

**Česká zemědělská univerzita v Praze**

**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů**

**Katedra botaniky a fyziologie rostlin**



**Fakulta agrobiologie,  
potravinových a přírodních zdrojů**

**Využití aplikace stimulačních a antistresových látek  
u rostlin pěstovaných v podmínkách abiotických stresů**

**Diplomová práce**

**Autor práce: Bc. Silvie Pavlová**

**Obor: Pěstování rostlin**

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

© 2023 ČZU v Praze



## **Čestné prohlášení**

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Využití aplikace stimulačních a antistresových látek u rostlin pěstovaných v podmínkách abiotických stresů" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucí 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 neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 14. dubna 2023

---

## **Poděkování**

Ráda bych touto cestou poděkovala Ing. Heleně Hniličkové, Ph.D. za veškerou pomoc, trpělivost a vlídný přístup při zpracování této diplomové práce. Za podporu a důvěru bych také ráda poděkovala i svým nejbližším.

# Využití aplikace stimulačních a antistresových látek u rostlin pěstovaných v podmínkách abiotických stresů

## Souhrn

Abiotické a biotické stresové faktory ovlivňují veškeré fyziologické a biochemické funkce rostlin. Sucho patří mezi jeden z hlavních stresorů, který má významný vliv na klíčení a rané fáze vývoje zemědělských plodin. Cílem této diplomové práce bylo vyhodnocení vlivu melatoninu na klíčení semen pšenice seté (*Triticum aestivum*), která byla vystavena vodnímu deficitu.

Experimentální část probíhala na Katedře botaniky a fyziologie rostlin FAPPZ ČZU v Praze. Pokus byl rozdělen na šest variant, ke každé z nich bylo přiřazeno pět Petriho misek s 20 semeny. Varianty A (kontrola) a B nebyly ošetřeny melatoninem, pouze varianta B byla vystavena vodnímu deficitu. Semena byla ošetřena různými koncentracemi melatoninu – 0,1 M (varianta C), 1 mM (D), 0,1 mM (E) a 1  $\mu$ M (F). Vodní deficit byl nastolen pomocí 15% polyethylenglykolu (PEG). Klíčení probíhalo v Petriho miskách po dobu 72 hodin při optimálních podmínkách v klíčidle. Tímto pokusem byly sledovány hodnoty: množství vyklíčených semen, růstové parametry vyklíčených semen (koleoptile a kořínky) a průměrné hmotnosti čerstvé hmoty klíčících rostlin a sušiny.

Ze získaných výsledků vyplývá, že klíčení semen bylo výrazně ovlivněno vodním deficitem. Nejlepší výsledky sledovaných parametrů byly zaznamenány u varianty D, která byla ošetřena 1 mM melatoninu, avšak výsledky nebyly dostatečně průkazné o výrazném pozitivním účinku melatoninu na klíčení semen pšenice.

**Klíčová slova:** melatonin, pšenice, vodní stres, klíčení, růst

# The use of application of stimulating and anti-stress substances in plants grown under abiotic stress conditions

## Summary

Abiotic and biotic stress factors affect all physiological and biochemical functions of plants. Drought is one of the major stressors that has a significant effect on germination and early stages of crop development. The aim of this thesis was to evaluate the effect of melatonin on seed germination of wheat (*Triticum aestivum*) seeds exposed to water deficit.

The experimental part of this study was carried out at the Department of Botany and Plant Physiology, FAPPZ ČZU in Prague. The experiment was divided into six variants and five Petri dishes with 20 seeds were assigned to each treatment. Variants A (control) and B were not treated with melatonin, only variant B was exposed to water deficit. Seeds were treated with different concentrations of melatonin – 0,1 M (variant C), 1 mM (D), 0,1 mM (E) and 1  $\mu$ M (F). Water deficit was established by using 15% polyethylene glycol (PEG). Germination was carried out in Petri dishes for 72 hours at optimal conditions in the germination chamber. The following values were monitored in this experiment: quantity of germinated seeds, growth parameters of germinated seeds (coleoptiles and radicles), the average fresh weight of germinated plants, and dry weight.

The results obtained showed that seed germination was affected significantly by the water deficit. The best results for the parameters studied were recorded for variant D, which was treated with 1 mM melatonin, however the results were inconclusive in determining the significant positive effect of melatonin on wheat seed germination.

**Keywords:** melatonin, wheat, water stress, germination, grow

# Obsah

<b>1 Úvod</b> .....	<b>8</b>
<b>2 Vědecká hypotéza a cíle práce</b> .....	<b>9</b>
<b>3 Literární rešerše</b> .....	<b>10</b>
<b>3.1 Abiotické a biotické stresové faktory</b> .....	<b>10</b>
3.1.1 Abiotické faktory .....	10
3.1.2 Biotické faktory .....	11
3.1.3 Ovlivnění a reakce rostlin .....	11
3.1.4 Reakce a přizpůsobení rostlin ke stresovému faktoru sucha .....	12
<b>3.2 Řešení problému</b> .....	<b>13</b>
3.2.1 Diverzifikace.....	14
3.2.2 Agrotechnika.....	15
3.2.3 „Priming“ .....	18
<b>3.3 Melatonin</b> .....	<b>19</b>
3.3.1 Vývoj poznatku o melatoninu.....	21
3.3.2 Biosyntéza melatoninu.....	22
3.3.3 Distribuce melatoninu v rostlinách .....	24
3.3.4 Role melatoninu v rostlinách .....	25
<b>4 Metodika</b> .....	<b>28</b>
<b>4.1 Ošetření osiva</b> .....	<b>28</b>
<b>4.2 Charakteristika pokusu</b> .....	<b>28</b>
<b>4.3 Zpracování výsledků</b> .....	<b>28</b>
<b>5 Výsledky</b> .....	<b>30</b>
<b>5.1 Vliv koncentrací melatoninu na klíčení pšenice seté</b> .....	<b>30</b>
5.1.1 Nadzemní část – délka koleoptile .....	31
5.1.2 Podzemní část – délka kořínku .....	32
5.1.3 Čerstvá hmotnost (FW) klíčících rostlin – koleoptile.....	34
5.1.4 Čerstvá hmotnost (FW) klíčících rostlin – kořínky .....	35
5.1.5 Hmotnost sušiny (DW) klíčících rostlin – koleoptile .....	36
5.1.6 Hmotnost sušiny (DW) klíčících rostlin – kořínky .....	37
<b>6 Diskuze</b> .....	<b>38</b>
<b>6.1 Pšenice setá klíčící v podmínkách vodního deficitu</b> .....	<b>39</b>
<b>7 Závěr</b> .....	<b>41</b>
<b>8 Literatura</b> .....	<b>42</b>

# 1 Úvod

Klimatické změny a zemědělství jsou vzájemně propojené procesy, které probíhají v globálním měřítku. Zemědělství je zvláště senzitivní na časté střídání klimatických podmínek. Působení abiotických a biotických stresových faktorů má za následek nižší produkci plodin. Vyšší teploty budou mít tendenci snižování výnosů zemědělských rostlin, a následně tak i šíření plevelů a škůdců. Změny ve vzorcích srážek zvyšují pravděpodobnost krátkodobé neúrody a dlouhodobých výpadků produkce. Přestože v některých oblastech světa dochází ke zvýšení výnosu některých plodin, je pravděpodobné, že celkové dopady klimatických změn na zemědělství budou negativní a mohou ohrožovat globální potravinovou bezpečnost. V rozvojových zemích způsobuje změna klimatu pokles výnosu nejdůležitějších plodin jako jsou rýže, pšenice a sója, následkem toho dochází i k navýšení jejich cen. Důsledky klimatu souvisí ve větším měřítku s proměnlivostí lokálních podmínek než s globálními změnami, proto je důležité, aby jakékoli hodnocení bylo provedeno individuálně s ohledem na přesnou oblast. Ne všechny dopady změn klimatu mají negativní účinek na rostliny, potenciálně příznivý efekt na výnos lze pozorovat u oxidu uhličitého na růst plodin a zvýšení jejich efektivity ve využívání vody (Gull et al. 2019).

Zemědělská produktivita je citlivá na dvě široké třídy vlivů vyvolaných klimatem, přímé a nepřímé. Přímé účinky jsou způsobené změnami teplot, srážkami a koncentrací CO<sub>2</sub> a nepřímé prostřednictvím změn půdní vlhkosti, distribuce a frekvence zamoření škůdci a nemocemi. Hlavní přímý vliv má teplota na dobu trvání růstového cyklu plodin. Zvýšení teplot má za následek zkrácení doby mezi setím a sklizní, což má nepříznivý dopad na produktivitu, z důvodu urychlení stárnutí rostlin. Plodiny mohou zaznamenávat nízce, či vysoce frekventované extrémní změny podnebí, jako jsou sucho, vysoké teploty, záplavy a ochlazení, během jedné vegetační sezóny. Tyto radikální změny nepřímo ovlivňují produktivitu plodin změnou dynamiky výskytu škůdců a chorob. Účinky patogenů nebo jiných organismů mohou stimulovat rezistenci a sensitivitu, s čímž souvisejí náklady na pěstovanou plodinu. Změny hladin CO<sub>2</sub>, ozonu a UV-B mají vliv na nemoci modifikací fyziologie hostitele a mechanismů rezistence, výkyvy teplot a srážek potom ovlivňují epidemiologii onemocnění. Nepříznivé klimatické podmínky působí také na půdu, ve které potlačují akumulaci uhlíku, který je významný pro růst a vývoj plodin, zadržování vody a živin a působí jako zdroj energie pro rozkladné procesy v půdě (Onyekachi et al. 2019).

Komplexní porozumění abiotickým a biotickým stresovým faktorům bude v nastávajících letech hrát klíčovou roli. Vyžadována je mnohostranná strategie praktikování šetrného agrotechnického zacházení, širší přijetí stávajících technologií a úsilí v jejich novém vývoji. Dalším faktorem je správné předvídaní a přizpůsobení zemědělství tak, aby udržitelným způsobem maximalizovalo produkci plodin.



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

Abiotické stresory jsou v současné době velmi aktuální téma. Stresy ovlivňují růstové procesy a v konečném důsledku snižují hospodářský výnos. Možnost ovlivnění dopadů vodního stresu aplikací účinných látek se jeví jako jedna z vhodných alternativ napomáhající optimalizaci fyziologických a metabolických procesů během stresu. Jednou z látek s již prokázanými pozitivními účinky na rostliny v průběhu vodního stresu je melatonin. Cílem práce je vyhodnotit vliv předseťové aplikace melatoninu na základní fyziologické procesy u rostlin pšenice pěstované v podmínkách vodního deficitu.

Hypotézami experimentu jsou: 1) Vodní deficit ovlivňuje klíčení semen a růst v raných fázích vývoje; 2) Předseťová aplikace melatoninu ovlivní klíčení a růst; 3) Melatonin má stimulační účinky v podmínkách vodního stresu.

## 3 Literární rešerše

### 3.1 Abiotické a biotické stresové faktory

Rostliny jsou v jejich přirozeném prostředí výskytu vystaveny široké škále stresových faktorů, které lze primárně dělit na abiotické a biotické stesy. Abiotické stesy způsobují neživé faktory, jako jsou salinita, teplota, sucho, povětrnostní podmínky, nebo nadměrné množství těžkých kovů v půdě. Biotické stesy naopak zapříčiňují živé organismy, jimiž mohou být bakterie, houby, hlístice, hmyz a viry (Prasad et al. 2021).

Plodiny jsou vystavovány globálnímu oteplování a potenciálním klimatickým abnormalitám s ním spojeným. Tyto změny vážně ovlivňují růst a výnos rostlin (Ramegowda & Senthil-Kumar 2015; Pandey et al. 2017). Konkrétně zemědělské plodiny jsou ve většině případů ovlivňovány kombinací abiotických a biotických faktorů, což každý rok vede globálně až k milionovým ztrátám na výnosech (McKenna et al. 2020; Prasad et al. 2021). Pro rostliny je velmi fyziologicky nákladná adaptace těmto měnícím se podmínkám prostředí, což má za následek sníženou dostupnost zdrojů pro produkci biomasy, semen, a tím i výnos. Navíc kombinace, nebo změna různých abiotických a biotických stresových faktorů může způsobit schopnost reakce rostlin k adaptaci vůči jednomu ze stresů, ale může i zvýšit náchylnost k ostatním stresům. Velmi klíčová a vysoce produktivní role je tedy kladena na základní vědy při identifikaci metabolických změn, signální dráhy stresu, metabolitů a genů kontrolujících toleranční reakce na stres a na inženýrství a šlechtění účinnějších a lépe adaptovaných kultivarů plodin (Dresselhaus & Hüchelhoven 2018).

#### 3.1.1 Abiotické faktory

Abiotické stresové faktory ovlivňují produktivitu plodin po celém světě. Neživé stresové faktory jsou vzájemně propojeny a jsou vyskytovány ve formách osmotického stresu, poruchy distribuce iontů a homeostázy rostlinných buněk. Rychlost růstu a produktivita je ovlivněna reakcí způsobenou skupinou genů a změnou jejich expresních vzorců. Identifikace senzitivních genů proti abiotickým stresům je tedy nezbytná pro pochopení mechanismů reakce na neživé stresové faktory v plodinách. Zemědělskou produktivitu ohrožují různé stresové faktory, velmi často spojené s globálním oteplováním. Množství srážek bylo významně navýšeno v chladném období, zatímco léta bývají mnohem sušší a počet dní s teplotami nad 30 C° byl zdvojnásoben (Gull et al. 2019). Účinky změny klimatu na obecné životní prostředí byly v průběhu let velmi významné, zejména u zemědělských plodin pěstovaných v těchto prostředích. Změna klimatu zvyšuje přítomnost CO<sub>2</sub> ve vzduchu a také teplotu prostředí. Boj proti abiotickým stresovým faktorům je však složitý z důvodu jejich vzájemné propojenosti (Onyekachi et al. 2019).

Podmínky abiotického stresu, jako jsou sucho, vysoká nebo nízká teplota a salinita, mají vliv na výskyt a šíření patogenů, hmyzu a plevelů (Ziska et al. 2010; Peters et al. 2014). Tyto stresové podmínky také přímo ovlivňují interakce rostlina-škůdce tím, že mění fyziologii rostlin a jejich obranné reakce (Scherm & Coakley 2003).

Kromě toho abiotické stresové faktory, konkrétně sucho, zvyšují konkurenční schopnost plevelů vůči zemědělským plodinám, z důvodu vyšší účinnosti využití vody v půdě (Valerio et al. 2013; Pandey et al. 2017). Tolerance rostlin vůči suchu lze dosáhnout výrobou rostlin se zlepšenou účinností využití vody (WUE). Rostliny s C3 fotosyntézou, jsou schopny mírně zvýšit WUE omezením transpirace, ale to má také za následek sníženou absorpci CO<sub>2</sub> a tím negativně ovlivňuje fotosyntézu, růst a výnos, řešením by tak mohly být C4 rostliny (Dresselhaus & Hückelhoven 2018).

### 3.1.2 Biotické faktory

Biotický stres je způsoben živými organismy, zejména viry, bakteriemi, houbami, háďátky, hmyzem, pavoukovci a plevely. Rostliny, na která biotický stres působí vykazují závažné ztráty před i po sklizni. Navzdory nedostatečnému adaptivnímu imunitnímu systému mohou rostliny čelit živým stresovým faktorům vyvinutím sofistikovaných strategií. Obranné mechanismy, které působí proti těmto stresorům jsou řízeny geneticky. Činitelé biotického stresu způsobují různé typy chorob, infekcí a poškození plodin a v konečném důsledku ovlivňují i produktivitu plodin. Výzkumnými přístupy k překonání biotických stresů však byly vyvinuty různé mechanismy. Biotické stresy v rostlinách lze překonat genetickým studiem působení těchto činitelů, kteří způsobují tyto stresy (Gull et al. 2019).

Mikrobiota mohou být pro zdraví rostlin prospěšná, škodlivá nebo neutrální a jejich funkce je měněna v závislosti na enviromentálních faktorech. Interakce rostlin s mikroby, nebo molekulárními vzory s nimi související může také vyvolat rezistenci vůči sekundárním infekcím patogeny. To zahrnuje produkci a systémovou signalizaci komplexu nízkomolekulárních rostlinných metabolitů, které jsou dobře popsány pro dvouděložné rostliny, ale špatně srozumitelné pro jednoděložné rostliny, jako jsou obilniny (Dresselhaus & Hückelhoven 2018).

### 3.1.3 Ovlivnění a reakce rostlin

Abiotické a biotické stresové faktory mohou ovlivňovat veškeré fyziologické a biochemické funkce rostlin. Molekulární mechanismy, které jsou základem tolerance stresu u rostlin, fungují na bázi aktivace genů reagujících na určitý stresový faktor (Prasad et al. 2021).

Prvořadým požadavkem pro spuštění obranného mechanismu proti abiotickým stresům, je jejich vnímání. V případě sucha a salinity je v rostlině vyvoláván hyperosmotický stres, podobně je omezována i fluidita buněčné membrány při působení nízkých a vysokých teplot. Percepce těchto nepříznivých podmínek je zprostředkována Ca<sup>2+</sup> kanály. K přenosu signálu dochází pomocí Ca<sup>2+</sup>, reaktivní formy kyslíku (ROS), oxidu dusnatého (NO), nebo fosfolipidů a má za následek aktivaci mechanismů odezvy, které poskytují nezbytnou reakci pro překonání nepříznivých podmínek. Signální mechanismy a konečné reakce na biotický a abiotický stres jsou rozlišovány v závislosti na zapojených proteinech a biomolekulách (Prasad et al. 2021).

Změna klimatu značně ovlivnila produktivitu plodin v aridních a semiaridních oblastech. Abiotický stresový faktor, jako je sucho, může vést k hlubokým negativním účinkům na plodiny a jejich základní fyziologické funkce. Klimatické změny a následný stres ze sucha mohou vyvolat oxidační stres, který nastává při nadměrné produkci aktivovaného atmosférického kyslíku. ROS mají rušivé účinky na buněčnou strukturu. Generování ROS může způsobit deformaci buněk, včetně oxidačního poškození a peroxidace lipidů. Produkce a vychytávání ROS v buňkách může být vyvážena funkcí antioxidantů. Odstranění nadměrného ROS několika antioxidantními systémy má důležitou roli při získávání tolerance u rostlin, pomáhá tak i zachovat biochemický stav buněk v intervalu sucha. Během procesu adaptace může dojít ke zvýšení hladiny aminokyselin, společně s organickými kyselinami, amonnými sloučeninami a sacharidy, které jsou považovány za cytoplazmatické soluty. Tyto soluty hrají důležitou roli při osmotických úpravách, redoxních rovnováhách a vychytávání ROS v průběhu působení stresových faktorů (Arnao & Hernández-Ruiz 2015).

