosný fluorometr s interní pamětí, který umožňuje měření fluorescence chlorofylu, využívá se při studiu fotosyntézy i např. pro detekci stresu u rostlin. Dále byly pozorovány a zhodnoceny následující růstové parametry: hmotnost semenáčku, hmotnost odebraných jehlic, délka kořene, průměr krčku a délka nadzemní části. Hmotnosti byly váženy přesnými analytickými váhami, délka a průměr byly měřeny milimetrovým měřítkem. Hmotnosti a délky byly porovnány mezi jednotlivými variantami statistickou metodou aritmetického průměru s vypočtením střední chybové úsečky a zaneseny do grafů. Kvantový výtěžek fotosyntézy a růstové parametry byly hodnoceny po 12 měsících u 1. pokusu a po 6 měsících u 2. pokusu (DVOŘÁKOVÁ, 2014; DUFEK, STÁVKOVÁ, 1982).

Jehlice byly odebrány ze dvou semenáčků z každé varianty, byly vloženy do plastových nádobek, zváženy a zamrazeny na stanovení obsahu chlorofylů a karotenoidů. Do výsledků byla použita průměrná hodnota z těchto dvou semenáčků v každé variantě. Obsah chlorofylů byl přepočítán na jednotku čerstvé váhy. Kvantitativní stanovení pigmentů předpokládá dokonalou extrakci veškerých pigmentů z analyzovaného materiálu, rostlinné tkáně se tedy musí zhomogenizovat. Pro účely této práce byly jehlice ručně rozetřeny v třecí misce s mořským pískem, uhličitánem vápenatým (CaCO_3) pro neutra-

lizaci buněčné šťávy a s malým množstvím acetonu pro extrakci barviv. Po homogenizaci byla směs kvantitativně přefiltrována přes filtr s vývěvou. Po filtraci byl získán čirý extrakt, který byl přelit do baňky o objemu 25 ml a doplněn acetone m po rysku (ŠESTÁK a kol., 1966; HRADILÍK a kol., 1998; PROCHÁZKA a kol., 1980).

Obsah chlorofylu a, b a karotenoidů byl stanoven spektrofotometrickou metodou. Principem metody je změření absorpce extraktu ve vlnových délkách, při nichž je absorpce chlorofylů a a b a karotenoidů v této spektrální oblasti maximální. Chlorofyl a má maximum absorpce při vlnové délce 663 nm, chlorofyl b při 645 nm a karotenoidy při 440 nm. Měření probíhalo v kyvetách, srovnávacím roztokem byl čistý aceton. Množství chlorofylu (v $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$) se vypočetlo dosazením extinkcí stanovených při určitých vlnových délkách do rovnic:

$$\text{Chlorofyl a } (C_a) = 12,7 A_{663} - 2,69 A_{645}$$

$$\text{Chlorofyl b } (C_b) = 22,9 A_{645} - 4,68 A_{663}$$

$$\text{Chlorofyl a+b } (C_{a+b}) = 8,02 A_{663} + 20,2 A_{645}$$

$$\text{Karotenoidy} = 4,968 \text{ karot}_{440} - 0,268 (C_{a+b})$$

kde C_a , C_b a C_{a+b} karotenoidy jsou množství chlorofylu v mg na 1 litr rozpouštědla při tloušťce kyvety 1 cm, A_{663} a A_{645} a karot_{440} jsou naměřené extinkce při vlnových délkách 663, 645 a 440 nm. Protože se extrakt chlorofylu zpracovával do 25 ml acetonu, je třeba výsledky rovnic upravit tak, abychom dostali výsledky v mg na 1 litr, na to byla použita rovnice: vypočtená hodnota (C_a , C_b , C_{a+b} , karotenoidy) $\times 0,001 \times 25$ (objem baňky v ml) \times ředění (v našem případě 0,5). Vypočtené množství chlorofylu a i b a karotenoidů je třeba vztáhnout na jednotku čerstvé biomasy (PROCHÁZKA a kol., 1980).

4.4 Metoda sledování anatomických změn ve stonku a kořeni smrku

Anatomické změny ve stonku a kořeni smrku byly pozorovány během února-dubna 2016. Za účelem sledování anatomických změn kořene a stonku (kmene) smrku byly zhotoveny řezy těmito orgány. Kořeny a stonky byly nejprve nařezány žiletkou na segmenty o velikosti 3-5 mm. Tyto části byly pak fixovány v roztoku FAA (formaldehyd-aceto-etanol), který je složen ze 70 % etanolu (90 ml), kyseliny octové (5 ml) a 40 % formaldehydu (5 ml). Neutralizace proběhla přidáním KOH. Ve fixačním činidle byly vzorky ponechány přes noc. Po fixování byly vzorky vypírány v destilované vodě 3x po

dobu 15 minut za účelem vymytí fixačního činidla. K odvodňování byla využita etanolová řada: postupně byly vzorky vkládány do 10, 30, 50, 70, 90 % etanolu (v každém 15 minut), 2x do 96 % etanolu (každý 45 minut) a 2x do 100 % etanolu (každý 45 minut). Infiltrace s xylenem probíhala v následujících roztocích:

EtOH/xylen 3:1, 60 minut

EtOH/xylen 1:1, 60 minut

EtOH/xylen 1:3, 60 minut

100 % xylene, 60 minut

100 % xylene přes noc

Do xyleny obsahující segmenty byl postupně přidáván parafin Paraplat Plus během zahřívání při teplotě 56° C. Xylen s parafinem a vzorky byl nejdříve ponechán 12 hodin při pokojové teplotě. Následně byl znovu přidán parafin a roztok byl inkubován 12 hodin při 42° C a 4 hodiny při 58° C. Dále byl roztok xyleny s parafinem postupně odebrán a nahrazen čistým parafinem při teplotě 58° C, až byly vzorky úplně převedeny do čistého parafinu. Segmenty se zalily do bločků, v horkém parafinu se vhodně naorientovaly a daly se zchladit, aby parafin zatuhl.

Takto připravené vzorky se řezaly na mikrotomu OE-908/1 (FOK-GYEM, Maďarsko), výsledné řezy byly 12 a 14 µm široké. Pruhy parafinu s řezy se daly do vodní lázně o teplotě 42° C, aby se narovnaly, byly přichyceny na podložní skla s pozitivním nábojem Super Frost plus (Menzel-Gläser, Německo) a byly položeny na topnou desku, aby zaschly a temperovaly se (42° C). Vzorky se musely poté odparafinovat a rehydratovat, to proběhlo následovně: skla ve stojanu byla vkládána postupně do 100 % xyleny (20 minut), 50 % xyleny a 50 % etanolu (10 minut), 100 % etanolu (10 minut) a následně opačně do etanolové řady (rehydratace): 96 % etanol (10 minut), 90, 70, 50, 30, 10 % etanol (každý 5 minut) a do destilované vody (10 minut). Nakonec byly vzorky nabarveny. Pro barvení byla použita toluidinová modř (0,025 %), ve které byly vzorky ponechány 10 minut, poté 3x vymyty v destilované vodě a inkubovány v 96 % etanolu (cca 5 minut) a ve 100 % etanolu (cca 5 minut). Skla se nechala okapat a osušit volně na vzduchu. Na suchá skla byl nanesen solakryl, překryla se krycím sklem a nechala zaschnout na vzduchu. Konečné vzorky byly pozorovány pod mikroskopem a fotografovány (NĚMEC a kol., 1962; PAZOURKOVÁ, 1982; JURČÁK, 1998; NOVÁČEK, 1982).

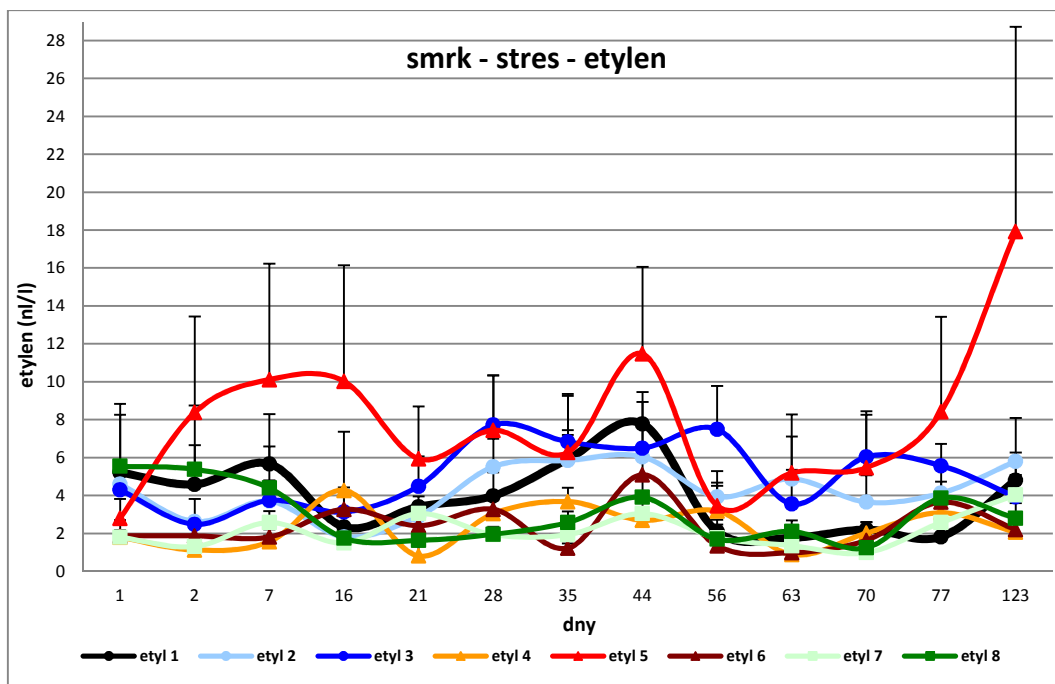
5 VÝSLEDKY A DISKUSE

5.1 Stanovení koncentrace etylenu, etanu a CO₂ v kultivační nádobě

Pokusy sledovaly růst smrku na médiích s různou hladinou cukru a PEG (médiá simulující stres ze sucha, MS 2-6) a na médiích bez agaru, s různou hladinou cukru (stres ze zamokření, MS 7-8) – viz tab. č.2. Koncentrace etylenu, etanu a CO₂ byla měřena po dobu 123 dní a měření bylo 2x opakováno s podobnými výsledky.

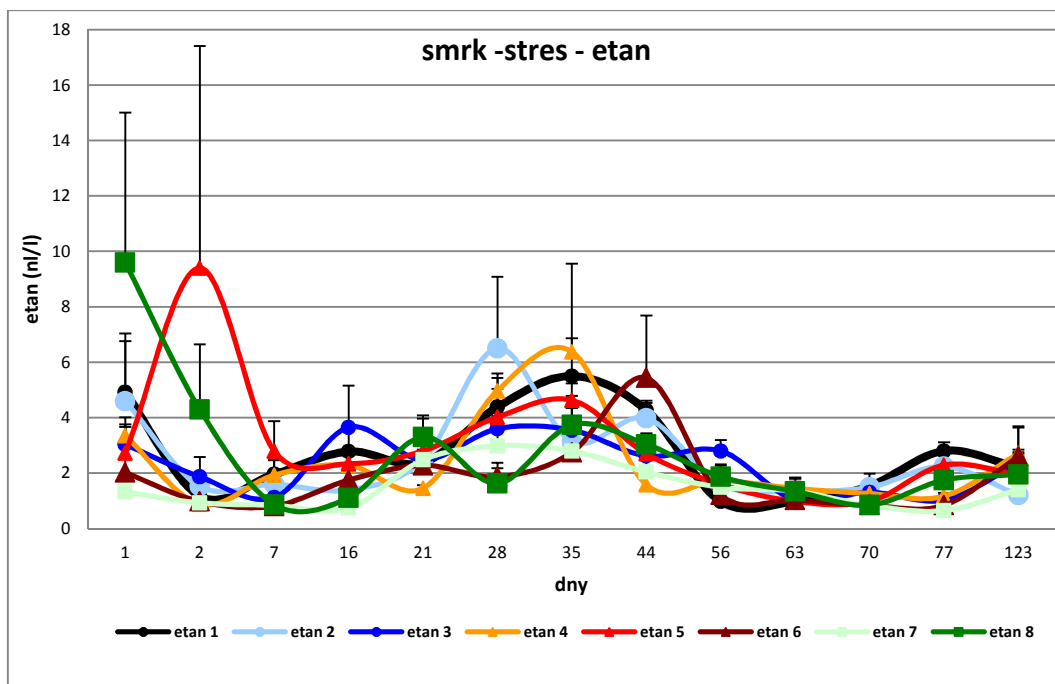
Po 24 hodinách snižovaly přidané látky koncentraci etylenu v kultivačních nádobách (obr. 7). Zvýšená koncentrace etylenu nastala po 48 hodinách u varianty přídatku 60 g.l⁻¹ PEGu a měla by být ukazatelem stresu rostlin, jak prokázala KUMMEROVÁ a kol. (2011), DVOŘÁKOVÁ (2014) a KIMMERER, KOZLOWSKI (1982). Koncentrace etylenu u kontrolní varianty byla do 7. dne vyšší, než u nádob s námi zvolenými variantami stresu, s výjimkou již zmíněného přídatku 60 g.l⁻¹ PEGu. Od 16. dne založení pokusu se začala zvyšovat koncentrace etylenu v kultivačních nádobách s přídatkem sacharózy. Koncentrace etylenu v nádobách simulující zamokření byla nižší, než u kontrolní varianty po dobu 2 měsíců, v závěru pokusu byly koncentrace obdobné. Podle uvedených výsledků smrk reaguje citlivěji na simulaci sucha než zamokření.

Dosažení maximálních hodnot v různých dnech může být dáno tím, že etylen je podle KUMMEROVÉ a kol. (2011) známý jako promotor smrti buněk, pletiv či celých orgánů rostlin nejen v průběhu vývoje rostlin, ale také v závislosti na přítomnosti stresorů. Biosyntéza etylenu však podle KIMMERERA, KOZLOWSKI (1982) vyžaduje živé buňky, když se nekrózy zvýší nad 50-80 %, produkce etylenu klesá. Můžeme tedy usuzovat, že v závislosti na závažnosti stresu rostliny pěstované na médiích, která dosáhla svého maxima dříve, byly více stresované a dříve u nich odumíraly buňky. Naopak dosažení maximálních hodnot 123. den měření u variant s přídatkem 60 g.l⁻¹ PEGu a zvýšeným obsahem sacharózy svědčí o tom, že tyto rostliny byly vystaveny vysoké míře stresu až do konce měření, ale buňky u nich neodumíraly a dále produkovaly vysoké hladiny etylenu.



