

**Česká zemědělská univerzita v Praze**

**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů**

**Katedra chemie**



**Fakulta agrobiologie,  
potravinových a přírodních zdrojů**

**Stres zasolením u rostlin rodu řepa (*Beta sp.*)**

**Diplomová práce**

**Bc. Michaela Krupková**

**Rostlinolékařství**

**Ing. Matyáš Orsák, Ph.D.**

**© 2022 ČZU v Praze**

## **Čestné prohlášení**

Prohlašuji, že svou diplomovou práci " Stres zasolením u rostlin rodu řepa " jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne

14.04.2022

## **Poděkování**

Na tomto místě bych ráda poděkovala především svému vedoucímu diplomové práce, panu Ing. Matyáši Orsákovi, Ph.D. za užitečné rady, postřehy a strávený čas. Dále patří poděkování paní Ing. Tereze Michlové, Ph.D. za vedení a pomoc v laboratoři.

# Stres zasolením u rostlin rodu řepa

## Souhrn

Stres zasolením ovlivňuje řadu dějů v rostlině, například příjem živin a vody, schopnost látky ukládat a syntetizovat, a dokonce i samotný růst a vývoj rostlin budoucí generace.

Při solném stresu si rostliny vyvinuly složité mechanismy. Tyto mechanismy zahrnují osmotickou úpravu, akumulaci kompatibilních rozpuštěných látek, jako je glycinbetain, prolin a polyoly a snížení toxické koncentrace iontů v cytoplazmě omezením přítoku  $\text{Na}^+$ , jeho přesunutí do vakuol nebo jeho vytlačování na povrch listu.

Diplomová práce sledovala vliv rozdílné koncentrace chloridu sodného na obsahu draslíku a sodíku v rostlinném vzorku u vybraných zástupců rodu řepa. Dále byla stanovena míra tolerance/citlivosti juvenilních rostlin vybraných druhů rodu řepa na zasolení. Hodnocenými druhy byly krmná řepa odrůda Hako, cukrová řepa odrůda Dobrovická A a mangold odrůda Lucullus.

U vybraných zástupců rodu řepa (řepa cukrová odrůda Dobrovická A, řepa krmná odrůda Hako, mangold odrůda Lucullus) byl sledován vliv zasolení na jejich růst a schopnost přijímat Na a K rostlinami. Nádobový pokus byl založen v částečně řízených skleníkových podmínkách. Schéma pokusu zahrnovalo pět variant: 0, 50, 150, 250, 350 mM NaCl. Roztoky NaCl byly aplikovány v modifikovaném živném roztoku dle Hoaglanda. Koncentrace soli byla udržována zálivkou roztoku 50 mM NaCl ve dvoudenních intervalech. Pokus byl zahájen ve vývojové fázi 14 BBCH a byl ukončen za 8 týdnů. V juvenilních fázích vývoje sledovaných druhů rodu řepa byl měřen obsah sodíku a draslíku. Suchý rostlinný vzorek byl pomocí mikrovlnné pece rozložen a převeden na kapalný a poté měřen na atomovém absorpčním spektrometru Varian SpectrAA 110.

Výsledky a statistické vyhodnocení potvrdilo hypotézu, že obsah sodíku ve vzorku stoupá se zvyšující se koncentrací NaCl, ale hodnoty draslíku se držely stabilně vysoké.

Kontrola měla nejvyšší průměrnou hodnotu sodíku pro odrůdu Dobrovická A (88,3 mg/g DW), a to v prvním odběru. Pro koncentraci 50 mmol/l byla nejvyšší průměrná hodnota sodíku zaznamenána u Lucullusu (44,8 mg/g DW) v pátém odběru. Nejvyšší hodnota sodíku pro koncentraci 150 mmol/l byla naměřena u Lucullusu (65,1 mg/g DW) v šestém odběru. Hako vykazovalo nejvyšší hodnoty sodíku pro koncentrace 250 mmol/l (74,1 mg/g DW) a 350 mmol/l (77,8 mg/g DW), vždy při čtvrtém odběru.

Mezi odrůdami nebyl statisticky významný rozdíl. Celkově nejméně sodíku a draslíku přijala Dobrovická A, druhá byla odrůda Hako a nejvyšší hodnoty byl naměřeny u odrůdy Lucullus.

**Klíčová slova:** draslík, mangold, mineralizace, salinita, sodík

# Salinity stress in plants of the genus beet (*Beta* sp.)

## Summary

Salinity stress affects a number of processes in the plant, such as nutrient and water intake, the ability to store and synthesize substances, and even the very growth and development of future-generation plants.

Under salt stress, plants have developed complex mechanisms. These mechanisms include osmotic treatment, accumulation of compatible solutes such as glycine betaine, proline and polyols, and reduction of toxic ion concentration in the cytoplasm by reducing Na<sup>+</sup> influx, transfer to the vacuoles, or extrusion to the leaf surface.

The diploma thesis studied the effect of different concentrations of sodium chloride on the content of potassium and sodium in a plant sample in selected members of the genus Beet. Furthermore, the degree of tolerance / sensitivity of juvenile plants of selected beet species to salinity was determined. The evaluated species were fodder beet variety Hako, sugar beet variety Dobrovická A and chard variety Lucullus

The influence of salinity on their growth and the ability to absorb Na and K by plants was monitored in selected members of the genus beet (sugar beet variety Dobrovická A, fodder beet variety Hako, chard variety Lucullus). The container experiment was established in partially controlled greenhouse conditions. The experimental scheme included five variants: 0, 50, 150, 250, 350 mM NaCl. NaCl solutions were applied in a modified Hoagland nutrient solution. The salt concentration was maintained by dressing with 50 mM NaCl solutions at two-day intervals. The experiment was started in the development phase of 14 BBCH and was completed in 8 weeks. Sodium and potassium content were measured in the juvenile stages of development of the monitored beet species. The dry plant sample was decomposed and converted to liquid using a microwave oven and then measured on a Varian SpectrAA 110 atomic absorption spectrometer.

The results and statistical evaluation confirmed the hypothesis that the sodium content of the sample increased with increasing NaCl concentration, but the potassium values remained stably high.

The control had the highest average sodium value for the Dobrovická A variety (88.3 mg / g DW), in the first sampling. For a concentration of 50 mmol / l, the highest average sodium value was recorded for Lucullus (44.8 mg / g DW) in the fifth sample. The highest sodium value for a concentration of 150 mmol / l was measured for Lucullus (65.1 mg / g DW) in the sixth sampling. Hako showed the highest sodium values for concentrations of 250 mmol / l (74.1 mg / g DW) and 350 mmol / l (77.8 mg / g DW), each at the fourth sampling. There was no statistically significant difference between the varieties. Overall, Dobrovická A received the least sodium and potassium, the second was the Hako variety, and the highest values were measured for the Lucullus variety.

**Keywords:** potassium, chard, mineralization, salinity, sodium

## Obsah

1	Úvod.....	8
2	Vědecká hypotéza a cíle práce .....	9
2.1	Vědecké hypotézy.....	9
3	Literární rešerše.....	10
3.1	Halofyty.....	10
3.2	Řepa charakteristika .....	11
	Obecná charakteristika <i>Beta L.</i> – řepa .....	11
3.2.1	<i>Beta vulgaris var. crassa</i> Alef. – krmná řepa .....	11
3.2.2	<i>Beta vulgaris var. altissima</i> Döll – cukrovka, cukrová řepa .....	12
3.2.3	<i>Beta vulgaris</i> subsp. <i>cicla</i> (L.) – řepa obecná listová, mangold .....	13
3.3	Stres zasolením .....	13
3.4	Regulace růstu .....	14
3.5	Účinky solného stresu.....	14
3.6	Primární mechanismy tolerance soli v cukrové řepě .....	16
3.6.1	Akumulace látek pro osmotické úpravy .....	16
3.6.2	Redoxní regulace tolerance soli.....	17
3.6.3	Udržování iontové homeostázy .....	18
3.6.4	Technologie Omics pro objevování genů, proteinů a metabolitů zapojených do tolerance soli .....	20
3.6.5	Transkriptomická studie tolerance soli v cukrové řepě.....	20
3.7	Detoxikace .....	22
3.8	Sodík a draslík v rostlině .....	23
3.8.1	Draslík .....	23
3.8.2	Sodík.....	25
4	Metodika.....	28
4.1	Charakteristika pokusného materiálu .....	28
4.2	Založení nádobového pokusu .....	29
4.2.1	Sběr vzorků a analýza .....	29
4.2.2	Příprava vzorků k analýze .....	30
5	Výsledky .....	32
5.1.1	Naměřené hodnoty.....	32
5.2	Statistické vyhodnocení výsledků .....	39
6	Diskuze .....	46
7	Závěr .....	48
8	Literatura .....	49
9	Seznam použitých zkratk a symbolů.....	57
	<b>Přílohy .....</b>	<b>58</b>



## 1 Úvod

Zasolení půdy existovalo již dávno před člověkem a zemědělstvím, nicméně problematika nabyla na významu díky moderním zemědělským postupům. Hned po suchu je zasolení druhým nejvýznamnějším stresovým faktorem. Výrazně omezuje produktivitu zemědělských plodin. Jeho negativní vliv se projevuje na klíčivosti, intenzitě růstu a výnosu. Celosvětově je více než 45 milionů hektarů zavlažované půdy poškozeno zasolením a 1,5 milionu hektarů půdy nelze využít pro pěstování rostlin, kvůli velmi vysoké hodnotě zasolení.

Zasolení představuje jisté ohrožení i na území ČR, přičemž se nejedná jenom o vliv např. zimního solení komunikací, ale může také nastat při používání nevhodné závlahové vody nebo v místech vývěru minerálních pramenů.

Řepy obecně patří mezi plodiny s tolerancí k zasolení. Mezidruhově jsou však variabilní, tj. nachází se zde druhy s vyšší (řepa cukrovka) a nižší (řepa salátová) tolerancí k zasolení. Tolerantní druhy se mohou využít jako plodiny do oblastí postižených zasolením.

Vysoký solný stres narušuje homeostázu vodního potenciálu a distribuci iontů. K tomuto narušení homeostázy dochází jak na buněčné úrovni, tak na úrovni celé rostliny. Drastické změny v homeostáze iontů a vody vedou k poškození molekul, zastavení růstu a dokonce smrti.



## **2 Vědecká hypotéza a cíle práce**

Cílem diplomové práce bylo sledovat vliv rozdílné koncentrace chloridu sodného na obsah draslíku a sodíku v rostlinném vzorku u vybraných zástupců rodu řepa. Dále stanovit míru tolerance/citlivosti juvenilních rostlin vybraných druhů rodu řepa na zasolení. Hodnocenými druhy byly krmná řepa odrůda Hako, cukrová řepa odrůda Dobrovická A a mangold odrůda Lucullus. Stres zasolením ovlivňuje řadu dějů v rostlině, například příjem živin a vody, schopnost látky ukládat a syntetizovat, a dokonce i samotný růst a vývoj rostlin budoucí generace.

### **2.1 Vědecké hypotézy**

- hypotézy:
- 1) intenzita zasolení má vliv na příjem draslíku a sodíku rostlinou
  - 2) existují mezidruhové rozdíly u rodu řepa v reakci/toleranci na zasolení

### 3 Literární rešerše

Předpokládá se, že globální změna klimatu urychlí degradaci zemědělské půdy po celém světě. Zasolování půdy je jednou z vážných důležitých faktorů degradace půdy. Může vzniknout z přirozených příčin nebo lidské činnosti, například zavlažování v suchých a polosuchých oblastech. Přibližně 20 % zavlažované půdy na světě je pravděpodobně ovlivněno zasolováním (Yeo 1998).

Zasolení výrazně snižuje růst a produktivitu glykofytů, které tvoří většinu zemědělských produktů. Pojem „zasolení“ představuje všechny problémy půdy s nadměrným hromaděním solí, které lze rozdělit na sodné (neboli alkalické) a zasolené půdy (Bláha a kol. 2003).

Půdy bohaté na sodík se špatnou půdní strukturou se obecně rozprostírají v aridních a polosuchých oblastech. Zadržují vysoké koncentrace  $\text{Na}^+$  na vyměnitelném místě jílových částic v půdě, která vykazuje vysoké pH (vyšší než 8,5) s vysokým podílem výměnného sodíku. Zasolené půdy lze obecně nalézt v suchých oblastech, ústích řek a pobřežních okrajích, kde dominují ionty  $\text{Na}^+$  s elektrickou vodivostí vyšší než 4 dS/m, což odpovídá přibližně 40 mM NaCl. Kromě toho solné půdy vykazují  $\text{ESP} < 15$  (procento výměnného sodíku) a mnohem nižší hodnoty pH než sodné půdy (Munns a Tester 2008).

#### 3.1 Halofyty

Rostliny lze na základě přizpůsobení se vnějšímu prostředí rozdělit do dvou hlavních typů: halofyty (odolávají zasolení) a glykofyty (nemohou odolávat zasolení).

Halofyty jsou rostliny tolerující vysoké koncentrace solí, jenž ničí 99% jiných druhů. Přestože byly halofyty uznávány již stovky let, jejich definice zůstává nejednoznačná. Jedna z definic se vztahuje na schopnost dokončit životní cyklus v koncentraci soli alespoň 200 mM chloridu sodného, za podmínek podobných těm, které jsou v přírodním prostředí. Přijetí definice založené na dokončení životního cyklu by mělo umožnit oddělení toho, co by se dalo nazvat „přirozenými halofyty“ od rostlin, které tolerují sůl. Ty ale obvykle nežijí ve slaných podmínkách (Bláha a kol. 2003).

## 3.2 Řepa charakteristika

### Obecná charakteristika *Beta L.* – řepa

Rostliny jsou charakteristické tím, že jsou lysé nebo řídce chlupaté se silným kůlovým větveným, nevětveným kořenem nebo kořenovou bulvou. Lodyha je přímá a bohatě větvená. Přízemní listy jsou dlouze řapíkaté a často zvlněné, lodyžní krátce řapíkaté až přisedlé, přecházející v listeny. Květy jsou oboupohlavné se 2 malými listenci nebo bez nich, jednotlivé nebo v klubíčkách po 2-4(-8), která skládají bohatá složená květenství neboli laty lichoklasů. Okvětí je bylinné, zelenavé nebo korunovité, žlutobílé, pěticipé. Tyčinek mají 5, nitky jsou na bázi splývající ve žláznatý val, semeník je polospodní, 3boký se 2-3(-5) přisedlými bliznami. Nažka je horizontální se zcela uzavřeným ztvrdlým okvětím, které je pevně spojeno s oplodím, na vrcholu oplodí odstává a tvoří „víčko“. Plody v klubíčku jsou navzájem bázemi spojené, proto opadávají vcelku jako plodenství. Zárodek je podkovovitě až kruhovitě zakřivený. Rod řepa zahrnuje důležité kultivary jako cukrová řepa, krmná řepa, červená řepa nebo mangold (Hejný a Slavík 2003).

Je obecně známo, že existují významné rozdíly v toleranci k zasolení mezi plodinami. Rod řepa obsahuje mnoho skupin druhů, které se liší tolerancí, a to i mezi jednotlivými genotypy stejného druhu (Bor a kol. 2003). Podle White a kol.(2017) je tento rod zařazován do čeledi *Amaranthaceae* (laskavcovité). Zástupci této čeledě se vyznačují variabilitou v kapacitě přijímání nebo vylučování draslíku a sodíku.

Plané rostoucí druhy, jako například *Beta maritima L.*, se velmi dobře přizpůsobily životu v podmínkách, které jsou pro jiné rostliny nehostinné (Marschner a kol. 2006). Rod řepa zahrnuje jednoleté až vytrvalé byliny, které jsou rozšířeny od Kapverdských a Kanárských ostrovů přes z. a sz. Evropu, Středozeší a Přední Asii do Střední Asie a Indie

#### 3.2.1 *Beta vulgaris var. crassa Alef.* – krmná řepa

Krmná řepa má bulvy s význačnou hypokotylní partií, takže značná část bulvy je nad zemí, v době sklizně až přes jednu polovinu. Bulvy jsou široce větvenovité, válcovité nebo téměř kulovité, s vnější vrstvou žlutou nebo načervenalou, dužinou žlutou, oranžovou nebo načervenalou. Dnes se využívá jako krmivo pro dobytek. Tato řepa je pěstována od 1. poloviny 18. stol., a to nejdříve v Porýní, odkud se rozšířila do dalších evropských zemí. Nejčastěji pěstované odrůdy jsou cv. Kostelecká barres a cv. Bučiansky žlutý válec, Hako, Triga, Bara, Gaja, Media aj (Hejný a Slavík 2003).

Krmná řepa má vysokou produkční schopnost. Výnos bulev je 60–80 t/ha. Obsahuje maximálně 1,2 % dusíkatých látek, má velmi nízký obsah vlákniny a vysoký obsah cukru (do 10 %). Je velmi ceněna i pro obsah vitaminů a příznivé dietetické účinky. Krmná řepa má široký areál pěstování, vyžaduje však minimálně 600 mm srážek ročně.

Odrůdy krmné řepy se dělí na objemové, obsahové a přechodného typu. Objemové odrůdy se vyznačují vysokým výnosem bulev a nižším obsahem sušiny. Mají většinou válcovitý tvar a bulva vyčnívá nad zemí. Odrůdy obsahové (krmné polocukrovky) dávají nižší výnos bulev s vysokým obsahem sušiny. Bulvu mají z větší části usazenou v půdě (Konvalinka a kol. 2014).

Přechodné a objemové typy snášejí spíše vlhčí a chladnější oblasti v bramborářském výrobním typu, polocukrovky vyžadují hlubší, hlinité půdy s neutrální reakcí. (Šroller 1993)

### 3.2.2 *Beta vulgaris var. altissima* Döll – cukrovka, cukrová řepa

Cukrová řepa vznikla ze starších typů krmných řep s bílou bulvou (tzv. bílá slezská řepa) šlechtěním především na velikost bulev a cukernatost. Se šlechtěním cukrovky se začínalo přibližně na přelomu 18. a 19. stol., je tedy nejmladší z hlavních zemědělských plodin (Hejný a Slavík 2003).

Vyznačuje se bulvou většinou kuželovitou, značně dolů protaženou, která vyčnívá jen málo nad povrch a má nažloutlou vnější vrstvu („kůru“) a bílou dužinu. Pěstuje se ve velkém měřítku v polních kulturách především jako surovina pro výrobu cukru. Je to celosvětově druhý nejdůležitější zdroj cukru po cukrové třtině. Bulvy cukrovky obsahují nejčastěji 15–18 % sacharózy. Nadzemní části (listy a hlava bulvy) se užívaly jako krmivo pro dobytek (Hejný a Slavík 2003).

Cukrová řepa je v raných fázích vývoje citlivá k zasolení. Její částečně halofytní charakter limituje její kultivaci v zasoleném prostředí. Rostlina je však tolerantní do určitých hladin zasolení. Cukrová řepa může růst lépe v mírných koncentracích NaCl, než při absenci Na. Ve vyšších koncentracích nad 150 mM NaCl je růst zpomalen až zastaven (Bor a kol. 2003; Ghoulam a kol. 2002; Dadkhah 2011).

