

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra botaniky a fyziologie rostlin



Vliv glycin betulinu na klíčení vybraných druhů

Diplomová práce

Autor práce: Barbora Tunklová

Obor: Produkční zahradnictví

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

© 2020 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Vliv glycin betulinu na klíčení vybraných druhů" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 29.6.2020

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala všem, kteří mě při psaní této práce podporovali. Mé upřímné poděkování patří zejména Ing. Heleně Hniličkové, Ph.D. za vedení mé diplomové práce, za její ochotu, připomínky, vstřícný přístup a veškerý čas, který mi věnovala. Dále děkuji své rodině, svým nejbližším, kteří mě podporovali. Poslední poděkování patří Katedře botaniky a fyziologie rostlin, a jejím pracovníkům za poskytnutí pomůcek a prostor k provedení pokusu.

Vliv glycin betulinu na klíčení vybraných druhů

Souhrn

Vodní deficit a zasolení patří mezi hlavní abiotické stresory, které ovlivňují rostliny v mnoha ohledech jak v přirozených, tak i uměle vytvořených ekosystémech. A právě klíčení a rané vývojové fáze rostlin jsou k těmto nepříznivým podmínkám velmi citlivé. Jednou z možností, jak mohou rostliny překonávat stres suchem, je aplikace osmoticky aktivních látek. Mezi tyto látky patří i glycin betulin.

Cílem práce bylo pozorovat a zhodnotit vliv glycin betulinu na klíčivost a růst raných vývojových fází rostlin v podmínkách sucha nebo zasolení u modelových rostlin *Lepidium sativum* L., *Valerianella locusta* L. a *Lactuca sativa* L., vyhodnotit případné toxické účinky glycin betulinu u zvolené koncentrační řady. Dále sledovat vliv vodního stresu a zasolení simulované rozdílnými koncentracemi roztoků NaCl, PEG a glycin betulinu na klíčivost semen vybraných modelových rostlin.

Laboratorní pokus diplomové práce „Vliv glycin betulinu na klíčení vybraných druhů“ byl založen na Katedře botaniky a fyziologie rostlin FAPPZ ČZU v Praze. Pokus byl rozdělen do čtyř etap – test toxicity u řeřichy seté při odstupňovaných koncentracích glycin betulinu ($0 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$; $0,014 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$; $0,049 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$; $0,07 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$; $0,091 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$; $0,112 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$; $0,14 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$; $0,49 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$; $0,7 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$; $0,91 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ a $1,12 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$), test toxicity u kozlíčku polníčku v odstupňovaných koncentracích glycin betulinu ($0 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$; $0,14 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$; $0,49 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$; $0,7 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$; $0,91 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ a $1,12 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$), semena polníčku klíčící v podmínkách zasolení, které bylo simulováno 100 mM NaCl spolu s odstupňovanými koncentracemi glycin betulinu ($0 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$; $0,14 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$; $0,49 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$; $0,7 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$; $0,91 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ a $1,12 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$) a klíčení semen salátu v podmínkách sucha simulovaném 10% a 30% PEG 6000 (vodní deficit) a vodní deficit (10% PEG) s odstupňovanými koncentracemi glycin betulinu ($0 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$; $0,091 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$; $0,14 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$; $0,7 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ a $1,12 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$). Do Petriho misky s filtračním papírem bylo přidáno 5 ml roztoku. A na nasáknutý filtrační papír bylo poté umístěno 30 semen, každá varianta měla 5 opakování. Pokus probíhal v řízených podmínkách, kdy Petriho misky byly umístěny do inkubátoru, ve kterém měla semena nastavené vhodné podmínky pro klíčení.

Byla sledována průměrná klíčivost semen (SG), energie klíčení (GE), rychlost klíčení (GR), index klíčivosti (GI) a průměrný počet vyklíčených semen. Dále byla měřena průměrná délka kořínků nad 2 mm, délka hypokotylů a hmotnost FW a DW přepočítaná na hmotnost jedné rostlinky v mg.

Ze získaných výsledků vyplývá, že glycin betulin pozitivně ovlivnil klíčení semen. Nejvhodnější podmínky pro klíčení byly sledovány u pokusu se semeny řeřichy a salátu. Méně příznivé podmínky byly poté zjištěny u polníčku ošetřeného pouze glycin betulinem. A naopak nejméně příznivé podmínky byly zjištěny u klíčících semen polníčku v podmínkách zasolení.

Dle navrhovaných hypotéz bylo potvrzeno, že glycin betulin neinhibuje klíčení semen. Též aplikace osmoticky aktivní látky – glycin betulin pozitivně ovlivnila klíčení polníčku v zasolených podmínkách. I když semena v těchto podmínkách klíčila, byla ovlivněna

toxickými účinky iontů Na^+ a Cl^- . Byla prokázána i poslední hypotéza, že glycin betulin ovlivní klíčení a růst v podmínkách vodního deficitu.

Klíčová slova: glycin betulin, abiotické stresory, klíčení, růst

Effect of glycine betuline on germination of selected species

Summary

Water deficit and salinity are the main abiotic stressors that influence plants in many ways in both natural and artificial ecosystems. These unfavorable conditions mostly affect the germination and early stages of plant development. One of the ways how plants cope with drought is creation of osmotically active substances. Glycine betulin is one of them.

This work's main goal was to observe and evaluate the effect of glycine betulin on germination and growth of plants in the early stages of plant development in drought and saline conditions. The observed plants were *Lepidium sativum* L., *Valerianella locusta* L. and *Lactuca sativa* L. Possible toxicity of glycine betulin was evaluated for selected concentration row in model plants. Furthermore, to observe the influence of different concentrations of NaCl, PEG, and glycine betulin on germination of selected model plants.

The laboratory experiment of this thesis – "Effect of glycine betulin on germination of selected plants" was based on the Department of Botany and Plant Physiology, Faculty of Agrobiology, Food and Natural Resources, University of Life Sciences in Prague. The experiment was conducted in four stages – test of toxicity for graded concentrations of glycine betulin (0 g·l⁻¹; 0.014 g·l⁻¹; 0.049 g·l⁻¹; 0.07 g·l⁻¹; 0.091 g·l⁻¹; 0.112 g·l⁻¹; 0.14 g·l⁻¹; 0.49 g·l⁻¹; 0.7 g·l⁻¹; 0.91 g·l⁻¹ and 1.12 g·l⁻¹) on watercress; test of toxicity for graded concentrations of glycine betulin (0 g·l⁻¹; 0.14 g·l⁻¹; 0.49 g·l⁻¹; 0.7 g·l⁻¹; 0.91 g·l⁻¹ and 1.12 g·l⁻¹) on lamb's lettuce; seed germination of lamb's lettuce in saline conditions, which was simulated 100 mM NaCl with graded concentration of glycine betulin (0 g·l⁻¹; 0.14 g·l⁻¹; 0.49 g·l⁻¹; 0.7 g·l⁻¹; 0.91 g·l⁻¹ and 1.12 g·l⁻¹) seeds of lettuce in drought conditions simulated by 10% and 30% PEG 6000 and 10% PEG with graded concentration of glycine betulin (0 g·l⁻¹; 0.091 g·l⁻¹; 0.14 g·l⁻¹; 0.7 g·l⁻¹ and 1.12 g·l⁻¹). 5 ml of solution was added to Petri dishes with filtration paper. Thirty seeds were placed on soaked filtration paper, and each variant was done in five repetitions. The experiment was conducted in controlled conditions – Petri dishes were placed in incubators, where are good conditions for seed germination.

Average seed germination (SG), germination energy (GE), speed of germination (GR), germination index (GI), and the average number of germinated seeds were monitored. Furthermore, the average length of roots over 2 mm, the length of hypocotyls, and the weight of FW and DW adjusted to the weight of one plant were measured.

The obtained results show that glycine betulin had a positive effect on seed germination. The most suitable conditions for germination were observed in an experiment with watercress and lettuce seeds. Less favorable conditions were then found in lamb's lettuce with only glycine betulin. Contrary, the least favorable conditions were found for germinating lamb's lettuce seeds in salinity conditions.

In accordance with the suggested hypothesis it was confirmed that glycine betulin does not inhibit germination. Also, the application of an osmotically active substance – glycine betulin

positively affected the germination of lamb's lettuce in saline conditions. Even though the seeds germinated under these conditions, they were affected by the toxic effects of Na⁺ and Cl⁻ ions.

The last hypothesis that glycine betulin has an impact on germination and growth in water-deficient conditions was also confirmed.

Keywords: glycin betuline, abiotic stress, germination, growth

Obsah

1	Úvod	1
2	Vědecká hypotéza a cíle práce	2
3	Literární rešerše	3
3.1	Klíčení	3
3.2	Průběh klíčení	3
3.3	Typy klíčení	4
3.3.1	Dvouděložné rostliny	5
3.3.2	Jednoděložné rostliny.....	6
3.4	Faktory ovlivňující klíčení semen	8
3.4.1	Vnější faktory.....	8
3.4.2	Vnitřní faktory.....	9
3.5	Stres rostlin	12
3.5.1	Rozdělení stresů rostlin.....	14
3.6	Vliv vodního deficitu na rostliny	15
3.6.1	Vliv na růst.....	15
3.6.2	Vliv na klíčení.....	17
3.7	Vliv zasolení na klíčení a růst	17
3.7.1	Vliv na růst.....	18
3.7.2	Vliv na klíčení.....	20
3.8	Osmoprotektanty	20
3.8.1	Syntéza glycinu	20
3.8.2	Glycin betain (N, N, N-trimethylglycin).....	23
3.8.3	Betulin.....	24
4	Metodika	26
4.1	Rostlinný materiál	26
4.1.1	Řeřicha setá 'Dánská' (<i>Lepidium sativum</i> L.-čeleď brukvovité- <i>Brassicaceae</i>)	26
4.1.2	Kozlíček polníček 'Larged Leaved' (<i>Valerianella locusta</i> L.-čeleď kozlíkovité- <i>Valerianaceae</i>)	27
4.1.3	Locika setá 'Král Máje' (<i>Lactuca sativa</i> L. var. <i>capitata</i> L.-čeleď hvězdnicovité- <i>Asteraceae</i>)	27
4.2	Charakteristika pokusu a podmínka pro klíčení	28
4.3	Ošetření osiva	28
4.4	Charakteristika pokusu	28
4.5	Test toxicity u řeřichy seté	29
4.6	Test toxicity u kozlíčku polníčku	29
4.7	Kozlíček polníček v podmínkách zasolení	29
4.8	Locika setá v podmínkách vodního stresu	29

4.9	Sledované parametry klíčivosti semen	30
4.9.1	Klíčivosti semen (SG).....	30
4.9.2	Energie klíčení (GE)	30
4.9.3	Rychlost klíčení (GR)	30
4.9.4	Index klíčivosti (GI).....	30
4.10	Zpracování výsledků	30
5	Výsledky	31
5.1	Vliv odstupňovaných koncentrací GBet na klíčení řeřichy seté	31
5.1.1	Klíčivost semen (SG).....	31
5.1.2	Počet vyklíčených semen	31
5.1.3	Délka kořínku nad 2 mm.....	32
5.1.4	Délka hypokotylu.....	33
5.1.5	Čerstvá hmotnost (FW) klíčících rostlinek	34
5.1.6	Hmotnost sušiny (DW) klíčících rostlinek	35
5.2	Vliv odstupňovaných koncentrací GBet na klíčení kozlíčku polníčku.....	36
5.2.1	Klíčivost semen (SG).....	36
5.2.2	Energie klíčení (GE)	36
5.2.3	Rychlost klíčení (GR)	37
5.2.4	Index klíčivosti (GI).....	37
5.2.5	Počet vyklíčených semen	38
5.2.6	Délka kořínku nad 2 mm.....	38
5.2.7	Délka hypokotylu.....	39
5.2.8	Čerstvá hmotnost (FW) klíčících rostlinek	40
5.2.9	Hmotnost sušiny (DW) klíčících rostlinek	41
5.3	Vliv odstupňovaných koncentrací GBet na klíčení kozlíčku polníčku v podmínkách zasolení.....	42
5.3.1	Klíčivost semen (SG).....	42
5.3.2	Energie klíčení (GE)	42
5.3.3	Rychlost klíčení (GR)	43
5.3.4	Index klíčivosti (GI).....	43
5.3.5	Počet vyklíčených semen	44
5.3.6	Délka kořínků nad 2 mm.....	44
5.3.7	Délka hypokotylu.....	45
5.3.8	Čerstvá hmotnost (FW) klíčících rostlinek	46
5.3.9	Hmotnost sušiny (DW) klíčících rostlinek	47
5.4	Vliv deficitu vody a rozdílných koncentrací GBet na klíčení lociky seté	47
5.4.1	Klíčivost semen (SG).....	47
5.4.2	Energie klíčení (GE)	48
5.4.3	Rychlost klíčení (GR)	48
5.4.4	Index klíčivosti (GI).....	49

5.4.5	Počet vyklíčených semen	49
5.4.6	Délka kořínku nad 2 mm.....	50
5.4.7	Délka hypokotylu	51
5.4.8	Čerstvá hmotnost (FW) klíčících rostlinek.....	52
5.4.9	Hmotnost sušiny (DW) klíčících rostlinek	53
6	Diskuze.....	54
6.1	Test toxicity u řeřichy seté.....	54
6.2	Test toxicity u kozlíčku polníčku	55
6.3	Kozíček polníček klíčící v podmínkách zasolení	56
6.4	Locika setá klíčící v podmínkách vodního deficitu	57
7	Závěr	59
8	Literatura	60
9	Seznam použitých obrázků, grafů a tabulek.....	75
9.1	Seznam použitých obrázků.....	75
9.2	Seznam použitých grafů	75
9.3	Seznam použitých tabulek.....	76
10	Seznam použitých zkratk a symbolů.....	77
11	Samostatné přílohy	

1 Úvod

Změny klimatu jsou jedním z velmi diskutovaných témat současnosti. Jedním z oborů, kterému tyto změny způsobují řadu problémů, je zemědělství. Nejzávažnější rizika spojená s proměnlivostí a změnou klimatu představují zejména výrazné výkyvy v množství a rozložení srážek během roku, které se začínají projevovat i na území České republiky. Tyto změny způsobují zemědělcům značné škody projevující se na kvalitě a výnosech plodin.

Na rostliny během jejich vývoje působí celá řada vnějších a vnitřních činitelů, které nějakým způsobem více či méně ovlivňují jejich růst. Stresory jsou obecně děleny na abiotické a biotické. Sucho a zasolení jsou hlavními abiotickými stresory, které ovlivňují rostliny v mnoha ohledech a které vzhledem k jejich výskytu a rozsahu v některých oblastech mohou působit značné ekonomické škody. Všechny tyto stresory ovlivňují hospodaření rostlin s vodou. Voda má na rozdíl od minerálních živin v ekosystému velmi rychlý koloběh a její zásoba v rostlinách i v půdě stačí jen na omezenou dobu. Pro udržení maximální rychlosti růstu je třeba udržovat plně turgescenční stav buněk. Prvními rostlinnými orgány, na kterých jsou pozorovatelné viditelné změny vlivem vodního deficitu, jsou listy. Toto může být problém hlavně při pěstování listových zelenin. Při dlouho trvajícím vodním deficitu dochází k nevratným změnám a v poslední fázi až k úhynu celé rostliny.

Semena představují zcela zásadní fázi života rostlin – rostliny se semeny rozmnožují, šíří na nová stanoviště a zajišťují přežití rostlin v nepříznivých podmínkách. Semena jsou nejcitlivější ke stresovým podmínkám právě v období klíčení a vzcházení. Stresové faktory se na semenech projevují snížením klíčivosti, ztrátou vitality vedoucí k redukci vzcháživosti a růstu klíčenců.

Pod vlivem abiotických stresorů akumulují některé rostliny ve svých buňkách osmoticky aktivní látky, které přispívají ke zlepšení vodního stavu v rostlině. V této diplomové práci byla věnována pozornost účinku glycin betulinu na klíčení a růst raných fází rostlin v podmínkách vodního deficitu nebo zasolení. Byly vybrány tři druhy semen listových zelenin – řeřicha setá 'Dánská', kozlíček polníček 'Larged Leaved' a locika setá 'Král Máje'.

I vzhledem k prognózám odhadujícím, že se na našem území budeme muset stále častěji potýkat s delším obdobím bez dešťových srážek, lze brát právě osmoprotektanty jako vhodné látky k udržení životaschopnosti rostlin během klíčení, a to po dobu, kdy budou vystaveny vodnímu deficitu nebo zasolení.

2 Vědecká hypotéza a cíle práce

Zasolení a vodní deficit jsou hlavními abiotickými stresory, které ovlivňují život rostlin. Klíčení a rané vývojové fáze rostlin jsou k těmto stresorům nejcitlivější. Proto v současné době probíhá výzkum nejrůznějších účinných látek, které by omezily dopady stresorů na základní fyziologické procesy. Z toho důvodu byla v této diplomové práci věnována pozornost vlivu glycin betulinu na klíčení vybraných druhů rostlin v podmínkách sucha nebo zasolení.

Cíle diplomové práce lze shrnout do následujících bodů:

- Vyhodnotit případné toxické účinky glycin betulinu u zvolené koncentrační řady klíčících rostlin.
- Sledovat a vyhodnotit účinek glycin betulinu na klíčení a růst v podmínkách sucha a zasolení u vybraných druhů.
- Sledovat vliv rozdílných koncentrací roztoků NaCl, PEG a glycin betulinu na klíčivost semen vybraných modelových rostlin.

Na základě výše zmíněných cílů je možné stanovit tyto navrhované hypotézy:

- Glycin betulin neinhibuje klíčení rostlin.
- Glycin betulin ovlivní klíčení a růst v podmínkách zasolení.
- Glycin betulin ovlivní klíčení a růst v podmínkách vodního deficitu.

3 Literární rešerše

3.1 Klíčení

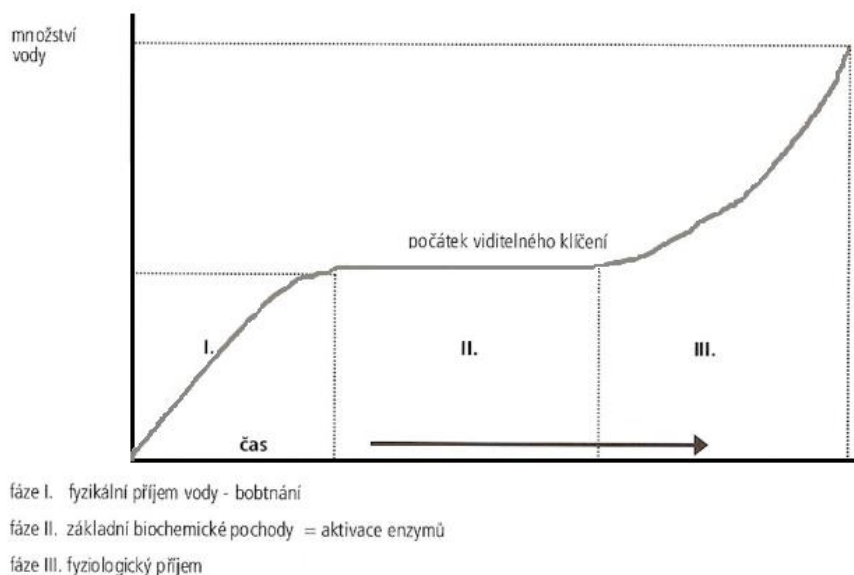
Klíčení je komplexní proces, během kterého se musí semeno fyzicky obnovit po vysušení zráním, obnovit trvalou intenzitu metabolismu, dokončit nezbytné buněčné změny, které umožní růst zárodku, a připravit vše pro růst budoucí rostlinky (Rajjou et al. 2012; Nonogaki et al. 2010). Podle Šeré (2019) je klíčení obnovení metabolické aktivity semen, které vede k prodlužování radikuly (kořínku) a hypokotylu (článek poddelložní) u embrya. Klíček (radikula) protrhne osemení a semeno, vizuálně vyklíčí. „Fyziologické klíčení však začíná, již před uvolněním klíčku, a to se začátkem prodlužování embryonálních buněk. Rostoucí embryo čerpá živiny ze zásobních látek (škrob, glycidy a lipidy), které postupně spotřebovává. Zakotvením klíčku v substrátu a uvolněním plumuly z osemení přechází vyvíjející se semenáček na autotrofní výživu“ (Bentsink & Koornneef 2008; Šerá 2014).

Proces klíčení začíná příjmem vody tzv. bobtnáním semene. Příjem vody je aktivována řada fyziologických procesů. (McDonald 1994). Voda je semen nasakována ve třech fázích. První fáze bobtnání je velmi rychlá, kdy dochází k intenzivnímu nasakování vody (vlastní bobtnání). Poté následuje druhá a po ní třetí fáze. Třetí fáze nastane tehdy, když se kořínek zárodku prodlouží natolik, že protrhne krycí vrstvu semene tzv. testu (Bewley 1997). Při klíčení dochází k přeměně semene na vzešlou rostlinku. Zatímco semeno je vybaveno dostatečnou zásobou živin, které jsou nutné pro vyklíčení, mladá rostlinka je závislá na vnějších podmínkách (Lambers et al. 2008).

3.2 Průběh klíčení

Zralé semeno obsahuje výrazně méně vody (5-15 %) oproti rostlinným pletivům a jeho životní aktivitou je jen slabé dýchání (Bewley et al. 2013). V tomto latentním stavu jsou semena schopna přežít různé nepříznivé podmínky jako je sucho, extrémní teploty, nedostatek kyslíku, zasolení a tma. Klíčení je komplexní proces, který začíná příjmem vody suchým semenem a končí tehdy, když část embrya nejčastěji kořínek vyroste natolik, že naruší obalové vrstvy semene (Bewley & Black 1994).

Semeno přijímá vodu ve třech fázích (obrázek 1). V první fázi dochází k intenzivnímu nasávání vody, jde o takzvané vlastní bobtnání (imbibici). První stádium příjmu vody suchými semeny je kritickým obdobím klíčení (McDonald 1994). Ve druhé fázi dochází ke snížení příjmu vody semenem a zároveň je udržováno dosavadní množství vody v semeni. Tato fáze je konečná pro mrtvá a dormantní semena. Třetí fáze nastává po dovršení procesu klíčení, kdy kořínek prorůstá obalovými vrstvami semene, a příjem vody se opět zvýší (Finch-Savage & Leubner-Metzger 2006; Nonogaki et al. 2010).



Obrázek 1: Příjem vody semeny při klíčení (Bewley & Black 1978, upraveno)

„Mnohá semena jsou schopna přijmout vzhledem ke své původní hmotnosti značné množství vody. Jakmile semeno nabobtná, dokáže si vodu udržet po určitou dobu. Při bobtnání semene dochází k obnovení metabolické aktivity zárodku, včetně dýchání“ (Koizumi et al. 2008).

Jednou z prvních změn, ke které dochází v průběhu bobtnání, je obnova dýchání. Po prudkém počátečním nárůstu příjmu kyslíku rychlost spotřeby klesá až do té doby, než kořínek proroste obalové vrstvy. Poté nastane další rychlý nárůst v příjmu kyslíku. Uvnitř semene je uloženo embryo (zárodek) a veškeré zásobní látky, které semeno potřebuje pro počáteční růst a výživu zárodku (Bewley 1997). Dokončení procesu klíčení vyžaduje růstový potenciál embrya k překonání odolnosti endospermu a obalových vrstev (testa), které je řízeno hormonální rovnováhou mezi ABA a GB (Sechet et al. 2016).

K tomu, aby semena neklíčila, i když jsou podmínky pro klíčení příhodné, ale nejsou dostačující, slouží dormance semen (Lambers et al. 1998).

V laboratorních podmínkách se za vyklíčené semeno považuje takové, u kterého je viditelný kořínek, který prorazil povrchovou vrstvu semene, testu (osemení) a je dlouhý 1-3 mm (Šerá 2019).

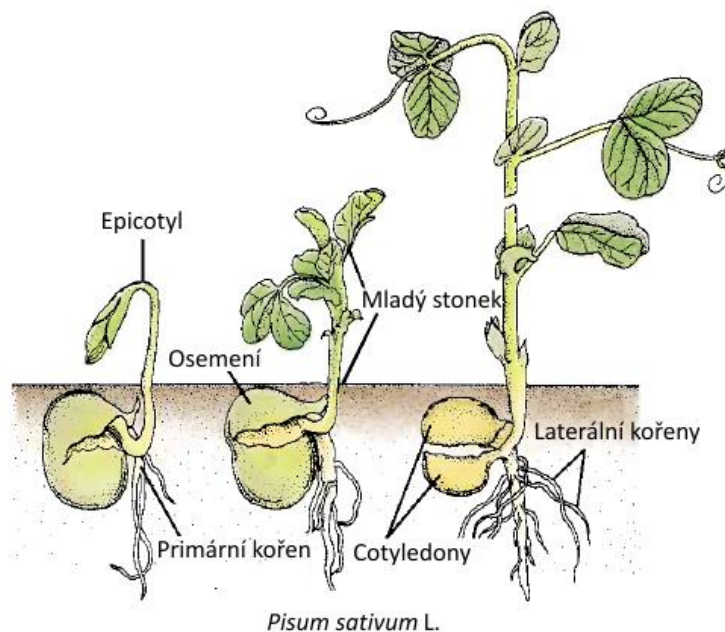
3.3 Typy klíčení

Buňky radikuly a hypokotylu se začínají prodlužovat a dělit dříve než buňky plumuly (meristematický základ vrcholu stonku). Plumula začíná obvykle intenzivně růst až po zakotvení primárního kořínku v půdě. Živiny potřebné pro růst v této fázi získává klíčící embryo ze zásobních látek, které jsou uloženy v zásobních pletivech nebo v embryu samém (Copeland & McDonald 1999). Existují dva typy klíčení – hypogeické a epigeické. Následující část kapitoly bude zpracována podle Whalley et al. 1999; Tillich 2007 a Ever & Eichhorn 2013.

3.3.1 Dvouděložné rostliny

3.3.1.1 Hypogeické klíčení

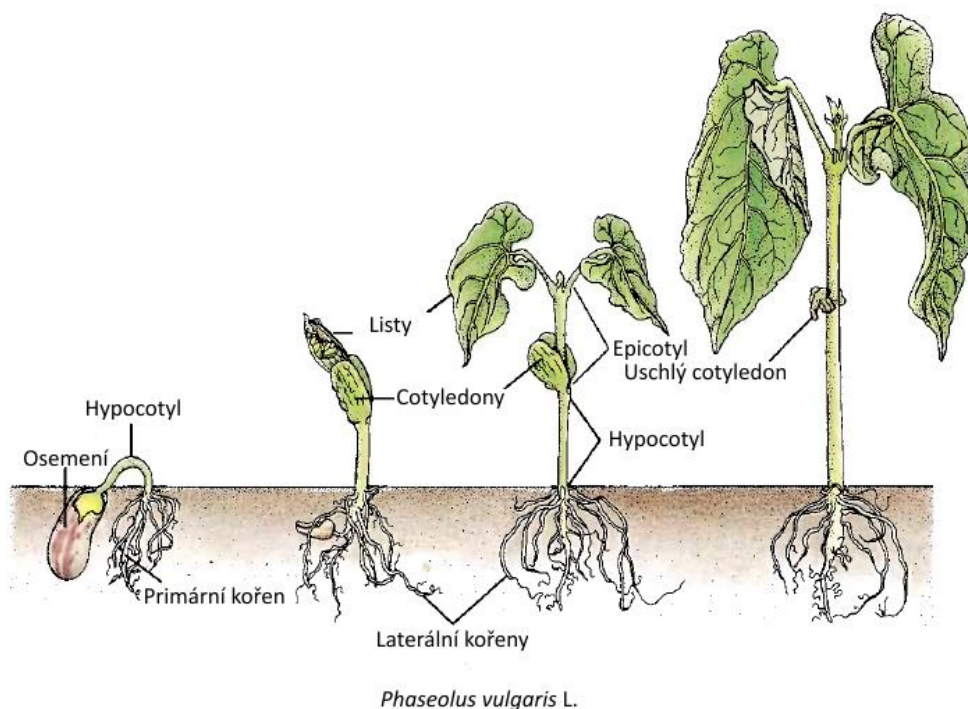
Při hypogeickém klíčení (obrázek 2) se intenzivně prodlužuje epikotyl (první nadděložní článek) a dělohy zůstávají pod zemí. Pokud jsou zásobní látky uloženy v dělohách, fungují cotyledony zároveň jako zásobní orgány, a to až do odebrání veškerých živin a posléze odumírají. Tento typ klíčení je typický pro hrách setý (*Pisum sativum* L.), jírovec maďal (*Aesculus hippocastanum* L.) a bob obecný (*Vicia faba* L.).



Obrázek 2: Hypogeické klíčení hrachu (Ever & Eichhorn 2013, upraveno)

3.3.1.2 Epigeické klíčení

Tento typ klíčení je evolučně primitivnější než klíčení hypogeické (Copeland & McDonald 1999). Při epigeickém klíčení (obrázek 3) dochází k intenzivnímu prodlužování hypokotylu (podděložní článek) a dělohy jsou vyneseny nad povrch půdy. Až na některé výjimky plní dělohy funkci zásobních orgánů, jsou v nich uloženy zásobní látky. Po jejich vyčerpání dělohy zezelenají a začínají fotosyntetizovat. U fazolu slouží dělohy pouze jako zdroj zásobních látek a po jejich vyčerpání dělohy odumírají. Epigeické klíčení je typické pro fazol zahradní (*Phaseolus vulgaris* L.), okurku setou (*Cucumis sativus* L.) a len zahradní (*Linum ussitatissimum* L.).



Obrázek 3: Epigeické klíčení u fazolu (Ever & Eichhorn 2013, upraveno)

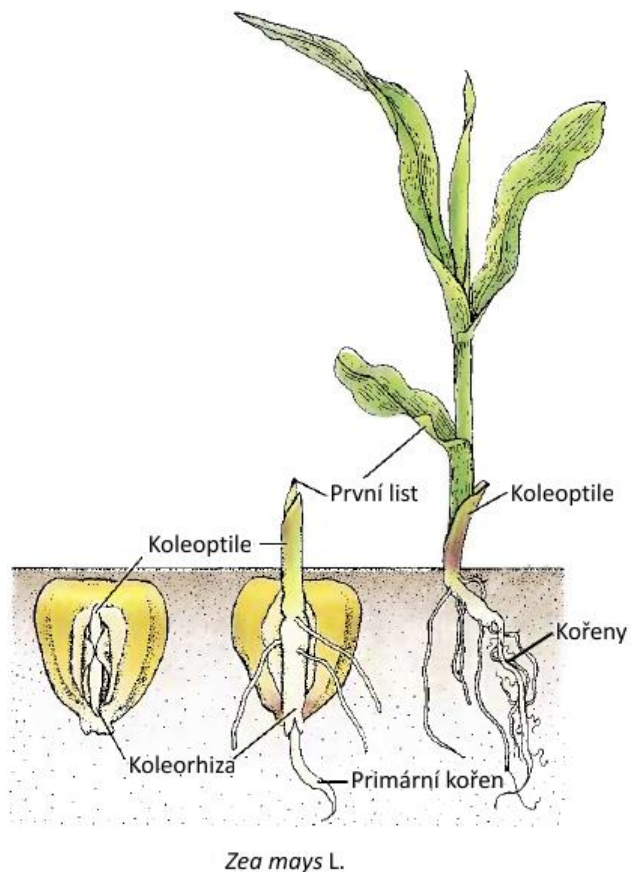
3.3.2 Jednoděložné rostliny

3.3.2.1 Hypogeické klíčení

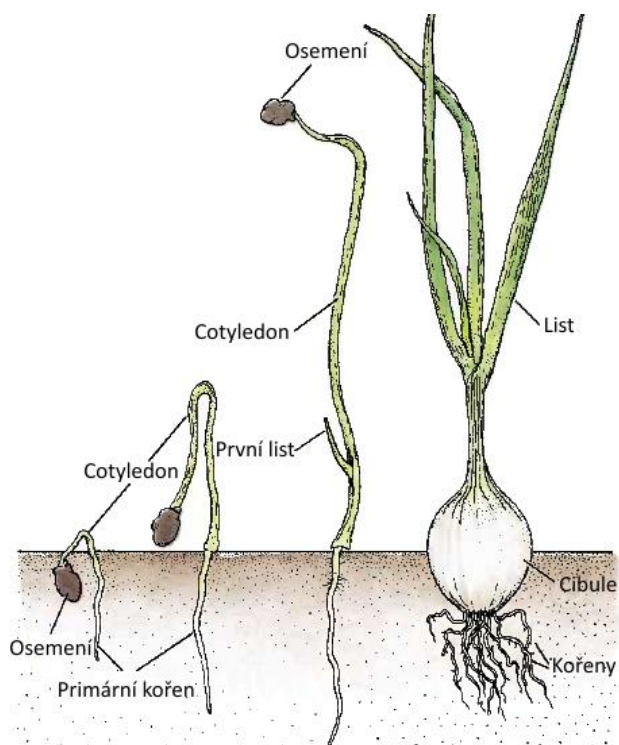
Jednoděložné rostliny mají pouze jednu dělohu (scutellum), která zůstává v obilce přitíštěna k endospermem, ze kterého čerpá potřebné živiny. U těchto rostlin nejprve vyrůstá primární kořen z radikuly, později se objeví základy adventivních kořenů, které vyrůstají z báze stébla. Po zakrnění primárního kořene převzou funkci kořeny adventivní. Dále nad povrch půdy vyrůstá koleoptile (blanitá pochva), uzavírající uvnitř základy prvních listů (obrázek 4). Tento typ klíčení je typický pro čeleď lipnicovité (*Poaceae*).

3.3.2.2 Epigeické klíčení

Zvláštní typ klíčení (obrázek 5) probíhá u cibule (*Allium cepa* L.), která má velmi dlouhou dělohu, jejíž spodní a střední část se začíná prodlužovat a protahovat. Poté se zakříví a v místě ohybu proráží nad povrch půdy. Zároveň je z osemení vytlačován primární kořen. Vrcholová část dělohy zůstává uvnitř endospermu. Tato část dělohy čerpá živiny z endospermu, zatímco nadzemní část zezeleneá a fotosyntetizuje. Posléze se děloha narovná a dostává se celá nad zem. Záhy poté začínají vznikat adventivní kořeny.