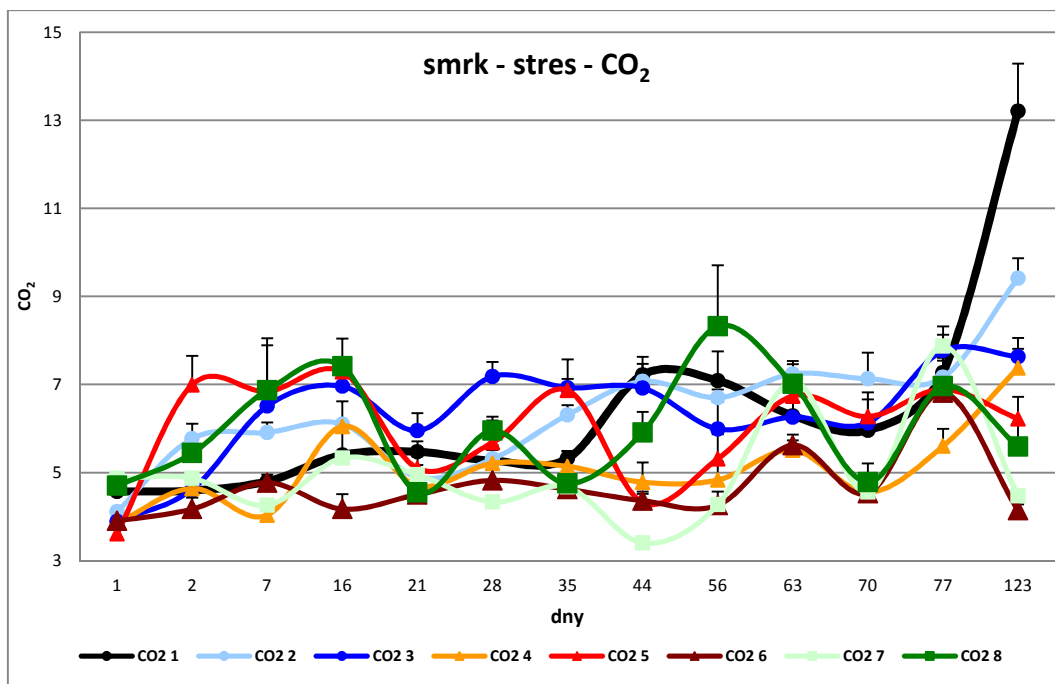
Obr. 7: Sledování koncentrace etylenu v kultivačních nádobách simulujících stresové podmínky – viz tab. 2

Koncentrace etanu po počátečních vysokých hodnotách u varianty zamokření a 60 g.l⁻¹PEGu a 60 g.l⁻¹ sacharózy dosáhla dalších maximálních hodnot u většiny médií v 35. dni měření, včetně kontroly (obr. 8). To by odpovídalo poznatkům KIMMERA, KOZLOWSKI (1982) o tom, že se produkce etanu zvyšuje před výskytem lézí, dokonce i před zvýšením hodnot koncentrace etylenu, které v našem pokusu byly zaznamenány 44. den. Další produkce etanu je reakcí na poranění, je tvořen poškozenými buňkami. V 8. týdnu od založení pokusu byla nejvyšší statisticky průkazná koncentrace etanu u varianty 60 g.l⁻¹ sacharózy v mediu.



Obr. 8: Sledování koncentrace etanu v kultivačních nádobách simulujících stresové podmínky – viz tab. 2

Koncentrace CO_2 u kontrolního média dosáhla maximální hodnoty až 123. den hodnocení a byla vyšší než u ostatních médií (obr. 9). To znamená, že na rozdíl od kontroly mají rostliny na médiích simulujících stresové podmínky nižší fotosyntetickou kapacitu než rostliny pěstované na kontrolním médiu. Do 5. týdne od založení pokusu byla koncentrace u simulace stresu suchem (60 g.l^{-1} PEG, 90 a 60 g.l^{-1} sacharóza) a zamokření vyšší, než kontrolní varianta. Segmenty podnože révy vinné Kober 125 AA měly vyšší koncentraci CO_2 v kultivačních nádobách kontrolní varianty od 3. do 36. dne (DVOŘÁKOVÁ, 2014) než u variant simulujících stres, u smrku nastává tato vyšší koncentrace CO_2 u kontroly až od 44. dne založení pokusu.



Obr. 9: Sledování koncentrace CO₂ v kultivačních nádobách simulujících stresové podmínky – viz tab. 2

5.2 Změna O₂, kvantový výtěžek fotosyntézy a růstové parametry

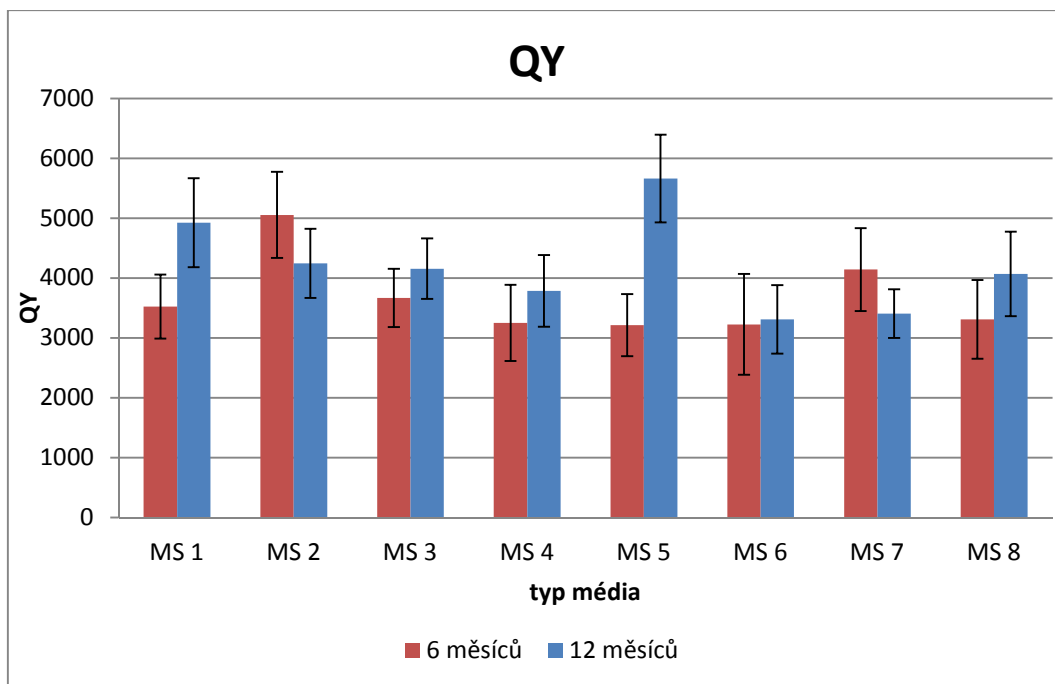
Změna O₂ byla měřena u 1. pokusu po 12 měsících kultivace, u 2. pokusu po 6 měsících kultivace kyslíkovou elektrodou digitálním oxymetrem GMH 3691. Naměřené hodnoty jsou zaznačeny v tab. 3. Nejnižší hodnoty byly naměřeny u variant simulujících prostředí zamokření. Rozdíly hodnocení obsahu kyslíku v kultivačních nádobách jsou však nepatrné a nemají vypovídající hodnotu, která by podpořila výsledky práce vlivu stresu na klíčící rostliny smrku. Je to způsobeno občasným přepasážením v průběhu pokusu a dlouhou dobou od založení pokusu k hodnocení množství kyslíku v kultivační nádobě. Měřit změny hladin O₂ v průběhu sledování digitálním oxymetrem nelze, neboť by byla porušena sterilita kultivačních nádob s rostlinou. Myšlenku zvýšené spotřeby kyslíku stresovanou rostlinou – tak jak je uvedeno v práci MACO (2016) u hlízek brambor, se nám prokázat nepodařilo.

Tab. 3: Změna koncentrace O₂ v kultivačních nádobách simulujících stresové podmínky – viz tab. 2

	Změna O ₂	
	6 měsíců sledování	12 měsíců sledování
MS 1	21	20,7
MS 2	21,05	20,7
MS 3	21	20,65
MS 4	21	20,6
MS 5	21	20,6
MS 6	21,05	20,6
MS 7	21	20,5
MS 8	21	20,5

Velikost kvantového výtěžku fotosyntézy (kvantového výtěžku elektronového transportu fotosystému II, QY) byla měřena u 1. pokusu po 12 měsících kultivace, u 2. pokusu po 6 měsících kultivace pomocí přístroje FluorPen FP 100, firmy PhotonSystem. Měření proběhlo přiložením přístroje na jehlice semenáčků, byly měřeny hodnoty u 10 rostlin z každé varianty (MS1-8), z nich byly vytvořeny průměry, spočtena střední chyba a výsledky byly zaneseny do grafu (obr. 10).

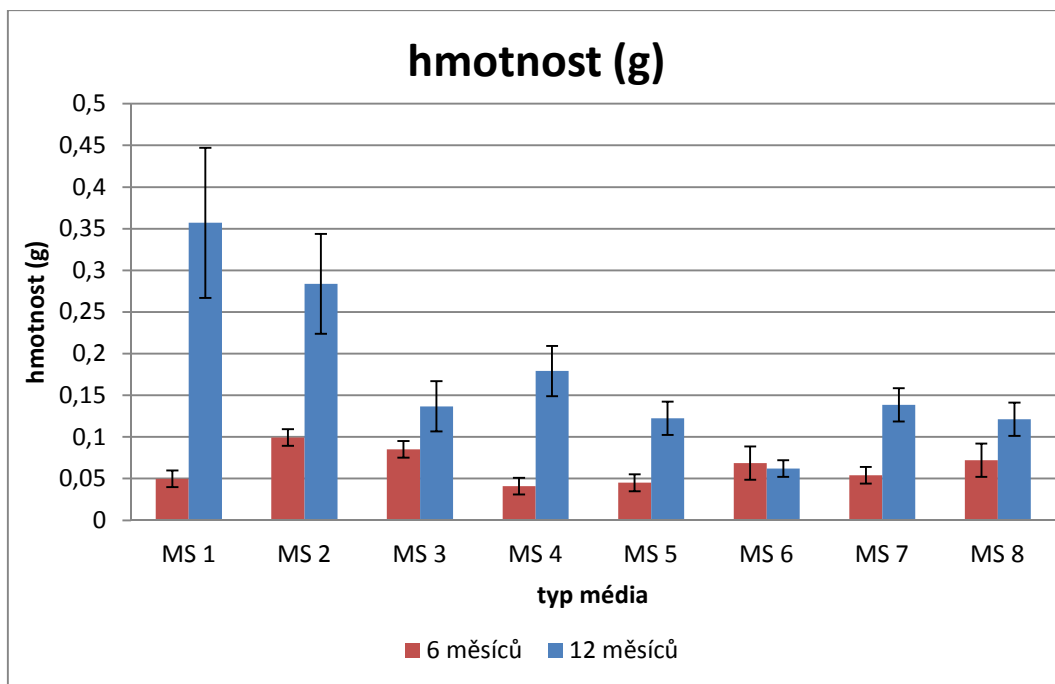
V průběhu časového sledování se rychlost fotosyntézy u rostlin zvyšovala kromě varianty 60 g.l⁻¹ sacharózy a simulace zamokření s 20 g.l⁻¹ sacharózy, i když rozdíly nejsou statisticky průkazné. Zvýšení oproti kontrole nastalo pouze u varianty – 60g.l⁻¹ PE-Gu – obdobné výsledky uvádí DVOŘÁKOVÁ (2014) u segmentů podnože révy vinné Kober 125 AA.



Obr. 10: Hodnocení kvantového výtěžku fotosyntézy (QY) v kultivačních nádobách simulujících stresové podmínky– viz tab. 2

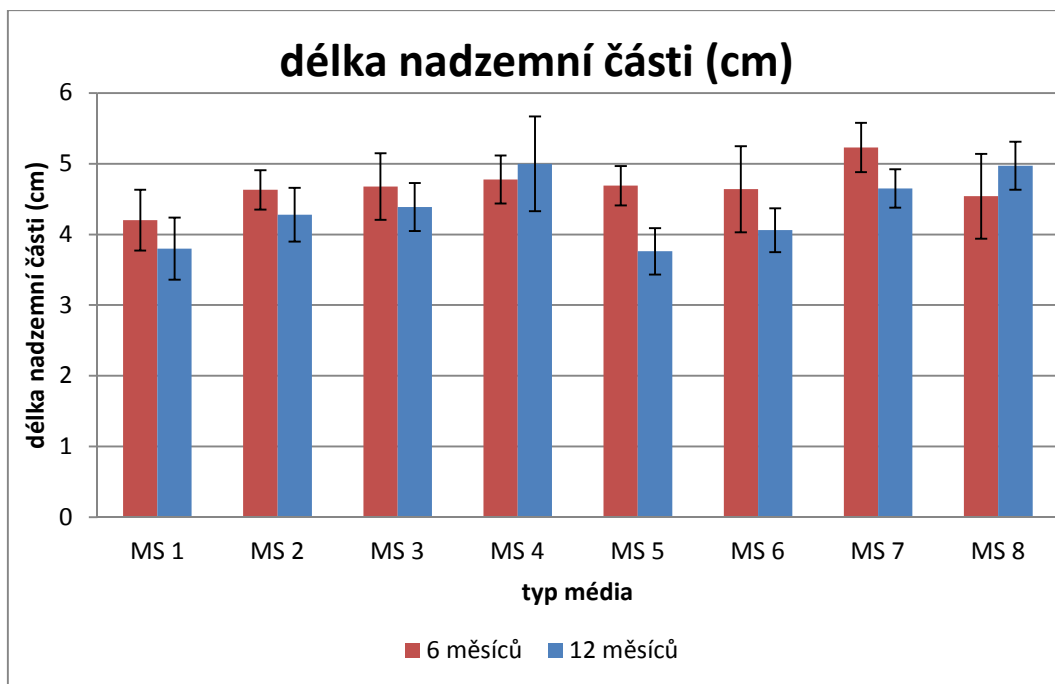
Růstové parametry rostlin (hmotnost, délka kořene, délka nadzemní části, průměr krčku) byla hodnoceny u 1. pokusu po 12 měsících kultivace, u 2. pokusu po 6 měsících kultivace, vždy u 10 rostlin z každé varianty (MS1-8), z nich byly vytvořeny průměry, spočtena střední chyba a výsledky byly zaneseny do grafů. Byl také zhodnocen vzhled rostlin a jednotlivé varianty byly nafoceny – obr. č 15-30.

Nárůst hmotnosti za půl roku u kontrolní varianty byl 0,3 g, což u stresovaných variant nebylo dosaženo. Hmotnost rostlin (g) po 12 měsících kultivace byla u všech variant médií simulujících stresové podmínky (MS 2-8) nižší než hmotnost u rostlin rostoucích na kontrolním médiu, nejnižší hodnota byla naměřena u varianty s přidavkem 90 g.l⁻¹ PEGu, tedy varianty simulující nejhorší stres ze sucha. Hmotnost stresovaných rostlin je po 12 měsících statisticky průkazně snížena. U segmentů révy vinné podnože Kober 125 AA naopak uvádí DVOŘÁKOVÁ (2014) zvyšující se hmotnost u stresovaných rostlin oproti kontrole. Graf hodnotící hmotnost rostlin je znázorněn na obr. 11.