### 3.2.3 *Beta vulgaris* subsp. *cicla* (L.) – řepa obecná listová, mangold

Řepa obecná listová, také známá jako mangold má kulový, nevýrazně ztloustlý kořen, často větvený. Přízemní listy jsou často kadeřavé s silným dužnatým řapíkem. Pěstuje se pro listy, které jsou užívané jako špenátová zelenina (mangold, cvikla). Listy obsahují kromě vitamínu C a karotenu značné množství minerálních látek a betain. V kultuře starověku byl mangold nejstarším typem pěstovaných řep. (Hejný a Slavík 2003)

Podle Ghoulam a kol. (2002) je mangold řazen mezi halofyty, vykazuje zvýšený růst v prostředí mírného zasolení, což ústí v akumulaci velkého množství  $\text{Na}^+$  v jeho pletivech. Ve slaném prostředí vykazuje mangold osmotické změny a akumulaci prolinu a anorganických iontů. Kaburagi a kol. (2014) uvádí, že je mangold v hydroponickém prostředí pod 80 mM NaCl stimulován k rychlosti růstu až na 146 % oproti nulovému zasolení. Obsah prolinu v alkalickém prostředí je podle Saneoka a kol. (1995) vyšší v listech, což způsobuje zpomalení růstu. Naopak obsah glycinbetainu je větší v listech v zasoleném prostředí, než v alkalickém prostředí (Dadkhah 2011).

### 3.3 Stres zasolením

Při solném stresu si rostliny vyvinuly složité mechanismy. Tyto mechanismy zahrnují osmotickou úpravu akumulací kompatibilních rozpuštěných látek, jako je glycinbetain, prolin a polyoly a snížení toxické koncentrace iontů v cytoplazmě omezením přítoku  $\text{Na}^+$ , jeho přesunutí do vakuol nebo jeho vytlačování na povrch listu. Podíl glycinbetainu na osmotické korekci byl potvrzen několika výzkumy. (Lutts a kol. 1996, Rodriguez a kol. 1997, Suzuki a kol 2014).

První stresová fáze přichází ve chvíli, kdy se zvýší hladina soli v okolí kořenů, což vede k inhibici příjmu vody, buněčné expanze a vývoje laterálních pupenů (Munns a Tester 2008). Druhá stresová fáze se rozvíjí později, když se toxické ionty, jako je  $\text{Na}^+$ , hromadí v rostlinách v přebytku, zejména v listech nad prahovou hodnotu, což vede ke zvýšenému opadu listů, dochází k tvorbě chloróz a nekróz. Proces následně vede ke snížení aktivity nezbytných buněčných metabolismů včetně fotosyntézy. (Glenn a kol.1999).

Nedávné molekulárně fyziologické a molekulárně genetické studie získávaly poznatky o ochranných mechanismech, které rostliny používají k vypořádání se se škodlivými účinky solného stresu (Munns a Tester 2008; Hauser a Horie 2010). Mnoho studií také zdůrazňuje

význam a relevanci funkcí/regulací důležitých membránových proteinů řídících vodní kanály a transportéry Na a také signální molekuly udávající impuls při změně prostředí. Uvedené jevy vedou rostlinu k toleranci vůči zasolení (Ward a kol. 2009).

### 3.4 Regulace růstu

Stres zasolením, stejně jako mnoho jiných abiotických stresů, inhibuje růst rostlin. Pomalejší růst je adaptivní funkcí pro přežití rostlin ve stresu, protože umožňuje rostlinám spoléhat se na více zdrojů (např. živiny a produkty fotosyntézy) v boji proti stresu. V přírodě se často zdá, že míra tolerance soli nebo sucha je nepřímo úměrná rychlosti růstu. Jednou z příčin snížení rychlosti růstu při stresu je nedostatečná fotosyntéza v důsledku uzavření průduchů a následně omezeného příjmu oxidu uhličitého. Ještě důležitější však je, že stres může přímo inhibovat buněčné dělení a expanzi. Je třeba lépe porozumět spojení mezi stresovou signalizací a řízením buněčného dělení a expanze. Dokonce i mírné stresy by mohly mít za následek pomalejší růst a významnou ztrátu produktivity rostlin. Některé rostliny mohou být tak citlivé na stres, že „zpanikaří“ a téměř přestanou růst, i když dojde pouze k mírnému stresu. Naproti tomu některé rostliny pravděpodobně nereagují dostatečně, a tak riskují, že zahynou tím, že budou dále růst, když je stres již vážný. Jemné vyladění této odezvy by mohlo potenciálně zlepšit produktivitu při stresu ze soli nebo sucha. (Zhu 2002, Munns 2005)

### 3.5 Účinky solného stresu

Ačkoli je cukrová řepa ve srovnání s jinými plodinami tolerantní vůči soli, je citlivá na zasolení ve fázi klíčení a rané sazenice. Příjem a dostupnost vody je zásadní pro klíčení semen a raný růst sazenic. Solný stres způsobuje výrazné snížení dostupnosti vody, snižuje mobilizaci uložených zásob a ovlivňuje strukturní organizaci proteinů, což vede ke špatnému klíčení (Sadughi a kol. 2015).

Obvyklá dormance semen cukrové řepy v zasolené půdě je narušena a může vyvolat aktivaci semen, umožňující klíčení při úrovni slanosti  $12 \text{ dS m}^{-1}$  ( $\approx 115 \text{ mM NaCl}$ ), který významně neovlivňuje klíčivost semen ve srovnání s kontrolními podmínkami. Když úroveň salinity dosáhla  $16 \text{ dS m}^{-1}$  ( $\approx 150 \text{ mM NaCl}$ ) nebo byla zavedena kombinace různých složení solí ( $\text{Mg}_2\text{SO}_4 / \text{NaCl} / \text{Na}_2\text{SO}_4 / \text{CaCl}_2$ ), bylo zjištěno, že klíčivost semen cukrové řepy je významně inhibována (Khayamim a kol. 2014, Sadeghian a Yavari 2010).

Snížený osmotický potenciál způsobený vysokou koncentrací soli pravděpodobně inhibuje nasávání vody do semen. Mladé rostliny cukrové řepy jsou odolnější vůči salinitě než klíčící semena. Například délka kořene je významně snížena při EC 4 dSm<sup>-1</sup> (≈ 38 mM NaCl). Bylo zaznamenáno, že délka hypokotyly a počet normálních semenáčků negativně korelovaly se zvýšením hladiny soli. Proto mohou být dlouhé kořeny, hypokotyly a nízké procento abnormálních semenáčků použity jako indexy pro identifikaci soli-tolerantních genotypů cukrové řepy (Jafarzadeh a Aliasghar zad 2007, Khayamim a kol. 2014).

Chlorofyl je hlavním pigmentem při fotosyntéze rostlin a je zodpovědný za absorpci a přeměnu světelné energie. Obsah chlorofylu je tak důležitým fyziologickým indikátorem poškození rostlin solným stresem. Obsah chlorofylu v cukrové řepě byl snížen o 38,4 % při 280 mM NaCl (EC ≈ 33 dS m<sup>-1</sup>), ale nezměnil se při mírné salinitě (EC = 5,5 dS m<sup>-1</sup> ≈ 55 mM NaCl.) (Hajiboland a kol. 2009, Wang a kol. 2017).

Kromě toho, čistá rychlost fotosyntézy a stomatální vodivost vykazovaly podobné trendy změn jako u hladiny chlorofylu za výše uvedených dvou podmínek solného stresu. Enzym rubisco, který se přímo podílí na CO<sub>2</sub> fixaci, je určujícím faktorem pro akumulaci sacharidů v rostlinách. Jeho aktivita byla výrazně snížena vlivem solného stresu ve srovnání s kontrolou. Tyto nepříznivé účinky nakonec vedly ke snížení listové plochy, růstu a výnosu kořenů cukrové řepy. (Hossain a kol. 2017; Wang a kol. 2017)

Stres ze soli také ovlivňuje příjem a akumulaci minerálních živin v cukrové řepě. Například vysoká salinita zvyšuje obsah fosfátů v cukrové řepě v závislosti na dávce. Nadměrná akumulace fosforu může vést k otravě fosforem, zpomalení růstu a nekróze rostlin (Zhou a kol. 2008).

Nitrátoreduktáza (NR) je klíčovým enzymem při získávání rostlinného dusíku a je odpovědná za syntézu oxidu dusnatého (NO), klíčové signální molekuly v rostlinných buňkách. Bylo zjištěno, že aktivita NR je významně inhibována NaCl v mladých a starých listech cukrové řepy. Stupeň poklesu aktivity enzymu byl větší se zvyšující se koncentrací soli. Snížení aktivity NR bylo způsobeno především nadměrnou akumulací soli v cytoplazmě. Přímé vazby mezi solí a regulací NR však nejsou známy. Další zpráva ukázala, že salinita indukovala nižší příjem dusíku v cukrové řepě na konci její růstové sezóny než na začátku. Ačkoli tato situace způsobila, že cukrová řepa měla nižší sušinu a celkový výnos nadzemní hmoty, hmotnost zásobního kořene a obsah cukru výrazně vzrostly v důsledku změny dělení

organických materiálů ve prospěch kořenů (Chamizo-Ampudia a kol. 2017, Ghoulam a kol. 2002, Hajiboland a kol. 2009).

### 3.6 Primární mechanismy tolerance soli v cukrové řepě

#### 3.6.1 Akumulace látek pro osmotické úpravy

Osmotický stres je primární formou stresu, kterým rostliny trpí, když jsou vystaveny solnému stresu. Osmotická úprava uvnitř buněk je životně důležitá pro zmírnění osmotické nerovnováhy způsobené solným stresem a pro udržení buněčného turgoru (Liang a kol. 2018).

Osmotická úprava zahrnuje buněčnou akumulaci rozpuštěných látek v reakci na snížení vodního potenciálu prostředí. Ačkoli je cukrová řepa citlivá na zasolení ve fázi klíčení semen a raného stádia semenáčků, vzrostlé rostliny vykazují vysokou osmotickou přizpůsobovací schopnost, což se odráží v akumulaci organických a anorganických osmolytů při solném stresu (Wu a kol. 2015).

Několik studií potvrdilo, že glycinebetain (GB), cholin, volné aminokyseliny, hlavně prolin, se akumulovaly v listech cukrové řepy se zvyšujícími se koncentracemi NaCl v růstovém médiu (Ghoulam a kol. 2002, Yamada a kol. 2009, Wu a kol. 2013).

Vysoké hladiny GB ( $>20 \text{ mmol g FW}^{-1}$ ) v mladých listech cukrové řepy byly detekovány za normálních růstových podmínek. Naproti tomu obsah GB ve starých listech, kotyledonech, hypokotylech a kořenech byl nízký. GB je primárně syntetizován ve starých listech a je translokován do mladých listů. V důsledku toho byla pozorována vysoká akumulace GB v nových listech cukrové řepy, zejména za podmínek solného stresu (Russell a kol. 1998, Yamada a kol. 2009).

GB jednoznačně hraje klíčovou roli v osmotické regulaci buněk cukrové řepy (Waditee a kol. 2007). GB se syntetizuje dvoukrokovou reakcí katalyzovanou cholinmonooxygenázou (CMO) a betain aldehyddehydrogenázou (BADH) (Chen a Murata 2002). CMO katalyzuje první krok, což je krok omezující rychlost syntézy GB (Hibino a kol. 2002). Antisense *BvCMO* transgenní cukrová řepa s potlačenými hladinami *BvProtein CMO* vykazoval sníženou syntézu GB a stal se náchylnější k solnému stresu ve srovnání s nezměněnými původními rostlinami (Yamada a kol. 2015). Na druhou stranu transplastomické rostliny tabáku nadměrně exprimující gen *BvCMO* akumulovaly GB a vykazovaly zvýšenou toleranci vůči stresu ze soli (Zhang a kol. 2008). *BvCMO* má tedy potenciál v genetickém inženýrství ke zlepšení rostlinné tolerance vůči solnému stresu. Bylo



zjištěno, že GB je transportován prolinovými transportéry pomocí transmembránového protonového gradientu (Yamada a kol. 2011).

Prolin je dalším důležitým osmolytem v rostlinných buňkách a jeho buněčné hladiny mohou být použity jako fyziologický index tolerance rostliny ke stresu ze zasolení u mnoha druhů (Per a kol. 2017, De la Torre-González a kol. 2018).

Nicméně význam akumulace prolinu v cukrové řepě při solném stresu pro osmotické přizpůsobení je stále předmětem diskuse. Je pozoruhodné, že koncentrace prolinu v klíčících rostlinách řep byly významně vyšší u kultivarů odolných vůči zasolení než u kultivarů citlivých na zasolení za podmínek kontroly nebo solnému stresu (Ghoulam a kol. 2002, Wu a kol. 2013).

Uvažovalo se, že vysoký obsah prolinu v genotypech cukrové řepy tolerantních vůči zasolení by mohl být indukován buněčnou potřebou po osmotické úpravě a stabilizaci membrány. Z kvantitativního hlediska se však příspěvek nahromaděného prolinu k osmotické úpravě jevil ve srovnání s GB jako malý. Kromě toho mohou ionty anorganických solí hrát při osmotické úpravě důležitější roli než prolin. Bylo zaznamenáno, že mladé rostliny cukrové řepy akumulují ve svých listech vysoké hladiny iontů, jako je  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  a  $\text{Cl}^-$ , které se podílejí na účinné osmotické úpravě za podmínek solného stresu (Wu a kol. 2015).

### 3.6.2 Redoxní regulace tolerance soli

Solný stres vyvolává akumulaci buněčných reaktivních forem kyslíku (ROS), jako je superoxidový radikál ( $\text{O}_2^{\cdot-}$ ), peroxid vodíku ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) a hydroxylový radikál ( $\cdot\text{OH}$ ), které jsou generovány fotosyntetickými a respiračními pochody rostlin, transportní systémy, xantinoxidázy a NADPH oxidázy. Obvykle jsou hladiny ROS v buňkách regulovány jak neenzymatickými antioxidanty, tak enzymatickými antioxidanty (Apel a Hirt 2004, Baxter a kol. 2014, Ben Rejeb a kol. 2015).

Zajímavé je, že hladiny  $\text{H}_2\text{O}_2$  v cukrové řepě byly shledány nižší za dlouhodobé slanosti než za kontrolních podmínek (Hossain a kol. 2017). Tento výsledek je zcela odlišný od reakcí jiných druhů plodin, které vykazují akumulaci ROS vyvolanou solným stresem (Mittler a kol. 2004). Spekuluje se, že je cukrová řepa velmi efektivní při úpravě buněčného redoxního prostředí při zasolení. Expres superoxidodismutáz (*SOD*) (např. *Cu-Zn-SOD*, *Mn-SOD* a *Fe-SOD*) a peroxiredoxinů (*Prx*) byla zvýšena při solném stresu. Indukovaná exprese těchto genů souvisejících s antioxidanty pomáhá odstraňovat nahromadění ROS. Mezitím

byla provedena transkripce homologu oxidázy respiračního vzplanutí (*RBOH*) isoformy, hlavní ROS-generující *NADPH* oxidázy, byly významně potlačeny za salinity. Tyto mechanismy udržování nízké akumulace ROS pomáhají zmírňovat oxidační stres a usnadňují normální buněčný metabolismus pro růst a vývoj cukrové řepy při solném stresu (Hossain a kol. 2017).

Změny antioxidantních enzymů, které se podílejí na toleranci vůči solnému stresu, byly také zkoumány u kulturní cukrové řepy *B. vulgaris* a jejího planého příbuzného *B. maritima* tolerantního vůči vyšší přirozeně se vyskytující soli. Aktivity SOD, peroxidázy (POX), askorbátperoxidázy (APX), katalázy (CAT) a glutathionreduktázy (GR) u *B. maritima* byly zjevně vyšší než u *B. vulgaris* (Bor a kol. 2003).

APX je jedním z hlavních členů v antioxidantním systému, který zachycuje přebytek  $H_2O_2$  způsobený solnými stresy. APX dokáže převést  $H_2O_2$  na  $H_2O$  s kyselinou askorbovou (ASA) jako donor elektronů. Je zajímavé, že exprese *BvAPX* byla navýšena pod vlivem soli v listech jak *B. maritima*, tak *B. vulgaris*. K indukci exprese genu *APX* u *B. maritima* odolných vůči zasolení však bylo zapotřebí mnohem delší trvání solného stresu ve srovnání s odrůdami citlivými na zasolení (Dunajska-Ordak a kol. 2014, Guan a kol. 2015).

Vysoce účinná osmotická regulace v *B. maritima* může odpovídat za opožděnou indukovanou expresi APX. Peroxidáza (POX) je dalším známým antioxidantním enzymem, který chrání rostlinné buňky před oxidačním poškozením, a jeho enzymatická aktivita byla indukována v kořenech cukrové řepy za stresových podmínek (Pradědová a kol. 2014).

Nedávno bylo objeveno, že úroveň transkripce genu *POX* při solném stresu souvisela se zvýšenými hladinami acetylace v místech H3K9 a H3K27 v cukrové řepě. U *B. vulgaris* a *B. maritima* byly vzorce acetylace významně odlišné. Narozdíl od pěstované *B. vulgaris*, hlavním acetylačním místem volně žijících druhů odolných vůči zasolení je H3K9. Tyto studie ukazují, že antioxidantní systém hraje klíčovou roli při určování tolerance cukrové řepy a zdá se, že epigenetika reguluje antioxidantní systém na transkripční úrovni (Yolcu a kol. 2016).

### 3.6.3 Udržování iontové homeostázy

Když jsou rostliny vystaveny solnému prostředí,  $Na^+$  může vstupovat do buněk prostřednictvím neselektivních kationtových kanálů a  $K^+$  transportérů. Udržování iontové homeostázy je tedy nezbytné, aby se rostliny přizpůsobily solnému stresu (Nadeem a kol.

2019). Rostliny obvykle eliminují přebytečný  $\text{Na}^+$  z cytosolu prostřednictvím plazmatické membrány nebo tonoplastických  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  antiporterů (NHX), aby udržely optimální hladinu  $\text{Na}^+$  v cytosolu (Zhu 2003, Olías a kol. 2009).

Tyto  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  antiportéry používají elektrochemický gradient protonů přes tonoplast nebo plazmatickou membránu k přesunu  $\text{Na}^+$  do vakuoly nebo mimo buňku (Blumwald 2000). Aktivita vakuolárních  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  antiporterů je významně odlišná u rostlin tolerantních vůči zasolení a u rostlin citlivých na zasolení. Ve srovnání s rostlinami citlivými na zasolení je transkripce *NHX* v rostlinách odolných vůči zasolení mnohem silněji indukována (Yokoi a kol. 2002, Gong a kol. 2010). Kromě toho tonoplasty cukrové řepy tolerantní vůči zasolení vykazovaly vysokou aktivitu tonoplastů NHX, která přímo souvisela s tolerancí *B. vulgaris* vůči solnému stresu (Wu a kol. 2019, Wu a kol. 2018).