### **3.1.4 Reakce a přizpůsobení rostlin ke stresovému faktoru sucha**

Environmentální stres má mnohonásobný vliv na růst rostlin. Stresové faktory často způsobují vážné škody během produkce rostlinné biomasy. Rostliny proto musí rozpoznat a reagovat na nepříznivé podmínky různými biologickými signály, ve vhodnou dobu a za určité rychlosti, pro jejich přežití (Takahashi & Shinozaki 2019). Vyšší rostliny dosahují sofistikovaných reakcí a adaptací na abiotické stresy, včetně sucha, aby si udržely optimální růst ve stresových podmínkách. Pro tyto komplexní fyziologické reakce je zapotřebí celá řada buněčných a molekulárních regulačních mechanismů. Při krátkodobých reakcích je žádoucí zabránit ztrátě vody transpirací z ochranných buněk a zajistit tak dlouhodobou adaptaci k získání trvalé odolnosti vůči stresovým faktorům. Odpovědi rostlin na stres ze sucha jsou složité regulační mechanismy, zahrnují různé fyziologické reakce od vnímání signálu, až po získání rezistence na úrovni celé rostliny. Rostliny nejprve rozpoznají podmínky nedostatku vody v kořenech a několik molekulárních signálů je poté přesunuto do výhonků (Takahashi et al. 2020).

Jedním z nejdůležitějších rostlinných fytohormonů je kyselina abscisová (ABA), která zprostředkovává stresové reakce na sucho tím, že reguluje uzávěr stomatu a genovou expresi při reakci na stresový faktor (Cutler et al. 2010). Téměř všechny enzymy biosyntézy ABA a několik transportérů jsou exprimovány ve vaskulárních tkáních, kde také dochází k nejvyšší akumulaci ABA (Kuromori et al. 2018). Rostliny při stresu ze sucha vhodně rozpoznávají změnu podmínek při nedostatku vody v půdě a přenášejí tento signál z kořenů do listů, s možností přizpůsobení se podmínkám stresu ze sucha prostřednictvím akumulace ABA (Nakashima et al. 2014). Na rozdíl od zvířat, rostliny nemají centrální nervový systém, ale jejich cévní uspořádání propojuje kořeny s výhonky a hraje tak důležitou roli při integraci informací z podzemních a nadzemních částí rostlin (Kudla et al. 2018).

Klesající stav vodního potenciálu je jedním z počátečních faktorů, díky kterému jsou rostliny schopny rozpoznat dehydratační stres (Christmann et al. 2013). Rostliny vnímají stav nedostatku vody ve svých kořenech, ze kterých integrují informace mezi vzdálené orgány. Signál hydraulické změny je přenášen přes vaskulaturu rychlostí 1 m/min.

Rostliny regulují průduchové kanálky prostřednictvím různých signálů, které jsou generovány v různém čase, při dlouhodobém působení dehydratačního stresu (Takahashi et al. 2020).

Během stresových reakcí jsou v rostlinách akumulovány rozpustné sacharidy a další nabité metabolity, jako prolin a glycin-betain, které fungují jako kompatibilní soluty během stresových reakcí. Stresem vyvolaná akumulace těchto metabolitů snižuje vodní potenciál buňky a podporuje zadržování vody v rostlině, aniž by byl narušen normální metabolismus. Tento proces, známý jako osmotické přizpůsobení, umožňuje udržení buněčného turgoru pro růst a přežití rostlin ve stresových podmínkách (Krasensky & Jonak 2012). Kromě toho tyto kompatibilní soluty stabilizují proteiny a buněčné struktury, zvláště pokud je osmotický stres závažný, nebo přetrvává po delší dobu (Hoekstra et al. 2001). Tyto metabolity také působí jako lapače volných radikálů, chrání před oxidací odstraněním přebytečných ROS a obnovují buněčnou redoxní rovnováhu (Couee et al. 2006; Miller et al. 2010). Obranné funkce mají také některé sekundární metabolity, například flavonoidy. Hlavní flavonoidy, jako jsou flavonoly (kemferoly a kvercetiny) a antokyany (kyanidy), jsou produkovány ve vyšším množství v reakci na stres ze sucha, díky čemuž je zvýšena i rostlinná tolerance (Takahashi et al. 2020).

### 3.2 Řešení problému

Rostliny jsou neustále vystavovány mnoha abiotickým, nebo biotickým stresorům, což vede ke zpomalování růstu a vývoje, a následně tak i ke ztrátě produktivity a kvality plodin. Příklady takových stresových faktorů zahrnují, jak abiotické faktory, jako jsou sucho, slanost a vysoké teploty, tak i biotické stresory, mezi které patří i napadení houbovými patogeny a hmyzem. Závažnost účinku takových stresorů může být jasně potvrzena mnohamiliardovými ztrátami ve výnosech (FAO 2017).

Globální zemědělství prochází fází agroekologického přechodu, který bude charakterizován přijetím nových a více agroekologických pěstebních postupů, vhodných pro větší obdělávané plochy. Mezi významné faktory můžeme řadit, zvýšenou diverzitu pěstovaných druhů (meziplodiny, krycí plodiny, směsi kultivarů), rozmanitost postupů v hospodaření a obdělávání půdy. V současnosti je stále více uplatňováno zjednodušení postupů obdělávání půdy s využitím udržitelného zemědělství, které představuje soubor tří principů hospodaření s plodinami: minimální narušení půdy (včetně vynechání obdělávání), střídání plodin a udržování půdního pokryvu (FAO 2011). Kromě toho je v budoucnu možné očekávat, že ekologické zemědělství bude nabývat na významu, vzhledem k rostoucímu povědomí široké veřejnosti o výhodách, jak pro lidské zdraví, tak i pro životní prostředí. (Lamichhane et al. 2018). Narůstající omezení používání konvenčních pesticidů v zemědělství v důsledku vyvíjející se legislativy je dalším naléhavým problémem. Restrikce některých chemických ošetření osiva budou mít nepříznivý ekonomický dopad, alespoň v krátkodobém horizontu, zejména pokud budou zakázány nebo omezeny některé insekticidy (Kathage et al. 2018).

### 3.2.1 Diverzifikace

Diverzifikace plodin, pomocí výsadby více druhů současně (meziplodiny), může být důležitou složkou udržitelného zemědělství, která pomáhá zmírnit akumulaci některých patogenů a redukovat následky působení abiotických změn, které jsou předpokládány u víceletých plodin (Ryan et al. 2018). Diverzifikované výsadby smíšených druhů mají obvykle vyšší výnos než monokultury, proto tak meziplodiny mohou navýšit celkovou produktivitu zemědělství (Isbell et al. 2017). Různé plodiny mohou mít odlišné růstové vzorce nad i pod povrchem půdy, aby bylo optimalizováno získávání zdrojů (tj. světla, živin a vody), dochází tak ke snížení konkurenceschopnosti a zvýšení čistého využití zdrojů ve srovnání s monokulturami výsadbami. Například různá období aktivity v meziplodinách pšenice a kukuřice mohou vést k nadměrnému výnosu (Zhu et al. 2016). Tento typ založený na snížené konkurenci zdrojů závisí na jejich dostupnosti, ale není vždy konzistentní. Zvýšení dostupnosti zdrojů může například zvýšit, nebo snížit nadměrnou výtěžnost. Kromě toho druh plodiny, funkční skupina a fylogenetická vzdálenost mohou být všechno důležité faktory pro minimalizaci konkurence zdrojů. Tyto faktory tak mohou usnadnit a pomoci vytvořit kompatibilní směsi plodin (McKenna et al. 2020).

Nadměrnou výnosnost, díky diverzifikaci plodin, může také zprostředkovat interakce s půdním společenstvím (Wang et al. 2019). Nejčastějším příkladem interakce rostliny a půdního organismu je symbióza s bakteriemi z rodu *Rhizobium*. Rostlinám z čeledi bobovitých tato symbióza umožňuje přístup k atmosférickému dusíku, který poté zůstává v posklizňových zbytcích pro následující plodinu. Půdní patogeny by také mohly zprostředkovat vysokou úrodu, protože při nadměrné akumulaci druhově škodlivých patogenů je pravděpodobné snížení výnosu v monokulturách výsadbách. Náhradní výsadba jiné plodiny snižuje hustotu hostitele ve směsi, což má za následek snížení abundance patogenů a snížení tohoto škodlivého účinku (Bever et al. 2015).

Diverzifikované střídání plodin představuje jednu z nejdůležitějších agronomických hnacích sil zdraví plodin tím, že omezuje negativní vlivy způsobené biotickými a abiotickými faktory. Působení biotického stresu lze účinně zvládat pouze tehdy, je-li střídání plodin spojeno s konkrétními agronomickými postupy, jako je orba, nebo ve spojení s výsadbou krycích plodin (Larkin et al. 2010). Typy druhů plodin jsou strategickou volbou pro schéma střídání, vzhledem k tomu, že stejná choroba způsobená půdními patogeny může být více či méně závažná, v závislosti na typu následujících druhů plodin začleněných do schématu střídání. Například zavádění druhů *Brassica* do osevních postupů může často snížit půdní škůdce, zvláště když jsou do půdy zapraveny posklizňové zbytky (Fang et al. 2016). Délka střídání plodin je dalším důležitým faktorem ovlivňujícím patogenní potenciál půdních patogenů. Krátkodobé střídání může posílit některá onemocnění způsobená půdními patogeny (Larkin et al. 2010). Střídání plodin bude pravděpodobně nejúčinnější pro zvládnutí onemocnění způsobených specializovanými patogeny charakterizovanými úzkým rozsahem hostitelů (např. *Aphanomyces* sp. nebo některé druhy *Phytophthora*). Na rozdíl od toho je tato praxe nejméně účinná pro zvládnutí onemocnění způsobených obecnými patogeny, kteří mají široký rozsah hostitelů (např. *Pythium* sp., *Rhizoctonia solani*) (Lamichhane et al. 2018).

### 3.2.2 Agrotechnika

Klíčení semen a vzcházení sazenic jsou nejdůležitější a nejzranitelnější fáze cyklu plodin. Špatná kvalita osiva a podmínky setí mají přímý i nepřímý dopad na zakládání plodin, zdraví plodin a v konečném důsledku i na výnos. Špatné vzcházení sazenic je promítáno do potřeby opětovného výsevu s dalšími náklady. Klíčící semena a vzcházející sazenice jsou citlivé na řadu omezujících a redukčních faktorů bránících klíčení nebo vzcházení. Díky tomu je přechod ze semene na sazenici jednou z nejkritičtějších fází životního cyklu plodiny (Lamichhane et al. 2018).

Rozhodovací proces zemědělce o opětovném setí je u stejné plodiny rozlišován v prostoru a čase, v závislosti na několika faktorech. Praktičnost přístupu na pole (např. mokrá půda neumožňuje rychlé opětovné setí), ekonomické důvody (rozdíl mezi ziskem a náklady s a bez opětovného setí), schopnost dané plodiny kompenzovat nižší hustotu porostu (např. kapacita odnože, nedostatečný vzrůst), dostupnost pracovní doby (pro rychlý zásah) a zdrojů (např. dostupnost osiva, secí stroj). To jsou klíčové faktory ovlivňující rozhodovací proces ve vztahu k tomu, zda znovu zasít či nikoli. Řada komponentů osevního systému, včetně zpracování půdy, data setí a hustoty, hloubky setí, hospodaření s rostlinnými zbytky a pořadí osevů, působí na životní prostředí. Způsoby zpracování půdy mohou výrazně ovlivnit půdní prostředí klíčení semen vyvoláním změn teploty a vlhkosti ornice, kontaktu osiva s půdou a množství rostlinných zbytků (Lamichhane et al. 2018).

Extrémní klimatické jevy v důsledku klimatických změn jsou důvodem mnoha neočekávaných a častěji opakujících se biotických a abiotických stresových situací (Bebber et al. 2014; Trenberth et al. 2014). Manipulace s termíny setí však může být důležitou adaptační strategií na změnu klimatu a je jednou z možných strategií v agroekologických systémech pěstování rostlin, pro únik, nebo zmírnění biotických a abiotických stresů. Sieling et al. (2017) prokázali, že i mírná změna termínu setí může zajistit únik před letním suchem, zejména v oblastech s omezenou dostupností vody. Podobně může posunutí, nebo oddálení termínu setí desynchronizovat životní cyklus plodiny od životního cyklu škůdců a chorob. Ne vždy je možné zprostředkovat ochranu před biotickými stresovými faktory manipulací s termínem setí, zejména při vysokém inokulačním tlaku (Hwang et al. 2015). Navíc v praxi existují další omezení, kterým zemědělec čelí při změně termínu setí. U jarních plodin není vždy možný dřívější výsev, protože přístup na pole může být omezen v důsledku vlhkých půdních podmínek. Rané operace s půdou a setí v chladnějších teplotách mohou skutečně podpořit zhutnění půdy a snížit kvalitu seťového lůžka s negativními dopady na růst a vývoj rostlin. Jakýkoli termín setí je citlivý na regionální klimatické charakteristiky (Constantin et al. 2015; Myoung et al. 2016). Proto je důležité systematicky zkoumat vliv daného data setí na vzcházení a klíčení rostlin. Zakládání krycí plodiny je ovlivněno interakcí mezi počasím a podmínkami půdního seťového lůžka (Constantin et al. 2015).

Rozhodnutí ohledně hustoty setí mohou mít zásadní dopad na jednotnost zakládání porostů plodin a tím i na konkurenci mezi kulturními rostlinami a plevely (Olsen & Weiner 2007; Marin & Weiner 2014). To platí zejména tehdy, vezmeme-li v úvahu agroekologické pěstební systémy, ve kterých může existovat několik omezení, včetně jakékoli potřeby výsevu během léta za sucha (např. krycí plodiny) nebo časného jarního setí (např. vyšší riziko mrazu nebo chladnější půdní podmínky).

Hustota výsevu také ovlivňuje vzházení a klíčení, zejména stanovením rychlosti množení a postupu chorob. Při vysoké hustotě sazenic je šíření chorob mezi hostitelskými rostlinami mnohem snazší, protože menší vzdálenost mezi sousedními rostlinami zvyšuje pravděpodobnost úspěšného přenosu choroby (Yamazaki et al. 2009). Proto by měla být pro danou plodinu stanovena optimální hustota setí s ohledem na klíčové faktory ovlivňující vzházení a růst rostlin (Lamichhane et al. 2017).

Při hustotě setí je zapotřebí brát v úvahu její schopnost plodiny kompenzovat nízké hustoty rostlin během růstového cyklu. Například pšenice je vyznačována odnožováním, mechanismem, který rostlina používá k přizpůsobení svého vývoje dané pedoklimatické situaci (Olsen & Weiner 2007). Stejně tak větvení květů u moderní jarní řepky kompenzuje nízkou hustotu rostlin (Rondanini et al. 2017). Výnosy jiných druhů plodin však mohou trpět nižší hustotou rostlin. Většina zemědělců, kteří pěstují polní plodiny bez chemického ošetření osiva, však upřednostňuje vyšší hustotu setí (až o 30 %), než je optimální doporučená, a to i u druhů, jako je pšenice. Vyšší hustota výsevu slouží jako pojistka pro kompenzaci jakéhokoli neočekávaného selhání vzházení rostlin. I když tato strategie může být užitečná v průběhu let a napříč klimatickými podmínkami vedoucími k vysokému selhání vzházení plodin, má také několik negativních důsledků pro zemědělce, mezi které patří, vyšší výrobní náklady v důsledku většího množství použitého osiva, problém při řízení zvýšené hustoty rostlin, pokud je procento vzházení vysoké. Je tedy nezbytné zahrnout i dodatečné náklady související s jakýmkoli požadovanými postupy probírky (Lamichhane et al. 2018).

Hloubka setí je jeden z dalších faktorů, který ovlivňuje vzházení semen plodin. Navzdory tomu není přímá korelace mezi hloubkou setí a rychlostí vzházení vždy univerzální. Vliv hloubky setí na vzházivost interaguje s dalšími faktory působícími v polních podmínkách, včetně klimatických podmínek v dané lokalitě, druhu půdy, nebo typu půdních patogenů. Pro přijatelnou úroveň usazení rostlin je potřeba specificky stanovit optimální hloubku setí, s ohledem na půdní a klimatické podmínky. Optimální hloubka setí pro daný druh plodiny stanovená konvenčním systémem nemusí být vhodná pro ekologický systém pěstování. Malá hloubka může být kontraproduktivní v systému bez orby, z důvodu predace ptactva. Akcelerace rychlosti vzházení semen je jednou z možností, jak minimalizovat ztráty snížením doby vystavení klíčících semen nepříznivým biotickým nebo abiotickým faktorům. Setí do větší hloubky pro dosažení adekvátní vlhkosti půdy je obecně běžnou praxí ke zmírnění vodního stresu v suchých klimatických oblastech. Optimální hloubka setí se proto může v agroekologických systémech pěstování lišit. To platí zejména v přítomnosti povrchových zbytků, které mohou snížit rychlost vypařování půdy a zároveň tvoří mechanickou bariéru pro vzházení sazenic (Schillinger et al. 2017).

Povrchové zbytky snižují průměrnou teplotu půdy a mohou tak oddálit vzházení jak plodin, tak plevelů. V rámci agroekologických pěstebních systémů je očekávané, že půda bude pokryta povrchovými zbytky, včetně podestýlky nebo mulče. Rozsah, v jakém mohou povrchové zbytky ovlivnit vzházení rostlin, může záviset na velikosti semen dané plodiny. Vyšší množství podestýlky může být zvláště škodlivé pro vzházení sazenic malosemenných druhů, velkosemenné druhy jsou tolerantnější (Zhang et al. 2017). Nadměrné množství povrchových zbytků představuje zejména mechanickou bariéru pro malosemenné druhy plodin s malým průměrem semenáčků a následně nižší silou vzházení.



Důležitým faktorem určujícím vzcházejivost je také poloha semene ve vztahu k povrchovému zbytku (Wuest et al. 2000). Povrchové zbytky mohou mít pozitivní nebo negativní dopad na zakládání plodin v závislosti na klimatických podmínkách. V chladnějších a vlhčích podmínkách může přítomnost povrchových zbytků snížit míru vzcházení a prodloužit dobu, po kterou jsou sazenice vystaveny půdním škůdcům a chorobám. Naproti tomu zbytky povrchového pokryvu mohou být prospěšné v teplejších oblastech, nebo tam, kde jsou dešťové jevy vzácnější, kvůli sníženému vypařování půdy, sníženým maximálním teplotám půdy a denním výkyvům teplot, což má společně pozitivní dopad na celkové vzcházení (Lamichhane et al. 2018).

