

**MENDELOVA UNIVERZITA V BRNĚ
AGRONOMICKÁ FAKULTA**

DISERTAČNÍ PRÁCE

BRNO 2015

MARKÉTA JAROŠOVÁ

Mendelova univerzita v Brně

**Agronomická fakulta
Ústav chemie a biochemie**



**Agronomická
fakulta**

**Mendelova
univerzita
v Brně**



**Úloha huminových látek ve zmírňování negativních
dopadů působení solí na rostliny ječmene jarního**

Disertační práce

Vedoucí práce:

Prof. RNDr. Bořivoj Klejdus, Ph.D.

Vypracovala:

Ing. Markéta Jarošová

Brno 2015

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že jsem práci „Úloha huminových látek ve zmírňování negativních dopadů působení solí na rostliny ječmene jarního“ vypracovala samostatně a veškeré použité prameny a informace uvádím v seznamu použité literatury. Souhlasím, aby moje práce byla zveřejněna v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách ve znění pozdějších předpisů a v souladu s platnou *Směrnici o zveřejňování vysokoškolských závěrečných prací*.

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

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

V Brně dne:.....

.....
podpis

Poděkování

Na tomto místě bych chtěla poděkovat celému kolektivu laboratoře metabolomiky Ústavu chemie a biochemie Agronomické fakulty Mendelovy univerzity v Brně, zejména pak prof. RNDr. Bořivoji Klejdusovi, Ph.D. a doc. RNDr. Jozefu Kováčikovi, Ph.D. za odborné rady, věnovaný čas a ochotu v průběhu celého řešení disertační práce.

ABSTRAKT

Salinita vyvolaná různými sodnými solemi (NaCl a Na_2SO_4) indukovala změnu růstových parametrů lišících se v závislosti na použitém kultivaru a pH aplikovaného solného roztoku. Nejvyšší citlivost k zasolení vykázal kultivar Radegast, u kterého došlo k redukci růstu listové i kořenové části rostlin, snížení obsahu vody v pletivech, nadměrné akumulaci sodíku v listech a radikálnímu formování ROS v kořenových špičkách. Následný experiment s použitím různých druhů huminových kyselin (HA) odhalil, že technická HA ($6,0 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$) na rozdíl od Lignohumátu Max[®] stimuluje růst rostlin exponovaných NaCl a současně účinně omezuje hromadění sodíku v jejich pletivech. HA aplikovaná do kultivačního roztoku indukovala zvýšení obsahu některých metabolitů (kyseliny syringové a kyseliny mléčné v listech, kyseliny chinové a jablečné v kořenech, v listech dále i kyseliny askorbové, redukované formy glutathionu, fytochelatinu 2 a volných aminokyselin). Nicméně NaCl vyvolal pokles obsahu většiny volných aminokyselin (s výjimkou prolinu a histidinu), fenolových kyselin a antioxidantů v listech. Oproti tomu v kořenech byl pozorován nárůst obsahu kyseliny mléčné a chinové. Salinita značně indukovala vznik oxidačního stresu, což je evidentní ze zvýšené aktivity antioxidantních enzymů (APX, CAT, GR a SOD). HA byla schopna vzniklý NaCl-indukovaný oxidační stres účinně omezovat, což je patrné z fluorescenční mikroskopie. Současně byla HA u kultivaru Radegast schopna snižovat nadměrnou akumulaci sodíku vyvolanou NaCl.

Klíčová slova: salinita, huminové kyseliny, ječmen, růstové parametry, osmotický stres

ABSTRACT

Salinity induced by various sodium salts (NaCl and Na₂SO₄) led to changes in growth parameters that differs depending on used cultivar and pH of applied salt solution. Cultivar Radegast showed the highest sensitivity to salinity that was reflected in a reduction of shoot and root growth, a decrease of tissue water content, an excessive sodium accumulation in shoots and a radical formation of ROS in the root tips. Subsequent experiment using various types of humic acids revealed that technical humic acid (HA; 6.0 mg·l⁻¹), unlike Lignohumát Max[®], stimulates NaCl-treated plant growth and simultaneously reduces accumulation of sodium in their tissues. HA applied into culture solution is able to induce an enhancement of certain metabolites (syringic acid and lactic acid in shoots, quinic acid and malic acid in roots, and ascorbic acid, reduced glutathione, phytochelatin 2 and free amino acids in shoots). However, NaCl caused a decrease of majority free amino acids (except for proline and histidine), phenolic acids and antioxidants in leaves. On the other hand, an increase of lactic acid and quinic acid was observed in roots. Salinity significantly induced oxidative stress; it is evident from the increased activity of antioxidant enzymes (APX, CAT, GR and SOD). HA was able to mitigate NaCl-induced oxidative stress, as also evidenced by fluorescence microscopy. Simultaneously, HA was also able to reduce NaCl-induced excessive accumulation of sodium content in cultivar Radegast.

Keywords: salinity, humic acids, barley, growth parameters, osmotic stress

OBSAH

ÚVOD.....	9
1 CÍLE PRÁCE.....	11
2 LITERÁRNÍ PŘEHLED	12
2.1 Historie, význam a postavení ječmene.....	12
2.2 Další možné využití ječmene	13
2.3 Užitkové směry	14
2.3.1 Sladovnický ječmen.....	14
2.4 Požadavky na podmínky prostředí a rajonizace pěstování	15
2.5 Efekt abiotických stresorů na ječmen	17
2.5.1 Salinita půdy	18
2.5.2 Vliv salinity půdy na rostliny.....	20
2.5.3 Faktory ovlivňující toleranci plodin k zasolení půdy	21
2.6 Půdní humusové látky	24
2.6.1 Rozdělení huminových látek	25
2.6.2 Tvorba huminových látek	28
2.6.3 Extrakce huminových látek	29
2.6.4 Vliv huminových látek na rostliny.....	31
3 MATERIÁL A METODIKA	34
3.1 Rostlinný materiál a experimentální design.....	34
3.2 Přehled použitých metodik.....	37
4 VÝSLEDKY A DISKUZE.....	45
4.1 Vliv použitých druhů solí na vybrané fyziologické parametry různých kultivarů ječmene jarního.....	45
4.2 Vliv NaCl a Na ₂ SO ₄ na parametry klíčivosti vybraných kultivarů sladovnického ječmene	47

4.3	Změny obsahu sodíku a dalších minerálních prvků u ječmene jarního exponovaného NaCl a Na ₂ SO ₄	48
4.4	Vliv různých druhů huminových látek aplikovaných v odlišných dávkách na rostliny ječmene jarního exponované NaCl	51
4.5	Vliv huminových kyselin a NaCl na metabolické odpovědi hydroponicky kultivovaného ječmene jarního cv. Radegast.....	53
4.5.1	Vliv na vybrané fyziologické parametry	53
4.5.2	Vliv na změny obsahu vybraných minerálních prvků	56
4.5.3	Vliv na změny obsahu volných aminokyselin	58
4.5.4	Vliv na změny obsahu fenolových kyselin	58
4.5.5	Vliv na změny obsahu organických kyselin	59
4.5.6	Vliv na tvorbu ROS a oxidu dusnatého	64
4.5.7	Vliv na změny obsahu neenzymatických antioxidantů.....	65
4.5.8	Vliv na změny aktivit antioxidantních enzymů	69
5	ZÁVĚR.....	73
6	POUŽITÁ LITERATURA	75
7	SEZNAM TABULEK A OBRÁZKŮ	89
8	SEZNAM ZKRATEK	92
9	SEZNAM PŘÍLOH	93

ÚVOD

V současnosti jsou zemědělské plodiny vystavovány nepřehlednému množství různých abiotických a biotických stresorů. Hlavním abiotickým stresorem, který je schopen výrazně omezit celosvětovou zemědělskou produkci a rozšiřování plodin, je salinita (Jin a kol., 2009; Zhani a kol., 2012). Příčinou salinity je zvýšená aktivita celé řady různých rozpustných solí v půdním roztoku (Munns, 2005). Za hlavního původce salinity je ovšem považován chlorid sodný. Zasolení postihuje více než deset procent orné půdy a rychle se stává významným faktorem ohrožujícím životní prostředí v globálním měřítku. Zasolení je způsobováno celou řadou různých solí, ovšem hlavním původcem salinity je chlorid sodný (NaCl).

Mnoho rostlinných druhů je na výskyt solí v půdě vysoce citlivých (Szalai a Janda, 2009). Reakce, kterou salinita u rostlin vyvolává, je velmi komplexní a zahrnuje změny v jejich morfologii a fyziologii (Masood a kol., 2012). Příkladem působení solí na rostliny mohou být snížení klíčivosti, retardace růstu, potlačení rozvoje nadzemní biomasy, zvýšení intenzity dýchání, iontová toxicita, ale také změny v distribuci živin (Bazrafshan a Ehsanzadeh, 2014; Masood a kol., 2012). Kromě fyziologických změn je salinita v rostlinách zodpovědná za tvorbu reaktivních kyslíkatých částic (ROS), které vedou u rostlin k porušení oxidační rovnováhy a jsou příčinou oxidačního stresu rostlin. Nadměrná produkce ROS způsobuje v rostlinných tkáních nezvratná metabolická poškození včetně fotosyntézy, syntézy bílkovin a poškození lipidového metabolismu (Zhani a kol., 2012; Radl a kol., 2013). Faktory, na kterých závisí míra poškození rostliny, jsou dány vývojovou fází růstu a rostlinným druhem (Jamal a kol., 2011).

Ječmen (*Hordeum vulgare* L.) je široce rozšířenou obilninou pěstovanou převážně v sušších až středně suchých oblastech, kde je poté využíván jako píce ke krmným účelům nebo jako obilovina v potravinářské výrobě, především pak k výrobě sladu (Al-Karaki, 2001). Ječmen je považován za k přítomnosti solí tolerantní pícninu a vysoce tolerantní obilí, přesto nalezeneme mezi kultivary značné rozdíly (Walia a kol., 2006; Yousfi a kol., 2009; Cramer, 2003). Podle podobnosti ječmene s jinými zástupci čeledi Poaceae (lipnicovití), nejcitlivějším stádiem vývoje ječmene k salinitě je samotný vegetativní růst, zejména pak fáze klíčení a fáze mladých listů, při kterých je retardace růstu omezována nejvíce (Cha-um a Kirdmanee, 2009). Nicméně účinek salinity,

který vyvolává primární poškození, se u obou zmíněných vývojových fází liší. Zatímco poškození mladých listů je dáváno do souvislosti s iontovou toxicitou, fáze klíčení je ovlivňována změnami osmotického potenciálu. Tolerance ječmene k salinitě půdy narůstá až se stárnutím rostliny a tvorbou nesčetných obranných mechanismů (Walia a kol., 2006).

Samotné pěstování kulturních plodin na zasolených půdách závisí nejen na využívání vysoce odolných geneticky upravených kultivarů a hledání nových metod v oblasti mechanizace, ale také na zlepšování vlastností orné půdy. Jednou z možností k zajištění ochrany půdy je její obohacování o organickou hmotu, která pozitivně ovlivňuje její chemické, fyziologické a biologické vlastnosti. Půdní organická hmota nemá konkrétní chemické složení, ovšem jejími hlavními složkami jsou humíny, huminové a fulvonové kyseliny (Gulser a kol., 2010). Všechny uvedené složky lze souhrnně označovat jako tzv. huminové látky. Chemické složení, struktura i zastoupení funkčních skupin se u huminových látek může značně lišit. Tato rozmanitost závisí především na původu huminových látek a podmínkách humifikačního procesu (Chen a kol., 2007).

Huminové látky aplikované do půdy jsou schopny zlepšovat fyziologický stav rostlin, zejména v důsledku zvyšování permeability buněčných membrán, a indukovat řadu nezbytných biochemických a metabolických procesů rostlin, jako jsou například dýchání a fotosyntéza (Gulser a kol., 2010; Zandonadi a kol., 2013; Haighighi a kol., 2013).

1 CÍLE PRÁCE

Disertační práce s názvem „Úloha huminových látek ve zmírňování negativních dopadů působení solí na rostliny ječmene jarního“ je rozdělena do dvou základních celků tzv. teoretické a praktické části. Pro každou z těchto částí jsou stanoveny cíle, které jsou následně v práci plněny.

Cíle teoretické části práce

- vypracovat literární rešerši zabývající se ječmenem jako pokusnou plodinou;
- zpracovat téma salinity jako významného stresového faktoru rostlin;
- vytvořit literární přehled o problematice huminových látek, jejich vzniku a vlivu na rostliny.

Cíle praktické části práce

- posoudit vliv vybraných sodných solí na fyziologické parametry rostlin ječmene jarního a změny obsahu vybraných minerálních prvků;
- stanovit parametry klíčivosti různých kultivarů ječmene jarního vystavených působení vybraným sodným solím při různém pH kultivačního roztoku;
- posoudit tvorbu reaktivních kyslíkatých částic v kořenových špičkách vybraných kultivarů ječmene jarního vystavených působení NaCl;
- vybrat vhodný kultivar ječmene jarního pro následné posouzení vlivu huminových látek na rostliny pěstované v přítomnosti vyšších koncentrací solí;
- posoudit účinky různých druhů huminových látek aplikovaných spolu s NaCl v různých koncentracích na fyziologické parametry rostlin ječmene jarního a obsah sodíku, draslíku a vápníku v listové části těchto rostlin;
- vybrat vhodnou huminovou látku pro následné posouzení metabolických odpovědí rostlin ječmene jarního;
- posoudit vliv huminových látek na rostliny ječmene jarního vystavených působení NaCl;
- porovnat vliv huminových látek aplikovaných foliárně a hydroponicky na NaCl-exponované rostliny.

2 LITERÁRNÍ PŘEHLED

2.1 Historie, význam a postavení ječmene

Kulturní ječmen je druhou nejstarší pěstovanou plodinou. Z archeologických vykopávek vyplývá, že ječmen byl pěstován na území Íránu již 8000 let př. n. l. (Curtis a kol., 2014). První písemné zmínky o ječmeni můžeme vystopovat do oblasti Egypta, kde již v 8. století př. n. l. byl ječmen využíván jako kulturní plodina a používán jako potravina, krmivo pro monogastrická zvířata, ale i jako léčivá rostlina s protizánětlivými a antiseptickými účinky (Zimolka, 2006). V minulosti byly osevní plochy střední Evropy osety převážně víceřadými ječmeny, od novověku již převažuje pěstování kulturně mladšího dvouřadého ječmene (Dreslerova a Kocar, 2013).

Ječmen setý (*Hordeum vulgare* L., Poaceae) je na našem území pěstován jako chlebovina od roku 500 let př. n. l. Až později začal vytlačovat při výrobě sladu široce využívanou pšenici. K rozkvětu sladovnictví došlo až v 70. letech 19. století. Pro šlechtění ječmenů byly vybrány hanácké ječmeny, které se vyznačovaly vysokou hmotností zrna, mírným a vyrovnaným odnožováním a většími, vyrovnanějšími zrny s jemnými pluchami, které pevně přisedaly ke kláskovému věténku (Janova a kol., 2011; Dreslerova a Kocar, 2013).

V roce 1921 již bylo na našem území dvacet jedna šlechtitelských podniků. K úpadku sladovnictví došlo během druhé světové války, kdy se u nás pěstovaly převážně zahraniční, méně vhodné odrůdy. Po roce 1950 se u nás rozšířila špičková odrůda ječmene jarního Valtický, která zaujímala až 50 % všech osevních ploch. K nejvýznamnějším šlechtitelským stanicím současnosti patří Plant Select v Hrubčicích na Hané. Tento region patří díky kvalitním půdám a klimatickým podmínkám k nejlepším a nejvhodnějším pro pěstování sladovnického ječmene v České republice. Cílem šlechtění jarních ječmenů jsou sladovnické odrůdy s vysokou sladovnickou kvalitou a velmi dobrými pěstitelskými a agronomickými vlastnostmi (Zimolka, 2006).

V současnosti je ječmen po pšenici druhou nejpěstovanější obilninou na světě (Mrizová a kol., 2014). V České republice je pěstována asi na 550 tisících ha (Dreiseitl and Jurečka, 1996, ČSÚ 2003). V roce 2013 byl ječmen jarní vyset na plochu 242,7 tisíc ha při výnosu zrna 4,73 t·ha⁻¹. Obecně lze konstatovat, že výnosový nárůst a jeho mírná

meziroční kolísavost mezi lety 2003 a 2013 je dána zúžením sortimentu vhodných předplodin pro pěstování ječmene (Váňová, 2014).

2.2 Další možné využití ječmene

Největší perspektivou z hlediska pěstitelско-šlechtitelského a ječmenářského výzkumu je využití ječmene ve sladovnictví a při výrobě českého i zahraničního piva (Dong a kol., 2015). Značně odlišná technologie pěstování ječmene je používána při pěstování této zemědělské plodiny na jaderné krmivo pro hospodářská zvířata. K přímému zkrmování se využívá nejen ječmen v podobě jaderného krmiva, ale i ječný odpad z průmyslového zpracování obilí. Nejvíce se využívají mláto (tuhé zbytky po filtraci piva), zkrmující se mléčným plemenům skotu, a sladový květ (suché kořínky sladu), který je nejcennějším odpadem při zpracování sladu a je vhodné ho přidávat do krmných dávek nejen skotu, ale i rostoucím koním či laktujícími klisnám (Philippeau a kol., 2014; Jo a kol., 2014). V krmivářském průmyslu lze využít i ječné otruby jakožto nosiče pro nízké dávkované komponenty krmných směsí a zbytky při zpracování ječmene na kroupy, tzv. ječné omelky. Obě zmíněné komponenty se vyznačují vysokým podílem vlákniny, ale nízkou výživovou hodnotou (Janová a kol., 2011).

Ječmen se kromě krmivářského průmyslu uplatňuje i v průmyslu potravinářském. Hlavními produkty určenými pro lidskou výživu jsou alkoholické nápoje jako pivo a whisky (Dong a kol., 2015; Zhang a kol., 2013). Ve starších dobách se často vyrábělo ječné víno, rozmanité nealkoholické nápoje a čaje ve formě ječných výluhů. K dalším nealkoholickým nápojům patří i pražené ječné obilky využívané jako kávoviny (Heo, 2014). Jen malá část ječmene je využívána k potravinářským účelům, především se jedná o kroupy, které jsou ve východní Evropě používány jako zavářka do polévek a při přípravě dušených pokrmů. Díky extruzním technologiím je možné vytvořit i ječnou mouku, vločky, extrudované výrobky či pražené extrudované vločky. Typickým pokrmem v arabských zemích jsou ječná kaše a ječné placky. V posledních letech je zajímavou aplikací ječmene jeho využití při výrobě těstovin a pekařských výrobků (např. vícezrný ječný chléb) (Mariotti a kol., 2014).

Další možnosti využití ječmene přináší škrobářský a chemický průmysl, jehož produkty mají široké uplatnění. Ječmen je používán i pro průmyslové zpracování v droždárnách a při výrobě léčiv (léčebné zábaly). V kosmetickém průmyslu se s ním můžeme setkat ve formě extraktu, jenž bývá součástí pleťové vody, šampónů

a sprchových gelů. Ječmen nachází své uplatnění i při šlechtění nových druhů obilnin (*Tritordeum*) a v genovém inženýrství při tvorbě geneticky modifikovaných plodin (Mrizková a kol., 2014; Vamadevan a Bertoft, 2015).

2.3 Užitkové směry

Možnost využití ječmene, jak na produkci biomasy, tak na zrno, s sebou přináší zvýšení požadavků na kvalitu obou surovin, odpovídající morfortyp rostliny a optimální organizaci porostu. Pro zvýšení produkce je předpokladem pěstování kvalitních odrůd a šlechtění odrůd nových, které by zmíněným požadavkům vyhovovaly. Podle následného využití v průmyslu se ječmen řadí do následujících užitkových směrů:

- sladovnický;
- krmný;
- průmyslový;
- pícninářský (Zimolka, 2006).

2.3.1 Sladovnický ječmen

Sladovnický ječmen může být pěstován jako jarní nebo ozimý podle doby odnožování. Ve střední Evropě převažuje jarní varianta, v západní Evropě se pěstuje jako ozimý. Běžně lze odrůdy ječmene dělit podle bodového hodnocení ukazatele sladovnické jakosti, který se řídí kritérii jako obsah bílkovin, podíl předního zrna, obsah β -glukanů, zvýšená klíčivost aj. Zpracovatelé ječmene poté zařazují příslušnou odrůdu mezi sladovnickou či nesladovnickou. Pro přiřazení ke sladovnickým odrůdám musí ječmen získat minimálně 4 body. Jakost odrůdy je ze dvou třetin ovlivněna vnějšími podmínkami (půda, počasí, agrotechnika), zbytek tvoří vliv odrůdy. Podle ranosti lze rozdělit odrůdy na rané, středně rané, polopozdní a pozdní (Černý a kol., 2007; Zimolka, 2006).

2.3.1.1 Vybrané sladovnické odrůdy

Xanadu

Xanadu je středně raná odrůda ječmene registrovaná v České republice od roku 2006. Jejím udržovatelem je NORDSAAT Saatucht GmbH. Rostliny této odrůdy se vyznačují středním vzrůstem a tvorbou středně velkých až velkých zrn s vysokým

podílem předního zrna. Zdravotní stav porostů je dobrý. Odrůda je středně odolná vůči poléhavosti, odolná vůči chorobám jako padlí travní (*Blumeria graminis*, syn. *Erysiphe graminis*), středně odolná proti komplexu hnědých skvrnitostí (*Pyrenophora teres*) a napadení rhynchosporiovou skvrnitostí (*Rhynchosporium secalis*). Předností odrůdy Xanadu je vysoký výnos zrna ve všech výrobních oblastech a téměř žádná pěstební rizika (Saaten Union, 2007).

Bojos

Bojos je polopozdní odrůda ječmene jarního registrovaná v České republice roku 2005. Jeho rostliny se vyznačují středně vysokým až vysokým růstem, střední odolností proti poléhání. Zrno je středně velké a podíl předního zrna je středně vysoký. Zdravotní stav rostlin je dobrý, odrůda je středně odolná vůči komplexu hnědých skvrnitostí a vysoce odolná vůči padlí travnímu. Předností této odrůdy je vysoký až velmi vysoký výnos zrna v kukuřičné oblasti, při současně vysokém výnosu zrna v ostatních výrobních oblastech. Pěstebním rizikem odrůdy je vyšší citlivost vůči napadení rhynchosporiovou skvrnitostí. Udržovatelem odrůdy Bojos je Limagrain Central Europe Cereals, s.r.o. (Limagrain Central Europe Cereals, 2005).

Radegast

Radegast je polopozdní odrůda registrovaná v České republice od roku 2007 a jeho udržovatelem je rovněž Limagrain Central Europe Cereals, s.r.o. Středně vysoké rostliny této odrůdy jsou velmi odolné vůči poléhavosti. Zrna této odrůdy jsou velká, s vysokým podílem předního zrna. Rostliny jsou také odolné vůči houbovým chorobám jako padlí travní, velmi odolné proti komplexu hnědých skvrnitostí a napadení rhynchosporiovou skvrnitostí. Předností této odrůdy je vysoký výnos zrna ve všech výrobních oblastech. Jediným pěstebním rizikem u odrůdy Radegast je vyšší náchylnost ke rzi ječné (*Puccinia hordei*) (Limagrain Central Europe Cereals, 2005).

2.4 Požadavky na podmínky prostředí a rajonizace pěstování

Požadavky na pěstování ječmene se nijak neliší od požadavků kladených na pěstování jiných druhů obilnin. Samotný ječmen nemá striktně vyhraněné požadavky na pěstování, lze ho pěstovat ve velmi rozdílném prostředí. Můžeme se s jeho pěstováním setkat ve všech klimatických pásmech. Tato chladnomilná plodina je

pěstována na jaře a v létě v mírných oblastech, ale také v zimě v tropických a subtropických oblastech. Tolerance k chladnějším klimatickým podmínkám je nižší než u pšenice (*Triticum aestivum*), žita (*Secale cereale*) nebo triticales (*Triticosecale*). Druhy, tvořící menší obilky, jsou velmi dobře adaptovatelné na chlad, větší sucho i zasolení půdy. Jarní typy ječmenů jsou k chladu tolerantnější (Poehlman, 1985).

Ječmen je plodinou pěstovanou na mírně zasolených půdách, jelikož se vyznačuje vyšší tolerancí k salinitě než pšenice, což také vysvětluje jeho pěstování v oblastech Mezopotámie 5000 lety př. n. l. V takovýchto sušších oblastech lze pěstovat vyjma ječmene i pšenici tvrdou (*Triticum durum*) (Dreslerová a Kocar, 2013).

Rozdíly lze pozorovat i mezi jednotlivými užitnými směry ječmene, u kterých jsou vyžadovány odlišné znaky zrna i jakostní parametry. Těchto odlišností lze dosáhnout při dodržování vhodných agroekologických podmínek pěstování, přičemž ječmen je obecně na tyto podmínky nejnáročnější plodinou. Ječmen jarní lze pěstovat ve všech rajonech s většími či menšími úspěchy. V řepařských oblastech vyznačujících se černozeměmi, hnědozeměmi a půdami sprašového charakteru při nadmořské výšce 250 m n. m. je výtěžnost pěstovaného ječmene nejvyšší. Tato skutečnost je dávana do souvislosti s pěstováním cukrové řepy (*Beta vulgaris* var. *Altissima*) jakožto nejvhodnější předplodiny pro pěstování sladovnického ječmene. Ve významných řepařských oblastech, jako jsou Polabí a Haná, zaujímá ječmen nejrozsáhlejší osevní plochy. Ječmen je poměrně rozšířen i v kukuřičné oblasti, kde je pěstován s výjimkou extrémně suchých a teplých rajónů, kde hrozí zaschnutí rostlin, nižší výnosy a snížená jakost zrna. Další oblastí pěstování ječmene je obilnářská oblast, kde ovšem hrozí nebezpečí nevyrovnané jakosti zrna. Nejméně vhodnou pro pěstování sladovnického ječmene je oblast bramborářská, která je pak hojně využívána k pěstování ječmene pro krmné, potravinářské a průmyslové účely (Zimolka, 2006).

Ječmen jarní je velmi citlivý na kyselou půdní reakci a na utužení půdy, na niž rostliny reagují zakrněním, vadnutím a snížením celkové vitality porostu. Na těchto půdách dochází k rapidnímu snížení výnosu a zhoršení užitné jakosti. Z tohoto důvodu je nutné vyloučit stanoviště s výskytem kyselých dešťů. Pokud rostliny pěstujeme na acidní půdě s pH = 4,5 – 6,5, je nutné použít opatření ke zlepšení pH půdy. Vápnění půdy a listová výživa vápníkem jsou ve výrobních oblastech typickými řešeními pro kyselé půdy. Pro pěstování sladovnického ječmene je typické pH

v kukuřičné a řepařské oblasti 6,2 – 7,2, v obilnářské a bramborářské oblasti pak pH 5,8 – 6,2 (Curaqueo a kol., 2014; Zimolka, 2006; Michalovicz a kol., 2014).

Ječmen není vhodné pěstovat v oblastech s výskytem ranní mlhy a silné rosy, které mohou spolu s nízkými ranními teplotami podporovat tvorbu zahnědlých špiček, zvyšovat úroveň zaplevelení porostu a rozvoj houbových chorob. Pro zajištění kvalitního a zdravého stavu porostu a zrna je nezbytné pěstovat rostliny ve vhodných půdních i klimatických podmínkách. Kvalita a výnos zrna ječmene jsou tedy ovlivněny jak půdními vlastnostmi, tak klimatickými podmínkami (Zimolka, 2006).

2.5 Efekt abiotických stresorů na ječmen

Nejvýznamnějšími abiotickými stresovými faktory ovlivňujícími ječmen i ostatní zemědělské plodiny jsou půdní salinita, sucho, nedostatek živin a toxicita některých prvků. Sama salinita je celosvětově rozšířeným problémem, který ovlivňuje bezmála 100 zemí a okolo 800 milionů hektarů zemědělské půdy, což odpovídá asi šesti procentům veškeré půdy (Munns a Tester, 2008). Sucho je velmi neurčitý pojem, na který lze pohlížet hned z několika úhlů. V podstatě se jedná o nedostatek vody v atmosféře, půdě či rostlinách. Tento nahodilý jev vyskytující se nepravidelně v obdobích s podprůměrnými srážkami způsobuje u ječmene i jiných plodin deficienci vody vedoucí k buněčné dehydrataci a nekontrolovatelné produkci reaktivních kyslíkatých částic (ROS) podílejících se na vzniku oxidačního stresu, poškození enzymů a buněčných struktur, uzavření stomat, omezení rychlosti růstu rostliny a výnosu zrna (Gill a Tuteja, 2010).

Rozšiřující se negativní dopady environmentálních stresů vedou stále k větší potřebě zkoumat fyziologické, biochemické a molekulárně biologické aspekty odpovědi rostlin na tyto stresory (Manai a kol., 2014). V důsledku vystavení abiotickým stresorům si samy rostliny dokáží vytvářet účinné obranné mechanismy jako ochranu proti jejich škodlivému působení. Vytvářením tolerance k daným stresorům dochází ke značné vnitrodruhové genetické diverzitě, která se projevuje v aktivaci řady genů regulujících signální a regulační mechanismy rostlin, jež se mohou ve svém důsledku projevovat na úrovni ovlivnění funkce příjmu minerálních látek a jejich transportu, osmotické rovnováhy, aktivity chaperonů a jiných ochranných funkcí (Munns a Tester, 2008; Atkinson a Urwin, 2012).