Transkripce *BvNHX1* byla významně zvýšena při solném stresu. Toto zvýšení bylo konzistentní se zvýšeným proteinem BvNHX1 a vakuolární aktivitou NHX (Xia a kol. 2002). Další studie ukázala, že gen *BvNHX1* cukrové řepy byl modulován transkripčním faktorem (faktory) MYB, které byly zodpovědné za aktivaci jeho exprese při expozici soli (Adler a kol. 2010, Yang a Guo 2017).

Je zajímavé, že nadměrná exprese tonoplastových *NHX* v cukrové řepě zlepšuje toleranci vůči solnému stresu. Transgenní cukrová řepa akumulovala vysoké hladiny draslíku a nízké hladiny sodíku v kořenech. Kromě toho transgenní cukrová řepa vykazovala vyšší obsah rozpustného cukru a výnos ve skladovacích kořenech ze zasolených podmínek než planý typ (Liu a kol. 2015). Současně s aktivací vakuolární *BvNHX* při solném stresu byla také zesílena transkripce vakuolární  $\text{H}^+$  pumpy VH-ATPázy. Tato koordinovaná regulace NHX i VH<sup>+</sup>-ATPázy v cukrové řepě představuje účinný mechanismus, který je základem vakuolární sekvestrace soli a tolerance zasolní v cukrové řepě (Yang a kol. 2005, Liu a kol. 2010).

Omezení efluxu  $\text{K}^+$  je dalším důležitým mechanismem, který je základem tolerance zasolení cukrové řepy. Bylo zjištěno, že  $\text{H}^+$ -ATPáza z plazmové membrány (PM) se podílí na omezování efluxu  $\text{K}^+$  za podmínek solného stresu (Sun a kol. 2010, Shabala a kol. 2016).

Wakeel a kol. (2011) studie porovnávala účinek solného stresu na aktivitu PM  $\text{H}^+$ -ATPázy u kukuřice citlivé na zasolení a cukrové řepy tolerantní k zasolení. Ačkoli vysoká salinita může inhibovat aktivitu PM  $\text{H}^+$ -ATPázy, aktivita cukrové řepy tolerantní vůči zasolení byla ovlivněna méně než aktivita kukuřice. Při nízkých koncentracích zasolení je PM

H<sup>+</sup> aktivita -ATPázy v cukrové řepě nebyla ovlivněna, zatímco u kukuřice byl zjištěn zřetelný pokles aktivity. Tyto výsledky naznačují, že PM H<sup>+</sup> -ATPáza v cukrové řepě je relativně stabilní při solném stresu a může udržovat vysokou hladinu buněčného K<sup>+</sup>. Navíc apoplastické pH, které je určováno H<sup>+</sup>-ATPázami, nebylo ovlivněno u cukrové řepy při stresu. Podle teorie kyselého růstu umožňuje nižší apoplastické pH extenzivní růst zvýšením roztažitelnosti buněčné stěny. Relativně stabilní PM H<sup>+</sup>-ATPáza při solném stresu zajišťuje kyselé podmínky pro růst cukrové řepy (Wakeel a kol. 2010).

### 3.6.4 Technologie Omics pro objevování genů, proteinů a metabolitů zapojených do tolerance soli

V dnešní době se mnoho studií zaměřilo na využití 'omických nástrojů ke zkoumání mechanismů tolerance soli v rostlinách. Nástroje 'omics zahrnují genomiku, transkriptomiku, proteomiku a metabolomiku, které umožňují ve velkém měřítku objevovat kandidátní geny, proteiny a metabolity zapojené do tolerance rostlin vůči solnému stresu. Nedávno bylo popsáno několik důležitých genů, proteinů a metabolitů souvisejících s tolerancí zasolení v cukrové řepě (Sun a kol. 2017, Lei a kol. 2018).

### 3.6.5 Transkriptomická studie tolerance soli v cukrové řepě

V počátcích byla metoda supresní subtraktivní hybridizace (SSH) založená na polymerázové řetězové reakci (PCR) přijata k porovnání vzorců genové exprese mezi „testovací“ a „ovladatelnou“ populací. Řada odlišně exprimovaných genů souvisejících s tolerancí vůči solnému stresu byla identifikována v různých rostlinných druzích pomocí techniky SSH (Baldwin a Dombrowski 2006, Ouyang a kol. 2006).

Li a kol. 2010 se zabývali jedním chromozomem z *B. corolliflora* který byl zaveden do kultivované *B. vulgaris* tradičním křížením vzdálených druhů. Jedna z hybridních linií, *BvM14*, obsahující chromozom 9 *B. corolliflorabylo*. Vykázala vlastnosti apomixie a tolerance vůči stresu ze zasolení *Bv M14* toleroval ošetření až 500 mM NaCl. Metoda SSH byla použita ke zkoumání změn v transkripčních profilech rostlin *Bv M14* pod zasolením (Ma a kol. 2017).

Testovací a řídicí cDNA byly syntetizovány z *Bv M14* kořenové a listové mRNA extrahované z kontrolních rostlin a rostlin vystavených působení soli. Celkem 36 odlišně exprimovaných genů bylo identifikováno a anotováno v kořenech a listech *Bv M14* pod solným stresem. Většina genů se podílela na metabolismu a fotosyntéze. Například jeden z

odlišně exprimovaných genů, S-adenosylmethionin syntetáza 2 (*BvM14-SAMS2*), je důležitým enzymem při syntéze S-adenosylmethioninu (SAM), prekurzoru polyaminů. Bylo navrženo, že polyaminy se mohou podílet na určování reakcí rostlin na abiotické nebo biotické stresy. Jak se očekávalo, transgenní rostliny *Arabidopsis* nadměrně exprimující *BvM14-SAMS2* vykazovaly silnou toleranci vůči zasolení a H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve srovnání s divokým typem (Ma a kol. 2017).

Další gen citlivý na sůl, *BvM14-cystatin*, identifikovaný metodou SSH, byl také izolován z cukrové řepy a nadměrně exprimován v *Arabidopsis*. Transgenní rostliny vykazovaly zvýšenou toleranci vůči soli. Celkově tyto studie ukázaly, že technika SSH byla užitečná pro identifikaci klíčových genů zapojených do tolerance k zasolení cukrové řepy v prvních dnech (Wang a kol. 2012).

Nedávno vysoce výkonné sekvenační nástroje vyvinuté pro sledování vzorců genové exprese umožnily systémově zkoumat, jak se rostliny vyrovnávají se solným stresem (Sun a kol. 2013, Bushman a kol. 2016). Aby bylo možné určit široké spektrum genů zapojených do tolerance *Bv M14*, byla provedena srovnávací transkriptomická analýza k identifikaci odlišně exprimovaných genů ve vzorcích listů a kořenů semenáčků *Bv M14* v podmínkách 0, 200 a 400 mM NaCl (Lv a kol. 2018).

Analýzy obohacení GO a KEGG zjistily, že velká část odlišně exprimovaných genů byla koncentrována v redoxní rovnováze, transdukcii signálu a fosforylaci proteinů. Kromě toho byly odlišně exprimované geny *Bv M14* pod solným stresem velmi odlišné v listech a v kořenech. Tento výsledek ukazuje, že kořeny a listy *Bv M14* mají různé adaptační mechanismy pro zvládnání solného stresu. Navíc geny zapojené do systému vylučování ROS, jako je APX, SOD, thioredoxin (TRX), glutathion S-transferáza (GST), monodehydroaskorbát reduktáza (MDAR) a glykolát oxidáza (GOX), ukázaly významné rozdíly v cukrovce při solném stresu ve srovnání s kontrolou. Tento výsledek ukazuje, že rostlinný antioxidační systém hraje důležitou roli při regulaci tolerance soli cukrové řepy.

Vzhledem k tomu, že řepa přímořská (*B. maritima*) vykazuje zvýšenou toleranci zasolení ve srovnání s pěstovanou řepou (*B. vulgaris*), studie také zkoumala transkriptomické reakce na akutní solný stres působící na vyříznuté listy přímořské řepy. Byly identifikovány diferencovaně exprimované geny zapojené do osmoprotekce, molekulárního chaperoningu a redoxní syntézy proteinů, které mohou hrát klíčovou roli při určování tolerance u přímořské řepy (Skorupa a kol. 2016).

Nedávno byla publikována další studie využívající RNAseq, která zkoumala transkripční vzorce související s reakcemi na zasolení v cukrové řepě (*B. vulgaris*) a jejím divokém předchůdci řepě přímořské. Byly použity dva druhy strategií ošetření solí: buď postupné zvyšování koncentrace soli (solný stres) nebo náhlé vystavení zasolení (solný šok). Je zajímavé, že cukrová řepa vykazovala významnější transkriptomické změny k udržení homeostázy než přímořská řepa. Solný šok navíc vyvolal větší transkriptomické změny než solný stres a solný šok vedl k většímu počtu up-regulovaných genů ve srovnání se solným stresem. Kromě toho tato studie také potvrdila, že cukrová řepa zdědila znaky tolerance od přímořské řepy a že transkripční faktory bHLH jsou kandidátními regulátory reakcí na solný stres v cukrové řepě (Skorupa a kol. 2019).

### 3.7 Detoxikace

Povaha škod, které vysoké koncentrace zasolení způsobují rostlinám, není zcela jasná. Je známo, že integrita buněčných membrán, aktivity různých enzymů, získávání živin a funkce fotosyntetického aparátu jsou náchylné k toxickým účinkům vysokého solného stresu. Důležitou příčinou poškození mohou být reaktivní formy kyslíku (ROS) generované solným stresem. Rostliny vystavené solnému stresu vykazují složité molekulární reakce včetně produkce stresových proteinů a kompatibilních osmolytů. Mnoho osmolytů a stresových proteinů s neznámými funkcemi pravděpodobně detoxikuje rostliny vychytáváním ROS nebo jim brání v poškození buněčných struktur.

Podle Roxas a kol. (1997) největší roli hraje genetická predispozice rostliny. Většina dosud hlášených transgenních zlepšení tolerance rostlin vůči zasolení bylo dosaženo prostřednictvím této detoxikační strategie. To je zřejmé v případě transgenních rostlin nadměrně exprimujících enzymy zapojené do oxidační ochrany, jako je glutathionperoxidáza, superoxiddismutáza, askorbátperoxidázy a glutathionreduktázy. Dalším dobrým příkladem je novější inženýrství s regulačním proteinem NPK1, mitogenem aktivovanou proteinkinázou (MAP); zdá se, že tato proteinkináza zprostředkovává reakce na oxidační stres. Podpora pro důležitost oxidační ochrany v toleranci soli pochází také z charakterizace mutantu PST1 *Arabidopsis*, který má mutaci v dosud neznámém domnělém negativním regulátoru reakcí na oxidační stres. Mutované rostliny PST1 jsou odolnější vůči vysokým koncentracím soli a to koreluje se zvýšenou schopností tolerovat oxidační stres.

Osmolyty, jako je mannitol, fruktany, trehalóza, ononitol, prolin, glycinebetain a ektoin, také pravděpodobně funguje prostřednictvím oxidační detoxikace. Tyto osmolyty jsou

aktivní při vylučování ROS. Kromě toho cílená produkce osmolytů v chloroplastu umístěním signální sekvence před vytvořené enzymy vede k lepší ochraně. To je v souladu s představou, že chloroplasty jsou primárním místem produkce ROS. Dalším důvodem, proč se domnívat, že osmolyty působí tímto způsobem, je to, že hladiny osmolytů v transgenních rostlinách jsou obecně příliš nízké na to, aby byly významné při osmotické úpravě. Konečně, transgenní rostliny produkující osmolyty mají zlepšenou toleranci nejen vůči solím, ale také vůči různým dalším stresům, jako je chlazení, mrazení, teplo a sucho, které také generují ROS. To je jasně prokázáno v rostlinách produkujících glycinbetain (Gupta a Huang 2014).

Jedním z charakteristických znaků detoxikačního účinku je jeho nedostatečná specifita; to znamená, že transgenní rostliny mají zvýšenou toleranci nejen vůči vysokým koncentracím soli, ale také vůči suchu, chladu a v některých případech dokonce tepelnému šoku. Například transgenní rostliny nadměrně exprimující proteiny CBF/DREB mají zlepšenou toleranci vůči suchu, slanosti a mrazovému stresu. Transkripční faktory CBF/DREB se mohou vázat na prvek DRE/CRT, který se nachází v promotorech některých genů reagujících na stres. Proto ektopická exprese těchto transkripčních faktorů vede k expresi jejich cílových genů bez ohledu na stres. Biochemická funkce cílových genů reagujících na stres, které lze volně považovat za leas nebo dehydriny, není známa (Gupta a Huang 2014).

### **3.8 Sodík a draslík v rostlině**

#### **3.8.1 Draslík**

Draslík je minerálním prvkem nezbytným pro celou řadu fyziologických a biochemických procesů probíhajících v organismu. Jedná se především o proteosyntézu, fotosyntézu, osmoregulaci a aktivaci celé řady enzymů. Ovlivňuje otevírání průduchů, pokles vodního potenciálu a směr koncentračního spádu. Podílí se na hospodaření rostliny s vodou a chrání ji proti nepříznivým podmínkám, zejména před suchem. Obsah vody v buňce působí na plazmatickou membránu a podílí se na udržování tvaru a pevnosti rostliny. K je nositelem 21 elektrických nábojů, podílí se na regulaci membránového potenciálu, a tím dochází k udržení pH a k neutralizaci záporných iontů. (Vaněk a kol. 2016)

Růst a metabolismus rostlin v reakci na různé koncentrace tkáň K je diskutován v souvislosti se současnými poznatky o distribuci a funkcích tohoto iontu v rostlinných

buňkách. V cytoplazmě má K důležitou roli při poskytování správného iontového prostředí pro metabolické procesy. Zdá se, že iontové požadavky na syntézu proteinů jsou zvláště důležité při určování složení cytoplazmy. Draslík není ve svých cytoplazmatických funkcích nahraditelný a rostlina pravděpodobně potřebuje udržovat cytoplazmatickou koncentraci K v rozmezí 100 až 200 mM. Draselné soli ve vakuole se podílejí na tvorbě turgoru, ale pokud nejsou k dispozici, mohou být nahrazeny jinými rozpuštěnými látkami.

Z chemické stránky je draslík monovalentní kationt, který rostlina přijímá aktivně při nižších koncentracích (do 0,5 mM) nebo pasivně při koncentracích vyšších. Příjem draslíku je výrazně ovlivňován interakcemi antagonistického charakteru. Zvyšující se koncentrace K snižuje příjem  $Mg^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $NH_4^+$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$  a stimuluje příjem  $NO_3^-$ ,  $H_2PO_4^-$ ,  $Cl^-$ ,  $SO_4^{2-}$ . Z kationtů je nejméně ovlivněn příjem  $NH_4^+$  vzhledem k velikosti hydratovaného poloměru u obou iontů. Na příjem K pozitivně působí i řada vnějších podmínek (přístup vzduchu, teplota půdy, intenzita osvětlení).

V rostlině je draslík velmi pohyblivý a transportuje se jak bazipetálně, tak akropetálně. Charakteristickým rysem pro  $K^+$  je vysoká schopnost průniku buněčnými membránami. Pro metabolismus buňky je důležitý  $K^+$  cytoplazmy, kde se nachází 100-200 mM draslíku. Ve vakuolách se nachází jako  $KNO_3$ ,  $KCl$  nebo K-malát, jeho obsah se mění od 10 do 200 mM nebo až 500 mM v buňkách stomat a plní zde osmotickou funkci. Hladina draslíku je v buňkách poměrně vysoká a obvykle se  $K^+$  vyplavuje ve stresových situacích pro rostliny (nízké teploty, sucho aj.). Draslík má vysokou reutilizační schopnost. Proto se příznaky nedostatku projeví na starších listech.

Draslík zasahuje do celé řady metabolických procesů. Významná je jeho účast v procesu fotosyntézy a dýchání, kde má dominantní postavení ve světelné fázi. U izolovaných chloroplastů zvýšený obsah  $K^+$  ve vnějším prostředí (kolem 100mM) zvýšil fixaci  $CO_2$  na trojnásobek. Význam K pro fotosyntézu spočívá v tom, že vytváří v chloroplastech také potřebný optimální stav pro průběh enzymatických reakcí. Zvýšený obsah draslíku v listu na druhé straně snižuje respiraci  $CO_2$ . Právě vysoká respirace listů je typickým projevem draslíkové deficience.

Nedostatek draslíku snižuje syntézu organických látek a zvyšuje respiraci, čímž se omezuje energetický stav rostliny. Draslík zasahuje do tvorby cukru a do syntézy škrobu, což se projevuje při transportu a přeměnách vytvořených cukrů. Při deficienci K je omezen transport cukrů z listů do bulv (cukrovka) a zvyšuje se obsah redukcujících cukrů, a tím je blokován cyklus TCA. Důsledkem toho je narušení syntézy sacharidů, tvorba slabších



bunčných stěn, řidších pletiv, a tím je snížena odolnost obilovin proti poléhání i ochrana proti parazitům.

Draslík dále pozitivně ovlivňuje dusíkatý metabolismus. Při jeho nedostatku stoupá stoupá obsah aminokyselin a amidů, především putrescinů a kadaverinu (vzniká z argininu přes ornitin) a omezuje se syntéza bílkovin. Rovněž stabilita bílkovin je při jeho nedostatku snížena a urychluje se jejich rozklad na jednodušší N-sloučeniny. (Vaněk 2007)

Podle některých autorů je  $K^+$  nutný k aktivaci nitrátreduktázy, ale i pro její syntézu. Draslík také vystupuje jako specifický, ale i nespecifický aktivátor řady enzymů. V současné době je známo více než 60 enzymových reakcí, které jsou aktivizovány  $K^+$  ionty.

Koncentrace draslíku má také velký vliv na osmotickou hodnotu a bobtnání koloidů. Při jeho nedostatku jsou koloidy méně stabilní a ztrácejí schopnost vázat vodu. To je důležité zvláště u protoplazmy, kde tak ovlivňuje vodní režim rostlin zvýšenou hydrofilností koloidů. Tím se zvyšuje turgor buněk a rostliny mohou lépe odolávat suchu i nízkým teplotám.

Draslík dále ovlivňuje mechanismus otevírání a zavírání stomat. Za osvětlení se draslík hromadí ve svěracích buňkách průduchů, a naopak za tmy ho ubývá. Transport  $K^+$  do svěracích buněk vede k otevření průduchů a zpětný transport k jejich uzavření.

Koncentrace draslíku v rostlinách se pohybuje mezi 2-6 %. Nejvyšších hodnot dosahuje ve fázi kvetení a v období dozrávání dochází k jeho snížení v důsledku vylučování do živného prostředí. Na draslík mají největší nároky okopaniny, jeteloviny, luskoviny, olejoviny, přadné rostliny a relativně nejmenší obiloviny. Zemědělské plodiny můžeme také rozdělit podle citlivosti k doprovodnému aniontu. Chloridovou formu K hnojiv dobře snáší obiloviny, cukrovka, krmná řepa, jeteloviny. (Vaněk a kol. 2016)

### 3.8.2 Sodík

Sodík řadíme do skupiny prvků užitečných pro rostlinu, jeho význam však není jednoznačný, vždy záleží na druhu rostliny. V životním prostředí se zvyšuje obsah sodíku, a tím dochází i ke zvýšení množství Na v rostlinách. Vyšší míra Na v rostlině může ovlivnit přijímání jiných esenciálních prvků, protože Na je přijímán velmi snadno, v některých případech rychleji než draslík. V praxi je nutné dodávat sodík pouze některým druhům rostlin.