Obrázek 4: Hypogeické klíčení u kukuřice (Ever & Eichhorn 2013, upraveno)



Obrázek 5: Epigeické klíčení u cibule (Ever & Eichhorn 2013, upraveno)

3.4 Faktory ovlivňující klíčení semen

3.4.1 Vnější faktory

3.4.1.1 Voda

Pro klíčení je přítomnost vody nezbytná, dehydratované semeno musí nejprve nasát dostatečné množství vody (nabobtnat), aby mohly být aktivovány metabolické a biochemické procesy. Voda také aktivuje řadu základních fyziologických pochodů klíčení. Semena jsou velmi citlivá na příliš rychlé bobtnání, chlad a nedostatek kyslíku (McDonald 1994). Rychlost příjmu vody není v průběhu klíčení konstantní. K nejintenzivnějšímu příjmu vody semenem dochází bezprostředně poté, co s ní přijde do styku. Rychlost absorpce vody je mimo jiné závislá na osmotickém tlaku a teplotě. K dalšímu nárůstu příjmu vody dochází, jakmile kořínek embrya protrhne osemení. Rychlost bobtnání semen závisí na množství dostupné vody v půdě a na tvrdosti (popř. prostupnosti) osemení pro vodu (Šerá 2012).

I u mrtvých semen může dojít k jejich zbobtnání, tato semena však nevyklíčí (Nonogaki et al. 2010). I když jsou přítomny všechny ostatní faktory, nenastane klíčení bez vody nebo vlhkosti. Nedostatek vody snižuje klíčivost a způsobuje zpoždění v zahájení klíčení (Ali et al. 2017)

3.4.1.2 Teplota

Dalším důležitým faktorem, který ovlivňuje klíčení je teplota. Semena různých druhů jsou schopna klíčit v určitém rozsahu teplot (Song et al. 2005). Většina semen rostlin našeho vegetačního pásu klíčí nejlépe při 16-24 °C („pokojová teplota“). Při teplotách pod bodem mrazu nebo teplotách výrazně vyšších (35 °C) se klíčení zpomaluje nebo ustává úplně (Šerá 2014). U některých druhů semen má na klíčivost vliv i krátkodobé vystavení semen vyšší teplotě (borovice, sekvoje, eukalypty), tyto druhy rostou v místech s pravidelnými požáry (Vega et al. 2009). Naopak některé druhy potřebují k vyklíčení předset'ové ošetření chladovou stratifikací (ovocné dřeviny) (Kermode 2005).

3.4.1.3 Světlo

Světlo na rozdíl od předchozích faktorů není vždy nutnou podmínkou pro klíčení. „Světlo působí na klíčení semen prostřednictvím fytochromového systému v závislosti na vlnové délce, intenzitě nebo délce trvání (Georghiou & Kendrick 1991). Každý rostlinný druh upřednostňuje jiné nároky“ (Šerá 2014). U mnoha rostlinných druhů klíčí semena stejně na světle i ve tmě, zatímco některé druhy ke klíčení potřebují buď světlo nebo tmu (Baskin & Baskin 1988). Semena můžeme podle citlivosti ke světlu dělit na pozitivně, negativně a neutrálně fotoblastické. Pozitivně fotoblastické druhy semen ke svému klíčení nutně potřebují světelný stimul. Naopak u negativně fotoblastických semen je světlem klíčení inhibováno. Semena s neutrální citlivostí ke světlu jsou schopna klíčit na světle i ve tmě (Takaki 2001).

3.4.1.4 Kyslík

Poměr kyslíku a oxidu uhličitého je dalším důležitým faktorem pro klíčení semen. Nedostatek kyslíku, nebo naopak zvýšené množství oxidu uhličitého inhibuje proces klíčení (Bewley & Black 1994). Jednou z prvních změn při bobtnání je obnova respirační aktivity, která může být detekována během několika minut. Po prudkém počátečním nárustu spotřeby kyslíku, rychlost klesá až do té doby, než kořínek pronikne obalovými vrstvami (Bewley 1997).

3.4.2 Vnitřní faktory

3.4.2.1 Dormance semen

Dormance je definována jako neschopnost životaschopného semene klíčit, přestože jsou příznivé podmínky pro jeho klíčení. (Bewley 1997; Finch-Savage & Leubner-Metzger 2006). Období klidu je vrozená vlastnost semene, která je vymezena podmínkami prostředí, ve kterých je semeno schopné klíčit. Tyto podmínky jsou alespoň částečně řízeny rostlinnými hormony, a to především ABA a GA (Finch-Savage & Leubner-Metzger 2006). Dormance se pravděpodobně vyvíjela různě napříč druhy, a to přízpůsobením různým stanovištním a sezonním podmínkám, takže k vyklíčení dojde, až když budou vhodné podmínky pro založení nové generace rostlin (Vleeshouwers et al. 1995; Baskin & Baskin 2004; Fenner & Thompson 2005).

Dormance semen je přirozeným způsobem umožňující zachování rostlinného druhu. Bouhžel při využívání rostlin pro zemědělskou produkci působí dormance negativně (Pazderů 2010).

Rozlišujeme dva typy dormance, a to dormanci primární a sekundární. Dormance primární (vrozená) je typická pro rostliny, jejichž semena nejsou schopna vyklíčit ihned po dozrání na mateřské rostlině (Hilhorst 1995; Bewley 1997) Tento typ dormance se projevuje bez ohledu na podmínky prostředí, chrání semena, aby nevyklíčila před nástupem nepříznivých podmínek pro růst. Je navozena především inhibičními vlivy ABA, během zrání semene na mateřské rostlině (Finch-Savage & Leubner-Metzger 2006) Dokud nedojde k prolomení nebo překonání této dormance semeno nevyklíčí.

Semena, která primární dormanci nikdy neměla (vnucená dormance), nebo která ji již ukončila (indukovaná dormance) mohou vstoupit do stavu sekundární (vyvolané) dormance. V tomto stavu klidu mohou semena zůstat buď krátkodobě, do období zlepšení podmínek, nebo dlouhodobě i po několik sezón. Sekundární vnucená dormance je stav vyvolaného období klidu, ve kterém je semeno udržováno díky nevhodným podmínkám pro klíčení. To znamená, že k ukončení „stavu neklíčení“ dojde pouze tehdy, dokud nenastane vhodná kombinace působících faktorů prostředí. Indukovaná sekundární dormance se fyziologicky podobá dormanci primární. Aby se semeno z této dormance probudilo, nestačí k tomu nástup příznivých podmínek, ale je zapotřebí nějaký „podnět navíc“ například světlo (Šerá 2012).

Zahájení a ukončení dormance je řízeno mnoha regulátory, jako jsou rostlinné hormony a bílkoviny (Née 2017). Dormance a klíčení semen jsou odlišné fyziologické faktory. Přejít mezi dormanci a klíčením je zásadním vývojovým krokem v životním cyklu rostliny, ale také důležitým faktorem v zemědělské výrobě (Shu et al. 2016).

Baskin a Baskin (2004) rozlišují pět typů dormancí:

1. Fyziologická (PD)

U fyziologické dormance je dormantní stav udržován fyziologicky. Rozlišují se tři úrovně a to lehká, střední a nehluboká fyziologická dormance. Lehká dormance se dále ještě dělí na pět typů dle požadavků na teplotu.

2. Morfologická (MD)

V semenech s morfologickou dormancí je embryo malé (nedostatečně vyvinuté). Ač je již zárodek (embryo) plně diferenciován (lze odlišit hypokotyl od radikuly), semeno nevyklíčí v důsledku příliš malé velikosti zárodka. K ukončení této dormance není zapotřebí působení vnějších podnětů, semena jednoduše potřebují čas, aby mohla vyklíčit.

3. Morfologicko – fyziologická (MFD)

U semen s touto dormancí je dormance podmíněna jednak nedostatečně vyvinutým zárodkem (embryo), tak fyziologicky.

4. Fyzikální (FYD)

Fyzikální dormance je způsobena přítomností pro vodu nepropustných vrstev v obalech některých semen. Prolomení této dormance spočívá v tom, že musí být narušeny obalové vrstvy semene, a to mechanicky nebo chemicky.

5. Kombinovaná (FYD+FD)

Kombinovaná dormance je spojení dormance fyziologické a fyzikální.

3.4.2.2 Fytohormony

Podstatnou roli při klíčení semen hrají fytohormony. Jedná se především o kyselinu abscisovou (ABA), která je součástí mechanismů bránící předčasnému klíčení semen (Kermode 2005). Další důležitý fytohormon je kyselina gibberelová (GA_3), která se podílí na ukončení dormance semen (Nonogaki 2014). Změny v koncentracích těchto výše uvedených fytohormonů, jsou nezbytné pro zahájení nebo udržení primární dormance. Kromě toho existují cesty, které fungují nezávisle na biosyntéze těchto hormonů (MacGregor et al. 2015). Ačkoli ABA a GA jsou primární fytohormony, které antagonisticky ovlivňují dormanci semen. Nedávná zjištění ukazují, že také auxiny hrají důležitou roli při zahájení a udržení dormance. (Shu et al. 2016). Další fytohormon, který podporuje klíčení, je etylén. Podle Matilla (2000) u některých druhů rostlin produkce etylénu na začátku imbibice přispívá ke zrušení dormance.

3.4.2.3 Vliv mateřské rostliny

Gutterman (2000) uvádí, že pro klíčení je také významný vliv mateřské rostliny. Klíčící semeno může být ovlivněno umístěním zrajícího semene v rámci květu, květenství či plodu, dále stářím mateřské rostliny v době zrání semene a působením vnějších podmínek, které působí na mateřskou rostlinu.

3.4.2.4 Ostatní vnitřní faktory

Neschopnost klíčení může být způsobena dalšími vnitřními faktory – například nepropustností povrchových vrstev osemení pro vodu či plyny, jeho výrazná mechanická pevnost nebo nedostatečně vyvinuté embryo (Finch-Savavge & Leubner-Metzger 2006; Smýkal et al. 2014). Na klíčení má také vliv zralost semen, jejich vitalita nebo genotyp.

3.5 Stres rostlin

Vzhledem k tomu, že rostliny žijí přisedlým způsobem života, který jim neumožňuje uniknout před působením stresorů, vyvinuly různé účinné obranné mechanismy potřebné pro přežití v jejich přirozeném prostředí. Pokud rostlina není schopna zvládnout působení stresorů, dochází u ní ke zpomalení životních funkcí, poškození jednotlivých orgánů a v krajním případě i k uhynutí části nebo rostliny samé (Schinokazi et al. 2015).

V biologických systémech není obvykle pojem stres vysvětlován jednotně. Protože dle Johnes & Johnes (1989) a Gaspara et al. (2002) je stres změněný fyziologický stav způsobený jinými faktory, které mají tendenci měnit metabolickou rovnováhu.

Dle Nilsen & Orcutt (1996) a Orcutt & Nilsen (2000) je termín stres obvykle používán pro souhrnné označení stavu, ve kterém se rostlina nachází pod vlivem stresorů. Podle těchto autorů je stres dynamický komplex mnoha reakcí. Obecně lze stres definovat jako nepříznivé působení environmentálních vlivů na rostlinu. Dle Levitta (1980) lze toto pojetí vysvětlit ve dvou koncepcích. První z nich vychází z prosté mechaniky. Čím větším stresem na rostlinu působíme, tím silnější odezvu u rostliny zaznameneáme. Z toho vyplývá, že čím větší stres na rostlinu působí, tím větší bude poškození celého organismu. Podle druhé teorie představuje stres jakoukoliv změnu vnějšího prostředí, která může zpomalit nebo nepříznivě ovlivnit růst a vývoj rostlin (Hnilička & Hniličková 2016).

Dle Ashraf & Harris (2005) má stres přesnou definici z fyzikální vědy, kdy jde o sílu na jednotku plochy, která jedná na základě materiálu, navozuje napětí, a vede k morfologickým, vývojovým a metabolickým změnám. Larcher (2001) konstatuje, že za stres může být považována významná odchylka od optimálních podmínek pro život, nebo se může jednat o stav či odpověď na konkrétní situaci celého daného organismu.

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

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

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

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

Míchal (1994) uvádí, že anglický výraz „stress“ lze přeložit jako „tlak, důraz, tíseň či nesnáze“. Jako technický termín neoznačuje podnět, příčinu nebo poškození organismu, ale jeho stav. Stres je tedy stav, ve kterém se živý organismus nachází při mobilizaci, obranných, nápravných procesech vůči podnětům přesahujícím obvyklé rozpětí homeostáze. Toto pojetí stresu je naprosto odlišné od Grimovy teorie z roku 1979. Stresové reakce mají obvykle stejný charakter bez ohledu na druh podnětu (nejsou nijak specifické ve vazbě na příčinu stresu).

V odolnosti vůči podnětu se jedinci téhož druhu značně odlišují. Odolnost vůči stresu není striktně geneticky determinována (může být do určité míry individuálně modifikována).

Keddy (2007) definoval stres jako jakýkoliv nepříznivý faktor, který snižuje u rostlin produkci biomasy. Ke stejné teorii pojetí stresu u rostlin došel i Schinokazi et al. (2015).

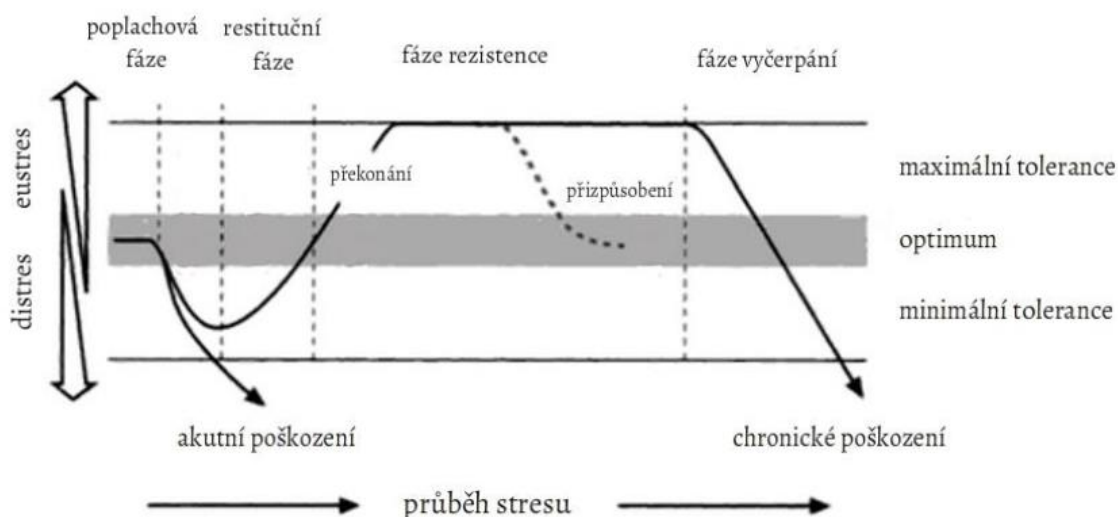
Jansen & Potters (2017) mluví o stresu jako o „znevýhodňujícím vlivu“, který působí na rostlinu pomocí biotických a abiotických faktorů.

Podle Larchera (2001) je nutné uvědomit si, že stres u rostlin obvykle nepředstavuje ustálený stav, ale zpravidla se jedná o dynamický komplex mnoha reakcí a závisí na tom, zda na rostlinu působí abiotický či biotický stresor. V počátečních fázích jsou tyto reakce a změny vratné, ale později se mohou stát trvalými.

Ve většině případů jednotlivé stresové faktory nepůsobí odděleně, ale většinou v kombinaci, proto je stresová fyziologie rostlin komplikovanější. Komplikovanost je dána mimo jiné také tím, že stresorem mohou být ohroženy pouze některé rostlinné orgány, nikoliv celá rostlina (Schulze et al. 2005). Podle Mittlerera (2006) se často vliv stresorů na rostliny hodnotí jednotlivě, avšak v přirozených podmínkách působí na rostliny zpravidla více faktorů současně (např. vysoká teplota, vodní deficit). Odděleně působící stresory mohou vyvolat odlišné reakce a nemusí proto přímo vést k úhynu rostliny v porovnání s jejich kombinací, které pro život rostlin představují nepřekonatelnou překážku (Schulze et al. 2005).

Larcher (2003) a Lichtenthaler (1996) rozdělují stresovou reakci do několika fází: poplachová, restituční, rezistence a vyčerpání. Ze schématu (obrázek 6) vyplývá, že bezprostředně po začátku působení stresoru nastává poplachová fáze, která vyvolává stresovou reakci a vede u rostlin ke změně metabolismu (strainu). Pokud intenzita působení stresoru nepřekročí letální úroveň, rostlina mobilizuje kompenzační mechanismy (restituční fáze). Fáze rezistence směřuje ke zvýšení odolnosti vůči působícímu stresu. Rostlina v této fázi buď překoná stresové působení a dojde k u ní tzv. eustresu, který má pozitivní vliv na vývoj a růst rostliny. Pokud rostlina není schopná potlačit vliv stresu (dlouhodobé působení) nastává poškození organismu (fáze vyčerpání), kdy dochází k tzv. distresu. A rostlina posléze hyne.

Lichtenthaler (1998) definoval pozitivní adaptivní stres spuštěný malou mírou stresoru jako „eustres“ a negativní stres způsobený velkou mírou stresoru jako „distres.“ Eustres způsobuje úpravu metabolismu a vede k optimálnímu stavu pod novými okolními podmínkami. Z tohoto pohledu může mírný stres pozitivně aktivovat buněčný metabolismus, a tak stimulovat fyziologickou aktivitu rostlin. Tento typ stresu nezpůsobuje u rostlin poškození i když působí dlouhodobě. Dalo by se říci, že se jedná o pozitivní stres. Zatímco distres vede k destruktivnímu vlivu. Rovnováha mezi těmito stresy určí, zda bude rostlina prospívat nebo hynout (Jansen & Potters 2017).



Obrázek 6: Fáze stresu (Larchera 2003, upraveno)

3.5.1 Rozdělení stresů rostlin

Biotický stres (faktor) vzniká interakcí mezi organismy, zatímco abiotický stres závisí na interakci mezi organismy a fyzikálním prostředím (Suzuki et al. 2014).

Stresor je abiotický, biotický nebo komplex faktorů, který vyvolává stres u rostlin.

Abiotický stres:

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

Biotický stres

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

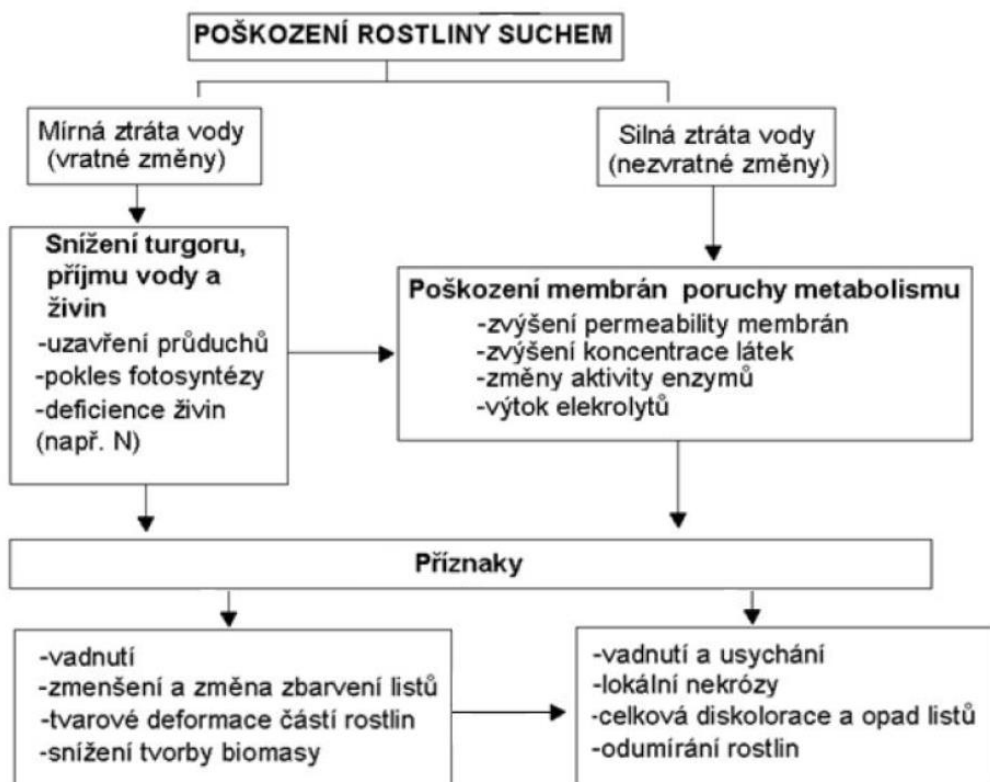
3.6 Vliv vodního deficitu na rostliny

Rostlinné tělo je z největší části tvořeno vodou (70-95 % vody), přičemž nejnižší obsah vody mají semena (5-15 %). Voda v rostlině ovlivňuje veškeré procesy a činnost buněčných organel, chemické procesy, ale také určuje konečný vzhled rostliny. Dále voda v rostlinném organismu plní funkci transportního média, má také funkci termoregulační, pomáhá udržovat buněčné napětí (turgor) a tvoří prostředí pro průběh řady biochemických reakcí v pletivech rostlin (Ehlers & Goss 2003). Poměr mezi příjmem a výdejem vody určuje vodní bilanci rostliny. Vodní deficit v rostlinné buňce může vést ke změnám koncentrací rozpuštěných látek v cytoplasmě, narušení integrity membrány, změně objemu buňky, narušení gradiendů vodního potenciálu, ztrátě turgoru a denaturaci bílkovin. Při úplné ztrátě veškeré volné vody z buňky dochází k dehydrataci. Schopnost rostliny, jak přežít vodní deficit závisí na odpovědi celé rostliny. Odpověď může trvat v rádech sekund, minut, ale také i několik hodin (Bray 1997). Když je rostlinná buňka vystavena nedostatku vody (vodnímu deficitu), dochází k dehydrataci buněk, což podporuje snížení turgoru buněk (k nulovým hodnotám), snížení jejich objemu a rostlina vadne. Je to spojeno s tím, že vodní potenciál apoplastu je stále nižší, oproti potenciálu symplastu. Buněčná dehydratace, může způsobit, že koncentrace iontů dosáhne cytotoxických hladin (Taiz & Zeiger 2010). Vadnutí může být dočasné – např. v horkých letních dnech rostliny při transpiraci ztratí víc vody, než může z půdy odebrat. Pokud se nedostatek vody projevuje dočasným vadnutím rostliny, nemívá to zpravidla za následek poškození rostliny (Solomon et al. 2010). Během noci rostlina chybějící vodu doplní příjmem vody z půdy. Stres způsobený suchem lze u rostlin stanovit měřením vodního potenciálu (Jones 2007). Vodní deficit lze rozdělit do tří skupin na mírný, střední a silný. Při mírném vodním deficitu dochází k mírnému poklesu vodního potenciálu do -0,5 MPa. Střední stres má hodnoty vodního potenciálu od -0,5 do -1,5 MPa. Při hodnotách pod -1,5 MPa jde o velmi silný stres, při kterém listy začínají vadnout (Hsiao 1973).

3.6.1 Vliv na růst

Vodní stres způsobuje mnoho fyziologických, biochemických a molekulárních změn, které jsou pozorovatelné na všech rostlinných orgánech (Sourour 2017). Jako první je nedostatek vody patrný na nejstarších orgánech (Farooq et al. 2009). Pokud je rostlina vystavena vodnímu stresu dlouhodobě, začnou se u rostliny projevovat viditelné změny (obrázek 7).

Rostlina vlivem vodního deficitu zpomaluje nebo zastavuje svůj růst (listů, vrcholových a postranních výhonů), je zakrnělá, bledě zelená až světle žlutá. Listy žloutnou, hnědnou jsou menší, předčasně opadávají, rostliny méně kvetou a plodí. Stresovaná rostlina se snaží za každou cenu udržet plodnost, proto nastupuje do generativní fáze rychleji, čímž se zkracuje vegetační doba. Pokud sucho pokračuje i nadále, rostliny vadnou a předčasně odumírají. Rostliny, které jsou vystaveny vodnímu deficitu jsou také mnohem více náchylné k chorobám a škůdcům (Guilioni et al. 2003; Agrios 2005).



Obrázek 7: Poškození rostlin suchem (převzato od Kůdely et al. 2013).

Vodní deficit negativně ovlivňuje mnoho metabolických procesů včetně fotosyntézy (Wang et al. 2018). Nejcitlivější na nedostatek vody je rostlina v období prodlužovacího růstu a dělení buněk. Jestliže v této fázi má buňka nedostatek vody, prodlužovací fáze se předčasně ukončí a strádající rostlinné orgány již nedorostou normální velikosti a zůstanou zakrslé (Kůdela et al. 2013).

Kořeny jsou stresory ovlivňovány stejně jako ostatní části rostlin. Citlivost kořenů je dána tím, že v nich probíhá rychlý přenos informací do dalších orgánů rostlin. V kořenech může být vyvolána vlivem působení stresorů lokální stresová reakce, která se sekundárně projeví na celé rostlině (Lichtenthaler 1998).

Podle Sánchez-Blanco et al. (2014) na mírný vodní deficit reaguje rostlina zvýšeným růstem kořenů do hloubky na úkor nadzemní části, silný vodní stres však již růst kořenů snižuje, protože rostlina nemá dostatek asimilátů.

Rostliny při nedostatku vody upravují poměr R:S (root : shoot ratio – kořen : nadzemní část) ve prospěch kořenového systému (Gregory 2007). Velký význam v odolnosti rostlin vůči suchu má aktivita „aquaporinů“ tedy transmembrálních spojů, které mají vliv na bilanci zásobování jednotlivých částí rostliny vodou během sucha (Bláha & Hnilička 2007).

Každá rostlina reaguje na sucho různě, závisí na druhu, stáří rostliny, mohutnosti kořenového systému nebo na vegetační fázi, ve které se rostlina právě nachází (Siddique et al. 2016).

Vlivem sucha se mění koncentrace kyseliny abscisové (ABA). Kyselina abscisová je rostlinný stresový hormon, který umožňuje rostlinám překonat nepříznivé podmínky – například zasolení nebo sucho. Hraje důležitou roli při klíčení semen a při jejich zrání.

Podporuje uzavírání průduchů, čímž se snižuje ztráta vody transpirací a snižuje se tím pádem rychlost fotosyntézy (Keskin et al. 2010; Waseem et al. 2011). Při vodním stresu vzrůstá v buňce množství reaktivních forem kyslíku (ROS) a volných radikálů, což může vést až k poškození buněčných struktur a oxidačnímu stresu (Noctor et al. 2014). V případě nedostatku vody je rostlina schopna regulovat osmotický tlak (osmotické přizpůsobení) akumulací některých látek např. prolin, sacharidy nebo obranné proteiny tzv. dehydriny. Jejich exprese je indukována stresovými faktory způsobující dehydrataci rostlinných pletiv (sucho, chlad, zasolení nebo exogenní aplikací ABA) (Kosová et al. 2005; Schinokazi et al. 2015).

Dehydriny jsou skupinou LEA proteinů (z angl. Late Embryogenesis Abundant – proteiny hojné pro pozdní embryogenezi) (Yu et al. 2018). Vyskytují se v cytoplazmě, jádře, mitochondriích a plastidech. Hlavní funkce dehydrinů je, že se významně podílejí na stabilizaci membrán, enzymů, nukleotidů v buňkách během abiotického stresu (Liu et al. 2017).

3.6.2 Vliv na klíčení

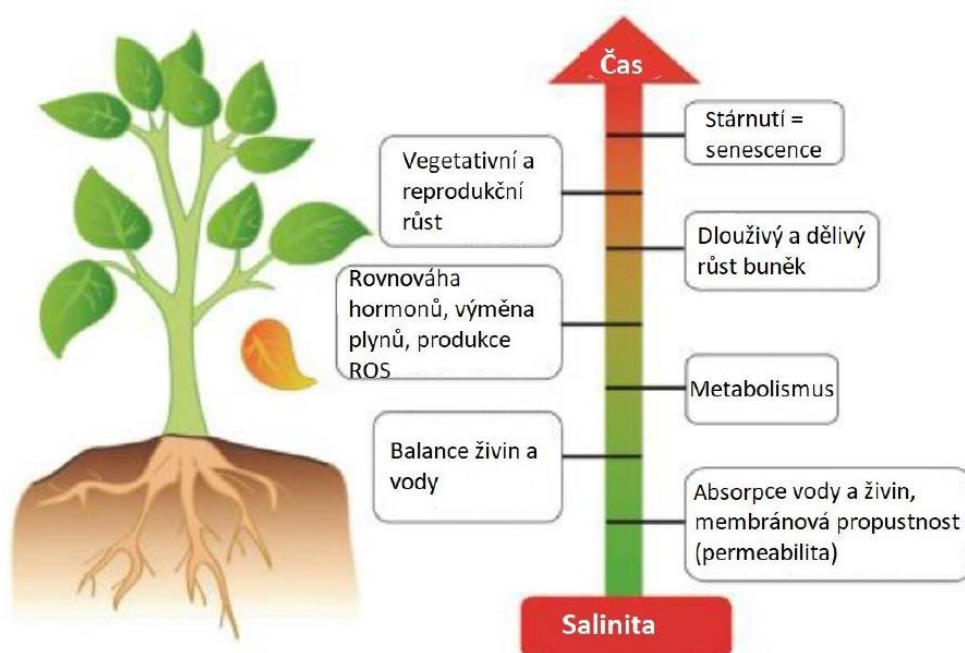
Klíčení semen je první fází růstu, která je citlivá na nedostatek vody. Jakmile je embryo semene hydratováno na 60 %, dochází v semeni k aktivaci metabolických procesů. Voda je prvním faktorem k zahájení klíčení (Basra et al. 2003). Příjem vody se zvyšuje, když kořínek embrya prorazí osemení. Při vodním deficitu je proces klíčení a vzcházení redukován, přičemž jsou značné mezidruhové rozdíly mezi rostlinami (Springer 2005). Vlivem sucha je snížen příjem vody semenem během bobtnání a dochází k omezení příjmu iontů (Murillo-Amador et al. 2002). Nízký vodní potenciál, zejména na začátku imbibice, zabraňuje příjmu vody semenem (Bansal et al. 1980). Vodní stres ovlivňuje samotné klíčení, může dojít ke zpoždění nebo omezení klíčení či dokonce k úplnému zabránění klíčení (Hardegrege & Ermmereich, 1990). Pro simulaci sucha se nejčastěji používá osmotikum polyethylenglykol (PEG). Toto osmotikum bylo použito i pro náš pokus.

3.7 Vliv zasolení na klíčení a růst

Zasolení ovlivňuje život rostlin od klíčení semen, přes růst, kvetení až po reprodukční vývoj (Flowers & Flowers 2005). Jedná se o jeden z významných faktorů po vodním deficitu, který ovlivňuje produktivitu a výnos rostlin. Zpočátku, salinititní stres potlačuje růst rostlin ve formě osmotického stresu, po kterém následuje iontová toxicita způsobená ionty Na^+ a Cl^- (Rahnama et al. 2010; James et al. 2011). Dále je ovlivněn příjem esenciálních nutrientů (Flowers & Flowers 2005). Stres zasolením také u rostlin sekundárně vyvolává vodní deficit. Rostliny po vystavení stresu spouštějí řadu obranných mechanismů, které jim umožňují napravit způsobená poškození a přizpůsobit se změněným podmínkám. Pokud není rostlina schopná přizpůsobit se, dochází u ní ke zpomalení životních funkcí, poškození jednotlivých orgánů, sterilitě, k uhynutí části rostlin nebo rostliny celé (Schinokazi et al. 2015).

3.7.1 Vliv na růst

Vysoká koncentrace soli v kořenové zóně způsobuje, že dochází ke snížení vodního potenciálu v okolí kořenů rostliny a pro rostlinu se stává obtížnější přijímat vodu a živiny (Schinokazi et al. 2015). V důsledku toho rostlina absorbuje méně vody, a pokud je míra transpirace vyšší než rychlost příjmu vody, rostlina začíná trpět vodním deficitem. Dochází ke snížení rychlosti fotosyntézy a snížení rychlosti růstu. Zároveň, když je rostlina vystavena zasolení, začíná se u ní projevovat řada fyziologických změn (obrázek 8). Zpočátku se mění, absorpce vody, živin a propustnost membrán (Prisco 1980). Tyto předchozí změny se odrážejí ve výživové a vodní rovnováze a podporují změny metabolismu: hormonální rovnováhu, výměnu plynů a produkci reaktivních forem kyslíku (ROS). Reaktivní formy kyslíku způsobují oxidativní poškození membránových lipidů, proteinů a nukleových kyselin. Na druhou stranu ROS funguje jako klíčový prvek signální kaskády vedoucí k uzavírání průduchů pro lepší hospodaření rostliny s vodou (Hong et al. 1992; Prisco et al. 2016).



Obrázek 8: Fyziologické změny, které se projevují, pokud je rostlina vystavena zasolení (Prisco et al. 2016, upraveno)

Stres vyvolaný zasolením se projevuje již na buněčné úrovni, kdy dochází k bubření protoplazmy a k zastavení dělivého a dlouhivého růstu. Protoplazma umožňuje rostlinám snášet změny iontů. Odolné protoplasty jsou schopné přežít koncentraci 4 až 8 % NaCl. Zatímco protoplasty citlivé k solím odumírají v roztocích o koncentraci 1-1,5 % NaCl. (Lambert & Turner 2000). Významným adaptačním mechanismem protoplazmy k zasolení je to, že se ionty solí nerovnoměrně rozdělují. Většina solí se ukládá ve vakuole, a proto je v cytoplazmě koncentrace solí nízká. Nerovnoměrné rozdělení solí v buňce zprozdědkovávají iontové pumpy v cytoplazmě (Bláha et al. 2003). Následky poškození lze pozorovat na vegetativním a reprodukčním růstu. V případě, že je koncentrace soli příliš vysoká a dosáhne u rostliny toxické

úrovně, dochází k předčasnému stárnutí rostliny (senescenci) nebo úhynu celé rostliny (Taiz & Zeiger 2010).

Rostliny lze podle odolnosti vůči zasolení rozdělit do dvou skupin – na halofytní (slanobytné) a glykofytní (slanostřežné). Halofytní rostliny jsou schopné růst a dokončit svůj životní cyklus i při koncentracích soli kolem 300-400 mM (Flowers & Colmer 2008). Oproti tomu glykofyty jsou rostliny náchylné k zasolení. K inhibici růstu u těchto rostlin dochází za poměrně krátkou dobu, pokud je překročena koncentrace 100-200 mM NaCl (Munns & Termaat 1986; Cheeseman 2015). Patří mezi ně většina našich zemědělských plodin, jako je salát, mrkev, polníček (Shannon & Grieve, 1999). Rozsah poškození závisí na řadě různých faktorů: druhu, genotypu, vývojové fázi rostliny, délce trvání stresu a který rostlinný orgán je zasolení vystaven (Munns 2005). Vizuální příznaky poškození se na rostlinách projevují postupně. Listy vlivem zasolení ztrácejí turgor (vadnou), dochází k zavírání průduchů a klesá rychlost fotosyntézy (Chaves et al. 2009). Po několika dnech se poškození projevuje na starších listech. Starší listy vlivem zasolení předčasně opadávají a odumírají. Míra odumírání listů je rozhodující pro přežití celé rostliny. Podle Geilfuse (2018) se příznaky toxicity Cl^- na listech projevují jako chlorózy nebo okrajové nekrózy (obrázek 9). Po několika týdnech dochází k inhibici růstu výhonu. Zasolení také ovlivňuje tvorbu květů a plodů (Munns & Tester 2008).