2.5.1 Salinita půdy

Pojem salinita je definován jako míra zasolení půdy vznikající nežádoucím zvýšením obsahu rozpustných solí v půdě, která vede ke zhoršení fyzikálně-chemických vlastností půdy a sekundárně tak působí na omezování příjmu vody z půdního roztoku rostlinami. Salinita je sama o sobě známkou dehydratace půdy (Munns, 2005). Za zasolené půdy jsou považovány půdy s elektrickou vodivostí půdního extraktu větší než $4 \text{ dS}\cdot\text{m}^{-1}$. Tyto fyziologicky suché půdy vzniklé v důsledku zvýšené osmotické vazby vody obsahují minimálně $2,6 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ rozpustných solí. Podle druhu obsažených solí lze rozlišovat půdy s vysokými koncentracemi draselných (K^+), hořečnatých (Mg^{2+}), vápenatých (Ca^{2+}), chloridových (Cl^-), síranových (SO_4^{2-}), uhličitanových (CO_3^{2-}), hydrogenuhličitanových (HCO_3^-) a sodných (Na^+) iontů (Khaled a Fawy, 2011). Hromadění sodíku se rovněž nazývá sodifikace. K salinizaci půdy dochází vlivem hromadění solí ve svrchní části půdy, jejími příčinami jsou vlivy přírodní a antropogenní.

a) přírodní činitelé ovlivňující salinizaci (tzv. primární salinizace):

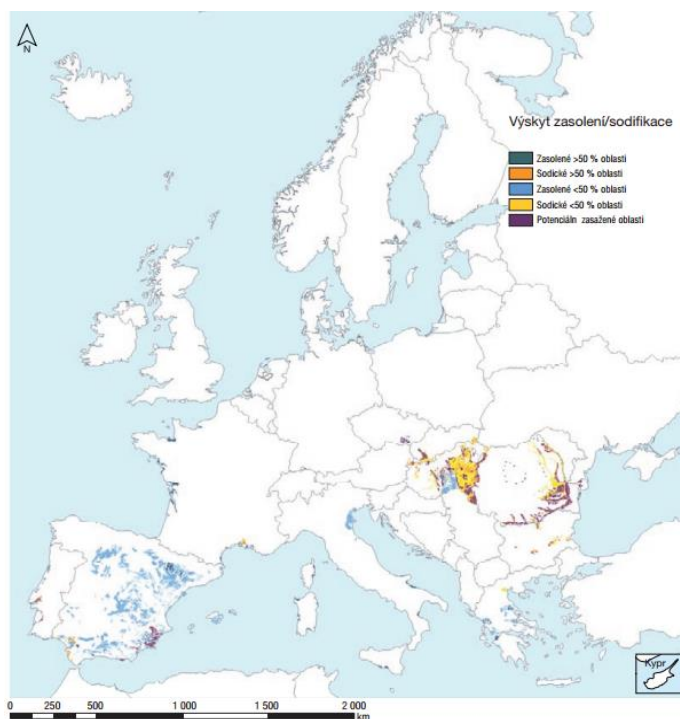
- půdní faktory:
 - vnější a vnitřní geologické jevy odpovídající za nárůst koncentrace solí ve vodě a následně i v půdě (Douaik a kol., 2008);
 - vysoký obsah solí v mateční hornině (Allbed a kol., 2014);
 - prosakování podzemní vody na povrch s redukováným odparem (Allbed a kol., 2014);
- klimatické faktory:
 - faktory přivádějící vodu bohatou na soli na povrch půdy (např. nadměrný výpar vody z půdy) (Tavakkoli a kol., 2012);
 - větrem zaváté soli z pobřežních oblastí do vnitrozemí (Douaik a kol., 2008);
 - krajinný pokryv, vegetační stupňovitost a topografie reliéfu krajiny (Allbed a kol., 2014).

b) antropogenní činitelé přispívající k salinizaci (tzv. sekundární salinizace):

- zavlažování vodou s vysokými obsahy solí (Douaik a kol., 2008);

- lidskou činností způsobené zvýšení hladiny podzemní vody (vsakování z neopevňených nádrží, nevhodné zavlažovací postupy, nesprávné odvodňování aj.) (Douaik a kol., 2008);
- nadměrné využívání podzemní vody pro zavlažování, průmysl a lidskou spotřebu v přímořských oblastech vedoucí k průsakům vody mořské (Douaik a kol., 2008);
- nevhodné hnojení a aplikace zakázaných látek na půdy v oblastech intenzivní zemědělské produkce (Kume a kol., 2007);
- kontaminace půdy produkty obsahující vysoké koncentrace solí a odpady z průmyslu (Douaik a kol., 2008).

Salinizace, jakožto nežádoucí proces s širokosáhlými následky, postihuje okolo 1–3 milionů ha půdy na evropském kontinentu. V Evropě se zasolené půdy vyskytují hojně ve státech jako Maďarsko, Rumunsko, Řecko, Itálie a státy Pyrenejského poloostrova, kde převládají vysoké teploty s malým úhrnem ročních srážek. Významným původcem zasolení půd je v dnešní moderní době i aplikace posypových solí a jejich následná kumulace v okolní krajině, čímž dochází k lokálnímu zasolení.



Zdroj: Tóth a kol. (2008)

Obr. 1 Oblasti výskytu zasolení a sodifikace v Evropě.

Snahou zemědělců je snížení rizik plynoucích ze zasolování půdy, mezi které patří snížení kvality půdy, redukce vegetačního pokryvu a výraznější vodní a větrná eroze. Tento v aridních, semiaridních a subhumidních oblastech častý jev vede ve svém důsledku až k tzv. desertifikaci, vyznačující se snížením úrodnosti půdy, která přechází přes naprosté zničení půdní struktury a ztuhnutí půdy až k tvorbě půdní krusty na povrchu půdy (Salvati a Ferrari, 2015; Gunal a kol., 2015).

2.5.2 Vliv salinity půdy na rostliny

Zvyšováním koncentrací solí v půdě je negativně ovlivněna nejen tvorba biomasy, ale také výnos plodin (Ashraf a Fooland, 2007). Vlivem přirozených a antropogenních činitelů dochází k omezení příjmu vody a živin z půdního roztoku a rostlina tak postupně dehydruje. Mnoho rostlin není schopno se takovýmto podmínkám přizpůsobit. Salinitu v půdě lze změřit pomocí stanovení elektrické vodivosti směsi vody s půdou. Podle elektrické vodivosti půdního roztoku a jeho účinků na výnos polních plodin lze rozdělit půdy podle obecné systematiky na půdy, kde:

- $0 - 2 \text{ dS}\cdot\text{m}^{-1}$ rostliny prospívají bez problémů;
- $2 - 4 \text{ dS}\cdot\text{m}^{-1}$ citlivější rostliny neprospívají;
- $4 - 8 \text{ dS}\cdot\text{m}^{-1}$ většina rostlin neprospívá;
- $8 - 16 \text{ dS}\cdot\text{m}^{-1}$ jen některé rostliny přežívají;
- $> 16 \text{ dS}\cdot\text{m}^{-1}$ téměř žádné rostliny zde nežijí (Zimolka, 2006).

Vysoká úroveň salinity půdy vyvolává úhyn rostlin jednak vinou osmotického stresu a jednak toxickým účinkem obsažených solí. Dochází-li k těmto účinkům současně, mají mnohem dramatičtější vliv, než kdyby působily odděleně. Zasolené půdy jsou preferovány halofyty, mezi které patří mimo jiné i sukulentní rostliny. Hromadění solí v půdě, zejména pak solí sodíku, je jednou z hlavních fyziologických hrozeb pro všechny druhy ekosystému. Zasolením zemědělské půdy dochází ke snížení její úrodnosti a ztrátě schopnosti podporovat růst rostlin a živočichů.

Na úrovni rostlinných těl je fyziologické sucho zodpovědné za buněčnou dehydrataci, nerovnováhu vodního potenciálu mezi vnitřním prostředím buňky a okolním půdním roztokem, redukcí turgoru (Zimolka, 2006), snížení osmotického potenciálu vlivem schopnosti rostliny akumulovat Na^+ a Cl^- ionty. Vysoká koncentrace iontů v půdním roztoku vede k inhibici příjmu minerálních látek rostlinami,

dezintegraci cytoplazmatické membrány, inaktivaci a degradaci cytoplazmatických enzymů, inhibici energetického metabolismu buňky (ATP syntéza, respirace), sacharidového a lipidového metabolismu, syntézy proteinů, hormonů (např. jasmonová, gibberelinová a abscisová kyselina) a sekundárních metabolitů (Marschner, 2005; Kosová a kol., 2013; Jaarsma a kol., 2013).

U běžných rostlin akumulace sodíkových iontů v listech vede k méně efektivní fotosyntéze a tím pádem k nízké asimilaci uhlíku, která má vliv na obsah škrobu v zrnech a jejich celkový výnos. Salinita půdy je v nízkých koncentracích schopna způsobit ztrátu až 50 % na výnosu u kukuřice (*Zea mays*). Při mírné koncentraci může způsobit i 50% ztrátu na výnosu ovsu (*Avena sativa*), pšenice, žita a ječmene (Temel a Gozukirmizi, 2015).

Přítomnost vyšších koncentrací solí způsobuje u rostlin fyziologické změny. Zasolení se projevuje mimo jiné inhibicí dělení buněk a jejich růstu, redukováním růstem listů, který omezí fotosynteticky aktivní plochu listů, odumřením pletiv listů a poškozením kořenového systému. Postupně dochází tedy k oslabování rostliny a může dojít až k jejímu úhynu.

Při vystavení rostlin stresovým podnětům, jako jsou patogeny, poranění, sucho, chlad či salinita půdy, jsou schopny rostliny samy ovlivňovat expresi genů, proliferaci buněk, vývoj a jejich samotné přežití nebo přizpůsobení se podmínkám nového prostředí pomocí tzv. mitogenem aktivovaných proteinkináz (MAPKs). Šamaj a kol. (2014) zjišťovali účinnost MAPKs pomocí stresem indukovaných kináz při vystavení rostlin zasolené půdě.

2.5.3 Faktory ovlivňující toleranci plodin k zasolení půdy

Tolerance rostlin k zasolení půdy se liší v závislosti na použitém druhu a jeho odrůdě, ale také v závislosti na podmínkách prostředí. Ke změnám v toleranci k salinitě půdy může také docházet v rámci odlišných vývojových fází růstu konkrétního druhu plodiny (Zimolka, 2006).

a) vliv fáze růstu

Zdrojem salinity ve svrchním profilu půdy je zvýšený odpar půdní vody. Většina rostlin je na takovéto podmínky citlivá. Kritickým obdobím růstu, které je dáváno do souvislosti s vyšší koncentrací solí v půdním roztoku, je samotné klíčení semen.

Nicméně existují velké rozdíly v citlivosti klíčících semen k zasolení půdy. Příkladem senzibilnějších rostlin jsou fazole (*Phaseolus*) a cukrová řepa (*Beta vulgaris* var. *Altissima*), ve srovnání s nimi jsou tolice vojtěška (*Medicago sativa*) a ječmen výrazně tolerantnějšími rostlinami (Cha-um a Kirdmanee, 2009).

Aşik a kol. (2009) zkoumali toleranci zemědělských plodin k salinitě ve vztahu k fázi růstu rostliny a zjistili, že ječmen, pšenice a kukuřice reagují na přítomnost vyšších koncentrací soli v půdě obdobně jako rýže (*Oryza sativa*). Většina publikovaných prací týkajících se tolerance rýže k zasolení půdy ukazuje na její vysokou toleranci (až do 30 dS.m⁻¹). Citlivá je na zasolení pouze v počátečních fázích růstu, ale s věkem v průběhu odnožování tato tolerance roste. U rýže ovšem nelze posuzovat vztah salinity půdy ke klíčení zrna, jelikož na rozdíl od ostatních obilovin je rýže předpěstována v dobré půdě a až následně jsou 20 – 40 denní rostliny přesazeny do půdy méně vhodné. Tolerance rýže opět klesá ve fázi kvetení, což má za následek snížení výnosu zrna. Bylo zjištěno, že hmotnost slámy a celkový počet odnoží je obecně méně postižený než výnos zrna, jelikož vlivem salinity dochází ke snižování počtu produktivních odnoží rostliny a zvyšuje se počet sterilních klásků (Zimolka, 2006).

Další plodiny jako cukrová řepa nebo světlice barvířská (*Carthamus tinctorius*) jsou na rozdíl od obilovin k salinitě během fáze klíčení semen velmi citlivé, zatímco u sóje (*Glycine max*) senzibilita rostlin vůči salinitě v období klíčení a dozrávání závisí na odrůdě plodiny (Dogan a kol., 2011).

b) vliv prostředí

Klimatické podmínky jsou jedním z hlavních faktorů ovlivňujících odpovědi rostlin na salinitu půdy. Bylo zjištěno, že v půdě s elektrickou vodivostí 1dS.m⁻¹ došlo ke snížení výtěžnosti plodin až o 25 % ve srovnání s kontrolou, zejména pak v teplých a suchých místech. Většina studovaných druhů rostlin vykazala ve vlhčím a chladnějším prostředí vyšší toleranci k salinitě půdy. U sledovaných rostlin se tolerance měnila v chladnějších oblastech v pořadí cibule (*Allium cepa*) > cukrová řepa > fazole a na teplejším stanovišti v pořadí cukrová řepa > cibule > fazole (Zimolka, 2006). Podle Tacka a kol. (2015) došlo v období sucha k intenzivnějšímu poklesu výnosů jako odezvě na rostoucí zasolení. Na základě studie Ahmeda a kol. (2015) bylo zjištěno, že rostliny pěstované v teplejších oblastech, kde je výpar vody ze svrchních částech půdy

výraznější, je koncentrace solí v půdě vyšší, než je tomu v půdách se srovnatelnou elektrickou vodivostí půdního roztoku v oblastech chladnějších. Na základě těchto výsledků můžeme vysvětlit rozdílné odpovědi rostlin k zasolení v různých klimatických podmínkách.

Kromě výparu vody z půdy byla sledována i odezva rostlin k salinitě půdy vzhledem k úrovni znečištění ovzduší. Gerosa a kol. (2014) zjistili, že znečištění ovzduší může zvýšit zdánlivou toleranci rostliny k zasolení půdy. Zvýšení výnosu bylo pozorováno u *Triticum aestivum* pěstovaného na mírně zasolené půdě v oblastech postižených vyšším obsahem ozonu v atmosféře, kde za normálních okolností dochází k redukci růstu rostlin (Gerosa a kol., 2014). Tato zdánlivá tolerance je pozorována pouze u rostlin pěstovaných v nefyziologickém roztoku.

c) vliv odrůdy

Tolerance odrůd k salinitě půdy a k dalším nepříznivým podmínkám prostředí je předmětem současného výzkumu. Úsilím je využít genetický potenciál na soli tolerantnějších odrůd obilovin a pomocí šlechtitelských programů vytvořit takovou odrůdu, která by byla odolná vůči vyšším koncentracím solí v půdě a splňovala kritéria jakosti a současně přinášela vysoký výnos zrna. Nejpěstovanější obilovinou na světě je rýže, ta je často pěstována v přímořských oblastech, kde je pronikání solí z mořské vody do zemědělské půdy značným problémem. Z tohoto důvodu došlo u rýže k diferenciaci několika genotypů s extrémní tolerancí k zasolení ovšem s negativním dopadem na výnosový potenciál rostlin (Khan a kol., 2014). Některé z těchto genotypů byly posléze využity v šlechtitelských programech, které měly za cíl vytvořit vysoce produktivní linie s tolerancí k salinitě půdy. Podstatou nízkých výnosů plodin je tedy pěstování v zasolených oblastech nevhodných genotypů s nízkou tolerancí k salinitě.

V současnosti je proti salinitě půdy tolerantní pouze nově vyšlechtěná *Triticum durum*, která je ve své původní podobě jednou z citlivějších plodin. Nově objevený specifický gen, kterým pšenice disponuje, ovšem zohledňuje pouze toxicitu vysokého obsahu sodíkových iontů v půdě. Základ vývoje rezistentnějších odrůd ječmene vůči zasolení položili Zhou a kol. (2012) objevem pěti lokusů pro toleranci k salinitě na chromozomech 1H, 2H, 5H, 6H a 7H, které představují více než 50 % z fenotypové variability rostlin. Stejně tak byly objeveny i dvě oblasti na chromozomech H2 a H3,

kteře kontrolují obsah Na^+ a Cl^- iontů u počátečních vývojových stádií hydroponicky pěstovaného ječmene odrůdy Stephoe (Long a kol., 2013).

Úsilím šlechtitelských stanic v různých částech světa je zvýšit toleranci plodin k salinitě. Možností je využití polyploidů, které jsou vhodné pro problémové půdy. Testována je i tolerance rajčete, prosa (*Panicum miliaceum*), ječmenice (*Agropyrum elongatum*), listové zeleniny a ovocných stromů k pěstování na salinifikovaných půdách (Kosová a kol., 2014).

2.6 Půdní humusové látky

Půdní organická hmota vzniká odumřením rostlin a živočichů vyskytujících se v půdě a na jejím povrchu. Půdní organickou hmotu lze rozdělit podle průběhu humifikačního procesu na tzv. primární organickou hmotu, u které nedošlo k ukončení tohoto procesu, a podléhá proto snadno procesu mineralizace. Při mineralizaci dochází za příznivých teplotních a vlhkostních podmínek v rozmezí několika týdnů až několika let činností aerobních mikroorganismů k rozkladu této hmoty na jednoduché chemické látky (CO_2 , H_2O , NH_3 aj.). Mineralizačním procesem se ovšem mohou rozkládat i humifikované organické zbytky v různém stupni degradace, označované jako tzv. vlastní humus. Humusové látky jsou velmi stálé a odolné vůči humifikaci a z tohoto důvodu tento proces probíhá podle odhadů desetiletí až století (Gobat a kol., 2004).

Humifikace za tvorby pravého humusu probíhá v podmínkách střídání aerobního a anaerobního prostředí. Z meziproductů rozkladu organické hmoty jsou tvořeny nové látky vyznačující se vysokým podílem uhlíku, souhrnně označované jako tzv. huminové látky. Po chemické stránce obsahují ve své molekule huminové látky struktury aromatických kruhů. Tyto energeticky bohaté hnědě až černohnědě zbarvené organické dusíkaté polyfunkční sloučeniny se vyznačují koloidním a amfoterním charakterem, vysokou molekulovou hmotností a schopností vytvářet vazbu na minerální podíl půdy. Huminové a ulminové látky tmavohnědých až černých barev s vysokým obsahem uhlíku vznikají anaerobní činností bakterií v procesu rašelinění. Tento rozklad je velmi pomalý, neúplný a probíhá při kyselém pH, nízké teplotě a vysoké vlhkosti. Výsledkem rašelinění probíhajícího v extrémních podmínkách může být i vznik humusového uhlí.

Obecně lze huminové látky rozdělit podle jejich odlišného chemického složení na nespecifické a specifické. Nespecifické huminové látky jsou lehce rozložitelné a snadno mohou znovu vstupovat do humifikačního procesu. Řadíme zde organické

kyseliny, nukleové kyseliny, bílkoviny, peptidy, tuky, třísloviny, vosky, pryskyřice ad. Jejich přítomnost v půdě je nezbytnou podmínkou pro biologickou aktivitu. Oproti tomu specifické huminové látky se vyznačují vysokou odolností vůči mikrobiálnímu rozkladu. Jsou tvořeny komplexem vysokomolekulárních látek a celkově tvoří asi 65 – 70 % organické hmoty (Gulser a kol., 2010). Specifické huminové látky řadíme do skupiny polyfenolů a polykarboxylových kyselin. Jsou charakteristické žlutým, hnědým až černým zbarvením, kyselinovým charakterem a schopností vázat těžké kovy jak při komplexotvorných, tak při sorpčních procesech. (Steinberg a kol., 2006; Veselá a kol., 2005; Kaschl a Chen, 2005).

2.6.1 Rozdělení huminových látek

Huminové látky lze rozdělit dle několika hledisek. V současnosti je nejpoužívanějším dělením jejich rozdělení dle rozpustnosti v různých typech rozpouštědel:

- huminové kyseliny – rozpustné v zásadách a nerozpustné v kyselinách;
- fulvonové kyseliny – rozpustné v zásadách i v kyselinách;
- hymatomelanové kyseliny – rozpustné v etanolu;
- huminy a humusové uhlí (Skokanová a Dercová, 2008).

Všechny tyto látky se liší nejen svými vlastnostmi, ale také svou samotnou strukturou a molekulovou hmotností. Z této skutečnosti vychází teorie, dle které dochází s nárůstem molekulové hmotnosti ke změnám obsahu uhlíku a kyslíku, kyselosti a stupně polymerace (Obr. 2). Vysokomolekulární huminové kyseliny, vyznačující se vyšším obsahem uhlíku, obsahují méně kyslíku, nežli je tomu u nízkomolekulárních fulvonových kyselin. Jak již bylo zmíněno, tak i acidobazické vlastnosti huminových látek souvisí s jejich strukturou. Huminové kyseliny, které obsahují menší počet funkčních skupin kyselého charakteru, se tedy od fulvonových kyselin odlišují i výrazně nižší kyselostí (Veselá a kol., 2005).

Sinesi a kol. (1991) rozdělili huminové látky do pěti základních skupin dle jejich fluorescenční délky a relativní fluorescenční intenzity na pravěké soli huminových látek, huminové látky pocházející z rašeliny, jílu, vodních sedimentů, lužní půdy a hnědého uhlí, soli z jílových sedimentů a soli huminových látek pocházející z kompostů, hub a rašeliny. Do páté skupiny byly také zařazeny vlastní huminové a fulvonové kyseliny pocházející z kalů odpadních vod charakteristické $\lambda_{\text{emisní}} < 400 \text{ nm}$

s hlavním excitačním maximem okolo 390 nm a relativní fluorescenční intenzitou 4 – 13 (u huminových kyselin v rozmezí 1 – 7).

HUMINOVÉ LÁTKY				
Fulvonové kyseliny		Huminové kyseliny		Huminy
Světle žlutá	Tmavě žlutá	Tmavě hnědá	Šedočerná	Černá
Mění se odstín				
→				
Roste stupeň polymerace				
→				
Klesá rozpustnost				
→				
Roste molekulová váha				
→				

Zdroj: Stevenson (1994)

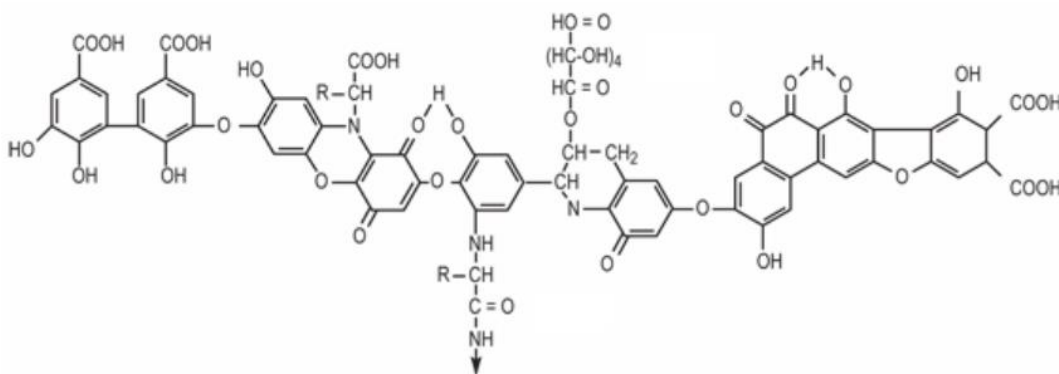
Obr. 2 Dělení huminových látek podle chemických vlastností.

2.6.1.1 Huminové kyseliny

Huminové kyseliny, jakožto nejhodnotnější produkty půdních humifikačních procesů, výrazně ovlivňují vlastnosti půdy (pufrovací schopnost, kationová výměnná kapacita aj.), které následně podmiňují její vlastní úrodnost (Rosa a kol., 2005). Mohou být získávány z celé řady zdrojů, včetně lignitů (hnědé uhlí), rašeliny, zeminy, kompostů a surovinorganických odpadů (Rose a kol., 2014).

Tyto tmavohnědě až šedočerně zbarvené organické látky lze charakterizovat jako aromatické sloučeniny fenolového nebo chinoidního charakteru obsahující ve své molekulové struktuře celou řadu cyklických i alifatických dusíkatých sloučenin s nejjednodušším hypotetickým sumárním vzorcem $C_{10}H_{12}O_5N$ (Stevenson, 1982). Díky postupnému rozvíjení metod řešící chemickou strukturu látek (infračervená a UV/VIS-spektrometrie, nukleární magnetická rezonance, spin elektronová rezonance, fluorescence a pyrolýzní plynová chromatografie) byla navržena celá řada hypotéz popisujících samotnou strukturu huminových kyselin (Milorí a kol., 2002; Rosa a kol., 2005). Nejznámější takováto hypotetická struktura byla navržena Stevensonem roku 1982 (Obr. 3). Pomocí stále se zdokonalujících instrumentálních metod bylo zjištěno, že huminové kyseliny jsou v roztoku schopné vytvářet smíšené agregáty obdobné micelám, jež jsou stabilizované slabými vazebnými interakcemi (Sutton a Sposito, 2005). Na základě posledních poznatků byl definován nový koncept prostorového uspořádání huminových kyselin, na které je tak nahlíženo jako na supramolekuly tvořené fragmenty relativně malých molekul (s $M_r < 1000$ Da), které jsou stabilizované

vazebnými interakcemi typu Waalsovy síly, vodíkové můstky, π - π a π -CH vazby (Piccolo a kol., 1993; Simpson, 2002).

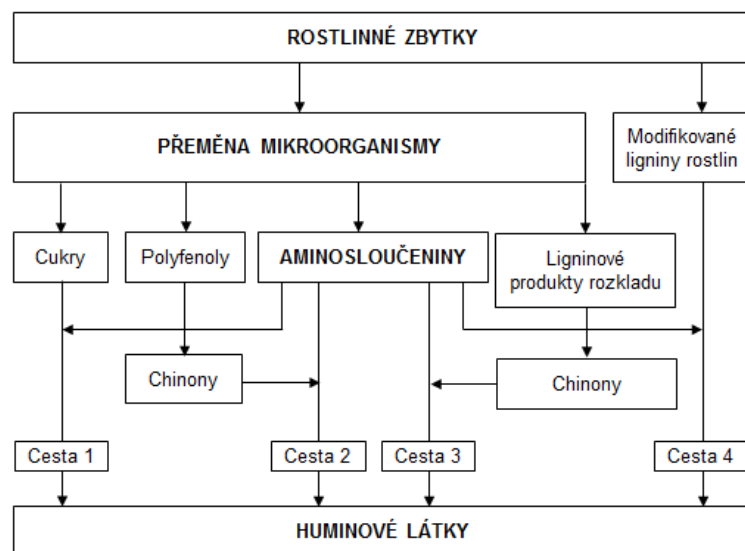


Zdroj: Ouni a kol. (2014)

Obř. 3 Hypotetický strukturní model huminové kyseliny dle Stevensonova (1982).

Znalost chemické struktury, respektive funkčního složení, je následně rozhodující pro stanovení chemických a chemicko-fyzikálních vlastností huminových kyselin, mezi něž patří kyselinový charakter, iontově-výměnné schopnosti, omezená nebo velmi slabá rozpustnost ve vodě (při $\text{pH} < 2$ nerozpustné), dobrá rozpustnost v hydroxidu sodném a roztocích hydrolyticky zásaditých solí, porézní stavba a vysoká sorpční schopnost ($350 - 500 \text{ mmol} \cdot 100\text{g}^{-1}$) (Chung a kol., 2005). Koagulační schopnost huminových látek se odvíjí od jejich zbarvení. Šedě zbarvené huminové kyseliny se srážejí přidávkem elektrolytu v alkalickém prostředí a vyznačují se silnou sorpční schopností s Ca^{2+} ionty, s nimiž tvoří neutrální humus. Oproti tomu hnědě zbarvené huminové kyseliny snadno s přidávkem elektrolytu koagulují a jsou základem pro kyselý nenasycený humus. Další neopomenutelnou, ale zdaleka ne poslední vlastností huminových kyselin je schopnost vytvářet organominerální komplexy, které se podílejí na kvalitním přísunu živin (Veselá a kol., 2005; Vrba a Huleš, 2006).

Výchozí chemické složení huminových kyselin je závislé na zastoupení čtyř základních stavebních prvků: uhlíku ($52 - 62 \text{ hm. } \%$), kyslíku ($31 - 39 \text{ hm. } \%$), vodíku ($2,8 - 5,8 \text{ hm. } \%$) a dusíku ($1,7 - 4,0 \text{ hm. } \%$). Elementární složení závisí především na složení původní organické matrice, půdním typu a podmínkách humifikace (Steinbüchl a Hofrichter, 2001). Tyto rozdíly jsou patrné zejména na úrovni hodnot obsaženého dusíku, které jsou nižší u geologických a vodních huminových kyselin (Tan, 2003).



Zdroj: Steinbüchel a Hofrichter (2001)

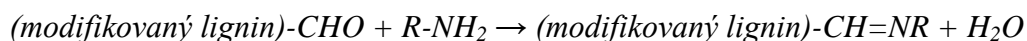
Obr. 4 Mechanismus syntézy huminových látek v půdách.

2.6.2 Tvorba huminových látek

Huminové látky jsou výsledkem mnoha biochemických reakcí, které jsou souhrnně označovány jako tzv. proces humifikace. Při humifikaci dochází k rozkladu organických biopolymerů odumřelých těl rostlin a živočichů v půdě (Obr. 4). Rostlinné a živočišné tkáně jsou tvořeny celou řadou organických sloučenin, které dávají v degračních a rekombinačních procesech humifikace vzniku širokému spektru různých molekul (Steinbüchel a Hofrichter, 2001).

2.6.2.1 Degradáční cesta humifikace

Za hlavní zdroj huminových látek v půdě je považován dle Waksmanovy „ligninové“ teorie z roku 1932 rostlinný lignin (Obr. 4; cesta 4). Při pozvolné degradaci rostlinných zbytků jsou plně rozloženy pouze labilní makromolekuly, přičemž stabilnější biopolymery zůstávají zachovány (lignin, kutin, suberin aj.) a mohou tak tvořit základní kostru huminových látek. Ne zcela degradovaný lignin může procházet dalšími modifikacemi, při kterých dochází ke ztrátě methoxylových (-OCH₃) skupin, vzniku hydroxylových skupin (-OH) oxidací postranních alifatických řetězců, ale také ke tvorbě karboxylových funkčních skupin (-COOH) štěpením jeho aromatických kruhů (Steinbüchel a Hofrichter, 2001). Celý proces je poté složen ze seskupování modifikovaných molekul ligninu s dusíkatými sloučeninami typu proteinů (obsahující -NH₂ skupiny) syntetizovaných mikroorganismy (Stevenson, 1994) podle rovnice:



2.6.2.2 Kondenzační cesta humifikace

Zde jsou za hlavní zdroj huminových látek považovány složité biopolymery, které jsou nejprve rozloženy na jednodušší molekuly, popř. až na své monomerní jednotky.

a) Amino-sacharidová teorie

Amino-sacharidová kondenzační teorie (Obr. 4; cesta 1) je založena na kondenzaci monomerů redukujících cukrů s aminokyselinami, které vznikají mikrobiálním rozkladem a degradací půdního organického materiálu (Jokic a kol., 2001). Následnou adicí aminoskupin (-NH₂) na karboxylové skupiny (-COOH) monosacharidu vznikají *N*-substituované glykosylaminy. Následnými reorganizacemi, cyklizacemi a dekarboxylacemi v molekule, dochází ke vzniku tří uhlíkatých kyslíkatých zbytků (glyceraldehyd, dihydroxyaceton), které mohou polymerizovat v přítomnosti aminokyselin za vzniku hnědě zbarvených produktů, svou strukturou podobných huminovým látkám (Steinbüchel a Hofrichter, 2001).

b) Polyfenolová teorie

Polyfenolová teorie zahrnuje jak polyfenolové látky, tak chinony odvozené od ligninu (Obr. 4; cesta 2 a 3). Tyto sloučeniny jsou z rostlinných zbytků nejčastěji syntetizovány pomocí mikroorganismů (Peña-Méndez a kol., 2005). Dochází zde k rozkladu rostlinných biomolekul na jejich monomerní jednotky, přičemž je lignin zbaven vazeb na celulózu a následně chemicky modifikován (oxidace, demetylace). Vzniklé polyfenoly jsou enzymatickou cestou přeměňovány na chinony reagující s *N*-sloučeninami a následně pak polymerují na huminové látky (Huang, 2000; Steinberg a kol., 2008). Z této teorie vyplývá, že nejdříve dochází k syntéze fulvonových a až poté huminových kyselin, nakonec pak samotných nerozpustných huminů (Stevenson, 1994).

2.6.3 Extrakce huminových látek

K izolaci huminových látek se používají nejrůznější rozpouštědla. Organický materiál ovšem obsahuje celou řadu anorganických a organických nečistot. K odstranění anorganických nečistot se nejčastěji používá přesrážení minerálními kyselinami

a následná úprava iontoměničem. Pro odstranění organických nečistot je vhodné použít hydrolýzu s minerálními kyselinami, gelovou filtraci nebo fenolovou extrakci (Stevenson, 1994).