Při stresu ze zasolení je pro rostlinné buňky klíčové udržovat nízkou hladinu  $Na^+$  v cytosolu a zároveň udržovat vysokou hladinu  $K^+$ , což má za následek vysoký poměr  $K^+/Na^+$  v cytosolu, který je výhodnější pro životně důležité buněčné metabolismy (Blumwald 2000).

Bylo prokázáno, že citlivost cytosolových enzymů z glykofytů a halofytů na zvýšené hladiny solí je srovnatelná, což naznačuje, že udržení vysokého poměru  $K^+ / Na^+$  v cytosolech je základním požadavkem pro rostlinné buňky vystavené stresu ze zasolení bez ohledu na vrozený rozdíl citlivosti či tolerance. (Glenn a kol. 1999). Sekvestrace  $Na^+$  do vakuol je účinný mechanismus pro snížení cytosolických koncentrací  $Na^+$ . Kromě toho se sekvestrované ionty  $Na^+$  ve vakuolách mohou zase chovat jako osmotikum, což pomáhá udržovat osmotickou hnací sílu podporou absorpce vody ve slaném prostředí. (Yamaguchi a Blumwald 2005).

Základní mechanismy vstupu  $Na^+$  do kořenů rostlin prostřednictvím symplastických i apoplastických cest jsou z velké části neznámé. Na základě návrhu Yeo a kol. (1987) lze předpokládat alespoň čtyři různé vstupní mechanismy: iontové kanály/transportéry, které zprostředkovávají  $Na^+$  selektivní transport na plazmatické membráně kořenových epidermálních/kortikálních buněk, iontové kanály/transportéry, které zprostředkovávají neselektivní transport kationtů na plazmatické membráně kořenových epidermálních/kortikálních buněk, intruze  $Na^+$  do kořenové symplastické dráhy v důsledku přímého úniku přes membránové dvojvrstvy nebo poranění v membránových dvojvrstvách a přímá apoplastická intruze do xylemu z vnějšího prostředí bez biologické selektivity.

Ionty  $Na^+$ , které se dostanou do xylemu průchodem bariérovými mechanismy v kořenech pod stresem ze slanosti, jsou transportovány do výhonků. Kromě nezávislých bariérových složek uvedených výše si rostliny zachovávají odlišný ochranný mechanismus na rozhraní buňka-xylém apoplastu. Bylo prokázáno, že k reabsorpci  $Na^+$  dochází z proudu xylému okolními tkáněmi a v důsledku toho se snižuje čistý tok  $Na^+$  do výhonků (Läuchli 1984, Lacan a Durand 1996)

Sodík je rostlinami přijímán velmi rychle. V rychlosti příjmu je plně rovnocenný draslíku nebo jej dokonce předčí. Zvyšování obsahu sodíku v živném prostředí vede ke stupňování koncentrace  $Na$  v rostlině. Příjem  $K$ ,  $Ca$ ,  $Mg$  se tím v rostlinách snižuje. Obsah sodíku je v rostlinách menší než obsah draslíku. Výjimku tvoří pouze halofyty, u nichž je poměr  $K/Na$  nepatrně menší než 1 nebo dokonce vyšší než 1. Vysokým obsahem  $Na$  se vyznačují řepa, celer, špenát, rajčata, mrkev, ječmen.

Pro praxi se ukazuje nutné dodávat sodík natrofilním rostlinám (řepa, mangold, špenát) a k tomu postačí méně koncentrovaná draselná hnojiva, která mají vyšší obsah  $Na$ . Hnojení  $Na$  se projevuje i zvýšeným výnosem bulev cukrovky.

Významnou úlohu má sodík ve výživě zvířat. Pastvinné porosty mají obsahovat nejméně 0,15 % Na v sušině. Při nižším obsahu se u pasoucího dobytka mohou vyskytovat projevy nedostatku sodíku označované jako hemoglobinurie. (Vaněk a kol. 2016)

## 4 Metodika

Vliv stresu zasolení na fyziologicko-chemické parametry rostlin byl sledován u vybraných druhů rodu řepa. Z rostlinného vzorku odebraného v různých růstových fázích a rozdílných koncentracích zasolení, byly měřeny hodnoty obsahu Na a K. Z naměřených hodnot byla určena schopnost příjmu draslíku a sodíku rostlinou, míra stresu u rostlin a stanovena schopnost tolerance rostliny vůči stresu zasolením.

### 4.1 Charakteristika pokusného materiálu

Z rodu řepy byly vybrány tři druhy: krmná řepa (*Beta vulgaris var. crassa* Alef.), cukrová řepa (*Beta vulgaris var. altissima* Döll) a mangold (*Beta vulgaris subsp. cicla* L.). Za zástupce krmné řepy byla vybrána odrůda Hako, za řepu cukrovou odrůda Dobrovická A a za mangold odrůda Lucullus. Odrůdy byly vybrány z dostupných odrůd v České republice.

Dobrovická A je víceklíčkovou odrůdou výnosného typu. Je to odrůda z historického hlediska významná, která se hojně pěstovala v Československu před rokem 1989. Dávala poměrně dobrý a stabilní výnos s nízkou cukernatostí okolo 15 %. Dnes již nepatří mezi běžně pěstované odrůdy (Chochola 2012).

Hako je polyploidní víceklíčková výnosná odrůda objemového typu. Patří mezi odrůdy odolné vůči vybíhání do květu. Je charakteristická žlutooranžovou barvou bulvy válcovitého tvaru a polovzpřímeným postavení listové růžice. Nevýhodou této odrůdy je náchylnost ke skvrnitosti listů a poměrná náročnost na ruční práci při pěstování. (Pokorný 2019). Její výhodou je dobrá skladovatelnost, dobrá dobyvatelnost z půdy, vysoká produkční schopnost i v horších výrobních podmínkách. Pro své dietetické vlastnosti je vhodná pro všechna hospodářská zvířata, zejména pro polygastry.

Lucullus je řapíkatá odrůda mangoldu. Rostlina má světle zelenou barvu čepele listů, obrůstá a je určená k řezu. Má široké využití jako zelenina a lze ji sklízet opakovaně během roku. Mezi její charakteristické znaky patří široké listy, tlustá žebra. Řapíky jsou až 6 cm široké a 2 - 3 cm silné. Obsahuje mnoho vitamínu C, jehož množství, ale může klesnout neopatrným zpracováním. Dále pak obsahuje vitamín B, E a A. Z minerálních látek nám mangold nabízí vápník, draslík, hořčík, fosfor a železo. (Šebela 2019)

## 4.2 Založení nádobového pokusu

Nádobový pokus byl založen v částečně řízených skleníkových podmínkách. Teplota prostředí byla udržována na 20 °C ve dne a 19 °C v noci. Pokus byl uskutečněn za přirozeného světelného režimu. Pokusné rostliny byly pěstovány v nádobách o velikosti 11x11 cm, ve směsi rašeliny a vyzrálého kůrového humusu. Schéma pokusu zahrnovalo pět variant: kontrolní (0 mM NaCl), S1 (50 mM NaCl), S2 (150 mM NaCl), S3 (250 mM NaCl), S4 (350 mM NaCl). Roztoky NaCl byly aplikovány v modifikovaném živném roztoku dle Hoaglanda. Koncentrace soli se zvyšovala ve dvoudenních intervalech po 50 mM NaCl. Měření bylo uskutečněno po každém navýšení koncentrace soli a po dosažení maximální koncentrace se měřilo 1x týdně po dobu 7 týdnů. Pokus byl zahájen ve vývojové fázi 14 BBCH.



Obrázek1: Založený nádobový pokus

### 4.2.1 Sběr vzorků a analýza

#### **Pomůcky a přístroje:**

- běžné laboratorní sklo
- automatická pipeta Socorex ACURA 825 100 –1000 µl a 10 – 100 µl (Socorex, Švýcarsko)
- analytické váhy KERN & Sohn GmbH (Německo)
- mikrovlnná pec Berghof MWS 3+ Speedwave (Berghof, Německo)
- topná deska s regulátorem JR 03 TD 02 (Altec, ČR)
- atomový absorpční spektrometr Varian SpectrAA 110 se systémem SIPS (Varian, Austrálie)

- výbojky s dutou katodou: •Na (Photron Lamps, Austrálie)
  - K (Photron Lamps, Austrálie)
- přístroj na přípravu vody GW 10 Kompakt (Goldman Water, ČR)

### Chemikálie:

- H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-peroxid vodíku pa+, pro stopovou analýzu, min. 30 % (Analytika, ČR)
- HNO<sub>3</sub>–kyselina dusičná, pro stopovou analýzu, 67 % (Analytika, ČR)
- referenční materiál –1573a Tomato Leaves (NIST-National Institute of Standards and Technology, USA)
- standardy –kalibrační roztoky pro jednotlivé prvky (K, Na) o koncentraci 1,000 ± 0,002 g/l, Astasol (Analytika, ČR)
- demineralizovaná voda

#### 4.2.2 Příprava vzorků k analýze

Vzorky byly odebrány každých sedm dní. Rostliny byly řádně označeny a v sušárně vysušeny při teplotě 102 °C po dobu 48 hodin. Následně byly převedeny pomocí elektrického mlýnku na homogenní vzorek. Pro rozklad rostlinného vzorku byla použita metoda mokrého rozkladu.



**Obrázek 2.:** Postup zpracování rostlinného vzorku

Na analytických vahách byl navážen do malých patron homogenní vzorek o přibližné hmotnosti 0,270 g. Do tlakových patron byla vložena malá patrona se vzorkem, 2 ml HNO<sub>3</sub> a 3 ml H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Po uplynutí 30 minut byly patrony zavičkovány a vloženy mikrovlnné pece

Berghof MWS 3+ Speedwave. Kapacita přístroje činila 12 tlakových patron, z toho byly ve 2 patronách dva vzorky slepé a dále jeden referenční standardní vzorek 1573a Tomato Leaves. Přístroj byl nastaven na rozklad rostlinného materiálu po dobu 60 minut.

Zmineralizovaný vzorek byl převeden do kádinek pomocí demineralizované vody a poté odpařen na varné desce. Po odpaření byl vzorek rozpuštěn pomocí 1,5% HNO<sub>3</sub> a převeden do zkumavek. Zkumavka byla doplněna 1,5% HNO<sub>3</sub> do objemu 20ml. Takto připravený roztok byl uchován pro následné ředění a analýzu.

Pro měření byl vzorek ředěn, pomocí automatické pipety Socorex bylo převedeno 625 µl do 10 ml zkumavky, doplněno 1,5% HNO<sub>3</sub> a zavíčkováno parafilmem. Takto naředěný vzorek byl pečlivě promíchán a odložen na 24 hodin do lednice. Poté byl vzorek měřen na atomovém absorpčním spektrometru Varian SpectrAA 110 se systémem SIPS. Na přístroji byly nastaveny výbojky s dutou katodou nejprve pro měření Na při vlnové délce 589,0 nm a poté K při vlnové délce 766,5 nm. Přístroj byl kalibrován standardem, pro Na 10% a K 8%. Naměřené hodnoty byly zaznamenány v počítači a následně přepočítány na miligramy stanovených prvků v gramu suché rostlinné hmoty (mg/g DW).

## 5 Výsledky

Vliv stresu zasolením na fyziologicko-chemické parametry rostlin byl sledován u vybraných druhů rodu řepa Dobrovická A, Lucullus a Hako. Z rostlinného vzorku odebraného v různých růstových fázích a rozdílných koncentracích zasolení, varianty: kontrolní (0 mM NaCl), S1 (50 mM NaCl), S2 (150 mM NaCl), S3 (250 mM NaCl), S4 (350 mM NaCl) byly měřeny hodnoty obsahu Na a K. Z naměřených hodnot byly zaznamenány a vyhodnoceny v programu Statistika.

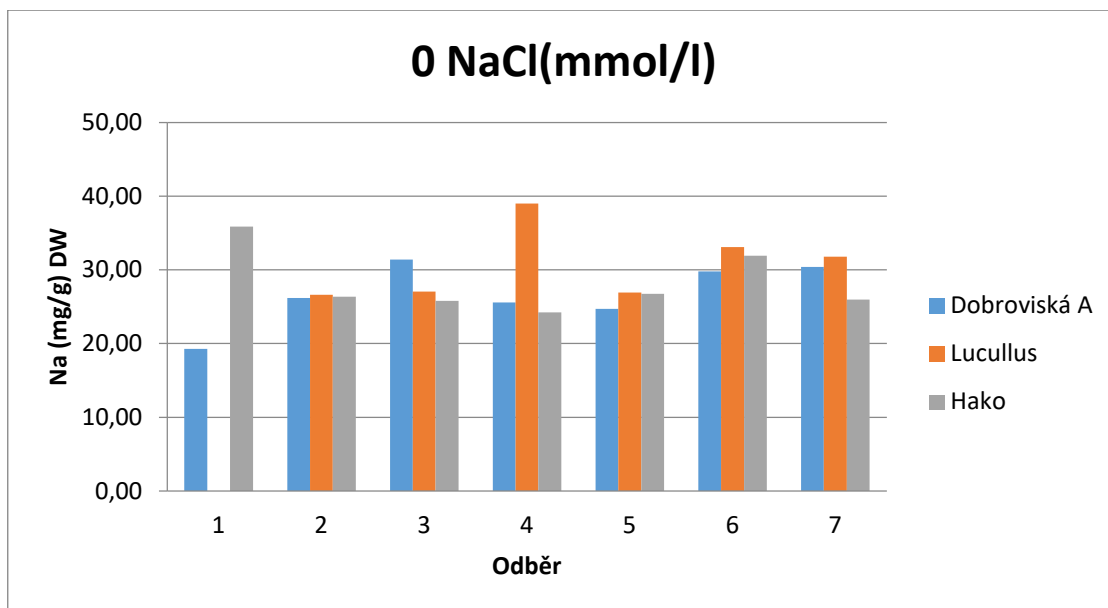
### 5.1.1 Naměřené hodnoty Hodnoty podle koncentrací NaCl v podávaném roztoku

**Tabulka 1:** Obsah prvků Na a K v zelené hmotě v mg/g DW při koncentraci 0 mmol/l NaCl .

	<b>Dobrovická A</b>		<b>Lucullus</b>		<b>Hako</b>	
	<b>K</b> (mg/g DW)	<b>Na</b> (mg/g DW)	<b>K</b> (mg/g DW)	<b>Na</b> (mg/g DW)	<b>K</b> (mg/g DW)	<b>Na</b> (mg/g DW)
1	112,2	19,3			88,4	35,9
2	71,9	26,2	89,5	26,6	85,3	26,4
3	70,2	31,4	62,0	27,1	71,8	25,8
4	73,8	25,6	75,6	39,0	64,6	24,2
5	71,0	24,7	86,2	26,9	63,6	26,7
6	54,1	29,8	75,2	33,1	81,9	31,9
7	56,3	30,4	70,0	31,8	61,3	26,0

Z naměřených hodnot zaznamenaných v tabulce 1 největší obsah draslíku přijala Dobrovická A (112,2 mg/g DW), která zároveň přijala nejmenší množství sodíku (19,3 mg/g DW) v prvním měření. Nejvyšší hodnota sodíku byla naměřena u Lucullusu (39,0 mg/g DW) ve čtvrtém měření jak je vidět v grafu 1.



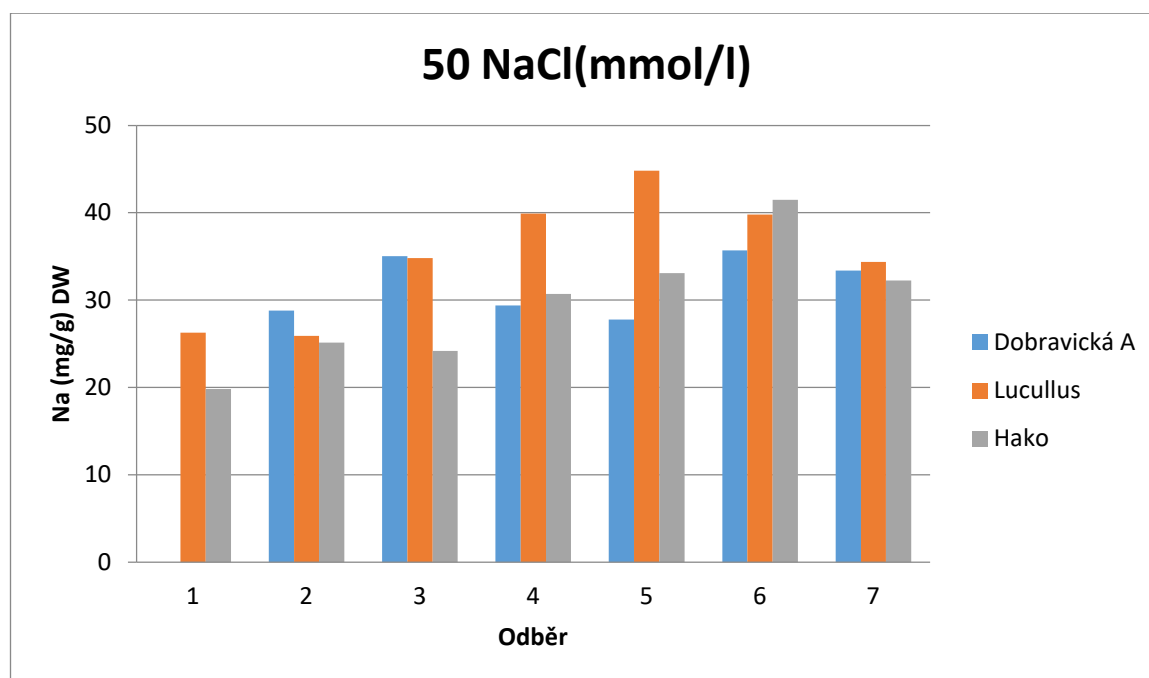


**Graf 1.:** Obsah prvků Na zelené hmotě v mg/g DW při koncentraci 0 mmol/l NaCl .

**Tabulka 2:** Obsah prvků Na a K v zelené hmotě v mg/g DW při koncentraci 50 mmol/l NaCl.

	Dobrovická A		Lucullus		Hako	
	K (mg/g DW)	Na (mg/g DW)	K (mg/g DW)	Na (mg/g DW)	K (mg/g DW)	Na (mg/g DW)
<b>1</b>			97,3	26,3	88,7	19,8
<b>2</b>	79,2	28,8	94,0	25,9	90,7	25,2
<b>3</b>	70,5	35,0	74,5	34,8	84,5	24,2
<b>4</b>	67,2	29,4	81,6	39,9	74,9	30,7
<b>5</b>	50,6	27,8	66,9	44,8	54,1	33,1
<b>6</b>	74,5	35,7	68,8	39,8	74,8	41,5
<b>7</b>	50,0	33,4	73,9	34,4	50,8	32,3

V tabulce 2 nejvyšší obsah draslíku byl zaznamenán pro odrůdu Hako (88,7 mg/g DW) a nejnižší obsah sodíku (19,8 mg/g DW) a to v prvním odběru. Nejnižší obsah draslíku byl v odrůdě Dobrovická A (50,0 mg/g DW) v sedmém odběru. Z grafu 2 vyplívá, že nejvyšší hodnota sodíku je v odrůdě (44,8 mg/g DW).