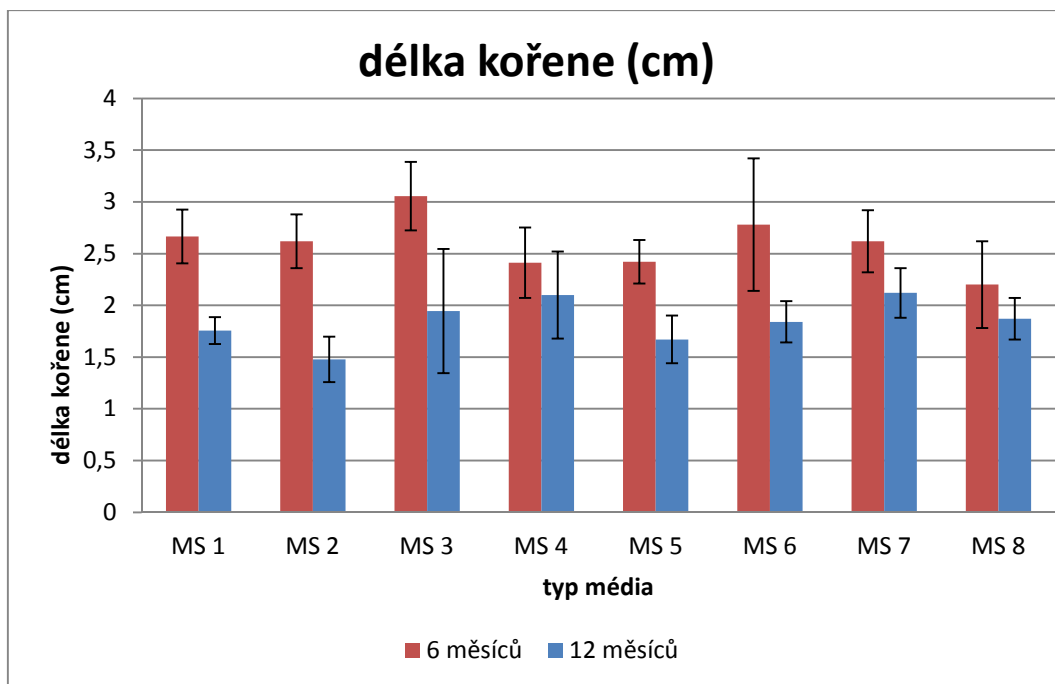
Obr. 11: Hodnocení hmotnosti rostlin (g) v kultivačních nádobách simulujících stresové podmínky – viz tab. 2

Délka nadzemní části (cm) vykazovala neprůkazně vyšší hodnoty u médií simulujících stresové podmínky než u kontrolního média po 6 i 12 měsících kultivace. Poznatek, že v druhé polovině sledování pokusu se délka oproti hodnocení po 6 měsících snižuje, je zapříčiněn tloušťnutím stonku – což dokazuje graf obr. 14 znázorňující průměr krčku rostlin. Graf hodnotící délku nadzemní části rostlin je znázorněn na obr. 12. Statisticky průkazné zvýšení délky rostliny u varianty přidavku 30g.l^{-1} PEGu zaznamenala i DVOŘÁKOVÁ (2014) u stejné varianty stresu u segmentů révy vinné podnože Kober 125 AA.



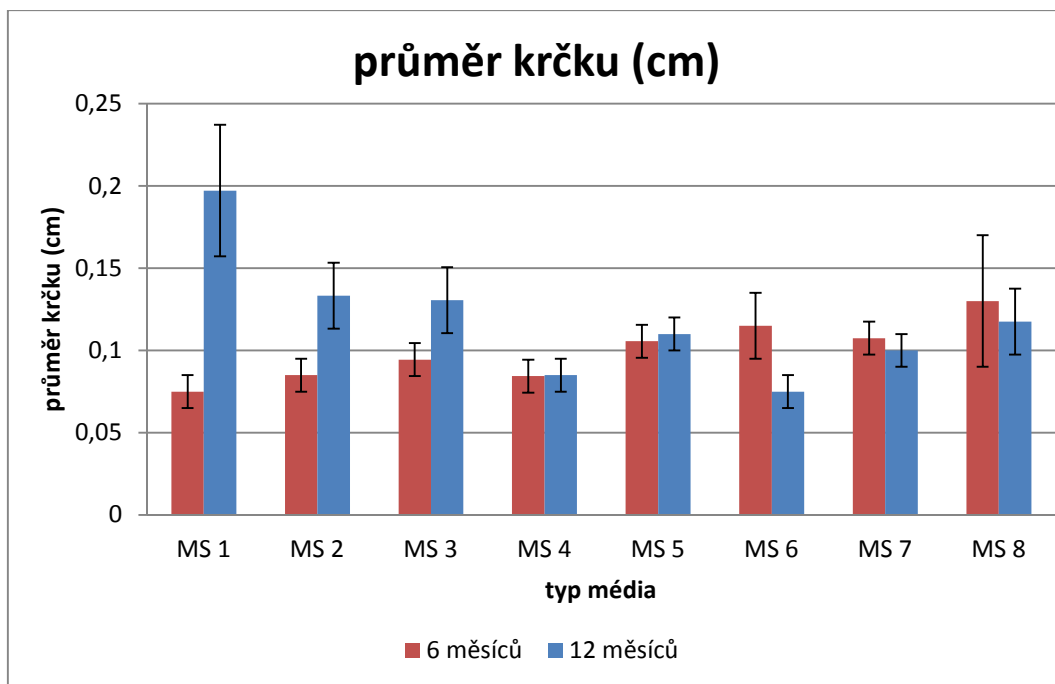
Obr. 12: Hodnocení délky nadzemní části (cm) v kultivačních nádobách simulujících stresové podmínky – viz tab. 2

Délka kořene (cm) byla po půl roce kultivace statisticky neprůkazně kratší u rostlin rostoucích na médiu simulujícím stres zamokření a s přidavkem 30 a 60 g.l⁻¹ PEGu. Po 12 měsících měly kratší kořeny než kontrola pouze rostliny rostoucí na variantě s 60 g.l⁻¹ sacharózy. Vyšší délka kořene může být dána u rostlin stresovaných suchem tím, že se rostliny snaží získat vodu z čím dál větších hloubek. Celkové zkrácení délek kořenů v závěru hodnocení pokusu je způsobeno jeho tloušťnutím. Graf znázorňující porovnání jednotlivých délek kořenů (cm) je znázorněn na obr. 13.



Obr. 13: Hodnocení délky kořene (cm) v kultivačních nádobách simulujících stresové podmínky – viz tab. 2

Průměr krčku (mm) byl po 6 měsících kultivace u všech variant simulujících stresové podmínky vyšší než u kontrolní varianty – což může být způsobeno i zpětně vlivem zvyšující se koncentrace etylenu v kultivační nádobce. Po 12 měsících je naopak u všech stresovaných variant průměr krčku nižší, než u kontrolní varianty, která za půl roku zesílila o 10 mm. Vodní stres způsobuje pokles šířky letokruhů i pokles přírůstku dřeva, jak prokázali RYBNÍČEK (2012), GRYC (2011) a BODEN a kol. (2013), čemuž odpovídají výsledky po 12 měsících kultivace. Graf znázorňující naměřené hodnoty průměru krčku (mm) je zobrazen na obr. 14.



Obr. 14: Hodnocení průměru krčku (cm) v kultivačních nádobách simulujících stresové podmínky – viz tab. 2

HODNOCENÍ VZHLEDU ROSTLIN A FOTOGRAFIE

6 měsíců kultivace

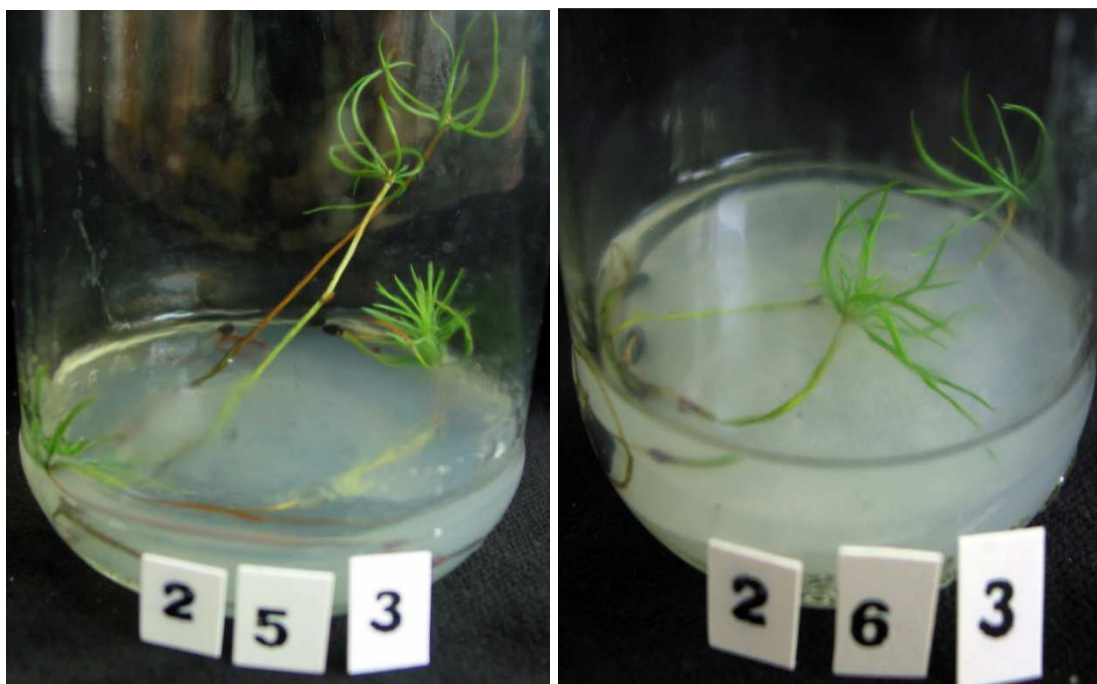
Rostliny rostoucí na kontrolním médiu měla nejnižší průměr krčku a jsou znázorněny na obr. 15. Rostliny kultivované na médiu s 60 g.l^{-1} sacharózy měly vyšší hmotnost, vyšší délku stonku i vyšší průměr krčku než kontrola (obr. 16). Rostliny rostoucí na médiu s 90 g.l^{-1} sacharózy převyšovaly všechny růstové parametry kontrolních rostlin (obr. 17). Rostliny kultivované na médiu s 30 g.l^{-1} PEGu měly vyšší průměr krčku a vyšší délku nadzemní části než rostliny kultivované na kontrolním médiu, je u nich však patrné zasychání a hnědnutí jehlic (obr. 18). Rostliny rostoucí na médiu s 60 g.l^{-1} PEGu měly vyšší průměr krčku a vyšší délku nadzemní části než kontrola, byly ale křehké a na médiu často polehávaly z důvodu kratších kořenů (obr. 19). Rostliny rostoucí na médiu s 90 g.l^{-1} PEGu převyšovaly všechny růstové parametry kontrolních rostlin, ale byly křehké s drobnými jehlicemi, u kterých se objevovalo žloutnutí (obr. 20). U rostlin rostoucích na médiích simulujících zamokření byly naměřeny vyšší hodnoty hmotnosti, průměru krčku a nadzemní části než u rostlin kultivovaných na kontrolním médiu (obr. 21,22). Celkově se podle vzhledu rostlin po 6 měsících zdálo, že sucho škodí rostlinám více než zamokření.



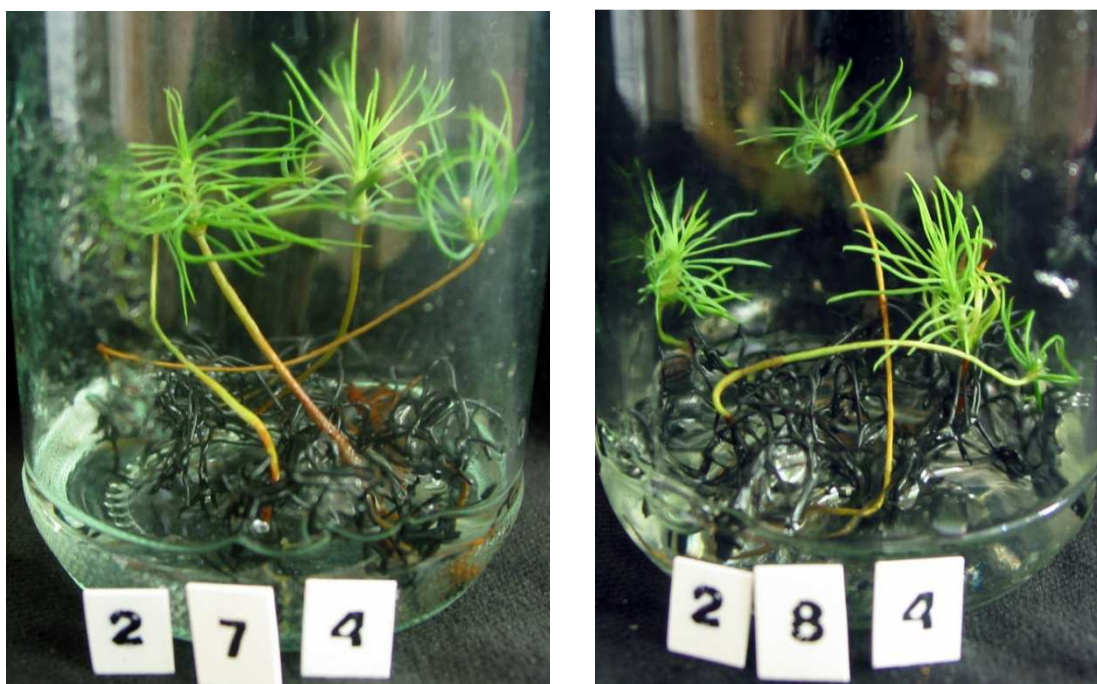
Obr. 15, 16: Rostliny smrku kultivované 6 měsíců na kontrolním médiu (2.1.5) a na médiu s 60 g.l⁻¹ sacharózy (2.2.2)



Obr. 17, 18: Rostliny smrku kultivované 6 měsíců na médiu s 90 g.l⁻¹ sacharózy (2.3.1) a 30 g.l⁻¹ PEGu (2.4.3.)



Obr. 19, 20: Rostliny smrku kultivované 6 měsíců na médiu s 60 g.l^{-1} PEGu (2.5.3) a 90 g.l^{-1} PEGu (2.6.3.)

