

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra botaniky a fyziologie rostlin



**Vliv zasolení na obsah prolinu a relativního výtoku
elektrolytů u vybraných druhů zelenin**

Bakalářská práce

Autor práce: Anika Jindrová

Vedoucí práce: doc. Ing. František Hnilička Ph.D.

© 2015 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci " Vliv zasolení na obsah prolinu a relativního výtoku elektrolytů u vybraných druhů zelenin" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne _____

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala panu doc. Ing. František Hnilička Ph. D. za poskytnuté cenné rady a ochotu při konzultacích. Dále bych ráda poděkovala své rodině a všem, kteří se podíleli na vytvoření dobrých podmínek pro mé studium.

Vliv zasolení na obsah prolinu a relativního výtoku elektrolytů u vybraných druhů zelenin

Souhrn

Zasolení půd je značným celosvětovým problémem, kvůli kterému je nutno začít zkoumat odolnost různých plodin vůči zasolení. Proto se tato práce zabývá působením solí na vybrané druhy listové zeleniny a zkoumá, které druhy jsou vhodné pro pěstování ve stresovém prostředí. Cílem práce bylo zjištění, nakolik zasolení ovlivňuje obsah prolinu a míru poškození membrány na základě relativního výtoku elektrolytů.

K pokusům, byly vybrány tři druhy listové zeleniny – špenát setý (*Spinacia oleracea* L.), šrucha zelná (*Portulaca oleracea* L.) a čtyřboč rozložitá (*Tetragonia tetraginoides*). U těchto druhů je předpokládána rozdílná reakce na zasolení. Pokus byl založen v částečně řízených podmínkách skleníku Katedry botaniky a fyziologie rostlin FAPPZ. Rostliny byly pěstovány ve směsi pěstebního substrátu typu A a křemičitého písku v poměru 2:1. Pokus se skládal ze 4 variant. První varianta byla kontrolní a byla zalévána deionizovanou vodou. Druhá varianta byla zalévána vodou s koncentrací 0,15 M NaCl, třetí varianta měla zálivku s koncentrací soli 0,25 M NaCl a koncentrace NaCl u čtvrté varianty byla 0,5 M. Již od výsevu byly rostliny pěstovány v daných stresových podmínkách. Rostliny byly zalévány 200ml vody, 2–3 x za týden podle okolních podmínek a jednou za 14 dní byly rostliny zality destilovanou vodou. V průběhu pokusů se uskutečnilo 6 odběrů ve dvoudenních intervalech.

Z výsledků měření relativního výtoku elektrolytů bylo zjištěno, že jako nejcitlivější na zasolení z vybraných druhů se jeví špenát setý, u kterého byla naměřena nejvyšší míra poškození buněčných membrán, tato hodnota činila 96,08 % u varianty 0,5 M NaCl. Jako tolerantní vůči zasolení z hlediska relativního výtoku elektrolytů se jeví čtyřboč rozložitá u které byla nejvyšší hodnota poškození membrány 84,33 % u varianty 0,5 M NaCl. Z výsledků

prolinu vyplývá, že šrucha zelná při stresu zasolením produkuje až 10 x více prolinu než špenát a čtyřboč. Nejvyšší množství prolinu bylo naměřeno u šruchy zelné 2171 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ čerstvé hmoty listů u varianty 0,5 M NaCl. Naopak nejnižší hodnota byla naměřena u čtyřboče 140 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ čerstvé hmoty listů prolinu u varianty 0,5 M NaCl.

Závěrem je možné konstatovat, že na zasolení nejcitlivěji reaguje špenát setý a jako tolerantní se jeví rostliny čtyřboče rozložitě.

Klíčová slova: šrucha, špenát čtyřboč, stres zasolením, relativní výtok elektrolytů, prolin

The proline accumulation and relative electrolyte leakage of choice vegetable plants in response to salt stress

Summary

Salinity of soils is a global problem, which it is necessary to start to examine the resistance of various crops in relation to salinity. Therefore, this work deals with the effects of salts on the selected kinds of leafy vegetables and examines which species are suitable for growing in a stressful environment. The aim of the work was to determine the extent to which salinity affects the contents of proline and the degree of damage to the membranes on the basis of the relative electrolyte leakage.

Trials were selected three types of leafy vegetables--spinach (*Spinacia oleracea* L.), purslane (*Portulaca oleracea* l.) and new zealand spinach (*Tetragonia tetraginoides*). For these species, it is assumed to be different responses to salinity. The attempt was founded in the greenhouse of the Department of botany and plant physiology FAPPZ. Plants were grown in a mixture of growing medium type A and silica sand in the ratio of 2:1. Trial consisted of 4 variants. The first variant was the control and it was watered with deionized water. The remaining three variants were watered with water with a concentration of NaCl. The second variant was watered with water with a concentration of 0,15 M, the third variant had watered with a concentration of 0,25 M and concentration of the fourth variation of watered was 0,5 M. Since sowing, plants were grown in stressful conditions. The plants were watered 200 ml water, 2-3 x per week, according to the environmental conditions and once every 14 days the plants were watered with distilled water. During the experiment was 6 offtake every two days. From the results of measurements of the relative electrolyte leakage, it was found that the most sensitive on the NaCl of the selected species appears to be spinach, which has been measured in the highest rate of damage to cell

membranes, this value was 96,08 % with variations of 0,5 M NaCl. Best endured the stress of salinization in terms of relative electrolyte leakage had new zealand spinach which the highest value of membrane damage was 84,33 %. The results of the proline , shows that the purslane produces up to 10 x more proline than spinach and new zealand spinach. The highest amount of proline was measured with purslane as 2171 mg.g⁻¹ fresh weight of the variant of 0.5 M NaCl. In contrast, the lowest value was obtained at new zealand spinach 140 mg.g⁻¹ fresh weight of proline for 0,5 M NaCl.

In conclusion, it is possible to conclude that the most sensitively responds have spinach and as a tolerant plants appears to be new zealand spinach.

Keywords: purslane, spinach, new zealand spinach, salt stress, relative elektrolyte leakage, proline

Obsah

1	Úvod.....	9
2	Cíle a hypotézy práce	10
3	Literární přehled	11
3.1	Botanická charakteristika vybraných druhů zeleniny	11
3.2	Pěstování vybraných druhů zelenin	14
3.3	Obecná koncepce stresu	18
3.3.1	Zasolení	21
4	Materiály a metodika	26
4.1	Rostlinný materiál	26
4.2	Založení pokusu.....	27
4.3	Měřené charakteristiky	27
4.3.1	Stanovení obsahu prolinu	27
4.3.2	Stanovení výtoku elektrolytu	28
5	Výsledky	30
5.1	Relativní výtok elektrolytů.....	30
5.2	Obsah prolinu	34
6	Diskuse	38
6.1	Relativní výtok elektrolytů.....	38
6.2	Obsah prolinu	39
7	Závěr	41
	Seznam použité literatury	42
	Internetové zdroje	46

1 Úvod

Půda je zdrojem lidské obživy, a právě proto je její celosvětové zasolování velkým problémem. Zasolování půd není způsobováno pouze přirozenými pohyby spodních vod nebo klimatickými změnami a mořskou vodou, ale na zasolení půd se podílí i lidská činnost, která pomocí umělých závlah, rozvojem měst a průmyslu působí negativně na půdní složení. Ze 13 miliard ha celosvětové půdy je zasolením zasažena až 1 miliarda ha. Z důvodu zasolení zemědělské půdy mohou plodiny citlivé k tomuto stresu snižovat výnos biomasy.

Obecně lze rostliny rozdělit do dvou skupin - na halofyty, které jsou odolné k vysoké koncentraci iontů a glykofyty, které jsou na vysokou koncentraci iontů v půdním roztoku citlivé. U halofytů se jedná buď o rostliny, u kterých plasmatická membrána dokáže ionty dokonale selektovat, nebo jsou to rostliny, které soli ukládají do apoplastu a do vakuol. Vysoký osmotický tlak vakuolární šťávy musí být vyrovnán osmoticky pomocí osmoticky aktivních látek v cytosolu, jedná se převážně o sacharidy a prolin.

Jedním z možných řešení, jak nakládat se zasolenou půdou v zemědělství, spočívá ve vhodném rozvržení osevního postupu, ve kterém se zvolí halofytní plodiny, se schopností snášet vyšší koncentraci solných iontů v půdním roztoku. V této práci je pozornost zaměřena na monitoring, který z vybraných druhů listové zeleniny, je nejvhodnější k pěstování na zasolených půdách. Mezi vybrané druhy patří špenát setý, který je jednou z nejoblíbenějších listových zelenin a jeho vhodné alternativy šrucha zelná a čtyřboč rozložitá.

2 Cíle a hypotézy práce

Jedním s významných stresorů především v aridních oblastech je vedle vodního deficitu také stres zasolením. Stres zasolením nepřímo ovlivňuje dostupnost vody z půdy rostlinám. Také u špenátové zeleniny existuje rozdílná míra odolnosti vůči zasolení.

Cíle práce:

1. Stanovení a vyhodnocení obsahu prolinu ve vztahu k působení zasolení na vybrané druhy rostlin.
2. Stanovit míru poškození membrány na základě relativního výtoku elektrolytů v závislosti na působení salinity a rostlinném druhu.

Na základě těchto skutečností byly stanoveny následující hypotézy

1. Existují genotypové rozdíly v reakci rostlin na zasolení?
2. Existují genotypové rozdíly v obsahu prolinu a relativního výtoku elektrolytů u vybraných druhů zelenin?

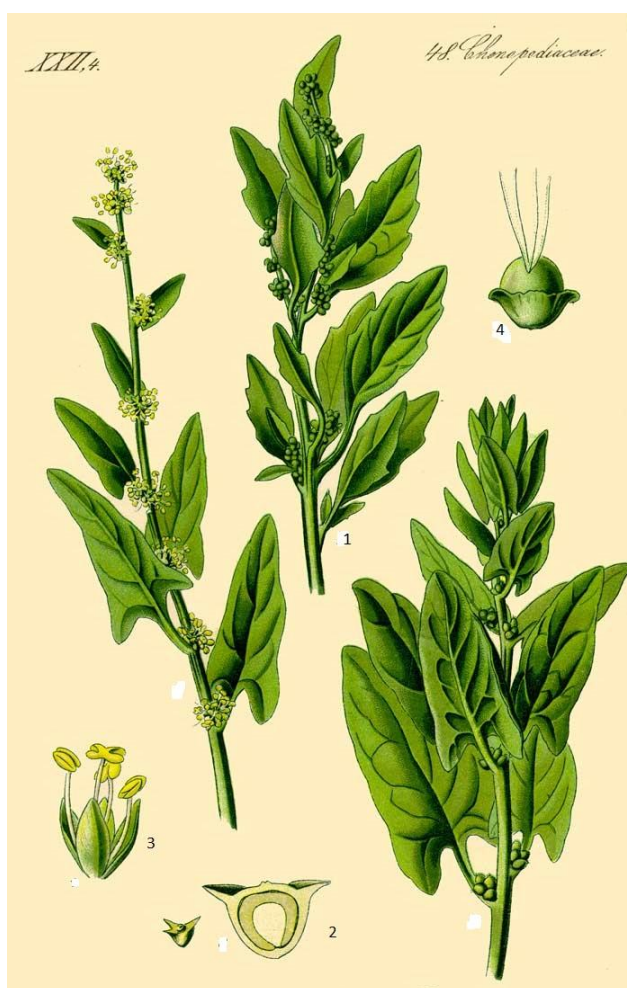
Zasolení půd je značným celosvětovým problémem, protože v rámci Země je zasažena až 1 miliarda ha celosvětové půdy. Cílem této práce je zjištění obranných systémů vybraných druhů zelenin. Byl vybrán špenát, protože je oblíbeným druhem listové zeleniny a jeho vhodné alternativy čtyřboč a šrucha.

3 Literární přehled

3.1 Botanická charakteristika vybraných druhů zeleniny

Špenát setý – *Spinacia oleracea* L.

Hejný a kol. (2003) uvádějí, že špenát setý patří do čeledi *Chenopodiaceae* (merlíkovité). Špenát je jednoletá, dvoudomá rostlina s krátkou vegetační dobou. Lodyha je přímá, nepravidelně hranatá, lysá a 30-100 cm vysoká. Podle Malého a kol. (1998) má špenát sytě zelené listy s oválnou, zašpičatělou a laločnatou čepelí, v přízemní růžici. Dle Hejného a kol. (2003) mohou být horní listy podlouhlé nebo kopinaté. Květy jsou nevýrazné jednopohlavné ojedinele oboupohlavné.