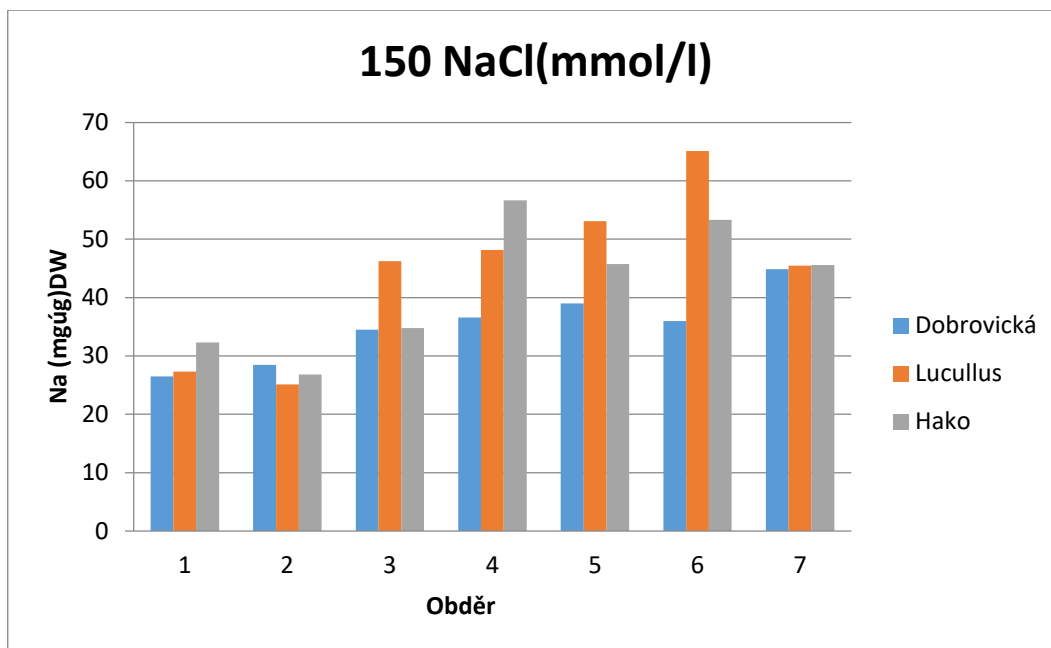


**Graf 2.:** Obsah prvků Na v zelené hmotě v mg/g DW při koncentraci 50 mmol/l NaCl.

**Tabulka 3:** Obsah prvků Na a K v zelené hmotě v mg/g DW při koncentraci 150 mmol/L NaCl.

	Dobrovická A		Lucullus		Hako	
	K (mg/g DW)	Na (mg/g DW)	K (mg/g DW)	Na (mg/g DW)	K (mg/g DW)	Na (mg/g DW)
<b>1</b>	75,9	26,5	108,9	27,3	82,9	32,3
<b>2</b>	69,9	28,5	94,6	25,1	76,1	26,8
<b>3</b>	88,7	34,5	72,8	46,3	79,8	34,8
<b>4</b>	56,8	36,6	77,5	48,2	66,9	56,7
<b>5</b>	77,8	39,0	87,5	53,1	72,3	45,7
<b>6</b>	68,3	36,0	54,6	65,1	73,0	53,3
<b>7</b>	63,2	44,9	54,3	45,5	63,8	45,6

Pro tabulku 3 a grafu 3 byla největší hodnota sodíku u Lucullusu (65,1 mg/g DW) při šestém odběru. Nejnížší hodnota Na byla naměřena u Lucullusu (25,1 mg/g Dw) v druhém odběru. Nejvyšší hodnota draslíku byla u Lucullusu (108,9 mg/g DW) v prvním měření a nejnižší u Lucullusu (54,3 mg/g DW) v sedmém měření.

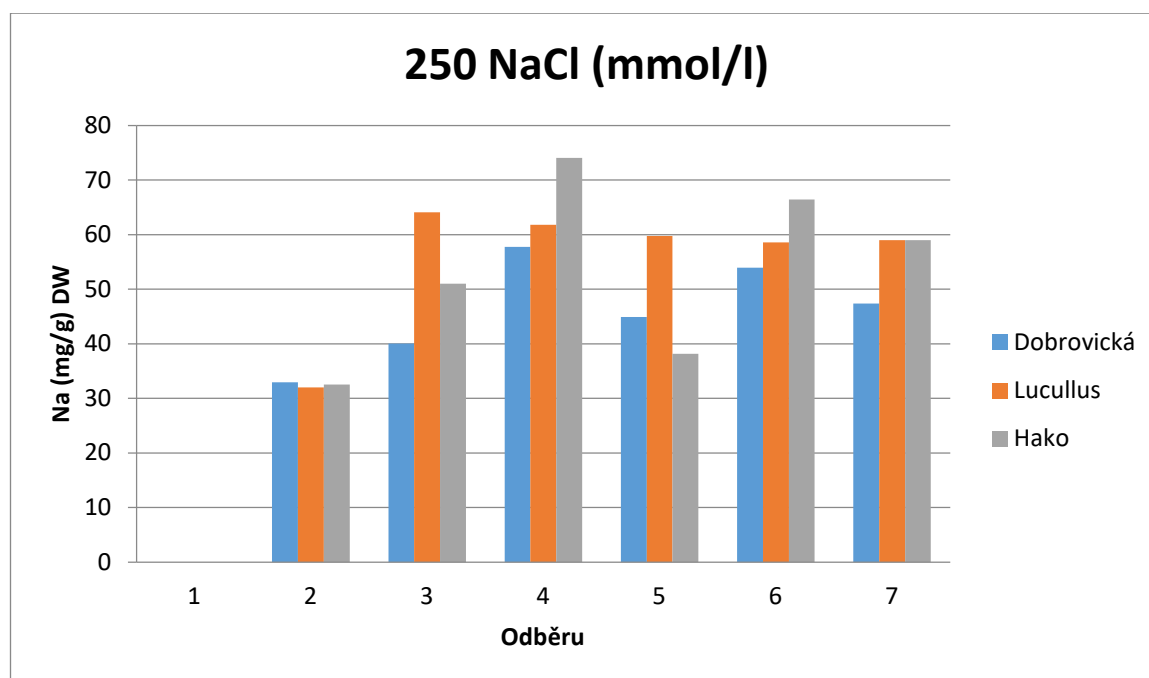


**Graf 3.:** Obsah prvků Na v zelené hmotě v mg/g DW při koncentraci 150 mmol/l NaCl.

**Tabulka 4:** Obsah prvků Na a K v zelené hmotě v mg/g DW při koncentraci 250 mmol/l NaCl.

	<b>Dobrovická A</b>		<b>Lucullus</b>		<b>Hako</b>	
	<b>K (mg/g DW)</b>	<b>Na (mg/g DW)</b>	<b>K (mg/g DW)</b>	<b>Na (mg/g DW)</b>	<b>K (mg/g DW)</b>	<b>Na (mg/g DW)</b>
<b>1</b>						
<b>2</b>	69,9	32,9	80,1	32,0	78,9	32,6
<b>3</b>	69,8	40,0	75,2	64,1	65,0	51,0
<b>4</b>	68,5	57,8	67,9	61,8	66,1	74,1
<b>5</b>	67,2	44,9	72,4	59,7	108,4	38,2
<b>6</b>	59,6	54,0	87,9	58,6	72,5	66,4
<b>7</b>	56,4	47,4	55,4	58,0	65,6	59,0

Hodnoty v tabulce 4 a graf 4 ukázali, že nejvyšší hodnoty sodíku pro koncentraci 250 mmol/l u odrůdy Hako (74,1 mg/g DW) ve čtvrtém odběru. Nejnižší obsah draslíku byl u Lucullusu (32,0 mg/g DW) ve druhém odběru. Draslík pak byl naměřen s nejvyšší hodnotou pro odrůdu Hako (108,4 mg/g DW) v pátém odběru a nejnižší u Lucullusu (55,4 mg/g DW) v sedmém odběru.

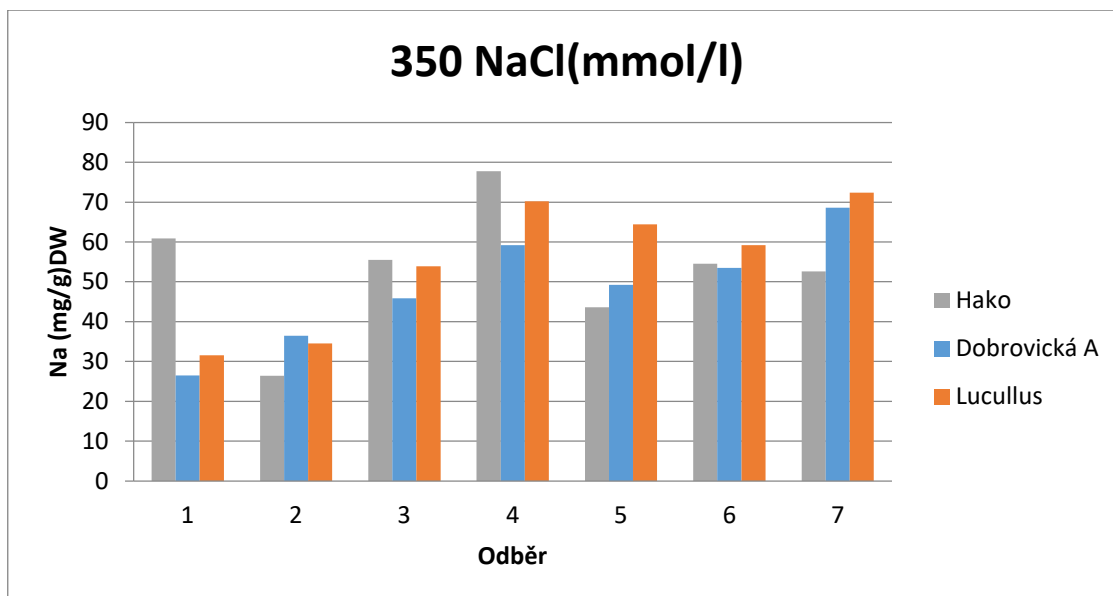


**Graf 4.:** Průměrný obsah prvků Na v zelené hmotě v mg/g DW při koncentraci 250 mmol/l NaCl.

**Tabulka 5:** Obsah prvků Na a K v zelené hmotě v mg/g DW při koncentraci 350 mmol/l NaCl.

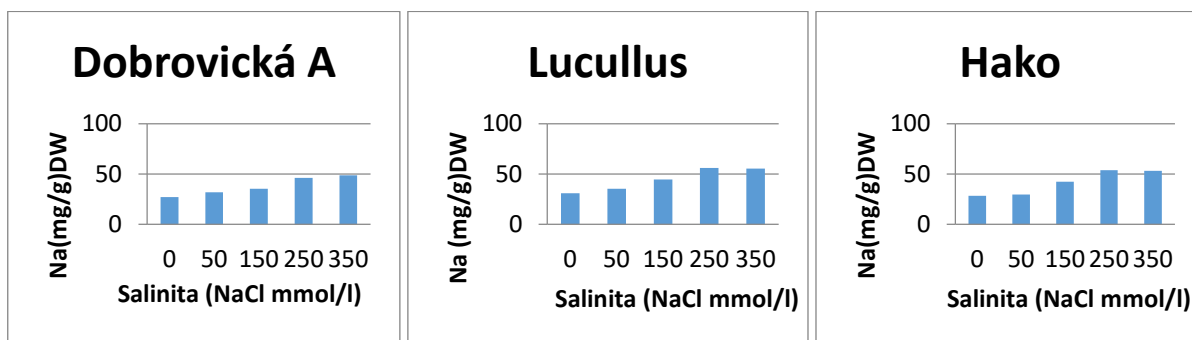
	Dobrovická A		Lucullus		Hako	
	K (mg/g DW)	Na (mg/g DW)	K (mg/g DW)	Na (mg/g DW)	K (mg/g DW)	Na (mg/g DW)
<b>1</b>	62,4	26,5	100,0	31,6	110,3	60,9
<b>2</b>	78,4	36,5	93,4	34,5	79,6	26,4
<b>3</b>	76,5	45,8	78,3	53,9	66,1	55,5
<b>4</b>	71,4	59,2	65,6	70,2	54,9	77,8
<b>5</b>	73,2	49,3	74,1	64,5	76,8	43,6
<b>6</b>	62,9	53,5	69,2	59,2	61,6	54,5
<b>7</b>	78,3	68,6	54,8	72,4	53,1	52,6

Z tabulky 5 je patrné, že nejvyšší obsah draslíku byl naměřen u odrůdy Hako (110,3 mg/g DW) v prvním měření a nejnižší v odrůdě Hako (53,1 mg/g DW) v sedmém odběru. Odrůda Hako (77,8 mg/g DW) vykazovala největší obsah sodíku ve čtvrtém odběru a nejnižší v Dobrovické A (26,5 mg/g DW) při prvním měření.

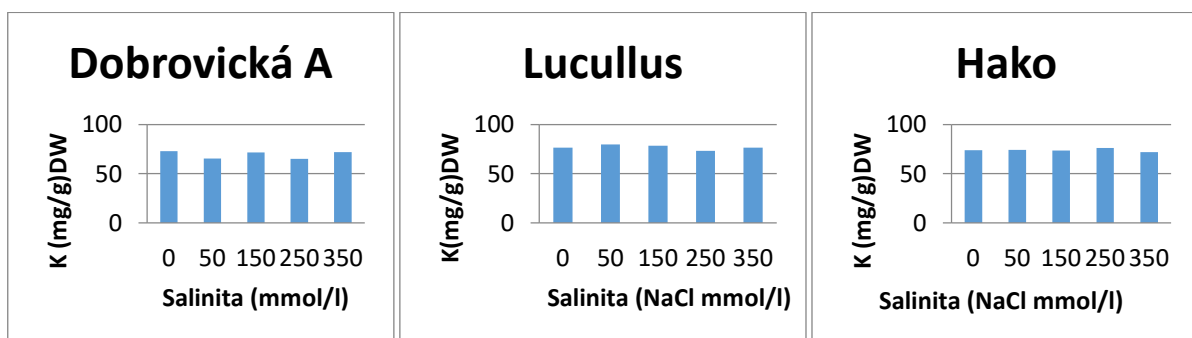


**Graf 5.:** Obsah prvků Na v zelené hmotě v mg/g DW při koncentraci 350 mmol/l NaCl.

#### Průměrné obsahy sodíku



#### Průměrné obsahy draslíku



Podle naměřených výsledků je patrné, že obsah sodíku stoupá v závislosti na koncentraci NaCl. U Lucullusu a Hako dochází při nejvyšší koncentraci NaCl k mírnému poklesu. Největší výkyv byl zaznamenán u odrůdy Dobrovická A při zasolení 50 mmol/l a 250 mmol/l.

## **Dobrovská A**

Dobrovická A měla nejvyšší naměřené hodnoty draslíku 112,19 mg/g DW v prvním odběru v kontrolní variantě. Nejnižší hodnota 50,5 mg/g DW pak byla naměřena při koncentraci NaCl 50 mmol/l v pátém odběru. Pro sodík byla hodnota 68, g/g DW nejvyšší v sedmém odběru při koncentraci NaCl 350 mmol/l a nejnižší v prvním odběru kontroly o hodnotě 19,29 mg/g DW. V průměru hodnot sodíku byla naměřena největší hodnota při koncentraci NaCl 350 mmol/l a draslík při NaCl 0mmol/l.

## **Lucullus**

Lucullus vykazoval největší hodnoty draslíku 108,88 mg/g DW v prvním odběru při koncentraci NaCl 150 mmol/l a nejnížší 54,3 mg/g DW v šestém odběru při koncentraci NaCl 150 mmol/l. Hodnota sodíku 72,38 mg/g DW byli nejvyšší v sedmém odběru při koncentraci NaCl 350 mmol/l a nejnižší 25,1 mg/g DW, při druhém odběru při koncentraci NaCl 150 mmol/l. V průměrných hodnotách sodíku byla naměřena největší hodnota při koncentraci NaCl 250 mmol/l a pro draslík při NaCl 50 mmol/l.

## **Hako**

Pro Hako byla nejvyšší hodnota draslíku 110,31 mg/g DW v prvním odběru s koncentrací NaCl 350 mmol/l, v sedmém odběru při koncentraci NaCl 50 mmol/l pak nejnižší 50,76 mg/g DW. Sodík byl nejvyšší 77,8 mg/g DW ve čtvrtém odběru při koncentraci NaCl 350 mmol/l a nejméně v prvním odběru při koncentraci NaCl 50 mmo/l. V průměrných hodnotách sodíku byla naměřena největší hodnota při koncentraci NaCl 250 mmol/l, při koncentraci NaCl 250 mmol/l pro draslík.

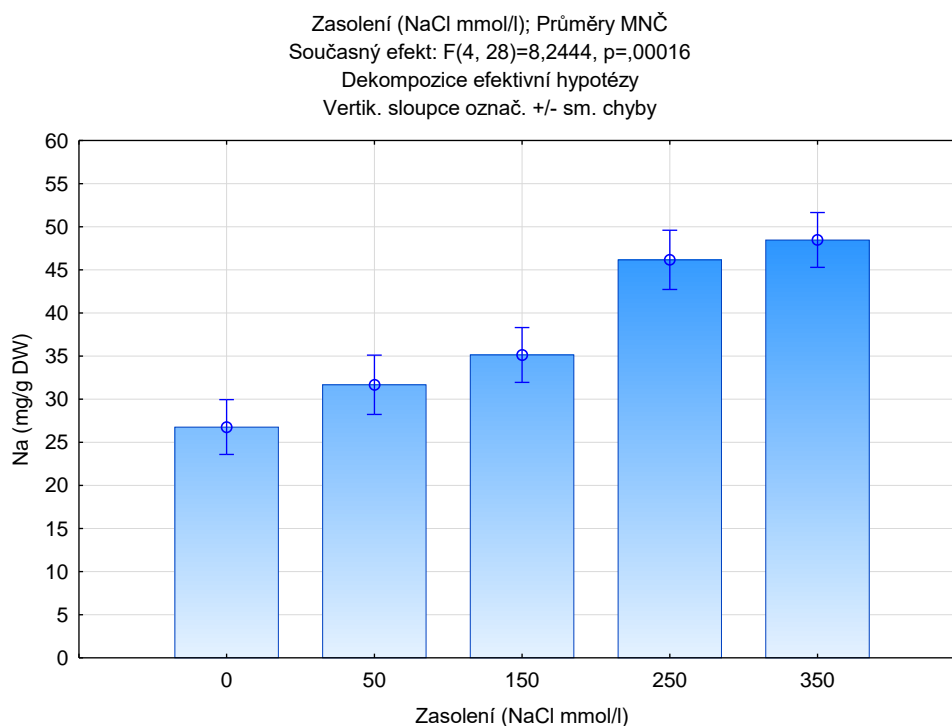
## 5.2 Statistické vyhodnocení výsledků

Ke zpracování dat byl použit program Excel, následné statistické vyhodnocení bylo provedeno v programu Statistica. Zkoumané hypotézy byly provedeny na hladině významnosti alfa 0,05. Pro samotné vyhodnocení byla použita jednofaktorová analýza rozptylu (ANOVA). Tento test má určité předpoklady, které musí být splněny. Při testování, zda je obsah sodíku a draslíku závislý na intenzitě zasolení, musí být dodržena nezávislost výběrů, normální rozdělení odrůd a shoda rozptylů. V prvním bodě dochází k rozporu, protože naše pozorování jsou závislá, a proto bylo nutné aplikovat test ANOVA pro všechna tři časová měření. Normální rozdělení nemůže být zaručeno vzhledem k malému množství testovaných vzorků, avšak předpoklad normality není zcela nezbytný. Při větším množství pozorování je normalita zajištěna. Pro testování rozptylů byla stanovena nulová a alternativní hypotéza.