Zvýšená koncentrace sodíku v půdě způsobuje narušení příjmu draslíku (Zörb et al. 2014). Draslík má významnou roli v udržení membránového potenciálu a vliv na aktivitu enzymů.



Obrázek 9: Rostlina salátu poškozená zasolením

Jakmile sodík pronikne do cytoplasmy, inhibuje funkci mnoha enzymů (Flowers et al. 2015). Z rostlinných orgánů jsou na zasolení citlivější nadzemní orgány – stonky a listy (Munns & Tester 2008). I přes poměrně vyšší toleranci kořenů vůči zasolení dochází i u tohoto orgánu k inhibici růstu vlivem vyšší koncentrace soli (Jbir et al. 2001). Podle Wang et al. (2008) jsou k zasolení nejvíce citlivé kořenové vlásky, jejichž délka a hustota se zmenšuje už v přítomnosti 25 mM NaCl. Kromě toho zasolení může u rostoucích pletiv kořenů, listů a stonků brzdit dělení buněk (Kúdela et al. 2013).

3.7.2 Vliv na klíčení

Na zasolení jsou nejcitlivější klíčící semena a rané vývojové fáze rostlin. Zasolení, jako abiotický stresor, způsobuje řadu poruch v semenech již v průběhu nebo během klíčení (Koyro & Eisa 2008). Zvýšená koncentrace NaCl vede k postupné inhibici klíčení (Montaña et al. 2014). Pro klíčení a správné vzejití semene se doporučuje co nejnižší koncentrace soli v půdě. Halofytní rostliny oproti glykofytům jsou schopné setrvat v dormanci (období klidu), pokud jsou podmínky pro jejich klíčení nepříznivé (např. vysoká salinita). K vyklíčení dojde až při snížení úrovně zasolení. Z toho je patrné, že tolerance k zasolení během klíčení je rozhodujícím faktorem pro úspěšný vývoj budoucí rostliny (Atia et al. 2006). Zasolení ovlivňuje bobtnání semene v důsledku nižšího osmotického potenciálu klíčícího média. (Montaña et al. 2014). Toxicita iontů ovlivňuje aktivitu enzymů, narušuje hormonální aktivitu semen, snižuje mobilizace rezervních látek ze zásobních orgánů semene (Promila & Kumar 2000; Othman et al. 2006). Zasolením bývají ovlivněny i děložní listy (kotyledony) radikula a hypokotyl (Wahid et al. 1998).

3.8 Osmoprotektanty

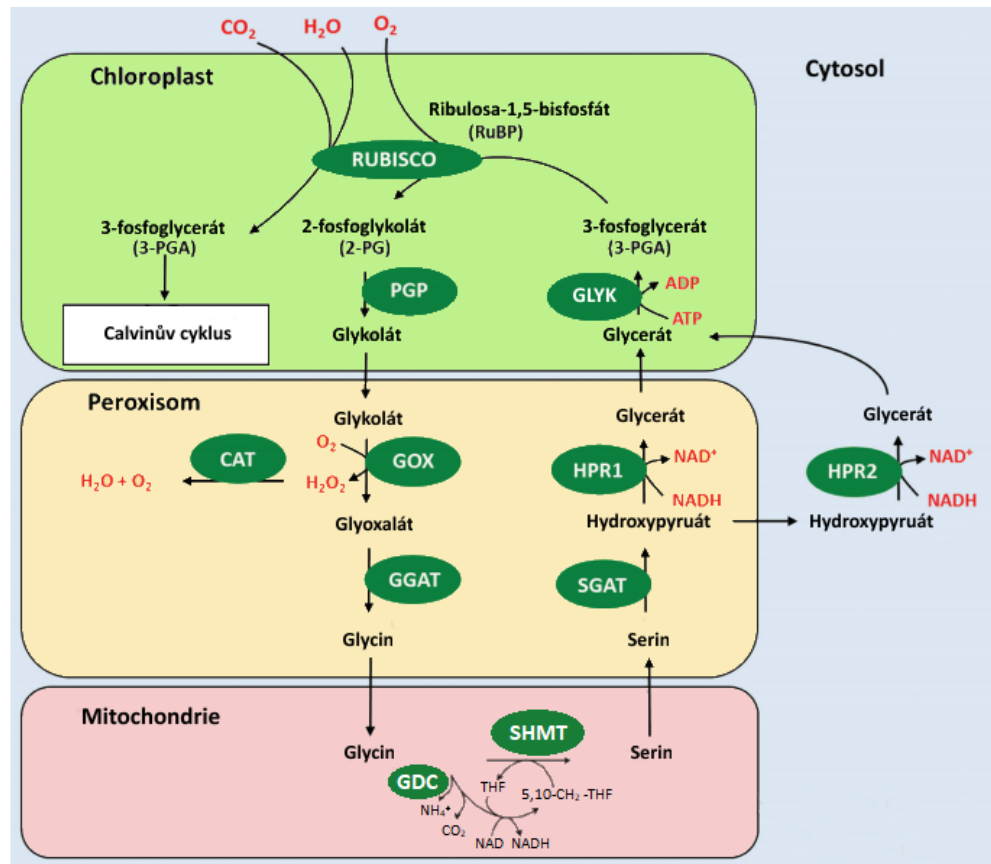
Jednou z cest, kterou se mohou rostliny bránit negativním dopadům vůči abiotickým stresům (sucho, zasolení), je syntéza hydrofilních nízkomolekulárních metabolitů, které se označují jako kompatibilní soluty (osmoprotektanty) (Schulze et al. 2005). Osmoprotektanty jsou definovány jako metabolity s nízkou molekulární hmotností, nejsou toxické pro buňku, jsou vysoce rozpustné, mají neutrální náboj (Flowers et al. 1977; Yancey 2005; Ahn et al. 2011). A vyskytují ve všech organismech (Slama et al. 2015). Podílejí se na stabilizaci buněčných membrán, proteinů, odbourávání reaktivních forem kyslíku (ROS). Pomáhají udržovat turgor buněk a snižovat vodní potenciál (Ashraf & Foolad 2007). Mimo jiné vyrovnávají tlak způsobený zvýšenou koncentrací iontů mimo buňku nebo ve vakuole kdy, kompenzují poruchy turgoru při nedostatku vody (Munns & Tester, 2008). Výhodou akumulace osmolyt je, že udržují hlavní fyziologické funkce buněk aktivní a mohou být syntetizovány ve všech vývojových fázích rostlin (Slama et al. 2015). Jedná se o heterogenní skupinu látek, které se mohou v buňce (hlavně v cytoplazmě) akumulovat ve vysokých koncentracích, a přesto nenarušovat metabolické pochody (Nuccio et al. 1999; Hasegawa et al. 2000). Mezi osmolyty patří mono-, di-, oligo- a polysachridy (sacharózu, glukóza, fruktóza, trehalózu, rafinóza), cukerné alkoholy – polyoly (mannitol, glycerol, sorbitol, pinitol), aminokyseliny (prolin), kvartérní amoniové sloučeniny (glycin betain, prolin betain, β -alanin betain, cholin-O-sulfát), terciální aminy (ectotion) a terciální sulfoniové sloučeniny 3-dimethylsulfoniopropionát – DMSP) (Rhodes et al. 2002; Flowers & Colmer 2008).

3.8.1 Syntéza glycinu

Existují tři různé cesty biosyntézy serinu, který je prekurzorem glycinu. První cesta je označována jako fotorespirační glykolátová cesta. Zatímco za tmy nebo v nefotosyntetických rostlinných orgánech mohou být využity jiné dráhy syntézy, které však nesouvisí s fotorespirací (Ros et al. 2014). Nefosforilační glycerátová cesta (glycerát-serin nefosforilační cesta), která probíhá v cytosolu a druhá „fosforylační cesta“ (fosfo-hydroxypyruvátová), která probíhá v

plastidech. Přestože obě cesty začínají stejným substrátem 3-fosfoglycerátem (3-PGA), probíhá jejich syntéza odlišným způsobem (Sekula et al. 2018).

3.8.1.1 Fotorespirace



Obrázek 10: Schéma fotorespirace (Maurino & Weber 2013; Simkin et al. 2019, upraveno)

Fotorespirace (obrázek 10) je hlavní cestou syntézy glycinu v zelených pletivech rostlin. Fotorespirace probíhá v chloroplastech, peroxisomech a mitochondriích. Reakce je katalyzována vlivem enzymu Rubisco (ribulosa-1,5-bisfosfát-karboxylasa/oxygenasa) v chloroplastech. Ten při fotosyntéze karboxyluje RuBP (ribulosa-1,5-bisfosfát) za vzniku dvou molekul 3-fosfoglycerátu (Millar et al. 2015). Fosfoglycerát je dále využit při biosyntéze cukrů (sacharidů) a dalších organických sloučenin v Calvinově cyklu (Bhattacharya 2019). Pokud je ale nízká koncentrace CO_2 a vyšší koncentrace O_2 , chová se tento enzym jako oxygenáza, kdy do reakce místo oxidu uhličitého vstupuje kyslík. Nastává oxidace a vedle jedné molekuly 3-fosfoglycerátu (3 atomy uhlíku) vzniká ještě jedna molekula 2-fosfoglykolátu (2 atomy uhlíku) (Leegood et al. 1995). Fosfoglykolát (2-PG) je i v malé koncentraci pro rostlinu toxický. Pro odstranění 2-PG a minimalizaci ztrát uhlíku v Calvinově cyklu vyvinuli všechny organismy využívající „kyslíkovou fotosyntézu“ fotorespirační cyklus (oxidační fotosyntetický cyklus C2) (Mallmann et al. 2014). Prvním krokem fotorespiračního C2 cyklu, který začíná v chloroplastech je defosforylace, odštěpení P za vzniku glykolátu. Tato reakce je katalyzována enzymem 2-fosfoglykolát fosfatázou (PGP) (Schwarte & Bauwe 2007). Glykolát je z chloroplastu transponován do peroxisomu, kde je glykolát oxidován na glyoxalát pomocí enzymu glykolát oxidázy (GOX), přičemž je spotřebováván kyslík a vzniká peroxid vodíku.

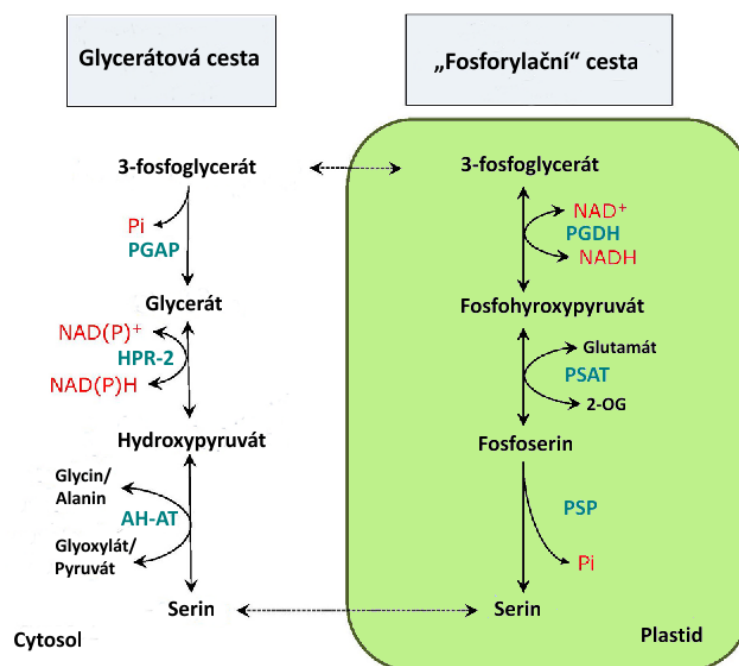
Peroxid je pomocí katalázy (CAT) v peroxizomu rozložen na O_2 a H_2O (Esser et al. 2014; Dellerio et al. 2016). Následně je glyoxylát za pomoci glutamát-glyoxylát aminotransferasy (GGAT) transaminován na glycin. Z glycinu může sledem dalších reakcí vznikat serin. Vzniklý glycin opouští peroxizom a vstupuje do mitochondrií. Tam dochází ke vzniku serinu z dvou molekul glycinu. V těchto reakcích je jedna molekula glycinu dekarboxylována a deaminována komplexem glycin dekarboxylázy (GDC), za vzniku CO_2 , NH_3 a $NADH+H^+$ (Douce et al. 2001). Zbývající methylenový uhlík glycinu je převeden na tetrahydrofolát (THF) za vzniku 5,10-methylen-tetrahydrofolát (5,10-CH₂-THF), který reaguje s druhou molekulou glycinu za vzniku serinu, tato reakce je katalyzována serin hydroxymetyl transferázou (SHMT) (Ros et al. 2014). Serin může být také využit v dusíkovém metabolismu buňky k syntéze dalších aminokyselin, bílkovin a jiných složitějších látek (Jobe et al. 2019). Nebo opouští mitochondrii a vrací se zpět do peroxizomu, kde je deaminován serin-glyoxylát aminotransferázou (SGAT). Deaminací vzniká hydroxypyruvát, který je pomocí hydroxypyruvát reduktázy (HPR) redukován na glycerát v peroxizomech (HPR-1) nebo v menší míře v cytosolu (HPR-2) (Timm et al. 2011). Peroxisomální, na NADPH závislá, hydroxypyruvát reduktáza (HPR-1), je jeden z neaktivnějších fotorespiračních enzymů, který může snadno fungovat ve směru hydroxypyruvátové a serinové syntézy, např. ve i tmě (Igamberdiev & Kleczkowski 2018). Fotorespirační cyklus je dokončen, když je glycerát transportován do chloroplastu, kde je fosforylován glycerátkynázou (GLYK) na 3-fosfoglycerát za spotřeby energie v podobě 1 molekuly ATP. 3-fosfoglycerát se zapojuje v chloroplastech do Calvinova cyklu (Schwarte & Bauwe 2007; Peterhansel & Maurino 2011).

3.8.1.2 „Ne-fosforylační“ (glycerátová) cesta

Glycerátová cesta (obrázek 11) začíná v cytosolu, kdy je 3-fosfoglycerát defosforylován na glycerát pomocí 3-fosfoglycerát fosfatázy (PGAP). Následně je glycerát oxidován na hydroxypyruvát pomocí enzymu glycerát dehydrogenázy/hydroxypyruvát reduktázy (HPR- 2). Poslední reakce je katalyzována enzymem serin aminotransferázou (AH-AT). Díky tomuto enzymu může probíhat syntéza oběma směry a dát tak buď vzniku glycinu nebo serinu. (Wulfert & Krueger 2018).

3.8.1.3 „Fosforylační“ cesta

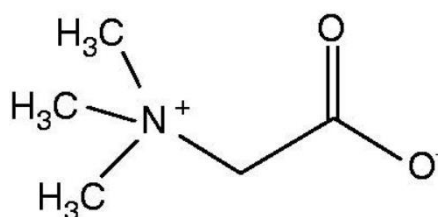
Zatímco glycerátová cesta syntézy serinu probíhá v cytosolu, „fosforylační“ cesta (obrázek 11) probíhá v plastidech. První reakce „fosforylační“ serinové cesty se účastní enzym fosfoglycerát dehydrogenázy (PGDH). Enzym PGDH oxiduje 3-fosfoglycerát (3-PGA) meziprodukt glykolýzy na 3-fosfohydroxypyruvát (3-PHP) redukcí NAD^+ na $NADH$. V dalším kroku syntézy je aminoskupina glutamátu převede na 3-PHP enzymem fosfoserinaminotransferázy (PSAT), vzniká fosfoserin (Pser) a 2-oxoglutarát (2-OG). Nakonec je fosfoserin defosforylován na serin fosfoserin fosfatázou (Sekula et al. 2018). Serin vytvořený v plastidech může být dále transportován zpět do cytosolu, ve kterém pomocí enzymu AH-AT může vzniknout glycin.



Obrázek 11: Glycerátová a „Fosforylační“ cesta syntézy serinu (Igamberdiev & Kleczkowski 2018, upraveno)

3.8.2 Glycin betain (N, N, N-trimethylglycin)

Glycin betain (GB) je kvarterní amoniová sloučenina, která se přirozeně vyskytuje v celé řadě rostlin (např. *Chenopodiaceae*, *Amaranthaceae*, *Poaceae*, *Asteraceae*, *Convolvaceae*, *Plumbaginaceae*, *Portulacaceae*), zvířat a mikroorganismů (Subbarao et al. 2001; Ashraf & Harris 2004). Rostliny pomáhá chránit proti dehydrataci (Yancey 2005). Molekula je dipolární, s elekticky neutrálním nábojem a neutrálním pH. Je vysoce rozpustná ve vodě a nezpůsobuje toxicitu ani při vysokých koncentracích. Glycin betain (obrázek 12)

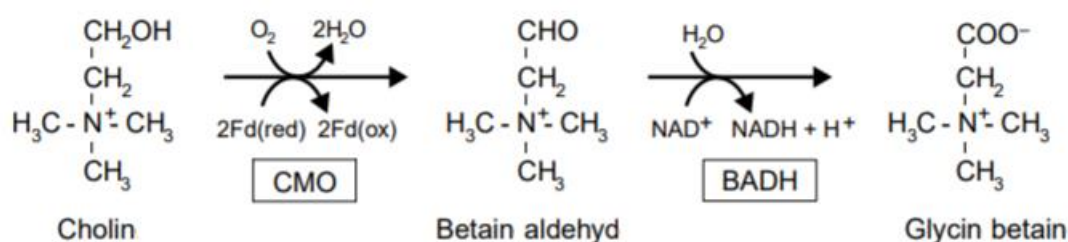


Obrázek 12: Chemická struktura glycin betainu (Sakamoto & Murato 2002)

napomáhá chránit organismus (rostlinu) před stresem způsobeným zasolením, suchem nebo při extrémních teplotách (Chen & Murata 2008). Akumulace GB stabilizuje strukturu makromolekul a chrání cytoplazmu před iontovou toxicitou (Subbarao et al. 2001). V některých rostlinách se glycin betain nesyntetizuje jako je např. *Arabidopsis thaliana*, *Brassica* spp, *Oryza sativa* a *Nicotiana tabacum* (Rhodes & Hanson 1993). Zajímavostí je, že rostliny s vysokou akumulací glycin betainu produkují málo prolinu a naopak (Tipirdamaz et al. 2006). Akumulace

GB závisí nejen na rostlinném druhu, odrůdě, organele, ale také na enviromentálních faktorech, které na rostlinu působí. K akumulaci glycin betainu dochází především v listech, květech, semenech, kořenech, stoncích, ale i kotyledonech (Wang et al. 2004; Zhang et al. 2008). Koncentrace GB se ovšem v jednotlivých orgánech liší. Obsah glycin betainu je nejvyšší v mladých vyvíjejících se listech, naopak nejnižší je v průběhu stárnutí. V kořenech je během celého životního cyklu rostliny obsah glycin betainu nízký (Rezaei et al. 2012).

Biosyntéza glycin betainu u rostlin nejčastěji probíhá tzv. dvoufázovou oxidací cholinu (cholinová cesta). Za ovlivnění dvou enzymů cholin monooxygenázy (CMO), kdy vzniká betain aldehyd, který je dále katalyzován betain aldehyd dehydrogenázou (BADH) na glycin betain (obrázek 13) (Ashraf & Foolad 2007). Tyto dva enzymy (CMO a BADH) se u rostlin nacházejí ve stromatu chloroplastů (Sakamoto & Murata 2002).

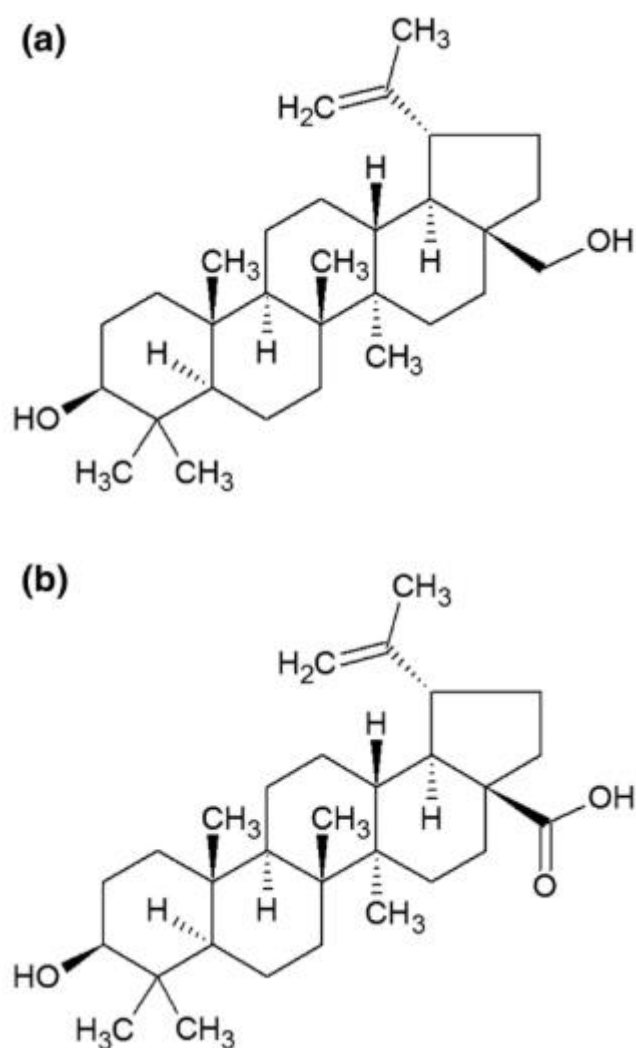


Obrázek 13: Syntéza glycin betainu (Ashraf & Foolad 2007, upraveno)

3.8.3 Betulin

Betulin (BE) je pentacyklický triterpenický alkohol lupanového typu (lup-20(29)-en-3 β ,28-diol). Vyskytující se ve vnější kůře mnoha druhů bříz (*Betula*, *Betulaceae*), a to zejména v *Betula alba*, *B. pubescens*, *B. platyphylla* a *B. pendula* (Lin et al. 2010; Dehelean et al. 2012). Byl jedním z prvních přírodních triterpenoidů určený a izolovaný jako čistá chemická substance v roce 1788 Lowitzem (Hordyjewska et al. 2019). Teprve až v roce 1952 byla stanovena přesná struktura BE (obrázek 14). Množství betulinu může být až 20-30 % (nebo dokonce téměř 45 %) hmotnosti suché kůry v závislosti na druhu břízy (Yogeeswari & Sriram 2005; Kuznetsova et al. 2014). Menší množství betulinu lze nalézt též v rhizodermis kořenů a listech břízy (Šiman et al. 2016). BE lze izolovat z březové kůry pomocí sublimace nebo extrakce organickými rozpouštědly (aceton, ethanol, chloroform), což je také nejjednodušší způsob, jak tuto látku získat (Zdzisińska et al. 2010). Obsah betulinu v extraktech z kůry různých druhů bříz je 70-80 %, zbývající část tvoří další terpeny lupeol, kyselina betulinová (4-12 %), betulinaldehyd nebo kyselina oleanolová (Krasutsky 2006). Betulin a kyselina betulinová (BA) nejsou ve vodě rozpustné. Množství BA (obrázek 14) izolované z rostlin je velmi malé

0,5-2,5 %. Proto se více uplatňuje syntéza z betulinu (Laszczyk et al. 2009). Deriváty betulinu a kyseliny betulinové jsou rozpustnější ve vodě, v této diplomové práci byl použit derivát betulinu (glycin betulin).



Obrázek 14: Chemická struktura a) betulin
b) kyseliny betulinové (Tsai et al. 2011; Soica et al. 2012)

4 Metodika

4.1 Rostlinný materiál

Cílem diplomové práce bylo zjistit, jak sucho a zasolení ovlivňuje základní životní procesy rostlin jako je klíčení semen a rané vývojové fáze rostlin. Jako pokusné rostliny byly vybrány řeřicha setá, kozlíček polníček a locika setá (salát).

4.1.1 Řeřicha setá 'Dánská' (*Lepidium sativum* L.-čeled' brukvovité-*Brassicaceae*)

Řeřicha (obrázek 15) se pěstuje jako jednoletá. Listy jsou drobné, lysé, světle zelené až šedomodře ožiněné, výrazně laločnatě dělené. Zvláštností jsou děložní lístky, které jsou trojdílné. V létě vykvétá drobnými bílými až načervenalými květy. V době kvetení dosahuje výšky až 60 cm. Plody jsou šesule obsahující drobná hnědo-rezavá semena (Vogel 1996).



Obrázek 15: Řeřicha setá (foto autor)

4.1.2 Kozlíček polníček 'Larged Leaved' (*Valerianella locusta* L.-čeled' kozlíkovité-*Valerianaceae*)

Kozlíček (obrázek 16) je jednoletá rostlina vytvářející listové růžice oválných, tmavě zelených listů s výraznou nervaturou. Kvete drobnými bledě modrými květy. Plodem je nažka (Biggs 2016).



Obrázek 16: Kozlíček polníček (foto autor)

4.1.3 Locika setá 'Král Máje' (*Lactuca sativa* L. var. *capitata* L.-čeled' hvězdnicovité-*Asteraceae*)

Hlávkový salát (obrázek 17) je jednoletá, chladuodolná zelenina. Vytváří růžici listů, které se zavíjejí do pevné hlávky. Barva listů může být od světle přes tmavě zelenou až po červenou. Kvete drobnými žlutými květy. Plodem je nažka. Rostlina roní bílou šťávu obsahující hořký lactucin (Vogel 1996).



Obrázek 17: Locika setá (foto autor)

4.2 Charakteristika pokusu a podmínka pro klíčení

Pokus byl založen na Katedře botaniky a fyziologie rostlin České zemědělské univerzity v Praze, Fakultě agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů. Pokus probíhal v řízených podmínkách, kdy Petriho misky byly umístěny do klíčidla – inkubátoru s chlazením (Peltier), ve kterých měla semena nastavené vhodné podmínky pro klíčení (teplota 25 °C, tma a vlhkost vzduchu 65 %).

4.3 Ošetření osiva

Před založením pokusu nebylo osivo řechy a salátu chemicky ošetřeno. Pouze osivo polníčku bylo ošetřeno 5% roztokem chlornanu sodného po dobu 10 minut a následně propláchnuto destilovanou vodou.

4.4 Charakteristika pokusu

U vybraných druhů rostlin (salát, řechy a polníček) byl hodnocen vliv glycin betulinu na klíčivost a růst v raných vývojových fázích v podmínkách sucha a zasolení. Na dno každé Petriho misky (o průměru 120 mm) byl vložen filtrační papír. Na ten bylo napipetováno 5 ml roztoku o příslušné koncentraci. Pro lepší rozmístění semen byla z jednoho filtračního papíru vytvořena šablona, která byla vložena pod spodní víčko Petriho misky. Semena byla na filtrační papír přenášena pomocí pinzety v pravidelných rozestupech. Do každé misky bylo vloženo 30 semen. Petriho miska byla poté překryta horním víčkem, které bylo označeno příslušnou

variantou. Od každé koncentrace bylo vždy použito pět Petriho misek. Aby se předešlo ztrátám vody, byly okraje misek utěsněny parafilmem. Poté byly všechny přemístěny do klíčidla. U každé Petriho misky byl sledován počet klíčících (vyklíčených) semen, měřena délka kořínku a hypokotylu. Naměřené hodnoty (v mm) byly zaznamenávány pro další zpracování. Zároveň byly během kontrol doplňovány roztoky, aby nedošlo k vyschnutí semen a filtračního papíru. Při ukončení pokusu byla vážena hmotnost čerstvé hmoty (FW). Poté byly semenáčky vysušeny v sušárně a byla zvážena hmotnost sušiny (DW). Celkem bylo na pokus použito 4800 semen a 160 Petriho misek.

4.5 Test toxicity u řeřichy seté

Pokus s nižší koncentrační řadou glycin betulinu $0,014 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$; $0,049 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$; $0,07 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$; $0,091 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ a $0,112 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ byl založen 15. 10. 2019, po dvou dnech bylo provedeno první měření a zároveň byl pokus ukončen. Druhá koncentrační řada ($0,14 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$; $0,49 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$; $0,7 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$; $0,91 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ a $1,12 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$) byla založena 3. 12. 2019 a pokus byl ukončen po třech dnech od založení (6. 12. 2019). U kontrolní varianty byla pro oba pokusy použita destilovaná voda. Celý pokus probíhal v 55 Petriho miskách, ve kterých klíčilo 1650 semen.

4.6 Test toxicity u kozlíčku polníčku

Pokus s polníčkem byl založen 29. 3. 2019 byly zvoleny následující koncentrace glycin betulinu: kontrola; $0,14 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$; $0,49 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$; $0,7 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$; $0,91 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ a $1,12 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$. Měření probíhalo třetí a šestý den. Poté byly rostliny přemístěny na čtyři dny do klimaboxu, kde rostlinky trochu povyroستly. Pokus byl ukončen po deseti dnech od založení (8. 4. 2019). Na celý pokus bylo použito 30 petriho misek a 900 semen polníčku.

4.7 Kozlíček polníček v podmínkách zasolení

Efekt aplikace glycin betulinu v podmínkách zasolení byl u polníčku simulován 100 mM NaCl . Bylo použito 30 Petriho misek, ve kterých klíčilo 900 semen polníčku. Bylo vytvořeno pět koncentrací roztoků – $0,14 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$, $0,49 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$, $0,7 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$, $0,91 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ a $1,12 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$. Pro kontrolní variantu byla použita destilovaná voda. Pokus byl založen 5. 4. 2019 a trval stejně jako u předchozího pokusu deset dní. Měření probíhalo čtvrtý, šestý, sedmý a desátý den.

4.8 Locika setá v podmínkách vodního stresu

Sucho bylo simulováno pomocí 10% a 30% PEG 6000 (polyetylen glycol). Nejprve byl založen pokus s 10 a 30% roztokem PEG. Následně z 10% PEG spolu s glycin betulinem byly vytvořeny čtyři následující koncentrace $0,091 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$; $0,14 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$; $0,7 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ a $1,12 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$. Pro kontrolní varianty byla u obou pokusů použita destilovaná voda. Pro tento pokus bylo použito 15 Petriho misek s 450 semeny. První část pokusu s locikou setou byla založena 9. 4. 2019. Klíčící rostlinky byly měřeny druhý a třetí den. Na tři dny byly Petričky přemístěny do klimaboxu a v pondělí 15. 4. 2019 byl pokus ukončen. Druhá koncentrační řada salátu byla založena 29. 10. 2019 ve 25 Petričkách se 750 semeny a celý pokus trval šest dní. První měření proběhlo druhý

den od založení a druhé měření se uskutečnilo čtvrtý den pokusu, kdy byl pokus ukončen (4. 11. 2019).

4.9 Sledované parametry klíčivosti semen

4.9.1 Klíčivosti semen (SG)

Klíčivost semen (seed germination) vyjadřuje procentuální množství vyklíčených semen daného vzorku za vhodných podmínek v čase vymezeném pro klíčení (tedy v období, kdy je klíčení ukončeno) (Šera 2014).

$$\text{Klíčivost semen (\%): } SG = G_f/S \times 100$$

G_f počet vyklíčených semen na konci kultivace
 S celkový počet testovaných semen

4.9.2 Energie klíčení (GE)

Energie klíčení (germination energy) vyjadřuje procentuální množství vyklíčených semen za časový úsek. Mimo jiné energie klíčení vypovídá o intenzitě a vyrovnanosti klíčení (Bam et al. 2006).

$$\text{Energie klíčení (\%): } SE = G_t/S \times 100$$

G_t počet vyklíčených semen ve dne t
 S celkový počet testovaných semen

4.9.3 Rychlost klíčení (GR)

Rychlost klíčení (speed of germination) je poměr počtu vyklíčených semen na začátku a na konci stanovené doby, zpravidla bývá vyjádřen v procentech (Kader 2005; Šerá 2019).

$$\text{Rychlost klíčení (\%): } GR = G_t/G_f \times 100$$

G_t počet vyklíčených semen ve dne t
 G_f počet vyklíčených semen na konci kultivace

4.9.4 Index klíčivosti (GI)

$$\text{Index klíčivosti: } GI = \sum(G_t/D_t)$$

G_t počet vyklíčených semen ve dne t
 D_t počet dnů (Šerá 2014).

4.10 Zpracování výsledků

K vyhodnocení statistických výsledků byly použity programy STATISTICA 12. Jako metoda byla zvolena analýza rozptylu jednofaktorová, vícefaktorová ANOVA a Fisherův LSD test, který je součástí grafů. Stanovená hladina významnosti byla $\alpha = 0,05$. K výpočtům parametrů klíčivosti byl použit Microsoft Exel.

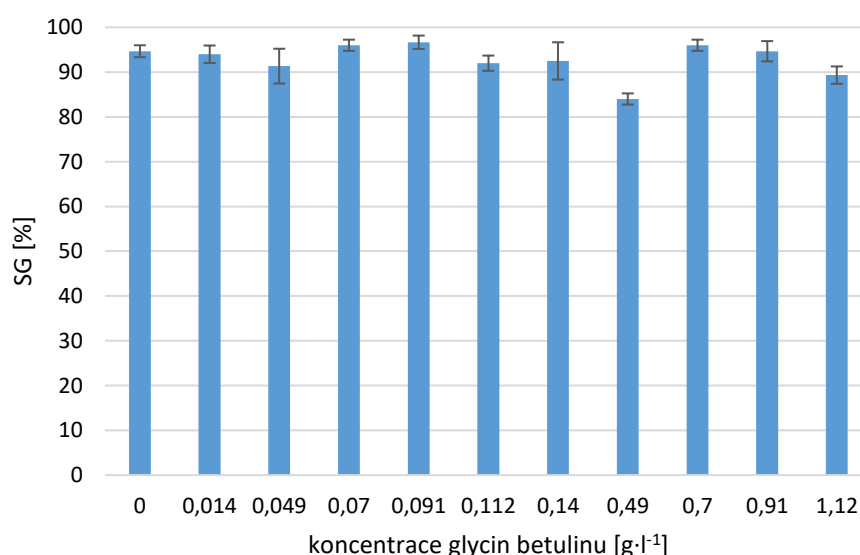
5 Výsledky

V této diplomové práci byla věnována pozornost glycin betulinu (GBet) a jeho vlivu na klíčení a rané vývojové fáze rostlin v podmínkách sucha nebo zasolení. Jako modelové rostliny byly vybrány řeřicha setá (*Lepidium sativum* L.), kozlíček polníček (*Valerianella locusta* L.) a locika setá (*Lactuca sativa* L.).