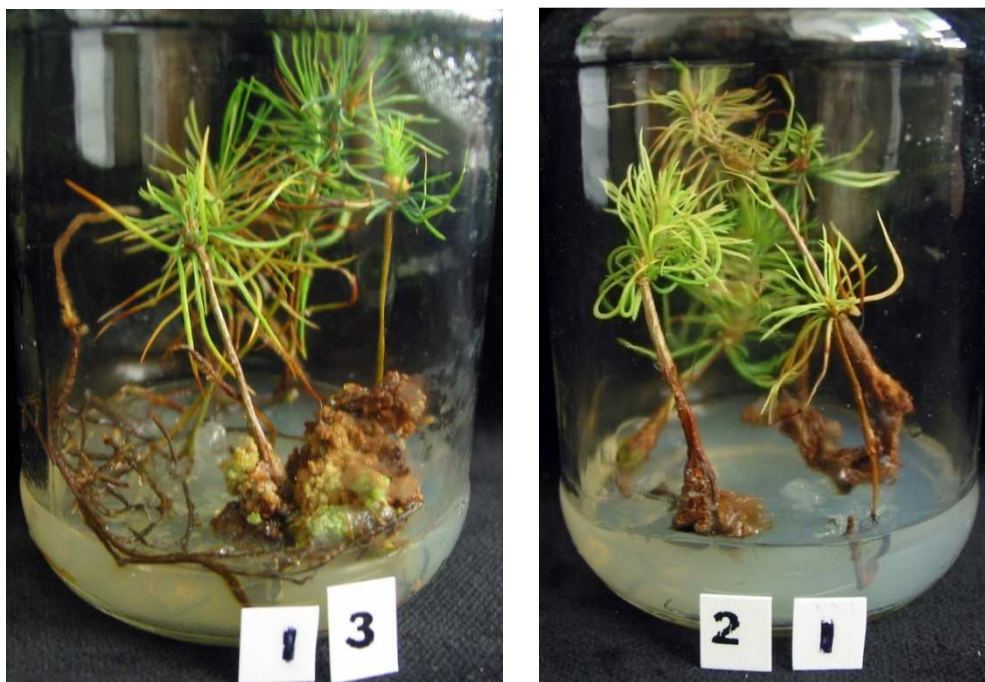


Obr. 21, 22: Rostliny smrku kultivované 6 měsíců na médiu bez agaru, s 20 g.l^{-1} sacharózy (2.7.4) a 30 g.l^{-1} sacharózy (2.8.4)

12 měsíců kultivace

Rostliny kultivované na kontrolním médiu měly nejvyšší hmotnost a nejvyšší průměr krčku, v závěru pokusu se u nich tvořil kalus (obr. 23). Rostliny rostoucí na

médiu s 60 g.l^{-1} sacharózy měly vyšší délku nadzemní části než kontrolní rostliny, v závěru pokusu se u nich též tvořil kalus (obr. 24). Rostliny kultivované na médiu s 90 g.l^{-1} sacharózy měly vyšší délku nadzemní části a kořene než kontrolní rostliny. V závěru pokusu bylo viditelné výrazné žloutnutí jehlic (obr. 25). U rostlin rostoucích na médiu s přídavkem 30 g.l^{-1} PEGu byla naměřena vyšší délka nadzemní části a délka kořene než u kontroly, v závěru pokusu bylo viditelné žloutnutí až hnědnutí jehlic (obr. 26). Rostliny rostoucí na médiu s přídavkem 60 g.l^{-1} PEGu měly nižší hodnoty všech růstových parametrů v porovnání s kontrolními rostlinami (obr. 27). Přidání 90 g.l^{-1} PEGu do média působilo na rostliny tak, že měly vyšší délku nadzemní části a kořene než kontrolní rostliny, měly však nižší průměr krčku a byly celkově křehké s úzkými jehlicemi (obr. 28). Rostliny rostoucí na médiích simulujících zamokřené prostředí měly vyšší délku nadzemní části a kořene než kontrolní rostliny. Zpočátku rostlinám zvýšené zamokření prospívalo, v závěru pokusu bylo pozorovatelné hnědnutí a opadávání jehlic (obr. 29, 30). Po 12 měsících kultivace byly patrné nepříznivé vlivy stresových podmínek sucha i zamokření.



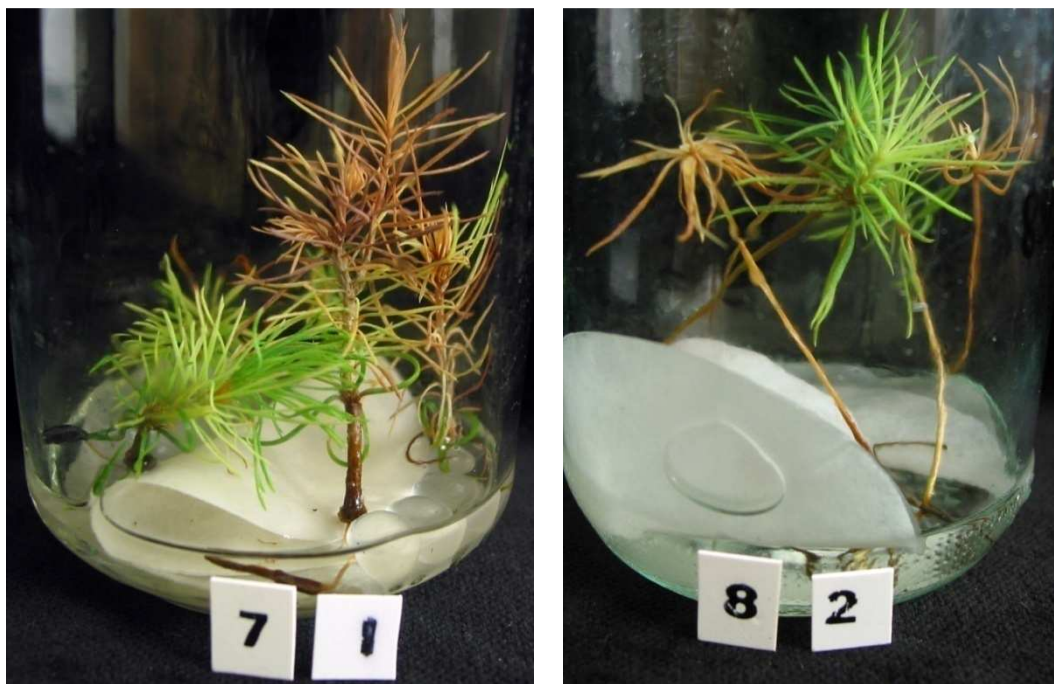
Obr. 23, 24: Rostliny smrku kultivované 12 měsíců na kontrolním médiu (1.3) a na médiu s 60 g.l^{-1} sacharózy (2.1)



Obr. 25, 26: Rostliny smrku kultivované 12 měsíců na médiu s 90 g.l^{-1} sacharózy (3.2) a 30 g.l^{-1} PEGu (4.1)



Obr. 27, 28: Rostliny smrku kultivované 12 měsíců na médiu s 60 g.l^{-1} PEGu (5.1) a 90 g.l^{-1} PEGu (6.3)



Obr. 29, 30: Rostliny smrku kultivované na médiu bez agaru, s 20 g.l⁻¹ sacharózy (7.1) a 30 g.l⁻¹ sacharózy (8.1)

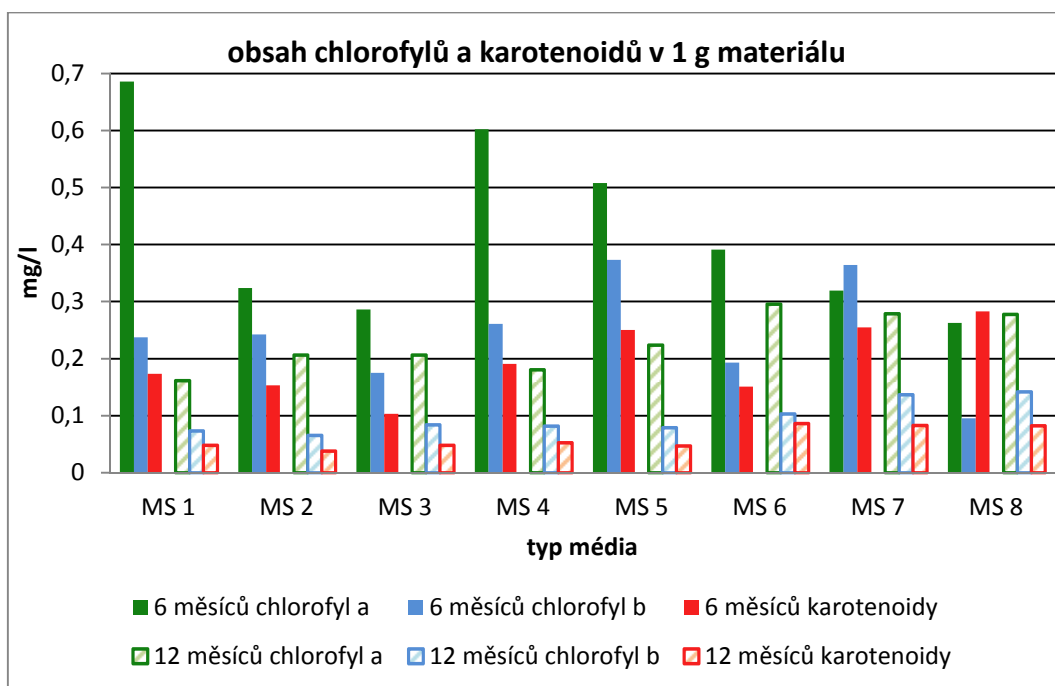
5.3 Obsah chlorofylů a karotenoidů

Obsah chlorofylu a, b a karotenoidů byl zhodnocen z odebraných jehlic rostlin kultivovaných na médiích MS 1-8 (viz tab. 2) z každého pokusu, a to spektrofotometrickou metodou. Graf hodnotící obsah jednotlivých barviv po 6 a 12 měsících kultivace rostlin je znázorněn na obr. 31.

Obsah chlorofylu a byl po 6 měsících kultivace nižší u všech médií simulujících stresové podmínky než u kontrolního média, po 12 měsících naopak vyšší. Obsah chlorofylu b byl po 6 měsíční kultivaci nižší u médií s 90 g.l⁻¹ sacharózy, 90 g.l⁻¹ PEG a média bez agaru s 30 g.l⁻¹ sacharózy, po 12 měsících nižší u média s přídavkem 60 g.l⁻¹ sacharózy. Obsah karotenoidů byl nižší po 6 i 12 měsících u médií s navýšeným množstvím sacharózy. Po 12 měsících kultivace je celkový obsah rostlinných barviv nižší než po 6 měsících, to může být dáno tím, že po roce už se na jehlicích projevvalo působení stresových faktorů (opadávání, žloutnutí).

Podle ZEMÁNKA a kol. (2004) by stresové podmínky měly způsobovat nižší obsah pigmentů. Pigmentový systém, mající důležitou úlohu v prvotních fotosyntetických procesech a ve fotosyntetických reakcích reaguje na nepříznivé podmínky rozpadem chlorofylu. Naproti tomu LIU, HUANG (2000) uvádějí, že vyšší obsah chlorofylu při vod-

ním a teplotním stresu je považován za indikátor suchovzdornosti. Podle YORDANOVA a kol. (2003) zvýšený obsah karotenoidů při nedostatku vody může poukazovat na zvýšení antioxidační obrany.



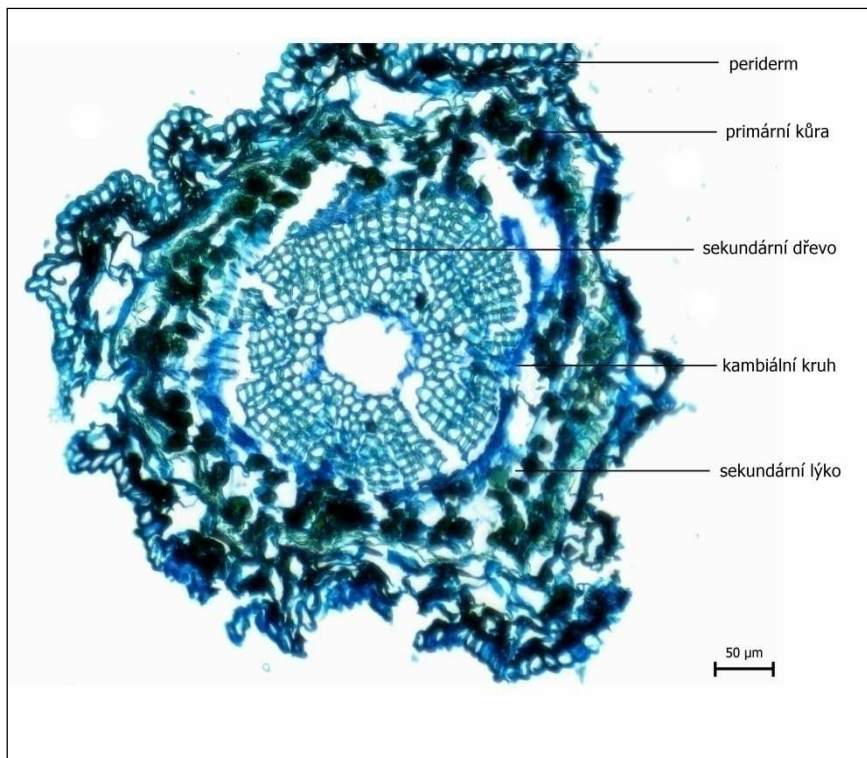
Obr. 31: Hodnocení obsahu chlorofylu a, b a karotenoidů v 1 g materiálu, v kultivačních nádobách simulujících stresové podmínky – viz tab. 2

5.4 Hodnocení anatomických změn ve stonku a kořeni smrku

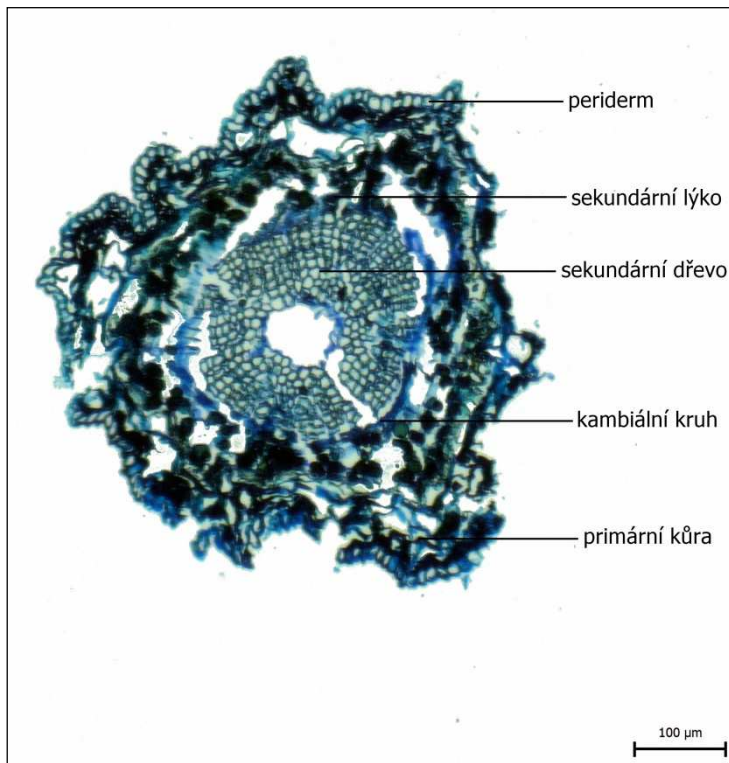
Hodnocení anatomických změn ve stonku a kořeni smrku proběhlo během února-dubna 2016. Vzhledem k tomu, že na hodnocení byly použity rostliny, které nebyly již delší dobu pasážovány na nové médium, nebyly výsledné řezy příliš kvalitní. To se týkalo i rostlin kultivovaných na kontrolním médiu, proto rozdíly mezi rostlinami rostoucími na tomto médiu a ostatních médiích simulujících stresové podmínky nejsou průkazné. Podle OSAKABE a kol. (2011) a BODENA a kol. (2014) způsobuje stres ze sucha silnější poškození pletiv, redukci tvorby nových buněk lýka a dřeva, ovlivňuje aktivitu kambia, diferenciační proces anatomických prvků a tím i výsledné šířky letokruhů. Byl prokázán i menší radiální průměr orgánů. Dehydratace způsobuje také zvýšenou aktivitu enzymů účastnících se biosyntézy ligninu, proto orgány ve větší míře dřevnatí. U stresu z nadbytku vody by se měly tvořit výrazné mezibuněčné prostory (interceluláry), ty se v našem pokusu však tvořily pouze v malé míře.

U kořenů smrků kultivovaných na médiu s 90 g.l^{-1} a s 90 g.l^{-1} je pozorovatelný zmenšený průměr dřevní části oproti kontrole. U kořenů a stonků kultivovaných na médiích simulujících zamokřené prostředí je podíl dřevní části naopak vyšší než u kontrolních rostlin. V primární kůře se objevují zbarvené části, které by mohly být amyloplasty, vzhledem k tomu, že toluidinová modř patří mezi bazická barviva a barví objekty kyselé povahy. Pro pozorování lignifikace by bylo vhodné použít např. činidlo floroglucin, nebo využít metody fluorescenční mikroskopie. Pozorování a hodnocení anatomických změn by bylo vhodné zopakovat s mladšími rostlinami, aby byly pozorované rozdíly průkazné.