### Hypotéza 1

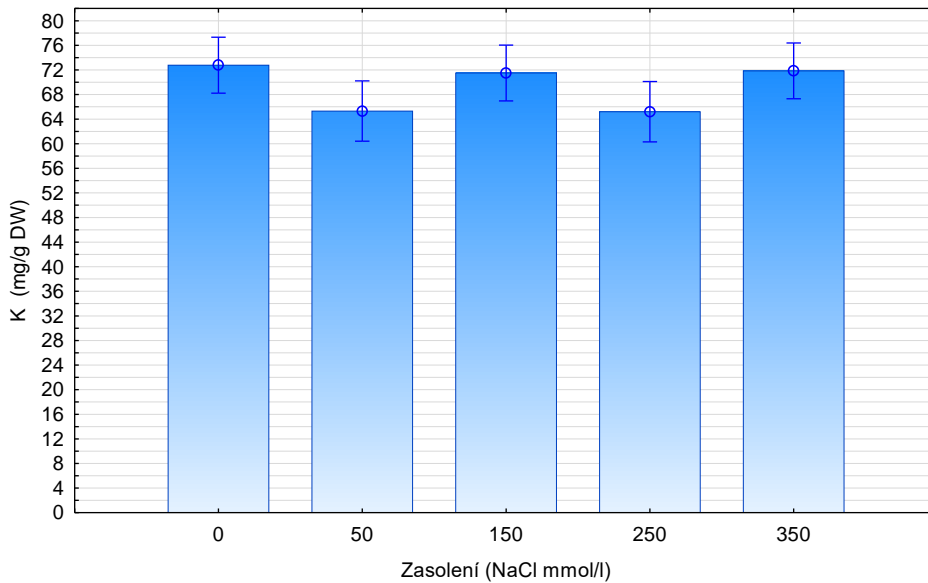
**H<sub>0</sub>**: intenzita zasolení nemá vliv na příjem draslíku a sodíku rostlinou

**H<sub>1</sub>**: intenzita zasolení má vliv na příjem draslíku a sodíku rostlinou



**Graf 6.:** Obsah sodíku pro Dobrovickou A při různých koncentracích

Zasolení (NaCl mmol/l); Průměry MNČ  
 Současný efekt:  $F(4, 28)=,61994$ ,  $p=,65202$   
 Dekompozice efektivní hypotézy  
 Vertik. sloupce označ. +/- sm. chyby

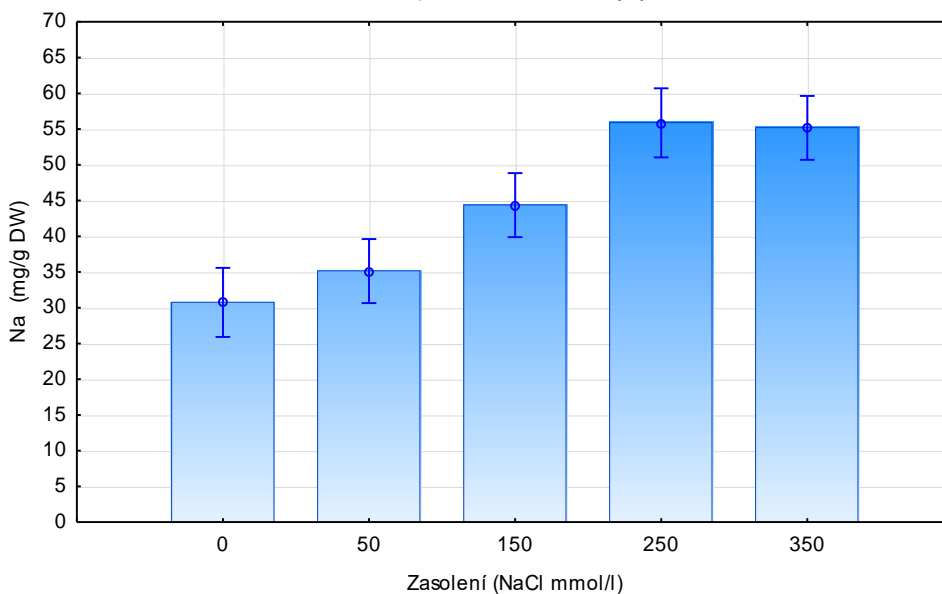


**Graf 7.:** Obsah draslíku pro Dobrovickou A při různých koncentracích

Z grafu 6 vyplývá, že čím větší koncentrace NaCl tím se zvyšuje obsah Na ve vzorku odrůdy Dobrovická A. Kdy nejvyšší průměrná hodnota Na, byla zaznamenána při koncentraci 350 mmol/l.

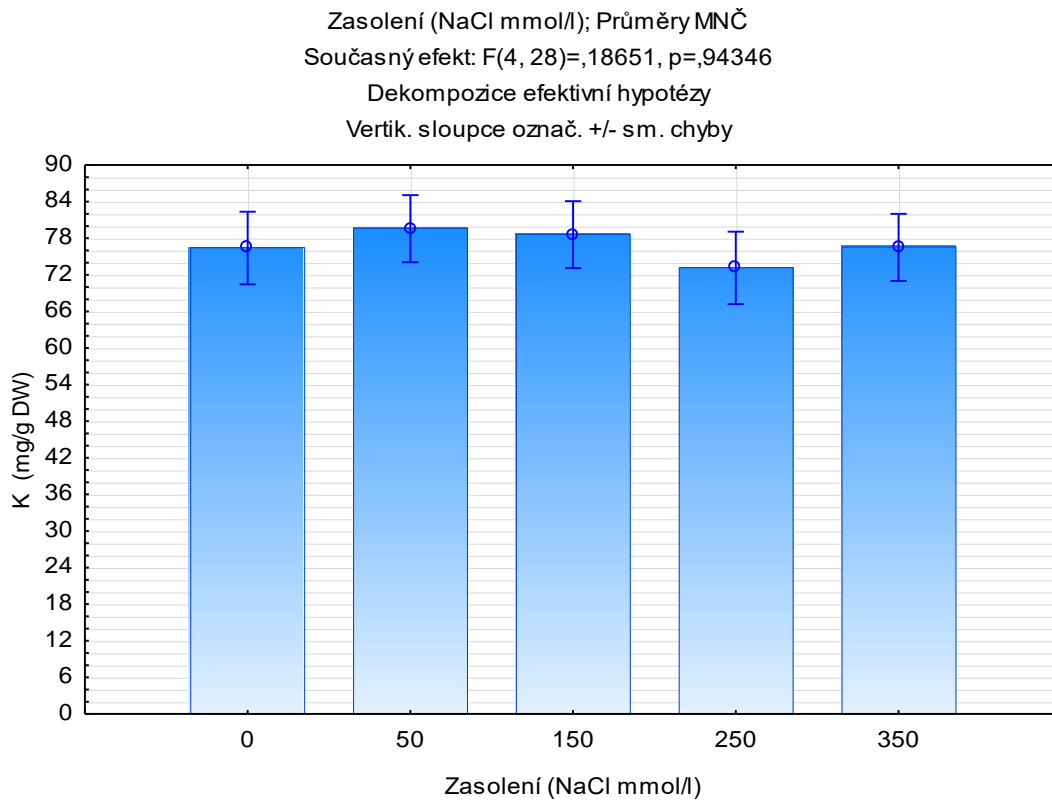
V grafu 7 je vidět kolísání obsahu K nezávisle na koncentraci NaCl. Nejvyšší hodnota byla zaznamenána při koncentraci 0 mmol/l.

Zasolení (NaCl mmol/l); Průměry MNČ  
 Současný efekt:  $F(4, 28)=5,9294$ ,  $p=,00138$   
 Dekompozice efektivní hypotézy  
 Vertik. sloupce označ. +/- sm. chyby





**Graf 8. :** Obsah sodíku pro Lucullus při různých koncentracích

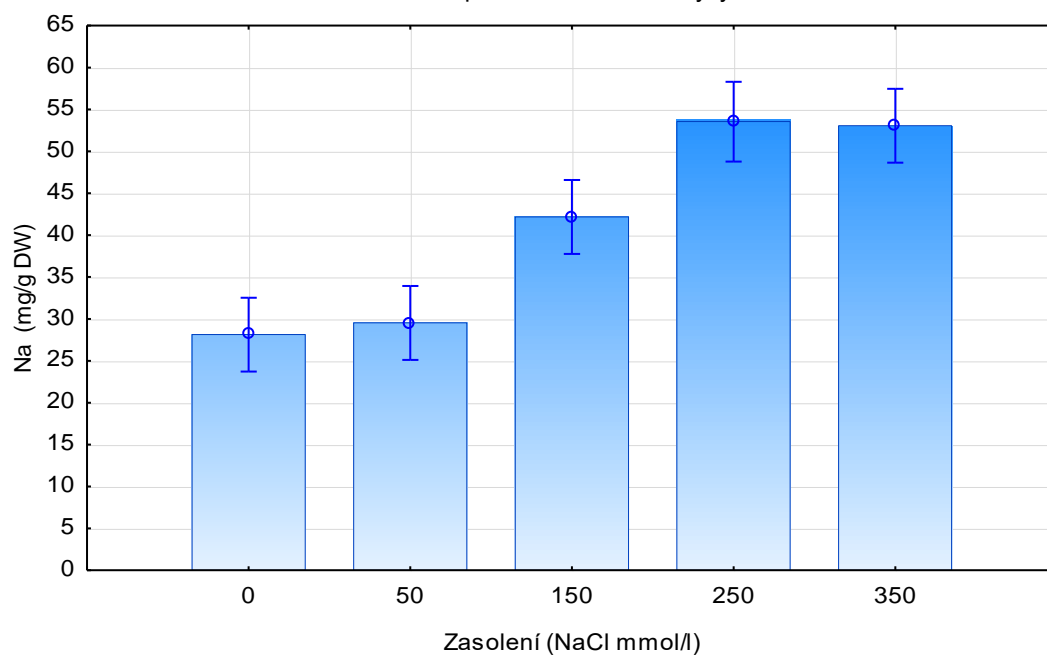


**Graf 9.:** Obsah draslíku pro Lucullus při různých koncentracích

Z grafu 8 je vidět zvyšující se obsah Na podle koncentrace NaCl. Dále je vidět drobný pokles hodnoty při koncentraci 350 mmol/l. Kdy nejvyšší průměrná hodnota Na, byla naměřena při koncentraci 250 mmol/l.

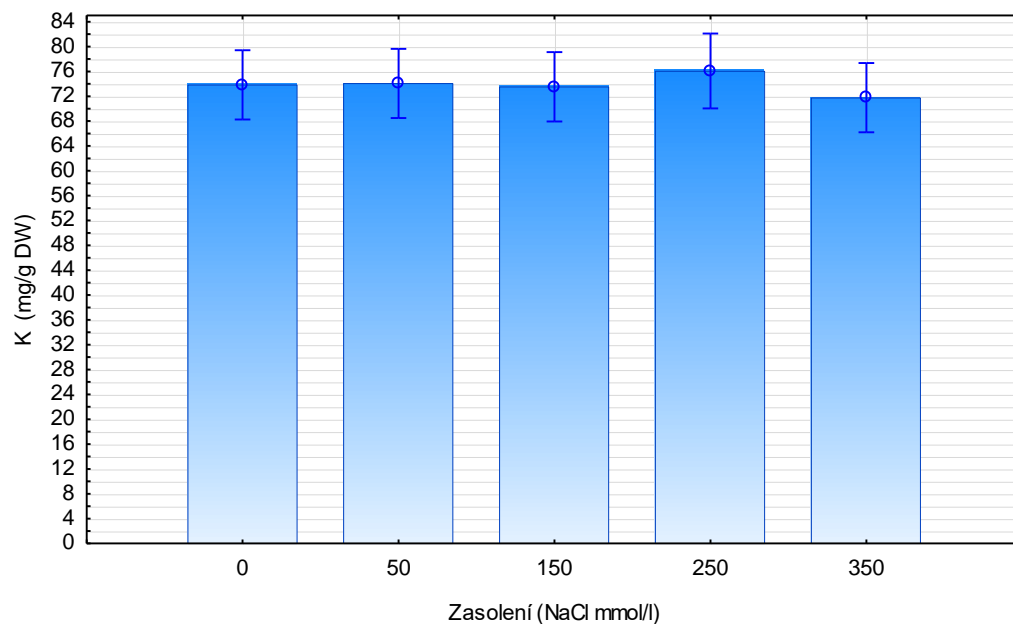
V grafu 9 je vidět jen drobné kolísání obsahu K nezávisle na koncentraci NaCl. Nejvyšší hodnota byla naměřena při koncentraci 50 mmol/l.

Zasolení (NaCl mmol/l); Průměry MNČ  
 Současný efekt:  $F(4, 29)=7,4596$ ,  $p=,00029$   
 Dekompozice efektivní hypotézy  
 Vertik. sloupce označ. +/- sm. chyby



**Graf 10.:** Obsah sodíku pro Hako při různých koncentracích

Zasolení (NaCl mmol/l); Průměry MNČ  
 Současný efekt:  $F(4, 29)=,06973$ ,  $p=,99064$   
 Dekompozice efektivní hypotézy  
 Vertik. sloupce označ. +/- sm. chyby



**Graf 11.:** Obsah draslíku pro Hako při různých koncentracích

Z grafu 10 je vidět že čím větší koncentrace NaCl tím se zvyšuje obsah Na. Dále je vidět drobný pokles hodnoty při koncentraci 350 mmol/l. Kdy nejvyšší průměrná hodnota Na, byla naměřena při koncentraci 250 mmol/l.

V grafu 11 je vidět, že hodnoty K se pohybovali na stejné úrovni nezávisle na koncentraci NaCl. Nejvyšší hodnota byla naměřena při koncentraci 50 mmol/l.

**Tabulka 6.:** Rozptyly a směrodatné odchylky jednotlivých odrůd

Vzorek	Prvek	Rozptyl	Směrodatná odchylka
<b>Dobrovická A</b>	Na	135,2230	11,62854
	K	137,5126	11,72658
<b>Lucullus</b>	Na	226,2524	15,04169
	K	190,3505	13,79676
<b>Hako</b>	Na	242,1328	15,56062
	K	192,9922	13,89216

**Tabulka 7.:** P-hodnota testu ANOVA

<b>Dobrovická A</b>	Na	F(4,28)= 8,2444	P=0,00016
	K	F(4,28)=0,61994	P=0,65202
<b>Hako</b>	Na	F(4,28)=5,9294	P=0,00138
	K	F(4,28)=0,18651	P=0,94346
<b>Lucullus</b>	Na	F(4,29)=7,4596	P=0,00029
	K	F(4,29)=0,0973	P=0,99064

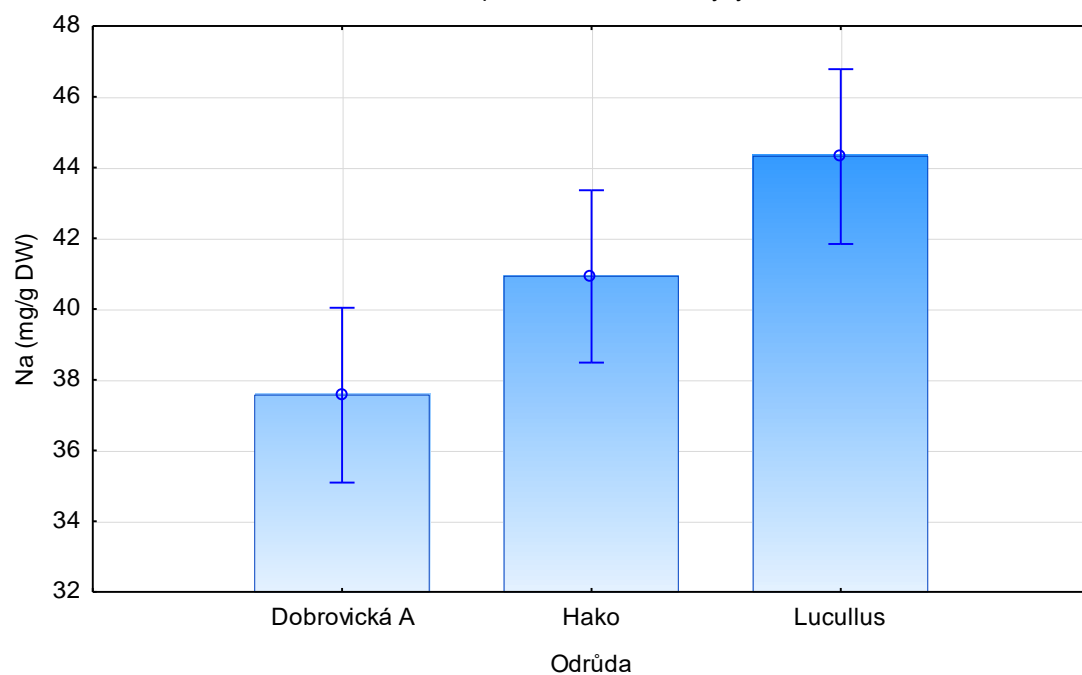
Z tabulky 7. je zřejmé, že p-hodnota pro sodík je menší než hladina významnosti 0,05. Tudíž zamítáme nulovou hypotézu a platí tedy: Obsah sodíku ve vzorku je závislý na koncentraci zasolení. P-hodnota pro draslík je větší než hladina významnosti 0,05. Tudíž nelze zamítnout nulovou hypotézu a platí tedy: Obsah draslíku ve vzorku není závislý na koncentraci zasolení.