2.6.3.1 Alkalická extrakce

Alkalická extrakce je nejčastěji používanou extrakční metodou pro separaci huminových látek. Použitá alkalická extrakční činidla by měla mít nízkou koncentraci -OH iontů, neboť jejich vyšší koncentrace by mohla způsobit štěpení huminových kyselin a přechod ještě nerozložených zbytků rostlin do roztoku. Pro vysokou výtěžnost extrakce (tj. odstranění CaCO_3) je vhodné nejdříve použít zředěnou HCl a až poté vlastní extrakční rozpouštědlo, kterým je v ideálním případě 0,1 – 0,5 M vodný alkalický roztok (nejlépe NaOH) a extrakci několikrát opakovat (Piccolo a kol., 1993). Výsledkem extrakce je získáno zhruba 75 hm. % organické hmoty (Gaffney a kol., 1996). Ovšem i tato metoda s sebou přináší řadu nevýhod, mezi které patří i poškození původní matrice, jež kontaminuje organický výtěžek, oxidace organických složek při styku se vzduchem (nutnost inertní atmosféry), rozpouštění složek rostlinných zbytků aj. (Stevenson, 1994). Na účinnost extrakce má vliv i samotná doba extrakce, která musí být pro zajištění optimální výtěžnosti dostatečně dlouhá, aby došlo k co největší výtěžnosti, ovšem s ohledem na nebezpečí štěpení původní matrice.

2.6.3.2 Neutrální „mírná“ extrakce

Jako náhradu klasické alkalické extrakce lze využít mírnějších a selektivnějších extrakčních metod, které využívají odlišná extrakční rozpouštědla. Mezi nejčastěji aplikovanými patří $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$, oxaláty alkalických kovů, směsi organických rozpouštědel a soli slabých organických kyselin (např. NaF). Nevýhodou těchto metod je nižší extrakční výtěžnost než 30 hm. % (Stevenson, 1994; Piccolo a kol., 1993).

2.6.3.3 Kyselá extrakce

Extrakci huminových látek lze také provádět v kyselém prostředí. Přídavek organických kyselin za jistých okolností peptizuje huminové kyseliny a tím je převádí do koloidních roztoků. Nejčastěji používanou organickou kyselinou je kyselina mravenčí s přídavkem

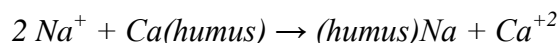
LiF, LiBr nebo HBF₄. Nicméně výťažnost půdní organické hmoty zde činí pouze 55 hm. % (Weber, 2003).

2.6.4 Vliv huminových látek na rostliny

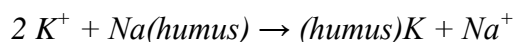
Fyziologický vliv huminových látek na růst a vývoj rostlin je známý již dlouhou dobu a byl popsán celou řadou autorů (Nardi a kol. 2002). Studie provedené s huminovými látkami prokázaly, že jsou na rostliny schopny působit přímo, či nepřímoprostřednictvím půdy (Aşik a kol., 2009).

Nepřímý vliv huminových látek spočívá v jejich schopnosti ovlivňovat fyzikální a chemické vlastnosti půdy. Mimo již výše zmíněných vlastností půdy jsou huminové látky schopny pozitivně ovlivňovat schopnost půdy zadržovat vodu, zlepšovat strukturní vlastnosti, zvyšovat pro rostliny dostupnost živin a stopových prvků a zmírňovat salinitou negativně ovlivněnou úrodnost. Obecně tak jsou huminové látky schopné přispívat k vyšší produktivitě zemědělské půdy (Ouni a kol., 2014).

Tchiadje (2007) popsal situaci, která nastává v půdách s vyšším zastoupením solí, kde je zvýšená tendence Na⁺ iontů adsorbovat se na humusový komplex, což následně vede ke zvýšení salinizace půdy a její toxicity pro rostliny, jak to popisuje rovnice:



Jednou z možností jak předcházet takovému stavu je změna iontového složení půdy, která může být zajištěna zapracováním humátů (soli huminových kyselin). Ty jsou pak schopny v půdě snižovat nejen obsah Na⁺ iontů, ale i její elektrickou vodivost a pH. Ve výsledku pak kationty Ca⁺², Mg⁺² a K⁺ vázané na humáty zabraňují absorpci Na⁺.



Někteří autoři také zmiňují možnost použití huminových látek jako hnojiva (Arancon a kol., 2004; Madejon a kol., 2001). Zde je nutné připomenout, že huminové látky nelze považovat za hnojiva, přestože mají pozitivní vliv na růst a vývoj rostlin. Mohou být aplikovány spolu s přírodními nebo syntetickými hnojivy, čímž navyšují jejich stimulační účinek a snižují jejich potřebné dávky (Khaled a Fawy, 2011).

Přímý efekt huminových látek na rostliny spočívá zejména v ovlivnění rostlinného metabolismu, který souvisí nejčastěji s příjmem organických makromolekul, jako jsou huminové a fulvonové kyseliny. Tyto látky jsou schopny vstoupit do rostlinných buněk

a ovlivnit jejich komponenty. Na fyziologické úrovni jsou huminové látky schopny ovlivňovat fotosyntézu, respiraci, syntézu nukleových kyselin a příjem iontů (Çimrin a kol., 2010; Aydin a kol., 2012; Nardi a kol., 2002). Podle Trevisana a kol. (2010) jsou huminové látky schopny ovlivnit i produkci RNA, která je nezbytná pro mnoho biochemických procesů probíhajících v buňkách. Další vlivy huminových látek na rostliny jsou uvedeny v Tab. 1.

Tab. 1 Vliv huminových látek na rostliny.

Efekt huminových látek na rostliny	Literární zdroj
stimulace klíčení	Orlova a Arkhipchenko, 2009; Aşik a kol., 2009; Aydin a kol., 2012
podpora růstu rostlin	Brunetti a kol., 2007; Paksoy a kol., 2010; Çimrin a kol., 2010
stimulace příjmu živin	Chen a kol., 2002; Türkmen a kol., 2004; Aydin a kol., 2012
stimulace syntézy proteinů	Canellas a kol., 2002; Carletti a kol., 2008; Dantas a kol., 2007
hormonální aktivita	Piccolo a kol., 1993; Trevisan a kol., 2010

Zdroj: Ouni a kol. (2014)

Huminové látky hrají důležitou roli při klíčení semen zvýšením příjmu vody a mikronutrientů. Současně také zvyšují respiraci semen a podporují buněčné dělení, čímž podporují formování kořenů. Vliv huminových látek na klíčivost *Lepidium sativum* a *Zea mays* v půdě s elektrickou vodivostí $4 \text{ mS}\cdot\text{cm}^{-1}$ zkoumali i Masciandaro a kol. (2002). Orlova a Arkhipchenko (2009) zjistili u *Lepidium ruderale* přímou závislost mezi intenzitou klíčení a koncentrací aplikovaných huminových látek. K závěru, že huminové látky stimulují klíčivost semen, došel i Piccolo a kol. (1993). Na druhou stranu nadbytek huminových látek může vyvolat inhibici klíčení a redukovat rostlinný růst.

Stimulační vliv huminových látek na růst kořenů a příjem makro- a mikronutrientů pozoroval i Çimrin a kol. (2010) v paprice seté (*Capsicum annuum*). Tento efekt může být vyvolán nárůstem permeability membrán buněk kořenů a/nebo schopností huminových látek působit jako specifické iontové přenašeče (Ouni a kol., 2014). Podpora rozvoje postranních kořenů, prodlužovacího růstu kořenů, stejně jako stimulace

příjmu živin má pozitivní vliv na zvyšování odolnosti rostlin vůči abiotickým a biotickým stresům (Trevisan a kol., 2010; Piccolo a kol., 1993). Vyjma výše uvedených jsou huminové látky schopné pozitivně ovlivňovat čerstvou a suchou hmotnost, počet květních pupenů a koncentraci chlorofylu v listech (Chen a kol., 2002; Nardi a kol., 2002; Carletti a kol., 2008). Podle Paksoye a kol. (2010) aplikace huminových kyselin pozitivně ovlivňuje i výnos pěstovaných rostlin. Pozitivní korelaci mezi výnosem *Triticum aestivum* a aplikací huminových a fulvonových kyselin zjistili i Brunetti a kol. (2007).

Huminové látky jsou také schopny ovlivňovat aktivitu celé řady enzymů. Podílejí se například na zvýšení aktivity cytochrom oxidázy a fosfatázy a inhibici aktivity peroxidázy a fytázy (Dantas a kol., 2007). Huminové látky mohou také hrát roli jako růstové regulátory s auxinovým působením jak pozorovali Muscolo a kol. (2013) a Pizzeghello a kol. (2013) na klíčících semenech řeřichy rumní (*Lepidium ruderale*) a lociky seté (*Lactuca sativa*).

3 MATERIÁL A METODIKA

3.1 Rostlinný materiál a experimentální design

Experiment I

Pro experiment byly použity obilky tří vysoce výnosných kultivarů (Bojos, Xanadu a Radegast) ječmene jarního (*Hordeum vulgare* L.), které byly nejprve povrchově sterilovány po dobu 1 minuty v 70% etanolu (Obr. 5). Po následném oplachu deionizovanou vodou byly obilky vysušeny. Takto připravený sterilní materiál byl vyset na Petriho misky s filtračním papírem a deionizovanou vodou, přičemž byly obilky nakličovány po dobu 48 h. Po uplynutí této doby byly vyselektovány uniformní rostliny, které byly přemístěny do experimentálních plastových boxů. Plastové boxy byly opatřeny opět filtračním papírem a zvlhčeny roztoky 100 mM NaCl a 50 mM Na₂SO₄ (s upravenými pH na 4 a 7). Hustota výsevu v jednom plastovém boxu činila 25 rostlin. Kontrolní rostliny byly pěstovány pouze v deionizované vodě. Experiment byl ukončen po sedmi dnech expozice roztoků. Následně byly rostliny rozděleny na kořenovou a listovou (listy vč. stonku) část. Kořeny byly opláchnuty deionizovanou vodou a osušeny. U rostlin byly poté sledovány výška listů, délka kořenů, obsah vody v pletivecha obsah vybraných minerálních prvků (sodíku, draslíku a vápníku) v listech. V kořenových špičkách bylasoučasně fluorescenčně vizualizován tvorba ROS a oxidu dusnatého.

U všech tří kultivarů byly také stanovovány parametry klíčivosti. Pro stanovení těchto parametrů byly etanolem ošetřené obilky ihned vystaveny působení experimentálních roztoků. Kontrolní obilky byly nakličovány pouze v deionizované vodě. Průběh klíčení byl sledován po dobu tří dnů. Následně byly výsledky pozorování vyhodnoceny.



Zdroj: vlastní foto

Obr. 5 Obilky vybraných kultivarů ječmene jarního.

Experiment II

Pro experiment byly vybrány obilky ječmene jarního kultivaru Radegast. Ty byly nejprve povrchově sterilovány (jak již bylo uvedeno výše), opláchnuty deionizovanou vodou a následně vysušeny. Naklíčení obilky probíhalo v deionizované vodě s filtračním papírem. Dvoudenní uniformní rostliny byly poté přeneseny do plastových boxů s filtračním papírem zvlhčeným 100 mM roztokem NaCl, samostatně a/nebo v kombinaci se 1 a 10 ml·l⁻¹Lignohumátu Max[®] (Amagro, Humic Substances, Česká republika) nebo 60 mg·l⁻¹ huminové kyseliny v technické kvalitě (SigmaAldrich, Česká republika), při úpravě na neutrální pH. Oba tyto produkty jsou jedny z mnoha komerčně dostupných výrobků obsahujících huminové látky. Lignohumát Max[®] (Amagro, Humic Substances, Česká republika) (Tab. 2) deklaroval minimálně 90% obsah huminových a fulvonových kyselin v sušině. Experiment byl ukončen po sedmi dnech expozice roztoků. Oddělené listy (vč. stonku) byly poté proměřovány pro stanovení výšky, obsahu vody a obsahu vybraných minerálních prvků (sodíku, vápníku a draslíku).

Tab. 2 Fyzikální a chemické vlastnosti „Lignohumátu Max[®]“.

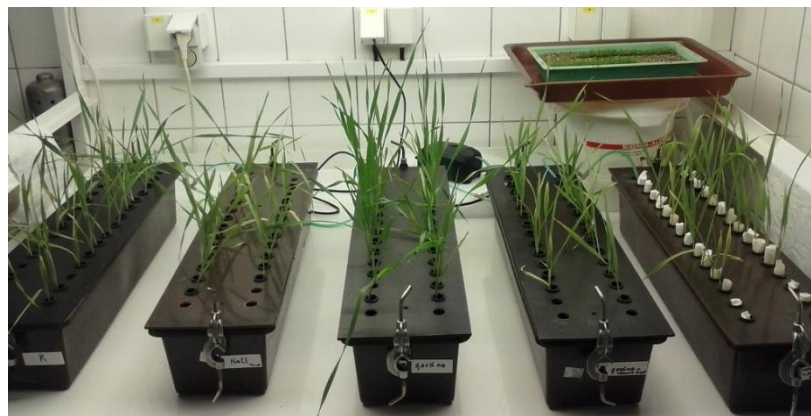
Fyzikální a/nebo chemická vlastnost	
váhový podíl vlhkosti	max. 80 %
váhový podíl popelovin na sušinu	max. 25,07 ± 0,25 %
váhový podíl huminových a fulvonových látek na sušinu	min. 90 %
váhový podíl solí vysokomolekulární huminových kyselin na sušinu	max. 50 %
váhový podíl nízkomolekulárních částí a fulvonových kyselin na sušinu	min. 50 %
pH	9 – 10
optická hustota 0,02% roztoku D400, D440	0,250 – 0,570
váhový podíl celkové síry na sušinu	min. 3 %
stopově přítomné prvky v chelatové formě: Mg, Si, Ca, Fe, Mn, Cu, Zn, Mo	

Zdroj: Amagro, Humic Substances(2008)

Experiment III

S cílem potvrdit skutečnosti pozorované u rostlin pěstovaných v malých plastových boxech byly navrženy experimenty s rostlinami kultivovanými v živném médiu (Obr. 6). Homogenní dvoudenní klíčenci kultivaru Radegast byly přemístěny do 1/10-silného Hoaglandova roztoku (obsahujícího 403 μM $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 52,2 μM $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$, 604 μM KNO_3 , 199 μM $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 35,6 μM NaOH , 28,8 μM KOH , 8,92 μM EDTA, 8,96 μM $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 9,68 μM H_3BO_3 , 2,03 μM $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 0,314 μM $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,210 μM $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 0,139 μM Na_2MoO_4 a 0,0859 μM $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, s konstantním pH 6,0) (Kováčik et al., 2014a) v 7-l tmavých plastových kultivačních boxech (s hustotou 25 rostlin \cdot box $^{-1}$) opatřených kontinuální aerací (Obr. 6). Po sedmi dnech kultivace byly roztoky vyměněny a obohaceny o 100 mM NaCl nebo 0,01% HA (6mg \cdot l $^{-1}$ technická huminová kyselina). Oba roztoky byly aplikovány také v kombinaci.

Pro srovnání efektivity foliárního a hydroponického způsobu aplikace huminových kyselin byly rostliny pěstovány buďto v kombinovaném živném médiu, obsahujícím jak NaCl, tak huminovou kyselinu, nebo v kultivačním roztoku s NaCl, zatímco huminová kyselina byla v tomto případě 1x denně postřikována na listy (5 ml \cdot list $^{-1}$). Pro lepší ulpívání roztoku na listech bylo do zásobního roztoku huminové kyseliny přidáno 100 μL Tritonu X-100. Kontrolní rostliny byly pěstovány v živném roztoku bez jakýchkoli dalších přísad.



Zdroj: vlastní foto

Obr. 6 Hydroponická kultivace ječmene jarního.

Experimenty byly ukončeny po sedmi dnech působení zásahů. Ke zjištění časově dynamických změn v obsahu vybraných antioxidantů, byly vzorky odebírány také po 24 a 72 h trvání experimentu. Po rozdělení rostlin na kořenovou a listovou část byl

u kořenů proveden oplach deionizovanou vodou s osušením. U listů a kořenů ječmene byly následně sledovány fyziologické parametry jako výška a obsah vody a dále pak obsah vybraných minerálních látek, rozpustných proteinů a organických kyselin. Dále byly v listové části rostlin stanovovány obsah volných aminokyselin, antioxidantů, fenolových kyselin a antioxidační aktivita vybraných enzymů. Současně byly také fluorescenčně vizualizovány ROS a oxid dusnatý v kořenových špičkách.

Všechny výše zmíněné experimenty byly provedeny v kultivační místnosti s kontrolovanými podmínkami: 12 h den (8:00 – 20:00); hustotou fotonů dopadajících na list $\sim 250 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ PAR dodávanou studenou bílou žárovkou L36W/840 (Lumilux Osram, Německo); denní/noční teplotou 25/20 °C; a relativní vlhkostí $\sim 60\%$.

3.2 Přehled použitých metodik

Měření růstových parametrů a stanovení obsahu vody

Po ukončení experimentu byly rostliny sesbírány, vysušeny a následně rozděleny na listovou a kořenovou část. U takto připravených vzorků byla změřena délka kořenů, výška listů a hmotnost čerstvé biomasy. Údaje naměřené v čerstvém materiálu byly následně vyjádřeny v jednotkách suché hmotnosti pomocí procentuálního obsahu sušiny v příslušném dni sběru, čímž byl současně stanoven i procentuální obsah vody v rostlinných pletivech dle rovnice,

$$\text{Obsah vody v pletivech} = 100 - \left(\frac{s.hm. \cdot 100}{\check{c}.hm.} \right)$$

kde „s. hm.“ vyjadřuje suchou hmotnost a „č. hm.“ čerstvou hmotnost vzorku.

Pro stanovení suché hmotnosti byly čerstvé vzorky vysušeny při teplotě 75 °C do konstantní hmotnosti. Suché vzorky byly následně rozemlety najemný prášek a použity pro stanovení vybraných parametrů analyzovaných v suchém materiálu. Pro stanovení parametrů v čerstvých vzorcích byly listy (vč. stonků) anebo kořeny rozbity na jemný prášek pomocí tekutého dusíku a příslušné navážky byly ihned extrahovány ve třecích miskách s tloučkem po přidavku malého množství inertního mořského písku (Kováčik a kol., 2014a).

Stanovení parametrů klíčivosti

Pro stanovení parametrů klíčivosti byly obilky ječmene vystaveny působení pokusných zásahů již od samého založení experimentu (viz Experiment I). Parametry klíčivosti byly stanoveny dle ČSN 46 1011-13 o zkoušení obilovin, luštěnin a olejnin, části 13: zkoušení obilovin - stanovení klíčivosti sladovnického ječmenez roku 2005 s účinností od 1. ledna 2006.

Po dobu třídní inkubace bylo sledováno klíčení intaktních obilek tří kultivarů sladovnického ječmene (Bojos, Xanadu, Radegast) uložených po sklizni do hluboko mrazicího boxu při teplotě -70 °C. Testování probíhalo na Petriho miskách s filtračním papírem (20 obilek·miska⁻¹), zvlhčeným destilovanou vodou. Takto připravené misky byly kultivovány při konstantních laboratorních podmínkách (viz výše). V čase 24, 48 a 72 h bylo zaznamenáno klíčení obilek, přičemž za naklíčené byly považovány obilky, u nichž radula prorostla obalovými vrstvami obilky. Následně byla získaná data vyhodnocena v podobě parametrů klíčivosti, kterými jsou:

Energie klíčení (%) vyjadřuje procento obilek vyklíčených po 72 h,

$$\text{Energie klíčení} = \frac{n_{24} + n_{48} + n_{72}}{20} \cdot 100$$

kde „n“ je počet obilek vyklíčených v čase 24, 48 a 72 h.

Index klíčení vychází z průměrné doby klíčení,

$$\text{Index klíčení} = \frac{10}{MGT} \qquad MGT = \frac{n_{24} + 2 \cdot n_{48} + 3 \cdot n_{72}}{n_{24} + n_{48} + n_{72}}$$

kde „n“ je počet obilek vyklíčených v čase 24, 48 a 72 h a „MGT“ je průměrná doba klíčení.

Rychlost klíčení (%) charakterizuje lépe procento vyklíčených obilek po 72 h, zahrnuje také parametr rychlosti,

$$\text{Rychlost klíčení} = \frac{5 \cdot n_{24} + 3 \cdot n_{48} + n_{72}}{20}$$

kde „n“ je počet obilek vyklíčených v čase 24, 48 a 72 h.

Stanovení rozpustných proteinů metodou dle Bradfordové (1976)

Čerstvé listy ječmenů byly homogenizovány v třecích miskách s tloučkou (s pomocí inertního mořského písku) za přítomnosti 50 mM polyfosfátového (PPB) pufru (pH 7; 1 gč. hm·5 ml⁻¹). Získaný homogenizát byl doplněn do 2 ml PPB pufru a centrifugován (12 000 otáček·minuta⁻¹) po dobu 10 minut (Boeco U-32R, Boeckel & Co., Německo). Supernatant (20 µl) byl následně smíchán s 980 µl Bradford Reagent (Sigma Aldrich, Česká republika) a vzniklá směs inkubována po dobu 15 minut při laboratorní teplotě (~20 °C). Následně byl obsah rozpustných proteinů stanoven spektrofotometricky na přístroji Agilent/HP DAD UV/VIS 8453 Spectrophotometer při $\lambda = 595$ nm. Jako standard pro sestavení kalibrační křivky byl použit hovězí sérový albumin. Výsledky byly přepočítány na jednotku suché hmotnosti (Kováčik a kol., 2009).

Stanovení volných aminokyselin

Volné aminokyseliny byly extrahovány z 50 mg s. hm. v 80% vodném roztoku etanolu v Soxhletově aparatuře (IKA-Werke 50, Německo) při teplotě 130 °C po dobu 70 minut (Kováčik a kol., 2009). Takto získaný roztok byl odpařen na vakuové odparce do sucha a rozpuštěn s 500 µl 0,1 M HCl. Následná analýza byla provedena na HP1100 kapalinového chromatografu (Hewlett Packard, Waldbronn, Německo) s fluorometrickým detektorem HP1100 a předkolonovou derivatizací *o*-ftalaldehydem a 9-fluorenylmetylchloroformátem. Pro stanovení byla využita kolona Zorbax SB-C18 (4,6 x 150 mm; 3,5 µm; Agilent Technologies, USA) a mobilní fáze (40 mM Na₂HPO₄ při pH 7,8 (solvent A) a acetonitril/metanol/voda 45:45:10 (v/v) (solvent B) s průtokem 2 ml·min⁻¹. Detekce probíhal při konstantní teplotě 40 °C s gradientem mobilní fáze (pro solvent B): 0 % (0 – 1,9 min), 0 – 57 % (1,9 – 18,1 min), 57 – 100 % (18,1 – 18,8 min), 100 % (18,8 – 22,3 min), 100 – 0 % (22,3 – 23,2 min) a 0 % (23,3 – 26 min) (Kováčik a kol., 2009; Kováčik a kol., 2014a).

Kvantifikace minerálních látek

Obsah vybraných minerálních látek byl v listech a kořenech ječmene stanoven atomovou absorpční spektrometrií s použitím přístroje AA30 (Varian Ltd., Mullgarve, Austrálie). Vzorky byly měřeny s využitím kyslíko-acetylenového plamene.

Vzorky v suchém stavu (10 mg), připravené viz výše, byly rozloženy v mikrovlnném extraktoru (Ethos Sel Microwave Extraction Labstation, Milestone Inc.) při teplotě 200 °C po dobu 1 h pomocí mineralizační směsi tvořené 4 ml koncentrované ultra-čisté HNO₃ a 4 ml deionizované vody. Výsledný mineralizát byl doplněn do 10 ml deionizovanou vodou.

Obsah sodíku ($\lambda_{\max} = 589 \text{ nm}$) a draslíku ($\lambda_{\max} = 766,5 \text{ nm}$) byl stanovován v emisním modu, oproti tomu obsah vápníku ($\lambda_{\max} = 422,7 \text{ nm}$), mědi ($\lambda_{\max} = 324,8 \text{ nm}$), železa ($\lambda_{\max} = 248,3 \text{ nm}$) byl měřen v modu absorpčním. Obsah vápníku a hořčíku ($\lambda_{\max} = 285,2 \text{ nm}$) byl stanoven pomocí přídavku Sr⁺², jakožto ionizačního pufru. Výsledná koncentrace Sr⁺² v analyzovaném roztoku činila 1 g·l⁻¹ (Kováčik a kol., 2014b).

Fluorescenční vizualizace ROS a oxidu dusnatého

Pro fluorescenční vizualizaci byly z kořenů rostlin opatrností ustříženy kořenové špičky, které byly následně inkubovány s různými fluorescenčními barvivy. Pro stanovení ROS a oxidu dusnatého byly vzorky obarveny barvivou CellROX[®] Deep Red Reagent (644_{ex}/665_{em}, Life Technologies Corporation) a diacetátem 2',7'-dichlorodihydrofluoresceinu (H₂DCF-DA; Sigma Aldrich, Česká republika), který vstupuje pasivně do rostlinných buněk, kde je deacetylován a oxidován za vzniku vysoce fluorescenčního 2',7'-dichlorofluoresceinu (488_{ex}/525_{em}; DCF). Pro obarvení NO bylo použito barvivo 2,3-diaminonaftalen (DAN; Sigma Aldrich, Česká republika) tvořící nitrozoniovým kationtem vysoce fluorescenční produkt 1H-naftotriazol (365_{ex}/415_{em}). Celá procedura byla provedena dle instrukcí stanovených výrobcem.

Zásobní roztok CellROX[®] Deep Red Reagent byl rozpuštěn v dimethylsulfoxidu (DMSO; Sigma Aldrich, Česká republika) a zředěn 50 mM fosfátového pufru s 0,15 M NaCl (tj. PBS pufr) (pH 6,8) na finální koncentraci 5 μM. Kořenové špičky byly inkubovány spolu s barvivem při teplotě 37 °C po dobu 60 minut. Zásobní roztok DAN v 0,62 M HCl byl zředěn 50 mM PBS pufru (pH 6,8) na finální koncentraci 250 μM. Kořenové špičky byly spolu s barvivem inkubovány po dobu 15 minut při laboratorní teplotě. Zásobní roztok H₂DCF-DA v DMSO byl rozpuštěn Tris/KCl pufr (pH 7,2) a zředěn na finální koncentraci 50 μM. Kořenové špičky byly spolu s barvivem inkubovány při laboratorní teplotě po dobu 10 minut. Po inkubaci, byly kořenové špičky třikrát promyty příslušným ředícím pufr (pH 7,2) a pozorovány pomocí Axioscop 40

microscope (Carl Zeiss, Germany) vybaveným vhodným souborem excitačních a emisních filtrů (Kováčik a kol., 2014a; Han a kol., 2009).

Stanovení fenolových a organických kyselin

Celkový obsah vybraných derivátů kyseliny skořicové a benzoové byl stanovován v 80% metanolových extraktech (10 mg s. hm.·ml⁻¹). Kvantifikace fenolových kyselin proběhla na přístroji Agilent1200SeriesRapidsystém(Agilent Technologies, Waldbronn, Německo) vybaveném odplyňovačem, binárnímčerpádem, vysoce výkonnýmSLautomatickým dávkovačem s termostatem aUV-VISdetektorem. Systém byl spojen on-line s detektorem MS Agilent 6460 Triple quadrupole LC-MS/MS s Agilent Jet Stream Technologies. Sloučeniny byly stanoveny na základě konkrétní hodnoty *m/z* a retenčního času (Tab. 3).

Tab. 3 *Přehled retenčních časů, přechodů, fragmentací a kolizních energií stanovených fenolových kyselin.*

Fenolová kyselina	Retenční čas (min)	Přechod (<i>m/z</i>)	Fragmentace (V)	Kolizní energie (eV)
gallová kyselina	0,25	169 → 125	100	10
protokatechová kyselina	0,39	153 → 109	100	10
<i>p</i> -hydroxybenzoová kyselina	0,62	137 → 93	100	10
<i>p</i> -hydroxybenzaldehyd	0,87	121 → 92	120	20
vanilová kyselina	0,89	167 → 152	100	10
syringová kyselina	1,21	197 → 182	100	10
vanilin	1,30	151 → 136	100	10
<i>p</i> -kumarová kyselina	1,66	163 → 119	100	10
salicylová kyselina	1,97	137 → 93	100	10
ferulová kyselina	2,21	193 → 134	100	10
sinapová kyselina	2,47	223 → 208	100	10

Zdroj: Kováčik a kol. (2007)

Vlastní separace proběhla na koloně Zorbax SB-C18 (50 x 2,1 mm, velikost částic 1,8 um). Mobilní fáze byla 0,2% kyselina octová a metanol (solvent A; 95 : 5 (v/v)) a 0,05% kyselina mravenčí (solvent B). Složení mobilní fáze se měnilo následovně (pro solvent B): 10 – 20 % (0 – 8 min), 20 – 85 % (8 – 13 min), 85 – 10 % (13 – 20 min). Průtoková rychlost mobilní fáze byla 0,6 ml·min⁻¹ a teplota při separaci 45 °C. Pro kalibraci a kvantifikaci byly vždy nově připraveny standardy separovaných látek (Kováčik a kol., 2007; Kováčik a kol., 2008; Klejdus a kol., 2013).

Vybrané organické kyseliny byly z čerstvých vzorků extrahovány pomocí 0,1 M HCl a kvantifikovány pomocí systému LC-MS/MS (Agilent 1200 Series Rapid Resolution LC systém spojený on-line s detektorem Agilent 6460 Triple quadrupole s Agilent Jet Stream Technologies). Pro separaci byla použita kolona Zorbax SB-C18 50 x 2,1 mm (1,8 µm velikost částic) a mobilní fáze tvořená 0,1% kyselinou mravenčí s průtokem 0,4 ml·min⁻¹. Teplota při separaci byla 20 °C. Organické kyseliny byly detekovány v negativním ESI modu (Tab. 4) při těchto operačních parametrech: průtok plynu 11 l·min⁻¹, napětí kapiláry 4000 V a napětí trysky 500 V. Pro kalibraci a kvantifikaci byly vždy nově připraveny standardy separovaných látek (Flores a kol., 2012).

Tab. 4 Přehled retenčních časů, přechodů, fragmentací a kolizních energií sledovaných organických kyselin.

Organická kyselina	Retenční čas (min)	Přechod (m/z)	Fragmentace (V)	Kolizní energie (eV)
mléčná kyselina	3,82	179 → 89	70	10
chinová kyselina	4,84	191 → 85	110	20
α-ketoglutarová kyselina	9,02	145 → 101	70	2
pyrohroznová kyselina	9,73	175 → 87	100	4
jablečná kyselina	12,60	115 → 71	70	10
citronová kyselina	12,70	191 → 111	70	10
fumarová kyselina	14,07	115 → 71	70	2
jantarová kyselina	14,20	117 → 73	70	6

Zdroj: Flores a kol. (2012)

Kvantifikace redukované formy glutathionu, kyseliny askorbové a fytochelatinu 2

Redukovaný glutathion (GSH) a kyselina askorbová (AsA) byly z čerstvých vzorků extrahovány pomocí 0,1 M HCl (0,2 g č. hm·2 ml⁻¹) a kvantifikovány pomocí systému LC-MS/MS (Agilent 1200 Series Rapid Resolution LC systém spojený on-line s detektorem Agilent 6460 Triple quadrupole s Agilent Jet Stream Technologies) při m/z hodnotách 308/76, 177/95 v pozitivním MRM modu. Pro separaci byla použita kolona Zorbax SB-C18 50 x 2.1 mm, 1,8 um velikost částic, a mobilní fáze skládající se z 0,2% kyseliny octové a metanolu (95 : 5(v/v)). Průtok mobilní fáze byl 0,6 ml·min⁻¹ a teplota při separaci 25 °C (Kováčik a kol., 2013).