Obr. 1. Špenát setý 1. rostlina se semeny, 2. průřez semenem, 3. květ, 4. plod (www.fitoapteka.org)

Plodem je nažka, která může vypadat odlišně, buď má tvar kulovitý až vejcovitý, hladký, anebo čihovitý s ostnatými výrůstky. Bartoš a kol. (2000) udává, že kořenový systém špenátu sahá do hloubky 30-40cm a tvoří ho silný kůlový kořen, který je málo větvený, jak je patrné z obr. 1.

Šrucha zelná – *Portulaca oleracea* L.

Podle Hejného a kol. (2003) patří šrucha do čeledi *Portulacaceae* neboli šruhovité. Jednoletá, lysá a dužnatá rostlina. Její lodyha je často červeně naběhlá, poléhavá až vystoupavá a dorůstá 30 cm.



Pl. 121. *Pourpier potađer.* *Portulaca oleracea* L.

Obr. 2. Šrucha zelná 1. celá rostlina, 2. květ, 3. semeno, 4. plod
(www.commonswikimedia.org)

Listy má obvejčité až úzce obvejčité, na bázi jsou klínovité, celokrajné a střídavě postavené. Květy úžlabní nebo terminální ve skupině po 2-3, listeny jsou bezbarvé a trojúhelníkovitého tvaru. Pět obvejčitých, žlutých, na

vrcholu vykrojených, okvětních lístků. Plodem je elipsoidní tobolka se slabě bradavičnatými semeny, viz obr. 2.

Čtyřboč rozložitá – *Tetragonia tetraginoides* (PALL.) O. KUNTZE

Hejný a kol. (2003) zařazují čtyřboč do čeledi *Aizoaceae* (kosmatcovité). Tato rostlina je jednoletá, dužnatá a má velmi větvenou, poléhavou až plazivou lodyhu.



Obr. 3. Čtyřboč rozložitá 1. výhon s listy, 2. květ a průřez květem, 3. Plod a průřez plodem 4. generativní orgány (www.prota4u.org)

Kosníkovitý, vstřícně postavený list s měchýřkovitými trichomy. Nenápadně zbarvené květy bez korolnických staminodií plodem je tvrdnoucí peckovice se 4-5 trnovými výrůstky (Hejný a kol., 2003). Dle Pekárkové

(2002) jsou květy čtyřboče nenápadné, malé, žlutozelené a vyrůstají z paždí listu, viz obr. 3. Čtyřboč má poměrně mělký kořenový systém.

3.2 Pěstování vybraných druhů zelenin

Špenát setý

Špenát setý je nejznámější a nejrozšířenější špenátovou zeleninou. Nejstarší zmínka o špenátu pochází ze Španělska. Starší evropské národy špenát neznaly. Pravděpodobně jej z Blízkého východu dovezli do Španělska Arabové nebo křižáci (Pekárková, 2002). Podle Rubatzky and Yamaguchi (1997) je původ špenátu v blízkosti Íránu, kde byl pěstovaný nejméně 2000 let.

Do Evropy a severní Afriky byl špenát dovezen o kolo roku 1000 n. l. Špenát setý pravděpodobně vznikl z příbuzného druhu *Spinacia tetrandia*.

V 16. století byl již v Evropě běžnou zeleninou. Jeho latinský název a odvozeniny v řadě evropských jazyků vznikly pravděpodobně z latinského slova *spina*, osten, podle jeho semen s pichlavými ostny. Rostlina je výhradně dlouhodobní, proto při pozdním jarním výsevu vybíhá rychleji do květu (Pekárková, 2002).

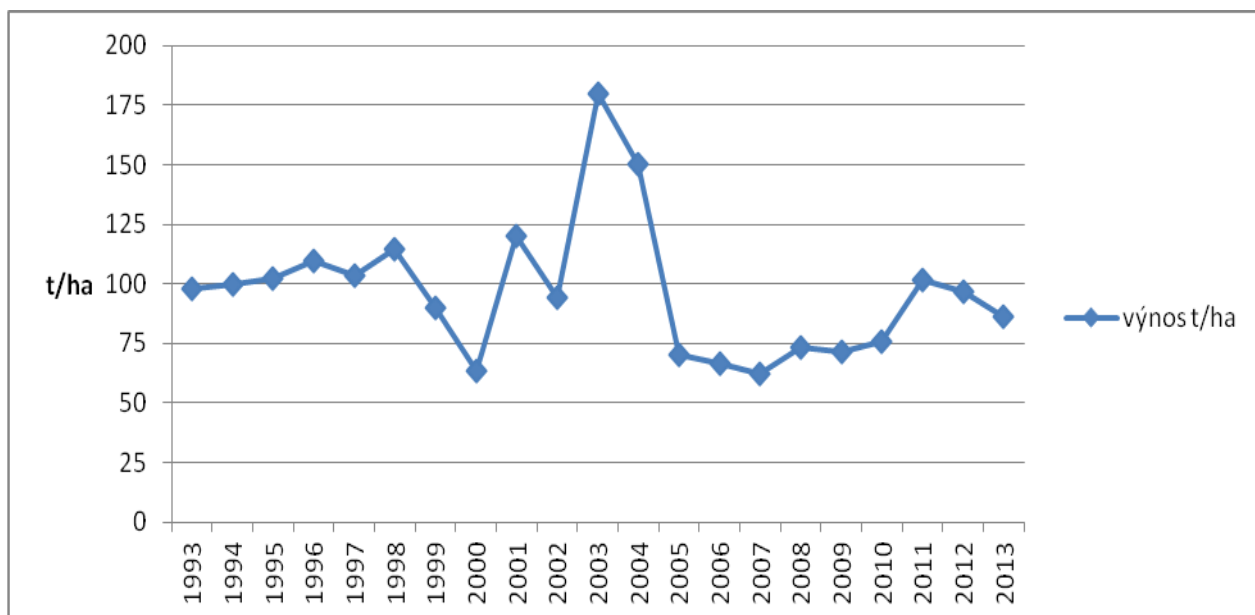
Původní typy špenátu byly dvoudomé, samčí a samičí rostliny se od sebe výrazně liší celkovým olistěním a rychlostí vykvétání. Samčí rostliny jsou méně olistěné, rychleji vybíhají do květu a jsou méně hodnotné než samičí rostliny (Pekárková, 2002).

V posledních letech byly zavedeny F₁ hybridy, jejichž předností je, že vytvářejí rostliny s obojími květy, rostliny jsou tedy jednodomé (Pekárková, 2002).

Dnes je špenát využíván především pro mrazírenský průmysl, který zpracovává více jak 90 % celkové produkce (Bartoš a kol., 1998).

Podle Pekárkové (2002) se tato rostlina nepěstuje pouze kvůli své chutnosti, ale právě kvůli obsahu užitečných látek jako například bílkovin, minerálních látek především jódu a železa, dále provitamínu A, vitamínů B₁, B₂, C, K a kyseliny křemičité. Malý a kol. (1998) uvádí jako další užitečné

látky S, P, Ca a vitamíny E, K, PP. Graf 1 popisuje hodnoty výnosů špenátu během 20ti let. Z něho vyplývá, že nejvyšší výnos špenátu setého byl v roce 2003, kdy výnos činil 180 t.ha⁻¹ a nejnižší výnos činil 62 t.ha⁻¹ v roce 2007. Mezi lety 2008 až 2013 se pohybuje výnos špenátu mezi 70–100 t.ha⁻¹ ročně.



Graf 1: popisuje výnos špenátu v ČR mezi lety 1993- 2013 (faostat.fao.org)

Nároky na pěstování

Špenát je rostlina nenáročná na klima, vyžaduje však půdu s dostatkem živin. Pěstitelům dokonce slouží jako indikátor půdní úrodnosti. Potřebuje také dostatek vláhy a dostatečně světlé stanoviště (Pekárková, 2002). Při nedostatku vody roste pomalu, vytváří malý počet listů a urychluje vybíhání do květu (Petříková a kol., 2006). Bartoš a kol. (2000) uvádějí, že špenát nesnese kyselé půdy, optimální pH je okolo 7, může být i více zásadité. Vhodná půda pro pěstování špenátu je lehčí s dostatkem humusu. Petříková a kol. (2006) uvádí, že špenát je citlivý na utužení půdy, ke kterému dochází v praxi při pěstování na těžších půdách se závlahou. Na tento problém reaguje zpomalením růstu a ztrátou zbarvení. Jak uvádí Bartoš a kol. (2000) špenát je relativně tolerantní k zasolení půdy.

Choroby a škůdci

Díky svému rychlému vývoji je špenát napadán pouze omezeným množstvím chorob a škůdců. Nejzávažnější chorobou je plíseň špenátová (*Perenospora farinosa* f. sp. *Spinaciae*). Projevuje se žlutými rozptýlenými skvrnami na vrchní straně listu, které jsou na spodní straně listu pokryty šedofialovým povlakem reprodukčních orgánů patogenu. Při systémové infekci dochází k retardaci porostu. Jedinou obranou proti této chorobě je pěstování odolnějších druhů špenátu.

Další možnou chorobou je antraknóza špenátu (*Davidiella variabile*). Antraknóza se projevuje okrouhlými, mírně propadlými a hnědými skvrnami. Je povolena chemická ochrana, ale pouze v semenných porostech (Petříková a kol. 2012). Nejčastějším škůdcem je černě zbarvená mšice maková (*Aphis fabae*), která žije v koloniích a svým sáním způsobuje deformace rostlin. V konzumním porostu lze použít chemickou ochranu na bázi pirimicarbu.

Šrucha zelná

Podle Rubatzky and Yamaguchi (1997) pochází šrucha zelná neboli portulák z Íránu nebo Indie a Pekárková (2002) uvádí, že šrucha pochází z Indie a západního Himaláje, kde roste planě až do výšky 5 000 metrů nad mořem. Její přirozený areál zasahoval kdysi až do Řecka. Dnes se vyskytuje ve většině evropských zemí i v Americe. Jako zeleninu a léčivou rostlinu jí znali již staří Egypťané.

Šrucha je velmi využívaná ve Francii, v několika dalších Evropských zemích, Egyptě a v Súdánu. Jako u špenátu listy šruchy obsahují kyselinu šťavelovou a mají tendenci k hromadění nitrátů (Rubatzky and Yamaguchi, 1997).

Nároky na pěstování

Šrucha snáší dobře sucho a spokojí se i s chudou půdou. Mráz jí však ničí a je dost choulostivá na poklesy teplot. I přes to se jí u nás daří dobře i na venkovním záhonu (Pekárková, 2002).

Vysévá se až v květnu na široko přímo na záhon nebo se vysazují sazenice ve vzdálenosti 20 až 25 cm. Pěstují se zelené nebo zlatožluté formy,

s užšími nebo širšími listy. Listy a mladé stonky mají příjemně nakyslou a lehce slanou chuť. Většinou se využívají syrové, protože po uvaření ztrácejí aroma. Jsou bohaté na provitamín A, vitamín B1 a B2, obsahují bílkoviny, sacharidy, glykosidy, hořčiny, slizy a organické kyseliny (Pekárková, 2002).

Čtyřboč rozkladitá

Čtyřboč rozkladitá pochází z Nového Zélandu a ostrovů přiléhajících k Austrálii. Plodina se začala více využívat až po té co byla dovezena do Evropy na konci 17. století (Rubatzky and Yamaguchi, 1997).

Český název čtyřboč i vědecké pojmenování *Tetragonia* je odvozeno od neobvyklého čtyřbokého tvaru plodu, který se obvykle považuje za semeno. Je naprosto nezaměnitelný s plody jiných zeleninových druhů: plod je velký a obsahuje několik pouzder s jednotlivými semeny (Pekárková, 2002).

Novozélandský špenát je výhodnou letní náhradou pravého špenátu, ale jeho sklizeň je pracná, proto se nepěstuje na velkých plochách a zůstává výhradně zahrádkářskou zeleninou (Pekárková, 2002).

Nároky na pěstování

Pro pěstování čtyřboče jsou vhodné teplé a slunné podmínky s kyprou, záhřevnou, dostatečně humózní a vododržnou půdou s mírně kyselou až neutrální reakcí 6-7,5 pH (Vogel, 1996).

Je poměrně teplomilná a vyžaduje vyšší vlhkost. Čtyřboč rozkladitá je velmi citlivá na mráz právě proto se předpěstovává ve skleníku, může se však pěstovat i z přímého výsevu ten se musí provádět až po hrozbách ranních mrazů. Na trvalé stanoviště se rostliny vysazují v dostatečné vzdálenosti 40 až 80 cm. Konzumní částí jsou jednotlivé listy nebo vrcholky výhonků. Čtyřboč má o něco nižší nutriční hodnoty než špenát. Upravuje se podobně jako špenát, má však jemnější strukturu i chuť (Pekárková, 2002). Podle Pierce (1987) se tato plodina může pěstovat z přímého výsevu, pokud se na 2-3 hodiny před výsevem namočí do vody.