## Hypotéza 2

**H<sub>0</sub>.**: neexistují mezidruhové rozdíly u rodu řepa v reakci/toleranci na zasolení

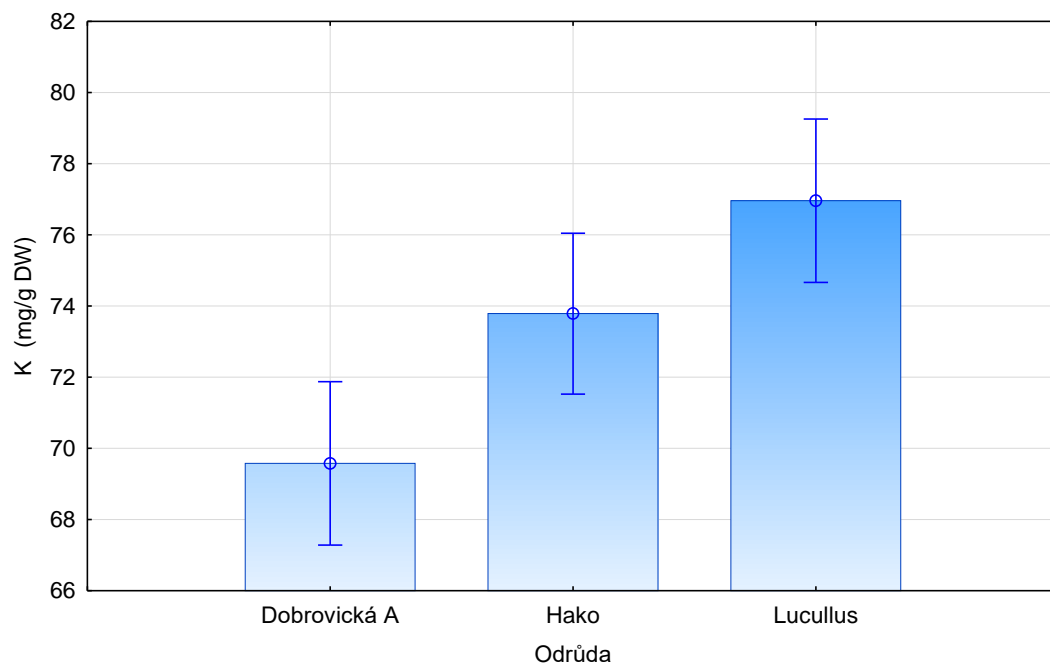
**H<sub>1</sub>.**: existují mezidruhové rozdíly u rodu řepa v reakci/toleranci na zasolení

Odrůda; Průměry MNČ  
 Současný efekt:  $F(2, 97)=1,8628$ ,  $p=,16075$   
 Dekompozice efektivní hypotézy  
 Vertik. sloupce označ. +/- sm. chyby



**Graf 11.:** Obsah sodíku pro vybrané druhy

Odrůda; Průměry MNČ  
 Současný efekt:  $F(2, 97)=2,6049$ ,  $p=,07908$   
 Dekompozice efektivní hypotézy  
 Vertik. sloupce označ. +/- sm. chyby



**Graf 12.:** Obsah sodíku pro vybrané druhy

Z grafu 11 a 12 vyplývá, že nejvíc zvýší příjem sodíku a draslíku odrůda Lucullus. Následující byla odrůda Hako a nejnižší hodnoty byly pro Dobrovickou A.

Při reakci/toleranci na zasolení rostlina potřebuje zachovat příznivý poměr K/Na, tedy při větší koncentraci Na se rostlina snaží zvýšit příjem K. Můžeme tedy říct, že mangold nejlépe reagoval/toleroval stres zasolením. Co se týče mezidruhových rozdílů u rodu řepa, zde nelze prokázat výrazné rozdíly, protože podíl K/Na je u všech tří druhů podobný. Tak jak ukazuje hodnota P v tabulce 9.

**Tabulka 8.:** Rozptyly a směrodatná odchylka

	<b>rozptyl</b>	<b>směrodatná odchylka</b>
<b>Na</b>	205,1389	14,32267
<b>K</b>	179,4537	13,39603

**Tabulka 9. :**P-hodnota testu ANOVA

<b>Na</b>	F(2,97)=1,8628	P=0,16075
<b>K</b>	F(2,97)=2,6069	P=0,07908

Z tabulky 9. je zřejmé, že p-hodnota pro draslík a sodík je větší než hladina významnosti 0,05. Tudíž nelze zamítnout nulovou hypotézu a platí tedy: Obsah sodíku a draslíku ve vzorku není závislý na odrůdě.

## 6 Diskuze

Tato práce popisuje stres zasolením u rostlin rodu řepa. Byly zkoumány rozdíly v příjmu sodíku a draslíku rostlinou podle koncentrace zasolení. Jedna z hypotéz byla, zda existují mezidruhové rozdíly v reakci/toleranci vůči zasolení.

Solný stres způsobuje výrazné snížení dostupnosti vody, snižuje mobilizaci uložených zásob a ovlivňuje strukturní organizaci proteinů, což vede ke špatnému klíčení (Sadughi a kol. 2015). Tak tomu bylo i při zakládání pokusu, kdy rostliny měly výrazně sníženou schopnost klíčit a pokus bylo nutné opětovně zakložit, protože rostliny nevyklíčily a nebo hned nato zahynuly.

Hniličková a kol. (2019) zkoumali efekt zasolení na růst u listové zeleniny. Z výsledků byl zřejmý nárůst Na ve vzorku s rostoucí koncentrací NaCl v roztoku, stejně jako u pozorovaných rostlinných vzorků rodu řepa. Hodnoty celkového sodíku pro salát při koncentraci 300 mmol/l činila 62,4 mg/g DW, pro námi pozorovaný Lucullus činila 55,9 mg/g DW při koncentraci 250 mmol/l. Na rozdíl od draslíku, u kterého je pozorované kolísání, které je působeno rychlou mobilizací a zabudováním rostlinou a zasolením které inhibuje jeho rovnoměrný příjem. (Vaněk a kol. 2016)

Munns a Tester (2008) také poukazují na to, že dochází díky vysoké salinitě k odumírání kořenů a rostlina přestává přijímat veškeré živiny a vodu. V důsledku rostlina začne usychat. Tento jev byl pozorován i v našem případě, při odběru vzorků s největší mírou zasolení v posledním týdnu sběru vzorků, kdy docházelo k postupnému úhynu rostlin. Tím by se dalo vysvětlit drobné snížení obsahu sodíku u Lucullusu a Haka při koncentraci NaCl 350 mmol/l.

Podle Skorupa a kol. (2016) největší roli hraje genetický základ zkoumané odrůdy, který vychází z původních divoce rostoucích druhů. Z tohoto hlediska by měla být řepa cukrová v našem případě Dobrovická A geneticky blíže k řepě přímořské, která se přirozeně vyskytuje v oblastech s vyšší salinitou. U Dobrovické A byly naměřeny nejnižší průměrné hodnoty sodíku a draslíku. Tyto hodnoty poukazují na schopnost cukrové řepy omezit příjem sodíku. Mangold by pak měl být geneticky blíž k horským typům a tam méně odolávat zasolení. Co se týče Lucullusu, jeho hodnoty byly naopak nejvyšší. To značí, že není schopný odolávat zasolení a přijímá vysoké množství sodíku a draslíku, které mohou postupně způsobit fytoxicitu. Podle výsledků však nejsou statisticky významné rozdíly v obsahu draslíku vůči sodíku mezi pozorovanými rostlinami.

Ghoulam a kol. 2002 zkoumali stres solí. Uvádí, že nižší koncentrace solí (50 mmol/l) může zvýšit výnos řepy. U mangoldu popisuje, že vykazuje výraznou osmotickou aktivitu při stresu solí. Stejně jak ukázalo naše měření, Lucullus byl schopen přijmout větší množství sodíku a draslíku než Dobrovická A a Hako.

Ghoulam a kol. 2002 uvádí, že přítomnost NaCl v kořenovém médiu vyvolává výrazné zvýšení koncentrace  $\text{Na}^+$  v kořenech a listech. Koncentrace  $\text{K}^+$  v listech postupně klesala v reakci na NaCl, ale množství v kořenu nebylo obecně významně ovlivněno ošetřením solí. Pět testovaných odrůd cukrové řepy akumulovalo více iontů  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  v listech, než v kořenech přičemž nejvyšších koncentrací bylo dosaženo při 200 mM NaCl. Dvoucestná ANOVA ukázala významný vliv slanosti ( $P < 0,0001$ ) na  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  koncentrace listů. Odrůdový účinek nebyl významný. Při našem měření Dobrovická A vykazovala nejvyšší průměrné hodnoty  $\text{Na}^+$  (48,5 mg/g DW) při koncentraci 350 mmol/l a  $\text{K}^+$  (72,7 mg/g DW).

## 7 Závěr

Cílem diplomové práce bylo sledovat vliv rozdílné koncentrace chloridu sodného na obsahu draslíku a sodíku v rostlinném vzorku u vybraných zástupců rodu řepa a stanovit míru tolerance/citlivosti juvenilních rostlin vybraných druhů rodu řepa na zasolení. Hodnocenými druhy byly krmná řepa odrůda Hako, cukrová řepa odrůda Dobrovická A a mangold odrůda Lucullus, které byly zalévány roztokem NaCl v koncentracích 0, 50, 150, 250 a 350 mmol/l

Zjištěné výsledky potvrdily hypotézu, že koncentrace NaCl ovlivňuje příjem sodíku a draslíku, a to především při vyšší koncentraci NaCl. Naměřené výsledky sodíku korelovaly s výsledky jiných autorů.

U všech odrůd docházelo k postupnému zvyšování obsahu sodíku podle toho, jak se zvyšovala koncentrace NaCl. Nejvíce sodíku bylo stanoveno v Lucullusu při koncentraci 250 mmol/l. A.

Druhou hypotézu, že existují mezidruhové rozdíly u rodu řepa v reakci/toleranci na zasolení nebylo možné potvrdit. Mezi jednotlivými obsahy sledovaných prvků u jednotlivých druhů nebyl stanoven statisticky významný rozdíl.

Obsah draslíku byl po dobu měření přítomen ve vysokých koncentracích tak, jak bylo uváděno ve výzkumu jiných autorů. Nejvíce draslíku bylo naměřeno při prvním odběru Dobrovická A při 0 mmol/L. Tento fakt mohl být způsoben chybou měření nebo špatnými podmínkami v průběhu stanovení. Pro přesnější závěr by bylo vhodnější měřit více vzorků s větší navázkou. Průměrné hodnoty sodíku ukázaly, že nejvíce zvýšil příjem sodíku a draslíku Lucullus. Následující byla odrůda Hako a nejnižší hodnoty byly naměřeny pro Dobrovickou.

Nebylo potvrzeno, že obsah sodíku a draslíku v rostlinném materiálu je rozdílný v závislosti na odrůdě řepy. V poměru K/Na si byly odrůdy velmi podobné.



## 8 Literatura

- Adler G, Blumwald E, Bar-Zvi D. 2010. The sugar beet gene encoding the sodium/proton exchanger 1 (*BvNHXI*) is regulated by a MYB transcription factor.
- Apel K, Hirt H. 2004. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction.
- Baldwin JC, Dombrowski JE. 2006. Evaluation of *Lolium temulentum* as a model grass species for the study of salinity stress by PCR-based subtractive suppression hybridization analysis.
- Baxter A, Mittler R, Suzuki N. 2014. ROS as key players in plant stress signaling. *J. Exp. Bot.* 65, 1229–1240. 10.1093/jxb/ert375
- Ben Rejeb K., Benzarti M., Debez A, Bailly C, Savouré A, Abdelly C. 2015. NADPH oxidase-dependent H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> production is required for salt-induced antioxidant defense in *Arabidopsis thaliana*. *J. Plant Physiol.* 174, 5–15. 10.1016/j.jplph.
- Bláha L, Hnilička F, Hniličková H, Holubec V, Möllerová J, Štolcová J, Zieglerová J. 2003. Rostlina a stres. Výzkumný ústav rostlinné výroby. Praha
- Blumwald E. 2000. Sodium transport and salt tolerance in plants. *Curr. Opin. Cell Biol.* 12, 431–434. 10.1016/S0955-0674(00)00112-5
- Bor M, Özdemir F, Türkan I. 2003. The effect of salt stress on lipid peroxidation and antioxidants in leaves of sugar beet *Beta vulgaris* L. and wild beet *Beta maritima* L. *Plant Science* 164:77-84. <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0168945202003382>.
- Bushman BS, Amundsen KL, Warnke SE, Robins JG, Johnson PG. 2016. Transcriptome profiling of Kentucky bluegrass (*Poa pratensis* L.) accessions in response to salt stress. *BMC Genomics* 17, 48. 10.1186/s12864-016-2379
- Chamizo-Ampudia A, Sanz-Luque E, Llamas A, Galvan A, Fernandez E. 2017. Nitrate reductase regulates plant nitric oxide homeostasis. *Trends Plant Sci.* 22, 163–174. 10.1016/j.tplants.2016.12.001
- Chen TH, Murata N. 2002. Enhancement of tolerance of abiotic stress by metabolic engineering of betaines and other compatible solutes. *Curr. Opin. Plant Biol.* 5, 250–257. 10.1016/S1369-5266(02)00255-8
- Chochola J. 2012. 100 let šlechtění a výzkumu cukrové řepy v Semčicích. Listy cukrovarnické a řepařské. 128:158-162.
- Dadkhah AR. 2011. Effect of salinity on growth and leaf photosynthesis of two sugar beet (*Beta vulgaris* L.) cultivars. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 13, 1001-1012

- De la Torre-González A, Montesinos-Pereira D, Blasco B, Ruiz JM. 2018. Influence of the proline metabolism and glycine betaine on tolerance to salt stress in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) commercial genotypes. *J. Plant Physiol.* 231, 329–336. 10.1016/j.jplph.
- Dunajska-Ordak K, Skorupa-Kłaput M, Kurnik K, Tretyn A, Tyburski J. 2014. Cloning and expression analysis of a gene encoding for ascorbate peroxidase and responsive to salt stress in beet (*Beta vulgaris*). *Plant Mol. Biol. Rep.* 32, 162–175. 10.1007/s11105-013-0636-6
- Ghoulam C, Foursy A, Fares K. 2002. Effects of salt stress on growth, inorganic ions and proline accumulation in relation to osmotic adjustment in five sugar beet cultivars. *Environmental and Experimental Botany* 47:39-50. <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0098847201001095>.
- Glenn EP, Brown JJ, Blumwald E: 1999 Salt tolerance and crop potential of halophytes. *Crit Rev Plant Sci.*,18: 227–255.
- Gong Q, Li P, Ma S, Indu Rupassara S, Bohnert HJ. 2010. Salinity stress adaptation competence in the extremophile *Thellungiella halophila* in comparison with its relative *Arabidopsis thaliana*. *Plant J.* 44, 826–839. 10.1111/j.1365-3113X.2005.02587.x
- Guan Q, Wang Z, Wang X, Takano T, Liu S. 2015. A peroxisomal APX from *Puccinellia tenuiflora* improves the abiotic stress tolerance of transgenic *Arabidopsis thaliana* through decreasing of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> accumulation. *J. Plant Physiol.* 175, 183–191. 10.1016/j.jplph.2014.10.020
- Gupta, B, Huang, B. 2014. Mechanism of salinity tolerance in plants: physiological, biochemical, and molecular characterization. *International journal of genomics*.
- Hajiboland R, Joudmand A, Fotouhi K. 2009. Mild salinity improves sugar beet (*Beta vulgaris* L.) quality. *Acta Agric. Scand. Sect. B-Soil Plant Sci.* 59, 295–305. 10.1080/090647108021547
- Hauser F, Horie T: 2010 A conserved primary salt tolerance mechanism mediated by HKT transporters: a mechanism for sodium exclusion and maintenance of high K/Na ratio in leaves during salinity stress. *Plant Cell Environ.*,33: 552–565
- Hejny S a Slavík B 2003, ed. Květena České republiky. 2., nezm. vyd. Praha: Academia, ISBN 80-200-1090-4
- Hibino T, Waditee R, Araki E, Ishikawa H, Aoki K, Tanaka Y. 2002. Functional characterization of choline monoxygenase, an enzyme for betaine synthesis in plants. *J. Biol. Chem.* 277, 41352–41360. 10.1074/jbc.M205965200
- Hniličková H, Hnilička F, Orsák M, Hejnák V. 2019: Effect of salt stress on growth, electrolyte leakage, Na<sup>+</sup> and K<sup>+</sup> content in selected plant species. *Plant Soil Environ.*, 65: 90-96.