Fytochelatin 2 (PC2) byl stanovován ve stejných 0,1 M HCl supernatantech, jak již bylo uvedeno výše. Kvantifikace byla provedena pomocí LC-MS/MS systému Agilent (viz výše), za použití kolony Zorbax SB-C18 (50 x 2,1 mm, velikost částic 1,8 μm) a mobilní fáze složené z 0,2% kyseliny octové (solvent A) a acetonitrilu (solvent B). Složení mobilní fáze se měnilo následovně (pro solvent B): 5 % (0 – 0,4 min), 5 – 30 % (0,4 – 1 min), 30 – 50 % (1 – 1,5 min), 50 – 60 % (1,5 – 2 min), 60 – 5 % (2 – 3 min). PC2 byl detekován v kladném ESI modu při m/z 540/76 (fragmentor 140 V, kolizní energie 76 eV), průtoku plynu 12 $\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$, při napětí kapiláry 4000 V a trysky 500 V a teplotě 35 $^{\circ}\text{C}$ (Kováčik a kol., 2014b). Pro kalibraci a kvantifikaci byly vždy nově připraveny standardy separovaných látek.

Stanovení aktivity vybraných antioxidantních enzymů

Pro stanovení antioxidantní aktivity enzymů byly vzorky v čerstvém stavu homogenizovány v třecí misce s tloučkem s přidavkem inertního mořského písku za pomoci 50 mM PPB pufrém (1 gč. $\text{hm}\cdot 5 \text{ ml}^{-1}$) obsahujícího 5 mM nerozpustného polyvinylpolypyrrolidonu. Homogenizát byl doplněn do 2 ml PPB pufrém a centrifugován (viz výše). Výsledný supernatant byl použit pro následná stanovení.

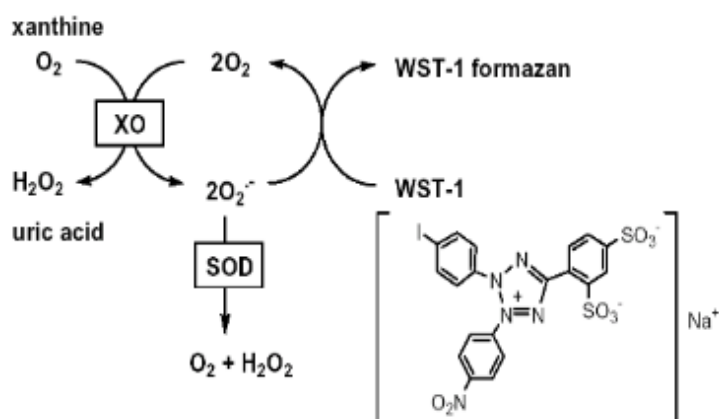
Aktivita askorbát peroxidázy (APX; EC 1.11.1.11.) byla stanovena jako oxidace askorbátu (pokles absorbance) při $\lambda = 290 \text{ nm}$ v reakční směsi skládající se z 1 ml 100 mM PPB (pH 7), 270 μl 0,5 mM kyseliny askorbové, 115 μl supernatantu a 115 μl 250 mM peroxidu vodíku, jehož přidání zahájilo reakci. Aktivita ve vzorcích byla určena pomocí molární absorptivity 2,6 $\text{mM}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$.

Aktivita glutathion reductázy (GR; EC 1.6.4.2.) se stanovila ve výsledné reakční směsi o objemu 3 ml, která obsahovala 1 mM 5,5'-dithiobis-(2-nitrobenzoové kyseliny) (DTNB), 1 mM oxidovaného glutathionu (GSSG) a 1 mM NADPH (všechny látky byly nejdříve rozpuštěny ve 100 mM PPB). Reakce byla zahájena přidavkem 100 μl supernatantu. Nárůst absorbance v důsledku vzniku GSH byl měřen při $\lambda = 412 \text{ nm}$ po dobu 1 minuty. K výpočtu aktivity byl použit molární extinkční koeficient 3600 $\text{M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$.

Aktivita katalázy (CAT, EC 1.11.1.6.) byla stanovena ve výsledné reakční směsi 3,42 ml, která obsahovala 2,95 ml 100 mM PPB (pH 7), 7,0 μl peroxidu vodíku a 40 μl supernatantu. Pokles absorbance v důsledku redukce peroxidu vodíku byl měřen

při $\lambda = 240$ nm po dobu 1 minuty. K výpočtu byl použit molární extinkční koeficient $6,22 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ (Kováčik a Bačkor, 2007; Kováčik a kol., 2009).

Aktivita superoxid dismutázy (SOD) byla stanovena při její reakci se superoxidy, čímž dochází k inhibici přeměny chromogenních substrátů na jejich barevné produkty. Pro stanovení SOD byl v našem případě využit „19160 SOD determination kit“ (Sigma Aldrich, Česká republika), využívající 2-(4-jodfenyl)-3-(4-nitrofenyl)-5-(2,4-disulfofenyl)-2H-tetrazolium sodný, jenž vytváří ve vodě po redukcisesuperoxidovýmaniontemrozpuštěnéformazanovébarvivo. Aktivita SOD pak může být kvantifikována měřením poklesu vývoje zbarvení při $\lambda = 440$ nm po dobu 2 minut (Sigma Aldrich, 2014).



XO – xantin oxidáza, SOD – superoxid dismutáza, WST-1 – 2-(4-jodfenyl)-3-(4-nitrofenyl)-5-(2,4-disulfofenyl)-2H-tetrazolium sodný, WST-1 formazan – formazan

Zdroj: Sigma Aldrich – 19160 SOD determination kit (2014)

Obr. 7 Princip SOD kitu.

Statistická analýza dat

Signifikance získaných dat byla vyhodnocena pomocí analýzy variance (ANOVA) s následným Tukeyovým testem na hladině významnosti $P < 0,05$ pomocí programu MINITAB Release 11 (Minitab Inc., State College, Pensylvánie). Počet opakování „ n “ uvedených v grafech a tabulkách v části Výsledky a diskuze udává počet individuálních rostlin ječmene jarního, resp. listů (vč. stonků) a kořenů proměřených pro každý sledovaný parametr. Pro každý z kultivarů a/nebo pro daný zásah byly použity minimálně tři kultivační nádoby.

4 VÝSLEDKY A DISKUZE

4.1 Vliv použitých druhů solí na vybrané fyziologické parametry různých kultivarů ječmene jarního

Klíčovým aspektem pro stanovení tolerance plodin vůči environmentálním stresovým faktorům je identifikace interspecifických rozdílů projevujících se v růstových schopnostech rostlin (Tavakkoli a kol., 2012). K naplnění cíle, kterým bylo v první fázi zkoumání vlivu salinity na specifické fyziologické parametry rostlin, je nezbytné vhodně vybrat postup, kterým bychom tyto rozdíly mezi jednotlivými kulturními rostlinami zkoumali, jelikož mechanismy působení salinity na rostliny se liší nejen v rámci použitých rostlinných druhů, ale také úrovní jejich variant (Radl a kol., 2013). Běžnou praxí pro monitorování odolnosti rostlin k salinitě, umožňující zkoumat mechanismus tolerance rostlin, je využívání hydroponicky pěstovaných klíčenců po krátkou dobu vystavených různým úrovním zasolení. Hydroponická kultivace totiž umožňuje předvídat chování rostlin vystavených stresovým podmínkám v laboratorních podmínkách, což polní pokusy neumožňují.

V předkládané práci se zabýváme vlivem mírné úrovně salinity způsobované dvěma různými druhy solí na rostliny tří kultivarů ječmene jarního pěstovaných s využitím hydroponických metod kultivace. Po sedmidenní expozici rostlin experimentálním zásahůmbyly u rostlin sledovány fyziologické parametry jako výška listů, délka kořenů a obsah vody (Tab. 5). Ze získaných dat lze obecně tvrdit, že 100 mM NaCl, stejně jako 50 mM Na₂SO₄, inhibuje ve srovnání s kontrolními rostlinami růst ječmene. Nicméně NaCl omezil prodlužovací růst u všech studovaných kultivarů.

Rozdíl mezi růstem ječmenů pěstovaných v kyselých a neutrálních podmínkách lze pozorovat již u kontrolních rostlin. Ječmen, přestože je velmi odolnou plodinou vůči podmínkám mírné acidity půdy, dosahuje maximálních výnosů na půdách s pH 6,2 – 7,2 (Michalovicz a kol., 2014). Tuto skutečnost potvrzují i studií získaná data, která ukazují na intenzivnější formování rostlinné biomasy při neutrálním pH (Tab. 5). Data od klíčenců (Xanadu a Radegast) vystavených působení NaCl při různém pH kultivačního roztoku opět ukazují na pravděpodobný stimulační účinek neutrálního pH na rostlinný růst (Tab. 5, Příloha 2).

Tab. 5 Vybrané fyziologické parametry rostlin ječmene jarního (*Hordeum vulgare*) exponovaných NaCl nebo Na₂SO₄ po dobu 7 dní.

		Kontrola		100 mM NaCl		50 mM Na ₂ SO ₄		
		pH 4	pH 7	pH 4	pH 7	pH 4	pH 7	
listy	výška (cm)	B	10,20 ± 0,36b	12,20 ± 0,60b	3,23 ± 0,15d	5,97 ± 0,40c	7,37 ± 0,25c	8,70 ± 0,27bc
		X	11,83 ± 0,74b	13,23 ± 1,21ab	1,13 ± 0,31e	6,87 ± 0,31c	3,17 ± 0,51d	10,30 ± 0,46b
		R	11,23 ± 0,25b	14,07 ± 0,35a	1,37 ± 0,29e	8,40 ± 0,76c	7,73 ± 0,76c	11,13 ± 0,72b
	obsah vody (%)	B	84,85 ± 6,05ab	88,13 ± 3,39ab	81,30 ± 5,44bc	81,63 ± 3,41bc	75,87 ± 5,28c	86,10 ± 4,42ab
		X	77,97 ± 2,72cd	84,97 ± 1,36b	63,77 ± 5,51de	79,39 ± 1,91c	69,60 ± 5,20d	87,17 ± 5,10ab
		R	85,70 ± 0,30b	91,53 ± 1,25a	58,87 ± 3,85e	77,6 ± 1,13c	71,57 ± 4,08d	82,33 ± 1,90b
kořeny	délka (cm)	B	6,32 ± 0,42b	8,07 ± 0,68a	1,78 ± 0,16e	1,87 ± 0,11e	2,96 ± 0,19d	3,31 ± 0,30d
		X	4,47 ± 0,23c	6,43 ± 0,41b	0,635 ± 0,039g	2,32 ± 0,08e	1,22 ± 0,10f	3,96 ± 0,28cd
		R	8,13 ± 0,74a	8,71 ± 0,76a	1,03 ± 0,07f	2,97 ± 0,14d	2,94 ± 0,21d	4,07 ± 0,33cd
	obsah vody (%)	B	87,34 ± 6,75ab	88,23 ± 6,14a	80,67 ± 7,56ab	83,37 ± 6,10ab	81,13 ± 5,07ab	84,53 ± 4,60ab
		X	85,87 ± 4,92a	86,61 ± 7,26ab	85,94 ± 5,12ab	81,10 ± 6,68ab	81,16 ± 4,62ab	86,64 ± 4,81a
		R	85,10 ± 5,47ab	90,83 ± 7,60a	77,81 ± 3,09b	86,13 ± 4,41a	87,47 ± 6,47a	87,60 ± 6,74ab

Data jsou vyjádřena ± SDs ($n = 3$).

Hodnoty pro každý parametr následované stejným písmenem(-y) se signifikantně neliší podle Tukeyova testu ($P < 0,05$).

Kořeny a listy byly hodnoceny odděleně.

Pro experiment byly použity dvě různá pH kultivačních roztoků (pH 4 a pH 7) a tři odlišné kultivary ječmene (B- Bojos, X - Xanadu a R - Radegast).

Omezení růstu rostlin vyvolané salinitou snižující turgor ve vyvíjejících se rostlinných tkáních je pravděpodobně výsledkem snižujícího se vodního potenciálu v kořenech vystavených zasolenému kultivačnímu médiu (Jamal a kol., 2011). U rostlin pěstovaných v roztoku obsahujícím NaCl došlo při pH 4 ke snížení obsahu vody v listech u kultivarů Xanadu a Radegast (Tab. 5). Podobné snížení obsahu vody bylo pozorováno v kořenech kultivaru Radegast vystavených kyselému pH. Ostatní kultivary nebyly rozdílnými pH kultivačních roztoků signifikantně ovlivněny (Tab. 5). Změny v relativním obsahu vody nebyly pozorovány ani u kořenů třiceti pětidenních ječmenů pěstovaných v kultivačních roztocích obsahujících dvojnásobné koncentrace NaCl (200 mM) s různou úpravou pH (Ahmed a kol., 2013).

4.2 Vliv NaCl a Na₂SO₄ na parametry klíčivosti vybraných kultivarů sladovnického ječmene

Kromě růstových parametrů a obsahu vody v rostlinných tkáních byly u obilek ječmenů sledovány parametry klíčivosti jako klíčivá energie, index klíčení a rychlost klíčení (Tab. 6). Přestože jsou rostliny ječmene ve své podstatě odolné vůči působení nízkých koncentrací solí, stejně jako jiní zástupci druhu Triticeae, byl u obilek pěstovaných v přítomnosti 100 mM NaCl a 50 mM Na₂SO₄ zjištěn pokles všech parametrů klíčivosti (Tab. 6). Energie klíčení byla u všech tří kultivarů vystavených působení NaCl (při obou pH) ve srovnání s kontrolními obilkami snížena bezmála o polovinu, v případě Na₂SO₄ pak u kultivarů Bojos a Radegast pěstovaných v kyselém pH i o více než 60 % (Tab. 6). Obilky kultivaru Bojos vykazaly nejnižší index klíčivosti v kultivačních roztocích obsahujících Na₂SO₄, při pH 7 se tento trend projevil i u kultivaru Xanadu (Tab. 6). Naopak u kultivaru Radegast index klíčivosti výrazně poklesl u obou aplikovaných solí v kyselém pH (Tab. 6). Snížení klíčivosti bylo pozorováno i u obilek *Oryza sativa* pěstovaných po dobu 18 dní při 100 mM NaCl s úpravou pH na 5,8 (Jamal a kol., 2011). Pozorované omezení klíčivosti obilek může být způsobeno osmotickým stresem nebo iontovou toxicitou NaCl (Yousfi a kol., 2010). Z výsledků také vyplývá, že klíčivost závisí nejen na složení hydroponického roztoku a použité úpravě pH, ale také na samotném kultivaru.

Tab. 6 Stanovení parametrů klíčivosti sladovnických ječmenů exponovaných 100 mM NaCl a 50 mM Na₂SO₄ po dobu 7 dní.

Kultivar	pH		Energie klíčení (%)	Index klíčení	Rychlost klíčení (%)
Bojos	4	kontrola	90,67 ± 2,31a	0,621 ± 0,065ab	2,02 ± 0,15a
		NaCl	60,67 ± 3,06b	0,618 ± 0,051ab	1,72 ± 0,13b
		Na ₂ SO ₄	35,33 ± 3,06c	0,594 ± 0,023ab	0,241 ± 0,002f
	7	kontrola	90,67 ± 1,15a	0,620 ± 0,034ab	2,01 ± 0,17a
		NaCl	66,00 ± 3,46b	0,631 ± 0,027a	1,78 ± 0,02b
		Na ₂ SO ₄	35,33 ± 4,16c	0,592 ± 0,034ab	0,253 ± 0,012f
Xanadu	4	kontrola	85,33 ± 4,16a	0,627 ± 0,020a	2,20 ± 0,20a
		NaCl	45,33 ± 1,15c	0,608 ± 0,045ab	0,761 ± 0,034d
		Na ₂ SO ₄	50,67 ± 4,16c	0,602 ± 0,021ab	1,04 ± 0,092c
	7	kontrola	85,33 ± 3,06a	0,628 ± 0,037ab	2,18 ± 0,02a
		NaCl	49,33 ± 6,11c	0,602 ± 0,010ab	1,02 ± 0,01c
		Na ₂ SO ₄	40,00 ± 5,29c	0,604 ± 0,059ab	0,562 ± 0,030e
Radegast	4	kontrola	90,00 ± 2,00a	0,633 ± 0,027a	1,92 ± 0,148b
		NaCl	40,67 ± 4,62c	0,611 ± 0,035ab	0,528 ± 0,029e
		Na ₂ SO ₄	20,67 ± 5,03d	0,568 ± 0,031b	0,481 ± 0,138e
	7	kontrola	95,33 ± 2,31a	0,659 ± 0,054a	2,40 ± 0,11a
		NaCl	46,00 ± 2,00c	0,601 ± 0,026ab	0,783 ± 0,058d
		Na ₂ SO ₄	55,33 ± 3,06bc	0,598 ± 0,047ab	0,685 ± 0,037d

Data jsou vyjádřena ± SDs ($n = 3$).

Hodnoty pro každý parametr následované stejným písmenem(-y) se signifikantně neliší podle Tukeyova testu ($P < 0,05$).

Pro experiment byly použity dvě různá pH kultivačních roztoků (pH 4 a pH 7) a tři odlišné kultivary ječmene.

4.3 Změny obsahu sodíku a dalších minerálních prvků u ječmene jarního exponovaného NaCl a Na₂SO₄

Studován byl také vliv použitých solí a různých pH na změnu obsahu vybraných minerálních prvků v listech ječmenů (Tab. 7). Dle Colmera a kol. (2006) jsou zástupci čeledi Poaceae schopni omezit rychlost vstupu Na⁺ iontů do listů. Výsledky studie ukazují, že akumulaci sodíku značně ovlivňuje pH aplikovaných kultivačních roztoků. Nejvyšší akumulované množství Na⁺ bylo pozorováno u rostlin kultivaru Radegast

pěstovaných v NaCl roztoku (Tab. 7). Ve srovnání s kontrolou byla u listů kultivaru Radegast pozorována negativní korelace mezi obsahem vody a obsahem sodíku (Tab. 7). Příčinou této skutečnosti může být citlivost daného kultivaru vůči NaCl-stresu. Yousfi a kol. (2010) uvádí, že redukce obsahu vody v listech ve většině případů odráží schopnost některých rostlinných druhů efektivněji nakládat s přítomnými solemi včetně jejich zabudování do vakuol. Tvrzení, že je kultivar Radegast potenciálně k NaCl citlivějším kultivarem koreluje s výsledky fluorescenční mikroskopie, kde byla ve srovnání s pravděpodobně tolerantnějším kultivarem Xanadu, po vizualizaci fluorescenčním barvivem DCF (2',7'-dichlorodihydrofluorescein diacetát; zelený signál), zaznamenána vyšší úroveň tvorby ROS (Obr. 8).

Výsledky dále ukazují, že při aplikaci NaCl i Na₂SO₄ (při obou pH) dochází v listech ječmene k nárůstu obsahu Na⁺ iontů a současně k poklesu obsahu K⁺ iontů (Tab. 7). Toto narušení iontové rovnováhy vlivem působení solí bylo pozorováno nejen u ječmene (Jin a kol., 2009; Zagorchev a kol., 2014), ale i u mnoha jiných rostlinných druhů (Jamal a kol., 2011). Snížení koncentrace K⁺ iontů v pletivech může být způsobeno kompeticí mezi K⁺ a Na⁺ v plazmatické membráně, inhibicí Na⁺ iontů na transport K⁺ iontů v xylému pletiv a/nebo Na⁺ ionty indukovaným exfluxem K⁺ iontů z kořenů.

K⁺ ionty spolu s Ca⁺² ionty jsou u rostlin vystavených stresovým podmínkám hlavními aktéry při nastavování osmotické rovnováhy. V předkládané práci hladina K⁺ a Ca⁺² iontů v buňkách listů ječmene kultivarů Bojos a Radegast poklesla zatímco Na⁺ iontů dramaticky vzrostla (Tab. 7). Pokles v obsahu K⁺ a Ca⁺² iontů pod vlivem stresu způsobeného solí byl již dříve zaznamenán v několika dalších rostlinných druzích (pšenice, kukuřice, rýže), zejména pak v jejich na NaCl citlivých liniích (Aşik a kol., 2009; Çimrin a kol., 2010). Tato skutečnost opět potvrzuje, že kultivar Radegast je na přítomnost NaCl citlivější než kultivar Xanadu, jak již bylo zmíněno výše.

Navýšení obsahu Na⁺ iontů v buňkách vedoucí k jejich poškození je často dáváno do souvislosti se strukturální a funkční integritou buněčných membrán (Radl a kol., 2013). Podle Jamala a kol. (2011) vysoký obsah Na⁺ iontů uvnitř buněk inhibuje příjem K⁺ iontů, což ve svém důsledku způsobuje zvýšení Na⁺/K⁺ poměru.

Cílem výše zmíněných experimentů bylo vybrat nejvhodnější kultivar pro další zkoumání. Ze všech uvedených dat vyplývá, že nejvíce citlivý na přítomnost NaCl je kultivar Radegast. Tento poměrně nový český kultivar se sladovnickou kvalitou

vhodnou pro výrobu Českého piva (Limagrain CentralEurope Cereals, 2005) se tak stal optimálním materiálem pro následné testování vlivu huminových látek na zmírňování negativních dopadů mírného zasolení (100 mM NaCl).

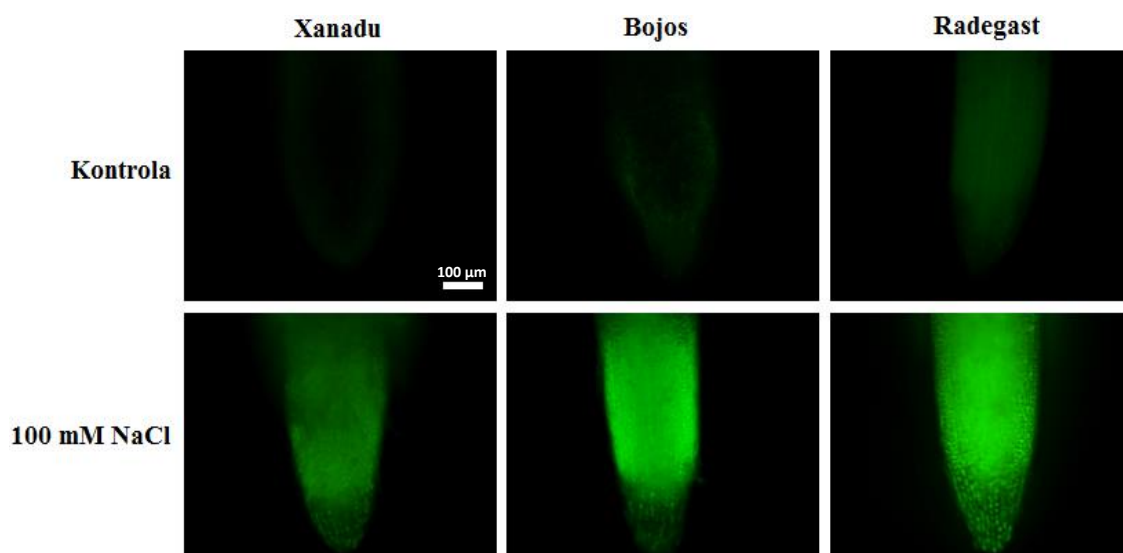
Tab. 7 Obsah vybraných minerálních prvků ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ s. hm.) v listech ječmene jarního (*Hordeum vulgare*) exponovaných 100 mM NaCl a 50 mM Na_2SO_4 po dobu 7 dní.

	pH		Kultivar		
			Bojos	Xanadu	Radegast
sodík	4	kontrola	$0,329 \pm 0,077\text{h}$	$0,753 \pm 0,078\text{g}$	$0,965 \pm 0,139\text{f}$
		NaCl	$26,49 \pm 0,77\text{cd}$	$21,96 \pm 0,23\text{d}$	$27,29 \pm 0,59\text{c}$
		Na_2SO_4	$24,80 \pm 0,15\text{d}$	$14,47 \pm 0,58\text{e}$	$24,37 \pm 1,38\text{cd}$
	7	kontrola	$0,857 \pm 0,031\text{f}$	$0,681 \pm 0,075\text{g}$	$1,16 \pm 0,28\text{f}$
		NaCl	$37,01 \pm 1,45\text{b}$	$37,99 \pm 1,92\text{b}$	$43,17 \pm 2,82\text{a}$
		Na_2SO_4	$24,95 \pm 0,60\text{cd}$	$22,48 \pm 2,42\text{d}$	$28,22 \pm 1,50\text{c}$
draslík	4	kontrola	$2,51 \pm 0,20\text{a}$	$1,65 \pm 0,05\text{b}$	$2,57 \pm 0,22\text{a}$
		NaCl	$1,37 \pm 0,11\text{c}$	$1,36 \pm 0,14\text{c}$	$1,35 \pm 0,11\text{c}$
		Na_2SO_4	$1,94 \pm 0,17\text{ab}$	$1,49 \pm 0,12\text{bc}$	$2,31 \pm 0,24\text{a}$
	7	kontrola	$2,29 \pm 0,19\text{a}$	$1,95 \pm 0,10\text{ab}$	$2,74 \pm 0,25\text{a}$
		NaCl	$1,28 \pm 0,15\text{c}$	$1,23 \pm 0,07\text{c}$	$1,82 \pm 0,14\text{ab}$
		Na_2SO_4	$1,83 \pm 0,09\text{b}$	$1,72 \pm 0,17\text{b}$	$2,21 \pm 0,22\text{ab}$
vápník	4	kontrola	$0,410 \pm 0,047\text{ab}$	$0,343 \pm 0,028\text{b}$	$0,508 \pm 0,045\text{a}$
		NaCl	$0,229 \pm 0,026\text{cd}$	$0,348 \pm 0,031\text{b}$	$0,284 \pm 0,031\text{ab}$
		Na_2SO_4	$0,353 \pm 0,035\text{bc}$	$0,289 \pm 0,027\text{c}$	$0,316 \pm 0,030\text{c}$
	7	kontrola	$0,266 \pm 0,013\text{c}$	$0,293 \pm 0,022\text{c}$	$0,597 \pm 0,042\text{a}$
		NaCl	$0,359 \pm 0,020\text{bc}$	$0,386 \pm 0,039\text{b}$	$0,380 \pm 0,034\text{b}$
		Na_2SO_4	$0,266 \pm 0,019\text{c}$	$0,189 \pm 0,007\text{d}$	$0,188 \pm 0,020\text{d}$

Data jsou vyjádřena \pm SDs ($n = 3$).

Hodnoty pro každý parametr následované stejným písmenem(-y) se signifikantně neliší podle Tukeyova testu ($P < 0,05$).

Pro experiment byly použity dvě různá pH kultivačních roztoků (pH 4 a pH 7) a tři odlišné kultivary ječmene.



Obr. 8 Fluorescenční mikroskopie reaktivních kyslíkatých částic v kořenových špičkách tří kultivarů ječmene jarního exponovaných po dobu 7 dní 100 mM NaCl (při pH 4) pomocí diacetátu 2',7'-dichlorodihydrofluoresceinu (zelený signál).

4.4 Vliv různých druhů huminových látek aplikovaných v odlišných dávkách na rostliny ječmene jarního exponované NaCl

V ekologickém zemědělství je neustálý tlak na využívání speciálních výrobků na bázi HA a fulvonových kyselin. Nyní takovéto látky dodává celá řada firem po celém světě. Mezi nejznámější patří Daymsa (Španělsko), Humintech (Německo), Tradecorp (Španělsko), Omnia (Austrálie), Colloids (USA), mimo jiné i Amagro Humic Substances (Česká republika). Huminové látky lze dodávat v různých formách: tekuté, práškové, granuláty atp. Pro studium vlivu huminových látek na klíčence ječmene kultivaru Radegast byly vybrány dva druhy huminových látek –Lignohumát Max[®] (Amagro Humic Substances, Česká republika), hnědočerná kapalina představující směs huminových, fulvonových kyselina a jejich solí (Na^+ , K^+ a Ca^{+2}), a technická huminová kyselina (Sigma Aldrich, kat. č. 53680). Z literatury vyplývá, že oba druhy huminových látek mají dopad na fyziologické, chemické a biologické vlastnosti půd a také přímý vliv na rostliny (Cha-um a Kirdmanee, 2009).

Výsledky mnoha studií ukazují na negativní dopady působení vyšších koncentrací solí na rostliny, zejména pak na omezení růstu, snížení příjmu minerálních prvků a množství sušiny (Szalai a Janda, 2009; Jamal a kol., 2011). Çimrin a kol. (2010)

uvádí, že huminové látky jsou schopny zpětněstimulovat růst i příjem nutrientů takto zasažených rostlin.

V předkládané práci byla studována interakce mezi různými koncentracemi Lignohumátu Max[®] a technické HA a aplikovaným NaCl při úpravě na pH 7 (Tab. 8, Příloha 2). Ze získaných dat vyplývá, že technická HA je schopna lépe stimulovat růst nadzemní biomasy ve srovnání s kontrolními rostlinami i Lignohumátem Max[®] (Tab. 8). Při sledování obsahu vody nebyly mezi oběma typy zásahů pozorovány významné rozdíly. Výjimkou pak byla pouze technická HA, která u NaCl-listů ve vyšší koncentraci (60 mg·l⁻¹) vyvolala oproti kontrolním rostlinám pokles obsahu vody (Tab. 8).

Rostliny jsou schopny přijímat větší množství minerálních prvků díky lepšímu rozvoji kořenového systému, jehož formování huminové látky samy podporují (Aşik a kol., 2009). Zvýšení příjmu iontů kovů rostlinami úzce souvisí s povrchovou aktivitou aplikovaných huminových látek, díky níž jsou huminové látky schopny interagovat s fosfolipidovými membránami rostlinných buněk a ovlivňovat tak jejich permeabilitu (Çimrin a kol., 2010).

Získaná data ukazují, že dramatický nárůst obsahu Na⁺ iontů oproti kontrole je v listech způsobován oběma typy huminových produktů. Překvapivé je zjištění, že technická HA ve srovnání s Lignohumátem Max[®] omezila negativní hromadění Na⁺ iontů v rostlinném pletivu. Pozorován byl také pokles obsahu K⁺ iontů, který byl ve srovnání s kontrolními listy vyvolán oběma typy huminových produktů (Tab. 8). Rozdíly v působení produktů byly zaznamenány pouze na úrovni obsahu Ca⁺² iontů, kdy aplikace technické HA vyvolala při pH 7 pokles jeho obsahu (Tab. 8). Lignohumát Max[®] ovšem takovéto snížení obsahu Ca⁺² iontů nevyvolal (Tab. 8). Tato skutečnost může být zapříčiněna i samotným složením Lignohumátu Max[®], který obsahuje huminové látky nejen ve formě kyselin, ale také jejich solí.

Na základě všech výše uvedených výsledků lze konstatovat, že huminové látky stimulují růst nadzemních částí ječmene a navyšují příjem vybraných minerálních prvků. Jelikož technická huminová kyselina vykázala pozitivnější vliv na růst listů a efektivněji snižovala obsah sodíku v listech, byla vybrána pro další výzkum, kde byla aplikována spolu s NaCl do Hoaglandova roztoku, nebo postřikována přímo na listy (foliární aplikace).

Tab. 8 Vybrané fyziologické parametry a obsah vybraných minerálních prvků v listech ječmene jarního (*Hordeum vulgare*, cv. Radegast) vystavených 100 mM NaCl + 0,01% HA nebo 100 mM NaCl + 0,1% HA po dobu 7 dní.