3.3 Obecná koncepce stresu

Nielsen and Orcutt (1996) popisují stres jako soubor podmínek, které způsobují odchylku při fyziologických změnách, což může vést až k poranění rostliny. Avšak za určitých podmínek není snadné tuto definici využít, protože se některé fyziologické procesy mění na základě změn životního prostředí a to nemusí mít nutně negativní dopad na rostlinu.

Míchal (1994) uvádí, že i přesto, že anglický výraz „stress“ lze překládat jako „tlak, důraz či nesnáze“ jako technický termín však označuje nikoliv podmět, příčinu nebo poškození organismu, ale jeho stav. Stav, ve kterém se nachází živý organismus při mobilizaci obraných nebo nápravných procesů vůči podnětům přesahující obvyklé rozpětí homeostázy se nazývá stres. Reakce na stres mají většinou stejný charakter, bez ohledu na druh podnětu. Odolnost organismu vůči stresu není jednoznačně geneticky dána. V odolnosti vůči podnětům se dokonce liší i jednotlivci stejného druhu.

Keddy (2007) definuje stres jako faktor, který snižuje tempo růstu biomasy. Podle tohoto autora je důležité rozlišovat rozdíl mezi stresem a poruchou, protože porucha ovlivňuje pouze biomasu, která už byla vyprodukována, ale stres ovlivňuje i další produkci biomasy.

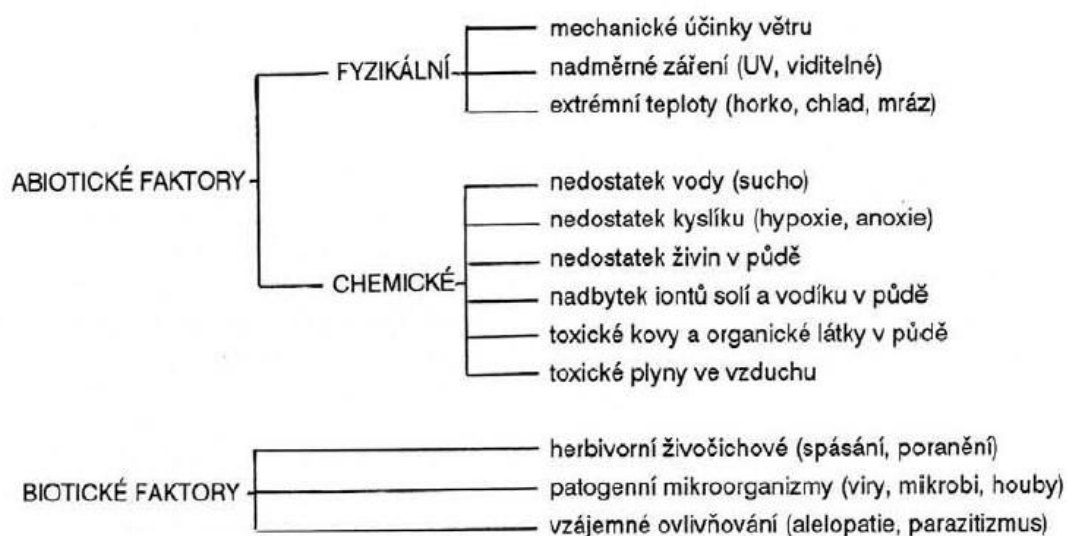
Levitt (1980) využívá termíny stress a strain. Termín stress popisuje jako tlak vnějšího prostředí, který působí na rostlinu a strain popisuje jako odezvu na poškození fyziologických procesů rostliny. Levitt (1980) dále uvádí dva typy strainu „elastic strain“ a „plastic strain“. Elastic strain znamená vratnou odezvu a rostlina je schopná odolávat stresoru a plastic strain je nevratnou odezvu a rostlina je nevratně poškozena.

Levitt (1980) popisuje dva možné způsoby, jak rostlina reaguje na stres. Prvním způsobem je vyhýbání se stresu, kdy rostlina brání působení vlivu na svůj organismus pomocí fyziologických bariér. Tento způsob ochrany je pasivní a z časového hlediska má dlouhodobý charakter.

Druhý způsob obrany rostlin popisuje Procházka a kol. (1998), jako toleranci vůči stresu. Jedná se o mechanismy aktivní odolnosti, které omezují negativní dopad stresorů až po jejich proniknutí do plazmatické membrány a do symplastu.

Stresor – je podle Bláhy a kol. (2003) negativní vnější vliv působící na celou rostlinu tzn. na kořeny, nadzemní část včetně vyvíjejících se semen. Při působení stresorů může rostlina na základě činnosti kompenzačních procesů dosáhnout nového rovnovážného stavu, ale pokud rostlina nezvládne vliv stresorů, může dojít až k uhynutí.

Na rostlinu působí velké množství stresorů, které mohou ovlivnit fyziologické procesy v rostlině. Tyto stresory můžeme rozdělit do tří kategorií, a to na fyzikální, chemické a biotické, viz obr. 4 (Nielsen and Orcutt, 1996).



Obr. 4 Rozdělení stresových faktorů dle Procházky a kol (1998).

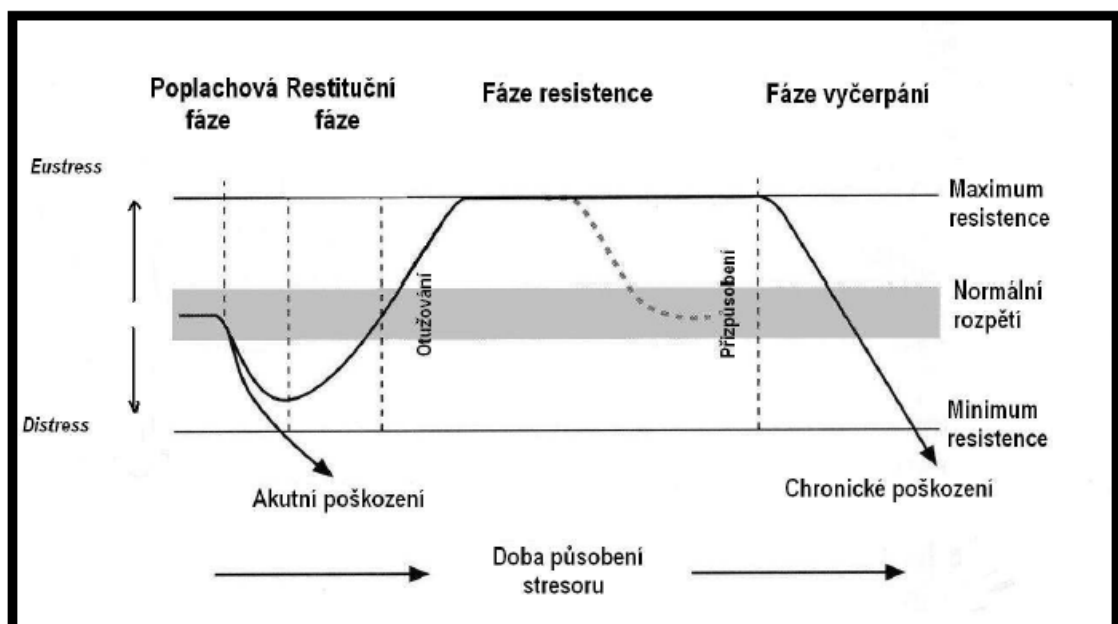
Do fyzikálních faktorů patří například, teplota, záření, sucho, zamokření, vítr. Mezi chemické stresory, které mohou ovlivňovat vývoj rostlin, patří znečištění vzduchu, rizikové látky v půdě, zasolení, pH půdy. Do poslední skupiny negativních vlivů patří biotické stresory, jako například plevele, býložravci, viry a patogenní houby, jak ukazuje obr. 4 (Nielsen and Orcutt, 1996). Stresory lze rozdělovat i na základě intenzity a průběhu jejich působení na akutní a chronické (Mooney, 1991)

Stresová reakce rostlin

Stresová reakce je podle Larchera (1988) skupina reakcí, které se spouští pod vlivem stresorů, má čtyři fáze. Počáteční fáze se nazývá

poplachová fáze, tato fáze je zahájena bezprostředně po začátku působení skupiny stresorů, kdy jsou jejich působením narušeny buněčné struktury a životní funkce rostliny. Následuje restituční fáze, ve které začínají fungovat kompenzační mechanismy, pokud však nedošlo k úhynu rostliny již v první fázi. Pomocí těchto mechanismů je rostlina schopna zvýšit svou odolnost ve fázi rezistence vůči působení stresorů. V případě, že vliv stresorů je dlouhodobý a intenzivní nemusí být zvýšená odolnost rostliny trvalého charakteru a může opět poklesnout ve fázi vyčerpání. Výsledkem stresové reakce rostliny je určitá úroveň adaptační schopnosti.

Lichtenthaler (1996) popisuje fáze stresové reakce trochu odlišně, jak je znázorněno na obr. 5.



- 1/ **poplachová fáze** – narušení buněčných struktur a funkcí
- 2/ **restituční fáze** – mobilizace kompenzačních mechanismů
- 3/ **fáze rezistence** – zvýšení odolnosti proti působícím faktorům
- 4/ **fáze vyčerpání** – při dlouhodobém a intenzivním působení stresového faktoru

Obr. 5 schéma stresové reakce podle Lichtenthalera (1996)

Počáteční fázi nazýváme fází odezvy, tato fáze nastává ve chvíli, kdy rostlina začne pociťovat působící stres a dochází k narušení buněčných struktur, dochází k poklesu vitality a katabolické procesy převažují nad anabolickými procesy metabolismu rostliny. Druhá je fáze obnovení, při působení stresoru se v rostlině aktivují obranné a adaptační systémy, které

vedou k otužování rostliny. Při dlouhodobém či velmi intenzivním působení stresorů přejdou rostliny do fáze vyčerpání, kdy nastává tak silné poškození buněčných struktur, že může docházet až k úhynu rostliny. Pokud, ale stresor odezní před úplným úhynem a poškození rostliny nebylo příliš velké, rostlina přechází do fáze regenerace, ve které se obnovují fyziologické procesy (Lichtenthaler, 1996).

3.3.1 Zasolení

Salinita je termín pro označení vysoké koncentrace rozpustných solí v půdním roztoku, nejrozšířenější dobře rozpustnou solí v půdním roztoku je chlorid sodný (Munns and Tester, 2008).

Zasolení je závažný celosvětový problém. Sledování zasolených půd mají na starosti organizace, jako jsou například United States Salinity Laboratory (USSL) a United Nations (UN) Food and Agriculture Organization (FAO). Tyto organizace uvádí, že ze 13 miliard hektarů celosvětové půdy je až 1 miliarda hektarů zasolených (Rengasamy, 2006).

V České republice se můžeme s přirozeně zasolenými půdami setkat nejčastěji v blízkosti minerálních pramenů. V západních Čechách a Podkrušnohoří byla slaniska vázána na slané prameny, ale většina těchto slanisek už zanikla. Místy na jižní Moravě dochází v důsledku výsušného prostředí, kde výpar vody převyšuje nad srážkami, dochází ke vzlínání solných roztoků a k jejich vysrážení na povrchu půdy (Bláha a kol. 2003).

Hlavní druhy zasolení půdy vznikly v důsledku přírodních procesů a lidské činnosti. Primární zasolení jsou výsledky vývojových procesů rostliny jako evaporace a pohyb spodní vody, která vynáší sůl na povrch. Mořská voda a klimatické změny mohou také ovlivňovat půdní zasolení (Rengasamy, 2006).

Sekundární zasolení způsobuje člověk pomocí závlahy, mýcení lesů, hluboko kořenícími plodinami v zemědělství, průmyslu a rozvoje měst, čímž narušuje přirozenou cirkulaci vody a soli v přírodě. Některé problémy se zasolením mohou způsobovat i aplikace některých průmyslových hnojiv (Rengasamy, 2006).

Podle Larchera (1988) se zasolené půdy vyskytují, jak v humidních, tak aridních klimatických podmínkách. V oblastech bohatých na srážky se může půda zasolit v pásmu, kam až dopadá vodní tříšť mořské vody. Další možností jak může dojít k zasolení půdy, jsou břehy kolem tekoucích vod, které se dostali do kontaktu se solnými ložisky, také solení silnic zvyšuje obsah solí v půdě okolo cest. V půdách dochází k silnému zasolení v suchých oblastech, pokud je roční výpar vody z půdního povrchu vyšší než množství srážkové vody ročně prosakující do půdy. Hodně solí se také hromadí na mořském pobřeží, na místech, kde vzlíná spodní voda, na intenzivně zavlažovaných půdách bez zajištění odtoku přebytečné vody.