Mnoho rostlinných druhů vykazuje reziduální alelopatii, která může nepříznivě ovlivnit vzcházení (Khaliq et al. 2013; Oliveira et al. 2016). Alelopatické účinky jsou důsledkem produkce a uvolňování biologicky aktivních sloučenin (např. fytotoxinů, zejména fenolů), které jsou buď aktivně uvolňovány rostlinami, nebo pasivně produkovány během procesu rozkladu jak nadzemních, tak podzemních rostlinných zbytků. Přítomnost reziduí na povrchu půdy může celkově vyvolat vývoj onemocnění, zvláště pokud tyto rezidua obsahují inokulum patogenů, nebo pokud je půda již zamořena patogeny (Dill-Macky & Jones 2000). To platí zejména pro půdní patogeny, protože přežívají v posklizňových zbytcích plodin z předchozího roku, což činí tyto choroby problematictějšími v podmínkách omezené, nebo žádné orební úpravy. Kromě toho, že poskytují substrát pro půdní patogeny, povrchové zbytky také snižují teplotu půdy a zvyšují půdní vlhkost, což vytváří ideální podmínky pro množení některých patogenů (např. druhy *Fusarium*). Zbytky plodin mohou také tvořit fyzickou bariéru pro dokončení životního cyklu určitých patogenů, jako je *Sclerotinia* spp., nebo zabránit šíření patogenů pohybem půdy zemědělskou technikou, vodou nebo větrem (Lamichhane et al. 2018).

### 3.2.3 „Priming“

Pro zvýšení odolnosti rostlin vůči stresu souvisejícímu se změnou klimatu, a tedy zvýšení hospodářského výnosu plodin, jsou využívány různé metodologie. Například konvenční šlechtění, které je časově náročné, nebo genetická modifikace rostlin, jsou v současnosti v mnoha zemích po celém světě, zejména v Evropě, nepřijatelné (Hu & Xiong 2014). Jako atraktivní alternativa je využíván priming, což je rychle se rozvíjející obor v oblasti fyziologie stresu rostlin a zvládnání stresu plodin (Mauch-Mani et al. 2017; Sako et al. 2020). Podněty od patogenů a škůdců, prospěšných mikroorganismů, přírodních a syntetických sloučenin, nanomateriálů a také přítomnost abiotických stresů na mírných úrovních indukují v rostlinách aktivaci specifického fyziologického stavu zvaného „priming“, který je vyznačován zvýšenou aktivací indukovaných obranných mechanismů (Alagna et al. 2020). Po vnímání podnětu mohou v rostlině nastat změny na fyziologické, transkripční, posttranslační, metabolické a epigenetické úrovni. Při následných stimulech rostlina efektivně nastartuje rychlejší a silnější obrannou reakci, která má za následek zvýšenou odolnost, nebo toleranci vůči stresu (Mauch-Mani et al. 2017). Dopady stresu na růst a výnos rostlin po aktivaci obranného mechanismu jsou výrazně sníženy ve srovnání s nepřimovanými rostlinami (González Guzmán et al. 2022).

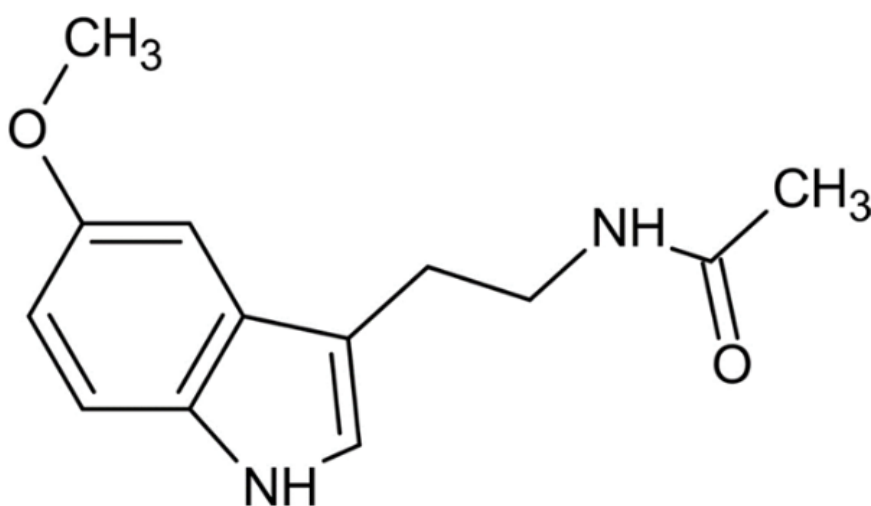
Priming lze aplikovat v různých vývojových fázích, tj. od semene (Paparella et al. 2015) až po dospělé generativní rostliny (Salethong et al. 2016). Dříve byla nejvíce využívána aplikace chemických činidel po vyklíčení semen a v pozdějších vývojových stádiích, avšak v nynější době je zájem směřován k aplikaci aktivačních činidel do fáze semen, tj. chemické aktivace semen, vykazuje totiž znamenité výhody. Ošetření semen před výsevem je v praxi snazší, ekonomicky efektivnější a čistší než ošetření v pozdějších vývojových stádiích. Aplikace primárního ošetření specificky na semena, v malých množstvích, pomáhá zabraňovat uvolňování chemikálií nebo mikroorganismů do životního prostředí. Znamená to tak nízké riziko toxické expozice pro operátory a zároveň má pozitivní dopad, který zlepšuje klíčení semen a usazování sazenic, i za nepříznivých podmínek prostředí (Johnson & Puthur 2021). Jiménez-Arias et al. (2015) ve své studii prokázali, že aktivace semen může být metodou zlepšení tolerance prostřednictvím otisku paměti, tj. změn v epigenomu, což naznačuje prodlouženou ochranu proti abiotickému stresu v pozdějších fázích vývoje. Základní nátěr semen lze navíc dále zlepšit použitím pokročilých nanomateriálů jako potahovacích činidel, které působí jako systémy nanonosičů nabízejících řízené uvolňování základního nátěru, zatímco nanoprímování semen nanočásticemi vykazovalo antimikrobiální působení (Ioannou et al. 2020). Příprava semen má velký potenciál jako zelená strategie pro zlepšení vlastností nedostatečně využívaných rostlin nebo zastaralých kultivarů široce rozšířených plodin. Ty jsou proječovány vynikajícími organoleptickými vlastnostmi, mají často nižší produktivitu, vykazují nízkou klíčivost semen a jsou více ohroženy působením nepříznivých podmínek prostředí (Tadele 2019; Guzmán et al. 2021).

### 3.3 Melatonin

Melatonin (N-acetyl-5-methoxytryptamin, Obrázek 1) je amfifilní, strukturně jednoduchá molekula, která může volně procházet buněčnými membránami s možností distribuce do jakéhokoli vodného kompartmentu včetně cytosolu, jádra a mitochondrií (Acuna-Castroviejo et al. 2003). Zprostředkování všech funkcí melatoninu není nezbytně závislé na membránových receptorech, což dokládá molekulová amfifilita (Romero et al. 2010).

Melatonin je molekula s nízkou molekulovou hmotností, která je přítomná v živých organismech a vykazuje pleiotropní biologické aktivity u druhů od bakterií po savce (Hardeland et al. 2011). Některé z těchto aktivit jsou zprostředkované receptory, prostřednictvím melatoninových membránových a jaderných receptorů (Dubocovich & Markowska 2005; Imbesi et al. 2009; Shiu et al. 2010). Další funkce jsou nezávislé na melatoninovém receptoru (Tan et al. 2002), ale spíše na interakcích melatoninu s reaktivními formami kyslíku (ROS) a interakcích zprostředkovaných jeho bioaktivními metabolity (Schaefer & Hardeland 2009).

V porovnání s hladinami melatoninu v tělesných tekutinách zvířat jsou koncentrace melatoninu v rostlinách výrazně vyšší, často až o několik řádů. Vysoké hladiny melatoninu v rostlinách mohou být vysvětleny absencí esenciálních aminokyselin, jako je například dostupnost tryptofanu. Nadměrné množství melatoninu v rostlinách je možné také interpretovat jako projev větší ochrany rostlin před nepříznivými podmínkami prostředí, jako jsou sucho, vysoké teploty, nebo patogeny. Zatímco zvířata mají možnost se aktivně vyhýbat nepříznivým podmínkám změnou chování, rostliny jsou omezené v používání takových strategií, jsou závislé na vnitřní obranyschopnosti. Vysoké hladiny melatoninu mohou být také prospěšné pro zvířata, včetně lidí, kteří je konzumují, protože melatonin jako oxidant má pozitivní účinky na zdraví (Tan et al. 2012).



Obrázek 1 Chemická struktura melatoninu (Mannino et al. 2021)

Melatonin účinně vychytává různé ROS a reaktivní druhy dusíku (RNS), chrání tak buňky, tkáně a organismy před oxidačním stresem který je následkem působení vnitřních nebo environmentálních nepříznivých faktorů (Kaur et al. 2010; Laothong et al. 2010; Nopparat et al. 2010). Vzhledem k tomu, že tvorba ROS/RNS a jejich metabolismus jsou základními mechanismy souvisejícími s buněčnou biologií a fyziopatologií u všech aerobních organismů, lze usuzovat, že původní funkcí melatoninu v organismech bylo sloužit jako antioxidant, přičemž ostatní funkce byly získány během evoluce. Receptorově závislé a receptorově nezávislé aktivity melatoninu lze připsat jeho vysoce pleiotropní povaze (Tan et al. 2012). Dalšími funkcemi melatoninu ve vývoji a růstu rostlin jsou, ochrana a klíčení semen, vývoj kořenů, zrání plodů a stárnutí (Liang et al. 2017). Melatonin funguje nezávisle na receptorech při odstraňování ROS (Slominski et al. 2012). Hlavní membránové melatoninové receptory u zvířat, MT1 a MT2, aktivují různé signální kaskády ke zlepšení nebo antagonizaci biologických účinků (Alkozi et al. 2017). Dosud byl identifikován pouze jeden fyto-melatoninový receptor (CAND2/PMTR1), který reguluje uzávěr stomatu prostřednictvím  $H_2O_2$  a  $Ca^{2+}$  signální transdukční kaskády. Kromě toho může fyto-melatonin interagovat s neznámými receptory s aktivními  $H_2O_2/NO$  signálními cestami a dále zlepšit toleranci vůči rostlinnému stresu aktivací antioxidantních enzymů, zmírněním inhibice fotosyntézy a modulací transkripčních faktorů. Transkripční faktory napomáhají při odolnosti vůči stresu, chelaci a podporují transport těžkých kovů nebo aktivaci dalších stresově relevantních hormonů, jako jsou kyselina salicylová, etylen a kyselina jasmonová (Zhao et al. 2019).

Pozoruhodně vysoké koncentrace melatoninu byly naměřeny v oblíbených nápojích (káva, čaj, víno a pivo) a plodinách (kukuřice, rýže, pšenice, ječmen a oves). Miliardy lidí po celém světě konzumují tyto produkty denně. Je tedy zapotřebí vzít v úvahu i příznivé účinky melatoninu na lidské zdraví vyplývající z konzumace těchto produktů. Melatonin má také schopnost zvýšit produkci plodin. Mechanismy mohou zahrnovat roli melatoninu při zachování chlorofylu, podpoře fotosyntézy a stimulaci vývoje kořenů. Transgenní rostliny se zvýšeným obsahem melatoninu by pravděpodobně mohly vést k průlomům ve zvýšení produkce plodin v zemědělství a ke zlepšení celkového zdraví lidí (Tan et al. 2012).

### 3.3.1 Vývoj poznatku o melatoninu

Melatonin byl původně identifikován a izolován v epifyze krav. Poté byl téměř čtyři desetiletí zobrazován výhradně jako živočišný hormon, konkrétně neurohormon. V tomto období až na několik výjimek probíhal veškerý výzkum související s melatoninem buď na zvířatech, nebo na tkáních a buňkách zvířat. Rozsáhlá distribuce melatoninu, zejména v primitivních bakteriích (cyanobakterie a  $\alpha$ -proteobakterie), ukazuje, že tato chemická látka je prastará molekula, která byla zachována během evoluce všech organismů. Je velmi pravděpodobné, že melatonin byl vyvinut v bakteriích procesem označovaným jako endosymbióza. S diverzifikací organismu byl melatonin univerzálně rozšířen do všech organismů a v souladu s tím se také rozcházely jeho funkce, biosyntetická dráha, generační místa a biosyntetická regulace (Zhao et al. 2019).

Na základě endosymbiotické teorie, kdy rané eukaryotické buňky (s jádry, ale bez mitochondrií) endocytovaly  $\alpha$ -proteobakterie nebo cyanobakterie, místo aby tyto bakterie trávily, eukaryotické buňky si s nimi vytvořily symbiotickou asociaci (Gentil et al. 2017). NAT (N-acetyltransferáza), enzym omezující rychlost syntézy melatoninu je hojně nacházen v mitochondriích zvířat a chloroplastech rostlin. Kromě toho jsou sekvence DNA a proteinové zbytky sinic, rostlinného typu, a rýže blízké příbuzné, což naznačuje, že rostlinný gen NAT byl pravděpodobně endosymbioticky odvozen od sinic. Geny NAT jiných eukaryotických organismů včetně hub, bezobratlých a obratlovců mají původ v *Rhodospirillum rubrum* (předpokládaný prekurzor mitochondrií) nebo blízké příbuzných druhů, protože jejich geny NAT sdílejí do určité míry podobnost. Analýza u rostlin subcelulární lokalizace prokázala, že enzym omezující rychlost syntézy melatoninu, NAT, je nacházen jak v chloroplastech, tak i v mitochondriích (Byeon et al. 2014). TPH (tryptofan hydroxyláza), ASMT (N-acetylserotonin O-methyltransferáza), COMT (catechol-O-metyltransferáza), TDC (tryptofan dekarboxyláza) a AADC (aromatická L-aminokyselinová dekarboxyláza) jsou nacházeny v cytoplasmě, zatímco T5H (tryptamin 5-hydroxyláza) je distribuována v endoplazmatickém retikulu (Park et al. 2008; Back et al. 2016; Byeon et al. 2016). Toto subcelulární umístění enzymů syntézy melatoninu naznačuje, že během evoluce byla syntéza melatoninu rozšířena do cytoplazmy a endoplazmatického retikula (Back et al. 2016).

V polovině až koncem 70. let 20. století byl melatonin odstraněn jako vedlejší produkt procesu dekofeinace kávových zrn. To byl pravděpodobně první náznak toho, že rostliny nebo rostlinné produkty obsahují melatonin. V důsledku procesu dekofeinace bylo předpokládáno, že melatonin byl výsledkem neočekávané chemické reakce (Tan et al. 2012). Dubbels et al. (1995) a Hattori et al. (1995) používaly různé metody extrakce a detekce a nezávisle uvedly, že melatonin je přítomen v mnoha rostlinách a rostlinných produktech. Zkoumané rostliny a rostlinné produkty zahrnovaly tabák, rýži, kukuřici, pšenici, nebo banány. Později v roce 1995 výzkumná skupina v České republice shrnula svá pozorování melatoninu ve vyšší rostlině *Chenopodium rubrum* na Světové konferenci o chronobiologii a chronoterapeutikách (Kolář et al. 1999; Tan et al. 2012).

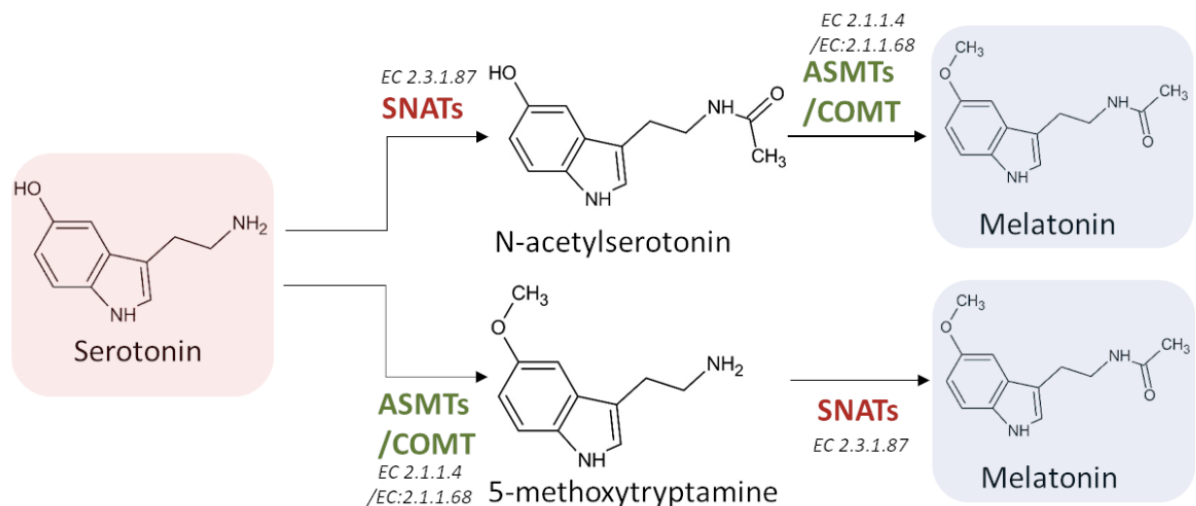
### 3.3.2 Biosyntéza melatoninu

Biosyntéza melatoninu začíná tryptofanem prostřednictvím čtyř po sobě jdoucích enzymatických reakcí, které zahrnují tryptofan dekarboxylázu (TDC), arylalkylamin N-acetyltransferázu (AANAT)/serotonin N-acetyltransferázu (SNAT), tryptamin 5-hydroxylázu (T5H), acetylserotonin O-methyltransferázu (ASMT)/ hydroxyindol-O-methyltransferázu (HIOMT) (Tan et al. 2016). Poté je melatonin přeměněn na 2-hydroxymelatonin melatonin 2-hydroxylázou (M2H) (Byeon et al. 2015). Tryptofan je výchozí molekula pro produkci melatoninu v buněčných druzích. Pořadí enzymatických kroků, které přeměňují tryptofan na melatonin, není mezi druhy vždy stejné. Tyto kroky zahrnují hydroxylaci, dekarboxylaci, acetylaci a metylaci. U některých rostlinných druhů nemusí být melatonin konečným produktem, v alespoň jedné odrůdě rýže může být melatonin hydroxylován buď v poloze 2, 4 nebo 6, přičemž 2-hydroxymelatonin má významnou antioxidační aktivitu, jako je samotný melatonin. Zatímco syntetická dráha melatoninu se v průběhu evoluce měnila a je odlišná mezi rostlinnými a živočišnými druhy, struktura melatoninu přetrvává tak, jak byla původně navržena u bakterií před miliardami let (Zhao et al. 2019).



Obrázek 2 Tvorba esenciálního meziprojektu serotoninu (Mannino et al. 2021)

Prvním krokem procesu biosyntézy melatoninu v rostlinách je produkce serotoninu z tryptofanu. Mohou být zapojeny dvě různé cesty (viz Obrázek 2). Na levé straně můžeme vidět hydroxylaci tryptofanu na 5-hydroxytryptofan pomocí TPH (tryptofan hydroxyláza), a poté dekarboxylaci 5-hydroxytryptofanu na serotonin pomocí TDC. Na druhé straně je vyobrazena druhá, častěji rostlinami využívaná cesta tvorby serotoninu, a to pomocí dekarboxylace tryptofanu na tryptamin pomocí TDC, a poté je tryptamin hydroxylován na serotonin pomocí T5H (Back et al. 2016).