	Kontrola	100 mM NaCl + 0,01% HA	100 mM NaCl + 0,1% HA
LH			
výška (cm)	16,37 ± 0,49a	14,13 ± 0,31b	14,33 ± 0,29b
obsah vody (%)	89,71 ± 0,16a	89,64 ± 1,42a	89,67 ± 2,28a
Na (mg·g ⁻¹ s. hm.)	1,66 ± 0,16b	29,94 ± 1,82a	27,99 ± 0,62a
K (mg·g ⁻¹ s. hm.)	2,84 ± 0,11a	1,82 ± 0,03b	1,74 ± 0,09b
Ca (mg·g ⁻¹ s. hm.)	0,742 ± 0,042a	0,703 ± 0,020a	0,711 ± 0,024a
HA _T			
výška (cm)	18,23 ± 1,12a	15,77 ± 0,76a	16,27 ± 1,10a
obsah vody (%)	90,14 ± 0,20a	89,34 ± 0,43ab	88,99 ± 0,37b
Na (mg·g ⁻¹ s. hm.)	0,457 ± 0,058c	20,78 ± 0,90b	27,01 ± 2,64a
K (mg·g ⁻¹ s. hm.)	2,93 ± 0,14a	1,27 ± 0,02b	1,23 ± 0,01b
Ca (mg·g ⁻¹ s. hm.)	0,679 ± 0,071a	0,438 ± 0,043b	0,493 ± 0,024b

Data jsou vyjádřena ± SDs ($n = 3$).

Hodnoty pro každý parametr následované stejným písmenem(-y) se signifikantně neliší podle Tukeyova testu ($P < 0,05$).

Pro experiment byly použity dvě různé huminové kyseliny (LH - Lignohumát Max[®] (Amagro Humic Substances, Česká republika) a HA_T - huminová kyselina v technické kvalitě (Sigma Aldrich, kat. č. 53680)) ve finální koncentraci 6 nebo 60 mg·l⁻¹ (0,01% a 0,1%) (při pH 7).

4.5 Vliv huminových kyselin a NaCl na metabolické odpovědi hydroponicky kultivovaného ječmene jarního cv. Radegast

4.5.1 Vliv na vybrané fyziologické parametry

Součástí studie bylo také zkoumat vliv huminových kyselin na metabolické odpovědi rostlin hydroponicky pěstovaného ječmene jarního cv. Radegast vystavených po dobu 7 dní působení 100 mM NaCl (Příloha 2). Na základě získaných dat bylo zjištěno, že vlivem 100 mM NaCl dochází oproti kontrolním rostlinám k signifikantnímu poklesu výšky listů a délky kořenů (Tab. 9), stejně tak jako to bylo pozorováno i u jiných druhů čeledi Poaceae (lipnicovité), např. u *Triticum aestivum* pěstované po dobu 55 dní v 1/5-Hoaglandově roztoku obsahujícím 80 a 120 mM NaCl (Jamal a kol., 2011). Redukce růstu listů vystavených působení NaCl byla také pozorována u dvou dalších kultivarů ječmene vystavených 150 mM NaCl po dobu 25 dní (Zheng a kol., 2011). Ochranný

účinek huminových kyselin vůči salinitě byl pozorován u mnoha obilnin, jako např. u kukuřice a pšenice (Khaled a Fawy, 2011). Aydin a kol. (2012) také zjistili, že huminové kyseliny nepůsobí pozitivně pouze na rostliny vystavené NaCl-stresu, ale zvyšují odolnost rostlin i vůči jiným environmentálním stresorům.

Výsledky výzkumu ukazují, že formování listové části rostlin vystavených stresu způsobenému solí je pozitivně ovlivňováno působením HAs, oproti listům z rostlin exponovaných pouze NaCl (Tab. 9). V kořenech rostlin pěstovaných v kultivačním roztoku obsahujícím NaCl nebyl zmírňující vliv HAs pozorován. Tato skutečnost je podporována také pozorováním Hossaina a kol (2004), kteří zmíněný fakt připisují vyšší citlivosti experimentálních rostlin k přítomnosti solí. Samotný negativní vliv NaCl na růst kořenů byl ozřejměn na kořenech kukuřice, u nichž došlo vlivem NaCl k redukcí prodlužovací zóny kořenových špiček (Zidan a kol., 1990). K omezení prodlužovacího růstu kořenových špiček může docházet také v důsledku vznikajícího oxidačního stresu (Obr. 8).

Získaná data ukázala, že obsah vody v listech je ovlivněn salinitou více než jeho obsah v kořenech (Tab. 9). Ke stejnému závěru došli i Yildiz a Terzi (2013), kteří pozorovali oproti kontrolním rostlinám signifikantní snížení obsahu vody v listech u NaCl-tolerantních i NaCl-citlivých kultivarů ječmene, které se u kořenové části rostlin neprojevovalo. HAs neovlivnily obsah vody ani u rostlin kultivovaných v přítomnosti samotné HA, ani aplikované v kombinaci s NaCl (Tab. 9). Podle Cha-uma a Kirdmaneeho (2009) je nízký osmotický potenciál v kultivačním médiu obsahující NaCl jedním z hlavních faktorů ovlivňujícím využití vody rostlinami ječmene, kukuřice i pšenice.

U rostlin ječmene jarního pěstovaných v živném médiu obsahujícím NaCl, samostatně nebo v kombinaci s HAs aplikovanými hydroponicky, nebo foliárně byla také sledována stabilita obsahu rozpustných proteinů. Zjištěním bylo, že u kořenů vystavených přímému působení 100 mM NaCl došlo ve srovnání s kontrolními kořeny k mírnému snížení obsahu rozpustných proteinů (Tab. 9). Po šestnáctidenní expozici NaCl (80 mM) byla inhibice obsahu rozpustných proteinů pozorována také v kořenech tolerantních kultivarů *Triticum aestivum* (Radl a kol., 2013).

Tab. 9 Vybrané fyziologické parametry u rostlin ječmene jarního (*Hordeum vulgare*, cv. *Radegast*) vystavených 100 mM NaCl, 0,01% HA nebo 100 mM NaCl s 0,01% HA aplikovanou hydroponicky nebo foliárně po dobu 7 dní.

		Kontrola	100 mM NaCl	0,01% HA	100 mM NaCl + 0,01% HA	100 mM NaCl + 0,01% HAfol.
listy	výška (cm)	19,37 ± 1,90a	12,23 ± 0,42c	21,00 ± 0,66a	16,23 ± 0,66b	18,00 ± 0,45ab
	obsah vody (%)	89,18 ± 0,27a	86,29 ± 0,49b	88,83 ± 1,04a	85,17 ± 0,70b	86,06 ± 1,33b
	rozpuštěné proteiny (mg·g ⁻¹ s. hm.)	14,95 ± 0,71a	17,09 ± 0,99a	16,06 ± 1,38a	17,96 ± 0,50a	17,95 ± 2,12a
kořeny	délka (cm)	12,80 ± 0,36a	7,20 ± 0,60b	13,37 ± 0,35a	7,80 ± 0,40b	8,07 ± 0,42b
	obsah vody (%)	92,96 ± 0,12a	90,01 ± 0,49a	93,58 ± 0,76a	93,21 ± 4,76a	90,37 ± 0,28a
	rozpuštěné proteiny (mg·g ⁻¹ s. hm.)	4,34 ± 0,27ab	3,80 ± 0,61b	4,43 ± 0,70ab	4,64 ± 0,25ab	5,06 ± 0,27a

Data jsou vyjádřena ± SDs ($n = 3$).

Hodnoty pro každý parametr následované stejným písmenem(-y) se signifikantně neliší podle Tukeyova testu ($P < 0,05$).

Kořeny a listy byly hodnoceny odděleně.

HA - huminová kyselina v technické kvalitě (SigmaAldrich, kat. č. 53680) ve finální koncentraci 6mg·l⁻¹ (0,01%) (při pH 7).

DleQueiroze a kol. (2012) by mělo vlivem působení NaCl docházet k intenzivní proteolýze, což by mělo mít za následek intenzivní pokles obsahu rozpustných proteinů. Tento trend ovšem získaná data neukázala (Tab. 9), důvodem k tomuto zjištění může být pravděpodobně kompenzační efekt proteosyntézy jiných stresově specifických proteinů. V listech ječmene nebyl obsah rozpustných proteinů ovlivněn ani salinitou ani přítomnými HAs (Tab. 9). K jeho mírnému nárůstu došlo u rostlin vystavených současnému působení NaCl a foliárně aplikované HA (Tab. 9).

4.5.2 Vliv na změny obsahu vybraných minerálních prvků

U rostlin ječmene pěstovaných v Hoaglandově roztoku byl obsah sodíku bezprostředně navyšován přítomností NaCl (Tab. 10). Navýšení obsahu sodíku bylo pozorováno i u jiných kultivarů ječmene, které byly ovšem vystaveny působení vyšších koncentrací NaCl (150 mM) (Ahmed a kol., 2013; Kamboj a kol., 2015). Velmi zajímavé je zjištění, že HAs jsou schopny snižovat nadměrnou akumulaci Na⁺ iontů v rostlinných pletivech (Tab. 10), které byly vystaveny podmínkám působení NaCl, což je ovšem v rozporu s předchozím pozorováním u jiných rostlinných druhů. Khaled a Fawy (2011) zjistili, že u rostlin kukuřice vystavených po dobu 60 dní téměř poloviční koncentraci NaCl (60 mM) spolu s 0,1% HA dochází k nárůstu obsahu sodíku. Z výše uvedeného tedy vyplývá, že navyšování obsahu sodíku závisí nejen na rostlinném druhu a jeho kultivaru, ale také na použité koncentraci NaCl a době expozice zásahu.

V listech ječmene NaCl negativně ovlivňoval obsahy draslíku, vápníku, železa a zinku (Tab. 10). Na druhou stranu, antagonistický efekt sodíku vyvolal snížení obsahu hořčíku v kořenech (Tab. 10). Tento nežádoucí dopad působení vlivu NaCl na obsah minerálních prvků byl pozorován u mnoha dalších rostlinných druhů včetně různých kultivarů *Triticum durum* vystavených 60 mM NaCl po dobu 35 dní (Aşik a kol., 2009). Snížení v příjmu nutrietů může být připisováno snížení osmotického potenciálu kultivačního média způsobeného zvýšením koncentrace NaCl (Khaled a Fawy, 2011).

Ve srovnání s NaCl interakce mezi NaCl a huminovými kyselinami neovlivnila většinu ze sledovaných makro- a mikronutrientů (Tab. 10). V kořenech pěstovaných v přítomnosti NaCl vyvolala hydroponicky přidaná HA nárůst obsahu železa, zatímco foliárně aplikovaná HA stimulovala akumulaci zinku (Tab. 10).

Tab. 10 Obsah vybraných minerálních prvků ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ s. hm.) stanovený u rostlin ječmene jarního (*Hordeum vulgare*, cv. Radegast) vystavených 100 mM NaCl, 0,01% HA nebo 100 mM NaCl s 0,01% HA aplikovanou hydroponicky nebo foliárně po dobu 7 dní.

		Kontrola	100 mM NaCl	0,01% HA	100 mM NaCl + 0,01% HA	100 mM NaCl + 0,01% HAfol.
listy	sodík	0,409 ± 0,063c	48,88 ± 2,34a	0,838 ± 0,081c	22,71 ± 3,36b	22,90 ± 3,05b
	draslík	4,09 ± 1,85a	2,03 ± 2,34b	3,65 ± 0,40ab	1,94 ± 0,21b	2,01 ± 0,22ab
	vápník	0,516 ± 0,036a	0,317 ± 0,025b	0,625 ± 0,068a	0,260 ± 0,076b	0,275 ± 0,021b
	hořčík	2,17 ± 0,19ab	1,58 ± 0,10ab	2,42 ± 0,22a	1,39 ± 0,48b	1,57 ± 0,45ab
	železo	0,101 ± 0,001a	0,066 ± 0,002b	0,084 ± 0,007ab	0,064 ± 0,003b	0,070 ± 0,002b
	zinek	0,055 ± 0,002a	0,036 ± 0,008b	0,035 ± 0,009b	0,029 ± 0,002b	0,028 ± 0,006b
kořeny	sodík	3,28 ± 0,32c	20,38 ± 3,70a	2,93 ± 0,74c	11,47 ± 2,09b	14,85 ± 0,84b
	draslík	2,99 ± 0,76a	1,24 ± 0,04a	4,16 ± 0,88a	0,393 ± 0,054a	0,434 ± 0,046a
	vápník	0,749 ± 0,155a	0,561 ± 0,087ab	0,565 ± 0,016ab	0,588 ± 0,070a	0,335 ± 0,041b
	hořčík	1,54 ± 0,37a	0,439 ± 0,036b	1,96 ± 0,015a	0,737 ± 0,076b	0,587 ± 0,029b
	železo	2,92 ± 0,74b	3,21 ± 0,52b	2,48 ± 0,29b	5,05 ± 0,25a	4,33 ± 0,51ab
	zinek	0,046 ± 0,011b	0,048 ± 0,007b	0,071 ± 0,010ab	0,067 ± 0,009b	0,093 ± 0,011a

Data jsou vyjádřena ± SDs ($n = 3$).

Hodnoty pro každý parametr následované stejným písmenem(-y) se signifikantně neliší podle Tukeyova testu ($P < 0,05$).

Kořeny a listy byly hodnoceny odděleně.

HA - huminová kyselina v technické kvalitě (SigmaAldrich, kat. č. 53680) ve finální koncentraci $6\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ (0,01%) (při pH 7).

4.5.3 Vliv na změny obsahu volných aminokyselin

Množství aminokyselin v rostlinách ječmene vystavených působení NaCl odhalilo, že kultivační medium obsahující NaCl signifikantně snižuje obsah asparaginu, glycinu, threoninu, argininu a alaninu v jejich listech (Tab. 11). V důsledku toho došlo vlivem NaCl ke snížení celkového obsahu aminokyselin. Oproti tomu obsah histidinu a prolinu nebyl působením NaCl ovlivněn. Výrazný pokles celkového obsahu aminokyselin byl pozorován i u jiných kultivarů ječmene vystavených mírné salinitě (100 mM NaCl) po dobu 60 h (Yousfi a kol., 2010). Nicméně tyto výsledky neodhalily žádné zvýšení obsahu aminokyseliny prolinu. Pozitivní korelace mezi rozsahem akumulace prolinu a koncentrací NaCl byla zjištěna u papriky křovité (*Capsicum frutescens*) exponované po dobu 5 měsíců sedmi různými koncentracemi NaCl (Zhani a kol., 2012). Prolin je významná aminokyselina, hrající důležitou roli v antioxidačním systému rostlin, kde působí jako vychytávač volných radikálů (Yildiz a Terzi, 2013). Nicméně je nutné podotknout, že obsah prolinu se u ječmene zvyšuje v závislosti na citlivosti daného kultivaru k NaCl (Chen a kol., 2007).

HAs mají zlepšující vliv na většinu monitorovaných volných aminokyselin s výjimkou histidinu, tyrosinu, valinu, leucinu a isoleucinu (Tab. 11). Interakcí mezi HA a NaCl došlo ke zvýšení akumulace asparaginu, glutamové kyseliny, glycinu a alaninu (Tab. 11). Mimoto foliární aplikace HA na rozdíl od hydroponické aplikace vyvolala zvýšení obsahu lysinu a fenylalaninu (Tab. 11), který je klíčovým prekurzorem fenylpropanoidové dráhy. V obou kombinovaných zásazích ve srovnání s NaCl-listy signifikantně poklesl obsah prolinu (Tab. 11). Výsledky naznačují, že vyšší koncentrace prolinu nemá souvislost se zvýšenou tolerancí ječmene k NaCl, ale jedná se pouze o důsledek dehydratace listů (De Lacerda a kol., 2006).

4.5.4 Vliv na změny obsahu fenolových kyselin

Součástí výzkumu bylo také zkoumat vliv huminových kyselin a NaCl na obsah fenolových kyselin. Z deseti monitorovaných fenolových kyselin NaCl snížilo v listech ječmene obsah *p*-hydroxybenzaldehydu, *p*-kumarové, *p*-hydroxybenzoové, protokatechové, salicylové, sinapové a vanilové kyseliny (Tab. 12). Tato data jsou v rozporu s výsledky zjištěnými v jiných rostlinných druzích, jako například v rajčatech (Ali a Ismail, 2014) a heřmánku (Kováčik a kol., 2009), kde jejich obsah vlivem NaCl

naopak narostl. Rozdíly v biosyntéze fenolových kyselin mohou také souviset s použitými experimentálními podmínkami (doba expozice, NaCl koncentrace, nádobový/hydroponický pokus), popřípadě i použitým rostlinným druhem. Podle Ksouriho a kol. (2008) a Radla a kol. (2013) mohou abiotické stresové faktory, mezi které řadíme také salinitu, zvyšovat biosyntézu fenolových kyselin jako odpověď na vzniklý oxidační stres. Z tohoto důvodu bylo překvapujícím zjištěním, že vlivem 100 mM NaCl došlo po sedmidenní kultivaci ječmene v jeho listech k akumulaci kyseliny syringové (Tab. 12). Dle Stanikunaiteho a kol. (2009) tato kyselina vykazuje v rostlinách silnou antioxidační aktivitu, stejně jako je tomu např. u jelenky obecné (*Elaphomyces granulatus*).

Aplikovaná HA v kombinovaném zásahu s NaCl vykazovala zlepšující efekt na kvantitativní změny obsahu *p*-hydroxybenzoové, salicylové, sinapové, syringové kyseliny a vanilinu oproti NaCl-rostlinám. Vzniklé fenolové kyseliny se tak mohou účinně zapojovat do antioxidačního systému rostlin. Předkládané výsledky tak naznačují, že aplikovaná HA je schopna zvyšovat biosyntézu fenolových kyselin u rostlin pěstovaných v podmínkách mírného zasolení.

4.5.5 Vliv na změny obsahu organických kyselin

Vliv solného stresu na ječmen byl sledován ve změnách obsahu organických kyselin v nadzemních i podzemních částech rostlin. V listech NaCl indukoval snížení většiny organických kyselin s výjimkou kyseliny jantarové (Tab. 13). Nadměrná akumulace kyseliny jantarové může vést k závažným metabolickým poškozením buněk. Narušením správné funkce glykolýzy a Krebsova cyklu může dojít k inhibici buněčného dýchání a následnému poškození buněčných struktur s neblahým dopadem na rozvoj listové části rostlin. Podobný negativní dopad salinity na buněčné dýchání byl pozorován u jiných kultivarů ječmene jarního (Khosravinejad a kol., 2008).

Velmi překvapivé je zjištění, že vlivem NaCl dochází v listech ječmene k akumulaci kyseliny jantarové. Mírná akumulace této kyseliny byla pozorována také v listech huseníčku rolního (*Arabidopsis thaliana*) vystavených působení 100 mM NaCl (Renault a kol., 2012). Podle studie Renaulta a kol. (2012) je pravděpodobným zdrojem sukcinátu mobilizovaného v podmínkách salinity metabolismus γ -aminobutyrové kyseliny, čímž dochází k zajištění správné funkce Krebsova cyklu.

V kořenech exponovaných NaCl došlo ve srovnání s kontrolou k signifikantnímu poklesu obsahu kyseliny citronové a jantarové (Tab. 13). Na druhou stranu tímto stresovým faktorem narostl obsah kyseliny mléčné a chinové. Pozorované zvýšení obsahu kyseliny mléčné může být důsledkem omezení respirace, ke kterému často dochází na zaplavovaných a podmáčených půdách. Kyselina mléčná, jakožto konečný produkt anaerobní glykolýzy, se ve stresových podmínkách vyskytuje méně často, ovšem dříve než etanolové kvašení, jelikož vzniklý etanol je pro buňky méně škodlivý (difunduje z buněk) a nezpůsobuje okyselení cytosolu vedoucí k buněčné smrti (Martinez a kol. 2013). Velmi překvapivým zjištěním je zvýšení obsahu kyseliny chinové u NaCl-exponovaných kořenů. Tato organická kyselina, vyskytující se volná nebo vázaná s fenolovými látkami ve formě esterů, je po dehydrataci přeměňována na kyselinu 3-dehydrochinovou, která je snadno redukována na kyselinu šikimovou. Od této kyseliny jsou poté odvozovány další sloučeniny, jako například kyselina gallová, kyselina chorismová (prekurzor fenylalaninu a tyrosinu), naftochinony, antrachinony, chloramfenikol aj. (Ghosh a kol., 2014).

Po přidavku HA do kultivačního média byl v listech v porovnání s kontrolou sledován pokles obsahu kyseliny citronové, jablečné a pyrohroznové a nárůst obsahu kyseliny mléčné, jakožto dalšího důkazu o probíhajících fermentačních procesech (Tab. 13). V kořenech došlo vlivem HA ke snížení obsahu kyseliny citronové, mléčné a pyrohroznové a k navýšení obsahu kyseliny jablečné a chinové ve srovnání s kontrolními kořeny (Tab. 13.). Kromě toho kombinované zásahy vyvolaly v listech ve srovnání s listy exponovanými NaCl nárůst obsahu kyseliny citronové, mléčné (pouze u foliární aplikace) a chinové (Tab. 13).

V kořenech vystavených společnému působení HA a NaCl byl pozorován nárůst obsahu kyseliny citronové, u foliárně aplikované HA poté i obsah kyseliny fumarové a jantarové (Tab. 13). Tyto výsledky naznačují, že HA může vykazovat pozitivní efekt na biosyntézu organických kyselin, zapojených do glykolýzy a Krebsova cyklu (Mattey, 1992).

Tab. 11 Obsah volných aminokyselin ($\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ s. hm.) v listech ječmene jarního (*Hordeum vulgare*, cv. Radegast) vystavených působení 100 mM NaCl, 0,01% HA nebo 100 mM NaCl spolu s 0,01% HA aplikovanou hydroponicky nebo foliárně po dobu 7 dní.

	Kontrola	100 mM NaCl	0,01% HA	100 mM NaCl + 0,01% HA	100 mM NaCl + 0,01% HA fol.
asparagin	3,34 ± 0,14c	2,12 ± 0,09d	6,62 ± 0,27a	4,74 ± 0,20b	4,38 ± 0,12b
glutamová kyselina	1,24 ± 0,22c	0,961 ± 0,001c	3,95 ± 0,10a	3,84 ± 0,09a	3,46 ± 0,05b
serin	2,83 ± 0,32b	2,26 ± 0,22b	4,93 ± 0,32a	2,35 ± 0,27b	2,30 ± 0,16b
histidin	0,083 ± 0,001b	0,138 ± 0,005a	0,086 ± 0,007b	0,127 ± 0,020a	0,115 ± 0,011ab
glycin	0,505 ± 0,065c	0,331 ± 0,039d	0,843 ± 0,024a	0,644 ± 0,029b	0,629 ± 0,005b
threonin	2,45 ± 0,02b	1,25 ± 0,11d	4,12 ± 0,20a	1,41 ± 0,13d	1,84 ± 0,01c
arginin	0,475 ± 0,014b	0,407 ± 0,011c	0,574 ± 0,021a	0,447 ± 0,032bc	0,410 ± 0,003c
alanin	12,6 ± 0,72d	9,20 ± 1,33e	22,91 ± 0,59a	16,81 ± 0,19c	19,06 ± 0,37b
tyrosin	0,623 ± 0,034a	0,517 ± 0,046ab	0,612 ± 0,023a	0,517 ± 0,042ab	0,416 ± 0,061b
cystein	0,570 ± 0,070b	0,554 ± 0,029b	0,818 ± 0,038a	0,532 ± 0,046b	0,615 ± 0,014b
valin	2,11 ± 0,23ab	1,87 ± 0,07b	2,38 ± 0,04a	1,91 ± 0,02b	2,23 ± 0,09a
metionin	n.d.	0,050 ± 0,001a	0,052 ± 0,007a	0,422 ± 0,001a	0,052 ± 0,010a
fenylalanin	0,571 ± 0,030b	0,559 ± 0,018b	0,734 ± 0,057a	0,557 ± 0,083b	0,807 ± 0,045a
leucin	0,745 ± 0,059a	0,666 ± 0,133a	0,829 ± 0,100a	0,689 ± 0,053a	0,836 ± 0,080a
isoleucin	1,28 ± 0,10ab	1,06 ± 0,17b	1,46 ± 0,17a	1,49 ± 0,17a	1,18 ± 0,08ab
lysin	0,262 ± 0,043b	0,221 ± 0,018b	0,352 ± 0,046a	0,324 ± 0,020ab	0,361 ± 0,019a
prolin	0,962 ± 0,177d	18,4 ± 1,33a	2,87 ± 0,16c	10,60 ± 0,54b	11,00 ± 0,59b
celkem	30,66 ± 0,42e	40,59 ± 1,71d	54,09 ± 0,59a	47,02 ± 0,47c	49,68 ± 0,60b

n.d. - nedetekováno

Data jsou vyjádřena ± SDs ($n = 3$).

Hodnoty pro každý parametr následované stejným písmenem(-y) se významně neliší podle Tukeyova testu ($P < 0,05$).

HA - huminová kyselina v technické kvalitě (SigmaAldrich, kat. č. 53680) ve finální koncentraci $6\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ (0,01%) (při pH 7).

Tab. 12 Akumulace fenolových kyselin ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ s. hm.) v listech ječmene jarního (*Hordeum vulgare*, cv. Radegast) vystavených působení 100 mM NaCl, 0,01% HA nebo 100 mM NaCl spolu s 0,01% HA aplikovanou hydroponicky nebo foliárně po dobu 7 dní.

	Kontrola	100 mM NaCl	0,01% HA	100 mM NaCl + 0,01% HA	100 mM NaCl + 0,01% HA fol.
ferulová kyselina	2,24 ± 0,53a	2,34 ± 0,51a	2,01 ± 0,06a	2,60 ± 0,38a	2,10 ± 0,10a
gallová kyselina	1,68 ± 0,17ab	1,07 ± 0,31b	2,11 ± 0,18a	1,46 ± 0,02b	1,85 ± 0,14ab
<i>p</i> -kumarová kyselina	2,78 ± 0,19a	1,42 ± 0,08b	2,32 ± 0,22ab	2,40 ± 0,09ab	2,65 ± 0,19ab
<i>p</i> -hydroxybenzaldehyd	1,86 ± 0,06a	1,43 ± 0,10b	1,50 ± 0,16b	1,52 ± 0,15b	1,70 ± 0,05ab
<i>p</i> -hydroxybenzoová kyselina	2,93 ± 0,21a	0,742 ± 0,023d	2,39 ± 0,17b	1,47 ± 0,12c	1,20 ± 0,11c
protokatechová kyselina	4,85 ± 1,06a	1,28 ± 0,38c	2,14 ± 0,21b	1,94 ± 0,11bc	2,05 ± 0,34b
salicylová kyselina	1,92 ± 1,62a	0,894 ± 0,202c	1,57 ± 0,06b	1,35 ± 0,27b	1,35 ± 0,39b
sinapová kyselina	5,82 ± 1,85ab	1,32 ± 0,45c	6,02 ± 0,25a	4,86 ± 1,97b	4,95 ± 3,31b
syringová kyselina	0,126 ± 0,065d	0,534 ± 0,708c	0,820 ± 0,643a	0,977 ± 0,133a	0,701 ± 0,612b
vanilová kyselina	7,45 ± 0,43a	4,18 ± 1,19d	6,29 ± 0,87b	5,47 ± 0,28c	4,48 ± 0,18d
vanilin	3,18 ± 0,63ab	3,26 ± 0,59ab	3,88 ± 0,78a	3,09 ± 0,22ab	2,64 ± 0,40b
celkem	35,24 ± 1,19a	18,52 ± 1,10d	30,76 ± 0,61b	27,11 ± 0,61c	25,84 ± 0,23c

Data jsou vyjádřena ± SDs ($n = 3$).

Hodnoty pro každý parametr následované stejným písmenem(-y) se signifikantně neliší podle Tukeyova testu ($P < 0,05$).

HA - huminová kyselina v technické kvalitě (SigmaAldrich, kat. č. 53680) ve finální koncentraci $6\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ (0,01%) (při pH 7).

Tab. 13 Akumulace vybraných organických kyselin ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ s. hm.) v rostlinách ječmene jarního (*Hordeum vulgare*, cv. Radegast) vystavených působení 100 mM NaCl, 0,01% HA nebo 100 mM NaCl spolu s 0,01% HA aplikovanou hydroponicky nebo foliárně po dobu 7 dní.

		Kontrola	100 mM NaCl	0,01% HA	100 mM NaCl + 0,01% HA	100 mM NaCl + 0,01% HA fol.
listy	citronová kyselina	11,5 ± 1,17a	1,74 ± 1,01d	7,22 ± 0,56b	5,38 ± 0,24c	6,67 ± 0,40bc
	fumarová kyselina	0,127 ± 0,003a	0,077 ± 0,034b	0,096 ± 0,005ab	0,097 ± 0,015ab	0,098 ± 0,003ab
	α -ketoglutarová kyselina	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	mléčná kyselina	0,030 ± 0,002c	0,026 ± 0,002c	0,106 ± 0,017a	0,048 ± 0,005bc	0,058 ± 0,005b
	jablečná kyselina	2,11 ± 0,15a	1,13 ± 0,35b	1,20 ± 0,24b	1,35 ± 0,27b	1,26 ± 0,34b
	pyrohroznová kyselina	11,90 ± 0,84a	0,044 ± 0,004b	0,053 ± 0,007b	0,035 ± 0,002b	0,056 ± 0,004b
	chinová kyselina	1,58 ± 0,44a	0,241 ± 0,011b	2,19 ± 0,34a	1,73 ± 0,20a	1,51 ± 0,08a
kořeny	jantarová kyselina	0,106 ± 0,013b	0,423 ± 0,021a	0,107 ± 0,021b	0,383 ± 0,031a	0,127 ± 0,004b
	citronová kyselina	1,48 ± 0,10a	0,041 ± 0,002c	0,021 ± 0,002d	0,098 ± 0,002b	0,087 ± 0,003b
	fumarová kyselina	0,077 ± 0,003ab	0,072 ± 0,005b	0,097 ± 0,003a	0,084 ± 0,007ab	0,100 ± 0,008a
	α -ketoglutarová kyselina	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	mléčná kyselina	0,035 ± 0,002b	0,069 ± 0,005a	0,012 ± 0,001c	0,071 ± 0,006a	0,039 ± 0,001b
	jablečná kyselina	1,13 ± 0,15b	1,20 ± 0,09ab	1,35 ± 0,11a	1,26 ± 0,09a	1,08 ± 0,05b
	pyrohroznová kyselina	0,047 ± 0,003b	0,053 ± 0,004ab	0,035 ± 0,003c	0,056 ± 0,004ab	0,064 ± 0,002a
	chinová kyselina	0,247 ± 0,016c	2,19 ± 0,18a	0,725 ± 0,004b	0,825 ± 0,01b	2,97 ± 0,83a
jantarová kyselina	0,422 ± 0,021a	0,107 ± 0,011c	0,383 ± 0,027a	0,126 ± 0,010bc	0,139 ± 0,009b	

n.d. - nedetekováno

Data jsou vyjádřena ± SDs ($n = 3$).