Působení zasolení na rostliny

Larcher (1988) uvádí, že životaschopnost rostlin na zasolených půdách závisí na koncentraci a chemickém složení půdního roztoku. Zasolené humidní oblasti obsahují převážně NaCl. Neutrální solné oblasti tohoto druhu se mohou vyskytovat v suchých oblastech, ale pouštní a stepní půdy častěji obsahují zásadité sírany a uhličitany Na, Mg a Ca. Jak uvádí Larcher (1988), soli mohou na rostliny působit tím, že jejich roztok osmoticky váže vodu, anebo jejich ionty specificky působí na protoplazmu:

Osmotické účinky solí: Solné roztoky zadržují vodu, která se stává při zvyšování koncentrace roztoku, stále méně přístupnou. Roztok, který obsahuje 0,5% NaCl má osmotický potenciál -0,42 MPa, 1% roztok má -0,83 MPa a 3 % roztok má -2 MPa. Rostliny získávají vodu ze zasoleného substrátu jen tehdy, pokud se v nich vytvoří osmotický potenciál, nižší než je potenciál solného roztoku (Larcher 1988).

Specifické iontové účinky a stres vyvolaný solemi: Nadbytek Na⁺ a Cl⁻ vedou k bubření cytoplazmy, mimo to působí také na enzymatickou aktivitu, takže v bazálních i stavebním metabolismu dochází ke změnám jak kvantitativním, tak kvalitativním (Larcher, 1988).

V důsledku těchto změn dochází k nedostatečné tvorbě energie při fosforylaci a respirační fosforylaci, poruchy asimilace dusíku, pozměnění zastoupení aminokyselin a dále dochází k abnormálním jevům v metabolismu bílkovin, které mohou vést ke tvorbě toxických přechodných

i konečných produktů. Nadbytek NaCl negativně ovlivňuje příjem některých živin např. K a Ca, v důsledku toho klesá produkce sušiny a rychlost růstu rostlin a postižen je zejména kořenový systém. Při nadbytku soli raší pupeny opožděně a tvoří zakrnělé letorosty, jejichž listy zůstávají malé (Larcher, 1988).

Obranné mechanismy rostlin proti zasolení

Odolnost rostliny vůči zasolení je schopnost organismu přestát přítomnost nadbytku solí zejména ve formách Na^+ , Cl^- , SO_4^{2-} , aniž by narušeny fyziologické funkce. Je to vlastnost protoplazmy, umožňující rostlině snášet změněné iontové poměry (Larcher, 1988).

Odolné protoplazmy jsou podle Larchera (1988) a Bláhy a kol. (2003) schopny přežít koncentrace 4-8 % NaCl, ale citlivé protoplazmy odumírají už při koncentraci 1-1,5 % NaCl. Tyto ionty mají kromě toxického vlivu také schopnost snižovat vodní potenciál, který způsobuje nepřístupnost vody pro rostlinu a zhoršuje fyzikální vlastnosti půdy.

Bláha a kol. (2003) dále uvádí, že stres vyvolaný zasolením se začne projevovat již na buněčné úrovni, začne docházet k bubření protoplazmy a zastavuje se dělivý a dlouhivý růst. Základem obrany rostlin proti zasolení, spočívá ve zvýšení osmotického tlaku v kořenech. Osmoregulace je nutná podmínka pro příjem vody, a také pro přežití rostliny.

Další reakcí rostlin na zasolené prostředí je tvorba stresových proteinů, jedná se o proteiny LEA. LEA proteiny se podílejí na ochraně vyšších rostlin před poškozením, které způsobují vlivy okolního prostředí, zejména sucha (dehydratace) (Hong-Bo a kol., 2005). Jedná se zejména o induktivní enzymy, které pomáhají zvyšovat syntézu osmoticky aktivních látek a dále se jedná například o specifické proteiny nazývané dehydriny. Nejvýznamnější funkcí dehydrinů je funkce ochranná. Dehydriny jsou velmi hydrofilní a váží ve svých molekulách velké množství vody, tím rostlinám pomáhají přežít při stresu z vodního deficitu nebo např. zasolení (Ismal a kol. 1999).

Za vznik odolnosti vůči zasolení může pravděpodobně nerovnoměrné rozdělení solných iontů přijatých buňkou. Většina solných iontů je ukládána

ve vakuolách, takže v cytoplasmě je obsah těchto iontů poměrně nízký. Toto nerovnoměrné rozdělení způsobují a udržují iontové pumpy v hraničních vrstvách cytoplasmy (Larcher, 1988)

Obecně lze rostliny rozdělit do dvou skupin- halofyty, které jsou odolné k vysoké koncentraci iontů a glykofyty, které jsou na vysokou koncentraci iontů v půdním roztoku citlivé (Munns and Tester, 2008).

Odolnost rostlin vůči zasolení je druhově specifická. Halofytní rostliny jsou ty rostliny, které dobře snášejí zasolení. Obligátně halofytní rostliny snášejí vysoké koncentrace solí a pro svůj růst a vývoj je dokonce vyžadují například rostliny mangrovových porostů nebo zblochanec oddálený. Rostliny halofóbní neboli slanostřežné nesnáší vyšší koncentrace solí v půdě (Bláha a kol. 2003).

Halofytní rostliny

Jedná se buď o rostliny, u kterých plasmatická membrána dokáže ionty dokonale selektovat, nebo jsou to rostliny, které soli ukládají do apoplastu a do vakuol. Vysoký osmotický tlak vakuolární šťávy musí být vyrovnán osmoticky pomocí osmoticky aktivních látek v cytosolu, jedná se převážně o sacharidy a prolin (Bláha a kol., 2003).

Prolin je důležitou aminokyselinou, má vyšší molekulární hmotnost, a tudíž rostlina musí vyprodukovat více energie k jeho přípravě. Prolin chrání rostlinu proti osmotickému stresu je zdrojem dusíkatých sloučenin, chrání buněčné struktury a některé enzymy (Liu and Zhu, 1997)

Halofyty musí mít schopnost přijímat a hromadit soli uvnitř svého těla, aby mohly odebírat vodu z půdy, ale pokud se v nich soli hromadí postupně celý život, způsobí nevyhnutelný pokles produkční schopnosti rostliny a nakonec mají až toxické účinky (Larcher, 1998).

Kvůli dlouhodobým účinkům stresoru mají podle Larchera (1998) halofyty ochranné a vyrovnávací mechanismy, kterými chrání protoplasmu před účinky stresového faktoru, nebo je alespoň oslabují či oddalují. Halofytní rostliny jsou schopny upravovat svoje hospodaření se solemi různými způsoby, jak uvádí Larcher (1998):

Filtrace solí: Některé druhy mangrovových stromů jsou schopny výrazně snižovat salinitu vody ve svých vodivých drahách ultrafiltrací přes plazmalemu v buňkách kořenového parenchymu.

Přerušení transportu solí: U některých druhů z čeledi *Mimosaceae* je zabráněno transportu solí do listů. Solné ionty jsou většinou přijímány kořeny, kde zůstávají nebo jsou zadržovány v kmeni. Podobný regulační systém nalezneme u různých kulturních plodin, zejména u druhů z čeledi *Fabaceae*.

Vylučování solí: Rostlina může vylučovat nadbytečné soli různými způsoby: opadem těch částí rostlin, které obsahují velké množství solí, exsudací a rekrecí na povrchu prýtu, rekreční žlázy aktivně vylučují nadbytek solí. Měchýřkovité trichomy, které mají některé druhy lebed a rostliny z rodu *Halimione* strádají chloridy v buněčné šťávě, pak odumírají a jsou nahrazovány novými chloupky.

Sukulentní znaky u slanobytných rostlin: Listová sukulence se popisuje jako zahušťování listových pletiv a následný nárůst objemu mízy v listu (Shabala, 2012). Při působení solí je důležitá jejich koncentrace nejen množství. Proto jsou buňky schopné vyrovnávat postupné hromadění solí pomocí stálého přijímání vody. Tím však značně zvětšují svůj objem. Koncentrace solí v buněčné šťávě tak zůstává vcelku stálá.

4 Materiály a metodika

K pokusům, byly vybrány tři druhy listové zeleniny – špenát setý (*Spinacia oleracea* L.), šrucha zelná (*Portulaca oleracea* L.) a čtyřboč rozložitá (*Tetragonia tetraginoides*). U těchto druhů je předpokládána rozdílná reakce na zasolení. K založení pokusu bylo zvoleno osivo komerčního původu.

4.1 Rostlinný materiál

Špenát setý

Odrůda špenátu setého MATADOR je raná odrůda. Vzrůst této odrůdy je střední až mohutný s polovzpřímenými listy. Listy jsou oválné se zakulacenou špičkou, bublinaté a mají světle zelenou barvu. Je odolná vůči plísni špenátové, k vyběhání do květu, má rychlý počáteční růst a umožňuje časnou sklizeň (semo.cz).

Šrucha zelná

Odrůda GREEN PURSLANE je velmi rychle rostoucí rostlina s léčivými účinky. Užitečnou částí rostliny jsou mladé listy s vysokým obsahem vody a minerálů. Při kvetení získávají rostliny ostrou chuť. Má podobné využití jako špenát (semo.cz).

Čtyřboč rozložitá

Čtyřboč rozložitá je jednoletá bylina, která tvoří mohutné trsy s rozvětvenými až 1 m dlouhými lodyhami. Plodem je peckovice velká až 1 cm. Před výsevem by se měly plody namáčet do teplé vody, aby nabobtnaly a urychlilo se tak vzcházení. Rostliny jsou teplomilné a vlhkomilné a mají pomalý počáteční

růst. Předností čtyřboče je výnos zelené hmoty, a také minimální odpad při zpracování (semo.cz).

4.2 Založení pokusu

Pokus byl založen jako nádobový v částečně řízených podmínkách skleníku Katedry botaniky a fyziologie rostlin FAPPZ. Teplota ve dne byla nastavena na 25 °C a v noci na 18 °C, za přirozeného světelného režimu. Rostliny byly pěstovány ve směsi pěstebního substrátu typu A a křemičitého písku v poměru 2:1, v nádobách o velikosti 11x11 cm. Zahradní substrát je jemný (maximálně 10 % částic nad 10 mm), udržující vzdušnost prostředí, neslévavý, nezasolený, pH ve 5,5–6,5, bez semen plevelů a škůdců, obsahující 55 % spalitelných látek ve vysušeném vzorku, s podílem částic nad 25 mm max. 5 %. Obsah živin byl následující: N: 80–120 mg l⁻¹, P₂O₅ 50–100 mg l⁻¹, K₂O: 100–150 mg l⁻¹. Obsah živin byl následující: N: 80–120 mg l⁻¹, P₂O₅: 50–100 mg l⁻¹, K₂O: 100–150 mg l⁻¹. Obsah rizikových prvků splňuje zákonem stanovené limity mg.kg⁻¹ sušiny. Cd 1; Pb 100; Hg 1; As 10; Cr 100; Cu 100; Ni 50; Zn 200.

Schéma pokusu zahrnovalo 4 varianty. První varianta byla kontrolní a byla zalévána deionizovanou vodou. Zbylé tři varianty byly zalévány destilovanou vodou s určitou koncentrací NaCl. Druhá varianta byla zalévána vodou s koncentrací 0,15 M NaCl, třetí varianta měla záливku s koncentrací 0,25 M NaCl a koncentrace záливky u čtvrté varianty byla 0,5 M NaCl. Již od výsevu byly rostliny pěstovány v daných stresových podmínkách. Rostliny byly zalévány 200 ml vody, dvakrát až třikrát za týden a jednou za 14 dní byly stresované rostliny zality destilovanou vodou. V průběhu pokusů se uskutečnilo 6 odběrů ve dvoudenních intervalech.

4.3 Měřené charakteristiky

4.3.1 Stanovení obsahu prolinu

Bylo naváženo 0,5 g listového pletiva do hmoždíře a k němu se přidal 1 ml 3% kyseliny sulfosalicylové. Tato směs se zhomogenizovala a poté se přidaly 4 ml kyseliny sulfosalicylové. Následně se tato směs přefiltrovala. Poté se do

zkumavky vytvořila reakční směs z 1 ml tohoto filtrátu, 1 ml ninhydrinu a 1 ml kyseliny octové. Směs se promíchala a následně se povařila. Po uvaření se směs zchladila a po zchlazení se ke směsi přidaly 3 ml toulenu a zkumavka se opět důkladně protřepala a nechala se odstát po dobu 20ti minut. Při odstání dochází k oddělování fází vzorku. Měří se absorbance vrchní vrstvy vzorku spektrometricky (obr. 6) při 520 nm, jako blank se používá čistý toulen (Bates, 1973).