5.1 Vliv odstupňovaných koncentrací GBet na klíčení řeřichy seté

5.1.1 Klíčivost semen (SG)

V grafu 1 je znázorněna průměrná klíčivost semen řeřichy seté (*Lepidium sativum* L.) při různých koncentracích glycin betulinu. Nejvyšší hodnota byla naměřena u varianty $0,091 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ – 97 %. Naopak nejnižší hodnota byla zjištěno u varianty $0,49 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ – 84 %. Z grafu je patrné, že klíčivost semen byla u všech variant vyrovnaná.



Graf 1: Klíčivost semen *Lepidium sativum* v závislosti na koncentraci GBet

5.1.2 Počet vyklíčených semen

Tabulka 1 znázorňuje průměrný počet vyklíčených semen při různých koncentracích glycin betulinu u semen řeřichy. Nejvíce vyklíčených semen – 29 ze 30 – můžeme pozorovat hned u tří variant: $0,07 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$; $0,091 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ a $0,7 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$. Naopak nejméně vyklíčených semen bylo zaznamenáno u varianty $0,14 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$, u které vyklíčilo pouze 25 semen ze 30. Z výsledků je patrné,

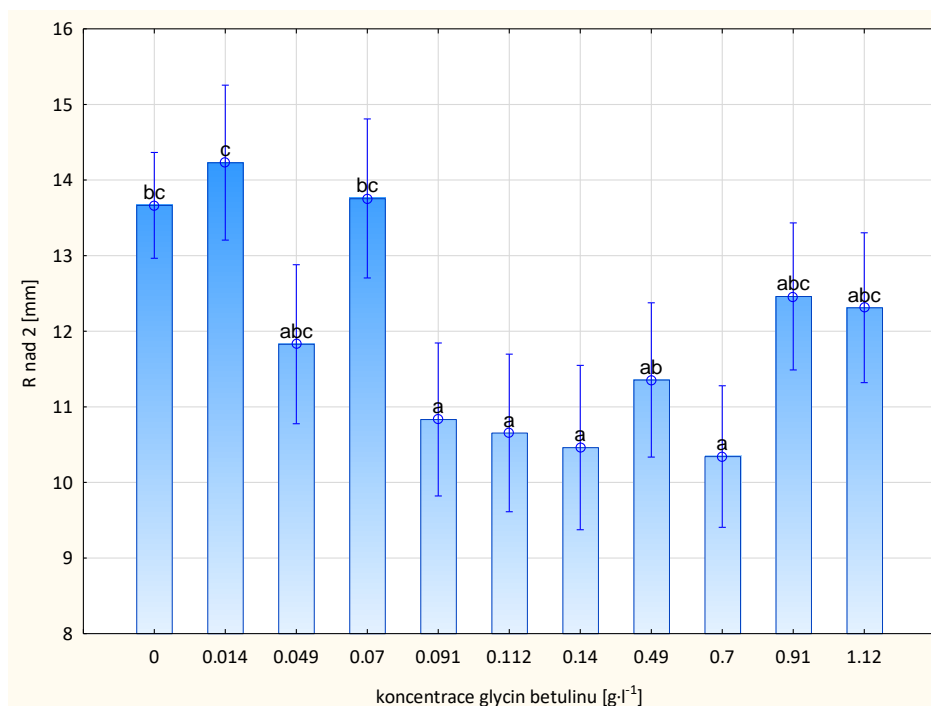
že rozdíly v průměrném počtu vyklíčených semen byly minimální, vždy vyklíčilo více jak 20 semen ze 30 možných.

koncentrace glycin betulinu	1. termín
kontrola	28
0,014 g·l ⁻¹	28
0,049 g·l ⁻¹	27
0,07 g·l ⁻¹	29
0,091 g·l ⁻¹	29
0,112 g·l ⁻¹	28
0,14 g·l ⁻¹	28
0,49 g·l ⁻¹	25
0,7 g·l ⁻¹	29
0,91 g·l ⁻¹	28
1,12 g·l ⁻¹	27

Tabulka 1: Počet vyklíčených semen u *Lepidium sativum* v závislosti na koncentraci GBet

5.1.3 Délka kořínku nad 2 mm

Graf 2 zobrazuje průměrné délky kořínku nad 2 mm u klíčících semen řechy při různých koncentracích glycin betulinu. Nejdelší kořínky byly naměřeny u varianty 0,014 g·l⁻¹ – 14,2 mm, a naopak nejkratší byly u varianty 0,7 g·l⁻¹ – 10,3 mm. Rozdíl mezi nejnižší a nejvyšší hodnotou činil 4 mm. Na základě LSD testu byly zjištěny průkazné rozdíly s kontrolou u variant 0,7 g·l⁻¹; 0,14 g·l⁻¹, 0,091 g·l⁻¹; 0,112 g·l⁻¹ a 0,014 g·l⁻¹. Zatímco u ostatních variant nebyly zaznamenány průkazné rozdíly v délkách kořínků nad 2 mm. LSD testem bylo dále



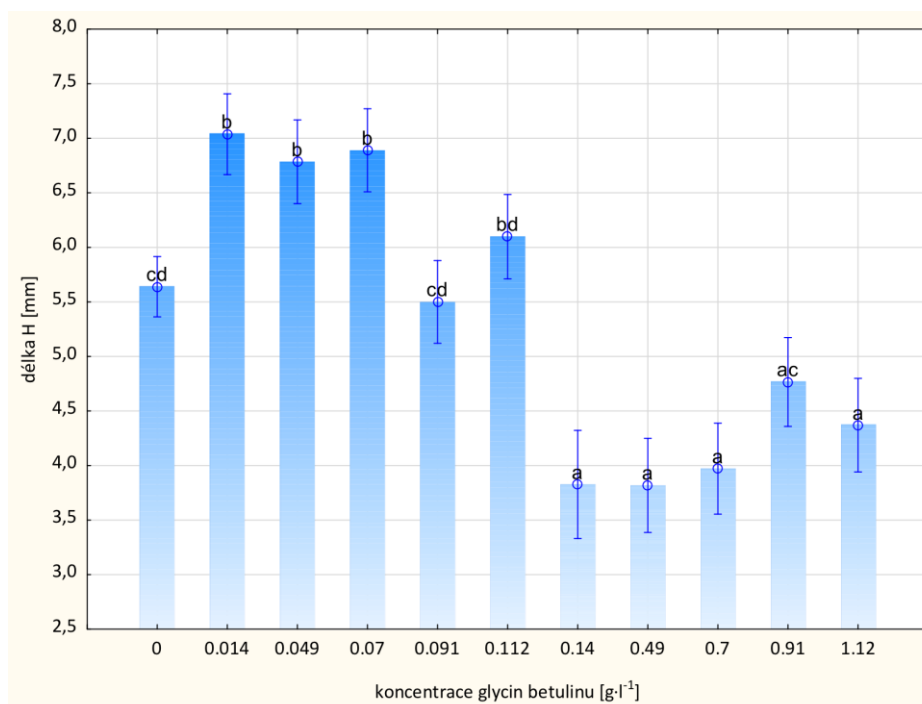
Graf 2: Délka kořínku nad 2 mm u *Lepidium sativum* v závislosti na koncentraci GBet

zjištěno, že existuje statisticky významný rozdíl mezi variantou 0,014 g·l⁻¹ a pěti variantami (0,091 g·l⁻¹; 0,112 g·l⁻¹; 0,14 g·l⁻¹; 0,49 g·l⁻¹ a 0,7 g·l⁻¹). Dále byl zjištěn statisticky významný rozdíl u varianty 0,07 g·l⁻¹, která se lišila od variant 0,091 g·l⁻¹; 0,112 g·l⁻¹; 0,14 g·l⁻¹ a 0,7 g·l⁻¹.

5.1.4 Délka hypokotyly

Na následujícím grafu 3 jsou zaznamenány průměrné délky hypokotyly v mm u semen řechy při různých koncentracích glycin betulinu. U kontrolní varianty byla průměrná délka hypokotyly 5,6 mm. Nejdelší hypokotyl – 7 mm – byl naměřen u varianty 0,014 g·l⁻¹.

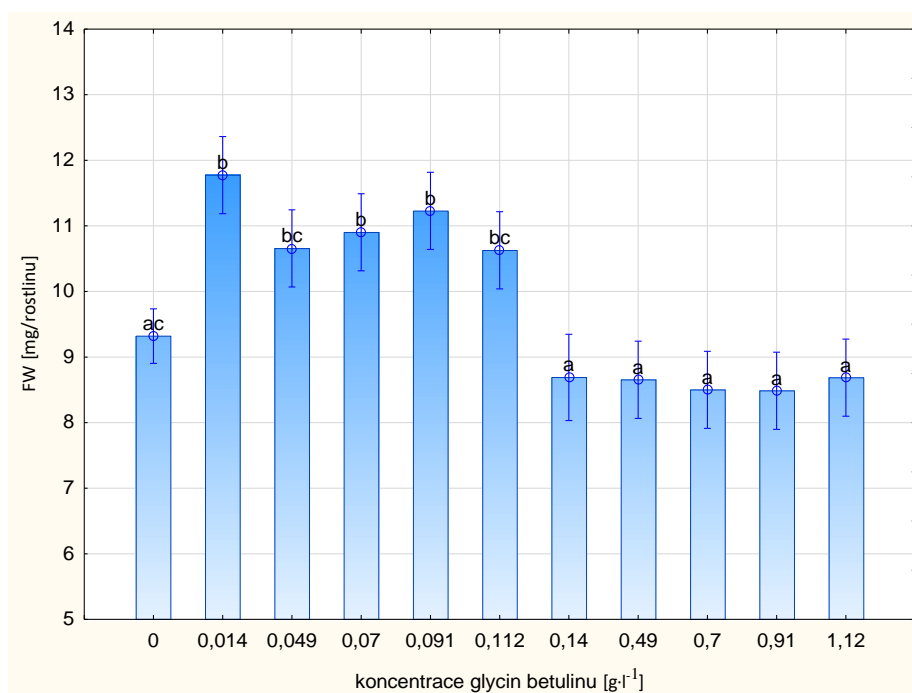
Při koncentraci 0,049 g·l⁻¹ a 0,07 g·l⁻¹ byla průměrná délka hypokotyly 6,8 a 6,9 mm. U varianty 0,091 g·l⁻¹ došlo k poklesu hodnot na 5,5 mm, zatímco u koncentrace 0,112 g·l⁻¹ se délka hypokotyly zvýšila na 6,1 mm. U nižších koncentrací se průměrná délka hypokotyly pohybovala od 3,8 do 4,8 mm. Z výsledků je patrné, že delší hypokotyly byly u nižší koncentrační řady s glycin betulinem, zatímco u vyšších koncentrací se průměrná délka hypokotyly snížila. Podle LSD testu nebyly mezi variantami 0,91 g·l⁻¹; 0,091 g·l⁻¹; 0,112 g·l⁻¹ a kontrolou zjištěny průkazné rozdíly v délkách hypokotyly. Statisticky významný rozdíl v délkách hypokotyly ve srovnání s kontrolou byl zjištěn u sedmi sledovaných variant (0,014 g·l⁻¹; 0,049 g·l⁻¹; 0,07 g·l⁻¹; 0,14 g·l⁻¹; 0,49 g·l⁻¹; 0,7 g·l⁻¹ a 1,12 g·l⁻¹). Dále byl zjištěn statisticky významný rozdíl mezi třemi variantami (0,014 g·l⁻¹; 0,049 g·l⁻¹ a 0,07 g·l⁻¹) a šesti následujícími variantami (0,091 g·l⁻¹; 0,14 g·l⁻¹; 0,49 g·l⁻¹; 0,7 g·l⁻¹; 0,91 g·l⁻¹ a 1,12 g·l⁻¹).



Graf 3: Délka hypokotyly u *Lepidium sativum* v závislosti na koncentraci GBet

5.1.5 Čerstvá hmotnost (FW) klíčících rostlinek

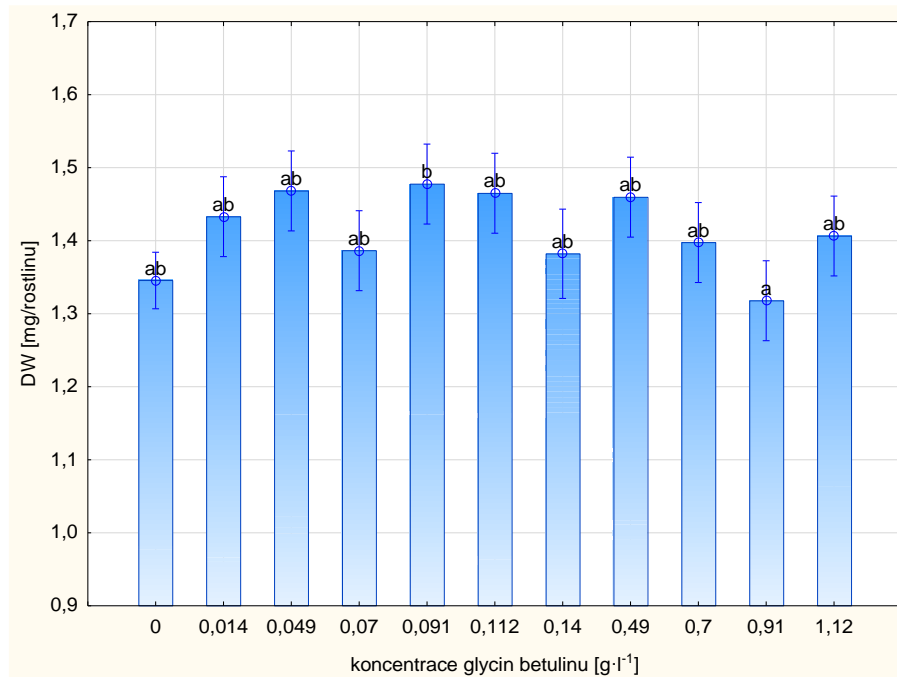
V grafu 4 je uvedena průměrná hmotnost čerstvé hmoty přepočítaná na jednu rostlinu v mg při různých koncentracích glycin betulinu. Průměrné hmotnosti se pohybovaly od 8,5 do 11,8 mg. Nejvyšší hmotnosti dosáhla varianta 0,014 g·l⁻¹ a naopak nejnižší byla zjištěna u varianty 0,7 g·l⁻¹ a 0,91 g·l⁻¹. LSD testem nebyly zjištěny statistické rozdíly mezi kontrolou a sedmi variantami (0,049 g·l⁻¹; 0,112 g·l⁻¹; 0,14 g·l⁻¹; 0,49 g·l⁻¹; 0,7 g·l⁻¹; 0,91 g·l⁻¹ a 1,12 g·l⁻¹). Zatímco u variant 0,014 g·l⁻¹; 0,07 g·l⁻¹ a 0,091 g·l⁻¹ byly zjištěny průkazné statistické rozdíly s kontrolou. U nižších koncentrací GBet (0,014 g·l⁻¹; 0,049 g·l⁻¹; 0,07 g·l⁻¹; 0,091 g·l⁻¹ a 0,112 g·l⁻¹) byly zjištěny statisticky významné rozdíly s vyššími koncentracemi GBet (0,14 g·l⁻¹; 0,49 g·l⁻¹; 0,7 g·l⁻¹; 0,91 g·l⁻¹ a 1,12 g·l⁻¹).



Graf 4: Hmotnost FW klíčících rostlinek u *Lepidium sativum* v závislosti na koncentraci GBet u semen

5.1.6 Hmotnost sušiny (DW) klíčících rostlinek

Graf 5 znázorňuje průměrnou hmotnost sušiny vztaženou na jednu klíčící rostlinku při různých koncentracích glycin betulinu. Z grafu je patrné, že nejvyšší hmotnost sušiny 1,5 mg byla zjištěna hned u čtyř variant – 0,049 g·l⁻¹; 0,091 g·l⁻¹; 0,112 g·l⁻¹ a 0,49 g·l⁻¹. Naopak nejnižší hmotnost 1,3 mg byla u varianty 0,91 g·l⁻¹. LSD testem bylo zjištěno, že u všech koncentrací glycin betulinu nebyl prokázán statisticky významný rozdíl s kontrolní variantou. Lišila se pouze varianta 0,091 g·l⁻¹ s variantou 0,91 g·l⁻¹.

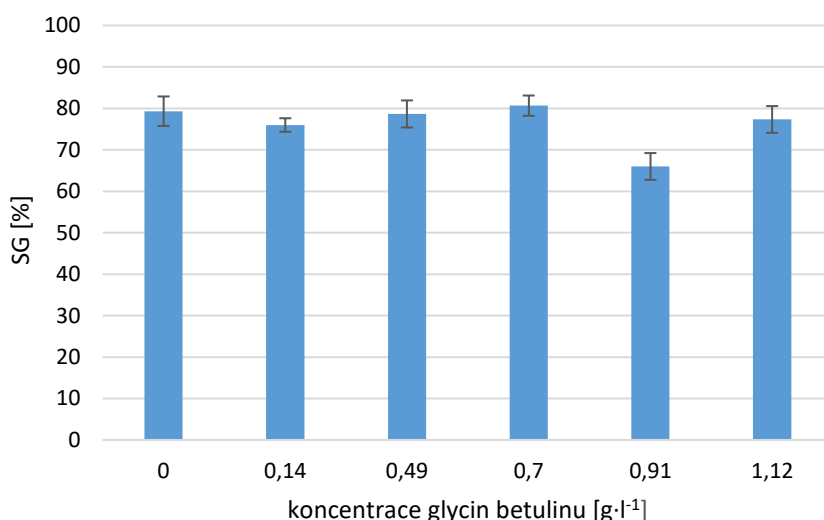


Graf 5: Hmotnost DW klíčících rostlinek u *Lepidium sativum* v závislosti na koncentraci GBet

5.2 Vliv odstupňovaných koncentrací GBet na klíčení kozlíčku polníčku

5.2.1 Klíčivost semen (SG)

V grafu 6 je znázorněna průměrná klíčivost semen při různých koncentracích glycin betulinu u semen kozlíčku polníčku (*Valerianella locusta* L.). Nevyšší průměrná klíčivost byla zjištěna u varianty $0,7 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ – 81 %. Naopak nejnižší klíčivost byla zaznamenána u varianty $0,91 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ – 66 %. U kontrolní varianty a varianty $0,49 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ byly zaznamenány hodnoty klíčivosti 79 %. Pro varianty $0,14 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ a $1,12 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ byly hodnoty 76 % a 77 %. Rozdíl mezi nejvyšší a nejnižší hodnotou činil 15 %. Z výsledků je zřejmé, že až na variantu $0,91 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ byly rozdíly v průměrné klíčivosti semen minimální.



Graf 6: Klíčivost semen *Valerianella locusta* v závislosti na koncentraci GBet

5.2.2 Energie klíčení (GE)

V tabulce 2 jsou zaznamenány průměrné hodnoty energie klíčení semen kozlíčku při různých koncentracích glycin betulinu. Při prvním měření byla nejvyšší hodnota u varianty $0,49 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ – 57 %. Naopak nejnižší hodnota byla u varianty $0,91 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$, u které byla energie klíčení 33 %. U dalších sledovaných variant ($0,14 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$; $0,7 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$; a $1,12 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$) byly hodnoty GE

koncentrace glycin betulinu	GE 1. termín [%]	GE 2. termín [%]
kontrola	51	79
$0,14 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$	39	76
$0,49 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$	57	79
$0,7 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$	38	81
$0,91 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$	33	66
$1,12 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$	48	77

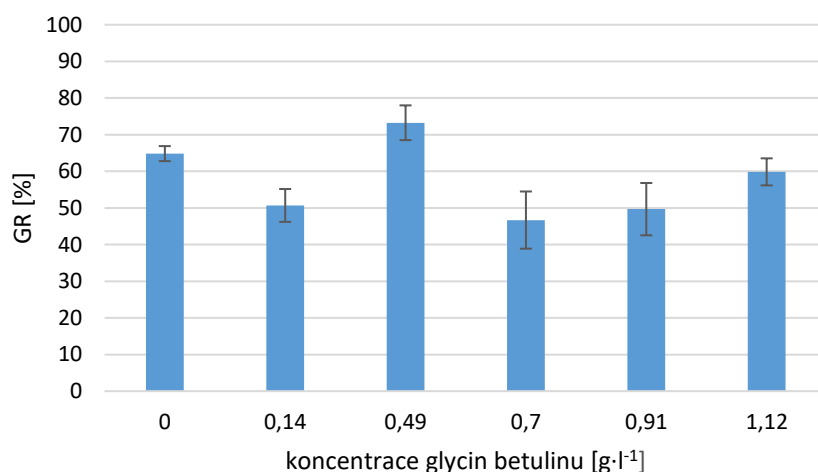
Tabulka 2: Energie klíčení u *Valerianella locusta* v závislosti na koncentraci GBet

51 %; 39 %; 38 % a 48 %. Při druhém měření, které se uskutečnilo třetí den od založení pokusu, došlo u všech variant k nárůstu hodnot GE. Naměřené hodnoty se pohybovaly od 66 % do

81 %, kdy nejvyšší hodnota byla zaznamenána u varianty $0,7 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ a nejnižší u varianty $0,91 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$. U ostatních variant se hodnoty GE pohybovaly od 76 % do 79 %. Rozdíl mezi nejnižší a nejvyšší hodnotou GE při druhém měření činil 15 %.

5.2.3 Rychlost klíčení (GR)

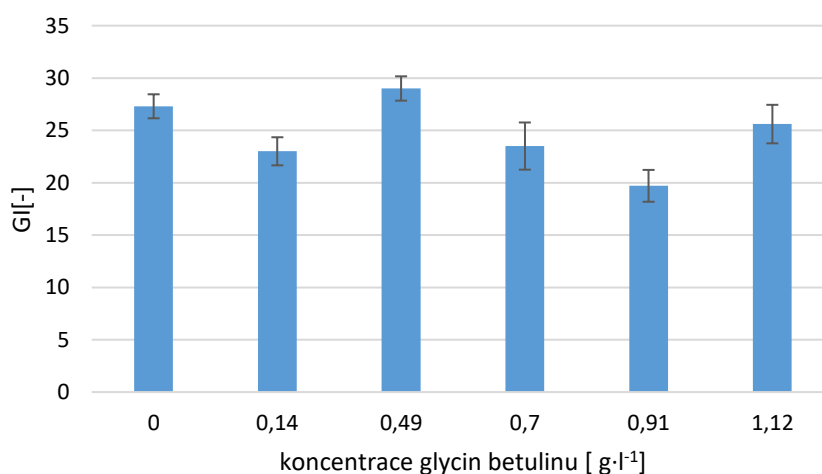
Na následujícím grafu 7 jsou uvedeny průměrné hodnoty rychlosti klíčení semen polníčku při různých koncentracích glycin betulinu. Nejvyšší rychlosti klíčení dosáhla varianta $0,49 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ – 73 %. Naopak nejnižší průměrná rychlost klíčení 47 % byla zjištěna u varianty $0,7 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$. U kontrolní varianty byla průměrná rychlost klíčení 65 %. Rozdíl mezi nejvyšší a nejnižší průměrnou rychlosti klíčení činil 26 %.



Graf 7: Rychlost klíčení *Valerianella locusta* v závislosti na koncentraci GBet

5.2.4 Index klíčivosti (GI)

Graf 8 zobrazuje průměrný index klíčivosti u semen polníčku. Naměřené hodnoty se pohybují od 19,7 do 29, přičemž nejvyšší hodnoty byly zjištěny u varianty $0,49 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ a nejnižší u varianty $0,91 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$.



Graf 8: Index klíčivosti *Valerianella locusta* v závislosti na koncentraci GBet

5.2.5 Počet vyklíčených semen

V tabulce 3 jsou zaznamenány průměrné počty vyklíčených semen při rozdílných koncentracích glycin betulinu. Při prvním termínu měření, které proběhlo třetí den od založení pokusu, byl nejvyšší počet vyklíčených semen u varianty $0,49 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$, u které vyklíčilo 17 semen ze 30. Naopak nejnižší počet vyklíčených semen – 10 ze 30 – byl u varianty $0,91 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$. Při druhém termínu měření byl počet vyklíčených semen vyšší – 23 nebo 24 ze 30. Pouze u varianty $0,91 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ vyklíčilo 20 semen ze 30, což bylo nejméně vyklíčených semen u druhého měření

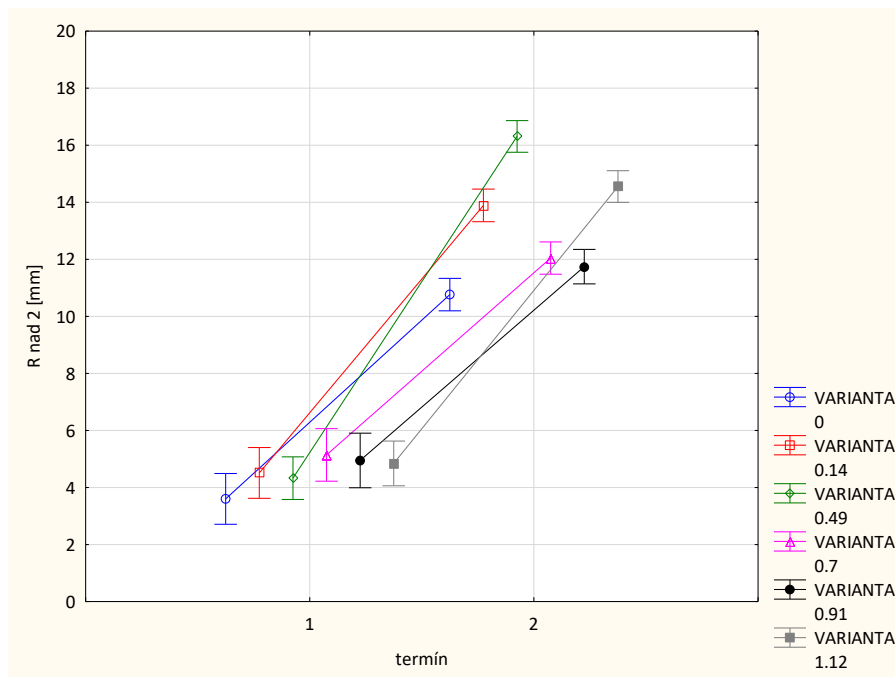
koncentrace glycin betulinu	1. termín	2. termín
kontrola	15	24
$0,14 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$	12	23
$0,49 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$	17	24
$0,7 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$	11	24
$0,91 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$	10	20
$1,12 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$	14	23

Tabulka 3: Počet vyklíčených semen u *Valerianella locusta* při různých koncentracích GBet

5.2.6 Délka kořínku nad 2 mm

Na tomto grafu 9 jsou zaznamenány průměrné délky kořínku nad 2 mm při dvou termínech měření. Při prvním termínu se průměrná délka kořínků pohybovala od 3,6 do 5,14 mm. Kdy nejdelší kořínek byl naměřen u varianty $0,7 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ a naopak nejkratší byl u kontroly. Při druhém měření byla nejdelší průměrná délka kořínku (16,3 mm) u varianty $0,49 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$. Naopak nejkratší kořínek byl stejně jako u prvního termínu zjištěn u kontroly s průměrnou délkou 10,8 mm. Při koncentracích glycin betulinu $0,14 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$; $0,7 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$; $0,91 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ a $1,12 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ byly průměrné délky kořínků 13,9 mm; 12 mm; 11,7 mm a 14,6 mm. LSD testem nebyly při prvním termínu zjištěny statisticky významné rozdíly mezi kontrolou a pěti sledovanými variantami. Při druhém termínu měření byly u variant $0,14 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$; $0,49 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ a $1,12 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ zjištěny statisticky významné rozdíly s kontrolou. Zatímco u variant ($0,7 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ a $0,91 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$) nebyly zjištěny statisticky průkazné rozdíly. U druhého měření byl dále zjištěn rozdíl u varianty $0,14 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ s variantami $0,49 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$; $0,7 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ a $0,91 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$. Rozdíl byl zjištěn i u varianty $0,49 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ s variantami $0,14 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$; $0,7 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$; $0,91 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ a $1,12 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$.

U varianty $0,7 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ byl prokázán statisticky významný rozdíl hned se třemi variantami $0,14 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$; $1,12 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ a $0,49 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$. Lišila se i varianta $0,91 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ s variantami $0,14 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$; $1,12 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ a $0,49 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$.

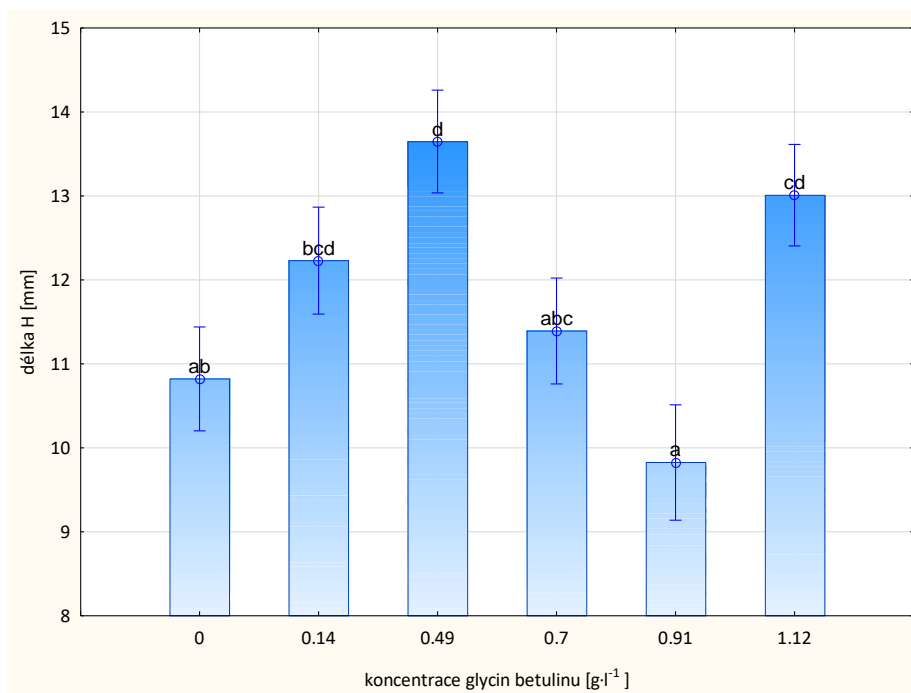


Graf 9: Délka kořínku nad 2 mm u *Valerianella locusta* v závislosti na koncentraci GBet

5.2.7 Délka hypokotylu

Graf 10 znázorňuje průměrné délky hypokotylu u klíčících rostlinek polníčku při různých koncentracích glycin betulinu. U kontrolní varianty byla průměrná délka hypokotylu 10,82 mm. Při koncentracích $0,14 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ a $0,49 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ byla průměrná délka hypokotylu vyšší – 12,23 mm a 13,65 mm. Průměrná délka hypokotylu u varianty $0,7 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ bylo 11,39 mm.

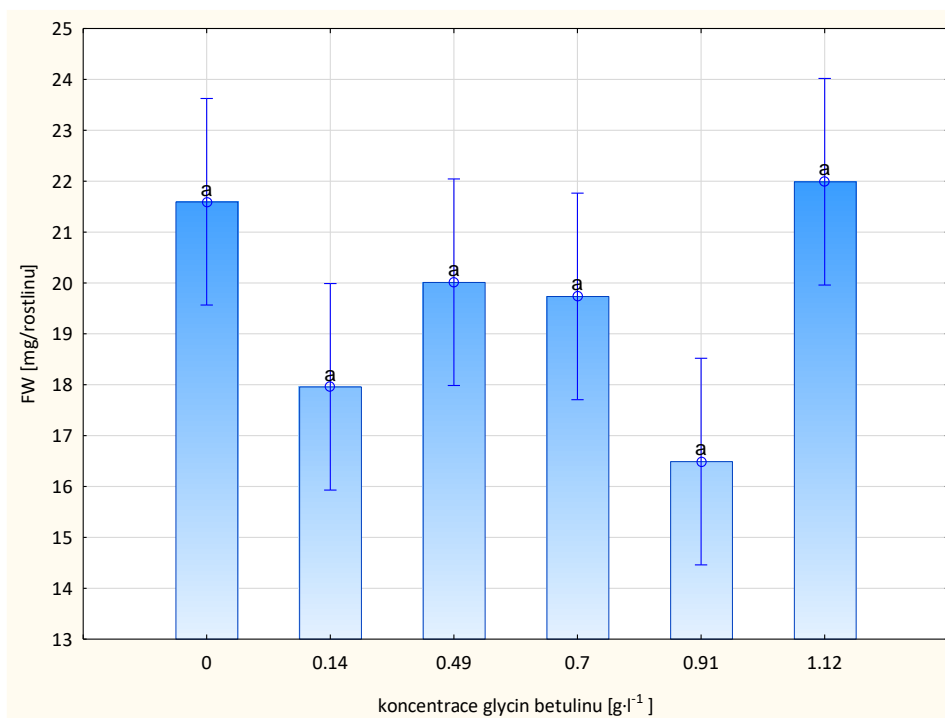
Při koncentraci $0,91 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ a $1,12 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ glycin betulinu byla průměrná délka hypokotylu 9,83 a 13 mm. Rozdíl mezi nejvyšší a nejnižší průměrnou délkou hypokotylu činil 3,82 mm. LSD testem bylo zjištěno, že mezi kontrolou a variantami $0,14 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$; $0,7 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ a $0,91 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ nebyl zjištěn statisticky významný rozdíl v průměrných délkách hypokotylů. Zatímco u variant $0,49 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ a $1,12 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ byl prokázán rozdíl v naměřených hodnotách. V průměrných délkách hypokotylu se podle LSD testu lišila i varianta $0,49 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ s variantami $0,7 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ a $0,91 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$. Dále byly zjištěny rozdíly i mezi variantou $0,91 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ a $1,12 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$.