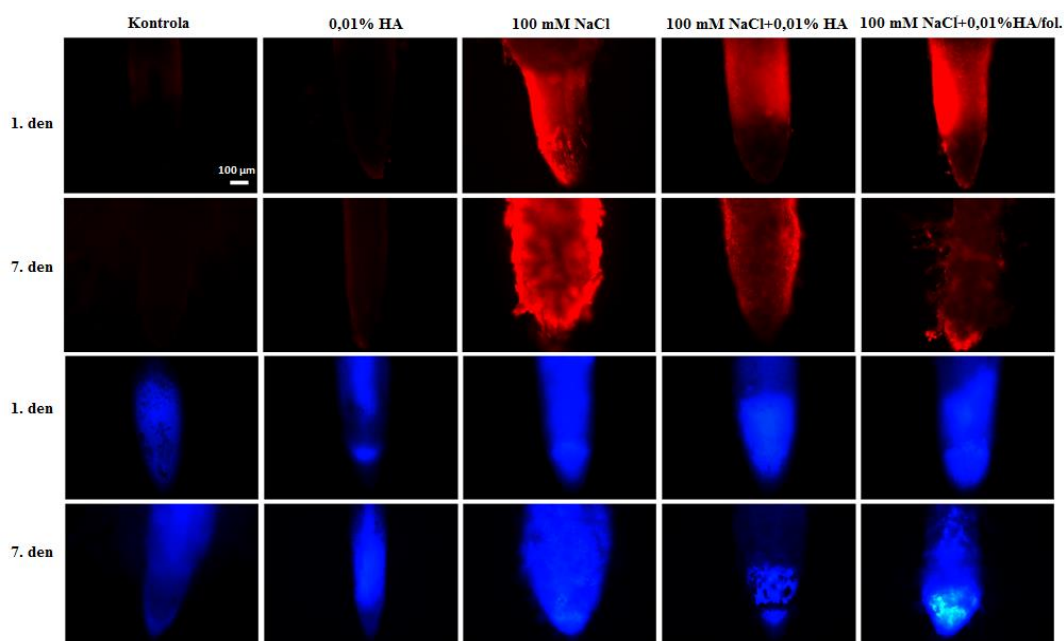
Kořeny a listy byly hodnoceny odděleně.

Hodnoty pro každý parametr následované stejným písmenem(-y) se signifikantně neliší podle Tukeyova testu ($P < 0,05$).

HA - huminová kyselina v technické kvalitě (SigmaAldrich, kat. č. 53680) ve finální koncentraci $6\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ (0,01%) (při pH 7).

4.5.6 Vliv na tvorbu ROS a oxidu dusnatého

Tvorba ROS a oxidu dusnatého byla vizualizovaná pomocí fluorescenční mikroskopie v kořenových špičkách ječmene za použití komerčně dostupných fluorescenčních barviv (Obr. 9). K nejintenzivnějšímu nárůstu přítomných ROS došlo v přítomnosti samotného působení NaCl. Aplikace HA vykázala na úroveň oxidačního poškození téměř protektivní účinek (Obr. 9). HA aplikovaná v kombinaci s NaCl účinně omezovala tvorbu ROS (snížení intenzity signálu barviva CellROX[®] Deep Red Reagent; červený signál) ve srovnání s jejich formováním v kořenových špičkách NaCl-rostlin (Obr. 9). Stejný trend vykázala HA i v případě tvorby NO (snížení intenzity barviva 2,3-diaminonafthalenu; modrý signál) (Obr. 9). Z výsledků je tedy naprosto zřejmé, že HA je schopna tlumit formování ROS a NO v rostlinách vystavených zasolení. K omezení tvorby ROS a NO dochází pravděpodobně z toho důvodu, že HAs obsahují ve své struktuře –OH a –COOH skupiny, jež se vyznačují antioxidačními vlastnostmi.

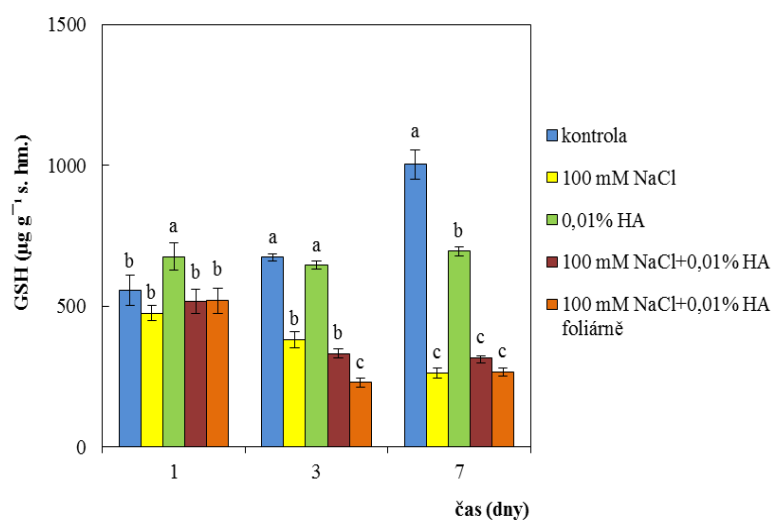


HA - huminová kyselina v technické kvalitě (Sigma Aldrich, kat. č. 53680) v množství 6mg·l⁻¹

Obr. 9 Fluorescenční mikroskopie reaktivních kyslíkatých částic a oxidu dusnatého v kořenových špičkách ječmene jarního cv. Radegast exponovaných po dobu 7 dní 100 mM NaCl, 0,01% HA nebo 100 mM NaCl + 0,01% HA aplikovanou hydroponicky nebo foliárně (při pH 7,0) pomocí CellROX[®] Deep Red Reagent (červený signál) a 2,3-diaminonafthalenu (modrý signál).

4.5.7 Vliv na změny obsahu neenzymatických antioxidantů

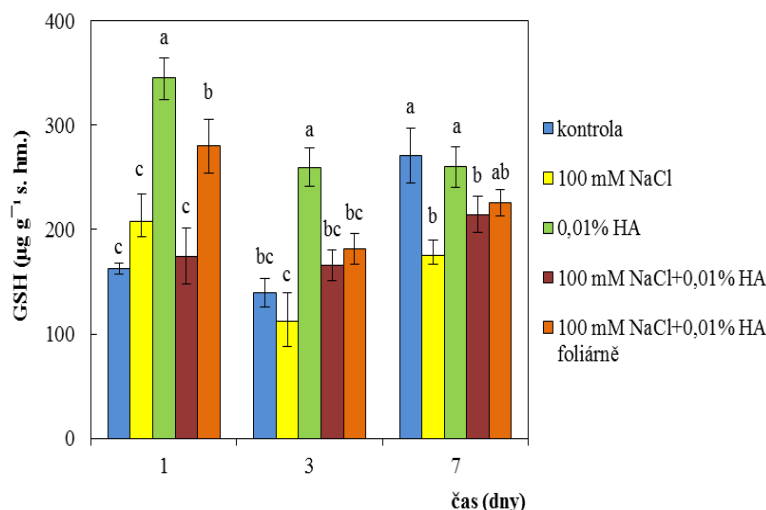
Součástí předkládané práce bylo také monitorovat kvantitativní změny hlavních neenzymatických antioxidantů, jako například kyseliny askorbové (AsA), redukované formy glutathionu (GSH) a fytochelatinu 2 (PC2). Glutathion je z chemického hlediska tripeptid, složením gama-glutamyl-cysteinyl-glycin, vyskytující se ve dvou formách – redukované (GSH) a oxidované (GSSG). Samotný GSH je významným markrem oxidačního stresu. Princip antioxidačního účinku glutathionu je založen na skutečnosti, že GSH je slabé redukční činidlo vzhledem k obsahu sulfhydrylové funkční skupiny v přítomném cysteinu. Mechanismus účinku při působení volných kyslíkových radikálů spočívá v oxidaci sulfhydrylové skupiny, čímž vzniká disulfidická skupina a glutathion se tak následně přeměňuje v dimer (GSSG). Oxidovaná forma glutathionu je účinkem glutathionreduktázy přeměňována zpět na GSH (Gill a Tuteja, 2010). Dle výsledků výzkumu salinita indukovala časově závislé snížení obsahu GSH v listech ječmene (Obr. 10). To je v souladu s daty, kde 20 mM NaCl snížilo množství GSH v listech na sůl citlivých rostlin ječmene po šestidenní době expozice (Liang a kol., 2006).



Data jsou vyjádřena \pm SDs ($n = 3$). Hodnoty ve sloupcích následované stejným písmenem(-y) se signifikantně neliší podle Tukeyova testu ($P < 0,05$). HA - huminová kyselina v technické kvalitě (SigmaAldrich, kat. č. 53680) ve finální koncentraci $6\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ (0,01%) (při pH 7).

Obr. 10 Kvantitativní změny obsahu redukované formy glutathionu (GSH) v listech ječmene jarního cv. Radegast pěstovaného v roztoku obsahujícím 100 mM NaCl, 0,01% HA nebo 100 mM NaCl s 0,01% HA aplikovanou hydroponicky, či foliárně po dobu 1, 3 nebo 7 dní.

Ve srovnání s kontrolními kořeny ječmene byl pozorován pokles obsahu GSH jak u kořenů vystavených působení NaCl, tak kombinovaným zásahům (Obr. 11). Nicméně GSH není pouze antioxidantem, ale také prekurzorem pro syntézu fytochelatinu (PC).



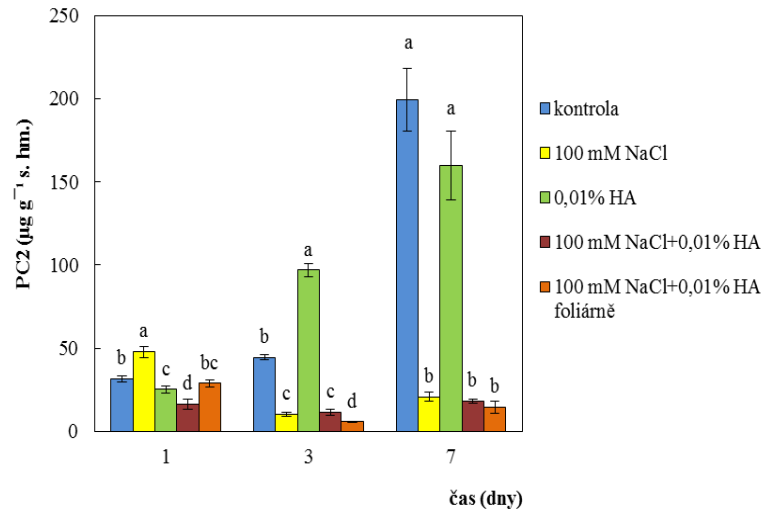
Data jsou vyjádřena \pm SDs ($n = 3$). Hodnoty ve sloupcích následované stejným písmenem(-y) se významně neliší podle Tukeyova testu ($P < 0,05$). HA - huminová kyselina v technické kvalitě (SigmaAldrich, kat. č. 53680) ve finální koncentraci $6\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ (0,01%) (při pH 7).

Obr. 11 Kvantitativní změny obsahu redukované formy glutathionu (GSH) v kořenech ječmene jarního cv. Radegast pěstovaného v roztoku obsahujícím 100 mM NaCl, 0,01% HA nebo 100 mM NaCl s 0,01% HA aplikovanou hydroponicky, či foliárně po dobu 1, 3 nebo 7 dní.

Fytochelatin (PCs) jsou post-translačně syntetizované polythioly hrající důležitou roli v detoxikaci těžkých kovů. Poprvé byly popsány v kvasince *Schizosaccharomyces pombe* a dále pak v rostlinách a řasách. Celá rodina fytochelatinů se skládá z dipeptidické repetice γ -glu-cys, která je zakončena aminokyselinou glycinem. PCs jsou neribozomálně syntetizovány z glutathionu pomocí enzymu fytochelatin syntetázy (PCS) (Diwan a kol., 2010). Akumulace PCs pod vlivem salinity je do současnosti prozkoumána pouze omezeně (Figueroa a kol., 2008).

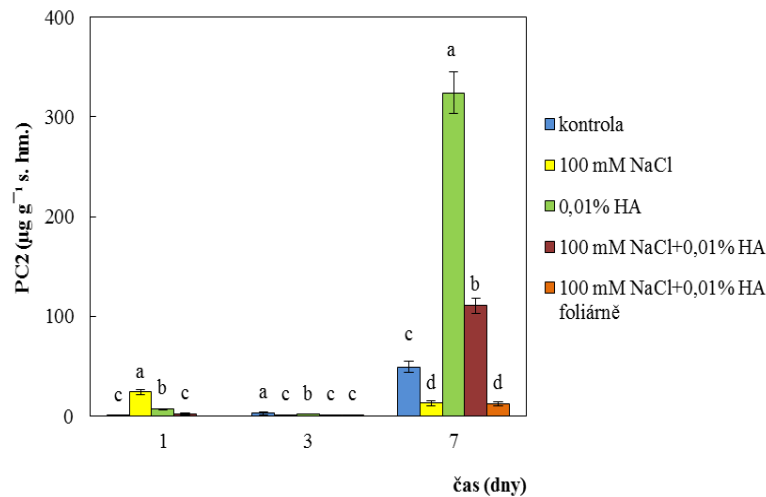
NaCl přidaný do kultivačního roztoku vyvolal v kořenech i listech ječmene časově závislé snížení obsahu PC2 (Obr. 12, 13). Tato skutečnost odporuje datům zjištěným u kořenů kajanu indického (*Cajanus cajan*), kde hladina PC2 nebyla po dobu 60 dní při působení 60 mM NaCl ovlivněna (Garg a Chandel, 2012). Překvapivé je zjištění, že HA aplikovaná do kultivačního roztoku je schopna indukovat rychlou biosyntézu

PC2 v kořenech (Obr. 13). Tato skutečnost může být způsobena schopností HA stimulovat příjem minerálních prvků z kultivačního média (Garg a Changel, 2012).



Data jsou vyjádřena \pm SDs ($n = 3$). Hodnoty ve sloupcích následované stejným písmenem(-y) se významně neliší podle Tukeyova testu ($P < 0,05$). HA - huminová kyselina v technické kvalitě (SigmaAldrich, kat. č. 53680) ve finální koncentraci $6\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ (0,01%) (při pH 7).

Obr. 12 Kvantitativní změny obsahu fytochelatinu 2 (PC2) v listech ječmene jarního cv. Radegast pěstovaného v roztoku obsahujícím 100 mM NaCl, 0,01% HA nebo 100 mM NaCl s 0,01% HA aplikovanou hydroponicky, či foliárně po dobu 1, 3 nebo 7 dní.

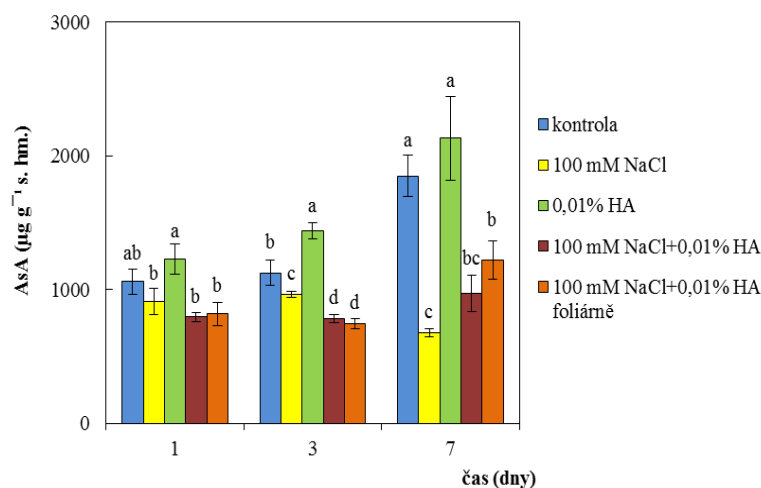


Data jsou vyjádřena \pm SDs ($n = 3$). Hodnoty ve sloupcích následované stejným písmenem(-y) se významně neliší podle Tukeyova testu ($P < 0,05$). HA - huminová kyselina v technické kvalitě (SigmaAldrich, kat. č. 53680) ve finální koncentraci $6\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ (0,01%) (při pH 7).

Obr. 13 Kvantitativní změny obsahu fytochelatinu 2 (PC2) v kořenech ječmene jarního cv. Radegast pěstovaného v roztoku obsahujícím 100 mM NaCl, 0,01% HA nebo 100 mM NaCl s 0,01% HA aplikovanou hydroponicky, či foliárně po dobu 1, 3 nebo 7 dní.

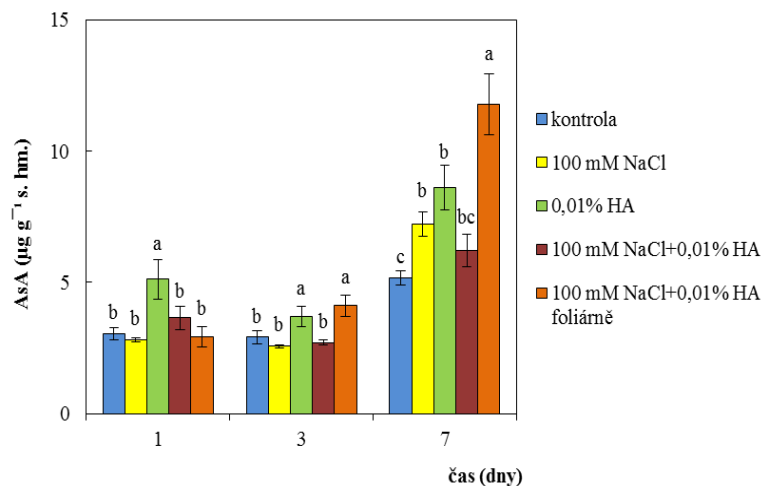
Kyselina askorbová (AsA) je jedním z hlavních metabolitů rostlin. Tento důležitý antioxidant ve spolupráci s ostatními složkami antioxidačního systému chrání rostliny proti poškození způsobovaným ROS, jejichž tvorba je v důsledku aerobního metabolismu rostlin, fotosyntézy, působení patogenů a dalších environmentálních stresových podmínek. Kromě antioxidační funkce a funkce enzymového kofaktoru, se AsA podílí na buněčném dělení, redukci iontů některých přechodných kovů a regeneraci α -tokoferolu (Miller a kol., 2010). AsA byla dle získaných dat akumulována přednostně v listech ječmene, kde NaCl indukoval časově závislé snížení obsahu AsA (Obr. 14). Tato skutečnost je v rozporu s daty Pérez-Lópeze a kol. (2010), kteří pozorovali zvýšení obsahu AsA v listech ječmene exponovaných po dobu 14 dní 160 mM NaCl. Přestože obsah AsA zjištěný v kořenech je stokrát nižší než v listech, byl pozorován jeho intenzivní nárůst jako odpověď na přítomný stres sedmidenní expozicí 100 mM NaCl (Obr. 15).

Foliárně aplikovaná HA vyvolala nejvýznamnější časově závislé změny obsahu AsA v NaCl-exponovaných kořenech (Obr. 15). Tato zjištění mohou potvrzovat obě role GSH, antioxidační i biosyntetickou, odrážející se v mírném snížení obsahu AsA a postupném zvyšování obsahu PC2.



Data jsou vyjádřena \pm SDs ($n = 3$). Hodnoty ve sloupcích následované stejným písmenem(-y) se signifikantně neliší podle Tukeyova testu ($P < 0,05$). HA - huminová kyselina v technické kvalitě (SigmaAldrich, kat. č. 53680) ve finální koncentraci $6\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ (0,01%) (při pH 7).

Obr. 14 Kvantitativní změny obsahu kyseliny askorbové (AsA) v listech ječmene jarního cv. Radegast pěstovaného v roztoku obsahujícím 100 mM NaCl, 0,01% HA nebo 100 mM NaCl s 0,01% HA aplikovanou hydroponicky, či foliárně po dobu 1, 3 nebo 7 dní.



Data jsou vyjádřena \pm SDs ($n = 3$). Hodnoty ve sloupcích následované stejným písmenem(-y) se významně neliší podle Tukeyova testu ($P < 0,05$). HA - huminová kyselina v technické kvalitě (SigmaAldrich, kat. č. 53680) ve finální koncentraci $6\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ (0,01%) (při pH 7).

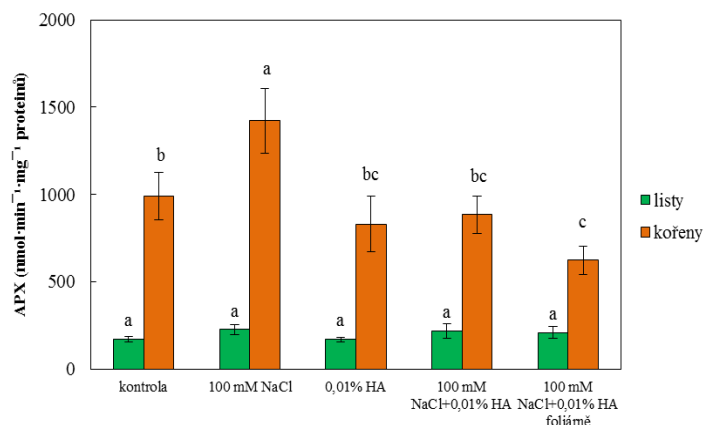
Obr. 15 Kvantitativní změny obsahu kyseliny askorbové (AsA) v kořenech ječmene jarního cv. Radegast pěstovaného v roztoku obsahujícím 100 mM NaCl, 0,01% HA nebo 100 mM NaCl s 0,01% HA aplikovanou hydroponicky, či foliárně po dobu 1, 3 nebo 7 dní.

4.5.8 Vliv na změny aktivit antioxidantních enzymů

V rostlinách ječmene byla také sledována změna aktivit antioxidantních enzymů při jejich vystavení působení NaCl a HAS. Monitorovány byly enzymy askorbát peroxidáza (APX), glutathion reductáza (GR), kataláza (CAT) a superoxid dismutáza (SOD). Aktivity všech vybraných antioxidantních enzymů byly po sedmidenní expozici NaCl ve srovnání s listy vyšší v kořenech (Obr. 16 – 19). K nárůstu aktivit antioxidantních enzymů došlo v souvislosti se zvýšením tvorby ROS, která byla vizualizovaná pomocí fluorescenční mikroskopie (zvýšení intenzity signálu barviva CellROX[®] Deep Red Reagent; červený signál) (Obr. 9). Aktivity enzymů APX, GR, CAT a SOD jsou v podmínkách vysokých koncentrací solí (200 mM NaCl) navyšované velmi rychle (během 1 dne) a poté jsou udržovány na různě vysokých hladinách (Kim a kol., 2005). Seckin a kol. (2010) pozorovali, že i nižší koncentrace NaCl (150 mM) může v rostlinách ječmene vyvolat nárůst většiny antioxidantních enzymů s výjimkou SOD.

Enzym askorbát peroxidáza se nachází v cytoplazmě a chloroplastech rostlinných buněk, kde je schopna snižovat hladinu peroxidu vodíku. Působením NaCl se aktivita tohoto enzymu významně zvýšila pouze v kořenech (Obr. 16). Ke stejnému

závěru došli i Yildiz a Terzi (2013) z dat získaných od NaCl-tolerantních kultivarů ječmene.



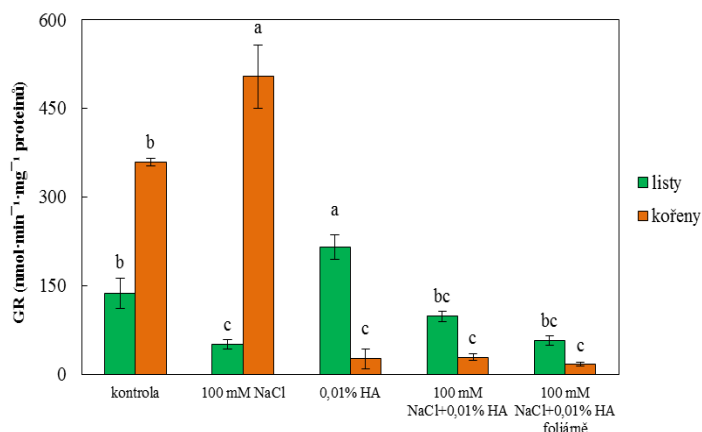
Data jsou vyjádřena \pm SDs ($n = 3$). Hodnoty ve sloupcích následované stejným písmenem(-y) se významně neliší podle Tukeyova testu ($P < 0,05$). Kořeny a listy byly hodnoceny odděleně. HA - huminová kyselina v technické kvalitě (SigmaAldrich, kat. č. 53680) ve finální koncentraci $6\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ (0,01%) (při pH 7).

Obr. 16 Změny v aktivitě enzymu askorbát peroxidázy (APX) v rostlinách ječmene jarního cv. Radegast po sedmidenní aplikaci 100 mM NaCl, 0,01% HA nebo 100 mM NaCl s 0,01% HA aplikovanou hydroponicky, či foliárně.

Snížení aktivity GR bylo sledováno v listech ječmene exponovaných NaCl (Obr. 17). Toto snížení aktivity GR koresponduje s pozorovaným snížením obsahu GSH (Obr. 10), jehož aktivitou je GSH obnovován. Aktivity enzymů CAT (Obr. 18) a SOD (Obr. 19), které jsou zapojeny do odbourávání ROS (H_2O_2 a/nebo $\text{O}_2^{\cdot-}$), byly v listech exponovaných 100 mM NaCl mírně navýšeny. Zvýšení aktivity enzymu SOD bylo také pozorováno v listech desetidenních rostlin ječmene vystavených působení 100 mM NaCl (Jin a kol., 2009).

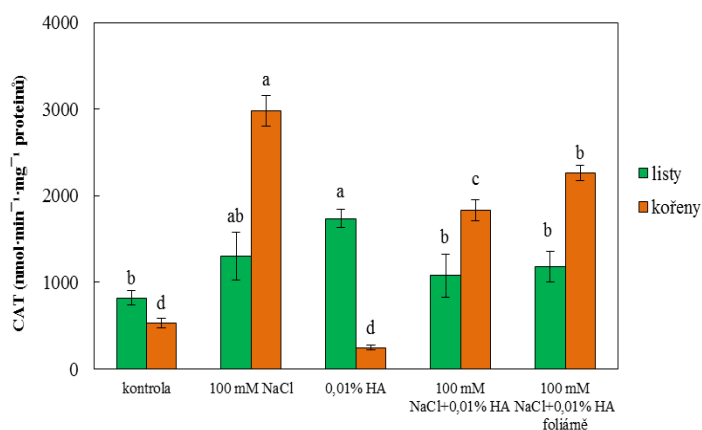
Změny antioxidantních enzymů způsobené vlivem HA do této doby byly zkoumány pouze povrchně (García a kol., 2012). Aplikovaná HA vyvolala u listů ječmene zvýšení aktivity enzymů GR a CAT a ve srovnání s kontrolními rostlinami indukovala inhibici aktivity GR v listech (Obr. 17 – 19). Toto zjištění je v souladu s daty, kde různé koncentrace HAs ($20, 40$ a $80\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$) vyvolaly zvýšení aktivity enzymů CAT a SOD v listech *Oryza sativa* po 8 a 24 h expozice (García a kol., 2012). Nicméně vliv huminových látek na antioxidantní aktivitu enzymů u rostlin pěstovaných v přítomnosti NaCl je zcela neznámý. Bylo zjištěno, že aplikovaná HA snižuje aktivitu enzymů CAT, GR a SOD v kořenech (ve srovnání s kořeny vystavenými pouze NaCl; Obr. 17 - 19),

což může mít také souvislost se snížením tvorby ROS (Obr. 9). Na základě těchto zjištění dospělo k závěru, že HAs jsou schopny redukovat oxidační poškození kořenů rostlin vystavených působení NaCl úpravou antioxidační aktivity jejich enzymů.



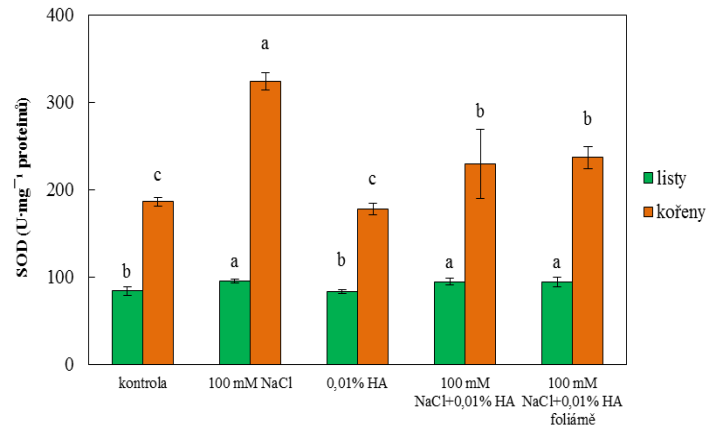
Data jsou vyjádřena \pm SDs ($n = 3$). Hodnoty ve sloupcích následované stejným písmenem(-y) se signifikantně neliší podle Tukeyova testu ($P < 0,05$). Kořeny a listy byly hodnoceny odděleně. HA - huminová kyselina v technické kvalitě (SigmaAldrich, kat. č. 53680) ve finální koncentraci $6\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ (0,01%) (při pH 7).

Obr. 17 Změny v aktivitě enzymu glutathion reduktázy (GR) v rostlinách ječmene jarního cv. Radegast po sedmidenní aplikaci 100 mM NaCl, 0,01% HA nebo 100 mM NaCl s 0,01% HA aplikovanou hydroponicky, či foliárně.



Data jsou vyjádřena \pm SDs ($n = 3$). Hodnoty ve sloupcích následované stejným písmenem(-y) se signifikantně neliší podle Tukeyova testu ($P < 0,05$). Kořeny a listy byly hodnoceny odděleně. HA - huminová kyselina v technické kvalitě (SigmaAldrich, kat. č. 53680) ve finální koncentraci $6\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ (0,01%) (při pH 7).

Obr. 18 Změny v aktivitě enzymu katalázy (CAT) v rostlinách ječmene jarního cv. Radegast po sedmidenní aplikaci 100 mM NaCl, 0,01% HA nebo 100 mM NaCl s 0,01% HA aplikovanou hydroponicky, či foliárně.



Data jsou vyjádřena \pm SDs ($n = 3$). Hodnoty ve sloupcích následované stejným písmenem(-y) se signifikantně neliší podle Tukeyova testu ($P < 0,05$). Kořeny a listy byly hodnoceny odděleně. HA - huminová kyselina v technické kvalitě (SigmaAldrich, kat. č. 53680) ve finální koncentraci $6\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ (0,01%) (při pH 7).

Obr. 19 Změny v aktivitě enzymu superoxid dismutázy (SOD) v rostlinách ječmene jarního cv. Radegast po sedmidenní aplikaci 100 mM NaCl, 0,01% HA nebo 100 mM NaCl s 0,01% HA aplikovanou hydroponicky, či foliárně.

5 ZÁVĚR

Salinita je stresovým faktorem prostředí vyvolávající u rostlin komplexní změny ve fyziologii, morfologii a metabolismu. Sledován byl vliv salinity vyvolaný aplikací různých sodných solí (NaCl a Na₂SO₄) na změnu fyziologických parametrů a příjem vybraných minerálních prvků (sodík, vápník, draslík) rostlinami ječmene jarního. Výsledkem působení tohoto abiotického stresoru byla indukce změny růstu rostlin lišící se v závislosti na použitém kultivaru a pH aplikovaného solného roztoku. Růst listové i kořenové části klíčenců byl aplikací sodných roztoků po úpravě na pH 4 značně redukován, což platí v obecné rovině i o stanoveném obsahu vody v listech. Jako nejodolnější se vůči účinku sodných solí projevil kultivar Bojos. Neutrální podmínky kultivace do značné míry potlačily inhibici rostlinného růstu. Dalším pozorovaným dopadem sodných solí na obilky sladovnického ječmene bylo omezení jejich klíčivých parametrů. Aplikace síranové soli vyvolala nezávisle na pH kultivačního roztoku snížení klíčivé energie obilek o více než 50 %, aplikace chloridové soli poté o téměř 30 %. Nejvyšší citlivost k zasolení prokázal kultivar Radegast, u kterého došlo vlivem solí nejen k retardaci rostlinného růstu a snížení obsahu vody v pletivech, ale byla u něj také pozorována nadměrná akumulace sodíku v listech. Vyjma fyziologických změn byla v kořenových špičkách kultivaru Radegast fluorescenčně vizualizovaná intenzivní NaCl-indukovaná tvorba ROS narušující oxidační rovnováhu rostlin.