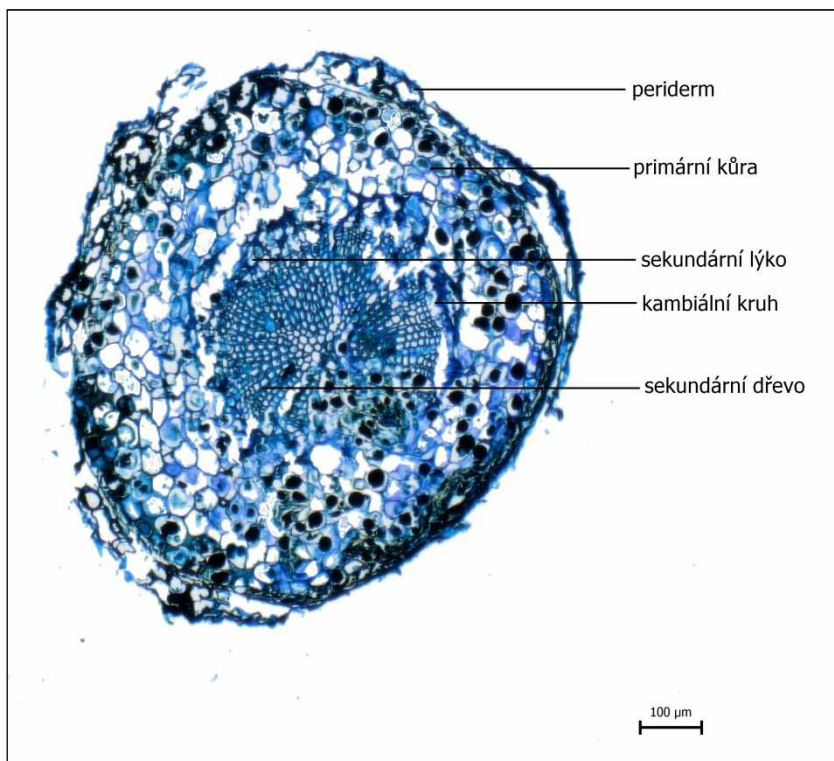
Řezy jednotlivými stonky a kořeny jsou znázorněny na obr. 32-49.



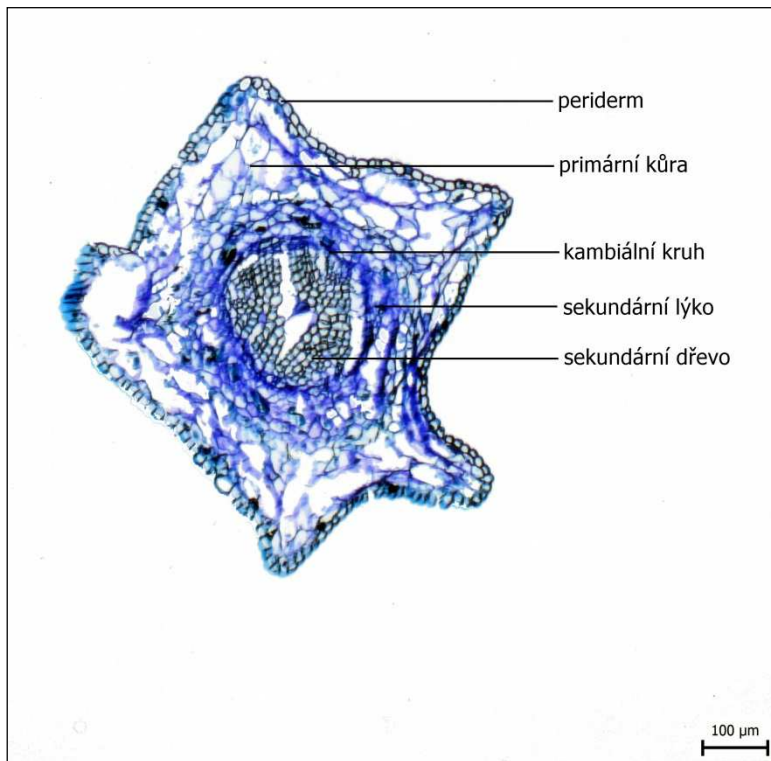
Obr. 32: Řez kořenem smrku kultivovaném na kontrolním médiu, detail



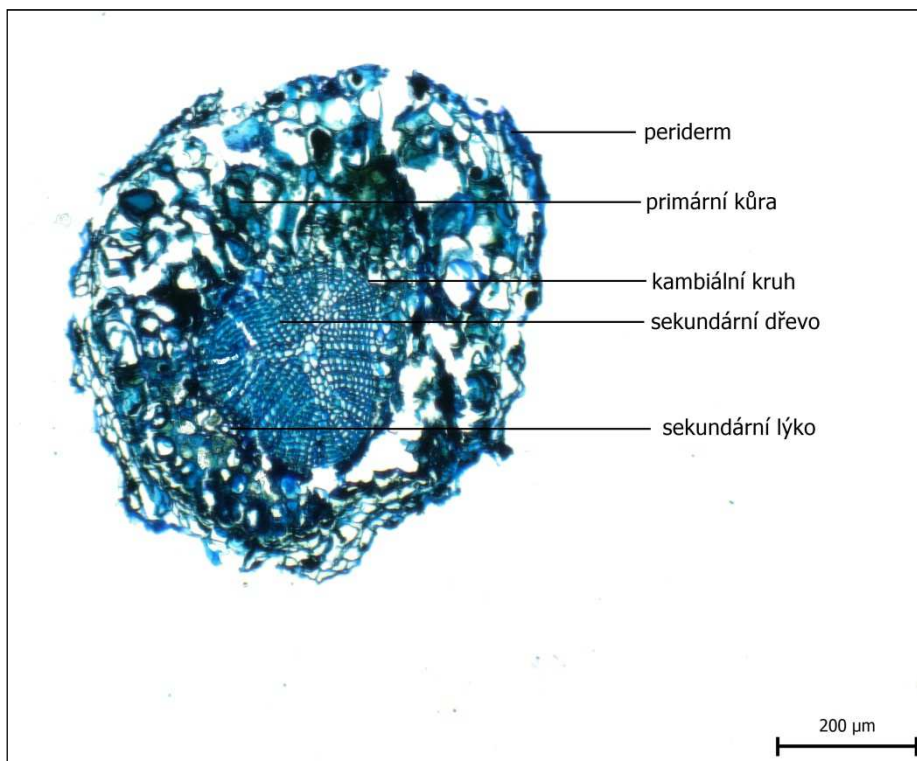
Obr. 33: Řez kořenem smrku kultivovaném na kontrolním médiu



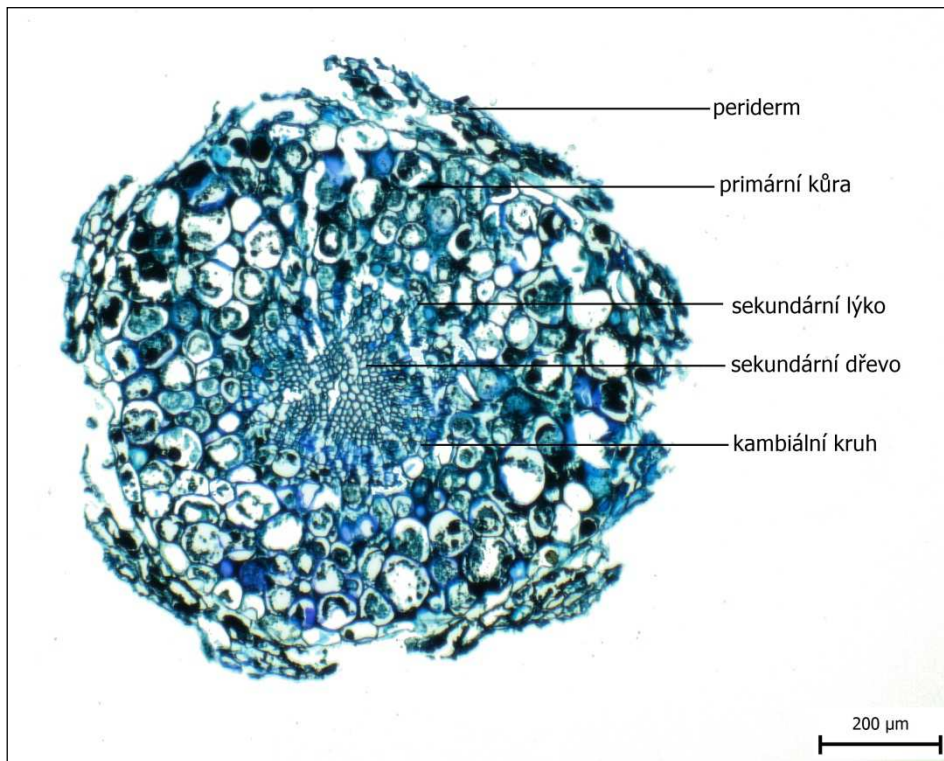
Obr. 34: Řez kořenem smrku kultivovaném na médiu s 60 g.l⁻¹ sacharózy



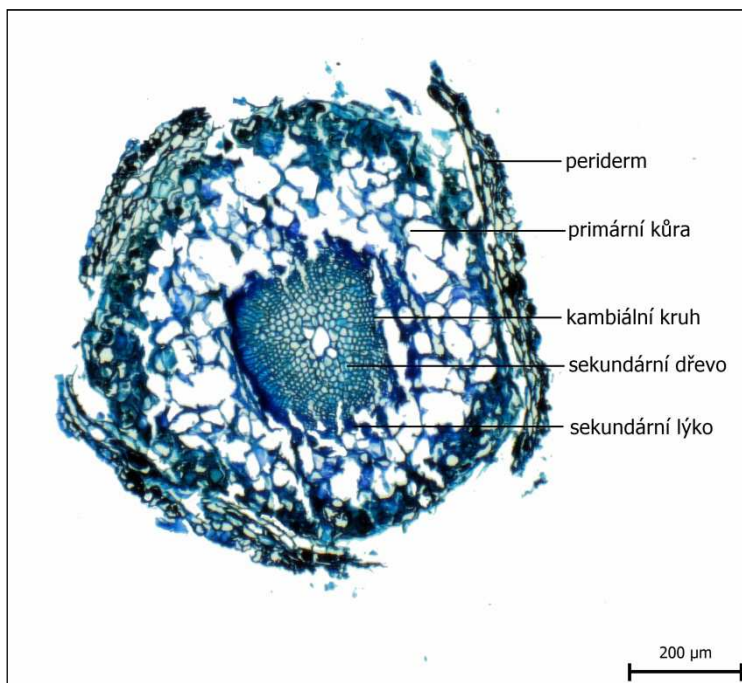
Obr. 35: Řez kořenem smrku kultivovaném na médiu s 90 g.l⁻¹ sacharózy



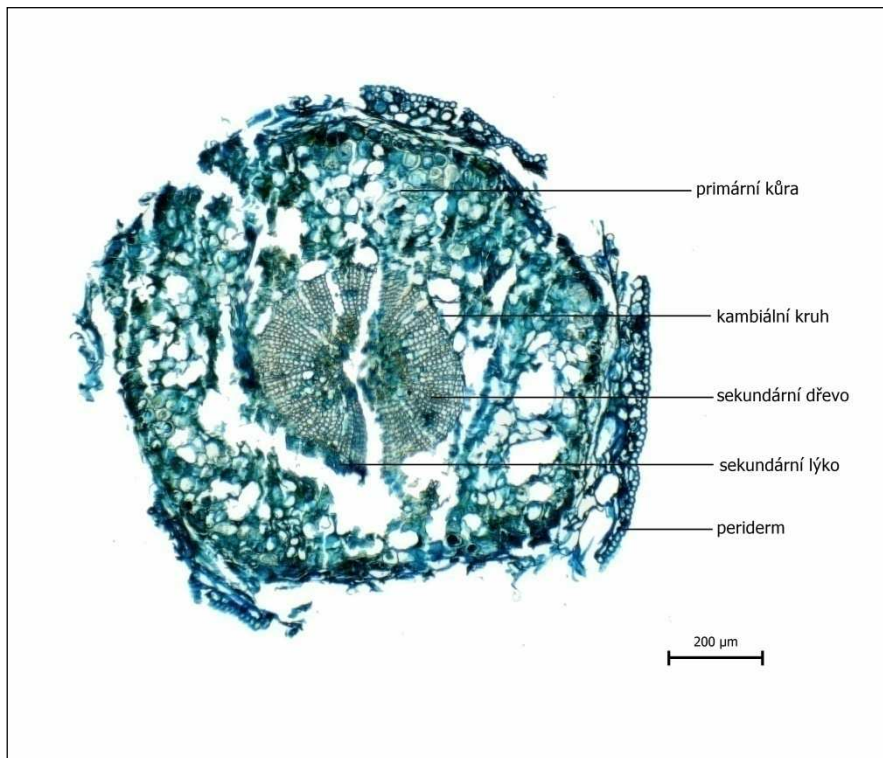
Obr. 36: Řez kořenem smrku kultivovaném na médiu s přidavkem 30 g.l⁻¹ PEGu



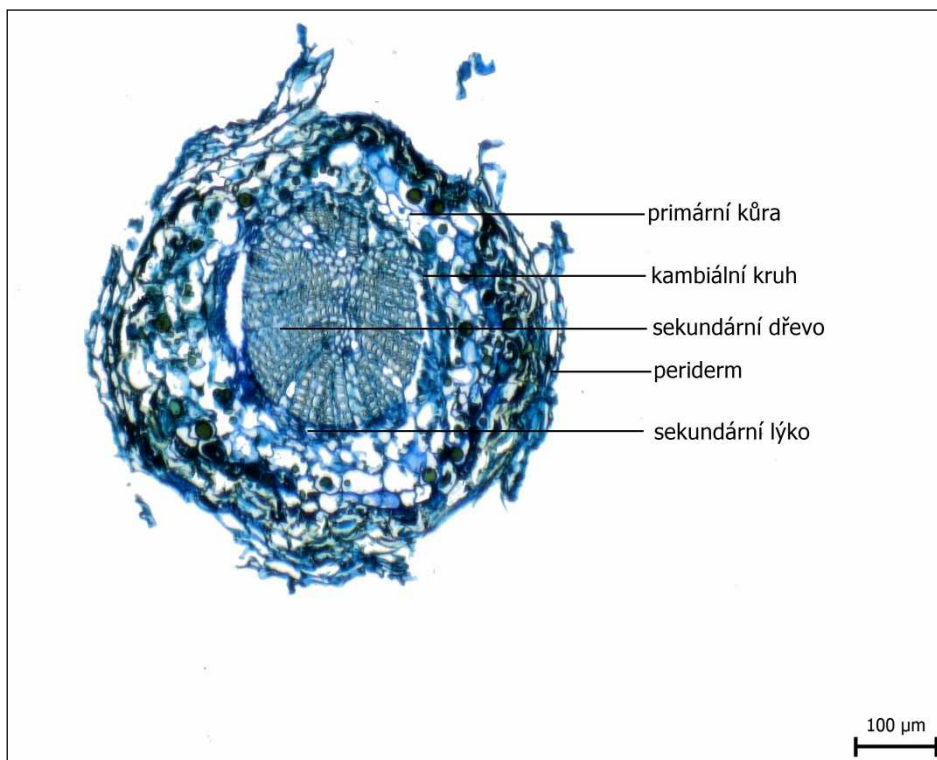
Obr. 37: Řez kořenem smrku kultivovaném na médiu s přídavkem 60 g.l^{-1} PEGu