Graf 10: Délka hypokotylu u *Valerianella locusta* v závislosti na koncentraci GBet

5.2.8 Čerstvá hmotnost (FW) klíčících rostlinek

Graf 11 znázorňuje průměrné hmotnosti čerstvé hmoty u rostlin kozlíčku. Hmotnosti se pohybovaly od 16,5 do 22 mg. Nejvyšší hmotnost byla zjištěna u kontrolní varianty a koncentrace 1,12 g·l⁻¹. Naopak nejnižší hmotnost byla u varianty 0,91 g·l⁻¹. Na základě LSD

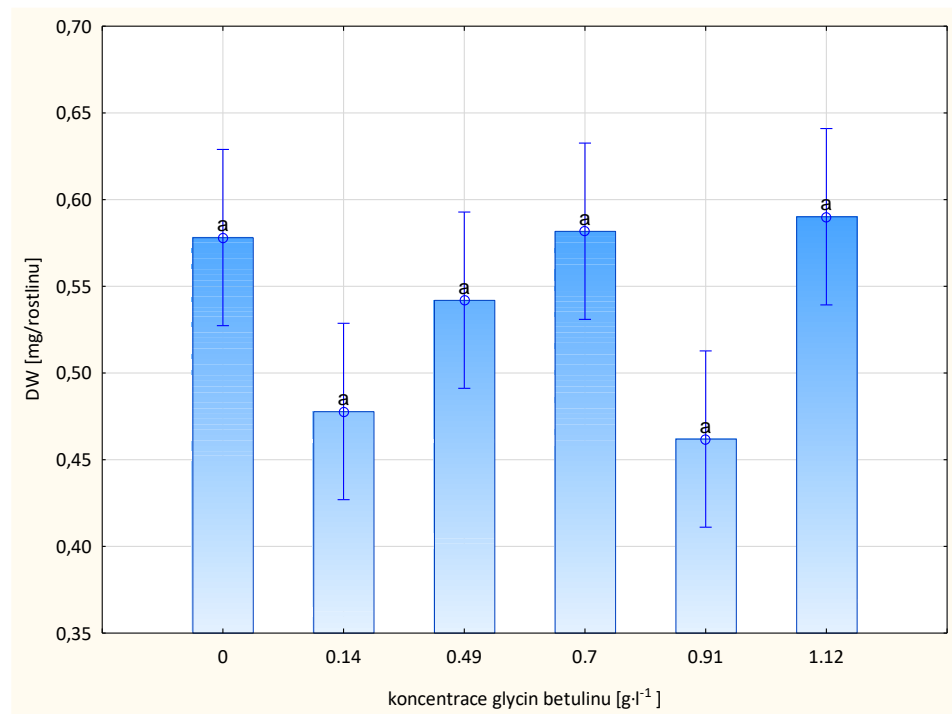


Graf 11: Hmotnost FW klíčících rostlinek u *Valerianella locusta* v závislosti na

testu nebyl mezi kontrolou a rostoucími koncentracemi glycin betulinu prokázán statisticky významný rozdíl v hmotnostech FW.

5.2.9 Hmotnost sušiny (DW) klíčících rostlinek

V grafu 12 jsou zobrazeny průměrné hmotnosti sušiny přepočítané na hmotnost jedné rostliny. Z grafu je patrné, že nejvyšší hmotnost byla u varianty $1,12 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ – 0,59 mg a naopak nejnižší u varianty $0,91 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ – 0,46 mg. Mezi kontrolou a všemi následujícími variantami nebyl statisticky významný rozdíl.

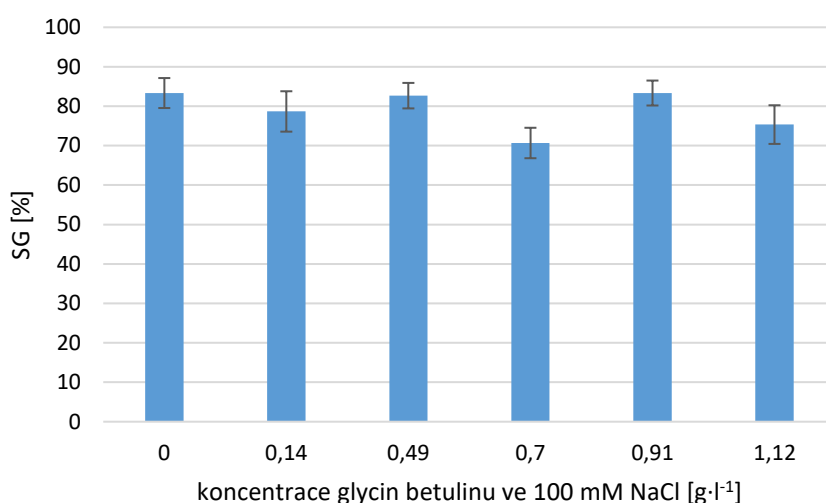


Graf 12: Hmotnost DW klíčících rostlinek u *Valerianella locusta* v závislosti na koncentraci GBet

5.3 Vliv odstupňovaných koncentrací GBet na klíčení kozlíčku polníčku v podmínkách zasolení

5.3.1 Klíčivost semen (SG)

Graf 13 znázorňuje průměrné hodnoty klíčivosti semen u rostlin polníčku v podmínkách zasolení. Vypočítané hodnoty se pohybují od 71 % do 83 %, přičemž nejvyšší hodnoty byly u tří variant – kontrolní, 0,49 g·l⁻¹ a 0,91 g·l⁻¹. Naopak nejnižší hodnota byla u varianty 0,7 g·l⁻¹. U následujících variant – 0,14 g·l⁻¹; 0,49 g·l⁻¹ a 1,12 g·l⁻¹ – byla průměrná klíčivost semen 79 % a 75 %.



Graf 13: Klíčivost semen *Valerianella locusta* v podmínkách zasolení

5.3.2 Energie klíčení (GE)

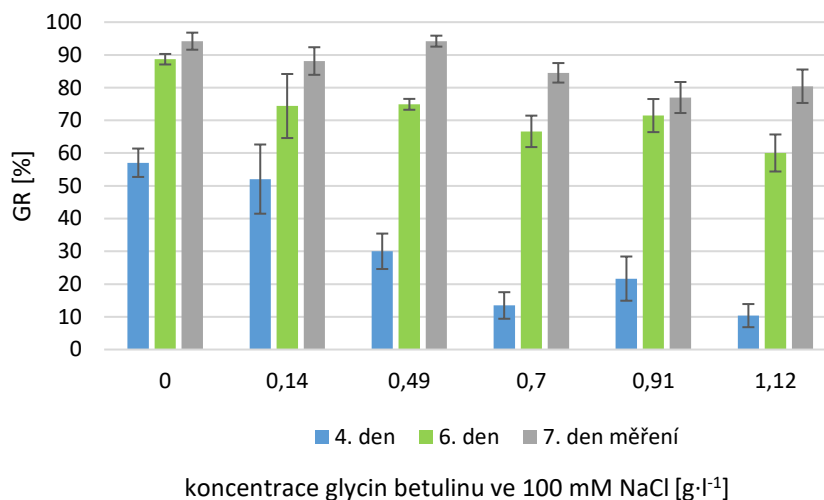
Z tabulky 4 je patrné, že nejvyšší průměrné hodnoty energie klíčení byly při posledním měření tedy desátý den od založení pokusu. Nejvyšší průměrná hodnota GE (83 %) byla zjištěna u tří variant – kontrolní, 0,49 g·l⁻¹ a 0,91 g·l⁻¹. Naopak nejnižší hodnota byla u varianty 0,7 g·l⁻¹ – 71 %. U varianty 1,12 g·l⁻¹ byla průměrná energie klíčení 75 %.

koncentrace glycin betulinu ve 100 mM NaCl	GE 1. termín [%]	GE 2. termín [%]	GE 3. termín [%]	GE 4. termín [%]
kontrola	48	74	79	83
0,14 g·l ⁻¹	43	60	70	79
0,49 g·l ⁻¹	25	62	78	83
0,7 g·l ⁻¹	9	47	59	71
0,91 g·l ⁻¹	18	60	65	83
1,12 g·l ⁻¹	8	45	60	75

Tabulka 4: Energie klíčení *Valerianella locusta* při různých koncentracích GBet v NaCl

5.3.3 Rychlost klíčení (GR)

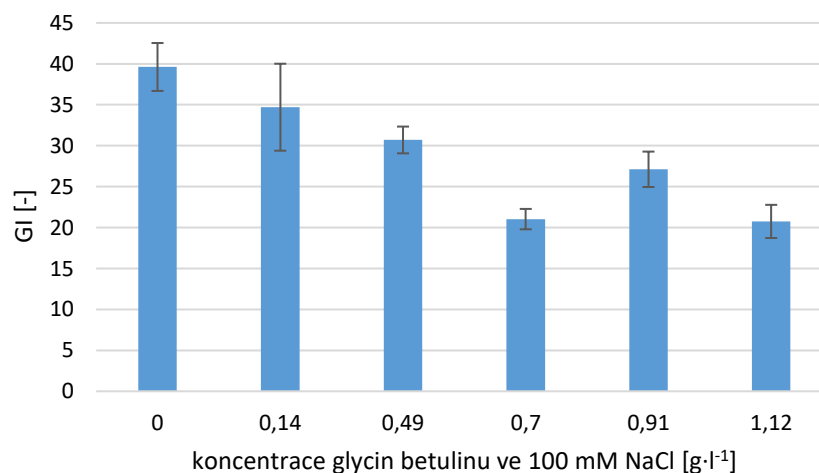
Graf 14 ukazuje, že nejvyšší průměrná rychlost klíčení byla šestý a sedmý den měření. Naopak nejnižší výsledky byly při prvním měření čtvrtý den od založení pokusu – od 13 % do 57 %. Při prvním měření rychlost klíčení s rostoucí koncentrací glycin betulinu v NaCl klesala. Pouze u varianty $0,91 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ došlo k mírnému nárůstu hodnot. Při šestém měření se průměrná rychlost klíčení pohybovala od 60 % do 89 %. U posledního měření byla nevyšší průměrná klíčivost 94 % zjištěna u varianty kontrolní a $0,49 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$. Naopak nejnižší průměrná hodnota GR byla u varianty $0,91 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$.



Graf 14: Rychlost klíčení *Valerianella locusta* v podmínkách zasolení

5.3.4 Index klíčivosti (GI)

Graf 15 zobrazuje průměrný index klíčivosti u semen polníčku v podmínkách zasolení. Nejvyšší index klíčivosti byl u kontrolní varianty (39). Se zvyšující koncentrací glycin betulinu s NaCl se index klíčivosti snižoval, nejnižší hodnota (21) byla u variant $0,49 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ a $1,12 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$. U varianty $0,91 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ došlo ke zvýšení GI na 27.



Graf 15: Index klíčivosti *Valerianella locusta* v podmínkách zasolení

5.3.5 Počet vyklíčených semen

V tabulce 5 jsou zobrazeny průměrné hodnoty vyklíčených semen při prvním, druhém, třetím a čtvrtém měření. Nejméně semen vyklíčilo při prvním měření, naopak nejvíce při měření posledním, kdy vyklíčilo přes 20 semen ze 30.

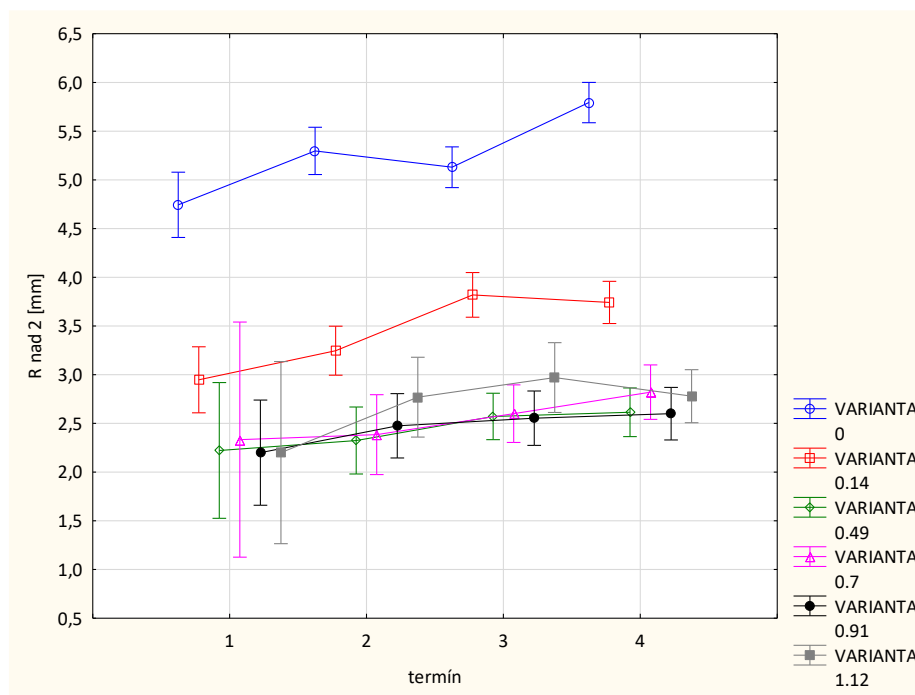
koncentrace glycin betulinu ve 100 Mm NaCl	1. termín	2. termín	1. termín	4. termín
kontrola	14	22	24	25
0,14 g·l ⁻¹	13	18	21	24
0,49 g·l ⁻¹	7	19	23	25
0,7 g·l ⁻¹	3	14	18	21
0,91 g·l ⁻¹	5	18	19	25
1,12 g·l ⁻¹	2	13	18	23

Tabulka 5: Počet vyklíčených semen *Valerianella locusta* při různých koncentracích GBet v NaCl

5.3.6 Délka kořínků nad 2 mm

Graf 16 zobrazuje průměrnou délku kořínků nad 2 mm u rostlin polníčku při prvním, druhém, třetím a čtvrtém termínu měření. Při prvním měření u koncentrací 0,14 g·l⁻¹; 0,49 g·l⁻¹; 0,7 g·l⁻¹; 0,91 g·l⁻¹ a 1,12 g·l⁻¹ byly délky kořínků 2,9 mm; 2,2 mm; 2,3 mm; 2,2 mm a 2,2 mm.

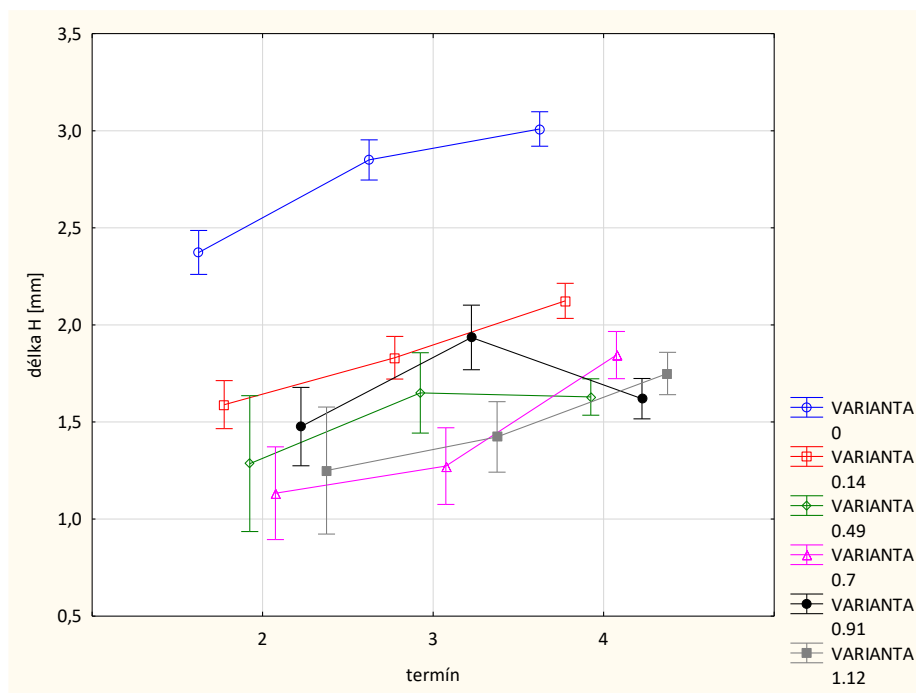
Při druhém měření se délka kořínků pohybovala od 2,3 mm do 5,3 mm. Při třetím termínu u kontrolní varianty se délka kořínku snížila na 5,1 mm, ale byla to pořád nejvyšší hodnota. Naopak nejkratší kořínek 2,5 mm byl zjištěn u varianty 0,91 g·l⁻¹. Při posledním termínu byl nejdelší kořínek opět u kontroly (5,79 mm) a nejkratší (2,6 mm) u varianty 0,91 g·l⁻¹. Nejdelší kořínky byly naměřeny u všech termínů u kontrolní varianty, kde při prvním měření byla délka kořínku 4,7 mm a při posledním měření 5,8 mm. LSD testem bylo zjištěno, že u všech termínů měření existuje statisticky významný rozdíl mezi kontrolou a všemi sledovanými variantami. U prvního termínu měření bylo LSD testem zjištěno, že existuje statisticky významný rozdíl mezi kontrolou a všemi variantami (0,14 g·l⁻¹; 0,49 g·l⁻¹; 0,7 g·l⁻¹; 0,91 g·l⁻¹ a 1,12 g·l⁻¹). Při druhém měření byl statisticky významný rozdíl zjištěn u variant 0,14 g·l⁻¹ s variantou 0,49 g·l⁻¹. U třetího a čtvrtého měření byl zjištěn statisticky významný rozdíl u varianty 0,14 g·l⁻¹ s variantami 0,49 g·l⁻¹; 0,7 g·l⁻¹; 0,91 g·l⁻¹ a 1,12 g·l⁻¹.



Graf 16: Délka kořínku nad 2 mm u *Valerianella locusta* v závislosti na termínu měření

5.3.7 Délka hypokotylu

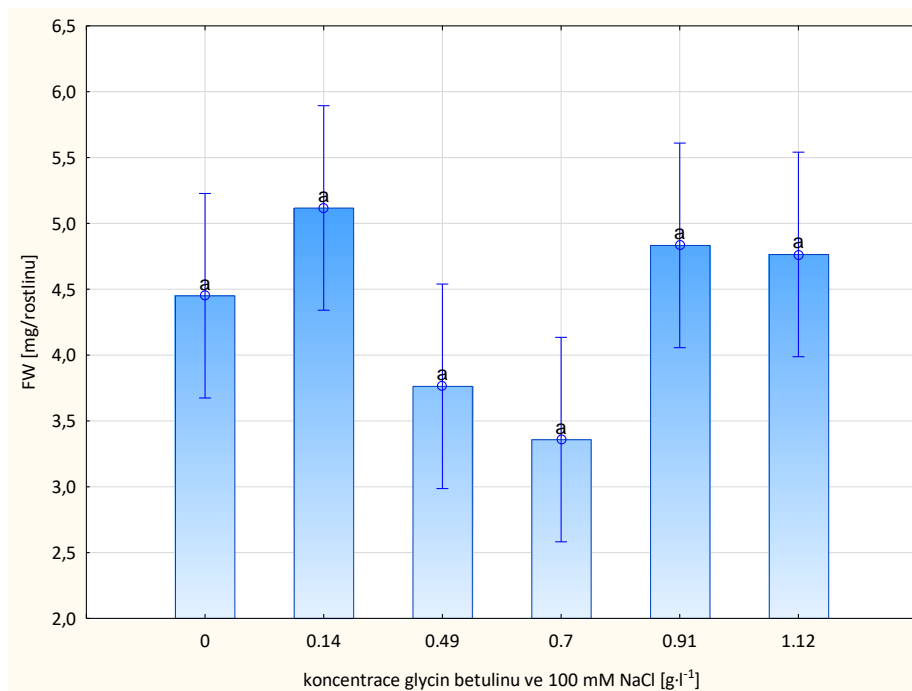
Graf 17 znázorňuje průměrné délky hypokotylu u semen polníčku klíčících v roztoku 100 mM NaCl spolu s glycin betulinem. Průměrná délka hypokotylu u vyklíčených semen v destilované vodě na konci pokusu byla 3 mm. U varianty $0,14 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ byla průměrná délka hypokotylu při čtvrtém termínu měření 2,1 mm. U variant $0,49 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$; $0,7 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$; $0,91 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ a $1,12 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ byly průměrné délky hypokotylu na konci pokusu 1,6 mm; 1,8 mm; 1,6 mm a 1,75 mm. Nejvyšší průměrná délka hypokotylu byla u kontroly, a naopak nejnižší průměrná délka hypokotylu byla u varianty $0,91 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ na konci pokusu. Přičemž nejkratší hypokotylu byly naměřeny při druhém termínu měření. U třetího a čtvrtého termínu došlo u většiny variant k nárůstu délek hypokotylů. Pouze u variant $0,49 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ a $0,91 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ došlo u posledního měření k propadu hodnot na 1,62 mm. Na základě LSD testu bylo zjištěno, že u všech měření existuje statisticky významný rozdíl v délkách hypokotylu mezi kontrolou a sledovanými variantami ($0,14 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$; $0,49 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$; $0,7 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$; $0,91 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ a $1,12 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$). LSD testem bylo zjištěno, že při druhém měření nebyl mezi variantami zjištěn statisticky významný rozdíl. Zatímco u třetího měření byl zaznamenán statisticky významný rozdíl mezi variantou $0,14 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ a variantou $0,7 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$. Lišila se i varianta $0,91 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ s variantami $0,7 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ a $1,12 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$. U posledního měření byl zjištěn rozdíl mezi variantou $0,14 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ se třemi variantami ($0,49 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$; $0,91 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ a $1,12 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$).



Graf 17: Délka hypokotyly u *Valerianella locusta* v závislosti na termínu

5.3.8 Čerstvá hmotnost (FW) klíčnicích rostlinek

Graf 18 znázorňuje průměrné hmotnosti čerstvé hmoty u rostlin polníčku v podmínkách zasolení. Nejvyšší hmotnost 5,1 mg byla zjištěna u varianty 0,14 $\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ a nejnižší 3,4 mg u varianty 0,7 $\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$. Rozdíl mezi nejvyšší a nejnižší průměrnou hmotností činil 1,7 mg. LSD

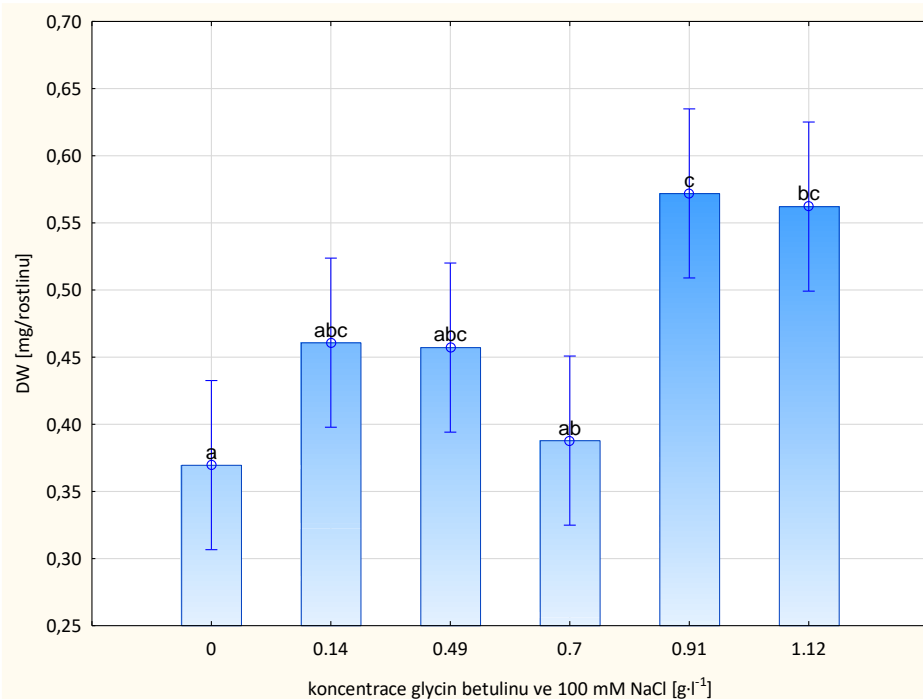


Graf 18: Hmotnost FW klíčnicích rostlinek u *Valerianella locusta* v závislosti na koncentraci GBet v NaCl

testem nebyly zjištěny statisticky významné rozdíly v hmotnostech FW mezi kontrolou a všemi sledovanými variantami ($0,14 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$; $0,49 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$; $0,7 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$; $0,91 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ a $1,12 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$).

5.3.9 Hmotnost sušiny (DW) klíčících rostlinek

V grafu 19 jsou zobrazeny průměrné hmotnosti sušiny rostlin polníčku. Hmotnosti se pohybovaly od 0,37 do 0,57 mg, kdy nejvyšší hmotnost byla u varianty $0,91 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ a naopak nejnižší hmotnost byla zjištěna u varianty kontrolní. Mezi kontrolou a variantami $0,14 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$; $0,49 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ a $0,7 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ nebyl prokázán statisticky významný rozdíl v hmotnostech sušiny. Zatímco u variant $0,91 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ a $1,12 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ byl statisticky významný rozdíl s kontrolou prokázán. LSD testem byl dále zjištěn statisticky významný rozdíl mezi variantou $0,7 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ a variantou $0,91 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$.

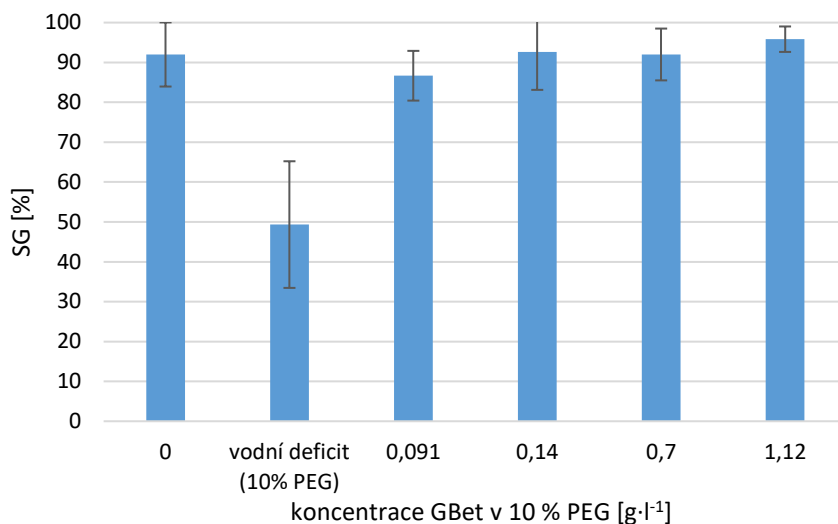


Graf 19: Hmotnost DW klíčících rostlinek u *Valerianella locusta* v závislosti na koncentraci GBet v NaCl

5.4 Vliv deficitu vody a rozdílných koncentrací GBet na klíčení lociky seté

5.4.1 Klíčivost semen (SG)

Graf 20 zobrazuje průměrnou klíčivost semen při deficitu vody nasimulovaném pomocí 10% PEG a rozdílných koncentrací aplikovaného GBet. U semen lociky seté (*Lactuca sativa* L.). Nejvyšší klíčivost byla u varianty $1,12 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ – 96 %. Poté následovaly varianty $0,14 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ a $0,7 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ s vysokým procentem klíčivosti semen 92 % a 93 %. Naopak nejnižší průměrná hodnota SG byla u stresované varianty (10% roztoku PEG) 49 %. Varianta $0,091 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ měla hodnotu SG 87 %.



Graf 20: Klíčivost semen *Lactuca sativa* vlivem deficitu vody a rozdílných koncentrací GBet

5.4.2 Energie klíčení (GE)

V následující tabulce 6 jsou zaznamenány průměrné hodnoty energie klíčení při prvním a druhém termínu měření. Při první termínu měření byla nevyšší průměrná energie klíčení 88 % zaznamenána u kontroly, naopak nejnižší hodnota GE 45 % byla zjištěna u stresované varianty (10% roztoku PEG). U druhého termínu byly hodnoty energie klíčení vyšší – od 87 do 96 %. Pouze u stresované varianty (10% roztoku PEG) byla hodnota GE nejnižší – 49 %.

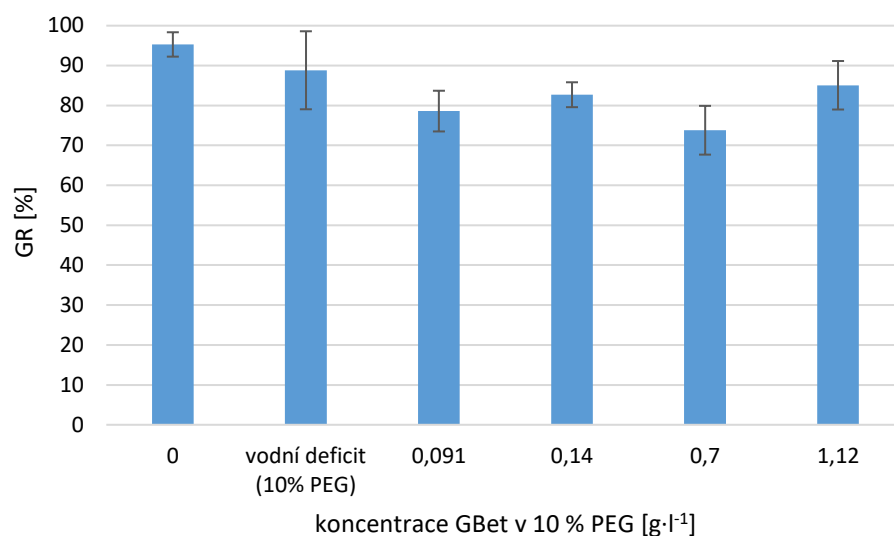
vodní deficit (10% PEG) a různé koncentrace Gbet	GE 1. termín [%]	GE 2. termín [%]
kontrola	88	92
vodní deficit (10% PEG)	45	49
0,091 g·l ⁻¹	69	87
0,14 g·l ⁻¹	77	93
0,7 g·l ⁻¹	68	92
1,12 g·l ⁻¹	82	96

Tabulka 6: Energie klíčení *Lactuca sativa* při vodním deficitu a rozdílných koncentracích GBet

5.4.3 Rychlost klíčení (GR)

V následujícím grafu 21 jsou uvedeny průměrné hodnoty rychlosti klíčení semen salátu, kdy nejvyšší rychlost klíčení byla zjištěna u kontrolní varianty – 95 %. A naopak nejnižší průměrná rychlost klíčení 74 % byla zjištěna u varianty 0,7 g·l⁻¹. Rozdíl mezi nejvyšší a nejnižší

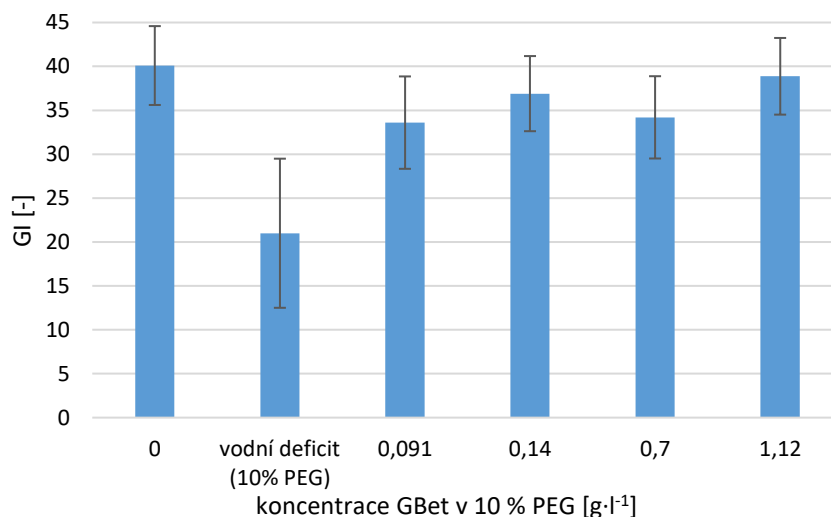
průměrnou rychlostí klíčení činil 21 %. Až na variantu 0,7 g·l⁻¹ byly hodnoty SG poměrně vyrovnané – od 74 % do 95 %.



Graf 21: Rychlost klíčení *Lactuca sativa* při vodním deficitu a rozdílných koncentracích GBet

5.4.4 Index klíčivosti (GI)

Graf 22 zobrazuje průměrný index klíčivosti u semen salátu. Naměřené hodnoty se pohybují od 21 do 40, přičemž nejvyšší hodnota byla zjištěna u kontroly. A nejnižší hodnota GI byla zjištěna u stresované varianty (10% roztoku PEG).