Humínové látky jsou po aplikaci do půdy schopny nepřímo zlepšovat fyziologický stav rostlin. Následný experiment pro srovnání různých druhů huminových látek odhalil na rostlinách kultivaru Radegast vystavených působení NaCl, že technická HA, zejména pak aplikovaná v nižších dávkách (6,0 mg·l⁻¹), stimuluje růst a současně účinně omezuje hromadění sodíku v listech. Ve srovnání s technickou HA Lignohumát Max[®] představující směs huminových a fulvových kyselin a jejich solí nevykázal v nižších dávkách výraznější schopnost omezovat hromadění sodíku.

Kromě fyziologických parametrů jsou huminové látky schopny v rostlinách stimulovat řadu biochemických a metabolických procesů. Experiment provedený na hydroponicky pěstovaném kultivaru Radegast, zaměřený na zjišťování schopnosti HA snižovat toxicitu NaCl potvrdil, že HA jsou schopny pozitivně působit na růst rostlin a akumulaci vybraných metabolitů včetně kyseliny syringové, kyseliny mléčné,

volných aminokyselin a neenzymatických antioxidantů (AsA, GSH a PC2) v listech a kyseliny chinové a jablečné v kořenech. Na druhou stranu oxidační stres vyvolaný působením NaCl podnítil v listové části rostlin pokles obsahu většiny volných aminokyselin (s výjimkou prolinu a histidinu), fenolových kyselin a výše uvedených antioxidantů. Indukce oxidačního stresu byla také evidentní ze zvýšené aktivity antioxidantních enzymů (APX, CAT, GR a SOD) patrné obzvláště v NaCl-exponovaných kořenech. Aplikovaná HA byla schopna vzniklý oxidační stres účinně omezovat, což je patrné nejen ze snížení příjmu sodíku rostlinami, ale i z výsledků fluorescenční mikroskopie.

Při srovnání hydroponicky a foliárně aplikované HA bylo zjištěno, že obě varianty vykazují téměř stejné výsledky. Změny byly zaznamenány například na úrovni signifikantního snížení obsahu kyseliny jantarové v listech a kyseliny mléčné v kořenech u NaCl-rostlin vystavených foliární aplikaci HA. Tento trend nebyl u HA aplikované do živného roztoku obsahujícího NaCl pozorován. Získaná data tedy ukazují na příznivý účinek HAs v ochraně citlivých kultivarů ječmene proti negativním účinkům NaCl.

6 POUŽITÁ LITERATURA

- AHMED, I. M.; DAI, H.; ZHENG, W.; CAO, F.; ZHANG, G.; SUN, D.; WU, F. Genotypic differences in physiological characteristics in the tolerance to drought and salinity combined stress between Tibetan wild and cultivated barely. *Plant Physiol. Biochem.* 2013, č. 63, s. 49-60.
- AHMED, I. M.; NADIRA, U. A.; BIBI, N.; CAO, F. B.; HE, X. Y.; ZHANG, G. P.; WU, F. B. Secondary metabolism and antioxidants are involved in the tolerance to drought and salinity, separately and combined, in Tibetan wild barley. *Environ. Exp. Botany.* 2015, č. 111, s. 1-12.
- ALI, S.; ZENG, F.; CAI, S.; QUI, B.; ZHANG, G. The interaction of salinity and chromium in the influence of barley growth and oxidative stress. *Plant Soil Environ.* 2011, č. 57, s. 153-159.
- ALI, H. E. M.; ISMAIL, G. S. M. Tomato fruit quality as influenced by salinity and nitric oxide. *Turk. J. Bot.* 2014, č. 38, s. 122-129.
- AL-KARAKI, G. N. Germination, sodium, and potassium concentrations of barley seeds as influenced by salinity. *J. Plant Nutr.* 2001, č. 24, 511-522.
- ALLBED, A.; KUMAR, L.; SINHA, P. Mapping and modelling spatial variation in soil salinity in the Al Hassa Oasis based on remote sensing indicators and regression techniques. *Remote Sens.* 2014, č. 6, s. 1137-1157.
- Amagro, Humic Substance. Lignohumát Max. *Amagro.com* [online]. 2008 [cit. 2015-03-20]. Dostupné z: <http://www.amagro.com/lignohumat-max.html>.
- ARANCON, N. Q.; LEE, S.; EDWAEDS, C. A.; ATIYEH, R. Effects of humic acids derived from cattle, food and paper-waste vermicomposts on growth of greenhouse plants. *Pedobiologia.* 2004, č. 47, s. 741-744.
- ASHRAF M., FOOLAND M. A. Improving plant abiotic-stress resistance by exogenous application of osmoprotectants glycine, betaine and proline. *Environ. Exp. Bot.* 2007, č. 59, 206-216.
- AŞIK, B. B.; TURAN, M. A.; ÇELİK, H.; KATKAT, A. V. Effect of humic substances on plant growth and mineral nutrients uptake of wheat (*Triticum durum* cv. Salihli) under conditions of salinity. *Asian J. Crop Sci.* 2009, č. 1, 87-95.
- ATKINSON, N. J., URWIN, P. E. The interaction of plant biotic and abiotic stresses: from genes to the field. *J. Exp. Bot.* 2012, č. 63, s. 3523-3544.

- AYDIN, A., KANT, C., TURAN, M. Humic acid application alleviate salinity stress of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) plants decreasing membrane leakage. *Afr. J. Agric. Res.* 2012, č. 7, s. 1073-1086.
- BAZRAFESHAN, A. H.; EHSANZADEH, P. Growth, photosynthesis and ion balance of sesame (*Sesamum indicum* L.) genotypes in response to NaCl concentration in hydroponic solutions. *Photosynthetica.* 2014, č. 52, s. 134-147.
- BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 1976, č. 72, s. 248-254.
- BRUNETTI, G.; SENESI, N.; PLAZA, C. Effect of amendment with treated and untreated olive oil mill wastewaters on soil properties, soil humic substances and wheat yield. *Geoderma.* 2007, č. 138, s. 144-152.
- CANELLAS, L. P.; OLIVARES, F. L.; OKOROKOVA-FAÇANHA, A. L.; FAÇANHA, A. R. Humic acids isolated from earthworm compost enhance root elongation, lateral root emergence and plasma membrane H⁺-ATPase activity in maize roots. *Plant Physiol.* 2002, č. 130, s. 1951-1957.
- CARLETTI, P.; MASI, A.; SPOLAORE, B.; DE LAURETO, P. P.; DE ZORZI, M.; TURETTA, L.; FERRETTI, M.; NARDI, S. Protein expression changes in maize roots in response to humic substances. *J. Chem. Ecol.* 2008, č. 34, s. 804-818.
- ÇIMRIN, K. M.; TÜRKMEN, Ö.; TURAN, M.; TUNCER, B. Phosphorus and humic acid application alleviate salinity stress of pepper seedling. *Afr. J. Biotechnol.* 2010, č. 9, s. 5845-5851.
- COLMER, T. D., FLOWERS, T. J., MUNNS, R. Use of wild relatives to improve salt tolerance in wheat. *J. Exp. Bot.* 2006, č. 57, s. 1059-1078.
- CRAMER, G. R. Differential effects of salinity on leaf elongation kinetics of three grass species. *Plant Soil.* 2003, č. 253, s. 233-244.
- CURAUQUEO, G.; MEIER, S.; KHAN, N.; CEA, M.; NAVIA, R. Use of biochar on two volcanic soils: effects on soil properties and barley yield. *J. Soil Sci. Plant Nutr.* 2014, č. 14, s. 911-924.
- CURTIS, T. Y.; POSTLES, J.; HALFORD, N. G. Reducing the potential for processing contaminant formation in cereal products. *J. Cereal Sci.* 2014, č. 59, s. 382-392.

- ČERNÝ, L.; VAŠÁK, J.; KŘOVÁČEK, J.; HÁJEK, M. Jarní sladovnický ječmen – pěstitelský rádce. [online]. 2007 [cit. 2015-03-26]. Dostupné z: <http://www.2007-jecmen.pdf>.
- ČSN 46 1011-13. Zkoušení obilovin, luštěnin a olejnin – Část 13: Zkoušení obilovin – Stanovení klíčivosti sladovnického ječmene. Praha: Český normalizační institut, 2005. 4 s.
- DANTAS, B. F.; PEREIRA, M. S.; RIBERIRO, L. S.; MAIA, J. L. T.; BASSOI, L. H. Effect of humic substances and weather conditions on leaf biochemical changes of fertigated guava tree, during orchard establishment. *Rev. Bras. Frutic. Jaboticabal*. 2007, č. 29, s. 632-638.
- DE LACERDA, C.F., CAMBRAIA, J., PRISCO, J.T., OLIVA, M.A. Proline accumulation in sorghum leaves is enhanced by salt-induced tissue dehydration. *Rev. Cien. Agron.* 2006, č. 37, s. 110-112.
- DIWAN, H.; KHAN, I.; AHMAD, A.; IGBAL, M. Induction of phytochelatin and antioxidant defence system in *Brassica juncea* and *Vigna radiata* in response to chromium treatments. *Plant Growth Regul.* 2010, č. 61, s. 97-107.
- DOGAN, M. Antioxidative and proline potentials as a protective mechanism in soybean plants under salinity stress. *Afr. J. Biotechnol.* 2011, č. 10, s. 5972-5977.
- DONG, L.; HOU, Y.; LI, F.; PIAO, Y.; ZHANG, X.; ZHANG, X.; LI, CH.; ZHAO, CH. Characterization of volatile aroma compounds in different brewing barley cultivars. *J. Sci. Food Agricul.* 2015, č. 95, s. 915-921.
- DOUAIK, A.; MEIRVENNE, M.; TOTH, T. *Stochastic approaches for space-time modeling and interpolation of soil salinity*. In: Repote Sensing of Soil Salinization: Impact on Land Management. METTERNICHT, G.; ZINCK, J. A., eds.; CRC Press: Boca Raton, 2008, 273-289 s.
- DREISEITL, A.; JUREČKA, D. Disease occurrence on spring barley in the Czech Republic in 1989-1995. *Ochrana Rostlin* 1996, č. 32, s. 221-229.
- DRESLEROVA, D.; KOČAR, P. Trends in cereal cultivation in the Czech Republic from the neolithic to the migration period (5500 B.C.-A.D. 580). *Vegetation History and Archaeobotany*. 2013, č. 22, s. 257-268.
- FIGUEROA, J. A. L., WROBEL, K., AFTON, S., CARUSO, J. A., CORONA, J. F. G., WROBEL, K. Effect of some heavy metals and soil humic substances

- on the phytochelatin production in wild plants from silver mine areas of Guanajuato, Mexico. *Chemosphere*. 2007, č. 70, s. 2084-2091.
- FLORES, P.; HELLIN, P.; FENOLL, J. Determination of organic acids in fruits and vegetables by liquid chromatography with tandem-mass spectrometry. *Food Chem*. 2012, č. 132, s. 1049-1054.
- Fresh mate co. ltd. (FRES-Non-standard). Container for drink, such as coffee and barley tea, comprises incision upper part support area that extends to combine inner side of outside joint, where content of vessel extraction outlet is formed to upper side of container. Vynálezce: HOI, J. I. Korea. Patentový spis KR474750-Y1.
- GAFFNEY, J.; MARLEY, N.; CLARK, S. Humic and Fulvic Acids: Isolation, Structure, and Environmental Role. Proceedings of a symposium at the 210th American Chemical Society's National Meeting, Chicago, Illinois, USA, August 1995. 1996, 338 s.
- GARCÍA, A. G.; SANTOS, L. A.; IZQUIERDO, F. G.; LOSS SPERANDIO, M. V.; CASTRO, R. N.; BERBARA, L. L. Vermicompost humic acids as an ecological pathway to protect rice plant against oxidative stress. *Ecol. Engin*. 2012, č. 47, s. 203-208.
- GARG, N., CHANDEL, S. Role of arbuscular mycorrhizal (AM) fungi on growth, cadmium uptake, osmolyte, and phytochelatin synthesis in *Cajanus cajan* (L.) Millsp. under NaCl and Cd stresses. *J. Plant Growth Regul*. 2012, č. 31, s. 292-308.
- GEROSA, G.; MARZUOLI, R.; FINCO, A.; MONGA, R.; FUJARO, I.; FORO, F. Contrasting effects of water salinity and ozone concentration on two cultivars of durum wheat (*Triticum durum* Desf.) in Mediterranean conditions. *Environ. Pollution*. 2014, č. 193, s. 13-21.
- GHOSH, S.; PAWAR, H.; PAI, O.; BANERJEE, U. CH. Microbial transformation of quinic acid to shikimic acid by *Bacillus megaterium*. *Biores. Bioproc*. 2014, č. 1, s. 1-6.
- GILL, S. S.; TUTEJA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiol. Biochem*. 2010, č. 48, s. 909-930.
- GOBAT, J. M.; ARGNO, M.; MATTHEY, W. The living soil. Fundamental of Soil Sci. Soil Biol. Enfield: Science Publishers Inc., 2004. 603 s.

- GULSER, F., SONMEZ, F., BOYSAN, S. Effects of calcium nitrate and humic acid on pepper seedling growth under saline condition. *J. Environ. Biol.* 2010, č. 31, s. 873-876.
- GUNAL, H.; KORUCU, T.; CIRKAS, M.; OZVOU, E.; HALBAC-COTOARA-ZAMFIR, R. Threats to sustainability of soil functions in central and southeast Europe. *Sustainability.* 2015, č. 7, s. 2161-2188.
- HAGHIGHI, M., TEIXEIRA DA SILVA, J. A. Amendment of hydroponic nutrient solution with humic acid and glutamic acid in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) culture. *Soil Sci. Plant Nutr.* 2013, č. 59, s. 642-648.
- HAN, S. W.; KO, Y. J.; JEONG, J. A.; KIM, J. E.; KIM, I. A.; LIM, W. B.; LIM, H. S.; PARK, J. I.; KIM, M. S.; KIM, S. Y.; KIM, O. J.; CHOI, H. R. A competitive study of blue and red light irradiation on PMA-treated HaCaT cell line on ROS scavenging effect. *Kore. J. Oral Maxillofac Pathol.* 2009, č. 33, s. 27-36.
- HOSSAIN, Z., NOURI, M. Z., KOMATSU, S. Plant cell organelle proteomics in response to abiotic stress. *J. Proteome Res.* 2012, č. 11, s. 37-48.
- HUANG, P. M. *Abiotic catalysis*. In: Handbook of Soil Science. SUMNER, M. E. ed., Boca Raton: CRC Press, 2000, 303-332 s.
- CHA-UM, S.; KIRDMANEE, C. Effect of salt stress on proline accumulation, photosynthetic ability and growth characters in two maize cultivars. *Pak. J. Bot.* 2009, č. 41, s. 87-98.
- CHEN, Z.; CUIN, T. A.; ZHOU, M.; TWOMEY, A.; NAIDU, B. P.; SHABALA, S. Compatible solute accumulation and stress-mitigating effects in barley genotypes contrasting in their salt tolerance. *J. Exp. Bot.* 2007, č. 58, s. 4245-4255.
- CHUNG, K. H.; CHOI, G. S.; SHIN, H. S.; LEE, C. W. Vertical distribution and characteristics of soil humic substances affecting radionuclide distribution. *J. Environ. Radioactiv.* 2005, č. 79, s. 369-379.
- JAARSMA, R.; DE VRIES, R. S. M.; DE BOER, A. H. Effect of salt stress on growth, Na⁺ accumulation and proline metabolism in potato (*Solanum tuberosum*) cultivars. *PloS One.* 2013, č. 8, e60183.
- JAMAL, Y.; SHAFI, M.; BAKHT, J. Effect of seed priming on growth and biochemical traits of wheat under saline conditions. *Afr. J. Biotech.* 2011, č. 10, s. 17127-17133.

- JANOVA, E.; HEROLDOVA, M.; KONEČNÝ, A.; BRYJA, J. Traditional and diversified crops in South Moravia (Czech Republic): Habitat preference of common vole and mice species. *Mammalian Biol.* 2011, č. 76, s. 570-576.
- JIN, X.; HUANG, Y.; ZENG, F.; ZHOU, M.; ZHANG, G. Genotypic difference in response of peroxidase and superoxide dismutase isozymes and activities to salt stress in barley. *Acta Physiol. Plant.* 2009, č. 31, s. 1103-1109.
- JOKIC, A.; FRENKEL, A. I.; VAIRAVAMURTHY, M.; HUANG, P. M. Birnessite catalysis of the Maillard reaction: its significance in natural humification. *Geophys. Res. Lett.* 2011, č.28, s. 3899-3902.
- KAMBOJ, A.; ZIEMANN, M.; BHAVE, M. Identification of salt-tolerant barely varieties by a consolidated physiological and molecular approach. *Acta Physiol. Plant.* 2015, č. 37, s. 1716.
- KASCHL, A.; CHEN, Y. *Interactions of humic substances with trace metals and their stimulatory effects on plant growth. Use of humic substances to remediate polluted environments: from theory to practice.* In: Proceedings of the NATO Advanced Research Workshop on Use of Humates to Remediate Polluted Environments: From Theory to Practice Zvenigorod, Russia 23–29 September 2002, 2005, č. 52, s. 83-113.
- KHALED, H.; FAWY, H. A. Effect of different levels of humic acids on the nutrient content, plant growth, and soil properties under conditions of salinity. *Soil Water Resources.* 2011, č. 6, s. 21-29.
- KHAN, M. S. K.; IGBAL, J.; SAEED, M. Comparative study of agronomic traits of different rice varieties grown under saline and normal conditions. *J. Anim. Plant Sci.* 2014, č. 24, s. 634-642.
- KHOSRAVINEJAD, F.; HEYDARI, R.; FARBOODNIA, T. Antioxidant responses of two barley varieties to saline stress. *Pak. J. Biol.Sci.* 2008, č. 11, s. 905-909.
- KIM, S. Y.; LIM, J. H.; PARK, M. R.; KIM, Y. J.; PARK, T. I.; SE, Y. W.; CHOI, K. G.; YUN, S. J. Enhanced antioxidant enzymes are associated with reduced hydrogen peroxide in barley roots under saline stress. *J. Biochem. Mol. Biol.* 2005, č. 38, s. 218-224.
- KLEJDUS, B.; KOVÁČIK, J.; BABULA, P. PAL inhibitor evokes different responses in two *Hypericum* species. *Plant Physiol. Biochem.* 2013, č. 63, s. 82-88.

- KOSOVÁ, K.; PRÁŠIL, I. T.; VÍTÁMVÁS, P. Protein contribution to plant salinity response and tolerance acquisition. *Internat. J. Mol. Sci.* 2013, č. 14, s. 6757-6789.
- KOVÁČIK, J.; BAČKOR, M. Changes of phenolic metabolism and oxidative status in nitrogen-deficient *Matricaria chamomilla* plants. *Plant Soil.* 2007, č. 297, s. 255-265.
- KOVÁČIK J.; KLEJDUS, B.; BAČKOR, M.; REPČÁK, M. Phenylalanine ammonia-lyase activity and phenolic compounds accumulation in nitrogen-deficient *Matricaria chamomilla* leaf rosettes. *Plant Sci.* 2007, č. 172, s. 393–399.
- KOVÁČIK, J.; KLEJDUS, B. Dynamics of phenolic acids and lignin accumulation in metal-treated *Matricaria chamomilla* roots. *Plant Cell Rep.* 2008, č. 27, s. 605-615.
- KOVÁČIK, J.; KLEJDUS, B.; HEDBÁVNÝ, J.; BAČKOR, M. Salicylic acid alleviates NaCl-induced changes in the metabolism of *Matricaria chamomilla* plants. *Ecotoxicology.* 2009, č. 18, s. 544-554.
- KOVÁČIK, J.; KLEJDUS, B.; ŠTORK, F.; HEDBÁVNÝ, J. Nitrate deficiency reduces cadmium and nickel accumulation in chamomile plants. *J. Agric. Food Chem.* 2011, č. 59, s. 5139-5149.
- KOVÁČIK, J.; BABULA, P.; KLEJDUS, J.; HEDBÁVNÝ, J. Chromium Uptake and Consequences for Metabolism and Oxidative Stress in Chamomile Plants. *J. Agricul. Food Chem.* 2013, č. 61, s. 7864-7873.
- KOVÁČIK, J.; KLEJDUS, B.; BABULA, P.; JAROŠOVÁ, M. Variation of antioxidants and secondary metabolites in nitrogen-deficient barley plants. *J. Plant Physiol.* 2014a, č. 171, s. 260-268.
- KOVÁČIK, J.; BABULA, P.; KLEJDUS, B.; HEDBÁVNÝ, J.; JAROŠOVÁ, M. Unexpected behavior of some nitric oxide modulators under cadmium excess in plant tissue. *PLoS One* 2014b, č. 9, s. e91685.
- KOVÁČIK, J.; ŠTĚRBOVÁ, D.; BABULA, P.; ŠVEC, P.; HEDBÁVNÝ, J. Toxicity of naturally-contaminated manganese soil to selected crops. *J. Agric. Food Chem.* 2014c, č. 62, s. 7287-7296.
- KOVÁČIK, J.; KLEJDUS, B.; BABULA, P.; SOARES, M.E.; HEDBÁVNÝ, J.; LOURDES BASTOS, M. Chromium speciation and biochemical changes vary in relation to plant ploidy. *J. Inorg. Biochem.* 2015, č. 145, s. 70-78.
- KSOURI, R.; MEGDICHE, W.; FALLEH, H.; TRABELSI, N.; BOULAABA, M.; SMAOUI, A.; ABDELLEY, C. Influence of biological, environmental and technical

- factors on phenolic content and antioxidant activities of Tunisian halophytes. *C. R. Biol.* 2008, č. 331, s. 865-873.
- KUME, T.; AKCA, E.; NAKANO, T.; NAGANO, T.; KAPUR, S.; WATANABLE, T. Seasonal changes of fertilizer impacts on agricultural drainage in a salinized area in Adan Turkey. *Sci. Total Environ.* 2007, č. 408, s. 3319-3326.
- LIANG, Y.; ZHANG, W.; CHEN, Q.; LIU, Y.; DING, R. Effect of exogenous silicon (Si) on H⁺-ATPase activity, phospholipids and fluidity of plasma membrane in leaves of salt-stressed barley (*Hordeum vulgare* L.). *Environ. Exp. Bot.* 2006, č. 57, s. 212-219.
- Limagrain Central Europe Cereals [online]. 2005 [cit. 2015-03-26].
Dostupné z: <http://www.limagraincentraleurope.com/docs/news/322.pdf>.
- LONG, N. V.; DOLSTRA, O.; MALOSETTI, M.; KILIAN, B.; GRANER, A.; VISSER, R. G. F.; VAN DER LINDEN, C. G. Association mapping of salt tolerance in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Theor. App. Gen.* 2013, č. 126, s. 2335-2351.
- MADEJON, E.; LÓPEZ, R.; MURILLO, J. M.; CABRERA, F. Agricultural use of three (sugarbeet) vinasse composts: effect on crops and chemical properties of a cambisol soil in the Guadalquivir river valley (SW Spain). *Afric. Ecosyst. Environm.* 2001, č. 84, s. 55-65.
- MANAI, J.; GOUIA, H.; CORPAS, F. J. Redox and nitric oxide homeostasis are affected in tomato (*solanum lycopersicum*) roots under salinity-induced oxidative stress. *J. Plant Physiol.* 2014, č. 171, s. 1026-1035
- MARIOTTI, M.; VAROVALO, C.; AQUILANTI, L.; OSIMANI, A.; FONGARO, L.; TAVOLETTI, S.; HAGER, A. S.; KLEMENTI, F. Barley flour exploration in sourdough bread-making: A technological, nutritional and sensory evaluation. *LWT-Food Sc. Technik.* 2014, č. 59, s. 973-980.
- MARSCHNER, H. Mineral Nutrition of Higher Plants. 2nd ed. London: Academic Press. Inc., 2005, 446 s.
- MARTINEZ, F. A. C.; BALCIUNAS, E. M.; SALGADO, J. M.; GONZÁLE, J. M. D.; CONVERTI, A.; DE SOUZA OLIVEIRA, R. P. Lactic acid properties applications and production: A review. *Trends in Food Sci. Technol.* 2013, č. 30, s. 70-83.
- MASCIANDARO, G.; CECCANTI, B.; RONCHI, V.; BENEDICTO, S.; HOWARD, L. Humic substances to reduce salt effect on plant germination and growth. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 2002, č. 33, s. 365-378.

- MASOOD, S.; SALEH, L.; WITZEL, K.; PLIETH, C.; MUHLING, K. H. Determination of oxidative stress in wheat leaves as influenced by boron toxicity and NaCl stress. *Plant Physiol. Biochem.* 2012, č. 56, s. 56-61.
- MATTEY, M. The production of organic acids. *Crit. Rev. Biotechnol.* 1992, č. 12, s. 87-132.
- MICHALOVICZ, L.; MILLER, M. M. L.; BOLONI, J. S. S.; KAWAKAMI, J.; DO NASCIMENTO, R.; KAMER, L. F. M. Soil fertility, nutrition and yield of maize and barley with gypsum application on soil surface in no-till. *Revista Bras. Ciencia Solo.* 2014, č. 38, s. 1496-1505.
- MILLER, G. A. D.; SUZUKI, N.; CIFTCI-YILMAZ, S.; MITTLER, R. Reactive oxygen species homeostasis and signalling during drought and salinity stress. *Plant Cell Environ.* 2010, č. 33, s. 453-467.
- MILORI, D. M. B. P.; MARTIN-NETO, L.; BAYER, C.; MIELNICZUK, J.; BAGNATO, V. Humification degree of soil humic acids determined by fluorescence microscopy. *Soil Sci.* 2002, č. 167, s. 739-749.
- MRIZOVA, K.; HOLASKOVA, E.; OZ, M. T.; JISKROVA, E.; FREBORT, I.; GALUSKA, P. Transgenic barley: A prospective tool for biotechnology and agriculture. *Biotechnol. Advances* 2014, č. 32, s. 137-157.
- MUNNS, R.; TESTER, M. Mechanism of salinity tolerance. *Annual Rev. Plant Biol.* 2008, č. 59, s. 651-681.
- MUNNS, R. Genes and salt tolerance: bringing them together. *New Phytol.* 2005, č. 167, s. 645-663.
- MUSCOLO, A.; SIDARI, M.; NARDI, S. Humic substance: Relationship between structure and activity. Deeper information suggests univocal findings. *J. Geochem. Explor.* 2013, č. 129, s. 57-63.
- NARDI, S.; PIZZEGHELLO, D.; MUSCOLO, A.; VIANELLO, A. Physiological effects of humic substances on higher plants. *Soil Biol. Biochem.* 2002, č. 34, s. 1527-1536.
- ORLOVA, O. V.; ARKHIPCHENKO, I. A. Humic substances of composts from municipal solid wastes as a promising plant growth stimulator. *Russ. Agr. Sci.* 2009, č. 35, s. 175-178.

- OUNI, Y.; GHNAYA, T.; MONTEMURRO, F.; ABDELLY, CH.; LAKHDAR, A. The role of humic substances in mitigating the harmful effects of soil salinity and improve plant production. *Internal. J. Plant Prod.* 2014, č. 8, s. 353-374.
- PAKSOY, M.; TÜRKMEN, Ö.; DURSUN, A. Effects of potassium and humic acid on emergence, growth and nutrient uptake of okra (*Abelmoschus esculentus* L.) seedling under saline soil conditions. *Afr. J. Biotechnol.* 2010, č. 9, s. 5343-5346.
- PEÑA-MÉNDEZ, E. M.; HAVEL, J.; JIŘÍ, P. Humic substances. Compounds of still unknown structure: application in agriculture, industry, environment and biomedicine. *J. Appl. Biomed.* 2005, č. 3, s. 13-24.
- PÉREZ-LÓPEZ, U.; ROBREDO, A.; LACUESTA, M.; SGHERRI, C.; MENA-PETITE, A.; NAVARI-IZZO, F.; MUÑOZ-RUEDA, A. Lipoic acid and redox status in barley plants subjected to salinity and elevated CO₂. *Physiol. Plant.* 2010, č. 139, s. 256-268.
- PHILIPPEAU, C.; VARLOUD, M.; JULLIAND, V. Mobile bag strach prececal disappearance and postprandial glycemic response of four forms of barley in horses. *J. Animal Sci.* 2014, č. 92, s. 2087-2093.
- PICCOLO, A.; CELANO, G.; PIETRAMELLARA, G. Effects of fractions of coal-derived humic substances on seed germination and growth of seedlings (*Lactuca sativa* and *Lycopersicum esculentum*). *Biol. Fertil. Soil* 1993, č. 16, s. 11-15.
- PIZZEGHELLO, D.; FRANCIOSO, O.; ERTANI, A.; MUSCOLO, A.; NARDI, S. Isopentenyladenosine and cytokinin-like activity of different humic substances. *J. Geochem. Ex.* 2013, č. 129, s. 70-75.
- POEHLMAN, J. M. *Adaptation and distribution*. In: Barley. RASMUSSEN, D. C. ed. Madison: American Society of Agronomy, 1985, 2-17 s.
- QUEIROZ, H. M.; SODEK, L.; HADDAD, C. R. B. Effect of salt on the growth and metabolism of *Glycine max*. *Br. Arch. Biol. Technol.* 2012, č. 55, s. 809-817.
- RADL, A. A.; FARGHALY, F. A.; HAMADA, A. M. Physiological and biochemical responses of salt-tolerant and salt-sensitive wheat and bean cultivars to salinity. *J. Biol. Earth Sci.* 2013, č. 3, s. B73-B88.
- RENAULT, H.; EL AMRANI, A.; BERGER, A.; MOUILLE, G.; SOUBIGOU-TACONNAT, L.; BOUCHEREAU, A.; DELEU, C. γ -Aminobutyric acid transaminase deficiency impairs central carbon metabolism and leads to cell wall

- defects during salt stress in *Arabidopsis* roots. *Plant Cell Environ.* 2013, č. 36, s. 1009-1018.
- ROSA, A. H.; SIMOES, M. L.; OLIVEIRA, L. C.; ROCHA, J. C.; NETO, L. M.; MILORI, D. M. B. P. Multimethod study of the degree of humification of humic substances extracted from different tropical soil profiles in Brazil's Amazonian region. *Geoderma.* 2005, č. 127, s. 1-10.
- ROSE, M. T.; PATTI, A. F.; LITTLE, K. R.; BROWN, A. L.; JACKSON, W. R.; CAVAGNARO, T. R. A Meta-Analysis and Review of Plant-Growth Response to Humic Substances: Practical Implications for Agriculture. *Advances in Agronomy.* 2014, č. 124, s. 37-89.
- Saaten-Union CZ, Xanadu. *Saaten-union.cz* [online]. 2007 [cit. 2015-03-26]. Dostupné z: <http://www.saaten-union.cz/odrudy/xanadu/>.
- SALVATI, L.; FERRARI, C. The local-scale impact of soil salinization on the socioeconomic context: An exploratory analysis in Italy. *Catena.* 2015, č. 127, s. 312-322.
- SECKIN, B.; TURKAN, I.; SEKMEN, A. H.; OZfidAN, C. The role of antioxidant defense systems at differential salt tolerance of *Hordeum marinum* Huds. (sea barley grass) and *Hordeum vulgare* L. (cultivated barley). *Environ. Exp. Bot.* 2010, č. 69, s. 76-85.
- Sigma Aldrich – 19160 SOD determination kit. *Sigmaaldrich.com* [online]. 2014 [cit. 2015-03-21]. Dostupné z: <https://www.sigmaaldrich.com/content/dam/sigmaaldrich/docs/Sigma/Datasheet/6/19160dat.pdf>.
- SIMPSON, A. J.; KINGERY, W. L.; HAYES, M. H. B.; SPRAUL, M.; HUMPFER, E.; DVORTSAK, P.; KERSSEBAUM, R.; GODEJOHANN, M.; HOFMANN, M. Molecular structures and associations of humic substances in the terrestrial environment. *Naturwissenschaften.* 2002, č. 89, s. 84-88.
- SENESE, N.; MIANO, T. M.; PROVENZANO, M. R.; BRUNETTI, G. Characterization, differentiation, and classification of humic substances by fluorescence spectroscopy. *Soil Sci.* 1991, č. 152, s. 259-271.
- SKOKANOVÁ, M.; DERCOVÁ, K. Humínové kyseliny. Pôvod a štruktúra. *Chemické listy.* 2008, č. 102, s. 262-268.