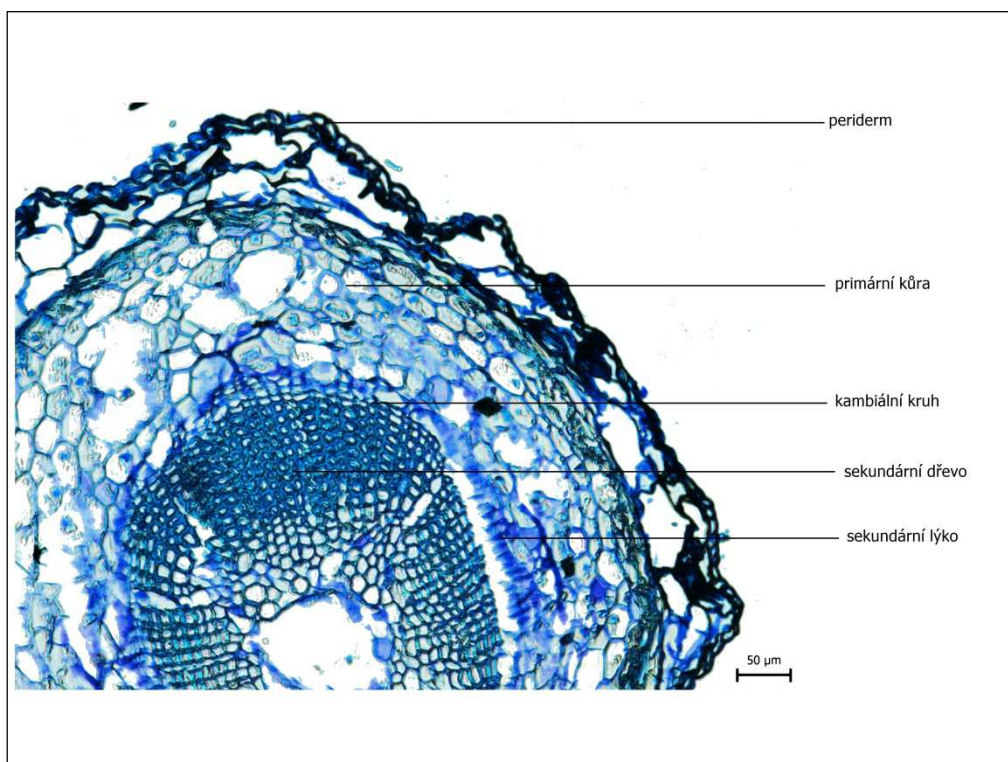
Obr. 38: Řez kořenem smrku kultivovaném na médiu s přídavkem 90 g.l^{-1} PEGu



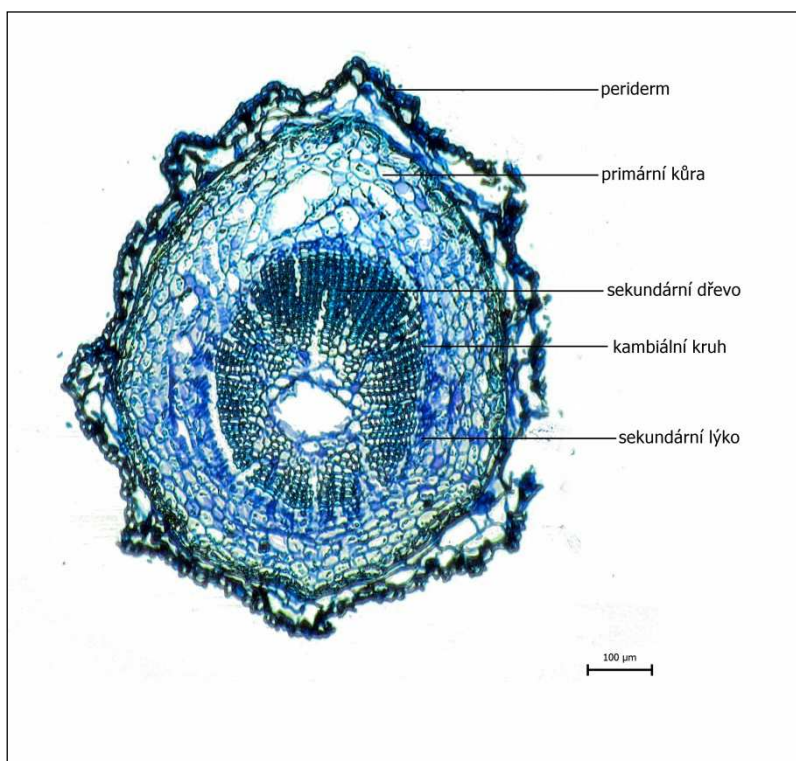
Obr. 39: Řez kořenem smrku kultivovaném na médiu bez agaru, s 20 g.l^{-1} sacharózy



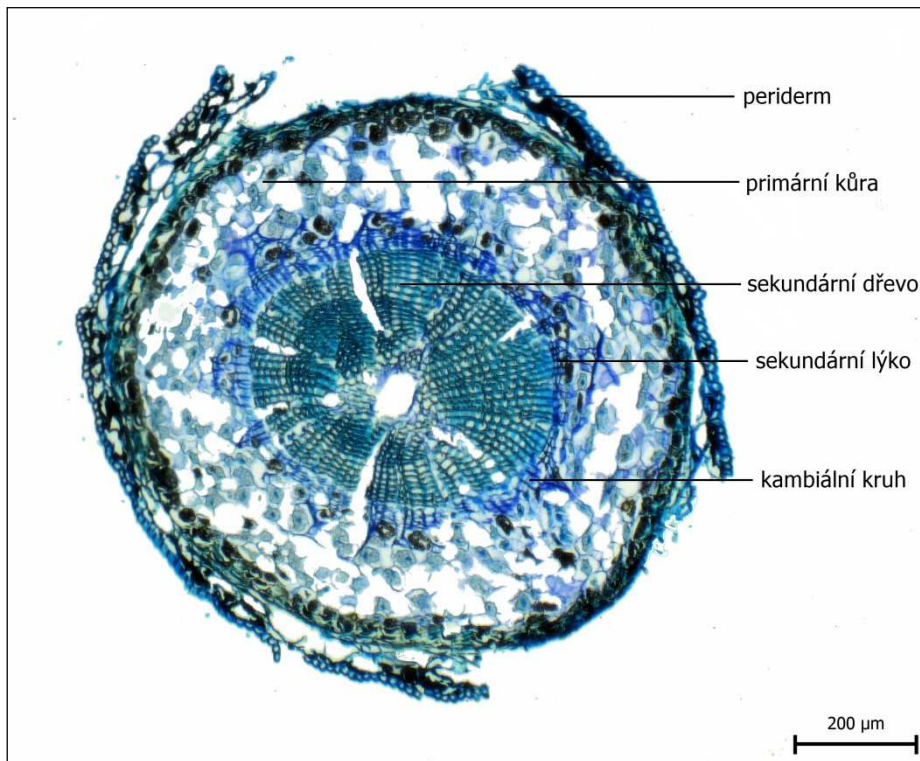
Obr. 40: Řez kořenem smrku kultivovaném na médiu bez agaru, s 30 g.l^{-1} sacharózy



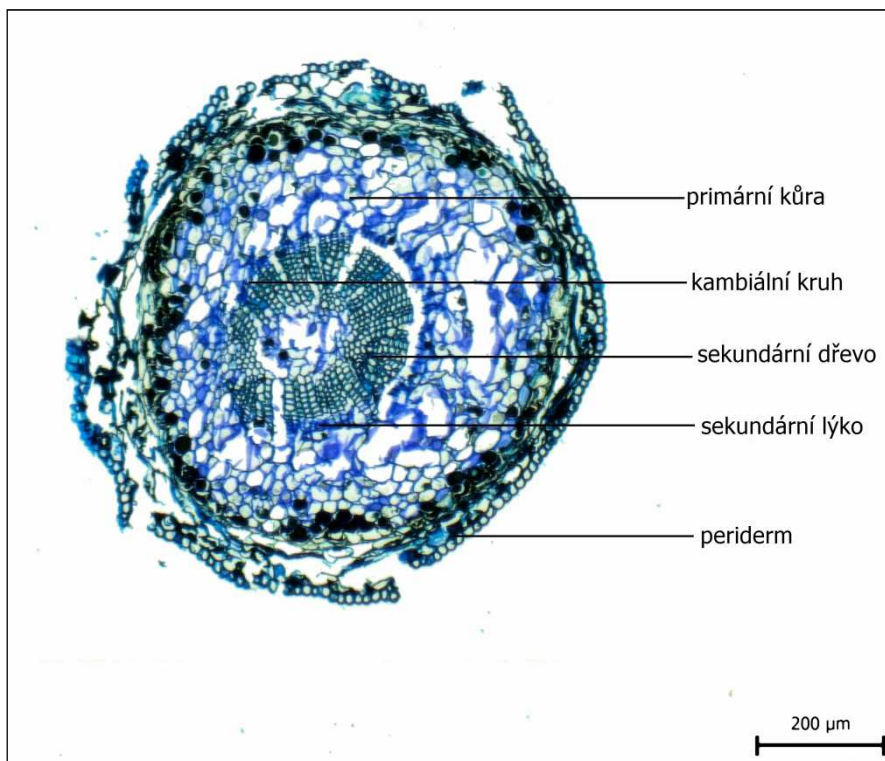
Obr. 41: Řez stonku smrku kultivovaném na kontrolním médiu, detail



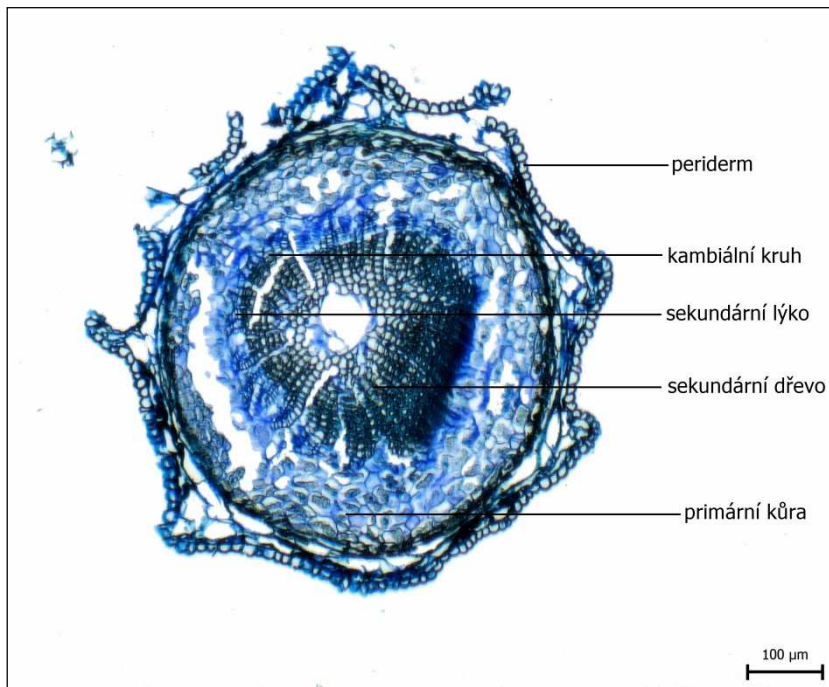
Obr. 42: Řez stonkem smrku kultivovaném na kontrolním médiu



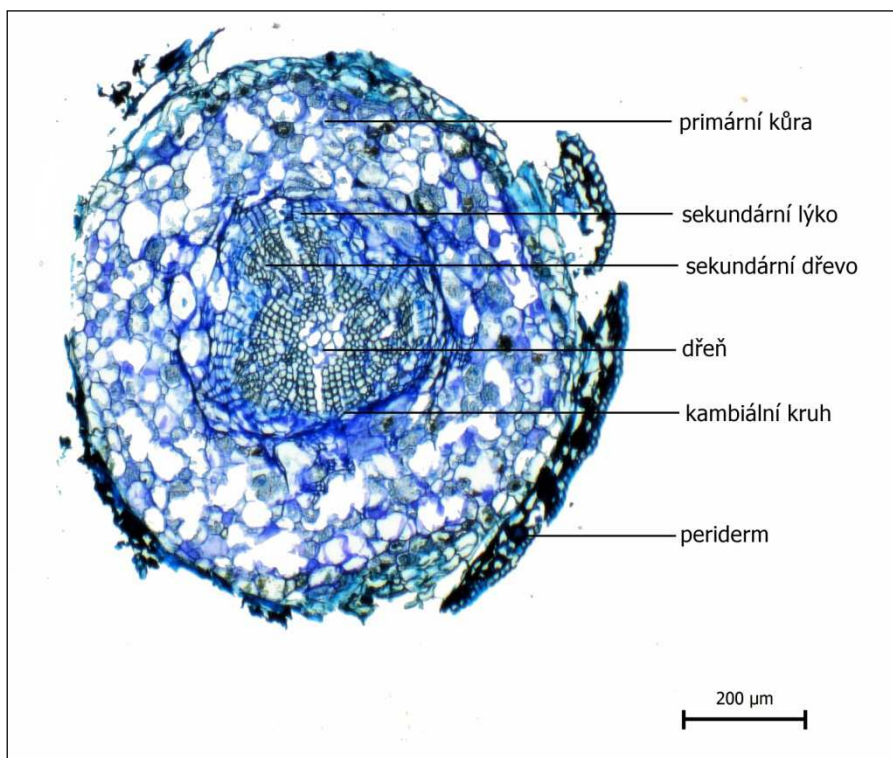
Obr. 43: Řez stonkem smrku kultivovaném na médiu s 60 g.l^{-1} sacharózy



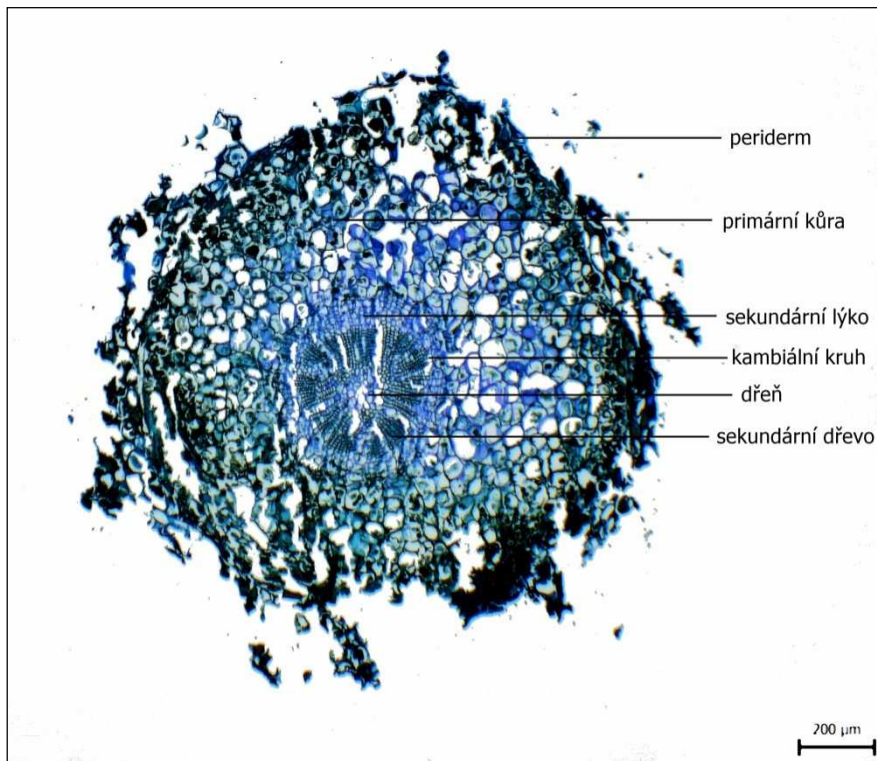
Obr. 44: Řez stonkem smrku kultivovaném na médiu s 90 g.l^{-1} sacharózy