Obr. 6 Spektrofotometr Helios gamma (www.caeonline.com)

4.3.2 Stanovení výtoku elektrolytu

Z plně vyvinutých listů rostlin v oblastech bez hlavní nervatury byly odebrány terčíky pomocí korkovrtu o velikosti 0,5 cm. Terčíky byly následně opláchnuty destilovanou vodou. Následně byly vzorky vloženy do zkumavky s 10 ml destilované vody a byly uloženy na 24 hodin do lednice. Poté byly pomocí konduktometru změřeny hodnoty elektrické vodivosti (REL_1).

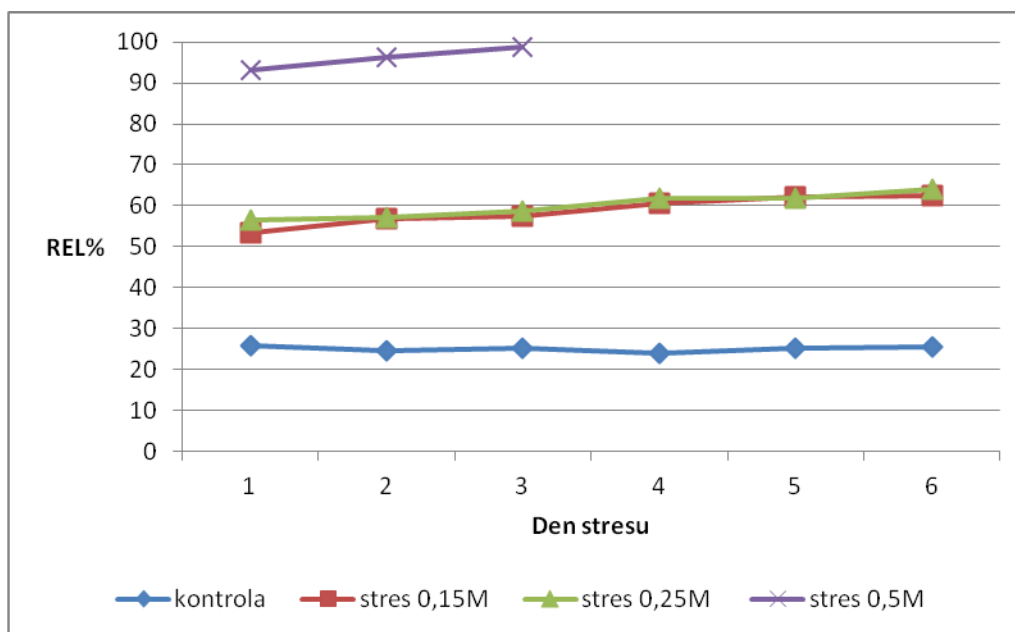


Obr. 7 Konduktometr GRYF 106 L3 (www.proinex.cz).

Ve vodní lázni byly vzorky povařeny po dobu 20 minut, tak aby došlo k maximálnímu poškození buněčné struktury. Po zchlazení vzorku se opět měřila elektrická vodivost (REL_2). Relativní výtok elektrolytů ($REL\%$), byl vyjádřen procentuálně jako poměr $REL_1: REL_2$, na základě změny vodivosti roztoku. Každé měření probíhalo pomocí konduktometru GRYF 106 L3 (GRYF HB spol. s.r.o., ČR), (obr. 7) (Premachandra a kol, 1990).

5 Výsledky

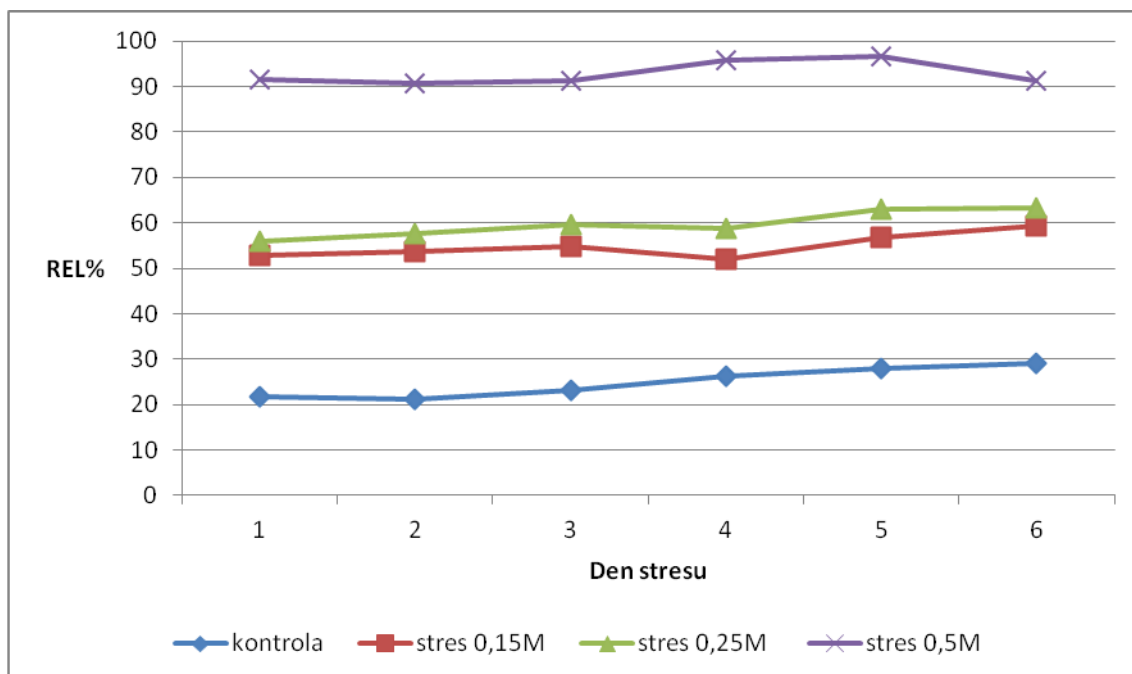
5.1 Relativní výtok elektrolytů



Graf 2: Vliv varianty pokusu a termínu odběru na relativní výtok elektrolytu (%) u rostlin špenátu

Graf 2 znázorňuje míru poškození buněčných membrán u špenátu setého. U kontrolní varianty nedocházelo k výrazným výkyvům hodnot poškození membrán. Relativní výtok elektrolytů kontrolních rostlin špenátu byl 25,81 % v prvním měření až 25,49 % v posledním měření. V případě rostlin stresovaných zasolením o koncentraci 0,15 M se v porovnání s kontrolou poškození membrány lineárně zvyšovalo z hodnoty 53,38 % v den prvního měření na hodnotu 62,59 % v poslední stresový den. Obdobný trend změn ve výtoku elektrolytů byl zjištěn u rostlin špenátu vyrostlých v 0,25 M NaCl. Také u této varianty se míra poškození membrány vlivem zasolení zvyšovala. Nejnižší hodnota relativního výtoku elektrolytů byla zjištěna na počátku pokusu, kdy činila 56,65 %. Na straně druhé nejvyšší hodnota Rel% byla naměřena na konci pokusu 63,88 %. Nejcitlivěji na stres

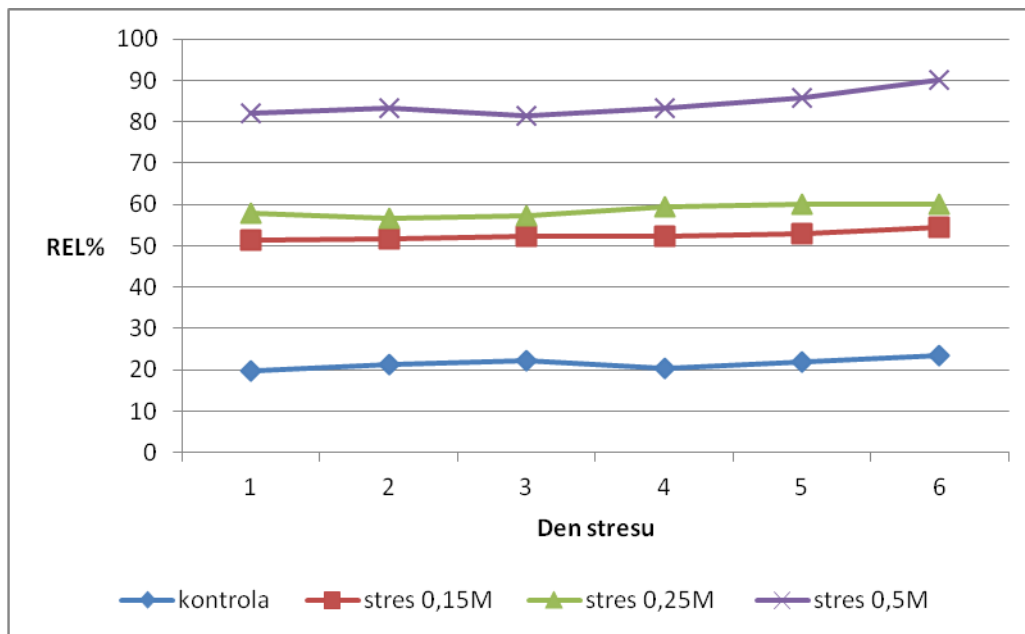
zasolením reagovaly rostliny špenátu u koncentrace 0,5 M. U této varianty rostliny špenátu odumřely ve druhé polovině pokusu. Na počátku pokusu byla míra poškození membrány od 93,11 % do 98,86 %, viz graf 2.



Graf 3: Vliv varianty pokusu a termínu odběru na relativní výtok elektrolytu (%) u rostlin šruchy.

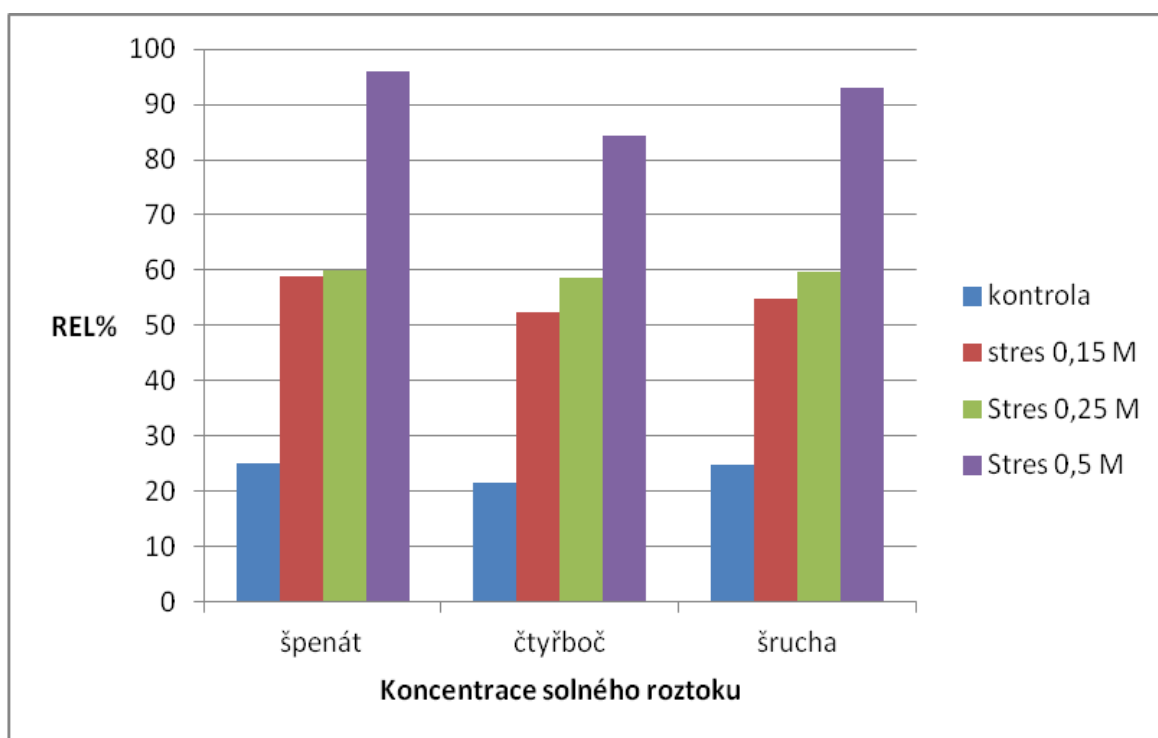
Graf 3 znázorňuje míru poškození buněčných membrán u šruchy zelné. U Kontrolních variant docházelo k mírnému zvyšování hodnot poškození membrán. Relativní výtok elektrolytů kontrolních rostlin šruchy byl od 21,74 % v prvním měření až po 29,14 % v posledním měření. V případě rostlin stresovaných zasolením o koncentraci 0,15 M se v porovnání s kontrolou poškození membrány zvyšovalo dvojnásobně. U této varianty se poškození membrány zvyšovalo z hodnoty 52,72 % (1. Stresový den) na hodnotu 59,21 % (6. Stresový den). Obdobné změny ve výtoku elektrolytů byly zjištěny u rostlin šruchy zelné vyrostlých v 0,25 M NaCl. Také u této varianty se míra poškození membrány vlivem zasolení zvyšovala. Nejnižší hodnota relativního výtoku elektrolytů byla zjištěna na počátku pokusu, kdy činila 55,83 %. Nejvyšší hodnota Rel% byla naměřena na konci pokusu 63,19 %. Nejcitlivěji na stres zasolením reagovaly rostliny šruchy na zasolení o koncentraci 0,5 M. Na počátku pokusu byla míra poškození

mebrány od 91,54 % v prvním měření do 91,4 % v posledním měření, nejvyšší míra poškození membrány byla 96,78 % v předposledním měření, viz graf 3.