Obrázek 3 Poslední dvě reakce vedoucí ke vzniku melatoninu (Mannino et al. 2021)

Syntéza melatoninu ze serotoninu je dvoustupňová reakce zahrnující tři různé enzymy (SNATs, ASMTs a COMT), které mohou mít různé izofomy. Enzym SNATs katalyzuje acetylaci, zatímco ASMTs a COMT jsou methyltransferázy (viz Obrázek 3) (Back et al. 2016).

Enzymy, které jsou součástí biosyntézy melatoninu z tryptofanu mají v rostlinných buňkách různé situování. TDC je lokalizována v cytoplazmě (Zhou et al. 2020), T5H v endoplazmatickém retikulu, SNAT v chloroplastech (Back 2021), zatímco ASMT a COMT jsou v cytoplazmě (Zhao et al. 2021). Ze čtyř možných syntetických drah mohou dvě probíhat v endoplazmatickém retikulu, kde probíhá syntéza serotoninu, a dvě v cytoplazmatickém prostředí. V cytoplazmě je serotonin rychle metabolizován na fenylpropanoidní amidy (feruloylserotonin, serotonin N-hydroxycinamoyl transferázou SHT a melatonin je dále přeměněn na cyklický 3-hydroxymelatonin (3-OHM) pomocí melatoninu 3-hydroxylázy (M3H), zatímco v chloroplastech může být melatonin metabolizován na 2-hydroxymelatonin (2-OHM) melatonin 2-hydroxylázou (M2H) (Byeon & Back 2015; Lee et al. 2016).

Výběr cesty pro biosyntézu melatoninu závisí na podmínkách růstu rostlin. Biosyntetická cesta postupuje od tryptofanu přes meziproducty tryptamin/serotonin/N-acetylserotonin až k tvorbě melatoninu za standardních podmínek. Během stárnutí nebo působení abiotických stresových faktorů mají rostliny tendenci akumulovat vysoké množství melatoninových meziproductů (tryptofan, tryptamin a serotonin), cesta tak postupuje od tryptofanu přes tryptamin/serotonin/5-MT až po tvorbu melatoninu. Serotonin je O-methylován na 5-MT pomocí COMT, a poté acylován SNAT (Back et al. 2016).

Je pravděpodobné, že neenzymatické procesy významně přispívají k degradaci melatoninu, zejména v místech, kde jsou rostliny vystaveny vysokým intenzitám světla a UV záření. Velkou část spotřebovaného melatoninu lze přičíst ochraně rostlinných tkání před UV zářením, detoxikaci ROS vznikajících při fotosyntéze a v důsledku různých stresorů, jako jsou nevhodné klimatické podmínky a látky znečišťující ovzduší nebo půdu (Tan et al. 2012).

### 3.3.3 Distribuce melatoninu v rostlinách

Ve srovnání s živočišnými buňkami obsahují rostlinné buňky mnohem vyšší hladiny melatoninu, pravděpodobně proto, že je produkován dvěma organelami, mitochondriemi a chloroplasty (Reiter et al. 2018). Některé druhy rostlin jsou schopny produkovat velké množství melatoninu, který je následně ukládán ve specializovaných tkáních nebo orgánech. Hladiny melatoninu kolísají od nedetekovatelných až po velmi vysoké koncentrace (Hardeland 2016). Přisedlá povaha rostlin vede k tomu, že jsou vystaveny nevyhnutelným environmentálním stresorům, které způsobují zvýšenou produkci ROS a oxidační poškození. Vyžadují tedy dodatečnou ochranu před stresory prostřednictvím vnitřních mechanismů, včetně vysokých hladin endogenně produkováných antioxidantů, jako je melatonin (Tan et al. 2012). Tato spekulace je podpořena pozorováním, že různé environmentální faktory vyvolávají dramatický nárůst hladin melatoninu nejen v rostlinách, ale i u zvířat (Zhao et al. 2019).

U rostlin existuje pozitivní korelace mezi intenzitou světla a hladinami melatoninu s rostlinami rostoucími na stanovištích vystavených vysoké intenzitě světla, jako je středomořské nebo vysokohorské prostředí. Koncentrace melatoninu jsou různé nejen mezi druhy rostlin, ale také mezi odrůdami stejného druhu, a ve značné míře závisí na růstovém stavu, umístění, specifickém rostlinném orgánu, načasování a sezóně (Hardeland et al. 2007). Melatonin je v rostlinách udržován za normálních podmínek na relativně konstantní úrovni, jeho produkce však může být značně a rychle navýšena v reakci na nepříznivé podmínky, jako jsou chlad, teplo, salinita, sucho, cykly světlo-tma, UV záření, oxidační nebo nutriční stres a bakteriální infekce (Shi et al. 2015; Zhang et al. 2015). Geny biosyntézy melatoninu mohou hrát roli na transkripční úrovni, při kontrolování obsahu melatoninu (Zhao et al. 2019).

Mannino et al. (2021) prováděli analýzu obsahu melatoninu u rostlinných druhů, kdy odhadovaný průměrný obsah byl 579,38–1513,28 ng/g, který naznačuje vysokou variabilitu. Aromatické a léčivé rostliny vykazovaly výrazně vyšší hladiny, než dužnaté plody a semena, výjimkou však byla kávová zrna s obsahem v rozmezí 5800–7466,667 ng/g. Z obilovin měla nejvyšší obsah melatoninu rýže (*Oryza sativa*) 55,55 ng/g a obecně všechny druhy z čeledi *Poaceae*, oves (*Avena sativa*) 31,533 ng/g, pšenice obecná (*Triticum aestivum*) 33,425 ng/g, ječmen (*Hordeum vulgare*) 12,127 ng/g a kukuřice (*Zea mays*) 11,15 ng/g. Melatonin byl detekován v různých orgánech rostlin, a to v květech, semenech, listech, kořenech a plodech.



### 3.3.4 Role melatoninu v rostlinách

Melatonin je rostlinná endogenní sloučenina se širokou škálou funkcí, od hormonálních, až po antioxidantní. Tato sloučenina je nyní považována za jeden z hlavních regulátorů rostlin a cenný marker reakce na různé druhy stresových faktorů. Je předpokládáno, že tyto funkce byly získány během evoluce (Tan et al. 2010), ale nebyly původním účelem melatoninu v rostlinách. Primární funkcí melatoninu v rostlinách je sloužit jako antioxidant a ochrana rostlin před škodlivými vlivy životního prostředí. Tento návrh je iniciován pozorováním, že působení abiotických nebo biotických stresových faktorů významně zvyšuje produkci melatoninu v rostlinách (Tan et al. 2012)

Výsledkem vysokých hladin melatoninu v rostlinách je zvýšená rychlost klíčení semen za špatných podmínek, zvýšená schopnost odolávat nepříznivým faktorům (Zhao et al. 2011) a zlepšení kvality rostlinných produktů. Kvalitu rostlinných produktů lze posoudit podle obsahu nutričních složek. Zvýšené hladiny melatoninu v rostlinách v podstatě zcela zachovávají obsah b-karotenoidů, zdvojnásobují hladiny vitamínu E a významně zvyšují množství vitamínu C a glutathionu (Tan et al. 2012). Zachování ostatních antioxidantů melatoninem silně naznačuje, že melatonin je první linií obrany proti oxidačnímu stresu, který působí v rostlinách. Jiné antioxidanty konzervované melatoninem mohou být použity pro jiné účely, například pro zintenzivnění barvy květů, nebo fungují jako záložní ochrana po konzumaci melatoninu (Tan et al. 2010). Dalším důležitým rysem melatoninu jako obrany první linie proti oxidačnímu stresu je jeho stresem indukovatelná charakteristika u rostlin. Zjevnou výhodou stresem indukovatelného antioxidantu, jako je melatonin, je zvýšit antioxidantní kapacitu organismů, které přijdou do styku se škodlivými faktory o nízké intenzitě, a získají tak potřebnou rezistenci vůči nadcházejícím silnějším stresorům (Tan et al. 2012).

Melatonin má ochranné účinky, při exogenní aplikaci melatoninu na rostliny, proti různým oxidačním stresům a nepříznivému prostředí. Mezi tyto stresory patří extrémně chladné nebo teplé prostředí, UV záření (Zhang et al. 2011), měď, kadmium, zasolená půda a toxicita peroxidu vodíku. Ochranné účinky melatoninu proti těmto stresorům byly připisovány jeho vychytávání volných radikálů a antioxidantní kapacitě (Tan et al. 2012).

Vzhledem k převládající úloze melatoninu v boji proti abiotickým stresovým faktorům byl Byeonem & Backem (2014) zkoumán potenciál zvýšit biosyntetickou kapacitu tohoto indolaminu v rostlinách. Některé transgenní rostliny rýže bohaté na melatonin byly schopny vytvářet robustnější a vyšší biomasu než rostliny divokého typu, v polních podmínkách. Podobné účinky byly zaznamenány u rostlin transgenního lesního tabáku (*Nicotiana sylvestris*) bohatého na melatonin, které vykazovaly zlepšenou odolnost vůči UV-B záření na úrovni DNA s ohledem na rostliny divokého typu. Tato praxe však není v mnoha zemích podporována a v důsledku toho je praktikována aplikace melatoninu exogenně. Exogenní aplikaci lze považovat za udržitelnou agronomickou praxí, která patří k biostimulačnímu procesu a nevykazuje zjevnou toxicitu ani při vysokém dávkování (Mannino et al. 2021).

Ošetření rostlin nebo semen exogenní metodou má jak podpůrný, tak inhibiční účinek na růst výhonků, listů, kořenů a výnosu v závislosti na koncentraci melatoninu. Molekula melatoninu má ve vysokých koncentracích inhibiční účinek, který je projeven podobným efektem jako u auxinu (Chen et al. 2009). Účinek na podporu růstu je ze 63 % srovnatelný s působením kyseliny indol-3-octové (IAA) (Hernández-Ruiz & Arnao 2008). Inhibiční účinky byly pozorovány Hernándezem-Ruiz et al. (2005) i u ovsa, pšenice a ječmene. Ošetření 0,1  $\mu\text{M}$  melatoninu vykazovalo stimulační účinek na růst kořenů, zatímco inhibiční odpověď byla monitorována po ošetření 100  $\mu\text{M}$ .

Priming semen je účinnou metodou ke zlepšení výsevního materiálu a následně ke zvýšení životaschopnosti semen a síly rostlin. Tato metodika spočívá v řízení hydratace semen pomocí nízkého vodního potenciálu aktivních osmotických roztoků (osmopriming), nebo namáčení vodou (hydropriming) (Campobenedetto et al. 2020). Aplikace exogenního melatoninu na semena, jako ošetření před setím, zlepšuje klíčení a růst semen a vitalitu sazenic. Posmyk et al. (2009) ve své studii prokázali, že sazenice okurek (*Cucumis sativus*) ošetřených melatoninem měly vyšší odolnost vůči působení abiotických stresorů ve srovnání s kontrolou, a také vykazovaly nejvyšší procento klíčivosti, hmotnost sazenic, obsah chlorofylu a syntézu fenolů. Vysoké hladiny melatoninu (>500  $\mu\text{M}$ ) však způsobily oxidační změny v aminokyselinové sekvenci proteinu, které byly demonstrovány na semenech jejich narušenou klíčivostí a sníženou životaschopností. V další studii Posmyk & Janas (2009) hydroprimovali semena kukuřice s melatoninem i bez něj. Po vyklíčení byly sazenice bez dalšího ošetřování vysazeny na pole a ponechány přirozeně růst. Při sklizni měly rostliny kukuřice ošetřené melatoninem větší kořenový systém ve srovnání s rostlinami kukuřice neošetřenými melatoninem. Během fáze klíčení semen melatonin inicioval ireverzibilní genovou expresi pro vývoj kořenů a tento efekt měl důsledky, nebo dokonce přetrvával po zbytek vegetačního období. Produkce kukuřice z rostlin ošetřených melatoninem byla o 20 % vyšší než produkce z rostlin, které nebyly ošetřeny melatoninem.

Jako antioxidant má melatonin schopnost snížení degradace chlorofylu a zvýšení účinnosti fotosyntézy, při působení abiotických stresových faktorů. Reguluje akumulaci a funkci klíčových biomolekul, jako jsou enzym RuBisCO, proteiny, chlorofyl a sloučeniny obsahující dusík (Li et al. 2020). Zhang et al. (2013) zaměřili jejich studii na sazenice okurek, které podrobili vodnímu deficitu. Ošetření melatoninem snížilo degradaci chlorofylu, zvýšilo rychlost fotosyntézy a aktivitu enzymů pohlcujících ROS. Jedním z dalších faktorů, na který má melatonin vliv je zvětšení listové plochy, díky čemuž je rostlina schopna obrany vůči stresovému faktoru sucha. Při působení melatoninu dochází ke zlepšení udržování buněčného turgoru a vodní rovnováhy v mezofylových buňkách (Li et al. 2020). Abiotické stresy mohou vyvolat ultrastrukturální změny v důsledku narušení elektronového transportního řetězce a buněčných a fotosyntetických drah způsobených nadměrnou tvorbou ROS a RNS. Tato nadprodukce reaktivních druhů vede ke snížení fotosyntetické účinnosti v rostlinách (Li et al. 2018).

Melatonin podporuje vysoké hladiny osmotických metabolitů např. prolin, nízký osmotický potenciál buněk, vysoký turgor buněk a optimální otevírání průduchů, což vše zvyšuje dostupnost CO<sub>2</sub> a optimalizuje proces fotosyntézy. Také v podmínkách vodního stresu je vážně ovlivněna morfologie chloroplastů. Délka chloroplastů byla zmenšena a šířka zvětšena, což jim dává kulatý tvar, chloroplastové membránové systémy byly poškozeny, škrobová zrna zmizela a tylakoidy byly rozšířeny, uvolněny a zdeformovány. Chloroplasty rostlin ošetřených melatoninem vykazovaly velmi dobře zachovaný vnitřní lamelární systém a všechna poškození a destrukce byla vážně zmírněna (Meng et al. 2014; Arnao & Hernández-Ruiz 2015).

V podmínkách sucha melatonin zlepšuje fungování průduchů. U dvou druhů *Malus* vedlo předběžné ošetření melatoninem k delším a širším průduchům a větším otvorům, a to jak u rostlin kontroly, tak i stresovaných suchem. Exogenní aplikace melatoninu přes kořeny optimalizuje několik parametrů v listech, jako je relativní obsah vody, únik elektrolytů, obsah chlorofylu, fotosyntetická účinnost, průduchová vodivost, hladiny peroxidu vodíku a antioxidační enzymové aktivity. V suchých listech předem ošetřených melatoninem byla hladina ABA přibližně o polovinu nižší, oproti suchým listům neošetřených melatoninem. Melatonin potlačuje regulaci 9-cis-epoxykarotenoid dioxygenázy (NCED), klíčového enzymu v biosyntéze ABA v rostlinách, a zvyšuje regulaci dvou CYP707 monooxygenáz, klíčových katabolických enzymů zapojených do metabolismu ABA v podmínkách sucha. Podle Li et al. (2015) nižší hladiny ABA a H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> v rostlinách ošetřených melatoninem zlepšily stomatální výkon a působily proti stresovým podmínkám. (Arnao & Hernández-Ruiz 2015). Melatonin také podporuje růst kořenového systému. Aplikace serotoninu, prekursoru melatoninu, stimulovala laterální růst kořenů u *Arabidopsis thaliana*. Ve vyšších koncentracích serotonin inhiboval primární a laterální růst kořenů, ale podporoval tvorbu adventivních kořenů (Pelagio-Flores et al. 2011).

Jak abiotický, tak biotický stres produkují významné zvýšení hladin endogenního melatoninu, což ukazuje na jeho možnou roli efektoru v těchto situacích. Existence endogenních cirkadiálních rytmů v hladinách melatoninu byla prokázána u některých druhů a údaje naznačují ústřední roli této molekuly v cyklech den/noc u rostlin. Dalším úhlem pohledu, je zapojení melatoninu do aspektů regulace vývoje rostlin. Participace melatoninu v procesech, jako jsou růst, rhizogeneze a fotosyntéza, je evidentní. Mnohočetné změny v genové expresi způsobené melatoninem poukazují na jeho roli jako multiregulační molekuly schopné koordinovat mnoho aspektů vývoje rostlin. Toto hledisko, spolu s jeho úlohou jako zmírňujícího antistresového činidla, naznačují, že melatonin je vynikající vyhlídkou na zlepšení plodin (Arnao & Hernández-Ruiz 2015).

## 4 Metodika

Vliv abiotických stresorů na rostliny je v současné době velmi aktuální téma. Zejména vodní a teplotní stres ovlivňuje růstové procesy a v konečném důsledku snižuje hospodářský výnos. Možnost oddálení stresu aplikací stimulatorů růstu a překlenutí období s nepříznivými podmínkami se jeví jako možnou alternativou řešící snížené růstové procesy a hospodářský výnos. Cílem diplomové práce bylo zjistit, jak abiotický stresový faktor sucho ovlivňuje klíčení semen pšenice seté (*Triticum aestivum*), která byla ošetřena různými koncentracemi melatoninu.

### 4.1 Ošetření osiva

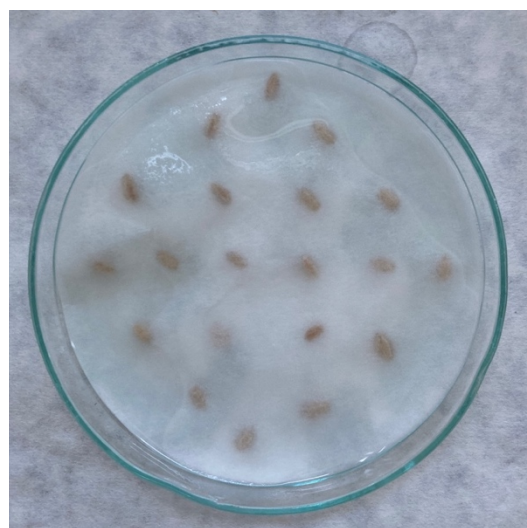
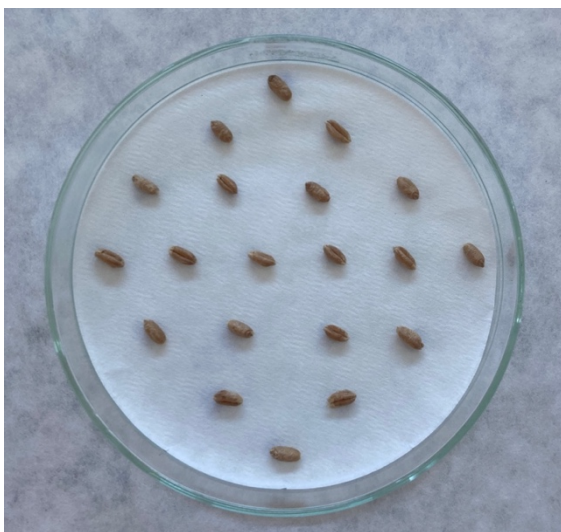
Před založením pokusu bylo osivo pšenice ošetřeno 25 ml roztoku melatoninu principem postřiku, v sítu poté došlo k odkapání přebytečného roztoku a následně k zaschnutí. Osivo bylo rozděleno dle odstupňovaných koncentrací melatoninu, kterými bylo ošetřeno. A – kontrola (bez ošetření), B – bez ošetření, C – 0,1 M, D – 1 mM, E – 0,1 mM, F – 1  $\mu$ M.