- STANIKUNAITE, R.; KHAN, S. I.; TRAPPE, J. M.; ROSS, S. A. Cyclooxygenase-2 inhibitory and antioxidant compounds from the truffle *Elaphomyces granulatus*. *Phytother. Res.* 2009, č. 23, s. 575-579.
- STEINBERG, C. E. W.; MEINELT, T.; TIMOFEYEV, M. A.; BITTNER, M.; MENZEL, R. Humic substances. *Environ. Sci. Pol. Res.* 2008, č. 15, s. 128-135.
- STEINBÜCHEL, A.; HOFRICHTER, M. *Biopolymers*. Volume 1, Lignin, humic substances and coal. Weinheim: Wiley-VCH, 2001, 513 s.
- STEVENSON, F. J. *Humus Chemistry: Genesis, Composition, reactions*. New York: John Wiley and Sons, Inc., 1994, 496 s.
- SUTTON, R.; SPOSITO, G. Molecular structure in soil humic substances: The New View. *Environ. Sci. Technol.* 2005, č. 39, s. 9009-9015.
- SZALAI, G.; JANDA, T. Effect of salt stress on the salicylic acid synthesis in young maize (*Zea mays* L.) plants. *J. Agronomy Crop Sci.* 2009, č. 195, s. 165-171.
- TACK, J.; SINGH, R. K.; NALLEY, L. L.; VIRAKTAMATH, B. C.; KRISHNAMURTHY, S. L.; LYMAN, N.; JAGADISH, K. S. V. High vapor pressure deficit drives salt-stress-induced rice yield losses in India. *Global Change Biol.* 2015, č. 21, s. 1668-1678.
- TAN, K. H. *Humic matters in soil and environment. Principles and Controversies*. New York: Marcel Dekker Inc., 2003.
- TAVAKKOLI, E.; FATEHI, F.; RENGASAMY, P.; MACDONALD, G. K. A comparison of hydroponic and soil-based screening methods to identify salt tolerance in the field in barley. *J. Exp. Botany.* 2012, č. 63, s. 3853-3868.
- TEMEL, A.; GOZUKIRMIZI, N. Physiological and molecular changes in barley and wheat under salinity. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 2015, č. 175, s. 2950-2960.
- TCHIADJE, N. F. T. Strategies to reduce the impact of salt on crops (rice, cotton and chilli) production: A case study of the tsunami-affected area on India. *Desalination* 2007, č. 206, s. 524-530.
- TÓTH, G.; MONTANARELLA, L.; RUSCO, E. *Update map of salt affected soils in the European Union*. In: TÓTH, G.; MONTANARELLA, L.; RUSCO, E. eds. Threats to soil duality in Europe EUR 23438 – Scientific and Technical Research series Luxembourg: Official Publications of the European Communities, 2008, 61-74 s.

- TREVISAN, S.; FRANCIOSO, O.; QUAGGIOTTI, S.; NARDI, S. Humic substances biological activity at the plant-soil interface. *Plant Signal. Behav.* 2010, č. 5, s. 1-9.
- TÚRKMEN, Ö.; DURSUN, A.; TURAN, M.; ERDİNÇ, C. Calcium and humic acid affect seed germination, growth and nutrient content of tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) seedlings under saline soil conditions. *Acta agr. Scan. B-S-P.* 2004, č. 54, s. 168-174.
- Univ. Daegu Ind. Academic Coop Found (UYDA-Non-standard) Rural Dev. Administration (RURA-C). Feed composition useful for feeding and breeding livestock to produce livestock product (egg, milk and meat derived from e.g. beef cattle, Korean cattle, cow, pig, dog, sheep, goat and horse), comprises selenium enriched whole crop barley. Vynálezci: JO, I. H.; HWANGBO, S.; LEE, S. H.; CHOI, B.; PARK, T. I.; HAN, O.; SONG, T. H. Korea. Patentový spis KR2014085783-A; KR1462240-B1.
- VAMADEVAN, V.; BERTOFT, E. Structure-function relationships of starch components. *Starch-Starke* 2015, č. 67, s. 55-68.
- VANDERMEIREN, M.; DE BOCK, M.; HOREMANS, N.; GUISEZ, Y.; CEULEMANS, R.; DE TEMMERMAN, L. Ozone effects on yield duality of spring oilseed rape and broccoli. *Atmospheric Environ.* 2012, č. 47, s. 76-83.
- VÁŇOVÁ, M. *Je možné ovlivnit kolísání výnosů jarního ječmene, stabilizovat kvalitu a rozsah jeho pěstování?* In: Sborník z konference „Technologie sladovnického ječmene – ječmen na rozcestí“, 2014.
- VESELÁ, L.; KUBAL, L.; KOZLER, J.; INNEMANOVÁ, P. Struktura a vlastnosti přírodních huminových látek typu oxihumolitu. *Chemické listy.* 2005, č. 99, s. 711-717.
- VRBA, V.; HULEŠ, L. Humus – půda – rostlina (2) Humus a půda. *Biom.cz* [online]. 2006 [cit. 2015-03-22]. Dostupné z www. <http://biom.cz/cz/odborne-clanky/humus-puda-rostlina-2-humus-a-puda>.
- WAKSMAN, S. A. Principles of soil microbiology. Baltibore: Williams and Wilkins Co., 1932.
- WALIA, H.; WILSON, C.; WAHID, A.; CONDAMINE, P.; CUI, X.; CLOSE, T. J. Expression analysis of barley (*Hordeum vulgare* L.) during salinity stress. *Funct. Integrat. Genomics.* 2006, č. 6, s. 143-156.

- WEBER, J. Extraction of Soil Humic Matter [online]. 2003 [cit. 2015-03-22].
Dostupné z: [www. http://ar.wroc.pl/~weber/extrak2.htm](http://ar.wroc.pl/~weber/extrak2.htm).
- Yantai Jinsezhuangyuan Maca Wime co. ltd. (YANT-Non-standard). Preparation of maca whiskey involves adding maca powder to whiskey, fermenting, freezing, and filtering in which whiskey is obtained by saccharifying and fermenting barley malt. Vynálezci: ZHANG, C.; ZHANG, J.; ZHANG, P. Čína, Patentový spis CN103602542-A.
- YILDIZ, M.; TERZI, H. Effect of NaCl stress on chlorophyll biosynthesis, proline, lipid peroxidation and antioxidative enzymes in leaves of salt-tolerant and salt-sensitive barley cultivars. *J. Agricul. Sci.* 2013, č. 19, s. 79-88.
- YOUSFI, S.; RABHI, M.; HESSINI, K.; ABDELLY, C.; GHARSALLI, M. Differences in efficient metabolite management and nutrient metabolic regulation between wild and cultivated barley grown at high salinity. *Plant Biol.* 2010, č. 12, s. 650-658.
- ZANDONADI, D. B.; SANTOS, M. P.; BUSATO, J. G.; PERES, L. E. P.; FACANHA, A. R. Plant physiology as affected by humified organic matter. *Theor. Exp. Plant Physiol.* 2013, č. 25, s. 12-25.
- ZHANI, K.; MARIEM, B. F.; FARDAOUS, M.; CHERIF, H. Impact of salt stress (NaCl) on growth, chlorophyll content and fluorescence of Tunisian cultivars of chili pepper (*Capsicum frutescens* L.). *J. Stress Physiol. Biochem.* 2012, č. 8, s. 236-252.
- ZHENG, Y. H.; CHEBY, D.; SIMMONS, M. Ozone pollution effects on gas exchange, growth and biomass yield of salinity-treated winter wheat cultivars. *Sci. Total Environ.* 2014, č. 499, s. 18-26.
- ZHOU, G. F.; JOHANSON, P.; RYAN, P. R.; DELHAIZE, E.; ZHOU, M. X. Quantitative trait loci for salinity tolerance in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Mol. Breeding.* 2012, č. 29, s. 427-436.
- ZIDAN, I.; AZAIZEH, H.; NEUMANN, P. M. Does salinity reduce growth in maize root epidermal-cells by inhibiting their capacity for cell-wall acidification. *Plant Physiol.* 1990, č. 93, s. 7-11.
- ZIMOLKA, J. Ječmen: formy a užitkové směry v České republice, Praha: ProfiPress, 2006, 200 s.

7 SEZNAM TABULEK A OBRÁZKŮ

Seznam tabulek

Tab. 1 Vliv huminových látek na rostliny.	32
Tab. 2 Fyzikální a chemické vlastnosti „Lignohumátu Max ^{®cc} “	35
Tab. 3 Přehled retenčních časů, přechodů, fragmentací a kolizních energií stanovovaných fenolových kyselin.	41
Tab. 4 Přehled retenčních časů, přechodů, fragmentací a kolizních energií sledovaných organických kyselin.	42
Tab. 5 Vybrané fyziologické parametry rostlin ječmene jarního (<i>Hordeum vulgare</i>) exponovaných NaCl nebo Na ₂ SO ₄ po dobu 7 dní.	46
Tab. 6 Stanovení parametrů klíčivosti sladovnických ječmenů exponovaných 100 mM NaCl a 50 mM Na ₂ SO ₄ po dobu 7 dní.	48
Tab. 7 Obsah vybraných minerálních prvků (mg·g ⁻¹ s. hm.) v listech ječmene jarního (<i>Hordeum vulgare</i>) exponovaných 100 mM NaCl a 50 mM Na ₂ SO ₄ po dobu 7 dní.....	50
Tab. 8 Vybrané fyziologické parametry a obsah vybraných minerálních prvků v listech ječmene jarního (<i>Hordeum vulgare</i> , cv. Radegast) vystavených 100 mM NaCl + 0,01% HA nebo 100 mM NaCl + 0,1% HA po dobu 7 dní.	53
Tab. 9 Vybrané fyziologické parametry u rostlin ječmene jarního (<i>Hordeum vulgare</i> , cv. Radegast) vystavených 100 mM NaCl, 0,01% HA nebo 100 mM NaCl s 0,01% HA aplikovanou hydroponicky nebo foliárně po dobu 7 dní.	55
Tab. 10 Obsah vybraných minerálních prvků (mg·g ⁻¹ s. hm.) stanovený u rostlin ječmene jarního (<i>Hordeum vulgare</i> , cv. Radegast) vystavených 100 mM NaCl, 0,01% HA nebo 100 mM NaCl s 0,01% HA aplikovanou hydroponicky nebo foliárně po dobu 7 dní.	57
Tab. 11 Obsah volných aminokyselin (μmol·g ⁻¹ s. hm.) v listech ječmene jarního (<i>Hordeum vulgare</i> , cv. Radegast) vystavených působení 100 mM NaCl, 0,01% HA nebo 100 mM NaCl spolu s 0,01% HA aplikovanou hydroponicky nebo foliárně po dobu 7 dní.	61
Tab. 12 Akumulace fenolových kyselin (μg·g ⁻¹ s. hm.) v listech ječmene jarního (<i>Hordeum vulgare</i> , cv. Radegast) vystavených působení 100 mM NaCl, 0,01% HA nebo 100 mM NaCl spolu s 0,01% HA aplikovanou hydroponicky nebo foliárně po dobu 7 dní.	62

Tab. 13 Akumulace vybraných organických kyselin ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ s. hm.) v rostlinách ječmene jarního (<i>Hordeum vulgare</i> , cv. Radegast) vystavených působení 100 mM NaCl, 0,01% HA nebo 100 mM NaCl spolu s 0,01% HA aplikovanou hydroponicky nebo foliárně po dobu 7 dní.	63
---	----

Seznam obrázků

Obr. 1 Oblasti výskytu zasolení a sodifikace v Evropě.	19
Obr. 2 Dělení huminových látek podle chemických vlastností.	26
Obr. 3 Hypotetický strukturní model huminové kyseliny dle Stevensona (1982).	27
Obr. 4 Mechanismus syntézy huminových látek v půdách.	28
Obr. 5 Obilky vybraných kultivarů ječmene jarního.	34
Obr. 6 Hydroponická kultivace ječmene jarního.	36
Obr. 7 Princip SOD kitu.	44
Obr. 8 Fluorescenční mikroskopie reaktivních kyslíkatých částic v kořenových špičkách tří kultivarů ječmene jarního exponovaných po dobu 7 dní 100 mM NaCl (při pH 4,0) pomocí diacetátu 2',7'-dichlorodihydrofluoresceinu (zelený signál).	51
Obr. 9 Fluorescenční mikroskopie reaktivních kyslíkatých částic a oxidu dusnatého v kořenových špičkách ječmene jarního cv. Radegast exponovaných po dobu 7 dní 100 mM NaCl, 0,01% HA nebo 100 mM NaCl + 0,01% HA aplikovanou hydroponicky nebo foliárně (při pH 7,0) pomocí CellROX [®] Deep Red Reagent (červený signál) a 2,3-diaminonaftalenu (modrý signál).	64
Obr. 10 Kvantitativní změny obsahu redukované formy glutathionu (GSH) v listech ječmene jarního cv. Radegast pěstovaného v roztoku obsahujícím 100 mM NaCl, 0,01% HA nebo 100 mM NaCl s 0,01% HA aplikovanou hydroponicky, či foliárně po dobu 1, 3 nebo 7 dní.	65
Obr. 11 Kvantitativní změny obsahu redukované formy glutathionu (GSH) v kořenech ječmene jarního cv. Radegast pěstovaného v roztoku obsahujícím 100 mM NaCl, 0,01% HA nebo 100 mM NaCl s 0,01% HA aplikovanou hydroponicky, či foliárně po dobu 1, 3 nebo 7 dní.	66
Obr. 12 Kvantitativní změny obsahu fytochelatinu 2 (PC2) v listech ječmene jarního cv. Radegast pěstovaného v roztoku obsahujícím 100 mM NaCl, 0,01% HA nebo 100 mM NaCl s 0,01% HA aplikovanou hydroponicky, či foliárně po dobu 1, 3 nebo 7 dní.	67

Obr. 13 Kvantitativní změny obsahu fytochelatinu 2 (PC2) v kořenech ječmene jarního cv. Radegast pěstovaného v roztoku obsahujícím 100 mM NaCl, 0,01% HA nebo 100 mM NaCl s 0,01% HA aplikovanou hydroponicky, či foliárně po dobu 1, 3 nebo 7 dní.....	67
Obr. 14 Kvantitativní změny obsahu kyseliny askorbové (AsA) v listech ječmene jarního cv. Radegast pěstovaného v roztoku obsahujícím 100 mM NaCl, 0,01% HA nebo 100 mM NaCl s 0,01% HA aplikovanou hydroponicky, či foliárně po dobu 1, 3 nebo 7 dní.....	68
Obr. 15 Kvantitativní změny obsahu kyseliny askorbové (AsA) v kořenech ječmene jarního cv. Radegast pěstovaného v roztoku obsahujícím 100 mM NaCl, 0,01% HA nebo 100 mM NaCl s 0,01% HA aplikovanou hydroponicky, či foliárně po dobu 1, 3 nebo 7 dní.....	69
Obr. 16 Změny v aktivitě enzymu askorbát peroxidázy (APX) v rostlinách ječmene jarního cv. Radegast po sedmidenní aplikaci 100 mM NaCl, 0,01% HA nebo 100 mM NaCl s 0,01% HA aplikovanou hydroponicky, či foliárně.	70
Obr. 17 Změny v aktivitě enzymu glutathion reduktázy (GR) v rostlinách ječmene jarního cv. Radegast po sedmidenní aplikaci 100 mM NaCl, 0,01% HA nebo 100 mM NaCl s 0,01% HA aplikovanou hydroponicky, či foliárně.	71
Obr. 18 Změny v aktivitě enzymu katalázy (CAT) v rostlinách ječmene jarního cv. Radegast po sedmidenní aplikaci 100 mM NaCl, 0,01% HA nebo 100 mM NaCl s 0,01% HA aplikovanou hydroponicky, či foliárně.	71
Obr. 19 Změny v aktivitě enzymu superoxid dismutázy (SOD) v rostlinách ječmene jarního cv. Radegast po sedmidenní aplikaci 100 mM NaCl, 0,01% HA nebo 100 mM NaCl s 0,01% HA aplikovanou hydroponicky, či foliárně.	72

8 SEZNAM ZKRATEK

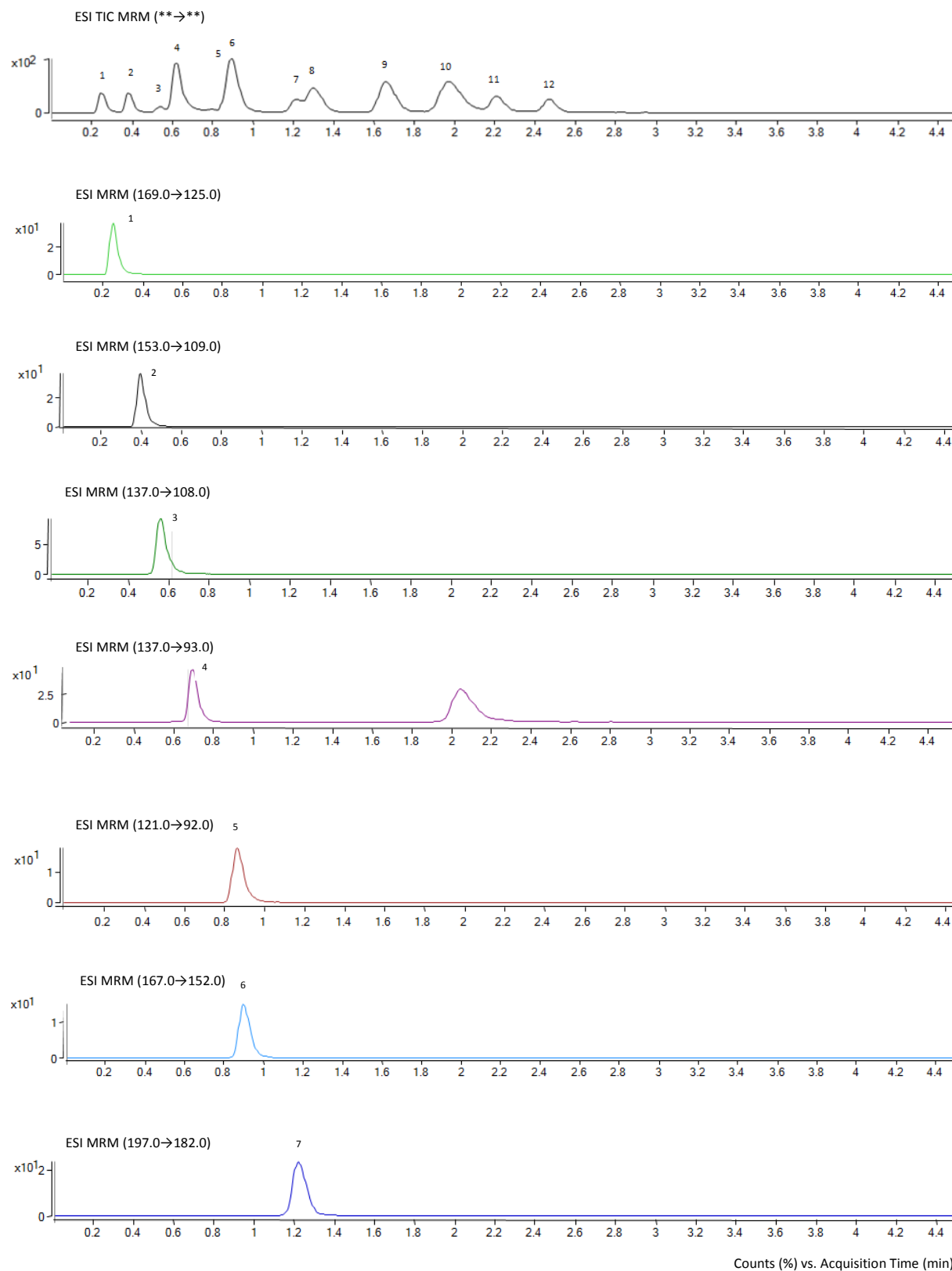
APX	ascorbate peroxidase	askorbát peroxidáza
AsA	ascorbic acid	kyselina askorbová
B	Bojos	Bojos
CAT	catalase	kataláza
cv.	cultivar	kultivar
DA	diacetate	diacetát
DAD	diode array detector	detektor diodového pole
DAN	2,3-diaminonaphthalene	2,3-diaminonaftalen
DCF	2',7'-dichlorofluorescein	2',7'-dichlorofluorescein
DMSO	dimethylsulfoxide	dimetylsulfoxid
DTNB	5,5'-dithiobis-(2-nitrobenzoic acid)	5,5'-dithiobis-(2-nitrobenzoová kyselina)
ESI	electrospray ionization	ionizace elektrosprejem
GSH	reduced glutathione	redukovaný glutathion
GSSG	oxidized glutathione	oxidovaný glutathion
HA	humic acid	huminová kyselina
LC	liquid chromatography	kapalinová chromatografie
LH	Lignohumát Max [®]	Lignohumát Max [®]
MAPK	mitogen activated protein kinase	mitogenem aktivovaná protein kináza
MGT	mean germination time	průměrný čas klíčení
MRM	multiple reaction monitoring	monitorování více reakcí
MS	mass spectrometer	hmotnostní spektrometr
NADPH	nicotinamidadenindinucleotide phosphate	nikotinamidadenindinukleotid fosfát
n.d.	not detected	nedetekováno
PAR	photosynthetically active radiation	fotosynteticky aktivní záření
PC2	phytochelatin 2	fytochelatin 2
PPB	polyphosphate buffer	polyfosfátový pufr
R	Radegast	Radegast
ROS	reactive oxygen species	reaktivní kyslíkaté částice
SOD	superoxide dismutase	superoxid dismutáza
TIC	total ion current	celkový iontový proud
X	Xanadu	Xanadu

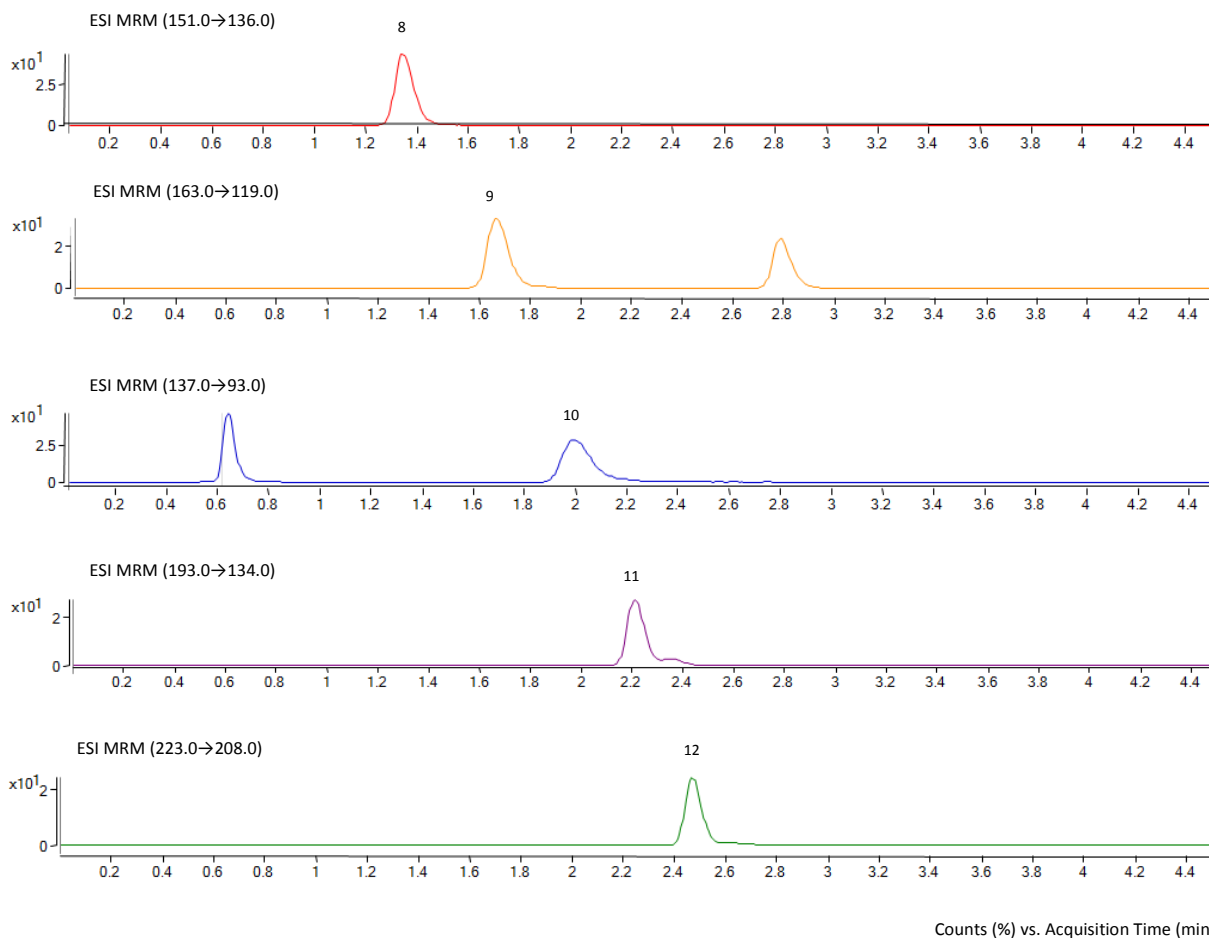
9 SEZNAM PŘÍLOH

PŘÍLOHA 1	94
PŘÍLOHA 2	96
Obr. 1 Biomasa ječmene jarního vystaveného 100 mM NaCl po dobu 7 dní.....	96
Obr. 2 Biomasa kontrolních rostlin ječmene jarního (při pH 4) po dobu 7 dní.....	96
Obr. 3 Biomasa ječmene jarního vystaveného působení 100 mM NaCl a 0,01% a 0,1% Lignohumátu Max [®] (při pH 7) po dobu 7 dní.....	97
Obr. 4 Biomasa ječmene jarního vystaveného 100 mM NaCl, 0,01% HA nebo 100 mM NaCl s 0,01% HA aplikovanou hydroponicky nebo foliárně po dobu 7 dní (při pH 7).	97

PŘÍLOHA 1

MRM chromatogramy standardů fenolových kyselin

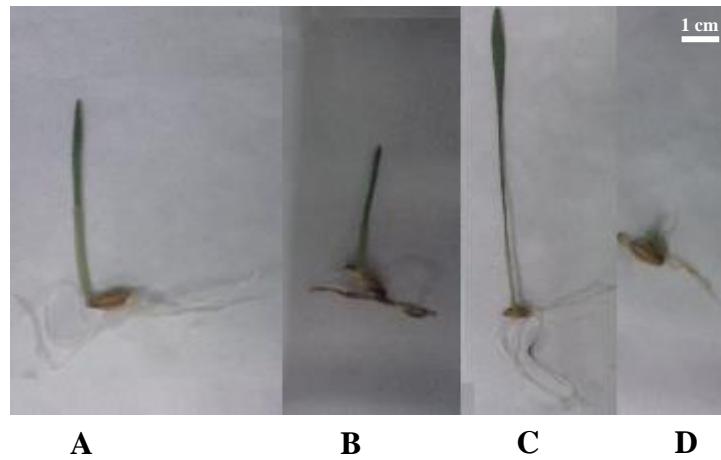




Identifikace píku:

1. kyselina gallová, 2. kyselina protocatechová, 3. 3,4-dihydroxybenzaldehyd, 4. kyselina *p*-hydroxybenzoová, 5. *p*-hydroxybenzaldehyd, 6. kyselina vanilová, 7. kyselina syringová, 8. vanilin, 9. kyselina *p*-kumarová, 10. kyselina salicylová, 11. kyselina ferulová 12. kyselina sinapová.

Fotodokumentace založených pokusů



A – cv. Xanadu vystavený 100 mM NaCl (při pH 7), B - cv. Xanadu vystavený 100 mM NaCl (při pH 4), C- cv. Radegast vystavený 100 mM NaCl (při pH 7), D- cv. Radegast vystavený 100 mM NaCl (při pH 4)

Zdroj: vlastní foto

Obr. 1 Biomasa ječmene jarního vystaveného 100 mM NaCl po dobu 7 dní.



A – cv. Bojos, B - cv. Xanadu, C- cv. Radegast

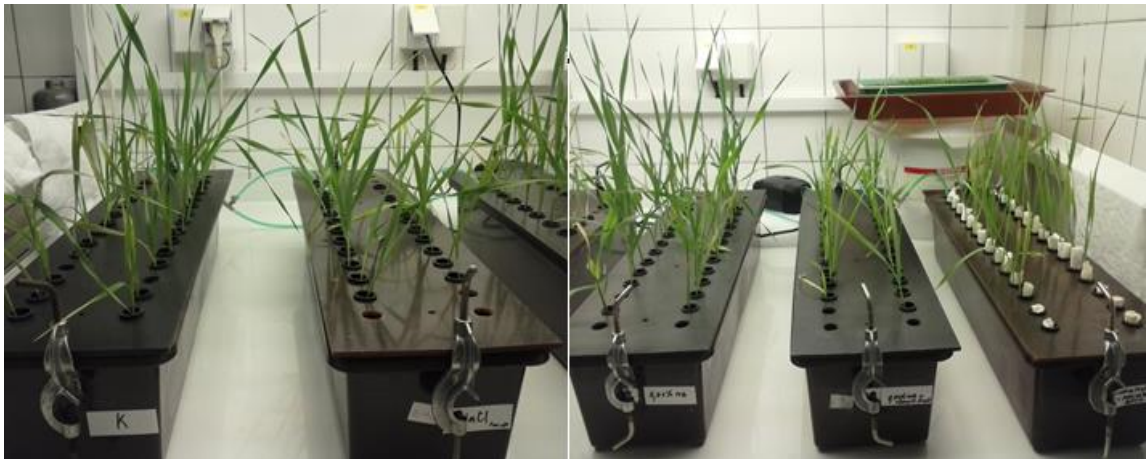
Zdroj: vlastní foto

Obr. 2 Biomasa kontrolních rostlin ječmene jarního (při pH 4) po dobu 7 dní.



Zdroj: vlastní foto

Obr. 3 Biomasa ječmene jarního vystaveného působení 100 mM NaCl a 0,01% a 0,1% Lignohumátu Max[®] (při pH 7) po dobu 7 dní.



Zdroj: vlastní foto

Obr. 4 Biomasa ječmene jarního vystaveného 100 mM NaCl, 0,01% HA nebo 100 mM NaCl s 0,01% HA aplikovanou hydroponicky nebo foliárně po dobu 7 dní (při pH 7).