Graf 4: Vliv varianty pokusu a termínu odběru na relativní výtok elektrolytu (%) u rostlin čtyřboči

Graf 4 znázorňuje míru poškození buněčných membrán u čtyřboče rozložitě. U kontrolní varianty nedocházelo k výrazným výkyvům hodnot poškození membrán. REL% u kontrolních rostlin čtyřboče byl 19,81 % v prvním měření až 23,47 % v posledním měření. V případě rostlin stresovaných zasolením o koncentraci 0,15 M se v porovnání s kontrolou poškození membrány zvyšovalo, neboť poškození membrány bylo první den stresu 51,25 % a poslední den stresu byla míra poškození 54,56 %. Obdobné hodnoty výtoku elektrolytů byly zjištěny u rostlin čtyřboče vyrostlých v koncentraci 0,25 M NaCl. Také u této varianty se míra poškození membrány vlivem zasolení zvyšovala, nejnižší hodnota relativního výtoku elektrolytů byla zjištěna na počátku pokusu (57,86 %) a naopak nejvyšší na konci (60,17 %). Nejcitlivěji rostliny čtyřboče reagovaly na zasolení v koncentraci 0,5 M. Na počátku pokusu byla míra poškození mebrány u této varianty 82,1 % a na konci 90,13 %, viz graf 4.

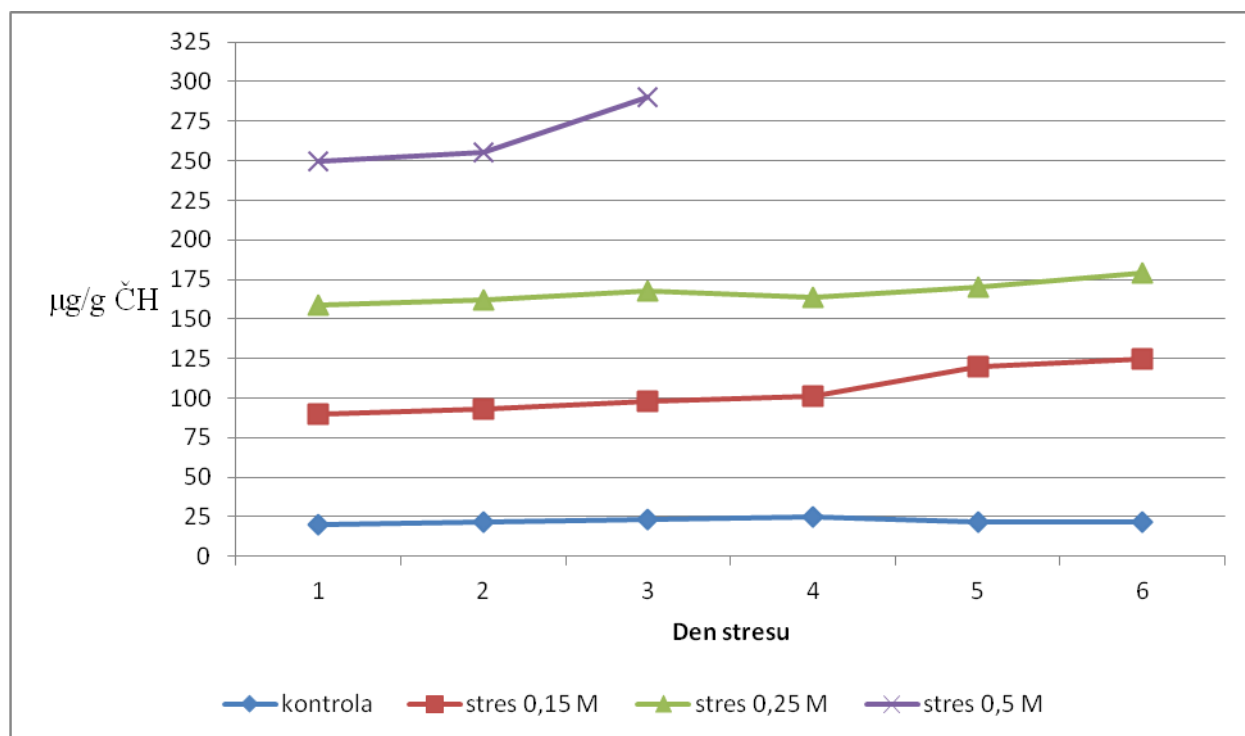


Graf 5: Vliv rostlinného druhu a varianty pokusu na relativní výtok elektrolytů (%)

Z grafu 5 vyplývá, že k nejvyššímu poškození membrán dochází u varianty 0,5 M NaCl. U této varianty se naměřené hodnoty pohybovaly v rozpětí hodnot od 84,33 % (čtyřboč) do 96,09 % (špenátu). Naopak nejnižší míra poškození byla u kontrolních rostlin. Z kontrolních rostlin vykazují nejnižší poškození rostliny čtyřboče (21,52 %) a naopak nejvyšší rostliny špenátu 25,02 %.

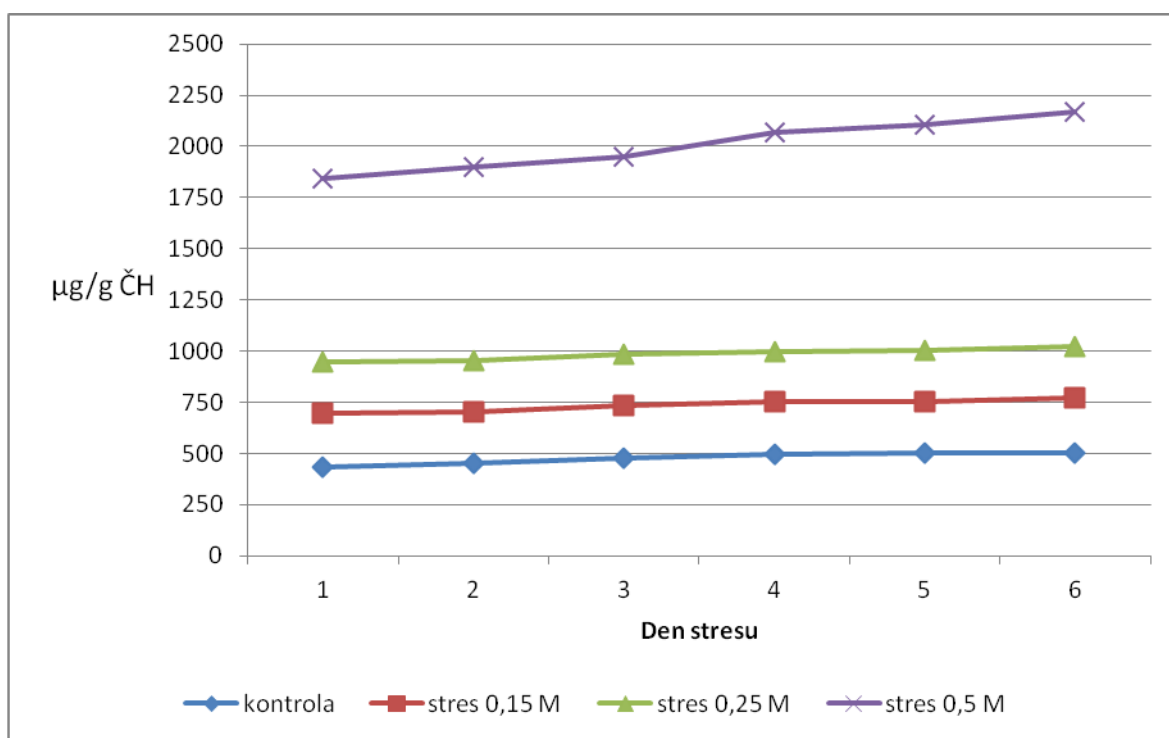
Z uvedeného grafu je dále patrné, že na stres zasolením nejcitlivěji reaguje špenát, u něho rozdíly mezi stresovanými variantami byly 25,02 % u kontrolní varianty až 96,09 % ve variantě 0,5 M. Na straně druhé jako tolerantní vůči zasolení se jeví čtyřboč rozložitá. U tohoto rostlinného druhu činil rozdíl mezi stresovanými variantami a kontrolou od 21,52 % (kontrolní variant) do 84,33 % (varianta 0,5 M) poškození membrány.

5.2 Obsah prolinu



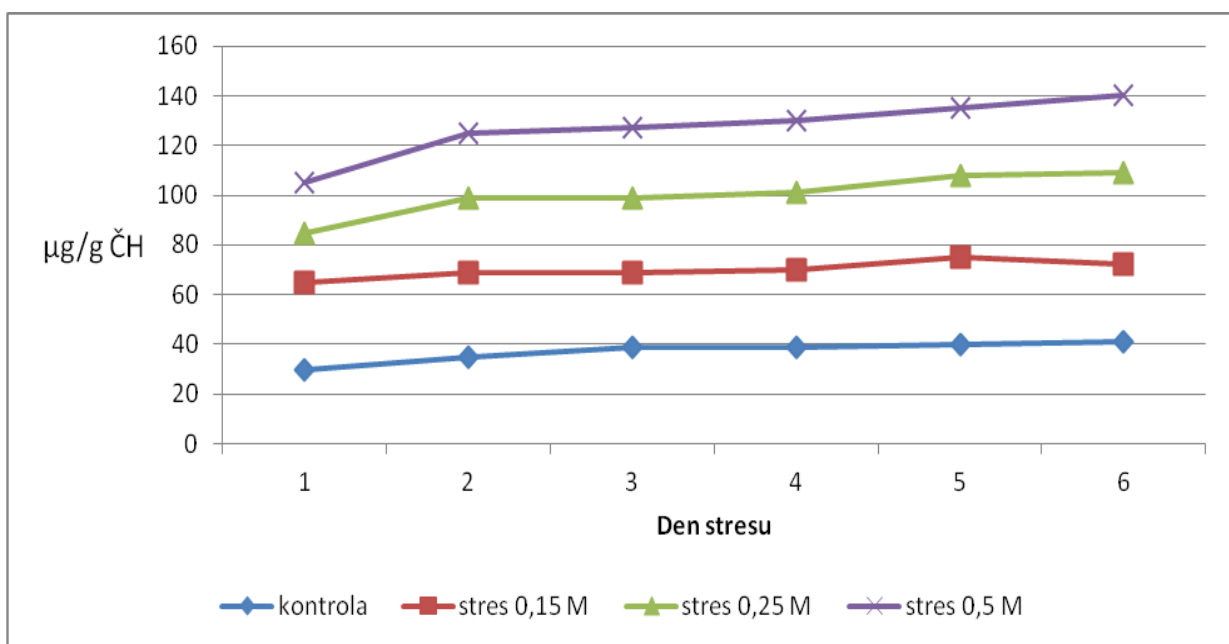
Graf 6: Vliv varianty pokusu a termínu odběru na obsah prolinu ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ čerstvé hmoty) u rostlin špenátu.