### 4.2 Charakteristika pokusu

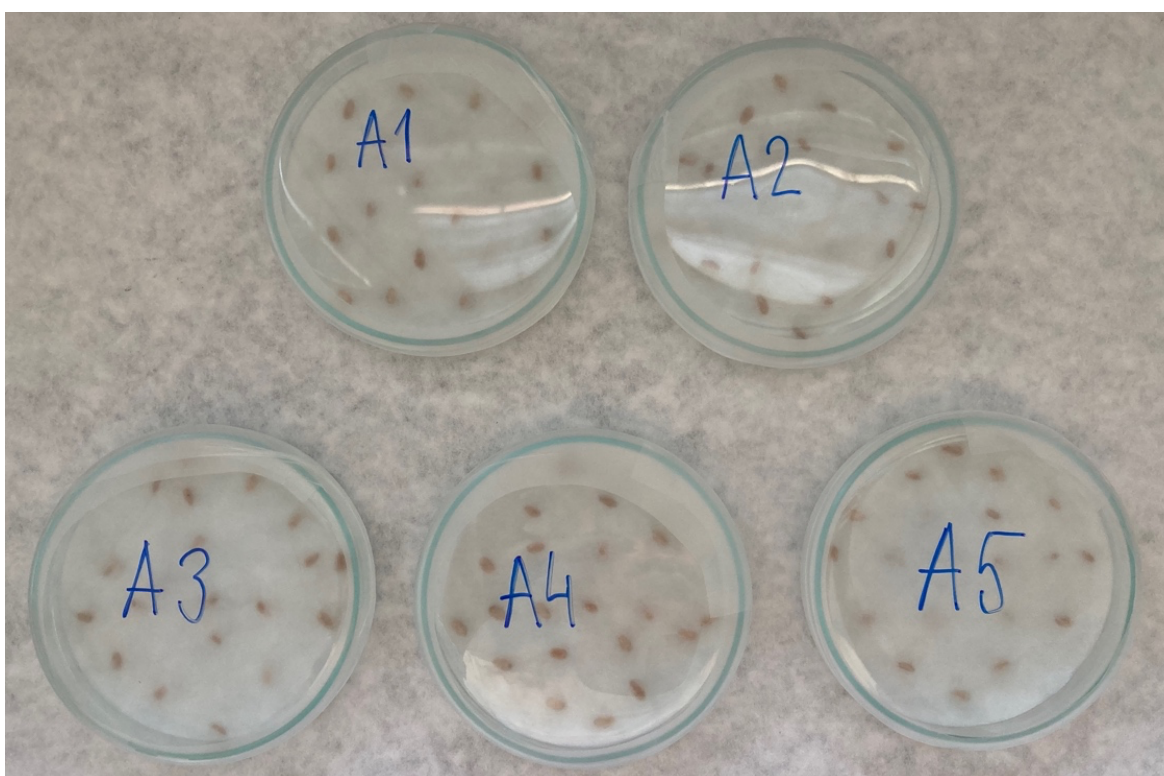
U pšenice seté byl hodnocen vliv různých koncentrací melatoninu na klíčivost v podmínkách vodního deficitu. Pro přesnější rozložení semen byla vytvořena šablona, která byla umístěna pod spodní víčko Petriho misky. Na dno každé Petriho misky byl vložen filtrační papír. Pomocí pinzety byla semena přenášena v rovnoměrných odstupech. Do každé misky bylo rozmístěno 20 semen, na která byl vložen druhý filtrační papír (viz Obrázek 4 a 5). Ke každé z variant bylo vždy využito pět Petriho misek, varianta A byla ošetřena pouze 0,8 ml destilované vody (kontrola), u ostatních variant (B, C, D, E a F) byl navozen deficit vody pomocí 0,8 ml 15% PEG (polyethylenglycol) (w/w; 15 g/85 g). Petriho misky byly poté všechny překrývány horním víčkem, která byla označena příslušnou variantou (viz Obrázek 6). Okraje misek byly utěsněny parafilmem, aby nedocházelo ke ztrátám vody a průniku vzduchu. Všechny misky byly umístěny do klíčidla, které bylo předehřáté na 23 °C, kde semena klíčila po dobu 72 hodin. U všech Petriho misek byl, pro každé semeno zvlášť, stanoven počet kořínků a byla měřena délka hlavního kořínku a koleoptile. Naměřené hodnoty (v mm) byly zaznamenávány do tabulek k dalšímu zpracování. Závěrem byla vážena průměrná hmotnost (v g) čerstvé hmoty (FW) u všech semen z misek 1 až 5, pro nadzemní i kořenovou část, tyto části byly následně vysušeny v sušárně na 80 °C. Po vysušení byla zvážena hmotnost sušiny (DW).

### 4.3 Zpracování výsledků

K vyhodnocení nashromážděných výsledků byl použit program STATISTICA. Metodou byla zvolena jednofaktorová analýza rozptylu a Fisherův LSD test. Stanovená hladina významnosti byla  $\alpha = 0,05$ . Pro zaznamenávání parametrů nadzemních a kořenových částí byl použit program Microsoft Excel.



Obrázek 4, 5 Příprava pšenice seté do Petriho misky k naklíčení (autor práce)



Obrázek 6 Pšenice setá – varianta A (kontrola) (autor práce)

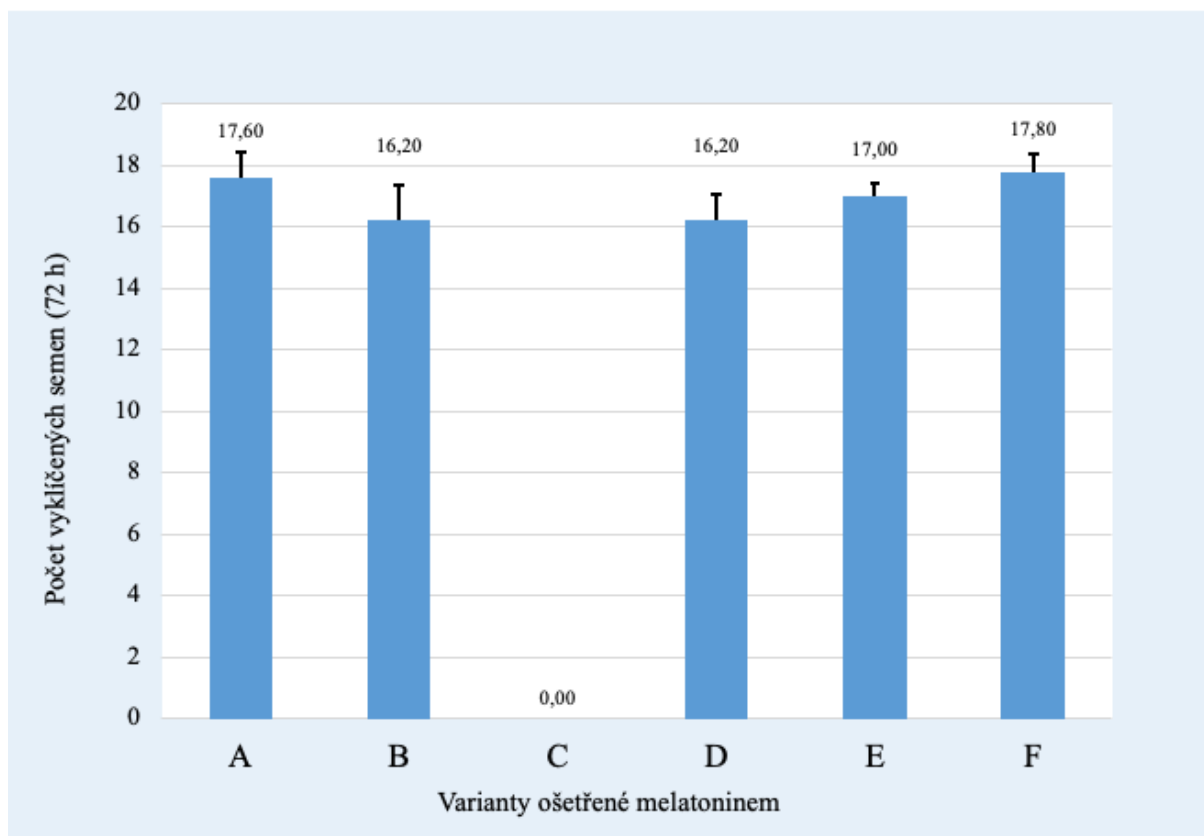
## 5 Výsledky

Tato diplomová práce byla zaměřena na působení melatoninu, jako antistresového stimulantu, na klíčení semen pšenice seté (*Triticum aestivum*) při působení stresového faktoru sucha.

### 5.1 Vliv koncentrací melatoninu na klíčení pšenice seté

V grafu č. 1 je znázorněné průměrné množství vyklíčených semen, která byla ošetřena různým množstvím melatoninu, po 72 hodinách. Nejvíce vyklíčených semen můžeme pozorovat u varianty F, která byla ošetřena 1  $\mu\text{M}$  melatoninu, tento průměr je vyšší oproti kontrolní variantě, která nebyla vystavena stresovému faktoru sucha. Podobný výsledek byl zaznamenán i u varianty E (0,1 mM), a to 17 vyklíčených semen z 20. Naopak u varianty C, kde byla koncentrace melatoninu nejvyšší (0,1 M), nevyklíčilo ani jedno z 20 semen.

Mezi variantami existoval statisticky významný rozdíl. Rozdíl byl zaznamenán mezi variantou C (0,1 M) a variantami F (1  $\mu\text{M}$ ), B (bez ošetření), D (1 mM), E (0,1 mM) a nakonec kontrolní variantou A, která nebyla ošetřena PEGem. Neexistoval statisticky průkazný rozdíl v průměrném množství vyklíčených semen mezi variantami A, B, D, E a F.

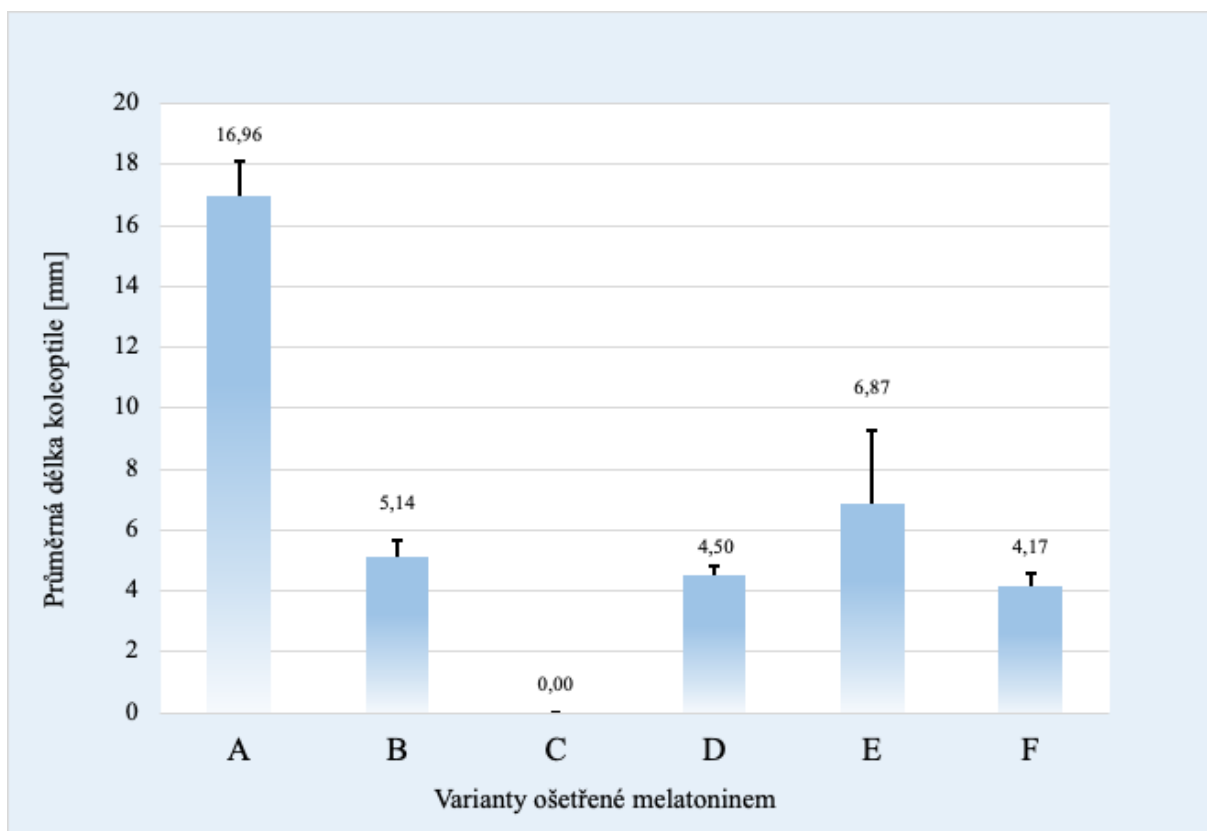


Graf 1 Počet vyklíčených semen pšenice seté;  $F(6, 28) = 80,989$ ,  $p = 0,00000$

### 5.1.1 Nadzemní část – délka koleoptile

Průměrná délka koleoptile byla měřena v mm u semen pšenice, při různých koncentracích melatoninu. V grafu č. 2 můžeme vidět, že kontrolní varianta vykazovala průměrnou délku koleoptile 16,96 mm – nejdelší koleoptile. U varianty B, byla průměrná velikost koleoptile 5,14 mm, tato varianta nebyla ošetřena melatoninem, pouze byla vystavena stresovému faktoru. Varianta E (0,1 mM) vykazovala ze všech variant ošetřených melatoninem nejdelší koleoptili, a to 6,87 mm. Varianty D (1 mM) a F (1  $\mu$ M) měly průměrnou délku 4,50 mm a 4,17 mm. Naopak nejkratší koleoptile byla zaznamenána u varianty C (0,1 M), a to 0,00.

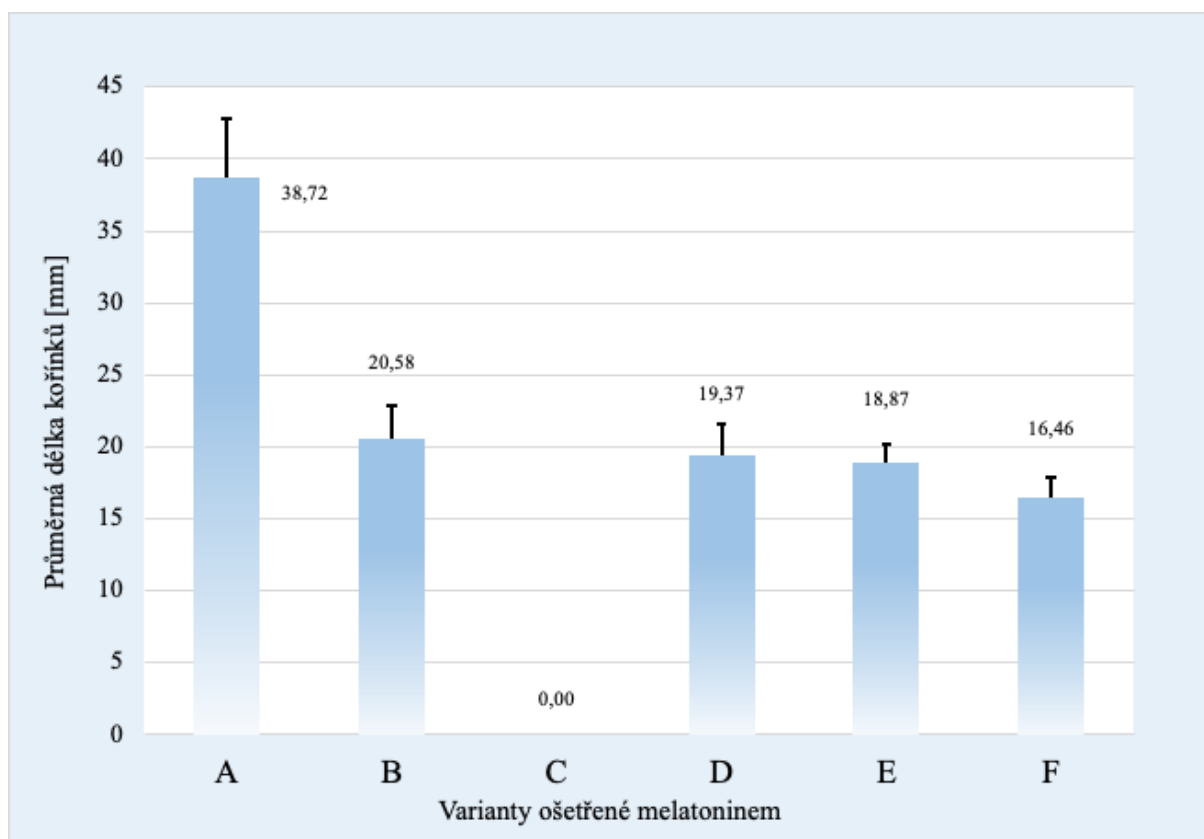
Mezi variantami byly průkazné statistické rozdíly. Mezi variantou C a A (kontrola) byl prokázán významný statistický rozdíl (viz Obrázky 7 a 8). Stejně tak tomu bylo vůči variantám B, D, E, F, kde byl významný rozdíl oproti A a C. Mezi variantami B, D, F neexistoval statisticky průkazný rozdíl v průměrné délce koleoptile.