- Hossain MS, Persicke M, Elsayed AI, Kalinowski J, Dietz KJ. 2017. Metabolite profiling at the cellular and subcellular level reveals metabolites associated with salinity tolerance in sugar beet. *J. Exp. Bot.* 68, 5961–5976. 10.1093/jxb/erx388
- Hossain MS, Elsayed AI, Moore M, Dietz KJ. 2017. Redox and reactive oxygen species network in acclimation for salinity tolerance in sugar beet. *J. Exp. Bot.* 68, 1283–1298. 10.1093/jxb/erx019
- Jafarzadeh AA, Aliasghar zad N. 2007. Salinity and salt composition effects on seed germination and root length of four sugar beet cultivars. *Biologia.* 62, 562–564. 10.2478/s11756-007-0111-7
- Kaburagi E, Morikawa Y, Yamada M, Fujiyama H. 2014 Sodium enhances nitrate uptake in Swiss chard (*Beta vulgaris* var. *cicla* L.). *Soil Science and Plant Nutrition* 60:651–658. Available at <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/00380768.2014.938595>
- Khayamim S, Afshari RT, Sadeghian SY, Poustini K, Rouzbeh F, Abbasi Z. 2014. Seed germination, plant establishment, and yield of sugar beet genotypes under salinity stress. *J. Agric. Sci. Technol.* 16, 779–790. 10.1016/j.biosystemseng.2014.05.006
- Konvalina P a kol. 2014 Pěstování vybraných plodin v ekologickém zemědělství. České Budějovice: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích
- Läuchi A, Epstein E. 1984. Mechanisms of salt tolerance in plants. *California Agriculture* 38(10): 18-20.
- Lei Y, Xu Y, Hettenhausen C, Lu C, Shen G, Zhang C, et al. 2018. Comparative analysis of alfalfa (*Medicago sativa* L.) leaf transcriptomes reveals genotype-specific salt tolerance mechanisms. *BMC Plant Biol.* 18, 35. 10.1186/s12870-018-1250-4
- Li H, Cao H, Wang Y, Pang Q, Ma C, Chen S. 2010. Proteomic analysis of sugar beet apomictic monosomic addition line M14. *J. Proteomics* 73, 297–308. 10.1016/j.jprot.2009.09.012
- Liu H, Wang Q, Yu M, Zhang Y, Wu Y, Zhang H. 2010. Transgenic salt-tolerant sugar beet (*Beta vulgaris* L.) constitutively expressing an *Arabidopsis thaliana* vacuolar Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> antiporter gene, *AtNHX3*, accumulates more soluble sugar but less salt in storage roots. *Plant Cell Environ.* 31, 1325–1334. 10.1111/j.1365-3040.2008.01838.x
- Lutts S, Kinet JM, Bouharmont J. 1996. Effects of salt stress on growth, mineral nutrition and proline accumulation in relation to osmotic adjustment in rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity resistance. *Plant Growth Reg.*, 19 ,pp. 207-218
- Lv X., Jin Y., Wang Y. 2018. De novo, transcriptome assembly and identification of salt-responsive genes in sugar beet M14. *Comput. Biol. Chem.* 75, 1–10. 10.1016/j.compbiolchem.2018.04.014

- Ma C, Wang Y, Gu D, Nan J, Chen S, Li H. 2017. Overexpression of *S*-adenosyl-l-methionine synthetase 2 from sugar beet M14 increased *Arabidopsis* tolerance to salt and oxidative stress. *Int. J. Mol. Sci.* 18, E847. 10.3390/ijms18040847
- Marschner H, Kuiper PJC, Kylin A. 2006 Genotypic differences in the response of sugar beet plants to replacement of potassium by sodium, *Physiologia Plantarum*, 10.1111/j.1399-3054.1981.tb02705.x, 51, 2, (239-244).
- Mittler R, Vanderauwera S, Gollery M, Van Breusegem F. 2004. Reactive oxygen gene network of plants. *Trends Plant Sci.* 9, 490–498. 10.1016/j.tplants.2004.08.009
- Munns R, Tester M. 2008. Mechanisms of salinity tolerance. *Annu. Rev. Plant Biol.* 59, 651–681. 10.1146/annurev.arplant.59.032607.092911
- Munns R. 2005. Genes and salt tolerance: bringing them together. *New Phytologist.* 167: 645–663.
- Nadeem M, Li J, Yahya M, Wang M, Ali A, Cheng A, et al. 2019. Grain legumes and fear of salt stress: focus on mechanisms and management strategies. *Int. J. Mol. Sci.* 20, E799. 10.3390/ijms20040799
- Olías R, Eljakaoui Z, Li J, De Morales PA, Marín-Manzano MC, Pardo JM, et al. 2009. The plasma membrane  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  antiporter SOS1 is essential for salt tolerance in tomato and affects the partitioning of  $\text{Na}^+$  between plant organs. *Plant Cell Environ.* 32, 904–916. 10.1111/j.1365-3040.2009.01971.x
- Ouyang B, Yang T, Li H, Zhang L, Zhang Y, Zhang J, et al. 2006. Identification of early salt stress response genes in tomato root by suppression subtractive hybridization and microarray analysis. *J. Exp. Bot.* 58, 507–520. 10.1093/jxb/erl258
- Per TS, Khan NA, Reddy PS, Masood A, Hasanuzzaman M, Khan MIR, et al. 2017. Approaches in modulating proline metabolism in plants for salt and drought stress tolerance: phytohormones, mineral nutrients and transgenics. *Plant Physiol. Biochem.* 115, 126–140. 10.1016/j.plaphy.2017.03.018
- Pokorný L. 2019. Detail odrůdy Hako. Eagri. Available at <http://eagri.cz/public/app/sok/odrudyNouVF.do> (accessed April 2019).
- Rodriguez H.G, Roberts JKM, Jordan WR, Drew MC. 1997 Growth, water relations, and accumulation of organic and inorganic solutes in roots of maize seedlings during salt stress. *Plant Physiol.*, 113, pp. 881-893
- Pradedova EV, Nimaeva OD, Saliaev RK. 2014. Effect of stress conditions on the activity and isozyme composition of peroxidase of vacuoles and tissue extract of red beet roots. *Izv. Akad. Nauk. Ser. Biol.* 41, 254–263. 10.1134/S106235901403008X

- Roxas VP, Smith RK, Allen E R and Allen RD. (1997) Overexpression of glutathione S-transferase/glutathione peroxidase enhances the growth of transgenic tobacco seedlings during stress. *Nat. Biotechnol.* 15: 988–991.
- Russell BL, Rathinasabapathi B, Hanson AD. 1998. Osmotic stress induces expression of choline monooxygenase in sugar beet and amaranth. *Plant Physiol.* 116, 859–865. 10.2307/4278159
- Sadeghian SY, Yavari N. 2010. Effect of water-deficit stress on germination and early seedling growth in sugar beet. *J. Agron. Crop Sci.* 190, 138–144. 10.1111/j.1439-037X.2004.00087.x
- Sadughi M, Sharifan H, Pessaraki M. 2015. Effects of caspian sea water on sugar beet seed germination. *J. Plant Nutr.* 38, 1685–1693. 10.1080/01904167.2015.1042164
- Saneoka H, Nagasaka C, Hahn DT, Yang WJ, Premachandra GS, Joly RJ, Rhodes D. 1995 Salt tolerance of glycinebetaine-deficient and – containing maize lines. *Plant Physiol* 107:631-638. Available form <http://www.plantphysiol.org/content/107/2/631.short>
- Shabala L, Zhang J, Pottosin I, Bose J, Zhu M, Fuglsang AT, et al. 2016. Cell-type-specific H<sup>+</sup>-ATPase activity in root tissues enables K<sup>+</sup> retention and mediates acclimation of barley (*Hordeum vulgare*) to salinity stress. *Plant Physiol.* 172, 2445–2458. 10.1104/pp.16.01347
- Shabala S, Wu H, Bose J. 2015. Salt stress sensing and early signaling events in plant roots: current knowledge and hypothesis. *Plant Sci.* 241, 109–119. 10.1016/j.plantsci.2015.10.003
- Skorupa M, Gołębiewski M, Domagalski K, Kurnik K, Abu Nahia K, Złoch M, et al. 2016. Transcriptomic profiling of the salt stress response in excised leaves of the halophyte *Beta vulgaris* ssp. *Marit.* *Plant Sci.* 243, 56–70. 10.1016/j.plantsci.2015.11.007
- Skorupa M, Gołębiewski M, Kurnik K, Niedojadło J, Kęsy J, Klamkowski K, et al. 2019. Salt stress vs. salt shock-the case of sugar beet and its halophytic ancestor. *BMC Plant Biol.* 19, 57. 10.1186/s12870-019-1661-x
- Sun J, Wang MJ, Ding MQ, Deng SR, Liu MQ, Lu CF., et al. 2010. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and cytosolic Ca<sup>2+</sup> signals triggered by the PM H<sup>+</sup>-coupled transport system mediate K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup> homeostasis in NaCl-stressed *Populus euphratica* cells. *Plant Cell Environ.* 33, 943–958. 10.1111/j.1365-3040.2010.02118.x
- Sun X, Wang Y, Xu L, Li C, Zhang W, Luo X, et al. 2017. Unraveling the root proteome changes and its relationship to molecular mechanism underlying salt stress response in Radish (*Raphanus sativus* L.). *Front. Plant Sci.* 8, 1192. 10.3389/fpls.2017.01192
- Sun Y, Wang F, Wang N, Dong Y, Liu Q, Zhao L, et al. 2013. Transcriptome exploration in *Leymus chinensis* under saline-alkaline treatment using 454 pyrosequencing. *PloS One* 8, e53632. 10.1371/journal.pone.0053632

Suzuki N, Rivero RM, Shulaev V, Blumwald E, Mittler R. 2014. Abiotic and biotic stress combinations. *New Phytologist* 203:32-43. Available at <http://doi.wiley.com/10.1111/nph.12797>

Šebela R. 2019. Mangold řapíkatý Lucullus. Pronachem spol. s r.o. Available from <https://www.prohopo.cz/cs/p-3027-mangold-rapikaty-lucullus/?cat=1>

Šroller J. a Pulkrábek J. 1993. Základy pěstování krmné řepy. Praha: Institut výchovy a vzdělávání Ministerstva zemědělství ČR,. ISBN 80-7105-036-9.

Vaněk V. 2007 Výživa polních a zahradních plodin. Praha: Profi Press, ISBN 978-80-86726-25-0.

Vaněk V, Balík J, Pavlík M, Pavlíková D a Tlustoš P. 2016 Výživa a hnojení polních plodin. Praha: Profi Press. ISBN 978-80-86726-79-3

Waditee R, Bhuiyan NH, Hirata E, Hibino T, Tanaka Y, Shikata M, et al. 2007. Metabolic engineering for betaine accumulation in microbes and plants. *J. Biol. Chem.* 282, 34185–34193. 10.1074/jbc.M704939200

Wakeel A, Hanstein S, Pitann B, Schubert S. 2010. Hydrolytic and pumping activity of H<sup>+</sup>-ATPase from leaves of sugar beet (*Beta vulgaris* L.) as affected by salt stress. *J. Plant Physiol.* 167, 725–731. 10.1016/j.jplph.2009.12.018

Wakeel A, Asif AR, Pitann B, Schubert S. 2011. Proteome analysis of sugar beet (*Beta vulgaris* L.) elucidates constitutive adaptation during the first phase of salt stress. *J. Plant Physiol.* 168, 519–526. 10.1016/j.jplph.2010.08.016

Wang Y, Stevanato P, Yu L, Zhao H, Sun X, Sun F, et al. 2017. The physiological and metabolic changes in sugar beet seedlings under different levels of salt stress. *J. Plant Res.* 130, 1079–1093. 10.1007/s10265-017-0964-y

Wang Y, Zhan Y, Wu C, Gong S, Zhu N, Chen S, et al. 2012. Cloning of a cystatin gene from sugar beet M14 that can enhance plant salt tolerance. *Plant Sci.* 191-192, 93–99. 10.1016/j.plantsci.2012.05.001

Ward JM, Mäser P, Schroeder JI 2009 : Plant ion channels: gene families, physiology, and functional genomics analyses. *Annu Review Physiol.*, 71: 59–82.

White PJ, Bowen HC, Broadley MR, El-Serehy HA, Neugebauer K, Taylor A, Thompson JA, Wright G. 2017. Evolutionary origins of abnormally large shoot sodium accumulation in nonsaline environments within the Caryophyllales. *New Phytologist* 214:284-293. <http://doi.wiley.com/10.1111/nph.14370>.

Wu G, Liang N, Feng R, Zhang J. 2013. Evaluation of salinity tolerance in seedlings of sugar beet (*Beta vulgaris* L.) cultivars using proline, soluble sugars and cation accumulation criteria. *Acta Physiol. Plant* 35, 2665–2674. 10.1007/s11738-013-1298-6

- Wu C, Ma C, Pan Y, Gong S, Zhao C, Chen S, et al. 2013. Sugar beet M14 glyoxalase I gene can enhance plant tolerance to abiotic stresses. *J. Plant Res.* 126, 415–425. 10.1007/s10265-012-0532-4
- Wu G, Feng R, Liang N, Yuan H, Sun W. 2015. Sodium chloride stimulates growth and alleviates sorbitol-induced osmotic stress in sugar beet seedlings. *Plant Growth Regul.* 75, 307–316. 10.1007/s10725-014-9954-4
- Wu G, Shui Q, Wang C, Zhang J, Yuan H, Li S, et al. 2015. Characteristics of Na<sup>+</sup> uptake in sugar beet (*Beta vulgaris* L.) seedlings under mild salt conditions. *Acta Physiol. Plant* 37, 70. 10.1007/s11738-015-1816-9
- Wu GQ, Wang JL, Feng RJ, Li SJ, Wang CM. 2018. iTRAQ-Based Comparative Proteomic Analysis Provides Insights into Molecular Mechanisms of Salt Tolerance in Sugar Beet (*Beta vulgaris* L.) *Int. J. Mol. Sci.*;19:3866. DOI: 10.3390/ijms19123866.
- Wu G, Wang J, Li S. 2019. Genome-wide identification of Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> antiporter (NHX) genes in sugar beet (*Beta vulgaris* L.) and their regulated expression under salt stress. *Genes.* 10, E401. 10.3390/genes10050401
- Xia T., Apse M. P., Aharon G. S., Blumwald E. 2002. Identification and characterization of a NaCl-inducible vacuolar Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> antiporter in *Beta vulgaris*. *Physiol. Plant* 116, 201–212. 10.1034/j.1399-3054.2002.1160210.x
- Yamaguchi T, Blumwald E. 2005. Developing salt-tolerant crop plants: challenges and opportunities. *Trends Plant Sci*, 10: 615–620.
- Yamada N, Promden W, Yamane K, Tamagake H, Hibino T, Tanaka Y, et al. 2009. Preferential accumulation of betaine uncoupled to choline monooxygenase in young leaves of sugar beet—importance of long-distance translocation of betaine under normal and salt-stressed conditions. *J. Plant Physiol.* 166, 2058–2070. 10.1016/j.jplph.2009.06.016
- Yamada N, Sakakibara S, Tsutsumi K, Waditee R, Tanaka Y, Takabe T. 2011. Expression and substrate specificity of betaine/proline transporters suggest a novel choline transport mechanism in sugar beet. *J. Plant Physiol.* 168, 1609–1616. 10.1016/j.jplph.2011.03.007
- Yamada N, Takahashi H, Kitou K, Sahashi K, Tamagake H, Tanaka Y, et al. 2015. Suppressed expression of choline monooxygenase in sugar beet on the accumulation of glycinebetaine. *Plant Physiol. Biochem.* 96, 217–221. 10.1016/j.plaphy.2015.06.014
- Yang Y, Guo Y. 2017. Elucidating the molecular mechanisms mediating plant salt stress responses. *New Phytol.* 217, 523–539
- Yang A, Duan X, Gu X, Gao F, Zhang J. 2005. Efficient transformation of beet (*Beta vulgaris*) and production of plants with improved salt-tolerance. *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 83, 259–270. 10.1007/s11240-005-6670-9

- Yeo A. 1998. Molecular biology of salt tolerance in the context of whole-plant physiology .J. Exp. Bot., 49, pp. 915-929
- Yokoi S, Quintero FJ, Cubero B, Ruiz MT, Bressan RA, Hasegawa PM., et al. 2002. Differential expression and function of *Arabidopsis thaliana* NHX Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> antiporters in the salt stress response. *Plant J.* 30, 529–539. 10.1046/j.1365-313X.2002.01309.x
- Yolcu S, Ozdemir F, Güler A, Bor M. 2016. Histone acetylation influences the transcriptional activation of Pox in *Beta vulgaris* L. and *Beta maritima* L. under salt stress. *Plant Physiol. Biochem.* 100, 37–46. 10.1016/j.plaphy.2015.12.019
- Zhang J, Tan W, Yang XH, Zhang HX. 2008. Plastid-expressed choline monooxygenase gene improves salt and drought tolerance through accumulation of glycine betaine in tobacco. *Plant Cell Rep.* 27, 1113–1124. 10.1007/s00299-008-0549-2
- Zhou J, Jiao F, Wu Z, Li Y, Wang X, He X, et al. 2008. OsPHR2 is involved in phosphate-starvation signaling and excessive phosphate accumulation in shoots of plants. *Plant Physiol.* 146, 1673–1686. 10.1104/pp.107.111443
- Zhu JK: 2002 Salt and drought stress signal transduction in plants. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol.*,53:247–273.
- Zhu JK. 2003. Regulation of ion homeostasis under salt stress. *Curr. Opin. Plant Biol.* 6, 441–445. 10.1016/S1369-5266(03)00085-2



## 9 Seznam použitých zkratek a symbolů

Zkratka	Popis
NR	nitrátreduktáza
NO	oxid dusný
GB	blicinbetain
CMO	cholinmonooxygenáza
BADH	betain aldehyddehydrogenáza
ROS	reaktivní formy kyslíku
RBOH	oxidázy respiračního vzplanutí
PM	plazmová membrána
ESP	procento výměnného sodíku
EC	elektrická vodivost
FW	čistá váha
DW	suchá hmota

## Přílohy

Tabulka všech hodnot

	Dobrovická A			Lucullus			Hako		
Zasolení (Na	Na (mg/g DW	K (mg/g DW	Zasolení (Na	Na (mg/g DW	K (mg/g DW	Zasolení (Na	Na (mg/g DW	K (mg/g DW	
0	19,2885	112,187015	0	26,6247116	89,4848358	0	35,8725004	88,3973004	
0	26,1921351	71,8957381	0	27,0576151	61,9615209	0	26,3749192	85,25665	
0	31,4439777	70,2327595	0	39,0028373	75,612006	0	25,765986	71,7493041	
0	25,6432178	73,7526969	0	26,9390627	86,1755852	0	24,2152824	64,6146837	
0	24,6507752	70,9528804	0	33,1028818	75,1735734	0	26,7252657	63,6048088	
0	29,800151	54,082224	0	31,7607043	69,9706714	0	31,9195208	81,8888277	
0	30,3853812	56,3339077	50	26,2837255	97,2906221	0	25,9933863	61,33122	
50	28,7893425	79,1783755	50	25,9147647	93,9775809	50	19,8203004	88,7183716	
50	35,0397311	70,4584293	50	34,8121401	74,4752457	50	25,1478289	90,651676	
50	29,3704763	67,1891231	50	39,9127708	81,6329218	50	24,1693648	84,4876299	
50	27,77885	50,56846	50	44,8261849	66,9320754	50	30,7208652	74,8731202	
50	35,689516	74,445716	50	39,779341	68,7842326	50	33,08392	54,1206819	
50	33,3687537	50,0205432	50	34,3547269	73,9206885	50	41,4695647	74,8210941	
150	26,5115636	75,9163794	150	27,3067808	108,883165	50	32,2574555	50,760368	
150	28,4520745	69,9181529	150	25,1365446	94,6302575	150	32,3195148	82,9150035	
150	34,5217906	88,740738	150	46,2480893	72,7995774	150	26,8180316	76,0839858	
150	36,6053333	56,7851054	150	48,1456646	77,451729	150	34,7751324	79,7664939	
150	39,020607	77,7672021	150	53,1009726	87,476925	150	56,6514397	66,8716178	
150	35,9607767	68,2619174	150	65,1087571	54,5733725	150	45,7323226	72,3007142	
150	44,8515529	63,151727	150	45,4559161	54,309414	150	53,3155169	72,9538543	
250	32,9344733	69,8680636	250	31,9982616	80,093302	150	45,5624409	63,7961627	
250	40,0370117	69,8103715	250	64,0976411	75,1533082	250	32,5456492	78,8749973	
250	57,7744	68,4566047	250	61,7864499	67,9388688	250	51,0262251	64,9700012	
250	44,883647	67,167518	250	59,7272605	72,3493146	250	74,0592	66,1127252	
250	53,9489501	59,5708128	250	58,5943738	87,8580514	250	38,1758352	108,351782	
250	47,3670941	56,3580445	250	58,9702619	55,3526973	250	66,4189577	72,5010731	
350	26,4799134	62,3790887	350	31,5899683	99,9553037	250	59,0050032	65,5844028	
350	36,473059	78,3795027	350	34,5321623	93,421412	350	60,9126424	110,316885	
350	45,8306582	76,4709389	350	53,908316	78,282916	350	26,3978092	79,5577339	
350	59,2092197	71,3787267	350	70,1730946	65,6279983	350	55,5034729	66,1178654	
350	49,2630224	73,2255133	350	64,4462032	74,1305881	350	77,7954712	54,906733	
350	53,4556264	62,8585172	350	59,161746	69,2316407	350	43,6271228	76,7956508	
350	68,5594054	78,3050422	350	72,3780269	54,8171622	350	54,5395621	61,5965641	
						350	52,6009518	53,0957527	