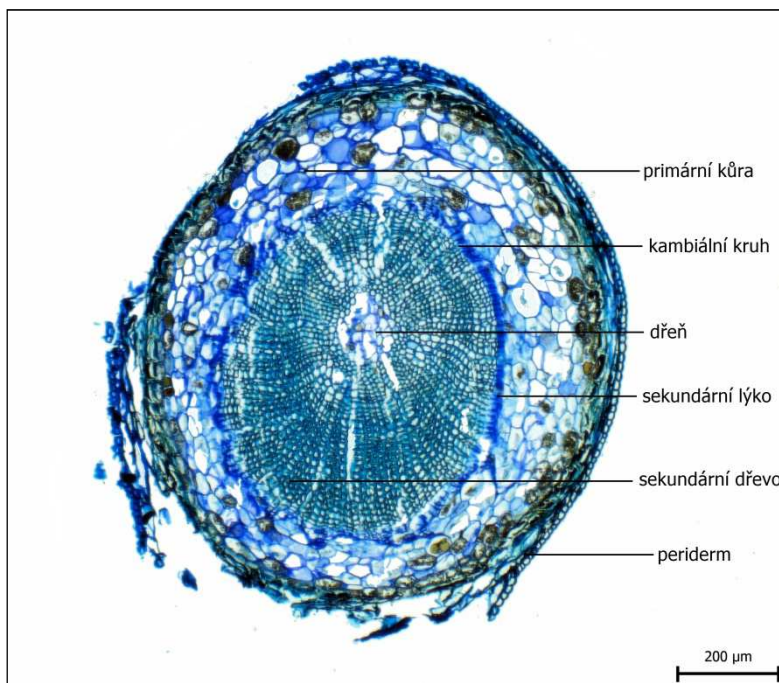
Obr. 45: Řez stonkem smrku kultivovaném na médiu s přidavkem 30 g.l⁻¹PEGu



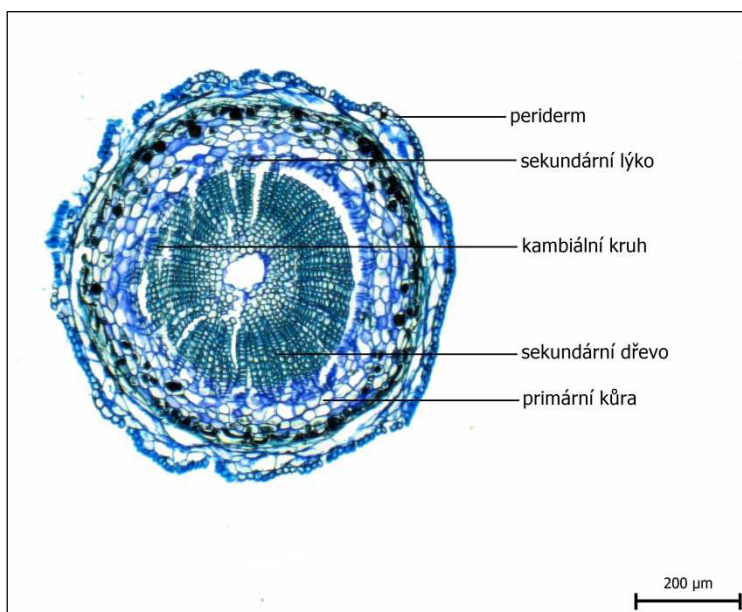
Obr. 46: Řez stonkem smrku kultivovaném na médiu s přidavkem 60 g.l⁻¹PEGu



Obr. 47: Řez stonkem smrku kultivovaném na médiu s přídavkem 90 g.l^{-1} PEGu



Obr. 48: Řez stonkem smrku kultivovaném na médiu bez agaru, s 20 g.l^{-1} sacharózy



Obr. 49: Řez stonkem smrku kultivovaném na médiu bez agaru, s 30 g.l^{-1} sacharózy

6 ZÁVĚR

Navzdory tomu, že se smrk ztepilý z hlediska ekologických nároků hodnotí jako dřevina s velkou vnitrodruhovou a geografickou proměnlivostí, přizpůsobivá nejen klimatickým, ale i půdním podmínkám, v posledním desetiletí se zařazuje k druhům s množstvím zdravotních a růstových problémů. Příčinou těchto problémů mohou být klimatické změny prostředí a různé stresové faktory, mezi které patří i stres ze sucha a zamokření. Z důvodu velkého významu smrku ztepilého se tento druh stále častěji vysazuje také na stanoviště, která neodpovídají jeho růstovým potřebám a jsou pro jeho růst nevhodná. Hospodářské lesy se tak stávají vlivem stresových faktorů nestabilními.

Pomocí metody *in vitro* lze zkoumat růst rostlin v přesně definovaných podmínkách. V této práci byl hodnocen vliv sucha a zamokření na semenáčky smrku, podmínky sucha byly vytvořeny zvyšující se koncentrací sacharózy a polyetylen glykolu, podmínky zamokření byly simulovány médiem bez agaru.

Závěry výsledků práce:

1. Stres suchem zvyšuje produkci etylenu rostlinou.
2. Stresované rostliny produkují více etanu, zvýšená produkce etanu předchází zvýšení etylenu a je signálem poškození buněk a pletiv rostlin.

3. Rostliny rostoucí na médiu simulující stresové podmínky mají nižší fotosyntetickou kapacitu než rostliny kultivované na kontrolním médiu.
4. Myšlenku zvýšené spotřeby kyslíku stresovanými rostlinami se nám nepodařilo prokázat.
5. Statisticky průkazné zvýšení rychlosti fotosyntézy oproti kontrole nastalo pouze u varianty 60 g.l⁻¹ PEGu, simulující stres ze sucha.
6. Stres suchem a zamokřením snižuje hmotnost a průměr krčku rostlin a zvyšuje délku nadzemní části rostlin. Sucho způsobuje nejprve prodlužování kořenů, protože se rostliny snaží získat vodu z větších hloubek, zkracování kořenů po delším časovém období je způsobeno jejich tloušťnutím
7. Stresové faktory působí negativně na vzhled rostlin – objevuje se u nich změna zbarvení nadzemní části a jehlic, jehlice jsou navíc úzké a více opadávají.
8. Obsah chlorofylu a se snižuje u rostlin rostoucích 6 měsíců v suchém prostředí. Chlorofyl b a karotenoidy se zvyšují oproti kontrole u varianty 60 g.l⁻¹ PEGu a při simulaci zamokření.
9. Rozdíly v anatomických změnách kontrolních a stresovaných rostlin nejsou průkazné, neboť pro anatomické pozorování byly vybrány nevhodně staré rostliny. Stresové podmínky sucha a zamokření nejsou pro růst smrku optimální, smrk reaguje hůře na podmínky sucha.

7 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

ALI, A., T. AHMAD, N. A. ABBASI a I. A. HAFIZ. Effect of different media and growth regulators on in vitro shoot proliferation of olive cultivar 'moraiolo'. *Pakistan Journal of Botany* [online]. 2009, **41**(2), 783-795 [cit. 2016-04-28]. Dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/287585929_Effect_of_different_media_and_growth_regulators_on_in_vitro_shoot_proliferation_of_olive_cultivar_'moraiolo'

BAUDYŠ, E. a J. BENADA. *Zemědělská fytopatologie*. Praha: Státní zemědělské nakladatelství, 1959.

BEIER, C., P. GUNDERSEN, K. HANSEN a L. RASMUSSEN. *Experimental manipulation of water and nutrient input to a Norway spruce plantation at Klosterhede, Denmark* [online]. 1995, **62**, 613-622 [cit. 2016-04-28]. DOI: 10.1007/978-94-011-0455-5_68. Dostupné z: http://link.springer.com/chapter/10.1007/978-94-011-0455-5_68

BERGH, J., S. LINDER, T. LUNDMARK a B. ELFVING. The effect of water and nutrient availability on the productivity of Norway spruce in northern and southern Sweden. *Forest Ecology and Management* [online]. 1998, **119**(1-3), 51-62 [cit. 2016-04-28]. DOI: 10.1016/S0378-1127(98)00509-X. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S037811279800509X>

BIGLER, Ch., O. U. BRÄKER, H. BUGMANN, M. DOBBERTIN a A. RIGLING. Drought as an Inciting Mortality Factor in Scots Pine Stands of the Valais, Switzerland. *Ecosystems* [online]. Springer-Verlag, 2006, **9**(3), 330-343 [cit. 2016-04-28]. DOI: 10.1007/s10021-005-0126-2. ISSN 1435-0629. Dostupné z: <http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs10021-005-0126-2>

BLÁHA, L. *Rostlina a stres*. Praha: Výzkumný ústav rostlinné výroby, 2003. ISBN 80-86555-32-1.

BODEN, S., H. P. KAHLE, K. WILPERT a H. SPIECKER. Resilience of Norway spruce (*Picea abies* (L.) Karst) growth to changing climatic conditions in Southwest Germany. *Forest Ecology and Management* [online]. 2014, **2014**(3), 12-21 [cit. 2016-04-28]. DOI: 10.1016. Dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/259997162_Resilience_of_Norway_spruce_Picea_abies_L_Karst_growth_to_changing_climatic_conditions_in_Southwest_Germany

ČERNÝ, A. *Lesnická fytopatologie*. Praha: Státní zemědělské nakladatelství, 1976.

DUFEK, J. a J. STÁVKOVÁ. *Biometrika*. Brno: Vysoká škola zemědělská, 1982.

DVOŘÁKOVÁ, V. *Abiotické stresy v podmínkách in vitro u podnoží révy vinné*. Brno, 2014. Bakalářská práce. Mendelova univerzita v Brně. Vedoucí práce Dr. Ing. Helena Fišerová.

ELIÁŠ, P. a (eds.). In: ROŽNOVSKÝ, J., T. LITSCHMANN, T. STŘEDA a H. STŘEDOVÁ. *Extrémy oběhu vody v krajině: sborník abstraktů a CD s příspěvky z mezinárodní konference : Mikulov 8.-9. dubna 2014*. Praha: Nakladatelství Českého hydrometeorologického ústavu, 2014. ISBN 978-80-87577-29-5.

FIŠEROVÁ, H. a J. HRADILÍK. Produkce etylenu a etanu kalusovou kulturou révy vinné (Ethylene and ethane production during adventitious root formation on vine stem segments). *Rostlinná výroba*. 1996, s. 517-521.

FIŠEROVÁ, H., E. KULA, M. KLEMŠ a V. REINÖHL. Phytohormones as indicators of the degree of damage in birch. *Biologie*. 2001, **56**(4), 405-409.

FIŠEROVÁ, H., Z. MIKUŠOVÁ, M. KLEMŠ, V. VAŠÁTOVÁ, V. HANUŠ, V. REINÖHL a J. PROKEŠ. Preparation of Samples for Assessment of Ethylene and 1-aminocyclopropane-1-carboxylic Acid in Plants by Gas Chromatography. In: *4. metodické dny*. Praha: Česká společnost experimentální biologie rostlin a Fyziologická sekce Slovenské botanické společnosti. Praha: SERIFA, 2006, s. 57. ISSN 1213-6670.

FIŠEROVÁ, H., Z. MIKUŠOVÁ a M. KLEMŠ. Estimation of ethylene production and 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid content in plants by means. *Plant, Soil and Environment*. 2008, **54**(2), 55-60. ISSN 1214-1178.

FIŠEROVÁ, H. *Změny složení plynného prostředí při kultivaci rostlin in vitro: Přednáška v rámci projektu partnerské sítě pro zahradnictví a krajinářskou architekturu*. Zahradnická fakulta Mendelovy univerzity v Brně, 2013.

GEBAUER, R. *Metodika sledování vitality lesních ekosystémů vystavených suchu k podpoře trvale udržitelného lesnictví: recenzovaná metodika*. Brno: Mendelova univerzita v Brně, 2010. ISBN 978-80-7375-469-3.

GREGOROVÁ, B. *Poškození dřevin a jeho příčiny*. Praha: Agentura ochrany přírody a krajiny ČR, 2006. ISBN 80-86064-97-2.

GRYC, V., J. HACURA, H. VAVRCIK, J. URBAN a R. GEBAUER. Monitoring of xylem formation in *Picea abies* under drought stress influence. *Dendrobiology* [online]. 2012, **2012**(67), 15-24 [cit. 2016-04-28]. Dostupné z: <http://yadda.icm.edu.pl/yadda/element/bwmeta1.element.agro-85e138f5-6b8d-4ab9-8f52-59887c66ec0d>

HINCKLEY, T. M. a R. CEULEMANS. Current focuses in woody plant water relations and drought resistance. *Forest tree physiology* [online]. 1989, 317-324 [cit. 2016-04-28]. Dostupné z: http://www.afs-journal.org/articles/forest/pdf/1989/05/AFS_0003-4312_1989_46_Suppl_ART0072.pdf

HRADILÍK, J. *Fyziologie rostlin: (návody do cvičení)*. 2. vyd. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 1998. ISBN 80-7157-323-X.

HRADILÍK, J. *Rostlinné explantáty*. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 2005. ISBN 80-7157-915-7.

CHRISTMANN, A. Phytohormones in Needles of Healthy and Declining Silver Fir (*Abies alba* Mill.): II. Abscisic Acid. *Journal of Plant Physiology* [online]. Stuttgart, Germany: Institut für Botanik, Universität Hohenheim, 1995, **147**(3-4), 419-425 [cit. 2016-04-28]. DOI: 10.1016/S0176-1617(11)82177-2. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0176161711821772>

JEDLIČKOVÁ, J. a B. ZÁMEČNÍKOVÁ. Aplikace osmotik PEG 6000 a NaCl v živném médiu. In: *Vliv abiotických a biotických stresorů na vlastnosti rostlin 2007*. Praha: Výzkumný ústav rostlinné výroby, 2007, s. 128-131. ISBN 978-80-213-1621-8.

JENÍK, J. *Velký obrazový atlas lesa*. Praha: Artia, 1984.

JURČÁK, J. *Základní praktikum z botanické mikrotechniky a rostlinné anatomie*. Olomouc: Univerzita Palackého, 1998. ISBN 80-7067-843-7.

KALOUS, V. *Základy fyzikálně chemických metod*. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 1963.

KAVINA, K. *Anatomie rostlin*. 2. vyd. Praha: Brázda, 1950.

KIMMERER, T. W. a T. T. KOZLOWSKI. Ethylene, Ethane, Acetaldehyde, and Ethanol Production By Plants under Stress. *Plant physiology* [online]. 1982, **69**(4), 840–847 [cit. 2016-04-28]. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC426315/>
KINCL, M. a V. KRPEŠ. *Základy fyziologie rostlin*. 2. vyd. Ostrava: Montanex, 2000. ISBN 80-7225-041-8.

KOLAŘÍK, J. *Péče o dřeviny rostoucí mimo les*. 3., dopl. vyd. Vlašim: ČSOP, 2010. ISBN 978-80-86327-85-3.