Graf 2 Průměrná délka koleoptile semen pšenice seté;  $F(6, 28) = 25,962, p = 0,00000$

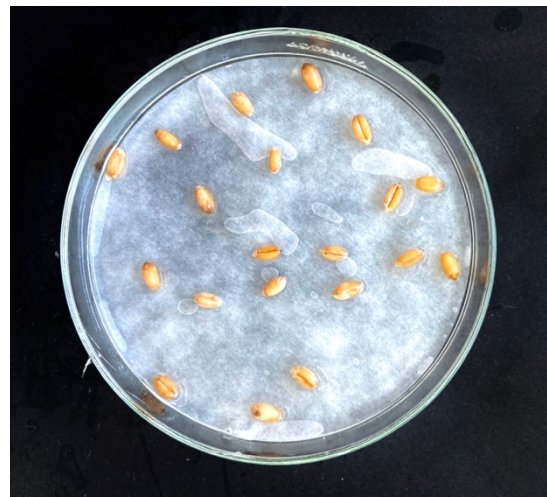
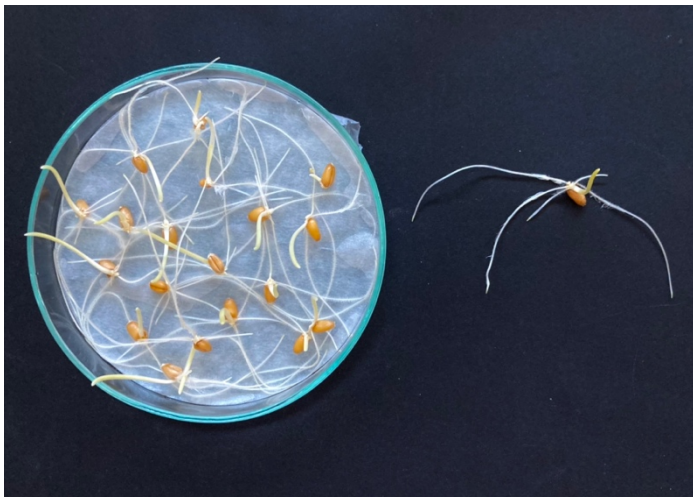
### 5.1.2 Podzemní část – délka kořínku

Graf č. 3 nám ukazuje průměrnou délku podzemní části semene, a to kořínků. Z grafu č. 3 vyplývá, že nejdelší podzemní část měla kontrolní varianta – 38,72 mm. Vodní deficit významně snížil délku kořínků u všech ostatních variant. Statisticky průkazný rozdíl můžeme vidět mezi kontrolní variantou a variantou C. Mezi variantami B (20,58 mm), D (19,37 mm), E (18,87 mm) a F (16,46 mm) nebyl statisticky průkazný rozdíl (viz Obrázky 9, 10 a 11), rozdíl byl pouze v porovnání s kontrolní variantou A.



Graf 3 Průměrná délka kořínků semen pšenice seté;  $F(6, 28) = 34,412, p=,00000$





*Obrázek 7, 8 Pšenice setá po vyklíčení – varianta A (vlevo), C (vpravo) (autor práce)*



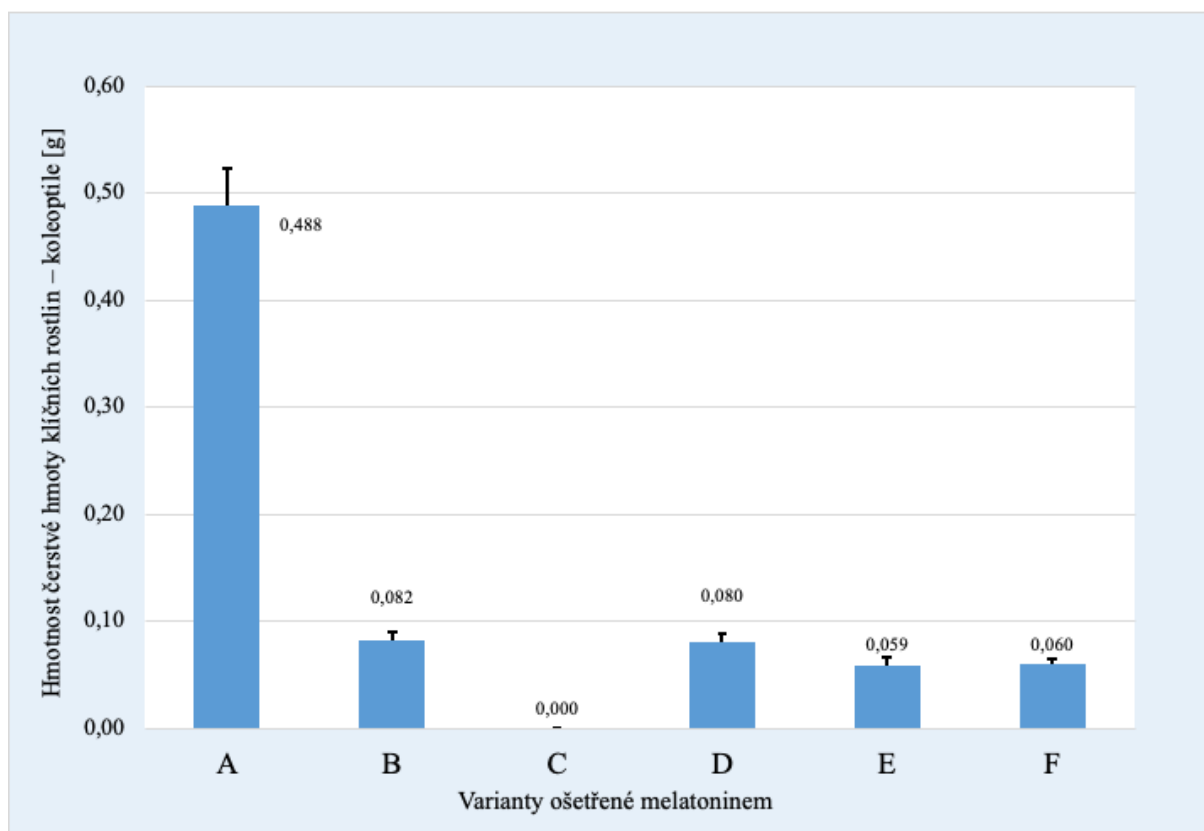
*Obrázek 9, 10 Pšenice setá po vyklíčení – varianta D (vlevo), E (vpravo) (autor práce)*



*Obrázek 11 Pšenice setá po vyklíčení – varianta F (autor práce)*

### 5.1.3 Čerstvá hmotnost (FW) klíčnicích rostlin – koleoptile

V grafu č. 4 je uvedena průměrná hmotnost čerstvé nadzemní hmoty. Průměrná hmotnost koleoptile se pohybovala mezi 0,059 g až do 0,488 g. Všechny varianty vystavené vlivu abiotického stresového faktoru vykazovaly významný statistický rozdíl oproti kontrolní variantě. Varianta C měla významný statistický rozdíl oproti variantám A (kontrola), B (neošetřeno), D (1 mM), E (0,1 mM), F (1  $\mu$ M). Mezi variantami B, D, E, F nebyl prokázán významný statistický rozdíl.

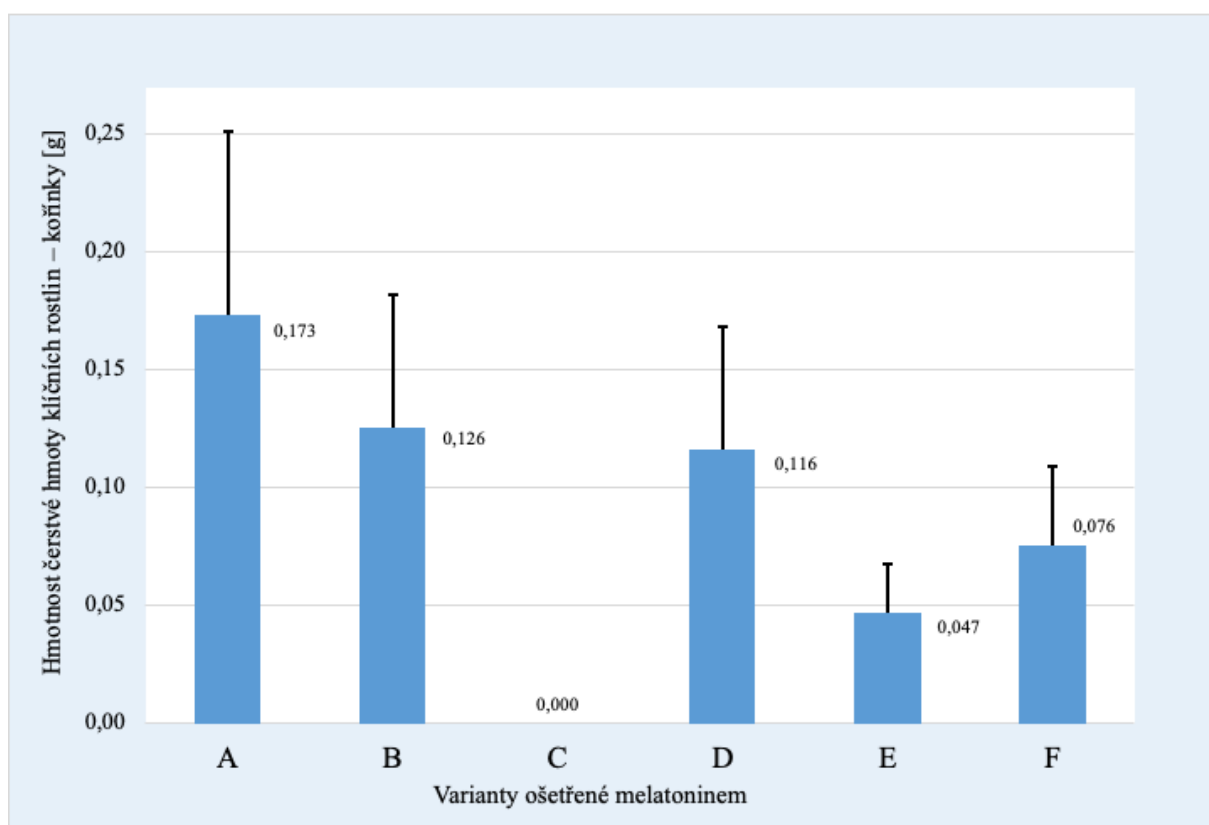


Graf 4 Průměrná hmotnost čerstvé nadzemní hmoty – koleoptile;  $F(6, 28) = 130,28$ ,  $p = 0,00000$

#### 5.1.4 Čerstvá hmotnost (FW) klíčnicích rostlin – kořínky

Čerstvá hmotnost podzemních částí semen je znázorněna v grafu č. 5, kde můžeme vidět signifikantní rozdíly mezi všemi variantami vůči kontrolní variantě. Mezi variantami B (0,126 g) a D (0,116 g), nebyla významná variabilita, rozdíly můžeme pozorovat u variant E (0,047 g), kde hodnoty průměrné délky kořínků byly nejnižší a F (0,076 g).

Signifikantní statistický rozdíl byl zaznamenán mezi variantou A (kontrola) a všemi ostatními variantami. Průkazný rozdíl byl také mezi variantou C (0,1 M) a dalšími variantami. Průkazný rozdíl nebyl mezi variantami C, E (0,1 mM) a F (1  $\mu$ M), a také mezi dvěma dalšími variantami, a to B (neošetřena) a D (1 mM).

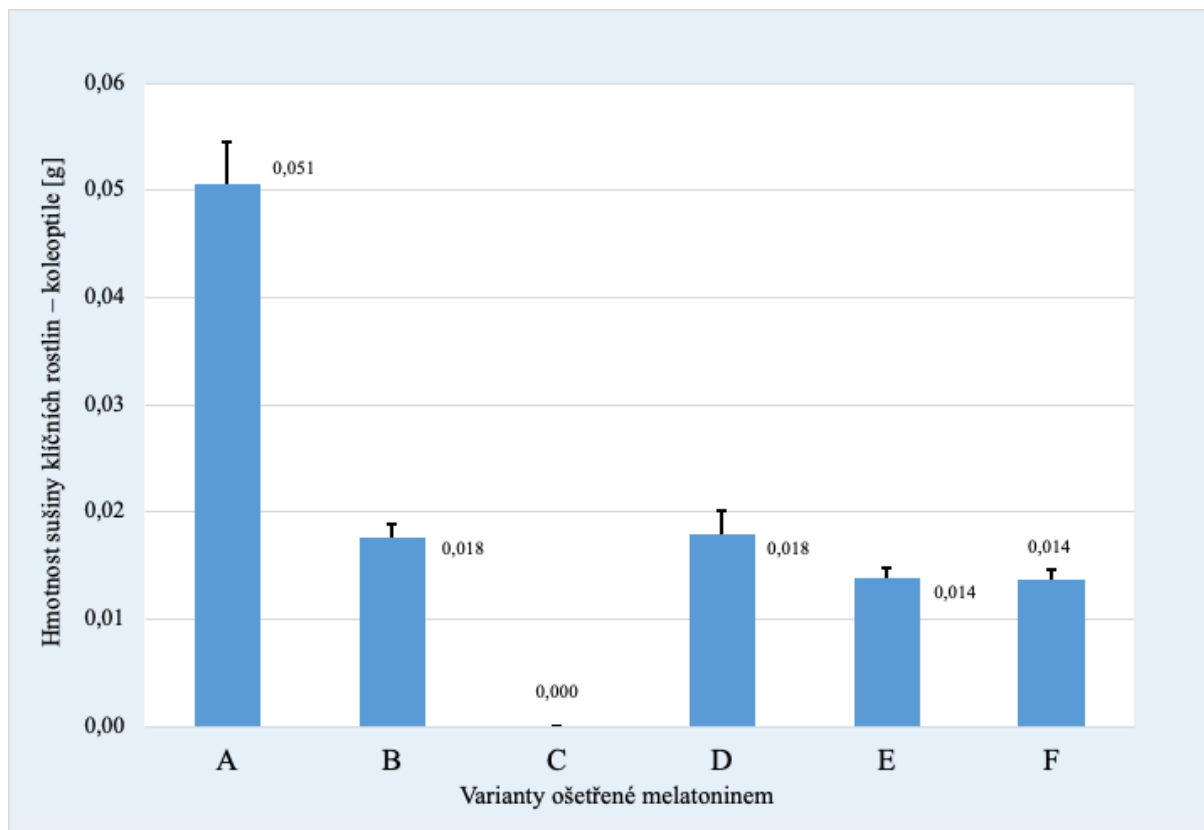


Graf 5 Průměrná hmotnost čerstvé podzemní hmoty – kořínky;  $F(6, 28) = 12,709$ ,  $p = ,00000$

### 5.1.5 Hmotnost sušiny (DW) klíčnicích rostlin – koleoptile

V grafu č. 6 je zaznamenána průměrná hmotnost sušiny koleoptile. Nejvyšší hmotnost byla prokázána u kontrolní varianty, a to 0,051 g. Z variant ošetřených melatoninem a vystavených vodnímu deficitu byla nejvyšší hmotnost sušiny zaznamenána u varianty D (0,018 g) a nejnižší u variant F (0,014 g) a C (0,000).

Signifikantní statistický rozdíl byl zaznamenán mezi variantou A a všemi ostatními variantami. Průkazný rozdíl byl také mezi variantou C a variantami B, D, E, a F. Nebyl nalezen žádný průkazný statistický rozdíl mezi variantami B, D, E a F.

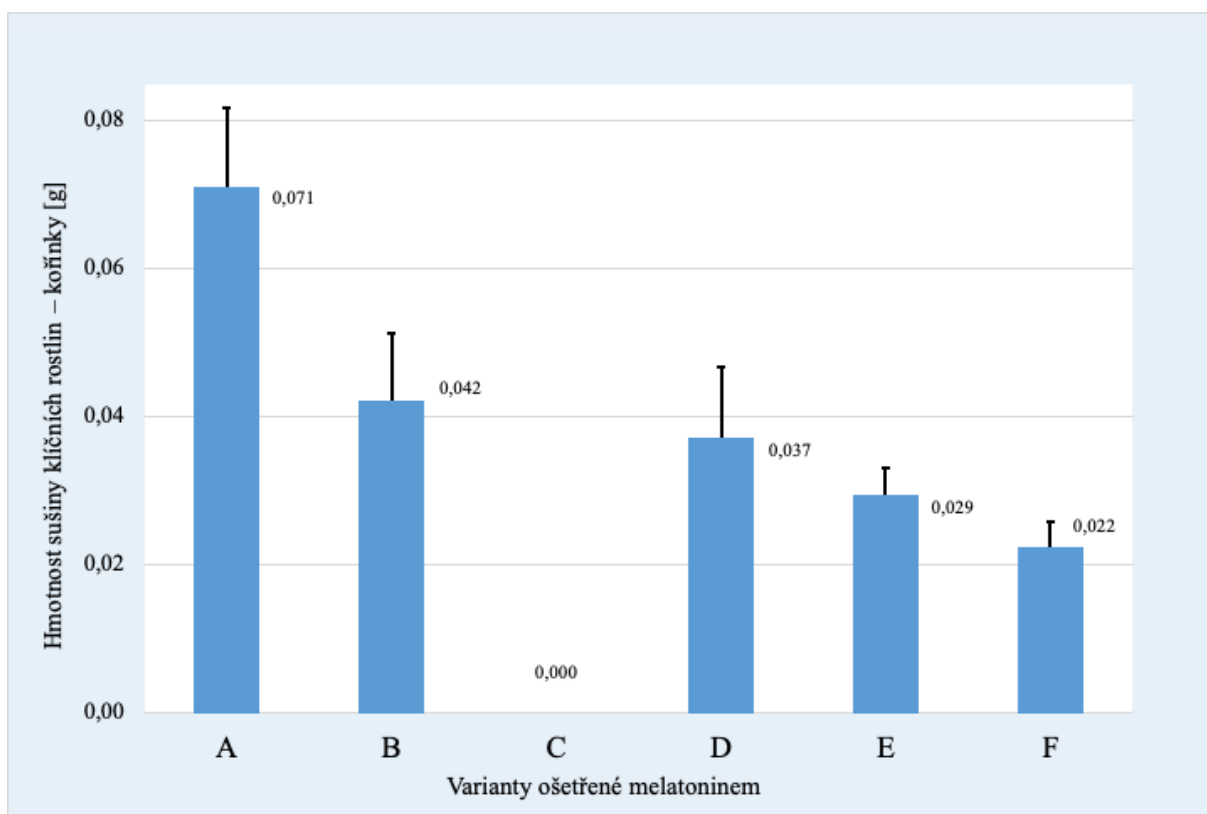


Graf 6 Hmotnost sušiny klíčnicích rostlin pšenice seté – koleoptile;  $F(6, 28) = 60,693$ ,  $p = 0,00000$

### 5.1.6 Hmotnost sušiny (DW) klíčících rostlin – kořínky

Graf č. 7 znázorňuje průměrnou hmotnost sušiny kořínků. Celková hmotnost všech variant byla 0,202 g. Kořínky kontrolní varianty měly průměrnou hmotnost 0,071 g. Varianty vystaveny abiotickému stresovému faktoru byly významně ovlivněny, a to inhibicí růstu podzemních částí semene. Varianta D ošetřená 1 mM melatoninu měla nejvyšší průměrnou hmotnost sušiny ze všech ošetřených variant – 0,037 g.

Statisticky významný rozdíl v průměrné hmotnosti sušiny kořínků byl zaznamenán mezi variantami A (kontrola, C (0,1 M) a ostatními variantami. Mezi B (neošetřena), D (1 mM), E (0,1 mM) a F (1  $\mu$ M) nebyl nalezen průkazný statistický rozdíl.