Graf 22: Index klíčivosti *Lactuca sativa* při vodním deficitu a rozdílných koncentracích GBet

5.4.5 Počet vyklíčených semen

V této tabulce 7 jsou zaznamenány průměrné počty vyklíčených semen při dvou termínech měření. Můžeme si všimnout, že při prvním měření vyklíčilo nejvíce semen

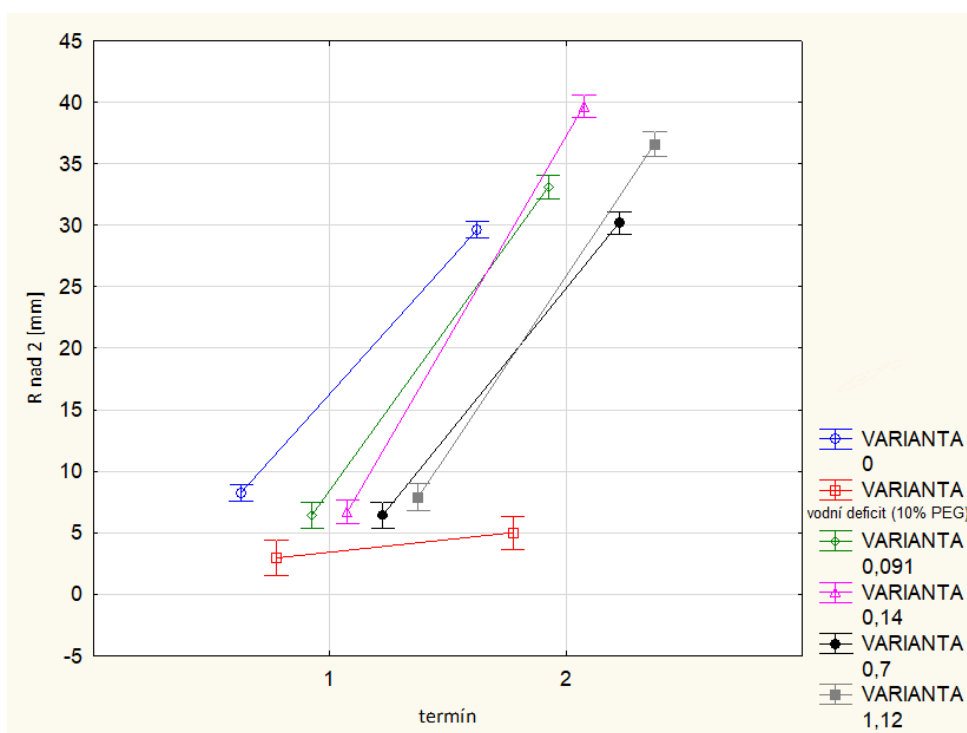
u kontrolní varianty (24 ze 30 možných), naopak nejméně u varianty stresované (10% roztok PEG), kdy vyklíčilo pouze 14 semen ze 30. U druhého měření hned tři varianty dosáhly stejného počtu vyklíčených semen, a to 28 ze 30. Nejvíce semen vyklíčilo u nejvyšší koncentrace $1,12 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ – 29 ze 30. A naopak nejméně vyklíčených semen bylo zaznamenáno u varianty stresované, u které vyklíčilo pouze 15 semen za 30.

vodní deficit (10% PEG) a různé koncentrace Gbet	1. termín	2. termín
kontrola	26	28
vodní deficit (10% PEG)	14	15
$0,091 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$	21	26
$0,14 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$	23	28
$0,7 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$	20	28
$1,12 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$	25	29

Tabulka 7: Počet vyklíčených semen *Lactuca sativa* při vodním deficitu a rozdílných koncentracích GBet

5.4.6 Délka kořínku nad 2 mm

Graf 23 zobrazuje průměrné délky kořínku delších než 2 mm při dvou termínech měření. Při prvním měření se délka kořínků pohybovala od 2,7 mm do 8,2 mm, kdy nejdelší kořínek byl u varianty kontrolní, naopak nejkratší u varianty stresované (roztok 10% PEG). U variant $0,091 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$; $0,14 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$; $0,7 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ a $1,12 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ byla délka kořínků 6,4 mm; 6,7 mm; 6,4 mm a



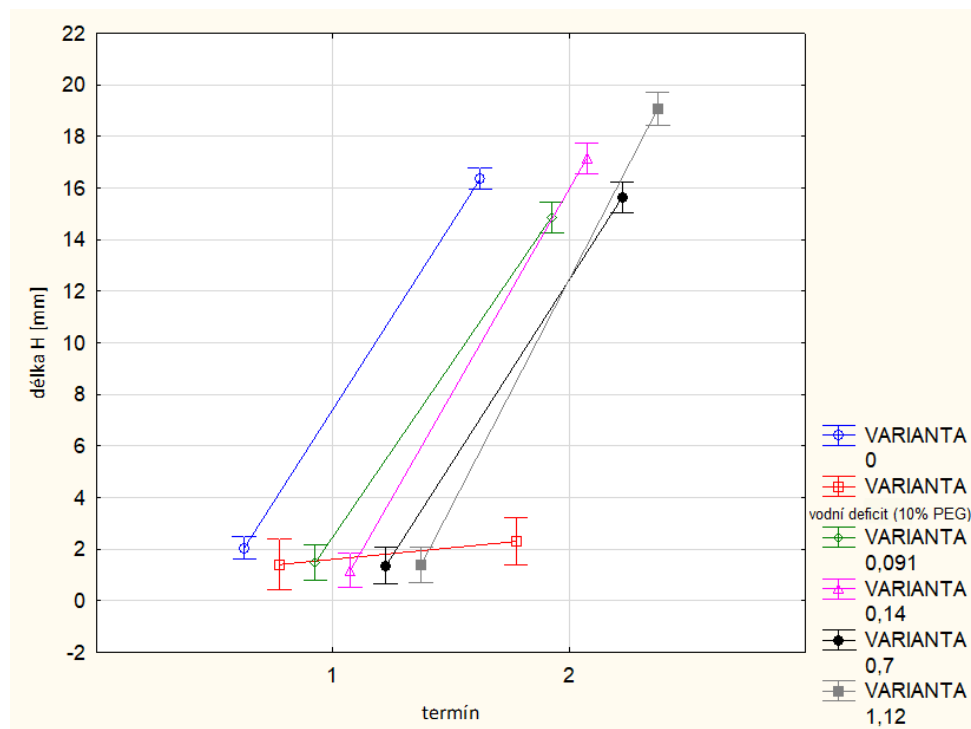
Graf 23: Délka kořínku nad 2 mm u *Lactuca sativa* v závislosti na termínu

7,9 mm. Při druhém měření byl nejdelší průměrný kořínek zaznamenán u varianty $0,14 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ s délkou 39,7 mm. Naopak nejkratší kořínek (5 mm) byl stejně jako u prvního měření u stresované varianty (roztok 10% PEG). Při prvním měření byl LSD testem zjištěn statisticky

významný rozdíl mezi kontrolou a variantou stresovanou (roztok 10% PEG). U ostatních variant ($0,091 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$; $0,14 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$; $0,7 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ a $1,12 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$) nebyl zjištěn statisticky významný rozdíl s kontrolou. Statisticky významný rozdíl byl dále zjištěn u stresované varianty (10% PEG) s variantami $0,091 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$; $0,14 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$; $0,7 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ a $1,12 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$. Při druhém termínu byl zjištěn rozdíl mezi kontrolou a variantami $0,091 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$; $0,14 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ a $1,12 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$. Zatímco mezi kontrolou a variantou $0,7 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ nebyl zjištěn statisticky významný rozdíl. Dále bylo zjištěno, že mezi variantami $0,091 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$; $0,14 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ a $1,12 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ existuje statisticky významný rozdíl s variantou $0,7 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$. Rozdíly byly zjištěny u varianty $0,091 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ s variantou $0,14 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ a $1,12 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$. Statisticky významný rozdíl byl i mezi variantou $0,14 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ a dvěma dalšími variantami – $0,7 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ a $1,12 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$. Stejně jako u prvního měření byl i u druhého měření u stresované varianty zjištěn statisticky významný rozdíl se všemi variantami s GBet.

5.4.7 Délka hypokotylu

V grafu 24 jsou zaznamenány průměrné délky hypokotylů v mm při dvou termínech měření. U prvního měření se průměrné délky hypokotylů pohybovaly od 1,2 mm do 2 mm. Přičemž nejdelší hypokotyl byl zjištěn u kontrolní varianty, a naopak nejkratší u koncentrace $0,14 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$. Při druhém měření došlo k výraznému nárůstu délek hypokotylu. Pouze u stresované varianty (10% roztok PEG) se délka hypokotylu příliš nezvýšila (2,3 mm). Naopak nejdelší hypokotyl 19 mm byl u varianty s nejvyšší koncentrací 10% PEG s GBet $1,12 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$.



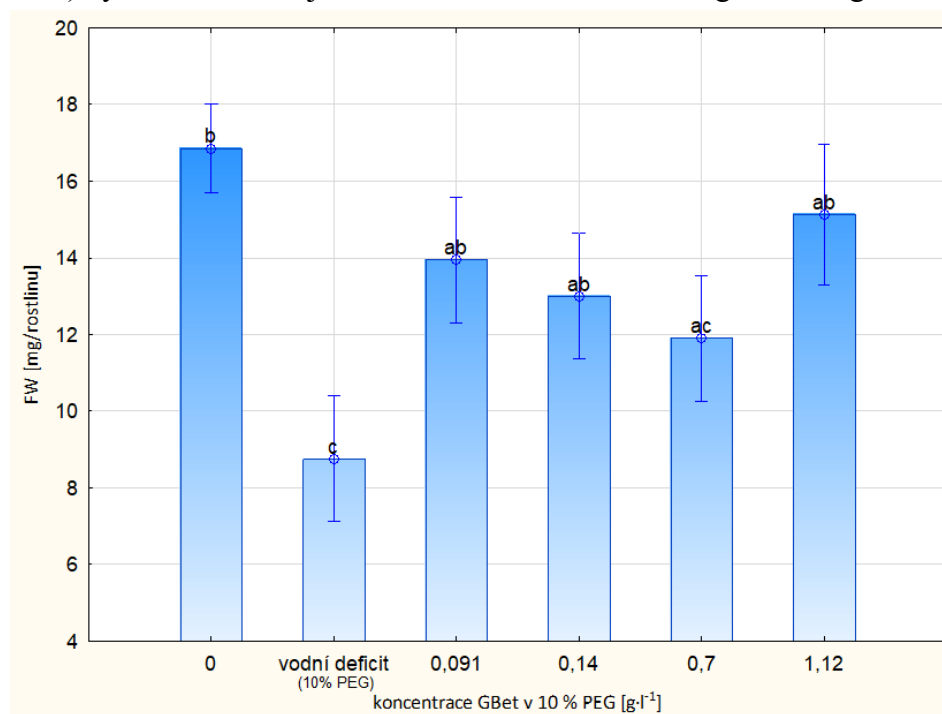
Graf 24: Délka hypokotylu u *Lactuca sativa* v závislosti na termínu

Při prvním termínu měření nebyl na základě LSD testu zjištěn statisticky významný rozdíl v délkách hypokotylu mezi kontrolou a pěti sledovanými variantami. U druhého měření byl zjištěn statisticky významný rozdíl mezi kontrolou, stresovanou variantou (10% roztok PEG) a $1,12 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$. Naopak u dvou variant ($0,7 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ a $0,14 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$) nebyl prokázán statisticky

významný rozdíl v průměrných délkách hypokotylů. Statisticky významný rozdíl byl dále zjištěn u varianty $0,14 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ s variantami $0,091 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ a $1,12 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$. Lišila se i varianta $0,091 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ s variantami $0,14 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ a $1,12 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$. Dále byl u druhého termínu měření zjištěn statisticky významný rozdíl mezi stresovanou variantou (10% roztok PEG) a variantami $0,091 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$; $0,14 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$; $0,7 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ a $1,12 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$.

5.4.8 Čerstvá hmotnost (FW) klíčících rostlinek

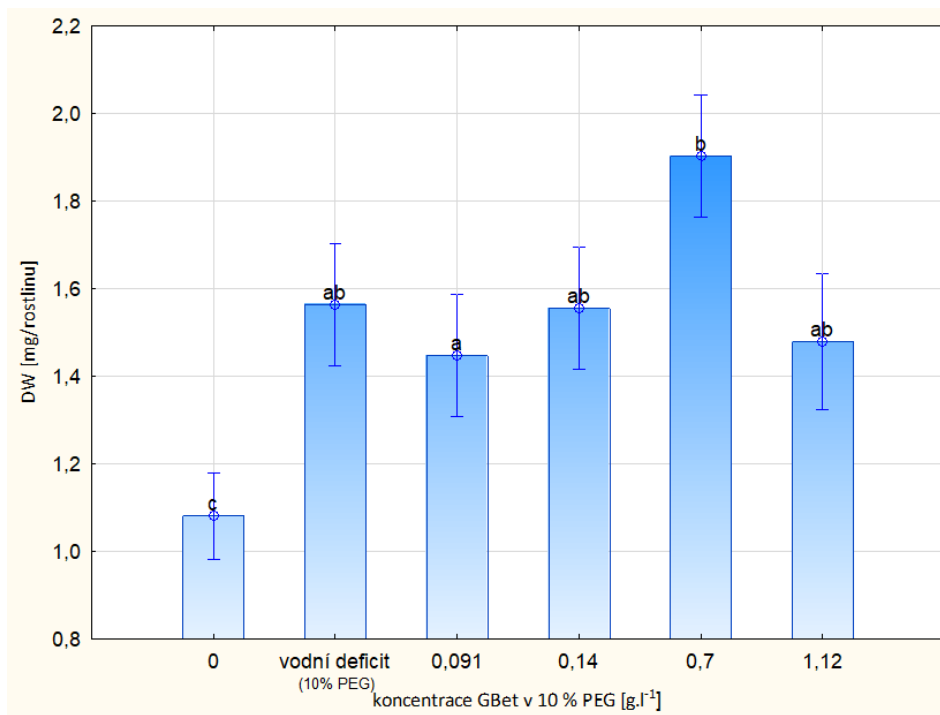
Graf 25 znázorňuje průměrnou hmotnost čerstvé hmoty přepočítanou na jednu rostlinu v mg, kdy nejvyšší hmotnost zvážených rostlin (16,86 mg) byla zjištěna u kontrolní varianty, a naopak nejnižší u stresované varianty (10% PEG) 8,76 mg. Se zvyšující se koncentrací se snižovala i hmotnost čerstvé hmoty, kdy u varianty $0,7 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ dosáhla hodnot 11,9 mg. U varianty $1,12 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ došlo k nárůstu hmotnosti FW na 15,14 mg. Mezi stresovanou variantou (10% roztokem PEG) byl LSD testem zjištěn rozdíl s variantami $0,091 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$; $0,14 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ a $1,12 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$



Graf 25: Hmotnost FW klíčících rostlinek *Lactuca sativa* vlivem vodního deficitu a rozdílných koncentracích GBet

5.4.9 Hmotnost sušiny (DW) klíčících rostlinek

Graf 26 znázorňuje průměrné hmotnosti sušiny u klíčících rostlinek salátu v mg v podmínkách sucha. Hodnoty sušiny se pohybovaly od 1,08 do 1,9 mg, kdy nejvyšší hodnota byla navážena u koncentrace 0,7 g·l⁻¹ a nejnižší u varianty kontrolní. Rozdíl mezi nejnižší a nejvyšší průměrnou hmotností sušiny činil 0,82 mg. Z LSD testu vyplývá, že mezi kontrolou a všemi variantami byl průkazný statisticky významný rozdíl v hmotnostech sušiny. Statisticky významný rozdíl byl zjištěn mezi variantou 0,091 g·l⁻¹ a variantou 0,7 g·l⁻¹.



Graf 26: Hmotnost DW klíčících rostlinek *Lactuca sativa* vlivem vodního deficitu a rozdílných koncentrací GBet

6 Diskuze

U vybraných rostlin – řeřicha setá (*Lepidium sativum*), kozlíček polníček (*Valerianella locusta*) a locika setá (*Lactuca sativa*) byl hodnocen vliv glycin betulinu na klíčivost a růst raných vývojových fází rostlin v podmínkách sucha a zasolení. Předmětem měření byla průměrná klíčivost semen (SG), energii klíčení (GE), rychlost klíčení (GR), index klíčivosti (GI) a průměrný počet vyklíčených semen. Dále byla měřena průměrná délka kořínků nad 2 mm, délka hypokotylů a hmotnost FW a DW přepočítaná na hmotnost jedné rostlinky v mg.

Vodní deficit a zasolení patří mezi abiotické stresory, které mají v globálním měřítku negativní dopady na zemědělskou produkci. Sucho se výrazně projevuje i na území naší republiky. Voda je jednou z nezbytnou podmínek pro klíčení semen, je nezbytnou součástí metabolických procesů a vytváří vhodné podmínky pro jejich průběh. Pokud je vody nedostatek dochází ke snížení klíčivosti a následně i ke zpoždění klíčení a růstu mladých rostlinek v důsledku snížení metabolické aktivity. Dále se vodní deficit projevuje nižší intenzitou růstu kořínků a hypokotylů. Vodním deficitem jsou rostliny postiženy kdykoliv během svého vývoje, avšak v určitých etapách vývoje, jako je klíčení nebo vývoj mladé rostlinky, je pro ně působení sucha kritické.

Yancey (1994) ve svém výzkumu došel k závěru, že pokud jsou rostliny vystaveny nepříznivým environmentálním podmínkám jako je zasolení nebo vodní deficit, rostlinné buňky se snaží před stresem chránit akumulací různých organických metabolitů, které jsou označovány jako kompatibilní soluty či osmoprotektanty. Na jeho myšlenku ve svých pracích navázala řada autorů jako Sakamoto & Murata (2002), Ashraf & Foolad (2007), Chen & Murata (2008), kteří došli k závěrům, že mnoho rostlinných druhů přirozeně akumuluje glycin betain jako hlavní osmolyt, pokud jsou vystaveny abiotickému stresu. Vliv glycin betulinu nebyl v rostlinách příliš zkoumán, má ale antioxidační a antimikrobiální účinky. Podobným osmoprotektantem jako glycin betulin je již zmíněný glycin betain. Podle Ashraf & Foolad (2007) může GB kromě osmoprotektivní role chránit buňky před životním prostředím nepřímo. Jedná se především o působení na jednotlivé enzymy a stabilizaci membránové integrity. Dále chrání cytoplazmu, chloroplasty, fotosyntetický aparát a slouží i jako lapač kyslíkových radikálů (ROS).

Podle Hasegawa et al. (2000) zvýšená akumulace glycin betainu může snížit poškození rostlinných buněk vyvolané stresem. Biosyntéza glycin betainu je indukována stresovými podmínkami a jeho koncentrace se mezi rostlinnými druhy liší. Pohybuje se od 40 do 400 μmol (DW) v tzv přírodních akumulátorech za stresových podmínek (Rhodes & Hanson 1993).

6.1 Test toxicity u řeřichy seté

Řeřicha, která klíčila v různých koncentracích GBet, měla průměrné hodnoty klíčivosti a počet vyklíčených semen vyrovnané, pouze u varianty 0,49 $\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ došlo k mírnému poklesu hodnot. Muhammad & Hussain (2010) vyhodnocoval klíčení semen řeřichy v roztocích NaCl o různé elektické vodivosti a klíčivost semen se pohybovala od 83 do 38 %. Nejnižší hodnota SG byla zjištěna u vodivosti 15 dS/m NaCl, což odpovídá přibližně 32 mmol (Culkin 1896). Khayyat et al. (2014) zkoumal klíčení řeřichy a bazalky v roztoku chloridu sodného (25 a 50 mM). Ve svém práci došel k závěru, že semena řeřichy jsou mnohem více odolná vůči

salinitnímu stresu oproti bazalce, jejíž semena jsou k zasolení citlivější. Semena řeřichy dobře klíčila, což je zřejmé i z průměrného počtu vyklíčených semen, kdy vyklíčila více jak polovina pokusných semen. Z průměrných délek kořínků je patrné, že mezi jednotlivými koncentracemi GBet existují rozdíly mezi jednotlivými variantami. Nejkratší a nejdelší kořínek byl naměřen u variant $0,014 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ – 14,2 mm a $0,7 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ – 10,3 mm. Pokud porovnáme naše výsledky z prací Muhammada & Hussaina (2010), naše kořínky byly kratší. Zatímco v práci Khayyata et al. (2014) kořínky řeřichy klíčící v roztoku H_3BO_3 dosáhly podobných výsledků jako náš pokus. Zajímavostí je, že u nižších koncentrací GBet bylo u všech variant viditelné kořenové vlášení, které u vyšších koncentrací GBet bylo pravděpodobně vyššími koncentracemi GBet inhibováno. K podobným závěrům došel ve své studii i Wang et al. (2008), který se zabýval kořenovým vlášením u klíčících rostlinek huseníčku rolního (*Arabidopsis thaliana*) při různých koncentracích chloridu sodného. Zjistil, že se zvyšující koncentrací NaCl dochází u rostlinek huseníčku ke snižování délek kořenového vlášení. U pokusu se dále zjišťovala délka hypokotylu. U nižších koncentrací GBet byl hypokotyl delší, oproti vyšším koncentracím GBet, které měly kratší hypokotyly.

U semen řeřichy krátce po kontaktu s vodou dochází k bobtnání slizových obalů, které pomáhají semeni lépe absorbovat vodu. Pokud jsou ovšem semena vystavena stresovým podmínkám, k bobtnání slizových obalů nedochází (Behrouzian et al. 2014). Toto tvrzení potvrzují i pokusy pracovníků z Ústavu experimentální botaniky AV ČR, kteří zkoušeli, jak bude řeřicha klíčit v 6% roztoku NaCl a 1% roztoku kyseliny citronové. Koncentrace soli byla v tomto případě tak vysoká, že nejenže po celou dobu pokusu nevyklíčilo žádné semeno, ale dokonce nedošlo ke zbobtnání obalů. U roztoku s 1% kyselinou citronovou semena vyklíčila, ale kořínky měli jen pár milimetrů (max. 2 mm). Zatímco u kontroly byly viditelné lístky a dlouhé kořínky i hypokotyly (sděleno ústně). I u našeho pokusu po aplikaci GBet došlo ke zbobtnání slizových obalů, navíc semena ani rostlinky netrpěly žádnými chorobami a působily vitálním dojmem. Farooq et al. (2008) uvedl, že semena kukuřice ošetřená glycin betainem o koncentracích ($50, 100$ a $150 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$) byla odolnější vůči chladu během klíčení.

6.2 Test toxicity u kozlíčku polníčku

U pokusu se semeny polníčku s GBet nejlépe klíčila semena v destilované vodě a v koncentracích $0,14 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$; $0,49 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$; $0,7 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ a $1,12 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$. Oproti koncentraci $0,91 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$, kde i při druhém měření vyklíčilo nejméně semen – 20 ze 30. U průměrné klíčivosti semen byly hodnoty poměrně vyrovnané, pouze u varianty $0,91 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ klíčivost semen klesla na 66 %. Obdobný trend byl zjištěn i u energie klíčení, kde opět varianta $0,91 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ vykazovala nejnižší naměřenou hodnotu. U rychlosti klíčení byla naopak nejvyšší hodnota naměřena u varianty $0,49 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ a nejnižší u varianty $0,7 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$. Nejméně vyklíčených semen bylo zjištěno u druhého měření u varianty $0,91 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$, u které vyklíčilo 20 semen ze 30. Naopak nejvíce vyklíčených semen bylo zjištěno u variant – kontrola, $0,49 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ a $0,7 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$, u těchto variant vyklíčilo 24 semen ze 30. Hodnoty indexu klíčivosti se pohybovaly od 19,7 do 29. Ambika et al. (2015) zkoumal klíčivost semen paprik, které byly ošetřeny 10 mM glycin betainem. Ošetřená semena vykazovala lepší klíčivost a měla silnější kořeny.

U průměrných délek kořínků byly při prvním termínu měření hodnoty téměř stejné. Až při druhém měření byly patrné rozdíly v délkách kořínků, kdy nejdelší průměrná délka 16,3 a

14,6 mm byla naměřena u variant $0,49 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ a $1,12 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$. Naopak nejkratší kořínek byl zjištěn u kontrolní varianty – 10,8 mm. Pokud porovnáme průměrné délky hypokotylů mezi jednotlivými koncentracemi GBet, tak nejvyšší průměrná hodnota byla naměřena u varianty $0,49 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ a $1,12 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ – 13,65 a 13 mm. Naopak nejkratší hypokotyl byl naměřen u varianty $0,91 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ – 9,83 mm. Co se týká průměrných hmotností FW a DW přepočítaných na jednu klíčící rostlinku, mezi všemi variantami nebyl zaznamenán rozdíl v hmotnostech.

6.3 Kozíček polníček klíčící v podmínkách zasolení

U dalšího pokusu klíčila semínka polníčku v roztoku 100 mM NaCl, do kterého byl jako v předchozím pokusu přidán GBet o různých koncentracích. Podle Kent & Läuchli (1985) solný roztok zpomaluje klíčení semen, zpomaluje se i dlouhivý růst. Neumann et al. (1995) ve své práci uvedl, že zasolení může inhibovat růst kořenů, čímž je ovlivněn příjem vody a živin z půdy. Zapata et al. (2003) se zabýval klíčivostí semen devíti odrůd salátu, na základě výsledků došel k závěru, že salát je poměrně odolný vůči zasolení, semena jsou v solném roztoku schopná klíčit, ale klíčivost semen se snižuje. Kromě toho je klíčivost semen negativně ovlivněna přímými toxickými účinky iontů Na^+ a Cl^- , tak i osmotickými účinky – snížením vodního potenciálu (Zhang et al. 2010). Při pokusu se potvrdilo, že i když byl k solnému roztoku přidán GBet, semena byla účinky soli ovlivněna, ale vyklíčila. Na rozdíl od jiného pokusu, který byl prováděn na Katedře botaniky a fyziologie rostlin při kterém byla semena polníčku vystavena pěti koncentracím NaCl (5, 10, 25, 50 a 100 $\text{mmol}\cdot\text{l}^{-1}$). U prvních čtyřech koncentrací semena klíčila. U nejvyšší koncentrace NaCl byla koncentrace roztoku natolik vysoká, že nedošlo k vyklíčení jediného semene. Zhan et al. (2014) prováděli pokusy se semeny šesti druhů trav, která klíčila v roztoku NaCl. Autoři došli k závěru, že čím vyšší byla koncentrace soli v médiu, tím nižší byla i celková klíčivost semen. Semena u tohoto pokusu trpěla hnilobami nebo zasychajícími špičkami kořínků. Což mohlo být způsobeno právě toxickými účinky chloridu sodného. Nasri et al. (2015) ve své práci sledoval klíčivost semen dvou odrůd salátu (Romaine a Vista) ve 100 mM roztoku NaCl. Zatímco kultivar Romaine dosáhl 100 % klíčivosti, u kultivaru Vista došlo vlivem zasolení ke snížení procenta klíčivosti na 56 %. Dále Narsi zjistil, že u obou kultivarů salátu došlo také ke snížení rychlosti klíčení. Nejnižší průměrná energie klíčení u čtvrtého měření byla u varianty $0,7 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ 71 %. Naopak nejvyšší hodnota byla naměřena u tří variant – kontrola, $0,49 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ a $0,91 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ – 83 %. Průměrná rychlost klíčení dosáhla nejvyšších hodnot u posledního termínu měření, kdy nejvyšší hodnota byla u variant – kontrola a $0,49 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ – 94 % a nejnižší u varianty $0,91 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ – 77 %. Hussein & Joo (2018) zkoumal klíčení salátu a ředkve se 100 mM roztoku NaCl. Pokud porovnáme naše výsledky s jejich, naše semena měla vyšší rychlost klíčení. Vlivem zasolení došlo i ke snížení délek kořínků a hypokotylů. Nejdelší – kontrola (5,79 mm) a nejkratší kořínek byl u varianty $0,91 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ – 2,6 mm. Nejdelší průměrný hypokotyl byl u varianty kontrolní 3 mm, naopak nejkratší hypokotyl byl naměřen u variant $0,49 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ a $0,91 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ – 1,62 mm. Stejný trend zaznamenal ve svém pokusu i Narsi se semeny salátu. Ibrahim et al. (2019) se zabýval klíčením povijnice vodní v roztocích NaCl o koncentracích 25, 50 a 75 mM. Výsledky klíčivosti semen jeho práce byly téměř shodné s naším pokusem. V čem se naše výsledky od Ibrahima lišily, byl index klíčivosti a délky kořínků a hypokotylů. Zatímco naše nejvyšší hodnota GI 39,6 byla u varianty kontrolní a vlivem stoupající koncentrace docházelo ke snižování hodnot, pouze

u varianty $0,91 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ došlo u této varianty k mírnému nárůstu hodnot – 27,1. Nejnižší hodnota 21 a 20,8 byla zaznamenána u dvou variant $0,7 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ a $1,12 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$. Výsledky indexu klíčivosti Ibrahima et al. (2019) u koncentrace 75 mM NaCl byla pouhých 0,73. Ale délky kořínků a hypokotylů byly vyšší než v práci Ibrahima – 20 mm a 18,6 mm. U hmotností čerstvé hmoty nebyly zaznamenány žádné rozdíly mezi jednotlivými variantami. Rozdíly byly zjištěny až u suché hmoty, kdy se od sebe lišily varianty $0,7 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ a $0,91 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ – 0,39 a 0,57 mg/rostlinu. Práce Mahdaviho & Sanavyho (2007) došla k podobným závěrům jako naše výsledky. A to, že vlivem zasolení dochází ke snížení indexu klíčivosti, procenta klíčení, délek hypokotylů a kořínků.

Pokud porovnáme oba pokusy s polníčkem mezi sebou, co se týká sledovaných parametrů klíčení jako je průměrná klíčivost semen, dopadly lépe některé koncentrace GBet ve 100 mM NaCl – $0,14 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$; $0,49 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ a $0,91 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$. Naopak u energií klíčení při druhém měření dopadl lépe polníček ošetřený GBet. Pokud jde o rychlost klíčení u obou pokusů, při první kontrole byly vyšší hodnoty naměřeny u polníčku se samotným glycin betulinem. Pouze u jedné varianty – konkrétně $0,14 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ byla hodnota o něco nižší než u polníčku v zasolených podmínkách. Zanin et al. (2011) udává, že ke snížení výnosu u polníčku dochází již na úrovni $30 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$ NaCl. Což svědčí o citlivosti *V. locusta* k zasolení. To se potvrdilo i u našeho pokusu. Klíčící rostlinky měly oproti polníčku, který byl ošetřen GBet, delší kořínky i hypokotyly oproti rostlinkám v zasolených podmínkách.

Oproti tomu Miceli et al (2003) prováděl pokus se semeny rokety seté, která i při vyšších koncentracích soli měla klíčivost více jak 90 %. Z toho lze vyvodit závěr, že roseta je oproti polníčku méně citlivá na zasolení. Pokud porovnáme naše výsledky s polníčkem, který klíčil ve 100 mM roztoku NaCl s GBet s výsledky Fallahi et al. (2016) u stejné koncentraci soli, ale se semeny rokety, dosáhl polníček u dvou našich koncentrací lepší klíčivosti než výsledky Fallahiho.

6.4 Locika setá klíčící v podmínkách vodního deficitu

Podle Kizil et al. (2012) je salát citlivý k vodnímu deficitu kvůli mělkému kořenovému systému. Na začátku našeho pokusu se semeny salátu bylo nutné nejprve zjistit vhodné koncentrace roztoku PEG, kterým byly simulovány podmínky vodního deficitu. Proto byly použity dvě rozdílné koncentrace PEGu (10 a 30%). V 10% PEGu semena salátu klíčila. Oproti tomu u 30% PEGu byl vodní deficit na semena tak silný, že ani u jedné Petriho misky nedošlo k vyklíčení semen. K podobným závěrům nezávisle na sobě došli i dva autoři Li et al. (2013) a Jorenush & Rajabi (2015). Proto byl dále využit pouze roztok 10% PEG, ke kterému byl v různých koncentracích přidán GBet. A ukázalo se, že přidáním betulinu semena salátu stres snášela mnohem lépe oproti semenům, která byla vystavena vodnímu deficitu. Je to patrné i z průměrné klíčivosti semen, kdy u vodního deficitu byly naměřeny nejnižší hodnoty oproti koncentraci $1,12 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$, u které byla naměřena nejvyšší hodnota 96 %. I energie klíčení byla u vodního deficitu bez aplikace GBet nejnižší oproti ostatním variantám ($0,091 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$; $0,14 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$; $0,7 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ a $1,12 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$), u kterých se hodnoty pohybovaly od 87 a 96 %. Pouze u průměrné rychlosti klíčení došlo u vodního deficitu k nárůstu hodnot. Co se týká průměrného počtu vyklíčených semen, již při prvním měření u stresované varianty (10% PEG) vyklíčilo nejméně semen – 14 ze 30. Ani u druhého měření nedošlo k nějak velkému nárůstu oproti ostatním variantám, u kterých vyklíčilo od 26 do 29 semen ze 30. U indexu klíčivosti byla nejnižší

hodnota zjištěna – jako u předchozích měření – u vodního deficitu (21), naopak nejvyšší hodnota byla zjištěna u kontrolní varianty (40). I u průměrných délek kořínku dopadla stresovaná varianta nejhůř – 2,7 mm. Toto tvrzení je v souladu s tím, co uvádí Tilman (1997), a to že intenzita růstu rostlin závisí na dostupnosti vody a živin. Při prvním měření byla nejkratší délka kořínku u varianty stresované (2,7 mm), u ostatních variant byly hodnoty vyrovnané od 6,4 do 7,9 mm. U varianty stresované se nic nezměnilo ani u druhého měření, kdy kořínky u této varianty skoro vůbec nenarostly. Oproti tomu u dvou variant $0,14 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ a $1,12 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ stresovaných, ale ošetřených GBet byly naměřeny výrazně vyšší hodnoty – 39,7 a 37,1 mm. Při prvním měření průměrné délky hypokotylů byly hodnoty vyrovnané, až při druhém termínu byly zjištěny rozdíly mezi variantami, kdy nejkratší hypokotyly byly zjištěny u vodního deficitu 2,3 mm a nejdelší hypokotyl 19 mm byl u varianty $1,12 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$. U stresované varianty (10% PEG) byly navíc hypokotyly nafialovělé, což svědčí o nedostatku fosforu. Nejvyšší průměrná hmotnost FW byla u kontrolní varianty – 16,86 mg, nejnižší u varianty stresované (10% PEG) – 8,76 mg. Varianty stresované, ale ošetřeny GBet měly hodnoty FW vyrovnané. Nejnižší hmotnost sušiny byla naměřena u kontroly - 1,08 mg a nejvyšší – 1,9 mg – u varianty $0,7 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$. Mahoomod et al. (2009) po aplikaci GB (50 mM) došlo u semen pšenice ke zvýšení odolnosti vůči suchu. Pokud porovnáme hmotnost sušiny z prací Fajjunnahar et al. (2017), který zkoumal klíčení pšenice v podmínkách sucha (5, 10, 15, 20% roztok PEG), naše hmotnosti byly vyšší.

7 Závěr

Cílem diplomové práce bylo vyhodnotit případné toxické účinky glycin betulinu u zvolené koncentrační řady na klíčící rostliny. Dále vyhodnotit efekt aplikace glycin betulinu v podmínkách sucha, které bude simulováno pomocí 10 % a 30 % PEG 6000. Vyhodnotit efekt aplikace glycin betulinu v podmínkách zasolení, které bylo simulováno pomocí 100 mM roztoku NaCl. V každé etapě byly hodnoceny parametry klíčivosti, průměrná délka kořínku, hypokotylů a hmotnost klíčících rostlinek.

Laboratorní pokus byl založen na Katedře botaniky a fyziologie rostlin. Ze získaných výsledků vyplývají tyto závěry:

- *Lepidium sativum* klíčící v odstupňovaných koncentracích GBet nevykazovala žádné poškození a dosáhla velmi dobrých výsledků jak ve sledovaných parametrech klíčivosti, tak i v délkách kořínků. Nejdlejší hypokotylly byly u tohoto pokusu naměřeny u nižších koncentrací glycin betulinu. Zatímco u vyšších koncentrací glycin betulin inhiboval růst hypokotylů.
- U semen *Lepidium sativum* po kontaktu s vodou došlo ke zbobtnání slizových obalů, které je typické pro některé čeledě.
- U semen *Valerianella locusta* klíčící v solném roztoku spolu s glycin betulinem byly naměřeny kratší kořínky a hypokotylly oproti polníčku, který klíčil v odstupňovaných koncentracích betulinu a dosáhl o něco lepších výsledků.
- Nejméně příznivé podmínky pro klíčení *Lactuca sativa* byly zjištěny u roztoku 30% PEGu, ve kterém nedošlo k vyklíčení žádného semene.
- Bylo prokázáno, že vlivem vodního deficitu došlo u semen *Lactuca sativa* ke snížení klíčivosti, délek kořínků i hypokotylů oproti semenům, která byla též vystavena vodnímu deficitem, ale ošetřena glycin betulinem.
- Semena *Lactuca sativa* ošetřená glycin betulinem prokázala dobrou odolnost vůči vodnímu deficitu, dosáhla vysokých parametrů klíčivosti, měla nejdlejší kořínky i hypokotylly.
- Z testovaných druhů byl ke stresovým podmínkám nejcitlivější *Valerianella locusta*. Oproti *Lepidium sativum* a *Lactuca sativa*, které vykazovaly vyšší odolnost.
- Ze získaných výsledků vyplývá, že navrhované hypotézy byly potvrzeny. Glycin betulin neinhibuje klíčení, naopak semena ošetřená glycin betulinem dosáhla u všech pokusných rostlin velmi dobrých výsledků. Dále glycin betulin pozitivně ovlivnil klíčení *Valerianella locusta* v zasolených podmínkách. I přesto, že semena v těchto podmínkách, byla ovlivněna toxickými účinky iontů Na⁺ a Cl⁻. Potvrzena byla i poslední hypotéza aplikací glycin betulin na semena *Lactuca sativa* byla pozitivně ovlivněna jejich klíčivostí i když byla semena vystavena podmínkám vodního deficitu.