Graf 6 znázorňuje obsah prolinu u rostlin špenátu setého při různých hladinách zasolení. U kontrolní varianty nedocházelo k výrazným výkyvům hodnot obsahu prolinu. Obsah prolinu u kontrolních rostlin špenátu byl $20 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ čerstvé hmoty v prvním měření a $22 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ čerstvé hmoty v posledním měření. V případě rostlin stresovaných zasolením o koncentraci $0,15 \text{ M}$ se obsah prolinu zvyšoval, první den měření byl obsah prolinu $90 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ čerstvé hmoty a na konci pokusu $125 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ čerstvé hmoty. Obdobný trend změn obsahu prolinu byl zjištěn u rostlin špenátu vyrostlých v $0,25 \text{ M NaCl}$. Také u této varianty se obsah prolinu vlivem zasolení zvyšoval. Nejnižší hodnota prolinu byla zjištěna na počátku pokusu, kdy činila $159 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ čerstvé hmoty a naopak nejvyšší hodnota prolinu byla naměřena na konci pokusu $179 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ čerstvé hmoty. Nejcitlivěji reagovaly rostliny špenátu na zasolení o koncentraci $0,5 \text{ M}$. Obsah prolinu byl $250 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ čerstvé hmoty (1. den stresu) a $290 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ čerstvé hmoty (3. Den stresu).



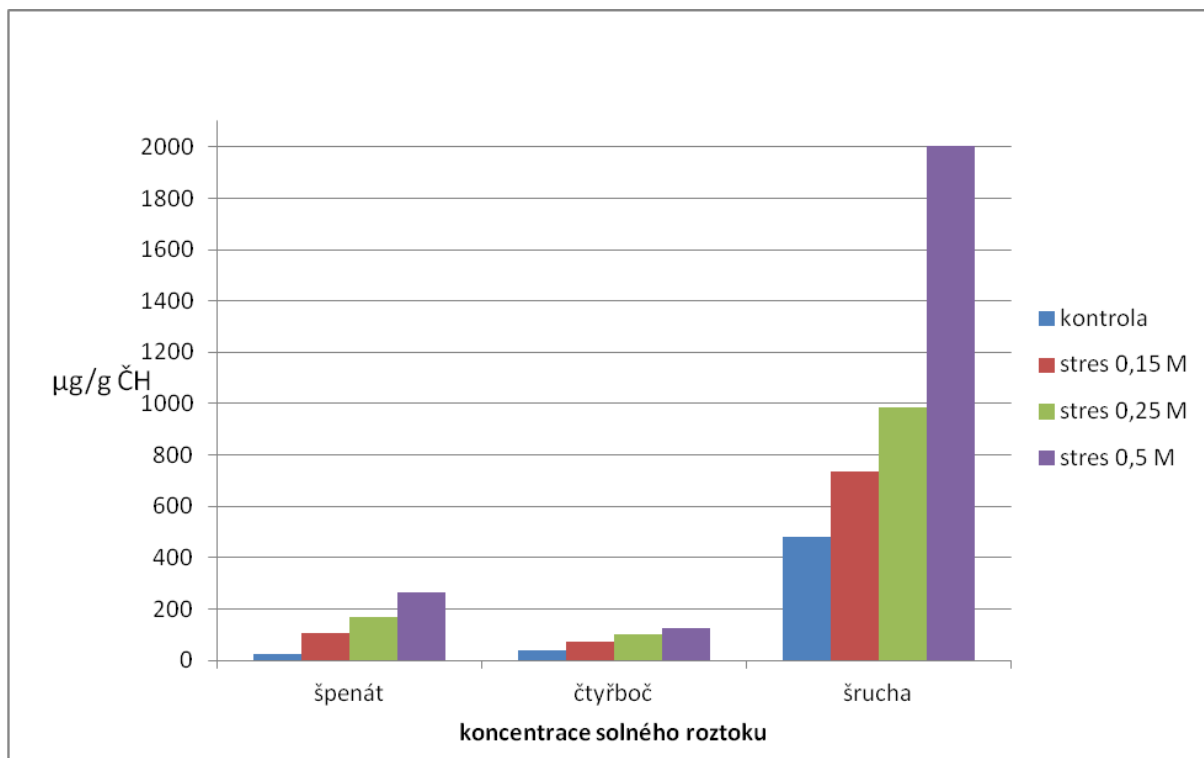
Graf 7: Vliv varianty pokusu a termínu odběru na obsah prolinu ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ čerstvé hmoty) u rostlin šruchy.

Graf 7 znázorňuje obsah prolinu u rostlin šruchy zelné v závislosti na zasolení. U prvních třech variant (kontrola, 0,15 M, 0,25M) nedocházelo k výrazným výkyvům hodnot obsahu prolinu, hodnoty lineárně narůstaly. Obsah prolinu u kontrolních rostlin šruchy byl $436 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ čerstvé hmoty v prvním měření a $505 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ čerstvé hmoty v posledním měření. V případě rostlin stresovaných zasolením o koncentraci 0,15 M se obsah prolinu zvyšoval neboť naměřený interval hodnot byl od $695 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ čerstvé hmoty (1. den stresu) do $770 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ čerstvé hmoty (6. den stresu). Hodnoty obsahu prolinu zjištěné u rostlin šruchy pěstované v koncentraci 0,25 M NaCl na počátku pokusu činily $949 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ čerstvé hmoty. Nejvyšší hodnota prolinu u této varianty byla naměřena na konci pokusu $1025 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ čerstvé hmoty. Nejcitlivěji na stres zasolením reagovaly rostliny šruchy pěstované v koncentraci 0,5 M. U této varianty se obsah prolinu v porovnání s ostatními variantami průkazně zvýšil, protože naměřené rozpětí hodnot bylo od $1841 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ čerstvé hmoty v 1. den stresu do $2171 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ čerstvé hmoty v 6. den stresu.



Graf 8: Vliv varianty pokusu a termínu odběru na obsah prolinu ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ čerstvé hmoty) u rostlin čtyřboče.

Graf 8 znázorňuje obsah prolinu u rostlin u čtyřboče rozkladité za různých stresových podmínek zasolením. U všech variant nedocházelo k výrazným výkyvům hodnot obsahu prolinu. Obsah prolinu u kontrolních rostlin čtyřboče byl nízký, činil $30 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ čerstvé hmoty (1. den stresu) $41 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ čerstvé hmoty (6. den stresu). V případě rostlin stresovaných zasolením o koncentraci $0,15 \text{ M}$ se obsah prolinu zvyšoval z hodnoty $65 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ čerstvé hmoty (1. den stresu) na hodnotu $72 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ čerstvé hmoty (6. den stresu). Hodnoty obsahu prolinu naměřené u rostlin čtyřboče pěstované v $0,25 \text{ M NaCl}$ na počátku pokusu byly $85 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ čerstvé hmoty. Na straně druhé nejvyšší hodnota prolinu v této variantě byla naměřena na konci pokusu $109 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ čerstvé hmoty. Nejcitlivěji na zasolení reagovaly rostliny čtyřboče pěstované v podmínkách o koncentraci $0,5 \text{ M}$. Obsah prolinu v prním měření činil u této varianty $105 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ čerstvé hmoty a u posledního měření byla hodnota prolinu $140 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ čerstvé hmoty.



Graf 9: Vliv rostlinného druhu a varianty pokusu na obsah prolinu ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ čerstvé hmoty)

Z grafu 9 vyplývá rozdíl v obsahu prolinu, u sledovaných rostlinných druhů neboť, u šruchy zelné dochází až k 10ti násobnému nárůstu obsahu prolinu oproti špenátu a čtyřboči. Nejvyšší obsah prolinu je u všech sledovaných rostlinných druhů zaznamenán u varianty 0,5 M NaCl. U této varianty se naměřené hodnoty pohybovaly v rozpětí hodnot od 127 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ čerstvé hmoty (čtyřboč) do 2005 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ čerstvé hmoty (šrucha). Naopak nejnižší obsah prolinu byl naměřen u kontrolních rostlin. Z kontrolních rostlin vykazují nejnižší obsah prolinu špenát (22,2 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ čerstvé hmoty) a naopak nejvyšší hodnoty u kontrolních rostlin dosahovala šrucha (478,8 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ čerstvé hmoty).

Z uvedeného grafu je dále patrné, že v důsledku stresu zasolením dochází k nejvyššímu obsahu prolinu u šruchy zelné, u ní jsou nejvyšší rozdíly mezi variantou s koncentrací 0,5 M a kontrolou. Rozdíl činil 1526 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ čerstvé hmoty. Na straně druhé nejnižší rozdíl mezi nejvyšší hladinou zasolení a kontrolou byl zjištěn u čtyřboče, u níž rozdíl činil 90 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ čerstvé hmoty prolinu.

6 Diskuse

6.1 Relativní výtok elektrolytů

Nejvyšší hodnoty poškození membrány z důvodu zasolení byly naměřeny u varianty 0,5 M. U této varianty se naměřené hodnoty pohybovaly v rozpětí hodnot od 84,33 % (čtyřboč) do 96,09 % (špenátu). Naopak nejnižší míra poškození byla u kontrolních rostlin. Z kontrolních rostlin vykazují nejnižší poškození rostliny čtyřboče (21,52 %) a naopak nejvyšší rostliny špenátu (25,02 %).

Kaya a kol. (2001) měřili relativní výtok elektrolytu u špenátu setého a konstatovali, že ve vegetativním stádiu docházelo k vyššímu poškození buněčných membrán, než u juvilejních rostlin a tím potvrdili souvislost mezi dobou působení stresového faktoru s hodnotou koncentrace zasolení. Uvedený závěr byl potvrzen i v bakalářské práci u všech vybraných druhů. Obdobný trend zaznamenal také u lilku bramboru Gao a kol. (2015). Získané výsledky práce jsou obdobné jako u Cha-um a kol. (2010), kteří popisují vliv stresu zasolením na juvilejních rostlinách palmy olejné a u rýže seté, jej popisuje Lutts a kol. (1995).

V průběhu pokusu byl na rostlinách špenátu znatelné snížení biomasy rostliny. Působení nejvyšších hodnot zasolení tedy 0,5 M způsobilo úhyn rostlin špenátu setého již po třetím měření. Rozdíly u výsledků špenátu setého mezi byly od 25,02 % u kontrolní varianty až do 96,09 % ve variantě 0,5 M. Z výsledků této práce vyplívá, že se zvyšující se koncentrací solí a délkou působení se zvyšuje i poškození buněčných membrán a dochází k vyššímu výtoku elektrolytů. Kaya a kol. (2001) potvrzuje výsledky práce souvislosti stresu ze zasolení a snižováním biomasy u špenátu. Licoskoufis a kol. (2005) popisuje snižování biomasy v důsledku zasolení u papriky roční.

U šruchy zelné bylo naměřeno poškození membrán v průměru od 24,94 % u kontrolní varianty do 92,89 % u varianty 0,5 M. Při koncentraci 0,25 M bylo v průměrné poškození membrány 59,67 %, Bandoğlu a kol.

(2004) měřili poškození membrány u čočky jedlé při koncentraci 0,2 M a průměru naměřeli $66,2 \pm 5,7$ %. Z tohoto tvrzení vyplývá, že čočka je na zasolení citlivější než šrucha.

Jako tolerantní vůči zasolení se jeví čtyřboč rozložitá. S tímto tvrzením se ztotožňuje i Yousif a kol. (2010).

6.2 Obsah prolinu

Prudký nárůst hodnot prolinu u stresové varianty šruchy zelné 0,5 M potvrzuje Yazici and Türkan (2007) ve své práci, kde uvádí, že u šruchy zelné pěstované v kontrolních podmínkách nedocházelo při průběžných měření k větším nárůstům obsahu prolinu, ale při působení vyšších stresových podmínek se obsah prolinu zvýšil oproti kontrole až o 73 % a 100 % při koncentraci zasolení 0,07 M a 0,14 M. U šruchy zelné ve variantě 0,25 M byla nejvyšší naměřená hodnota $1025 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ čerstvé hmoty. Kafi and Rahimi (2011) naměřili v obdobné koncentraci (0,24 M) $1841 \pm 330 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ čerstvé hmoty. Uvedení autoři dále uvádí, že obsah prolinu u šruchy zelné pomáhá rostlinám překonávat stres ze zasolení pomocí rovnovážného udržování vody a soli v buňce.

Průměrný obsah prolinu u špenátu setého se pohyboval od $22,33 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ čerstvé hmoty u kontrolní varianty do $265 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ čerstvé hmoty u varianty 0,5 M. Obdobný závěr ve své práci uvádí Lamhamdi a kol. (2013), kteří konstatují, že obsah prolinu se u špenátu zvyšuje vlivem působení toxických látek v půdě.

Nejnižší obsah prolinu byl naměřen u rostlin čtyřboče. Obsah prolinu se v průměru pohyboval od $37 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ čerstvé hmoty u kontrolní varianty do $127 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ čerstvé hmoty u varianty 0,5 M. Hodnoty obsahu prolinu naměřené u čtyřboče mají obdobný trend jako výsledky, které naměřili Yousif a kol. (2010).

Z výsledků je patrné, že u všech sledovaných rostlinných druhů se obsah prolinu vlivem zasolení zvyšoval. Uvedený závěr potvrzuje práce Tal a kol. (1979), kteří zkoumali vliv zasolení na obsah prolinu u rajčete keříčkového.