Graf 7 Hmotnost sušiny klíčících rostlin pšenice seté – kořínky;  $F(6, 28) = 8,1322$ ,  $p = 0,00004$

## 6 Diskuze

U pšenice seté byl hodnocen vliv melatoninu na klíčení semen, která byla vystavena nepříznivému abiotickému stresovému faktoru sucha. Předmětem měření byla průměrná délka nadzemních částí – koleoptile a podzemních částí – kořínků, společně s množstvím vyklíčených semen. Dále byla měřena hmotnost čerstvé hmoty a sušina klíčících rostlinek.

Abiotický stresor sucho způsobující vodní deficit pro rostliny, je v nynější době jedním z nejzávažnějších faktorů, který významně ovlivňuje zemědělské plodiny. Sucho působí na řadu procesů včetně fyziologického vývoje, růstu, výnosu a kvality plodin. Vodní deficit vzniká jak nedostatečnými srážkami, tak i množstvím zásoby vody v půdě, během vegetačních fází rostlin. Období sucha, které poškozuje plodiny, souvisí se změnami půdních a meteorologických podmínek. Stres ze sucha nastává, když je vlhkost půdy a relativní vlhkost vzduchu nízká a okolní teploty vysoké. Tento efekt může být zesílen progresivním a očekávaným globálním oteplováním. Predispozice rostlin udržovat vysoký potenciál vody v pletivech, za sucha, je nazývána vyhýbání dehydrataci a tolerance, která určuje disponibilitu rostlin přežít nedostatek vody je odolnost vůči suchu. Sucho má za následek stres rostlin, potenciální poškození tkání, a je-li poškození rozsáhlé, tak i vadnutí a úmrtí rostliny. Změny vlhkosti a dostupnosti vody snižují rychlost fotosyntézy a výměny plynů mezi rostlinami a atmosférou (Swann 2018).

V našem pokusu byl zaznamenán významný vliv stresového faktoru sucha na všechny testované vzorky, které byly vystaveny vodnímu deficitu pomocí 15% PEGu. Sucho nepříznivě působilo na sledované hodnoty, a to klíčení semen, délku nadzemních (koleoptile) a podzemních (kořínky) částí, váhu čerstvé hmoty a sušiny klíčících rostlin. Vodní deficit snížil klíčení semen o 8 %, podobně tak tomu bylo i v pokusu Zhang et al. (2013), kde klíčivost semen byla snížena o 9,5 %.

Melatonin je signální molekula rovnoměrně distribuovaná v různých částech rostlin a reguluje fyzikálně-biochemické reakce při abiotických a biotických stresových faktorech. Pomáhá rostlinám při odolnosti vůči stresu tím, že oddaluje stárnutí listů, snižuje inhibici fotosyntézy, působí jako biostimulátor a zlepšuje antioxidační reakce. Při exogenní aplikaci má melatonin pozitivní účinek na zmírnění stresu, který vede ke zlepšení klíčení semen, růstu rostlin, výnosu a obsahu chlorofylu. Několik raných studií také prokázalo, že melatonin vykazuje účinky podobné působení rostlinného růstového hormonu auxinu, který stimuluje růst rostlin. Jiné studie poukázaly na to, že melatonin může podporovat nebo inhibovat kvetení, a dozrávání rostlin (Jones et al. 2007; Tan et al. 2012).

K objasnění role, kterou melatonin hraje v rostlinách, Tan et al. (2000) uvedli, že pokud došlo k přemístění rostlin z pokojové teploty do chladného (4 °C) prostředí, obsah melatoninu byl v rostlinách významně navýšen. Na základě melatoninu, jako silného antioxidantu, Tan et al. (2000) předpokládali, že melatonin může být první obrannou linií, která chrání rostliny před drsným prostředím, jako je zima, teplo, sucho a znečištění ovzduší nebo půdy. Tato hypotéza byla následně podpořena dalšími publikovanými pozorováními (Murch et al. 2009; Tan et al. 2010). To je zejména v souladu s pozorováním zvýšeného melatoninu u rostlin z vysokohorského a středomořského prostředí, které jsou vystavovány intenzivnímu UV záření a nadměrným teplotním výkyvům (Tan et al. 2010).

V četných studiích byly zmíněny ochranné účinky exogenně aplikovaného melatoninu na rostliny za účelem odolnosti vůči různým oxidačním stresům a nepříznivému prostředí. Mezi tyto stresory patří extrémně nízké nebo vysoké teploty, UV záření (Zhang et al. 2011), nadměrný obsah mědi a kadmia v půdě, zasolení a toxicita peroxidu vodíku. Ochranné účinky melatoninu proti těmto stresorům byly připisovány jeho schopnosti vylučovat volné radikály a antioxidační kapacitě (Tan et al. 2010). Koncentrace melatoninu použité v těchto studiích byly od několika nanomolárních do stovek mikromolárních, podobně jako v našem experimentu. Kromě přímých interakcí melatoninu s ROS jeho aplikace také zvyšuje tvorbu endogenních antioxidačních enzymů v rostlinách. Patří mezi ně například peroxidáza, superoxid aniondismutáza (SOD), kataláza (CAT), askorbátperoxidáza, monodehydroaskorbátreduktáza (MDHAR) a glutathionreduktáza. Díky tomu je chráněn obsah dalších antioxidantů, jako jsou kyselina askorbová, vitamin E a glutathion, před oxidačním poškozením (Tan et al. 2012).

## 6.1 Pšenice setá klíčící v podmínkách vodního deficitu

Melatonin je multiregulační a multifunkční molekula, která zmírňuje jak abiotický, tak i biotický stres. Koncentrace melatoninu je zvyšována v podmínkách stresu modulací jeho biosyntetických a metabolických drah. Primárně zvyšuje celkový růst a produktivitu rostlin v nepříznivých podmínkách tím, že působí jako antioxidant a detoxikační činidlo. Endogenně produkováný fyto-melatonin je někdy nedostačující při reakci s drsnými environmentálními podmínkami působící na rostliny. Exogenní aplikace melatoninu společně s transgenním přístupem k jeho indukci endogenních hladin jsou proto alternativní strategie k udržení imunity a normální růstové kapacity rostlin. Byla prokázána zásadní a nepostradatelná role exogenně aplikovaného melatoninu při zvyšování tolerance k různým abiotickým a biotickým stresům u rozličných druhů a rodů rostlin (Sharma et al. 2022).

Semena pšenice seté v našem pokusu byla ošetřena variabilními koncentracemi melatoninu. Klíčení semen u všech variant bylo v průměru od 16 do 17 vyklíčených semen z 20, pouze u varianty C (0,1 M) nedošlo k vyklíčení ani jednoho semene. K inhibici klíčení u varianty, která byla ošetřena 0,1 M melatoninu došlo pravděpodobně z důvodu příliš vysoké koncentrace aplikovaného melatoninu, jak ve své studii zmínili Sarropoulou et al. (2012). Zhang et al. (2013) ve své studii ošetřovali semena okurek 0,1 mM melatoninu, která následně byla vystavena deficitu vody pomocí 18% polyethylenglykolu. V této studii zkoumali potenciální roli melatoninu během klíčení semen a generování kořínků. Bylo prokázáno, že melatonin zmírnil polyethylenglykolem indukovanou inhibici klíčení semen, stimuloval tvorbu kořenů a jejich vitalitu. V našem pokusu byl průkazný rozdíl mezi kontrolní variantou a variantami, které byly vystaveny deficitu vody pomocí PEGu, avšak rozdíl průměrné délky kořínků u variant B a D nebyl signifikantní. U pšenice jsme mohli pozorovat značný nárůst nadzemní části semene, a to koleoptile. Mezi variantami ošetřenými 15% PEG byl zaznamenán rozdíl u varianty E (0,1 mM), která měla v průměru delší koleoptile, oproti B, kde semena nebyla ošetřena melatoninem. Můžeme tak potvrdit, že vliv melatoninu měl značný vliv na růst koleoptile při vodním deficitu. Hernández-Ruiz et al. (2005) potvrdili nárůst koleoptile u ječmene, který byl ošetřen melatoninem. Avšak zjistili, že příliš vysoké koncentrace melatoninu měly silný inhibiční růstový efekt, pravděpodobně z důvodu dosažení

toxických hladin. Průměrná čerstvá hmotnost koleoptile a kořínků byla výrazně vyšší u kontrolní varianty – 0,488 g a 0,173 g. Nejnížší naměřená FW koleoptile a kořínků u vzorků, které vyklíčily, byla 0,059 a 0,047 u varianty E. Nejvyšší průměrná hmotnost sušiny byla naměřena u kontroly, koleoptile – 0,051 g, kořínky – 0,071 g a nejnižší u variant E a F (0,014 g) – koleoptile a varianta F (0,022 g) – kořínky.

Fytomelatonin interaguje s dalšími fytohormony, jako jsou kyselina abscisová (ABA), kyselina giberelová (GA) a cytokininy. Významně podporují růst rostlin. Nedostatek vody může způsobovat produkci fytohormonu ABA, který působí na uzavření průduchů. Melatonin je využíván k účinné regulaci oxidačního poškození způsobeného stresem ze sucha. Tolerance ke stresovému faktoru vyvolaná melatoninem zahrnuje dvě strategie, a to vychytávání H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a snížení obsahu ABA prostřednictvím down-regulace genu pro syntézu ABA (MdNCED3) a up-regulace genů katabolických ABA (MdCYP707A2 a MdCYP707A1). Melatonin funguje společně s brassinosteroidy (BR) a kyselinou giberelovou během růstu a vývoje rostlin. BR a kyselina giberelová hrají hlavní roli v prodlužování a růstu buněk, což současně vede ke zvýšené náchylnosti k několika abiotickým stresům (Colebrook et al. 2014).

Lee & Back (2019) uvedli, že listová exogenní aplikace 2-hydroxymelatoninu (2M) měla významný vliv na toleranci vůči kombinovanému stresu, chladu a sucha, u tabáku (*Nicotiana benthamiana*), rajčat (*Solanum lycopersicum*) a okurek (*Cucumis sativus*). Při působení stresových faktorů samostatně nebyly zaznamenány významné rozdíly v toleranci vůči kontrole. Různé další funkce exogenně aplikovaného melatoninu zahrnují regulaci antioxidantních systémů k ochraně rostlin před abiotickým stresem vyvolaným deficitem vody a fyziologickým poškozením, zlepšením účinnosti fotosyntézy, iontové homeostázy. Khan et al. (2019) prokázali, že akumulace ROS vyvolaná suchem byla v rostlinách řepky dramaticky snížena aktivací melatoninu.

Sarropoulou et al. (2012) zkoumali vliv primingu melatoninem, kdy vysoké dávky měly za následek významné snížení chlorofylu, z důvodu poškození struktury a výkonu rostlin. Campos et al. (2019) naopak prokázali, že využití melatoninu nemělo žádný vliv na obsah chlorofylu, při vystavení rostlin stresu ze sucha, jeho obsah byl podobný jako u kontrolních rostlin, které byly pravidelně zavlažovány. Můžeme konstatovat, že fyziologické působení exogenního melatoninu naznačuje, že tato molekula je hodna nového a podrobnějšího zkoumání za získáním přesvědčivých údajů o jeho roli v rostlinách.



## 7 Závěr

Cílem této diplomové práce bylo posoudit účinek rozdílných koncentrací melatoninu na klíčení semen pšenice seté (*Triticum aestivum*), která byla vystavena abiotickému stresovému faktoru sucha, nastolenému pomocí 15% PEGu.

- Hypotéza o negativním vlivu vodního deficitu na klíčení semen a růst v raných fázích vývoje rostlin byla našim experimentem potvrzena. Výsledky sledovaných hodnot: množství vyklíčených semen, průměrná délka koleoptile a podzemních částí, váha čerstvé hmoty a sušiny klíčících rostlin prokázali, že sucho, jako abiotický faktor má negativní vliv na všechny tyto zkoumané prvky.
- Předseťová aplikace, v různých koncentracích, melatoninu měla ve většině případů pozitivní vliv na množství vyklíčených semen pšenice. Pouze u nejvyšší koncentrace měl melatonin inhibiční účinek, pravděpodobně z důvodu již toxického množství pro klíčení rostlin.
- Vliv melatoninu na průměrnou délku koleoptile a kořínků nebyl dostatečně průkazný. Pozitivní vliv měl melatonin na průměrnou délku koleoptile u varianty E (0,1 mM), která byla výrazně vyšší než u ostatních variant, avšak stále nedostačující oproti kontrolní variantě. Průměrná délka kořínků se u většiny variant, které byly vystaveny stresovému faktoru sucha, pohybovala v přibližně stejném rozmezí (16,46 mm – 20,58 mm).
- V průměrných hodnotách váhy čerstvé nadzemní hmoty a sušiny byl zaznamenán signifikantní rozdíl oproti kontrolní variantě. Mezi vzorky ošetřenými melatoninem a neošetřenou variantou nebyl průkazný rozdíl.
- Nejlepší variantou, která byla ošetřena melatoninem, napříč sledovaným parametřům byla D – 1 mM.
- Nejhorší variantou byla C – 0,1 M s nejvyšší koncentrací melatoninu, zde nevyklíčilo ani jedno semeno, všechna kritéria tak dosahovala nulových hodnot.

V posledních letech je vytvářen značný tlak na produkci plodin, z důvodu působení stále častějších klimatických změn a potřeby zajistit potravinovou bezpečnost. Důležité je vyvíjení snahy o transformaci zemědělství a přijetí praktik udržitelného pěstování plodin. Řešením v boji proti abiotickým a biotickým stresovým faktorům je zapotřebí pokrok v technologii a nové přístupy. Proto by například inženýrství genů odpovědných za syntézu fytohormonů mohlo být přínosem ke zlepšení produktivity při působení stresových faktorů.

## 8 Literatura

- Arnao MB, Hernández-Ruiz J. 2015. Functions of melatonin in plants: a review. *Journal of Pineal Research* **59**:133–150.
- Acuna-Castroviejo D, Escames G, Leon J, Carazo A, Khaldy H. 2003. Mitochondrial regulation by melatonin and its metabolites. *Advances in Experimental Medicine and Biology* **527**:549–557.
- Alagna F, Balestrini R, Chitarra W, Marsico AD, Nerva L. 2020. Getting ready with the priming: Innovative weapons against biotic and abiotic crop enemies in a global changing scenario. Pages 35-56 in Hossain MA, Liu F, Burritt DJ, Fujita M, Huang B, editors. *Priming-Mediated Stress and Cross-Stress Tolerance in Crop Plants*. Academic Press, Cambridge, Massachusetts.
- Alkozi HA, Sánchez JM, Doadrio AL, Pintor J. 2017. Docking studies for melatonin receptors. *Expert Opinion on Drug Discovery* **13**:241–248.
- Back K, Tan D-X, Reiter RJ. 2016. Melatonin biosynthesis in plants: multiple pathways catalyze tryptophan to melatonin in the cytoplasm or chloroplasts. *Journal of Pineal Research* **61**:426–437.
- Back K. 2021. Melatonin metabolism, signaling and possible roles in plants. *Plant Journal* **105**:376–391.
- Bebber DP, Holmes T, Gurr SJ. 2014. The global spread of crop pests and pathogens. *Global Ecology and Biogeography* **23**:1398–1407.
- Bever JD, Mangan SA, Alexander HM. 2015. Maintenance of plant species diversity by pathogens. *Annual Reviews of Ecology, Evolution, and Systematics* **46**:305–325.
- Byeon Y, Back K. 2014. Melatonin synthesis in rice seedlings in vivo is enhanced at high temperatures and under dark conditions due to increased serotonin N-acetyltransferase and N-acetylserotonin methyltransferase activities. *Journal of Pineal Research* **56**:189–195.
- Byeon Y, Back K. 2015. Molecular cloning of melatonin 2-hydroxylase responsible for 2-hydroxymelatonin production in rice (*Oryza sativa*). *Journal of Pineal Research* **58**:343–351.
- Byeon Y, Lee HJ, Lee HY, Back K. 2016. Cloning and functional characterization of the *Arabidopsis* N-acetylserotonin O-methyltransferase responsible for melatonin synthesis. *Journal of Pineal Research* **60**:65–73.
- Byeon Y, Lee HY, Hwang OJ, Lee HJ, Lee K, Back K. 2015. Coordinated regulation of melatonin synthesis and degradation genes in rice leaves in response to cadmium treatment. *Journal of Pineal Research* **58**:470–478.
- Byeon Y, Lee HY, Lee K, Park S, Back K. 2014. Cellular localization and kinetics of the rice melatonin biosynthetic enzymes SNAT and ASMT. *Journal of Pineal Research* **56**:107–14.
- Constantin J, Dürr C, Tribouillois H, Justes E. 2015. Catch crop emergence success depends on weather and soil seedbed conditions in interaction with sowing date: a simulation study using the SIMPLE emergence model. *Field Crops Research* **176**:22–33.
- Couee I, Sulmon C, Gouesbet G, El Amrani A. 2006. Involvement of soluble sugars in reactive oxygen species balance and responses to oxidative stress in plants. *Journal of Experimental Botany* **57**:449–459.
- Cutler SR, Rodriguez PL, Finkelstein RR, Abrams SR. 2010. Abscisic acid: emergence of a core signaling network. *Annual Review of Plant Biology* **61**:651–679.
- Campobenedetto C, Mannino G, Agliassa C, Acquadro A, Contartese V, Garabello C, Berteau CM. 2020. Transcriptome Analyses and Antioxidant Activity Profiling Reveal the Role

- of a Lignin-Derived Biostimulant Seed Treatment in Enhancing Heat Stress Tolerance in Soybean. *Plants* **9**:1308. Multidisciplinary Digital Publishing Institute.
- Campos CN, Ávila RG, de Souza KRD, Azevedo LM, Alves JD. 2019. Melatonin reduces oxidative stress and promotes drought tolerance in young *Coffea arabica* L. plants. *Agricultural Water Management* **211**:37–47.
- Dill-Macky R, Jones RK. 2000. The Effect of Previous Crop Residues and Tillage on Fusarium Head Blight of Wheat. *Plant Disease* **84**:71–76. Scientific Societies.
- Dresselhaus T, Hückelhoven R. 2018. Biotic and Abiotic Stress Responses in Crop Plants. Pages 1-7 in Dresselhaus T, Hückelhoven R, editors. *Biotic and Abiotic Stress Responses in Crop Plants*. MDPI, Switzerland.
- Dubbels R, Reiter R, Klenke E, Goebel A, Schnakenberg E, Ehlers C, Schiwara HW, Schloot W. 1995. Melatonin in edible plants identified by radioimmunoassay and by high performance liquid chromatography-mass spectrometry. *Journal of Pineal Research* **18**:28–31.
- Dubocovich ML, Markowska M. 2005. Functional MT1 and MT2 melatonin receptors in mammals. *Endocrine* **27**:101–110.
- Fang Y, Zhang L, Jiao Y, Liao J, Luo L, Ji S, Li J, Dai K, Zhu S, Yang M. 2016. Tobacco Rotated with Rapeseed for Soil-Borne Phytophthora Pathogen Biocontrol: Mediated by Rapeseed Root Exudates. *Frontiers in Microbiology* **7**. Available from <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2016.00894> (accessed April 10, 2023).
- FAO. 2011. FAOSTAT. FAO, Rome. Available from <http://www.fao.org/faostat/> (accessed January 2023).
- FAO. 2017. FAOSTAT. FAO, Rome. Available from <http://www.fao.org/faostat/> (accessed January 2023).
- González Guzmán M, Cellini F, Fotopoulos V, Balestrini R, Arbona V. 2022. New approaches to improve crop tolerance to biotic and abiotic stresses. *Physiologia Plantarum* **174**. Available from <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/ppl.13547> (accessed April 6, 2023).
- Gentil J, Hempel F, Moog D, Zauner S, Maier U. 2017. Origin of complex algae by secondary endosymbiosis: a journey through time. *Protoplasma* **254**:1835–1843.
- Gull A, Lone AA, Wani NUI. 2019. Biotic and Abiotic Stresses in Plants. Pages 3-9 in de Oliveira AB, editors. *Abiotic and Biotic Stress in Plants*. IntechOpen, London.
- Hardeland R. 2016. Melatonin in Plants – Diversity of Levels and Multiplicity of Functions. *Frontiers in Plant Science* **7**. Available from <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2016.00198> (accessed April 10, 2023).
- Hardeland R, Cardinali DP, Srinivasan V, Spence DW, Brown GM, Pandi-Perumal SR. 2011. Melatonin—A pleiotropic, orchestrating regulator molecule. *Progress in Neurobiology* **93**:350–384.
- Hernández-Ruiz J, Cano A, Arnao MB. 2005. Melatonin acts as a growth-stimulating compound in some monocot species: Melatonin as growth promoter in plants. *Journal of Pineal Research* **39**:137–142.
- Hwang SF, Ahmed HU, Turnbull GD, Gossen BD, Strelkov SE. 2015. Effect of seeding date and depth, seed size and fungicide treatment on Fusarium and Pythium seedling blight of canola. *Canadian Journal of Plant Science* **95**:293–301. NRC Research Press.
- Hardeland R, Backhaus C, Fadavi A, Hess M. 2007. N1-acetyl-5-methoxykynuramine contrasts with other tryptophan metabolites by a peculiar type of NO scavenging: Cyclization to a cinnolinone prevents formation of unstable nitrosamines. *Journal of Pineal Research* **43**:104–105.