Sucho a zasolení jsou v dnešní době velkým problémem v zemědělství. Proto by bylo vhodné věnovat se problematice těchto stresorů i nadále a snažit se rozšířit zkoumání osmoticky aktivních látek i na jiná semena.

8 Literatura

Agrios GN. 2005. Plant pathology. Academic Press, Boston.

Ahn C, Park U, Park PB. 2011. Increased salt and drought tolerance by D-ononitol production in transgenic *Arabidopsis thaliana*. Biochemical and Biophysical Research Communications **415**: 669-674.

Ali AS, Elozeiri AA. 2017. Metabolic Processes During Seed Germination Pages 141-166 in Jimenez-Lopez, JC, editor. Advances in Seed Biology. IntechOpen, Rijeka.

Ambika S; Manonmani V, Krishna SK. 2015. Mitigation of Salt Stress through Seed Treatment with Glycine Betaine. Popular Kheti **3**: 43-44.

Ashraf M, Foolad MR. 2005. Pre-Sowing Seed Treatment-A Shotgun Approach to Improve Germination, Plant Growth, and Crop Yield Under Saline and Non-Saline Conditions. Advances in Agronomy **88**: 223–271.

Ashraf M, Foolad MR. 2007. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. Environmental and Experimental Botany **59**: 206-216.

Ashraf M, Harris PJC. 2004. Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants. Plant Science **166**: 3-16.

Atia A, Hamed KB, Debez A, Abdelly C. 2006. Salt and seawater effects on the germination of *Crithmum maritimum*. Pages 29-33 in Öztürk M, Waisel Y, Khan MA, Görk G, editors. Biosaline Agriculture and Salinity Tolerance in Plants. Birkhäuser Verlag, Basel.

Bam RK, Kumaga FK, Ofori K, Asiedu E.A. 2006. Germination, vigour and dehydrogenase activity of naturally aged rice (*Oryza sativa* L.) seeds soaked in potassium and phosphorus salts. Asian Journal of Plant Sciences **5**: 948-955.

Bansal RP, Bhati PR, Sen DN. 1980. Differential specificity in water imbibition of indian arid zone seeds. Biologia Plantarum **22**: 327-331.

Baskin CC, Baskin JM. 1988. Germination ecophysiology of herbaceous plant species in a temperate region. American Journal of Botany **75**: 286-305.

Baskin, JM, Baskin CC. 2004. A classification system for seed dormancy. Seed Science Research **14**: 1-16.

Basra SMA, Ehsanullah EA, Warraich MA, Afzal I. 2003. Effect of storage on growth and yield of primed canola (*Brassica napus*) seeds. International journal of agriculture and biology **5**: 117-120.

- Behrouzian F, Razavi SMA, Phillips GO. 2014. Cress seed (*Lepidium sativum*) mucilage, an overview. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre* **3**: 17–28.
- Bentsink L, Koornneef M. 2008. Seed Dormancy and Germination. *The Arabidopsis Book* 6 (e0119) DOI: 10.1199/tab.0119.
- Bewley JD, Black M. 1978. *Physiology and Biochemistry of Seeds in Relation to Germination 1 Development, Germination, and Growth*. Springer-Verlag, Berlin.
- Bewley JD, Black M. 1994. *Seeds: Physiology of development, germination and dormancy*. Springer, New York.
- Bewley JD, Bradford KJ, Hillhorst HWM, Nonogaki H. 2013. *Seeds: Physiology of development, germination and dormancy*. Springer, New York.
- Bewley JD. 1997. Seed germination and dormancy. *Plant Cell* **9**: 1055-1066.
- Bhattacharya A. 2019. *Effect of High Temperature on Crop Productivity and Metabolism of Macro Molecules*, Academic Press, London.
- Biggs M. 2016. *The Complete Book of Vegetables, Herbs and Fruit is a comprehensive guide to selecting, cultivating, harvesting and cooking your own fresh produce at home*. Octopus Publishing Group, London.
- Bláha L, Hnilička F, Hniličková H, Holubec V, Möllerová J, Štolcová J, Zieglerová J. 2003. *Rostlina a stres. Výzkumný ústav rostlinné výroby, Praha*.
- Bláha L, Hnilička F. 2007 Růst významu vlastností kořenů v měnících se klimatických podmínkách střední Evropy. Pages 13-20 in Bláha L, editor. *Vliv abiotických a biotických stresorů na vlastnosti rostlin*. Česká zemědělská univerzita v Praze, Praha.
- Bray EA. 1997. Plant Responses to Water Deficit. *Trends in plant science* **2**:48-54.
- Copeland LO, McDonald MB. 1999. *Principles of Seed Science and Technology*. Springer, Boston.
- Culkin F. 1986. Calibration of standard seawater in electrical conductivity. *Science of the Total Environment, The* **49**: 1–7.
- Dehelean, CA, Feflea S, Molnár J, Zupko I, Soica C. 2012. Betulin as an antitumor agent tested in vitro on A431, HeLa and MCF7, and as an angiogenic inhibitor in vivo in the CAM assay. *Natural Product Communications* **7**: 981-985.
- Dellero Y, Jossier M, Schmitz J, Maurino VG, Hodges M. 2016. Photorespiratory glycolate-glyoxylate metabolism. *Journal of Experimental Botany* **67**: 3041-3052.

- Douce R, Bourguignon J, Neuburger M, Rébeillé F. 2001. The glycine decarboxylase system: A fascinating complex. *Trends in Plant Science* **6**: 167-176.
- Ehlers W, Goss M. 2003. Water dynamics in plant production. CABI Publishing, Wallingford.
- Esser C, Kuhn A, Groth G, Lercher MJ, Maurino VG. 2014. Plant and animal glycolate oxidases have a common eukaryotic ancestor and convergently duplicated to evolve long-chain 2-hydroxy acid oxidases. *Molecular Biology and Evolution* **31**: 1089-1101.
- Evert RF, Eichhorn SE. 2013. Raven: Biology of Plants. W.H. Freeman & Company, New York.
- Fajjunnahar M, Baque A, Habib Md A, Hossain HMMT. 2017. Polyethylene glycol (PEG) induced changes in germination, seedling growth and water relation behavior of wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes. *Universal Journal of Plant Science* **5**: 49–57.
- Fallahi HR, Fadaeian G, Gholami M, Daneshkhah O, Hosseini FS, Aghhavani-Shajari M, Samadzadeh A. 2016. Germination response of grasspea (*Lathyrus sativus* L.) and arugula (*Eruca sativa* L.) to osmotic and salinity stresses. *Plant Breeding and Seed Science* **71**: 97–108.
- Farooq M, Aziz T, Hussain M, Rehman H, Jabran K, Khan MB. 2008. Glycinebetaine improves chilling tolerance in hybrid maize. *Journal of Agronomy and Crop Science* **194**: 152–160.
- Farooq M, Wahid A, Kobayashi N, Fujita D, Basra SMA. 2009. Plant drought stress: Effects, mechanisms and management. *Agronomy for Sustainable Development* **29**: 185-212.
- Fenner, M, Thompson K. 2005. The ecology of seeds. Cambridge University Press, Cambridge.
- Finch-Savage WE, Leubner-Metzger G. 2006. Seed dormancy and the control of germination. *New Phytologist* **171**: 501-523.
- Flowers TJ, Colmer TD. 2008. Salinity tolerance in halophytes. *New Phytologist* **179**: 945-963.
- Flowers TJ, Flowers SA. 2005. Why does salinity pose such a difficult problem for plant breeders? *Agricultural Water Management* **78**: 15-24.
- Flowers TJ, Munns R, Colmer TD. 2015. Sodium chloride toxicity and the cellular basis of salt tolerance in halophytes. *Annals of Botany* **115**: 419-431.
- Flowers TJ, Troke PF, Yeo AR. 1977. The mechanism of salt tolerance in halophytes. *Annual Review of Plant Physiology* **28**: 89-121.

- Gaspar T, Franck T, Bisbis B, Kevers C, Jouve, L, Hausman JF, Dommes J. 2002. Concepts in plant stress physiology. Application to plant tissue cultures. *Plant Growth Regulation* **37**: 263-285.
- Geilfus CM. 2018. Chloride: From Nutrient to Toxicant. *Plant and Cell Physiology* **59**: 877-886.
- Georghiou K, Kendrick RE. 1991 The Germination Characteristics of Phytochrome-Deficient aurea Mutant Tomato Seeds. *Physiologia Plantarum* **82**: 127-133.
- Gregory PJ. 2007. *Plant Roots: Growth, Activity and Interaction with Soils*. Blackwell Publishing Ltd, Oxford.
- Grime JP. 1979. *Plant strategies and vegetation processes*. John Wiley & Sons, Chichester.
- Guilioni L, Wéry J, Lecoeur J. 2003. High temperature and water deficit may reduce seed number in field pea purely by decreasing plant growth rate. *Functional Plant Biology* **30**: 1151-1164.
- Gutterman Y. 2000. Maternal Effects on Seeds During Development. Pages 59-84 in Fenner M, editor. *Seeds: the ecology of regeneration in plant communities*. CABI Publishing, Wallingford.
- Hardegree SP, Emmerich WE. 1990. Effect of polyethylene glycol exclusion on the water potential of solution-saturated filter paper. *Plant Physiology* **92**: 462-466.
- Hasegawa P, Bressan R, Zhu J, Bohnert H. 2000. Plant cellular and molecular response to high salinity. *Annual Review of Plant Biology* **51**: 463-499.
- Hilhorst HWM. 1995. A critical update on seed dormancy. I. Primary dormancy. *Seed Science Research* **5**: 61-73.
- Hnilička F, Hniličková H. 2016. Obecná koncepce stresu. Pages 2-27 in Hnilička F, Středa T, editors. *Rostliny v podmínkách stresu – abiotické stresory*. Česká zemědělská univerzita v Praze, Praha.
- Hong B, BargR, Ho TD. 1992. Developmental and organ-specific expression of an ABA- and stress-induced protein in barley. *Plant Molecular Biology* **18**: 663-674.
- Hordyjewska A, Ostapiuk A, Horecka A, Kurzepa J. 2019. Betulin and betulinic acid: triterpenoids derivatives with a powerful biological potential. *Phytochemistry Reviews* **18**: 929-951.

Hsiao TC. 1973. Plant Responses to Water Stress. *Annual Review of Plant Physiology* **24**: 519-570.

Hussein KA, Joo JH. 2018. Plant growth-promoting rhizobacteria improved salinity tolerance of *Lactuca sativa* and *Raphanus sativus*. *Journal of Microbiology and Biotechnology* **28**: 938–945.

Chaves MM, Flexas J, Pinheiro C. 2009. Photosynthesis under drought and salt stress: Regulation mechanisms from whole plant to cell. *Annals of Botany* **103**: 551-560.

Cheeseman JM. 2015. The evolution of halophytes, glycophytes and crops, and its implications for food security under saline conditions. *New Phytologist* **206**: 557-570.

Chen THH, Murata N. 2008. Glycinebetaine: an effective protectant against abiotic stress in plants. *Trends in Plant Science* **13**: 499-505.

Ibrahim MH, Abas NA, Zahra SM. 2019. Impact of Salinity Stress on Germination of Water Spinach (*Ipomoea aquatica*). *Annual Research & Review in Biology* **31**: 1–12.

Igamberdiev AU, Kleczkowski LA. 2018. The glycerate and phosphorylated pathways of serine synthesis in plants: The branches of plant glycolysis linking carbon and nitrogen metabolism. *Frontiers in Plant Science* **9**.

James RA, Blake C, Byrt CS, Munns R. 2011. Major genes for Na⁺ exclusion, Nax1 and Nax2 (wheat HKT1;4 and HKT1;5), decrease Na⁺ accumulation in bread wheat leaves under saline and waterlogged conditions. *Journal of Experimental Botany* **62**: 2939-2947.

Jansen MAK, Potters G. 2017. Stress: The way of life. Pages IX-XIV in Shabala S, editor. *Plant Stress Physiology*. CABI Publishing, Wallingford.

Jbir N, Chaïbi W, Ammar S, Jemmali A, Ayadi A. 2001. Root growth and lignification of two wheat species differing in their sensitivity to NaCl, in response to salt stress: adapting to multiple stresses. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences - Series III - Sciences de la Vie* **324**: 863-86.

Jobe TO, Zenzen I, Rahimzadeh Karvansara P, Kopriva S, Raines C. 2019. Integration of sulfate assimilation with carbon and nitrogen metabolism in transition from C3 to C4 photosynthesis. *Journal of Experimental Botany* **70**: 4211-4221.

Johnes HG, Johnes MB. 1989. Introduction: some terminology and common mechanisms. Pages 1-10 in Johnes HG, Flowers TJ, Johnes MB, editors. *Plants under stress*. Cambridge University Press, New York.

- Jones HG. 2007. Monitoring plant and soil water status: Established and novel methods revisited and their relevance to studies of drought tolerance. *Journal of Experimental Botany* **58**: 119-130.
- Jorenush MH, Rajabi M. 2015. Effect of Drought and Salinity Tensions on Germination and Seedling Growth of Artichoke (*Cynara scolymus* L.). *International journal of Advanced Biological and Biomedical Research* **3**: 297-302.
- Kader M. 2005. A Comparison of Seed Germination Calculation Formulae and the Associated Interpretation of Resulting Data. *Journal & Proceeding of the Royal Society of New South Wales* **138**: 65-75.
- Keddy, P. A. 2007. *Plants and vegetation: Origins, processes, consequences*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Kent, L.M, Läuchli, A. 1985. Germination and seedling growth of cotton: salinity-calcium interactions. *Plant, Cell & Environment* **8**: 155–159.
- Kermode AR. 2005. Role of abscisic acid in seed dormancy. *Journal of Plant Growth Regulation* **24**: 319-344.
- Keskin BC, Sarikaya AT, Yüksel B, Memon, AR. 2010. Abscisic acid regulated gene expression in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Australian Journal of Crop Science* **4**: 617-625.
- Khayyat M, Moradinezhad F, Safari N, Nazari SF, Saeb H, Samadzadeh A. 2014. Seed Germination of Basil and Cress Under NaCl and Boron Stress. *Journal of Plant Nutrition* **37**: 2281–2290.
- Kizil Ü, Genç L, Inalpulat M, Şapolyo D, Mirik M. 2012. Lettuce (*Lactuca sativa* L.) yield prediction under water stress using artificial neural network (ANN) model and vegetation indices. *Zemdirbyste* **99**: 409–418.
- Koizumi M, Kikuchi K, Isobe S, Ishid N, Naito S, Kano H. 2008. Role of seed coat in imbibing soybean seeds observed by micro-magnetic resonance imaging. *Annals of Botany* **102**: 343-352.
- Kosová K, Vítámvás, P, Prášil I, Prášilová P, Chrpová J. 2005. Dehydriny u ječmene (*Hordeum vulgare*) a jejich funkce při ochraně rostlin vůči suchu a chladu. Pages 158-162 in Bláha L, editor. *Vliv abiotických a biotických stresorů na vlastnosti rostlin*. Česká zemědělská univerzita v Praze, Praha.
- Koyro HW, Eisa SS. 2008. Effect of salinity on composition, viability and germination of seeds of *Chenopodium quinoa* Willd. *Plant and Soil* **302**: 79-90.

- Kranner I, Minibayeva FV, Beckett RP, Seal CE. 2010. What is stress? Concepts, definitions and applications in seed science. *New Phytologist* **188**: 655-673.
- Krasutsky PA. 2006. Birch bark research and development. *Natural Product Reports* **23**: 919-942.
- Kůdela V, Ackermann P, Prášil IT, Rod J, Veverka K. 2013. Abiotikózy rostlin: poruchy, poškození a poranění. Academia, Praha.
- Kuznetsova SA, Skvortsova GP, Maliar IN, Skurydina ES, Veselova OF. 2014. Extraction of betulin from birch bark and study of its physico-chemical and pharmacological properties. *Russian Journal of Bioorganic Chemistry* **40**: 742-747.
- Lambers H, Chapin III F, Pons T. 1998. *Plant physiological ecology*. Springer, New York.
- Lambers H, Chapin III F, Pons T. 2008. *Plant physiological ecology*. Springer, New York.
- Lambert M; Turner J. 2000 *Commercial forest plantations on saline lands*. Csiro publishing, Melbourn.
- Larcher W 2003. *Physiological plant ecology: ecophysiology and stress physiology of functional groups*. Springer, Berlin.
- Larcher W. 2001. *Ökophysiologie der Pflanzen Leben. Leistung und Streßbewältigung der Pflanzen in ihrer Umwelt*. UTB, Stuttgart.
- Laszczyk MN. 2009. Pentacyclic triterpenes of the lupane, oleanane and ursane group as tools in cancer therapy. *Planta Medica* **75**: 1549-1560.
- Leegood RC, Lea PJ, Adcock MD, Hausler RE. 1995. The regulation and control of photorespiration. *Journal of Experimental Botany* **46**: 1397-1414.
- Levitt J. 1980. *Responses of plants to environmental stresses: water, radiation, salt, and other stresses*. Academic Press, New York.
- Levitt J. 1982. Stress terminology Pages 437-439 in Turner NC, Kramer PJ, editors. *Adaptation of plants to water and high temperature stress*. Wiley Interscience, New York.
- Li H, Li X, Zhang D, Liu H, Guan K. 2013. Effects of drought stress on the seed germination and early seedling growth of the endemic desert plant *Eremosparton songoricum* (*Fabaceae*). *EXCLI Journal* **12**: 89–101.
- Lichtenthaler HK, 1996. *Vegetation Stress: an Introduction to the Stress Concept in Plants*. *Journal of Plant Physiology* **148**: 4-14.

- Lichtenthaler HK. 1998. The stress concept in plants: An introduction. *Annals of the New York Academy of Sciences* **851**: 187-198.
- Lin Y, He K, Huang Y, Zheng D, Gao C, Cui L, Jin YH. 2010. Betulin induces mitochondrial cytochrome c release associated apoptosis in human cancer cells. *Molecular Carcinogenesis* **49**: 630-640.
- Liu Y, Song Q, Li D, Yang X., Li D. 2017. Multifunctional roles of plant dehydrins in response to environmental stresses. *Frontiers in Plant Science* **8**: 1018.
- MacGregor DR, Kendall SL, Florance H, Fedi F, Moore K, Paszkiewicz K, Smironoff N, Mahdavi B, Sanavy SAMM. 2007. Germination and seedling growth in grasspea (*Lathyrus sativus*) cultivars under salinity conditions. *Pakistan Journal of Biological Sciences* **10**: 273–279.
- Mahmood T, Ashraf M, Shahbaz M. 2009. Does exogenous application of glycinebetaine as a pre-sowing seed treatment improve growth and regulate some key physiological attributes in wheat plants grown under water deficit conditions? *Pakistan Journal of Botany* **41**: 1291–1302.
- Mallmann, J., Heckmann, D., Bräutigam, A., Lercher, M. J., Weber, A. P. M., Westhoff, P., & Gowik, U. 2014. The role of photorespiration during the evolution of C4 photosynthesis in the genus *Flaveria*. *Elife* (e02478) DOI: 10.7554/eLife.02478.
- Matilla AJ. 2000. Ethylene in seed formation germination. *Seed Science Research* **10**: 111-126.
- Maurino VG, Weber APM. 2013. Engineering photosynthesis in plants and synthetic microorganisms. *Journal of Experimental Botany* **64**: 743-751.
- McDonald MB. 1994. Seed lot potential: Viability, vigour and field performance. *Seed Science and Technology* **22**: 421-426.
- Miceli A, Moncada A, D'Anna F. 2003. Effect of water salinity on seeds-germination of *Ocimum basilicum* L., *Eruca sativa* L. and *Petroselinum hortense* Hoffm. *Acta Horticulturae* **609**: 365–370.
- Míchal I. 1994. *Ekologická stabilita*. Veronica, Brno.
- Millar AH, Siedow JN, Day D. 2015. Respiration and Photorespiration. Pages 610-655 in Buchanan BB, Gruissem W, Jones RL, editors. *Biochemistry and molecular biology of plants*. John Wiley & Sons, Chichester.
- Mittler R. 2006. Abiotic stress, the field environment and stress combination. *Trends in Plant Science* **11**: 15-19.

- Montaña LA, Fischer G, Magnitskiy S, Zuluaga G. 2014. Effect of NaCl salinity on seed germination and seedling emergence of purple passion fruit (*Passiflora edulis* Sims.). *Agronomía Colombiana* **32**: 188-195.
- Muhammad Z, Hussain F. 2010. Effect of NaCl salinity on the germination and seedling growth of some medicinal plants. *Pakistan Journal of Botany* **42**: 889–897.
- Munns R, Termaat A. 1986. Whole-plant responses to salinity. *Australian Journal of Plant Physiology* **13**: 143-160.
- Munns R, Tester M. 2008. Mechanisms of Salinity Tolerance. *Annual Review of Plant Biology* **59**: 651-681.
- Munns R. 2005. Genes and salt tolerance: Bringing them together. *New Phytologist* **167**: 645-663.
- Murillo-Amador B, López-Aguilar R, Kaya C, Larrinaga-Mayoral J, Flores-Hernández A. 2002. Comparative effects of NaCl and polyethylene glycol on germination, emergence and seedling growth of cowpea. *Journal of Agronomy and Crop Science* **188**: 235-247.
- Nasri N, Saïdi I, Kaddour R, Lachaâl M. 2015. Effect of Salinity on Germination, Seedling Growth and Acid Phosphatase Activity in Lettuce. *American Journal of Plant Sciences* **6**: 57-63.
- Née G, Xiang Y, Soppe WJ. 2017. The release of dormancy, a wake-up call for seeds to germinate. *Current Opinion in Plant Biology* **35**: 8-14.
- Neumann PM. 1995. Inhibition of root growth by salinity stress: Toxicity or an adaptive biophysical response? Pages 299-304 in Baluska F, Ciamporová M, Gasparíková O, Barlow PW, editors. *Structure and Function of Roots*. Springer, Dordrecht.
- Nilsen ET, Orcutt DM. 1996. *Physiology of plants under stress. Abiotic factors*. John Wiley and Sons, New York.
- Nishii K, Nagata T, Wang CN, Möller M. 2012. Light as environmental regulator for germination and macrocotyledon development in *Streptocarpus rexii* (*Gesneriaceae*). *South African Journal of Botany* **81**: 50-60.
- Noctor G, Mhamdi A, Foyer CH. 2014. The roles of reactive oxygen metabolism in drought: Not so cut and dried. *Plant Physiology* **164**: 1636-1648.
- Nonogaki H. 2014. Seed dormancy and germination-emerging mechanisms and new hypotheses. *Frontiers in Plant Science* **5**: 233.

- Nonogaki, H, Bassel GW, Bewley, JD. 2010. Germination-still a mystery. *Plant Science* **179**: 574-581.
- Nuccio ML, Rhodes D, McNeil SD, Hanson AD. 1999. Metabolic engineering of plants for osmotic stress resistance. *Current Opinion in Plant Biology* **2**: 128-134.
- Orcutt DM, Nilsen ET. 2000. *Physiology of Plants under stress – Soil and biotic factors*. John Wiley and Sons, New York.
- Othman Y, Al-Karaki G, Al-Tawaha AR, Al-Horani A. 2006. Variation in Germination and Ion Uptake in Barley Genotypes under Salinity Conditions. *World Journal of Agricultural Sciences* **2**: 11-15.
- Pazderů K. 2010 Semena a stresové podmínky. Pages 206-214 in Bláha L, Hnilička F, Martínková J, editors. *Současné možnosti fyziologie a zemědělského výzkumu přispět k produkci rostlin. Výzkumný ústav rostlinné výroby, Praha*.
- Penfield S. 2015. Seed production temperature regulation of primary dormancy occurs through control of seed coat phenylpropanoid metabolism. *New Phytologist* **205**: 642-652.
- Peterhans C, Maurino VG. 2011. Photorespiration redesigned. *Plant Physiology* **155**: 49-55.
- Prisco JT, Gomes-Filho E, Miranda RS. 2016. Physiology and biochemistry of plants growing under salt stress. Pages 163-180 in Gheyi HR, Dias DS, de Lacerda CF, Filho EG, editors. *Manejo da salinidade na agricultura: Estudos básicos e aplicados*. INCTSal, Fortaleza.
- Prisco JT. 1980 Alguns aspectos da fisiologia do "stress" salino. *Revista Brasileira de Botânica* **3**: 85-94.
- Promila K, Kumar S. 2000. *Vigna radiata* seed germination under salinity. *Biologia Plantarum* **43**: 423-426.
- Rahnama A, James RA, Poustini K, Munns R. 2010. Stomatal conductance as a screen for osmotic stress tolerance in durum wheat growing in saline soil. *Functional Plant Biology* **37**: 255-263.
- Rajjou L, Duval M, Gallardo K, Catusse J, Bally J, Job C, Job D. 2012. Seed Germination and Vigor. *Annual Review of Plant Biology* **63**: 507-533.
- Rezaei MA, Kaviani B, Masouleh AK. 2012. The effect of exogenous glycine betaine on yield of soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] In two contrasting cultivars Pershing and DPX under soil salinity stress. *Plant OMICS* **5**: 87-93.

Rhodes D, Hanson AD. 1993. Quaternary ammonium and tertiary sulfonium compounds in higher plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* **44**: 357-384.

Rhodes D, Nadolska-Orczyk A, Rich PJ. 2002. Salinity, osmolytes and compatible solutes. Pages 181-204. in Läuchli A, Lüttge U, editors. *Salinity: environment - plants - molecules*. Springer, Dordrecht.

Ros R, Muñoz-Bertomeu J, Krueger S. 2014. Serine in plants: Biosynthesis, metabolism, and functions. *Trends in Plant Science* **19**: 564-569.

Sakamoto A, Murata N. 2002. The role of glycine betaine in the protection of plants from stress: Clues from transgenic plants. *Plant, Cell and Environment* **25**: 163-171.

Sánchez-Blanco MJ, Álvarez S, Ortuño MF, Ruiz-Sánchez MC. 2014. Root System Response to Drought and Salinity: Root Distribution and Water Transport. Pages 325-352 in Morte A, Varma A, editors. *Root Engineering Basic and Applied Concepts*. Springer, Berlin.

Sechet J et al. 2016. Xyloglucan Metabolism Differentially Impacts the Cell Wall Characteristics of the Endosperm and Embryo during Arabidopsis Seed Germination. *Plant Physiology* **170**: 1367-1380.

Sekula B, Ruszkowski M, Dauter Z. 2018. Structural analysis of phosphoserine aminotransferase (isoform 1) from Arabidopsis thaliana- the enzyme involved in the phosphorylated pathway of serine biosynthesis. *Frontiers in Plant Science* **9**.

Shannon MC, Grieve CM. 1999. Tolerance of vegetable crops to salinity. *Scientia Horticulturae* **78**: 5-38.

Shu K, Liu XD, Xie Q, He ZH. 2016. Two Faces of One Seed: Hormonal Regulation of Dormancy and Germination. *Molecular Plant* **9**: 34-45.

Schinokazi K, Vermura M, Bailey-Serres, J, Bray EA, Weretilnyk. 2015. Responses to Abiotic Stress. Pages 1051-1099 in Buchanan BB, Gruissem W, Jones RL, editors. *Biochemistry and molecular biology of plants*. John Wiley & Sons, Chichester.

Schulze ED, Beck E, Müller-Honenstein K. 2005. *Plant Ecology*. Springer, Heidelberg.

Schwarte S, Bauwe H. 2007. Identification of the photorespiratory 2-phosphoglycolate phosphatase, PGLP1, in Arabidopsis. *Plant Physiology* **144**: 1580-158.

Siddique Z, Jan S, Imadi SR, Gul A, Ahmad P. 2016. Pages 1-11 in Ahmad P, editor. *Water Stress and Crop Plants: A Sustainable Approach*. Wiley-Blackwell, Chichester.

- Simkin AJ, López-Calcagno PE, Raines CA. 2019. Feeding the world: Improving photosynthetic efficiency for sustainable crop production. *Journal of Experimental Botany* **70**: 1119-1140.
- Slama I, Abdelly C, Bouchereau A, Flowers T, Saviouré A. 2015. Diversity, distribution and roles of osmoprotective compounds accumulated in halophytes under abiotic stress. *Annals of Botany* **115**: 433-447.
- Smýkal P, Vernoud V, Blair MW, Soukup A, Thompson RD. 2014. The role of the testa during development and in establishment of dormancy of the legume seed. *Frontiers in Plant Science* **5**: 111-126.
- Șoica CM, Dehelean CA, Peev C, Aluas M, Zupkó I, Kása P, Alexa E. 2012. Physico-chemical comparison of betulinic acid, betulin and birch bark extract and in vitro investigation of their cytotoxic effects towards skin epidermoid carcinoma (A431), breast carcinoma (MCF7) and cervix adenocarcinoma (HeLa) cell lines. *Natural Product Research* **26**: 968-974.
- Solomon EP, Martin CHE, Martin DW, Berg LR. 2010. *Biology*. Cengage Learning, Stamford.
- Song WJ, Zhou WJ, Jin ZL, Cao DD, Joel DM, Takeuchi Y, Yoneyama K. 2005. Germination response of Orobanche seeds subjected to conditioning temperature, water potential and growth regulator treatments. *Weed Research* **45**: 467-476.
- Sourour A, Othmani A, Rezgui M, Mongi BJ. 2017. A review: Morphological, physiological, biochemical and molecular plant responses to water deficit stress. *The International Journal of Engineering and Science* **6**: 1-4.
- Springer TL. 2005. Germination and early seedling growth of chaffy-seeded grasses at negative water potentials. *Crop Science* **45**: 2075–2080.
- Subbarao GV, Wheeler RM, Levine LH, Stutte GW. 2001. Glycine betaine accumulation, ionic and water relations of red-beet at contrasting levels of sodium supply. *Journal of Plant Physiology*, **158**: 767-776.
- Suzuki N, Rivero RM, Shulaev V, Blumwald E, Mittler R. 2014. Abiotic and biotic stress combinations. *New Phytologist* **203**: 32-43.
- Šerá B. 2012. Dormance semen u planě rostoucích rostlinných druhů se zřetelem k problematice plevelů. Pages. 130-137 in Bláha L, Šerá B, editors. *Vybrané kapitoly z fyziologie rostlin a zemědělského výzkumu*. Výzkumný ústav rostlinné výroby, Praha.
- Šerá B. 2014. Klíčivost jako běžný test v botanickém pozorování, šlechtění a experimentech. Pages 9-17 in Bláha L, Šerá B, editors. *Príspevky k problematice zemědělského pokusnictví*. Výzkumný ústav rostlinné výroby, Praha.

Šerá B. 2019. Parametry klíčení semen a počátečního růstu semenáčků. Pages 147-151 in Kožnarová V, editor. Vliv abiotických a biotických stresorů na vlastnosti rostlin. Česká zemědělská univerzita v Praze, Praha.

Šiman P, Filipová A, Tichá A, Niang M, Bezrouk A, Havelek R. 2016. Effective method of purification of betulin from birch bark: The importance of its purity for scientific and medicinal use. (e0154933) DOI: 10.1371/journal.pone.0154933.

Taiz L, Zeiger E. 2010. Plant Physiology. Sinauer Associates, Sunderland.

Takaki M. 2001. New proposal of classification of seeds based on forms of phytochrome instead of photoblastism. Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal **13**: 103-107.

Tillich HJ. 2007. Seedling diversity and the homologies of seedling organs in the order Poales (monocotyledons). Annals of Botany **100**: 1413-1429.

Tilman D, Knops J, Wedin D, Reich P, Ritchie M, Siemann E. 1997. The influence of functional diversity and composition on ecosystem processes. Science **277**: 1300–1302.

Timm S, Florian A, Jahnke K, Nunes-Nesi A, Fernie AR, Bauwe H. 2011. The hydroxypyruvate-reducing system in Arabidopsis: multiple enzymes for the same end. Plant Physiology **155**: 694-705.

Tipirdamaz R, Gagneul D, Duhazé C, Aïnouche A, Monnier C, Özkum D, Larher F. 2006. Clustering of halophytes from an inland salt marsh in Turkey according to their ability to accumulate sodium and nitrogenous osmolytes. Environmental and Experimental Botany **57**: 139-153.

Tsai JC, Peng WH, Chiu TH, Lai SC, Lee, CY. 2011. Anti-inflammatory effects of *Scoparia dulcis* L. and betulinic acid. American Journal of Chinese Medicine **39**: 943-953.

Vega JA, Fernández C, Pérez-Gorostiaga P, Fonturbel T. 2009. The influence of fire severity, serotiny, and post-fire management on *Pinus pinaster* Ait. recruitment in three burnt areas in Galicia (NW Spain). Forest Ecology and Management **256**: 1596-160.

Vleeshouwer LM, Bouwmeester HJ, Karssen CM. 1995. Redefining Seed Dormancy: An Attempt to Integrate Physiology and Ecology. The Journal of Ecology **83**: 1031-1037.

Vogel G, Hartmann HD, Krahnstöver K. 1996. Handbuch des speziellen Gemüsebaues. Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart.