Ke stejnému závěru došli i Kahdavian a kol. (2008), kteří sledovali působení ultrafialového světla na zvyšování obsahu prolinu v rostlinách papriky roční.

Kafi and Rahimi (2011) zkoumali vliv zasolení na šruchu zelnou, a také zaznamenali zvyšování prolinu v závislosti na zasolení.

7 Závěr

Cílem této práce bylo zjistit, jak zasolení ovlivňuje u vybraných druhů listové zeleniny obsah prolinu a výtok elektrolytů. Ze získaných výsledků vyplývá, že:

- Byly hypotézy o rozdílných reakcích na zasolení u vybraných druhů zelenin.
- Špenát setý vystavený stresové variantě 0,5 M NaCl odumřel již v druhé polovině pokusu.
- Špenát setý reaguje citlivě na zasolení v porovnání s ostatními druhy. V průměru dosahovalo poškození membrán, až 96,06 % při nejvyšším stresu zasolením.
- Nejvyšší průměrná hodnota prolinu byla naměřena u rostlin pěstovaných v koncentraci 0,5 M ($265 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ čerstvé hmoty).
- Nízký obsah prolinu v rostlinách špenátu, také poukazuje na skutečnost, že špenát setý reaguje citlivě na zasolení.
- Čtyřboč rozložitá se jeví jako vhodný druh na zasolené půdy, její poškození membrán při zasolení bylo ve srovnání s ostatními druhy nízké, pouze 84,33 % u varianty s nejvyšší koncentrací solí 0,5 M.
- Nejvyšší hodnota obsahu prolinu byla u čtyřboče $127 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ čerstvé hmoty (varianta 0,5 M). Z výsledků obsahu prolinu vyplývá, že čtyřboč rozložitá využívá jiný obranný mechanismus proti zasolení.
- U šruchy zelné docházelo k nejvyššímu poškození u varianty 0,5 M NaCl, v průměru byly buňky poškozeny na 92,88 %.
- Šrucha zelná produkovala nejvyšší množství prolinu v porovnání se špenátem a čtyřbočem.
- U šruchy byla nejvyšší hodnota prolinu naměřena u varianty 0,5 M, tato hodnota činila $2005,5 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ čerstvé hmoty.

Seznam použité literatury

- Bandoğlu, E., Eydoğan, F., Yücel, M., Öktem, H. A. 2013. Antioxidant responses of shoots and roots of lentil to NaCl-salinity stress. *Plant growth regulation*. Vol. 42. P. 69-77. Dostupné z: <<http://link.springer.com/article/10.1023/B:GROW.0000014891.35427.7b#page-1>>
- Bartoš, J., Kopec, K., Mydlil, V., Peza, Z., Rod, J. 2000. Pěstování a odbyt zeleniny. Agrospoj. Praha. 323 s. ISBN: 8023942425.
- Bartoš, J., Hlušek, J., Kopec, K., Malý, I., Petříková, K., Rod, J., Spitz, P. 1998. Polní zelinářství. Agrospoj. Praha. 196 s. ISBN: 8023942328.
- Bates, L. S., Waldren R. P., Teare I. D. 1973. Rapid determinativ of free prolin for water-stress studies. *Plant and soil*, Vol 39, p. 205-207.
- Bláha, L., Hnilička, F., Hniličková, H., Holubec, V., Möllerová, J., Štolcová, J., Zieglerová, J. 2003. Rostlina a stres. Výzkumný ústav rostlinné výroby. Praha. 156 s. ISBN: 8086555321.
- Gao, H., Yang, H., Bai, J., Liang, X., Lou, Y., Zhang, J., Wang, D., Zhang, J., Niu, S., Chen, Y. 2015. Ultrastructural and physiological response of potato (*Solanum thuberosum* L.) plantletsto gradientsaline stress. *Plant science*. 5:787. Dostupné z: <<http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fpls.2014.00787/full>>
- Hejný, S., Slavík, B. 2003. Květena České Republiky 2. Academia. Praha. 540 s. ISBN: 8020010890.
- Hong-Bo, S., Zong-Suo, L., Ming-An, S. 2005. LEA proteins in higher plants: structure, function, gene expression and regulation. *Colloids Surf B Biointerfaces*. Vol. 45. p. 131-5. Dostupné z: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16199145>>
- Cha-Um, S., Takabe, T., Kirdmane, C. 2010. Ion contents, relative elektrolyte leakage, proline accumulation, photosynthetic abilities and growth characters of oil palm seedlings in response to salt stress. *Pakistan Journal of Botany*. Vol. 42 (3). p. 2191-2020.

- Ismail, A. M., Hall, A. E., Close, T.J. 1999. Purification and partial characterization of a dehydrin involved in chilling tolerance during seedling emergence of cowpea. *Plant Physiology*. Vol. 120 (1), p. 237 – 244
- Kahdavian, K., Ghorbanli, M., Kalantary, M. 2008. The effects of ultraviolet radiation on the contents of chlorophyll, flavonoid, anthocyanin and proline in *Capsicum annum* L. *Turkish journal of botany*. Vol. 32. p. 25-33. Dostupné z: <http://mistug.tubitak.gov.tr/bdyim/abs.php?dergi=bot&rak=0704-6>
- Kaya, C., Higgs, D., Kirnak, H. 2001. The effects of high salinity (NaCl) and supplementary phosphorus and potassium on physiology and nutrition development of spinach. *Bulgarian journal of plant fysiology*. Vol. 27. p. 47-59. Dostupné z: http://www.bio21.bas.bg/ipp/gapbfiles/v-27/01_3-4_47-59.pdf
- Keddy, P. A. 2007. *Plants and vegetation : origins, processes, consequences*. Cambridge university press. New York. 683 p. ISBN: 0521864800.
- Lamhamdi, M., Galiou O. E., Bakrim, A., Nóvoa-Muñoz, J. C., Arias-Estévez, M., Aarab, A. Lafont, R. 2013. Effect of lead stress on mineral content and growth of wheat (*Triticum aestivum*) and spinach (*Spinacia oleracea*) seedlings. *Saudi journal of biological science*. Vol. 20. p. 29-36. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com.infozdroje.czu.cz/science/article/pii/S1319562X12000630>
- Larcher, W. 1988. *Fyziologická ekologie rostlin*. Academia. Praha. 368 s.
- Levitt, J. 1980. *Responses of plants to environmental stresses* 2d ed. Academic Press. New York. 607 p. ISBN: 0124455026.
- Lichtenthaler, H. K. 1996. Vegetation Stress: an Introduction to the Stress Concept in Plants. *Journal of Plant Physiology*. vol 148, 1-2, p.

4-14. ISSN: 01761617. Dostupné z:

<<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0176161796802872>>

- Liu, J., Zhu J.K. 1997. Proline Accumulation and Salt-Stress-Induced Gene Expression in a Salt-Hypersensitive Mutant of Arabidopsis. *Plant Physiology*, vol 114. No. 2, p. 591-596. Dostupné z: <<http://www.plantphysiol.org/content/114/2/591.short>>
- Lutts, S., Kinet, J. M., Bouharmont, J. 1995. NaCl-induced Senescence in Leaves of Rice (*Oryza sativa* L.) Cultivars Differing in Salinity Resistance. *Annals of botany*. Vol. 78 (3). p. 389-398. Dostupné z: <<http://aob.oxfordjournals.org/content/78/3/389.short>>
- Licoskoufis, I. H., Savvas, D., Mavrogianopoulos, G. 2005. Growth, gas exchange, and nutrient status in pepper (*Capsicum annuum* L.) grown in recirculating nutrient solution as affected by salinity imposed to half of the root system. *Scientia horticultrae*. Vol. 106 (2). p. 147-161. Dostupné z: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304423805001172>>
- Michal, I. 1994. *Ekologická stabilita*. Veronica. Brno. 276 s. ISBN: 8085368226.
- Mooney, H. A. 1991. *Response of plants to multiple stresses*. San Diego. Academic Press. 422 p. ISBN: 012505355.
- Munns R., Tester M. 2008. Mechanisms of salinity tolerance. *Annual Review of Plant Biology*. Vol. 59. p. 651-681. Dostupné z: <<http://www.annualreviews.org/doi/abs/10.1146/annurev.arplant.59.032607.092911>>
- Nielsen, T. E., Orcutt, D. M. 1996. *The physiology of plants under stress*. John Wiley & Sons. New York. 689 p. ISBN: 0471031526.
- Pekárková, E. 2002. *Pěstujeme salát, špenát a další listové zeleniny*. Grada. Praha. 96 s. ISBN: 8024702835.
- Petříková, K., Koudela, M., Malý, I., Pokluda, R., Hlušek, J., Lokáš, T., Jánský, J., Malý, I., Peza, Z., Poláčková, J., Rod, J. 2006. *Zelenina*,

pěstování, ekonomika, prodej. Profi press. Praha. 237 s. ISBN: 8086726207.

- Petříková, K. Hlušek, J. (eds). 2012. Zelenina: pěstování, výživa, ochrana a ekonomika. Profi press. Praha. 191 s. ISBN: 9788086726502
- Pierce, L. C. 1987. Vegetables: characteristics, production, and marketing. John Wiley & Sons. New York. 448 p. ISBN: 0471850225.
- Procházka, S., Macháčková, I., Krekule, J., Šebánek, J. (eds.). 1998. Fyziologie rostlin. Academia. Praha. 484 s. ISBN: 8020005862.
- Premachandra, G. S., Saneoka, H., Fujita, K., Ogata, S., 1990. Cell membrane stability and leaf water relations as affected by nitrogen nutrition under water stress in maize. Soil science and plant nutrition. vol 36, No. 4, p. 653-659. Dostupné z: <<http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/00380768.1990.10416802#.VSjQsvmsUdU>>
- Rengasamy, P. 2006. World salinization with emphasis on Australia. Journal of Experimental Botany. vol 57, No. 5, p. 1017 – 1023. Dostupné z: <<http://jxb.oxfordjournals.org/content/57/5/1017.abstract>>
- Ryant, P., Škarpa, P., Rod, J., Jánský, J., Poláčková, J. 2012. Zelenina. Praha. Profi press. 191 s. ISBN: 9788086726502.
- Rubatzky, V. E., Yamaguchi, M. 1997. World vegetables: principles, production, and nutritive values. Chapman & Hall. New York. 843 p. ISBN: 0834216876.
- Shabala, S. 2012. Plant stress physiology. Wallingford. CABI. 317 p. ISBN: 9781845939953.
- Tal, M., Katz, A., Heikin, H., Dehan, K. 1979. Salt tolerance in the wild relatives of the cultivated tomato: proline accumulation in *Lycopersicon esculentum* MILL., *L. peruvianum* MILL. And *Solanum pennelli* COR. treated with NaCl and polyethylen glycole. New phytologist. Vol. 82 (2). p. 349-355. Dostupné z: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1469-8137.1979.tb02660.x/abstract>>

- Vogel, G., Hartmann, D., Krahnstöver, K. 1996. Handbuch des speziellen Gemüsebaues. Stuttgart. Eugen Ulmer. 1127 p. ISBN: 3800152851.
- Yasici, I., Türkan, I. 2007. Salinity tolerance of purslane (*Portulaca oleracea* L.) is achieved by enhanced antioxidative system, lower level of lipid peroxidation and proline accumulation. *Environmental and experimental botany*. Vol. 61 (1). p. 49-57.
- Yousif, B. S., Liu, L. Y., Nguyen, N. T., Masaoka, Y., Saneonka, H. 2010. Comparative Studies in Salinity Tolerance Between New Zealand Spinach (*Tetragonia tetragonioides*) and Chard (*Beta vulgaris*) to Salt Stress. *Agricultural Journal*. Vol. 5 (1). p. 19-24. Dostupné z: <<http://docsdrive.com/pdfs/medwelljournals/aj/2010/19-24.pdf>>

Internetové zdroje

- SEMO.cz. Špenát. [online]. SEMO a. s. 2007. [cit. 2015-03-17]. Dostupné z: <<http://www.semo.cz/homegardencz/index.php?s=&druh=43&odru=39022>>
- SEMO. cz. Šrucha zelná. [online]. SEMO a. s. 2007. [cit. 2015-03-17]. Dostupné z: <<http://www.semo.cz/homegardencz/index.php?s=&druh=2864&odru=3981>>
- SEMO. cz. Novozélandský špenát. [online]. SEMO a. s. 2007. [cit. 2015-03-17]. Dostupné z: <<http://www.semo.cz/homegardencz/index.php?s=&druh=526&Spe=526&odru=3981>>