KOVÁČ, J. *Explantátové kultury rostlin*. Ústí nad Labem: Univerzita J. E. Purkyně, 1992. ISBN 80-7044-036-8.

KOZLOWSKI, T. T. *Water deficite and plant growth. Vol. 1.: Development, control, and measurement*. New York: Academic Press, 1968. ISBN 978-0-12-424152-7.

KOZLOWSKI, T. T. *Water deficite and plant growth. Vol. 3.: Plant Responses and Control of Water Balance*. New York: Academic Press, 1972. ISBN 978-0-12-424153-4.

KŘÍSTEK, J. a J. URBAN. *Lesnická entomologie*. 2. vyd., upr. Praha: Academia, 2013. ISBN 978-80-200-2237-0.

KUMMEROVÁ, M., L. VÁŇOVÁ a O. VOTRUBOVÁ. Fluoranthene-induced production of ethylene and formation of lysigenous intercellular spaces in pea plants cultivated in vitro. *Acta Physiologiae Plantarum*. Cracow, Poland: Polish Academy of Sciences, 2011, **33**(3), 1037-1042. DOI: 10.1007/s11738-010-0618-3. ISSN 0137-5881.

LARCHER, W. *Fyziologická ekologie rostlin*. Přeložil Václav BAUER. Praha: Academia, 1988.

LHOTSKÝ, S. *Cytologie a anatomie rostlin*. Dotisk. Praha: Státní pedagogické nakladatelství, 1963.

LIU, X. a B. HUANG. Heat stress injury of creeping bentgrass in relation to membrane lipid peroxidation. *Crop sci* [online]. 2000, **40**, 503-510 [cit. 2016-04-28]. DOI: 10.2135. Dostupné z:

<https://dl.sciencesocieties.org/publications/cs/abstracts/40/2/503?access=0&view=article>

LLOYD, G. a B. MCCOWN. Commercially feasible micropropagation of mountain laurel, (*Kalmia latifolia*), by use of shoot tip culture. *Int. Plant Prop. Soc.* 1981, 421-427.

MACO, R. *Interakcia fytohormónov a vonkajších faktorov v dormancii hlúúz ľuľka zemiakového (*Solanum tuberosum* L.) odvodených v explantátové kulture*. Brno, 2016. Diplomová práca (dosud neobhájená). Mendelova univerzita v Brně. Vedoucí práce Ing. RNDr. Marek Klemš, Ph.D.

MARCISZEWSKA, K. a M. TULIK. Hydraulic Efficiency and Safety of Xylem Sap Flow in Relation to Water Stress in Woody Plants. *Hydraulic conductivity* [online]. In-Tech, 2013, 1-32 [cit. 2016-04-28]. DOI: 10.5772/3410. Dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/296846669_Hydraulic_Efficiency_and_Safety_of_Xylem_Sap_Flow_in_Relation_to_Water_Stress_in_Woody_Plants

MOJŽÍŠEK, M. *Jehličnaté stromy a keře*. Brno: CP Books, 2005. ISBN 80-251-0248-3.

MURASHIGE, T. a F. SKOOG. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 1962, 473-97.

NĚMEC, B. *Botanická mikrotechnika*. Praha: ČSAV, 1962.

NOVÁČEK, F. *Praktikum z rostlinné cytologie a histologie se základy mikroskopické techniky*. Olomouc: Univerzita Palackého, 1982.

NOVÁK, V. a (eds.). Kvantitativne vyjadrenie fyziologického sucha. In: ROŽNOVSKÝ, J., T. LITSCHMANN, T. STŘEDA a H. STŘEDOVÁ. *Extrémy oběhu vody v krajině: sborník abstraktů a CD s příspěvky z mezinárodní konference : Mikulov 8.-9. dubna 2014*. Praha: Nakladatelství Českého hydrometeorologického ústavu, 2014. ISBN 978-80-87577-29-5.

ÖRDÖG, V. a Z. MOLNÁR. *Plant Physiology* [online]. 2011 [cit. 2016-04-28]. Dostupné z: http://www.tankonyvtar.hu/en/tartalom/tamop425/0010_1A_Book_angol_01_novenyeltan/index.html

OSAKABE, Y., A. KAWAOKA, N. NISHIKUBO a K. OSAKABE. Responses to environmental stresses in woody plants: key to survive and longevity. *Journal of Plant Research* [online]. 2011, **125**(1), 1-10 [cit. 2016-04-27]. DOI: 10.1007/s10265-011-0446-6. ISBN 10.1007/s10265-011-0446-6. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s10265-011-0446-6>

PAZOURKOVÁ, Z. *Botanická mikrotechnika*. Praha: Univerzita Karlova, 1982.

PENKA, M. *Transpirace a spotřeba vody rostlinami*. Praha: Academia, 1985.

PETRŮ, E. a R. ŘETOVSKÝ. *Rostlinné explanáty*. Nakladatelství československé akademie věd, 1956.

POKORNÝ, J. *Jehličnany lesů a parků*. Praha: Státní zemědělské nakladatelství, 1963.

- PROCHÁZKA, S. *Fyziologie rostlin: Návody do cvičení*. Praha: SPN, 1980.
- PROCHÁZKA, S. a J. ŠEBÁNEK. *Regulátory rostlinného růstu*. Praha: Academia, 1997. ISBN 80-200-0597-8.
- PROCHÁZKA, S. *Fyziologie rostlin*. Praha: Academia, 1998. ISBN 80-200-0586-2.
- PROCHÁZKA, S. *Botanika: morfologie a fyziologie rostlin*. 3. vyd. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, 2007. ISBN 978-80-7375-125-8.
- PROKEŠ, J., H. FIŠEROVÁ, A. HELÁNOVÁ a J. HARTMANN. Význam oxidu uhličitého a ethylenu v procesu sladování. *Kvas. Prům.* 2006, **52**, 11-12, 349.
- PŘÍHODA, A. *Lesnická fytopatologie*. Praha: Státní zemědělské nakladatelství, 1959.
- RAZDORSKIJ, V. F. *Anatomie rostlin*. Praha: Nakladatelství Československé akademie věd, 1954.
- RYBNÍČEK, M., P. ČERMÁK, T. KOLÁŘ a T. ŽID. Growth responses of Norway spruce (*Picea abies* (L.) Karst.) to the climate in the south-eastern part of the Českomoravská Upland (Czech Republic). *Geochronometria* [online]. SP Versita, 2012, **39**(2), 149-157 [cit. 2016-04-28]. DOI: 10.2478/s13386-012-0003-7. ISSN 1897-1695. Dostupné z: <http://link.springer.com/article/10.2478%2Fs13386-012-0003-7>
- SELLIN, A. Hydraulic and stomatal adjustment of Norway spruce trees to environmental stress. *Tree Physiology* [online]. Tartu, Estonia: Department of Botany and Ecology, University of Tartu, 2001, **21**(12-13), 879–888 [cit. 2016-04-28]. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11498335>
- SCHLYTER, P., I. STJERNQUIST, L. BÄRRING, A. M. JÖNSSON a C. NILSSON. Assessment of the impacts of climate change and weather extremes on boreal forests in northern Europe, focusing on Norway spruce. *Climate Research* [online]. Inter-Research, 2006, **31**(1), 75-84 [cit. 2016-04-27]. ISSN 0936-577X. Dostupné z: <http://lup.lub.lu.se/record/162635>
- SLAVÍKOVÁ, J. *Ekologie rostlin*. Praha: SPN, 1986.
- STOLINA, M. *Ochrana lesa*. Zvolen: Technická univerzita vo Zvolene, 2001. ISBN 80-228-1067-3.
- ŠEBÁNEK, J. a Z. SLADKÝ. *Biotechnologie rostlinných explantátů*. Brno: Vysoká škola zemědělská, 1988.
- ŠEBÁNEK, J., S. PROCHÁZKA a Z. LAŠTŮVKA. *Fyziologie rostlin*. Brno: VŠZ, 1989.
- ŠESTÁK, Z. a J. ČATSKÝ. *Metody studia fotosynthetické produkce rostlin*. Praha: Academia, 1966.

ŠPINLEROVÁ, Z. *Ekofyziologie dřevin*. Brno: Mendelova univerzita v Brně, 2014. ISBN 978-80-7509-158-1.

UHLÍŘOVÁ, H. a P. KAPITOLA. *Poškození lesních dřevin*. Kostelec nad Černými lesy: Lesnická práce, 2004. ISBN 80-86386-56-2.

ÚRADNÍČEK, L. *Lesnická dendrologie I.: (Gymnospermae)*. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, 2003. ISBN 80-7157-643-3.

ÚRADNÍČEK, L. *Dřeviny České republiky. 2.,* přeprac. vyd. Kostelec nad Černými lesy: Lesnická práce, 2009. ISBN 978-80-87154-62-5.

VOTRUBOVÁ, O. *Anatomie rostlin*. Praha: Karolinum, 1996. ISBN 80-7184-046-7.

www1: Plant stress. *Plant stress* [online]. [cit. 2016-04-28]. Dostupné z: <http://www.plantstress.com/>

YORDANOV, I., V. VELIKOVA a T. TSONEV. Plant responses to drought and stress tolerance. *Bulg. J. plant physiol., Special issue* [online]. 2003, , 187-206 [cit. 2016-04-28]. Dostupné z: http://mah-gholami.iut.ac.ir/sites/mah-gholami.iut.ac.ir/files/u47/plant_responses_to_drought.pdf

ZEMÁNEK, T., M. MARTINKOVA a D. ŠTĚRBOVÁ. Gradients of the content of photosynthetic pigments and radiation as manifestations of the health condition of Norway spruce (*Picea abies* [L.] Karst.). *AGRIS* [online]. 2004, **50**(10), 489-495 [cit. 2016-04-28]. ISSN 1212-4834. Dostupné z: http://aims.fao.org/serials/c_27e6ef8d

8 SEZNAM OBRÁZKŮ A TABULEK

Seznam obrázků:

Obr. 1: Rozdělení stresových faktorů (Procházka a kol., 1998)

Obr. 2: Průběh stresové reakce (Procházka a kol., 1998)

Obr. 3: Typy pravých pletiv podle tloušťky buněčných stěn a živého obsahu (Kincl, 1981; Kultjasov, 1953)

Obr. 4: Stavba jemného kořene smrku na příčném řezu (Kolařík a kol., 2010)

Obr. 5: Stavba jednoletého stonku smrku (Kolařík a kol., 2010)

Obr. 6: Způsob odběru plynů z kultivačních nádob a měření kyslíku (Fišerová, 2013)

Obr. 7: Sledování koncentrace etylenu v kultivačních nádobách simulujících stresové podmínky

Obr. 8: Sledování koncentrace etanu v kultivačních nádobách simulujících stresové podmínky

Obr. 9: Sledování koncentrace CO₂ v kultivačních nádobách simulujících stresové podmínky

Obr. 10: Hodnocení kvantového výtěžku fotosyntézy (QY) v kultivačních nádobách simulujících stresové podmínky

Obr. 11: Hodnocení hmotnosti rostlin (g) v kultivačních nádobách simulujících stresové podmínky

Obr. 12: Hodnocení délky nadzemní části (cm) v kultivačních nádobách simulujících stresové podmínky

Obr. 13: Hodnocení délky kořene (cm) v kultivačních nádobách simulujících stresové podmínky

Obr. 14: Hodnocení průměru krčku (cm) v kultivačních nádobách simulujících stresové podmínky

Obr. 15, 16: Rostliny smrku kultivované 6 měsíců na kontrolním médiu (2.1.5) a na médiu s 60 g.l⁻¹ sacharózy (2.2.2)

Obr. 17, 18: Rostliny smrku kultivované 6 měsíců na médiu s 90 g.l⁻¹ sacharózy (2.3.1) a 30 g.l⁻¹ PEGu (2.4.3.)

Obr. 19, 20: Rostliny smrku kultivované 6 měsíců na médiu s 60 g.l⁻¹ PEGu (2.5.3) a 90 g.l⁻¹ PEGu (2.6.3.)

Obr. 21, 22: Rostliny smrku kultivované 6 měsíců na médiu bez agaru, s 20 g.l⁻¹ sacharózy (2.7.4) a 30 g.l⁻¹ sacharózy (2.8.4)

Obr. 23, 24: Rostliny smrku kultivované 12 měsíců na kontrolním médiu (1.3) a na médiu s 60 g.l^{-1} sacharózy (2.1)

Obr. 25, 26: Rostliny smrku kultivované 12 měsíců na médiu s 90 g.l^{-1} sacharózy (3.2) a 30 g.l^{-1} PEGu (4.1)

Obr. 27, 28: Rostliny smrku kultivované 12 měsíců na médiu s 60 g.l^{-1} PEGu (5.1) a 90 g.l^{-1} PEGu (6.3)

Obr. 29, 30: Rostliny smrku kultivované na médiu bez agaru, s 20 g.l^{-1} sacharózy (7.1) a 30 g.l^{-1} sacharózy (8.1)

Obr. 31: Hodnocení obsahu chlorofylu a, b a karotenoidů v 1 g materiálu, v kultivačních nádobách simulujících stresové podmínky

Obr. 32: Řez kořenem smrku kultivovaném na kontrolním médiu, detail

Obr. 33: Řez kořenem smrku kultivovaném na kontrolním médiu

Obr. 34: Řez kořenem smrku kultivovaném na médiu s 60 g.l^{-1} sacharózy

Obr. 35: Řez kořenem smrku kultivovaném na médiu s 90 g.l^{-1} sacharózy

Obr. 36: Řez kořenem smrku kultivovaném na médiu s přídatkem 30 g.l^{-1} PEGu

Obr. 37: Řez kořenem smrku kultivovaném na médiu s přídatkem 60 g.l^{-1} PEGu

Obr. 38: Řez kořenem smrku kultivovaném na médiu s přídatkem 90 g.l^{-1} PEGu

Obr. 39: Řez kořenem smrku kultivovaném na médiu bez agaru, s 20 g.l^{-1} sacharózy

Obr. 40: Řez kořenem smrku kultivovaném na médiu bez agaru, s 30 g.l^{-1} sacharózy

Obr. 41: Řez stonku smrku kultivovaném na kontrolním médiu, detail

Obr. 42: Řez stonkem smrku kultivovaném na kontrolním médiu

Obr. 43: Řez stonkem smrku kultivovaném na médiu s 60 g.l^{-1} sacharózy

Obr. 44: Řez stonkem smrku kultivovaném na médiu s 90 g.l^{-1} sacharózy

Obr. 45: Řez stonkem smrku kultivovaném na médiu s přídatkem 30 g.l^{-1} PEGu

Obr. 46: Řez stonkem smrku kultivovaném na médiu s přídatkem 60 g.l^{-1} PEGu

Obr. 47: Řez stonkem smrku kultivovaném na médiu s přídatkem 90 g.l^{-1} PEGu

Obr. 48: Řez stonkem smrku kultivovaném na médiu bez agaru, s 20 g.l^{-1} sacharózy

Obr. 49: Řez stonkem smrku kultivovaném na médiu bez agaru, s 30 g.l^{-1} sacharózy

Seznam tabulek:

Tab. 1: Složení vybraných kultivačních médií (Kováč, 1992; Ali a kol., 2009)

Tab. 2: Složení jednotlivých variant médií simulujících stres suchem (2-6) a zamokření (7-8)

Tab. 3: Změna koncentrace O₂ v kultivačních nádobách simulujících stresové podmínky