- Wahid A, Javed IUH, Ali I, Baig A, Rasul E. 1998. Short term incubation of sorghum caryopses in sodium chloride levels: Changes in some pre-and post-germination physiological parameters. *Plant Science* **139**: 223-232.
- Wang Y, Zhang W, Li K, Sun F, Han C, Wang Y, Li X. 2008. Salt-induced plasticity of root hair development is caused by ion disequilibrium in *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Plant Research* **121**: 87-96.
- Wang YM, Meng YL, Nii N. 2004. Changes in glycine betaine and related enzyme contents in *Amaranthus tricolor* under salt stress. *Journal of Plant Physiology and Molecular Biology* **30**: 496-502.
- Wang, Z., Li, G., Sun, H., Ma, L., Guo, Y., Zhao, Z., Gao, H., and Mei, L. 2018. Effects of drought stress on photosynthesis and photosynthetic electron transport chain in young apple tree leaves *Biology Open*. 7.
- Waseem M, Ali A, Tahir M, Nadeem M, Ayub M, Tanveer A, Ahmad R, Hussain M. 2011. Mechanism of Drought Tolerance in Plant and Its Management Through. *Continental Journal of Agricultural Sciences* **5**: 10-25.
- Whalley WR, Finch-Savage WE, Cope RE, Rowse HR, Bird NRA. 1999. The response of carrot (*Daucus carota* L.) and onion (*Allium cepa* L.) seedlings to mechanical impedance and water stress at sub-optimal temperatures. *Plant Cell and Environment* **22**: 229-242.
- Wulfert S, Krueger S. 2018. Phosphoserine aminotransferase1 is part of the phosphorylated pathways for serine biosynthesis and essential for light and sugar-dependent growth promotion. *Frontiers in Plant Science* **9**.
- Yancey PH. 1994. Compatible and counteracting solutes. Pages 81-109 in Strange K, editor. *Cellular and molecular physiology of cell Volume Regulation*. CRC Press, Boca Raton, Florida.
- Yancey PH. 2005. Organic osmolytes as compatible, metabolic and counteracting cytoprotectants in high osmolarity and other stresses. *Journal of Experimental Biology* **208**: 2819-2830.
- Yogeeswari P, Sriram D. 2005. Betulinic acid and its derivatives: a review on their biological properties. *Current Medicinal Chemistry* **12**:657-666.
- Yu Z, Wang X, Zhang, L. 2018 Structural and functional dynamics of dehydrins: A plant protector protein under abiotic stress. *International Journal of Molecular Sciences* **19**:3420.
- Zanin G, Ponchia G, Sambo P, Ortega AE. 2011. Seasonal effects on production of radish and lamb's lettuce grown in a floating system. *Acta Horticulturae* **893**: 821–830.

Zapata PJ, Serrano M, Pretel MT, Amorós A, Botella MÁ. 2003. Changes in ethylene evolution and polyamine profiles of seedlings of nine cultivars of *Lactuca sativa* L. in response to salt stress during germination. *Plant Science* **164**: 557–563.

Zdzisińska B, Szuster-Ciesielska A, Rzeski W, Kanderfer-Szerszen M. 2010. Therapeutic properties of betulin and betulinic acid, components of birch bark extract. *Farmaceutyczny Przegląd Naukowy* **7**: 33-39.

Zhang H, Irving LJ, McGill C, Matthew C, Zhou D, Kemp P. 2010. The effects of salinity and osmotic stress on barley germination rate: Sodium as an osmotic regulator. *Annals of Botany* **106**: 1027–1035.

Zhang H, Zhang S, Yang J, Zhang J, Wang Z. 2008. Postanthesis moderate wetting drying improves both quality and quantity of rice yield. *Agronomy Journal* **100**: 726-734.

Zhang Q, Rue K, Mueller J. 2014. The effect of glycinebetaine priming on seed germination of six turfgrass species under drought, salinity, or temperature stress. *HortScience* **49**: 1454–1460.

Zörb C, Senbayram M, Peiter E. 2014 Potassium in agriculture-status and perspectives. *Journal of Plant Physiology* **171**:656-669.

9 Seznam použitých obrázků, grafů a tabulek

9.1 Seznam použitých obrázků

- Obrázek 1: Příjem vody semeny při klíčení (Bewley & Black 1978, upraveno)
Obrázek 2: Hypogeické klíčení hrachu (Ever & Eichhorn 2013, upraveno)
Obrázek 3: Epigeické klíčení u fazolu (Ever & Eichhorn 2013, upraveno)
Obrázek 4: Hypogeické klíčení u kukuřice (Ever & Eichhorn 2013, upraveno)
Obrázek 5: Epigeické klíčení u cibule (Ever & Eichhorn 2013, upraveno)
Obrázek 6: Fáze stresu (Larchera 2003, upraveno)
Obrázek 7: Poškození rostlin suchem (převzato od Kůdely et al. 2013).
Obrázek 8: Fyziologické změny, které se projevují, pokud je rostlina vystavena zasolení (Prisco et al. 2016, upraveno)
Obrázek 9: Rostlina salátu poškozená zasolením
Obrázek 10: Schéma fotorespirace (Maurino & Weber 2013; Simkin et al. 2019, upraveno)
Obrázek 11: Glycerátová a „Fosforylační“ cesta syntézy serinu (Igamberdiev & Kleczkowski 2018, upraveno)
Obrázek 12: Chemická struktura glycin betainu (Sakamoto & Murato 2002)
Obrázek 13: Syntéza glycin betainu (Araf & Foolad 2007, upraveno)
Obrázek 14: Chemická struktura a) betulin b) kyseliny betulinové (Tsai et al. 2011; Soica et al. 2012)
Obrázek 15: Řícha setá (foto autor)
Obrázek 16: Kozlíček polníček (foto autor)
Obrázek 17: Locika setá (foto autor)

9.2 Seznam použitých grafů

- Graf 1: Klíčivost semen *Lepidium sativum* v závislosti na koncentraci GBet
Graf 2: Délka kořínku nad 2 mm u *Lepidium sativum* v závislosti na koncentraci GBet
Graf 3: Délka hypokotylu u *Lepidium sativum* v závislosti na koncentraci GBet
Graf 4: Hmotnost FW klíčících rostlinek u *Lepidium sativum* v závislosti na koncentraci GBet u semen
Graf 5: Hmotnost DW klíčících rostlinek u *Lepidium sativum* v závislosti na koncentraci GBet
Graf 6: Klíčivost semen *Valerianella locusta* v závislosti na koncentraci GBet
Graf 7: Rychlost klíčení *Valerianella locusta* v závislosti na koncentraci GBet
Graf 8: Index klíčivosti *Valerianella locusta* v závislosti na koncentraci GBet
Graf 9: Délka kořínku nad 2 mm u *Valerianella locusta* v závislosti na koncentraci GBet
Graf 10: Délka hypokotylu u *Valerianella locusta* v závislosti na koncentraci GBet
Graf 11: Hmotnost FW klíčících rostlinek u *Valerianella locusta* v závislosti na koncentraci GBet
Graf 12: Hmotnost DW klíčících rostlinek u *Valerianella locusta* v závislosti na koncentraci GBet
Graf 13: Klíčivost semen *Valerianella locusta* v podmínkách zasolení
Graf 14: Rychlost klíčení *Valerianella locusta* v podmínkách zasolení
Graf 15: Index klíčivosti *Valerianella locusta* v podmínkách zasolení

Graf 16: Délka kořínku nad 2 mm u *Valerianella locusta* v závislosti na termínu měření
Graf 17: Délka hypokotylu u *Valerianella locusta* v závislosti na termínu
Graf 18: Hmotnost FW klíčících rostlinek u *Valerianella locusta* v závislosti na koncentraci GBet v NaCl
Graf 19: Hmotnost DW klíčících rostlinek u *Valerianella locusta* v závislosti na koncentraci GBet v NaCl
Graf 20: Klíčivost semen *Lactuca sativa* vlivem deficitu vody a rozdílných koncentracích GBet
Graf 21: Rychlost klíčení *Lactuca sativa* při vodním deficitu a rozdílných koncentracích GBet
Graf 22: Index klíčivosti *Lactuca sativa* při vodním deficitu a rozdílných koncentracích GBet
Graf 23: Délka kořínku nad 2 mm u *Lactuca sativa* v závislosti na termínu
Graf 24: Délka hypokotylu u *Lactuca sativa* v závislosti na termínu
Graf 25: Hmotnost FW klíčících rostlinek *Lactuca sativa* vlivem vodního deficitu a rozdílných koncentracích GBet
Graf 26: Hmotnost DW klíčících rostlinek *Lactuca sativa* vlivem vodního deficitu a rozdílných koncentracích GBet

9.3 Seznam použitých tabulek

Tabulka 1: Počet vyklíčených semen u *Lepidium sativum* v závislosti na koncentraci GBet
Tabulka 2: Energie klíčení u *Valerianella locusta* v závislosti na koncentraci GBet
Tabulka 3: Počet vyklíčených semen u *Valerianella locusta* při různých koncentracích GBet
Tabulka 4: Energie klíčení *Valerianella locusta* při různých koncentracích GBet v NaCl
Tabulka 5: Počet vyklíčených semen *Valerianella locusta* při různých koncentracích GBet v NaCl
Tabulka 6: Energie klíčení *Lactuca sativa* při vodním deficitu a rozdílných koncentracích GBet
Tabulka 7: Počet vyklíčených semen *Lactuca sativa* při vodním deficitu a rozdílných koncentracích GBet

10 Seznam použitých zkratek a symbolů

2-OG	2-oxoglutarát
2-PG	2-fosfoglykolát
3-PGA	3-fosfoglycerát
3-PHP	3-fosfohydroxypyruvát
5,10-CH ₂ -THF	5,10-methylen-tetrahydrofolát
ABA	kyselina abcisová
AH-AT	serin aminotransferázou
ATP	adenosintrifosfát
BADH	betain aldehyd dehydrogenáza
CAT	kataláza
CMO	cholinmonooxygenáza
DMSP	3-dimethylsulfoniopropionát
DW	Dry weight (hmotnost sušiny)
FW	Fresh weight (čerstvá hmotnost)
FYD	fyzikální dormance
FYD+PD	kombinovaná dormance (fyziologická a fyzikální)
GA	giberaliny
GA ₃	kyselina giberelová
GB	glycin betain
GBet	glycin betulín
GDC	glycin dekarboxyláza
GE	Energie klíčení
GGAT	glutamát-glyoxylát aminotransferasa
GI	Index klíčivosti
GLYK	glycerátkynáza
GOX	glykolát oxidáza
GR	Rychlost klíčení
HPR	hydroxypyruvátreduktáza
HPR-1	hydroxypyruvátreduktáza 1
HPR-2	hydroxypyruvátreduktáza 2
LEA	proteiny hojné pro pozdní embryogenezi
MD	morfologická dormance
MFD	morfologicko-fyziologická dormance
NaCl	chlorid sodný
NAD ⁺	oxidovaný nikotinamidadenindinukleotid
NADH	redukovaný nikotinamidadenindinukleotid
PD	fyziologická dormance
PEG	polyetylglycol
PGAP	fosfoglycerát fosfatáza
PGDH	fosfoglycerát dehydrogenáza
PGP	fosfoglykolát fosfatáza
PSAT	fosfoserinaminotransferáza

Pser	fosfoserin
PSP	fosfoserin fosfatáza
ROS	Reactive Oxygen Species (reaktivní formy kyslíku)
Rubisco	ribulosa-1,5-bisfosfát-karboxylasa/oxygenasa
RuBP	ribulosa-1,5-bisfosfát
SG	Klíčivost semen
SGAT	serin-glyoxylát aminotransferáza
SHMT	serin hydroxymetyl transferáza
THF	tetrahydrofolát

11 Samostatné přílohy

11.1 Fotografická dokumentace jednotlivých pokusů

11.1.1 Test toxicity u řeřichy seté

- Obr. 1 Založení pokusu
- Obr. 2 Měření kořínku a hypokotylu
- Obr. 3 Kořenové vlášení
- Obr. 4 Kontrola
- Obr. 5 Varianta $0,014 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$
- Obr. 6 Varianta $0,049 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$
- Obr. 7 Varianta $0,07 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$
- Obr. 8 Varianta $0,091 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$
- Obr. 9 Varianta $0,112 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$
- Obr. 10 Varianta $0,14 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$
- Obr. 11 Varianta $0,49 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$
- Obr. 12 Varianta $0,7 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$
- Obr. 13 Varianta $0,91 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$
- Obr. 14 Varianta $1,12 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$

11.1.2 Test toxicity u kozlíčku polníčku

- Obr. 15 Kontrola
- Obr. 16 Varianta $0,14 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$
- Obr. 17 Varianta $0,49 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$
- Obr. 18 Varianta $0,7 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$
- Obr. 19 Varianta $0,91 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$
- Obr. 20 Varianta $1,12 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$

11.1.3 Kozlíček polníček klíčící v podmínkách zasolení

- Obr. 21 Kontrola
- Obr. 22 Varianta $0,14 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$
- Obr. 23 Varianta $0,49 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$
- Obr. 24 Varianta $0,7 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$
- Obr. 25 Varianta $0,91 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$
- Obr. 26 Varianta $1,12 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$

11.1.4 Locika setá klíčící v podmínkách vodního deficitu

- Obr. 27 Kontrola
- Obr. 28 Varianta 10% PEG
- Obr. 29 Varianta 30% PEG
- Obr. 30 Klíčení semen salátu v destilované vodě a 10% a 30% PEG
- Obr. 31 Varianta $0,091 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$
- Obr. 32 Varianta $0,14 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$

- Obr. 33 Varianta $0,7 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$
- Obr. 34 Varianta $1,12 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$

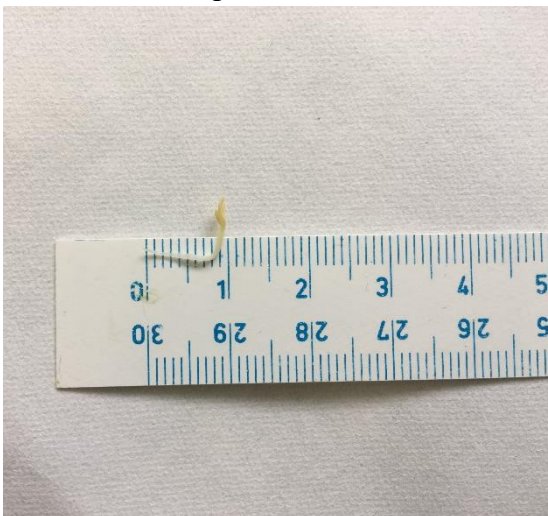
11.4 Fotografická dokumentace jednotlivých pokusů

(Autorka fotografií: Barbora Tunklová)

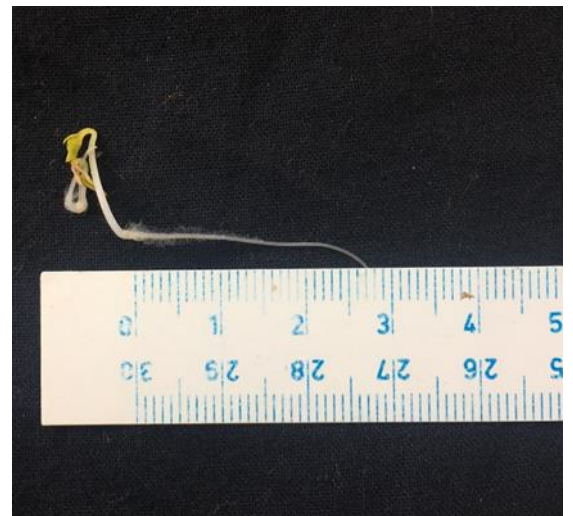
11.4.1 Test toxicity u řechy seté



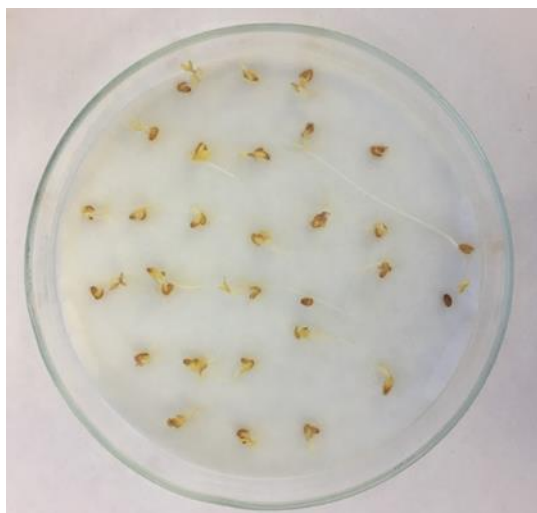
Obr. 1 Založení pokusu



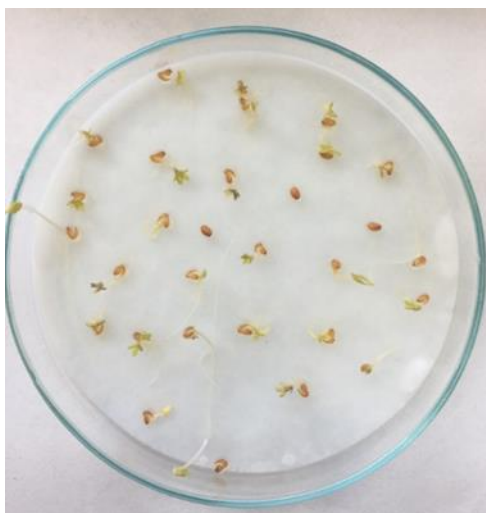
Obr. 2 Měření kořínku a hypokotylu



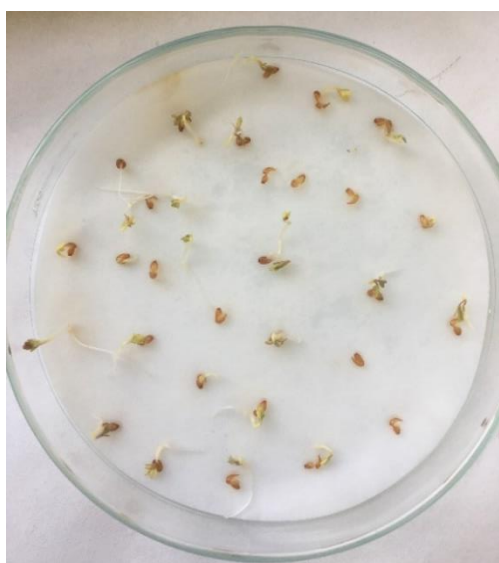
Obr. 3 Kořenové vlášení



Obr. 4 Kontrola



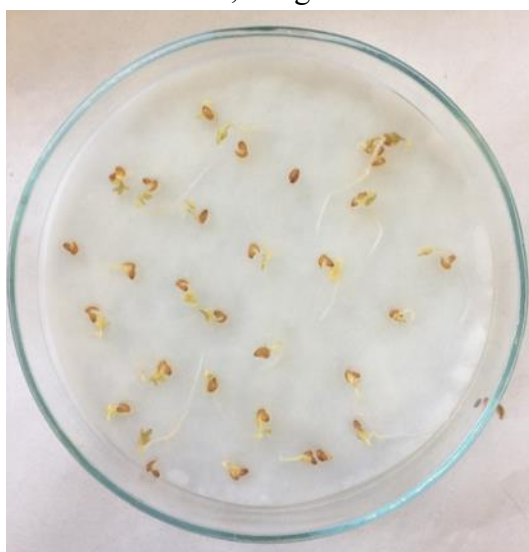
Obr. 5 Varianta 0,014 g·l⁻¹



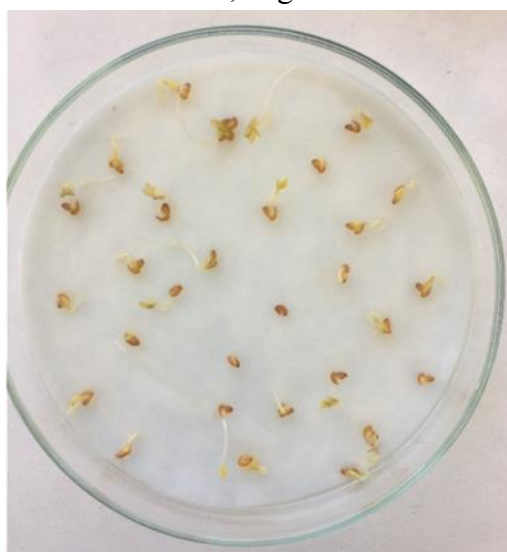
Obr. 6 Varianta 0,049 g·l⁻¹



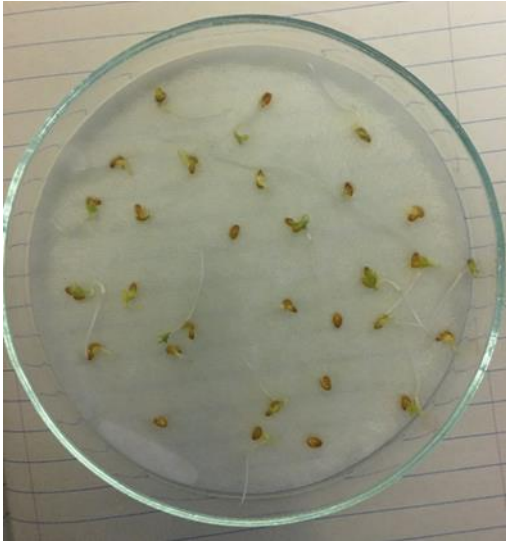
Obr. 7 Varianta 0,07 g·l⁻¹



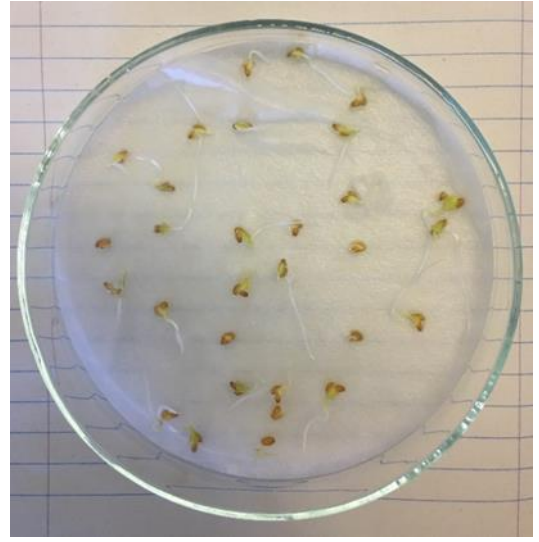
Obr. 8 Varianta 0,091 g·l⁻¹



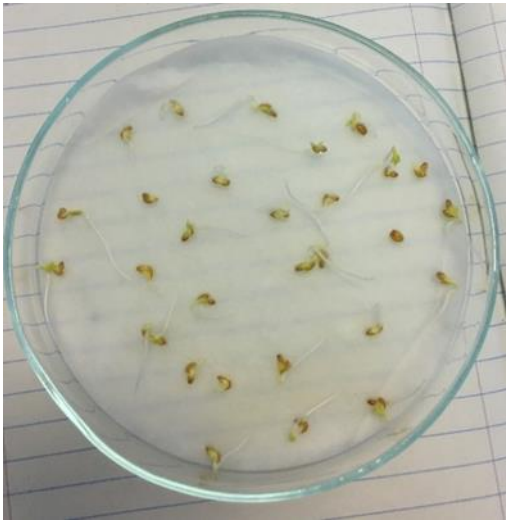
Obr. 9 Varianta 0,112 g·l⁻¹



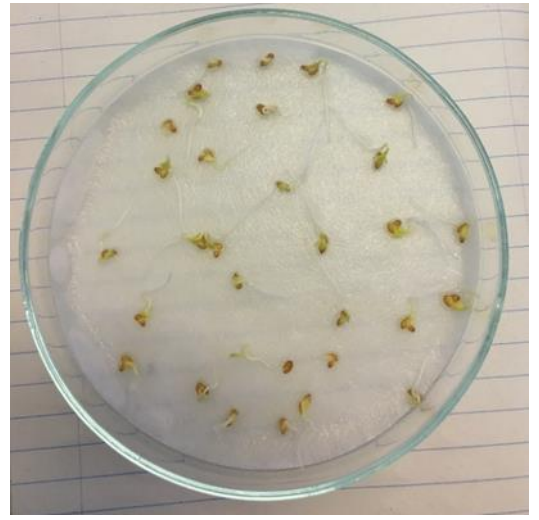
Obr. 10 Varianta $0,14 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$



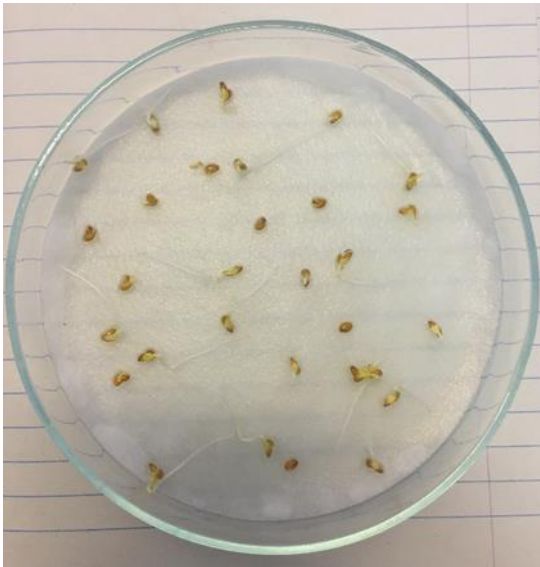
Obr. 11 Varianta $0,49 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$



Obr. 12 Varianta $0,7 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$

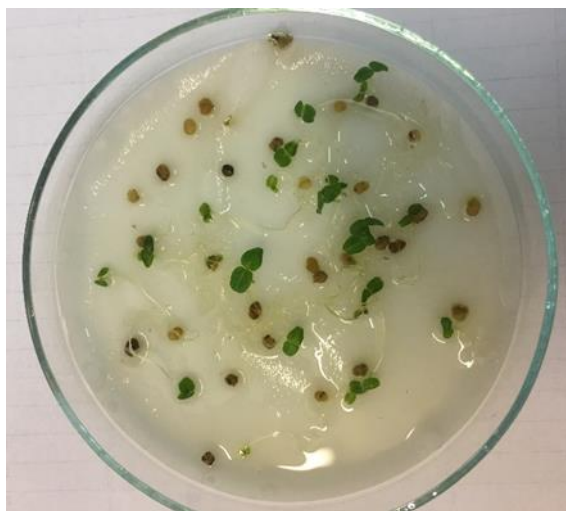


Obr. 13 Varianta $0,91 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$



Obr. 14 Varianta $1,12 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$

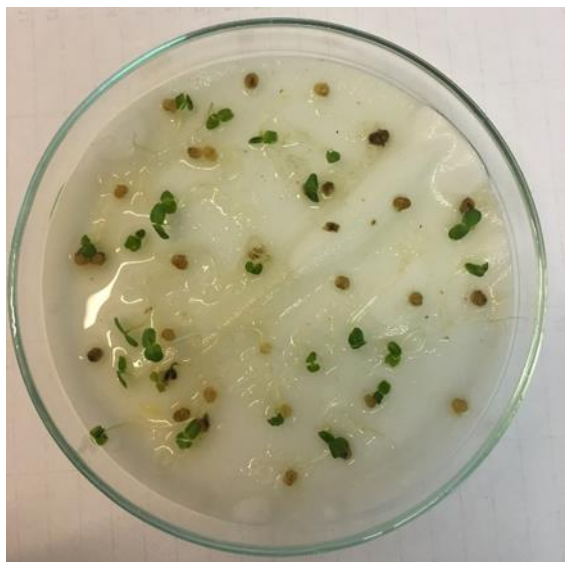
11.4.2 Test toxicity u kozlíčku polníčku



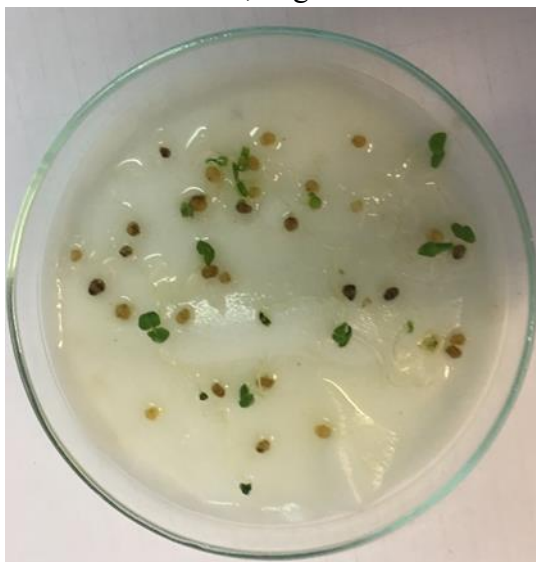
Obr. 15 Kontrola



Obr. 16 Varianta 0,14 g·l⁻¹



Obr. 17 Varianta 0,49 g·l⁻¹



Obr. 18 Varianta 0,7 g·l⁻¹



Obr. 19 Varianta 0,91 g·l⁻¹



Obr. 20 Varianta 1,12 g·l⁻¹

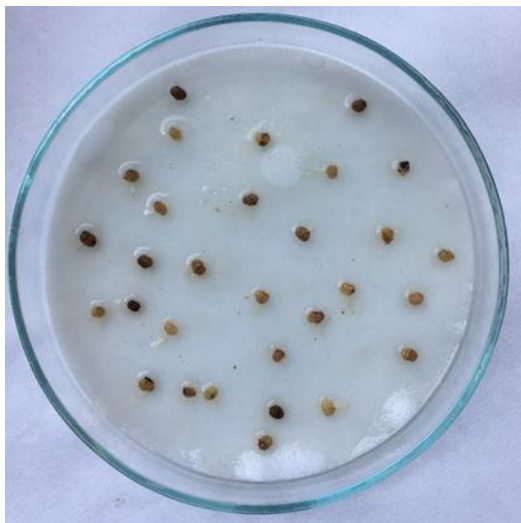
11.4.3 Kozlíček polníček klíčící v podmínkách zasolení



Obr. 21 Kontrola



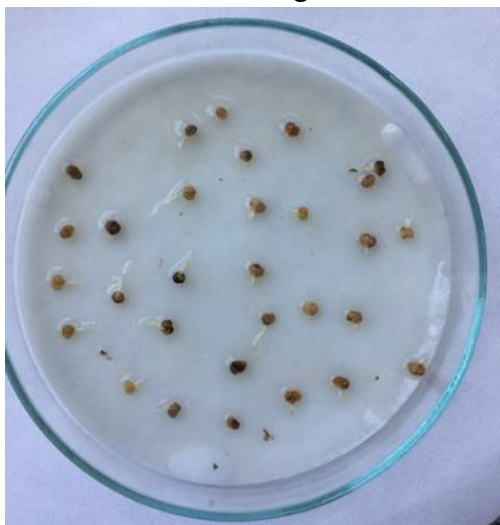
Obr. 22 Varianta 0,14 g·l⁻¹



Obr. 23 Varianta 0,49 g·l⁻¹



Obr. 24 Varianta 0,7 g·l⁻¹

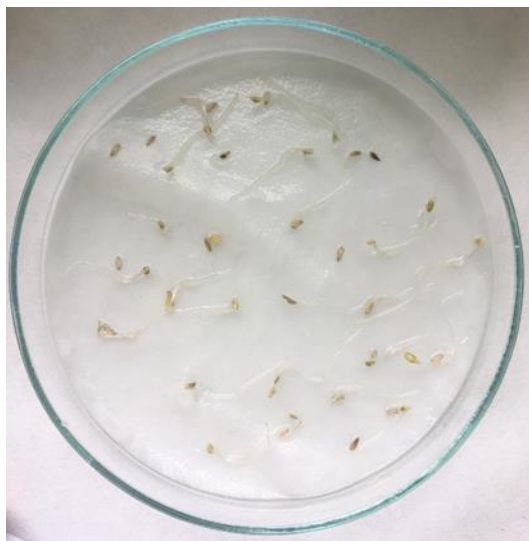


Obr. 25 Varianta 0,91 g·l⁻¹



Obr. 26 Varianta 1,12 g·l⁻¹

11.4.4 Locika setá klíčící v podmínkách vodního deficitu



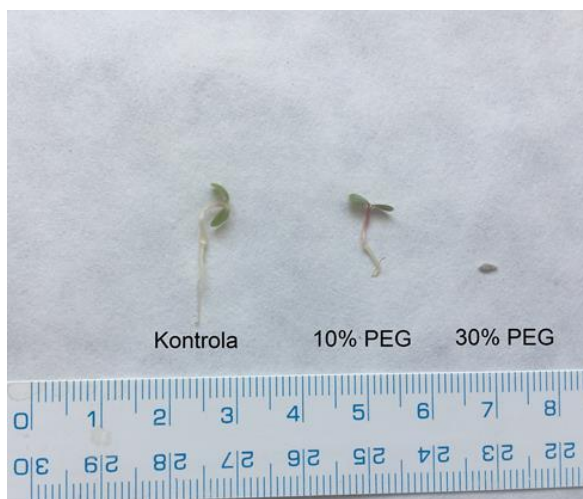
Obr. 27 Kontrola



Obr. 28 Varianta 10% PEG



Obr. 29 Varianta 30% PEG



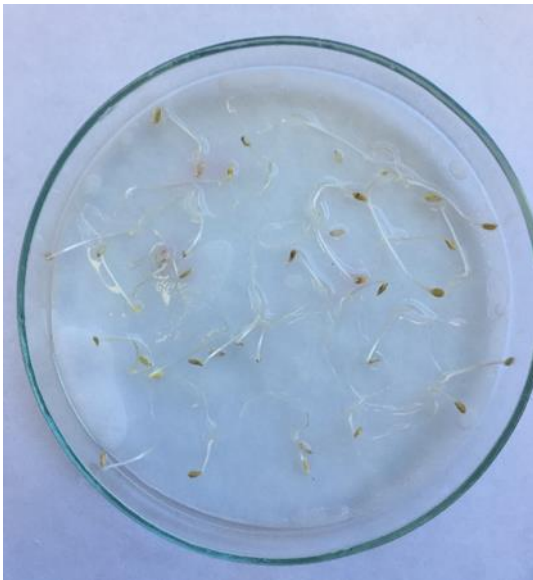
Obr. 30 Klíčení semen salátu v destilované vodě a 10% a 30% PEG



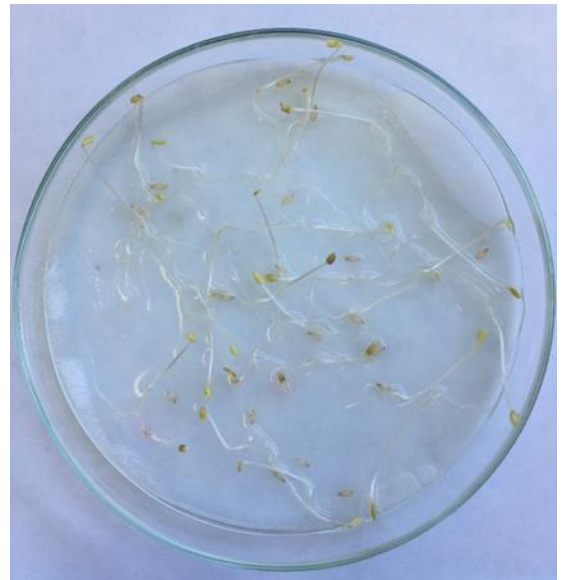
Obr. 31 Varianta 0,091 g·l⁻¹



Obr. 32 Varianta 0,14 g·l⁻¹



Obr. 33 Varianta 0,7 g·l⁻¹



Obr. 34 Varianta 1,12 g·l⁻¹