- Hattori A, Migitaka H, Iigo M, Itoh M, Yamamoto K, Ohtani-Kaneko R, Hara M, Suzuki T, Reiter RJ. 1995. Identification of melatonin in plants and its effects on plasma melatonin levels and binding to melatonin receptors in vertebrates. *Biochemistry and Molecular Biology International* **35**:627–34.
- Hernández-Ruiz J, Arnao MB. 2008. Distribution of melatonin in different zones of lupin and barley plants at different ages in the presence and absence of light. *Journal of Agricultural Food and Chemistry* **56**:10567–10573.
- Hernández-Ruiz J, Cano A, Arnao MB. 2005. Melatonin acts as a growth-stimulating compound in some monocot species. *Journal of Pineal Research* **39**:137–142.
- Hoekstra FA, Golovina EA, Buitink J. 2001. Mechanisms of plant desiccation tolerance. *Trends in Plant Science* **6**:431–438.
- Hu H, Xiong L. 2014. Genetic engineering and breeding of drought resistant crops. *Annual Review of Plant Biology* **65**:715–741.
- Chen Q, Qi W, Reiter RJ, Wei W, Wang B. 2009. Exogenously applied melatonin stimulates root growth and raises endogenous indoleacetic acid in roots of etiolated seedlings of *Brassica juncea*. *Journal of Plant Physiology* **166**:324–328.
- Christmann A, Grill E, Huang J. 2013. Hydraulic signals in long-distance signaling. *Current Opinion in Plant Biology* **16**:293–300.
- Imbesi M, Arslan AD, Yildiz S, Sharma R, Gavin D, Tun N, Manev H, Uz T. 2009. The melatonin receptor MT1 is required for the differential regulatory actions of melatonin on neuronal ‘clock’ gene expression in striatal neurons in vitro. *Journal of Pineal Research* **46**:87–94.
- Ioannou A, Gohari G, Papaphilippou P, Panahirad S, Akbari A, Dadpour MR, Krasia-Christoforou T, Fotopoulos V. 2020. Advanced nanomaterials in agriculture under a changing climate: the way to the future? *Environmental and Experimental Botany* **176**:104048.
- Isbell F, Adler PR, Eisenhauer N, Fornara D, Kimmel K, Kremen C, Letourneau DK, Liebman M, Polley HW, Quijas S, Scherer-Lorenzen M. 2017. Benefits of increasing plant diversity in sustainable agroecosystems. *Journal of Ecology* **105**: 871–879.
- Jiménez-Arias D, Borges AA, Luis JC, Valdés F, Sandalio LM, Pérez JA. 2015. Priming effect of menadione sodium bisulphite against salinity stress in *Arabidopsis* involves epigenetic changes in genes controlling proline metabolism. *Environmental and Experimental Botany* **120**:23–30.
- Johnson R, Puthur JT. 2021. Biostimulant priming in *Oryza sativa*: a novel approach to reprogram the functional biology under nutrient-deficient soil. *Cereal Research Communications* **50**:45–52.
- Kaur C, Sivakumar V, Ling EA. 2010. Melatonin protects periventricular white matter from damage due to hypoxia. *Journal of Pineal Research* **48**:185–193.
- Khaliq A, Hussain S, Matloob A, Tanveer A, Aslam F. 2013. Swine cress (*Cronopus didymus* L. Sm.) residues inhibit rice emergence and early seedling growth. *Philipp Agric Science* **4**:419–425.
- Kolář J, Johnson CH, Macháčková I. 1999. Presence and possible role of melatonin in a short-day flowering plant, *Chenopodium rubrum*. *Advances in Experimental Medicine and Biology* **460**:391–393.
- Kuromori T, Seo M, Shinozaki K. 2018. ABA Transport and Plant Water Stress Responses. *Trends Plant Science* **23**:513–522.
- Kathage J, Castañera P, Alonso-Prados JL, Gómez-Barbero M, Rodríguez-Cerezo E. 2018. The impact of restrictions on neonicotinoid and fipronil insecticides on pest management in maize, oilseed rape and sunflower in eight European Union regions. *Pest Management Science* **74**:88–99.

- Khan MN, Zhang J, Luo T, Liu J, Rizwan M, Fahad S, Xu Z, Hu L. 2019. Seed priming with melatonin coping drought stress in rapeseed by regulating reactive oxygen species detoxification: Antioxidant defense system, osmotic adjustment, stomatal traits and chloroplast ultrastructure perseveration. *Industrial Crops and Products* **140**:111597.
- Krasensky J, Jonak C. 2012. Drought, salt, and temperature stress-induced metabolic rearrangements and regulatory networks. *Journal of Experimental Botany* **63**:1593–1608.
- Kudla J, Becker D, Grill E, Hedrich R, Hippler M, Kummer U, Parniske M, Romeis T, Schumacher K. 2018. Advances and current challenges in calcium signaling. *New Phytologist* **218**:414–431.
- Laothong U, Pinlaor P, Hiraku Y, Boonsiri P, Prakobwong S, Khoontawad J, Pinlaor S. 2010. Protective effect of melatonin against *Opisthorchis viverrini*-induced oxidative and nitrosative DNA damage and liver injury in hamsters. *Journal of Pineal Research* **49**:271–282.
- Lee K, Zawadzka A, Czarnocki Z, Reiter RJ, Back K. 2016. Molecular cloning of melatonin 3-hydroxylase and its production of cyclic 3-hydroxymelatonin in rice (*Oryza sativa*). *Journal of Pineal Research* **61**:470–478.
- Li C, Tan DX, Liang D, Chang C, Jia D, Ma F. 2015. Melatonin mediates the regulation of ABA metabolism, free-radical scavenging, and stomatal behaviour in two *Malus* species under drought stress. *Journal of Experimental Botany* **66**:669–680.
- Li D, Wei J, Peng Z, Ma W, Yang Q, Song Z, Sun W, Yang W, Yuan L, Xu X. 2020. Daily rhythms of phytomelatonin signaling modulate diurnal stomatal closure via regulating reactive oxygen species dynamics in *Arabidopsis*. *Journal of Pineal Research* (e12640) DOI: <https://doi.org/10.1111/jpi.12640>.
- Lamichhane JR, Debaeke P, Steinberg C, You MP, Barbetti MJ, Aubertot J-N. 2018. Abiotic and biotic factors affecting crop seed germination and seedling emergence: a conceptual framework. *Plant and Soil* **432**:1–28.
- Lamichhane JR, Dürr C, Schwanck AA, Robin M-H, Sarthou J-P, Cellier V, Messéan A, Aubertot J-N. 2017. Integrated management of damping-off diseases. A review. *Agronomy for Sustainable Development* **37**:10.
- Larkin RP, Griffin TS, Honeycutt CW. 2010. Rotation and Cover Crop Effects on Soilborne Potato Diseases, Tuber Yield, and Soil Microbial Communities. *Plant Disease* **94**:1491–1502. Scientific Societies.
- Lee H-J, Back K. 2019. 2-Hydroxymelatonin confers tolerance against combined cold and drought stress in tobacco, tomato, and cucumber as a potent anti-stress compound in the evolution of land plants. *Melatonin Research* **2**:35–46.
- Li J, He Y-J, Zhou L, Liu Y, Jiang M, Ren L, Chen H. 2018. Transcriptome profiling of genes related to light-induced anthocyanin biosynthesis in eggplant (*Solanum melongena* L.) before purple color becomes evident. *BMC Genomics* **19**:201.
- Liang C, Li A, Yu H, Li W, Liang C, Guo S, Zhang R, Chu C. 2017. Melatonin Regulates Root Architecture by Modulating Auxin Response in Rice. *Frontiers in Plant Science* **8**. Available from <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2017.00134> (accessed April 10, 2023).
- Mannino G, Pernici C, Serio G, Gentile C, Berteà CM. 2021. Melatonin and Phytomelatonin: Chemistry, Biosynthesis, Metabolism, Distribution and Bioactivity in Plants and Animals—An Overview. *International Journal of Molecular Sciences* **22**:9996.
- McKenna TP, Koziol L, Bever JD, Crews TE, Sikes BA. 2020. Abiotic and biotic context dependency of perennial crop yield. *PLOS ONE* **15**:e0234546.
- Marin C, Weiner J. 2014. Effects of density and sowing pattern on weed suppression and grain yield in three varieties of maize under high weed pressure. *Weed Research* **54**:467–474.

- Mauch-Mani B, Baccelli I, Luna E, Flors V. 2017. Defense priming: an adaptive part of induced resistance. *Annual Review in Plant Biology* **68**:485–512.
- McKenna TP, Koziol L, Bever JD, Crews TE, Sikes BA. 2020. Abiotic and biotic context dependency of perennial crop yield. *PLOS ONE* **15**:e0234546.
- Meng JF, Xu TF, Wang ZZ, Fang YL, Xi ZM, Zhang ZW. 2014. The ameliorative effects of melatonin on maize growth and yield under drought stress. *Plant, Cell & Environment* **37**:103–112.
- Miller G, Suzuki N, Ciftci-Yilmaz S, Mittler R. 2010. Reactive oxygen species homeostasis and signalling during drought and salinity stresses. *Plant, Cell & Environment* **33**:453–467.
- Myoung B, Hee Kim S, Kim J, Kafatos M. 2016. Regional variations of optimal sowing dates of maize for the south-western U.S. *Trans American Society of Agricultural and Biological Engineers* **59**:1759.
- Nakashima K, Yamaguchi-Shinozaki K, Shinozaki K. 2014. The transcriptional regulatory network in the drought response and its crosstalk in abiotic stress responses including drought, cold, and heat. *Frontiers in Plant Science* **5**. Available from <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2014.00170> (accessed April 10, 2023).
- Nopparat C, Porter JE, Ebadi M, Govitrapong P. 2010. The mechanism for the neuroprotective effect of melatonin against methamphetamine-induced autophagy. *Journal of Pineal Research* **49**:382–389.
- of exogenous melatonin on grape cuttings under water deficient stress: antioxidant metabolites, leaf anatomy, and chloroplast morphology. *Journal of Pineal Research* **57**:200–212.
- Oliveira APP, Pereira SR, Candido ACS, Laura VA, Peres MTL. 2016. Can allelopathic grasses limit seed germination and seedling growth of mutambo? A test with two species of brachiaria grasses. *Planta Daninha* **34**:639–648.
- Olsen J, Weiner J. 2007. The influence of *Triticum aestivum* density, sowing pattern and nitrogen fertilization on leaf area index and its spatial variation. *Basic and Applied Ecology* **8**:252–257.
- Onyekachi OG, Boniface OO, Gemlack NF, Nicholas N. 2019. The Effect of Climate Change on Abiotic Plant Stress. Pages 71-85 in de Oliveira AB, editors. *Abiotic and Biotic Stress in Plants*. IntechOpen, London.
- Pandey P, Irulappan V, Bagavathiannan MV, Senthil-Kumar M. 2017. Impact of Combined Abiotic and Biotic Stresses on Plant Growth and Avenues for Crop Improvement by Exploiting Physio-morphological Traits. *Frontiers in Plant Science* **8**. Available from <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fpls.2017.00537/full> (accessed April 6, 2023).
- Prasad A, Senthil-Kumar M, Prasad M. 2021. Complex molecular mechanisms determine fitness of plants to biotic and abiotic stresses. *Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology* **30**:633–635.
- Paparella S, Araújo SS, Rossi G, Wijayasinghe M, Carbonera D, Balestrazzi A. 2015. Seed priming: state of the art and new perspectives. *Plant Cell Reports* **34**:1281–1293.
- Park M, Kang K, Park S, Back K. 2008. Conversion of 5-hydroxytryptophan into serotonin by tryptophan decarboxylase in plants, *Escherichia coli*, and yeast. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* **72**:2456–2458.
- Pelagio-Flores R, Muñoz-Parra E, Ortiz-Castro R, López-Bucio J. 2012. Melatonin regulates *Arabidopsis* root system architecture likely acting independently of auxin signaling. *Journal of Pineal Research* **53**:279–288.
- Peters K, Breitsameter L, Gerowitt B. 2014. Impact of climate change on weeds in agriculture: a review. *Agronomy for Sustainable Development* **34**:707–721.

- Posmyk MM, Balabusta M, Wieczorek M, Sliwinska E, Janas KM. 2009. Melatonin applied to cucumber (*Cucumis sativus* L.) seeds improves germination during chilling stress. *Journal of Pineal Research* **46**:214–223.
- Posmyk MM, Janas KM. 2009. Melatonin in plants. *Acta Physiologiae Plantarum* **31**:1–11.
- Reiter RJ, Tan DX, Rosales-Corral S, Galano A, Jou M-J, Acuna-Castroviejo D. 2018. Melatonin Mitigates Mitochondrial Meltdown: Interactions with SIRT3. *International Journal of Molecular Sciences* **19**:2439. Multidisciplinary Digital Publishing Institute.
- Ryan MR, Crews TE, Culman SW, DeHaan LR, Hayes RC, Jungers JM, Bakker MG. 2018. Managing for Multifunctionality in Perennial Grain Crops. *BioScience* **68**:294–304.
- Ramegowda V, Senthil-Kumar M. 2015. The interactive effects of simultaneous biotic and abiotic stresses on plants: Mechanistic understanding from drought and pathogen combination. *Journal of Plant Physiology* **176**:47–54.
- Romero A, Egea J, Garcia AG, Lopez MG. 2010. Synergistic neuroprotective effect of combined low concentrations of galantamine and melatonin against oxidative stress in SH-SY5Y neuroblastoma cells. *Journal of Pineal Research* **49**:141–148.
- Rondanini DP, Menendez YC, Gomez NV, Miralles DJ, Botto JF. 2017. Vegetative plasticity and floral branching compensate low plant density in modern spring rapeseed. *Field Crop Research* **210**:104–113.
- Saleethong P, Roytrakul S, Kong-Ngern K, Theerakulpisut P. 2016. Differential Proteins Expressed in Rice Leaves and Grains in Response to Salinity and Exogenous Spermidine Treatments. *Rice Science* **23**:9–21.
- Sarropoulou V, Dimassi-Theriou K, Therios I, Koukourikou-Petridou M. 2012. Melatonin enhances root regeneration, photosynthetic pigments, biomass, total carbohydrates and proline content in the cherry rootstock PHL-C (*Prunus avium* × *Prunus cerasus*). *Plant Physiology and Biochemistry* **61**:162–168.
- Sako K, Nguyen HM, Seki M. 2020. Advances in chemical priming to enhance abiotic stress tolerance in plants. *Plant and Cell Physiology* **61**:1995–2003.
- Shi L, Tu BP. 2015. Acetyl-CoA and the regulation of metabolism: mechanisms and consequences. *Current Opinion in Cell Biology* **33**:125–31.
- Shiu SY, Pang B, Tam CW, Yao KM. 2010. Signal transduction of receptor-mediated antiproliferative action of melatonin on human prostate epithelial cells involves dual activation of Galpha(s) and Galpha(q) proteins. *Journal of Pineal Research* **49**:301–311.
- Schaefer M, Hardeland R. 2009. The melatonin metabolite N-acetyl- 5-methoxykynuramine is a potent singlet oxygen scavenger. *Journal of Pineal Research* **46**:49–52.
- Scherm H, Coakley SM. 2003. Plant pathogens in a changing world. *Australasian Plant Pathology* **32**:157–165.
- Schillinger WF, Schofstoll SE, Smith TA, Jacobsen JA. 2017. Laboratory method to evaluate wheat seedling emergence from deep planting depths. *Agronomy Journal* **109**:2004–2010.
- Sieling K, Böttcher U, Kage H. 2017. Sowing date and N application effects on tap root and above-ground dry matter of winter oilseed rape in autumn. *European Journal of Agronomy* **83**:40–46.
- Slominski RM, Reiter RJ, Schlabritz-Loutsevitch N, Ostrom RS, Slominski AT. 2012. Melatonin membrane receptors in peripheral tissues: Distribution and functions. *Molecular and Cellular Endocrinology* **351**:152–66.
- Sharma A, Negi NP, Raina M, Supolia D, Mahajan A, Rajwanshi R, Gautam V, Bhagat B, Kakoria H, Kumar D. 2022. Phytomelatonin: Molecular messenger for stress perception and response in plants. *Environmental and Experimental Botany* **201**:104980.
- Swann ALS. 2018. Plants and Drought in a Changing Climate. *Current Climate Change Reports* **4**:192–201.

- Takahashi F, Kuromori T, Urano K, Yamaguchi-Shinozaki K, Shinozaki K. 2020. Drought Stress Responses and Resistance in Plants: From Cellular Responses to Long-Distance Intercellular Communication. *Frontiers in Plant Science* **11**:556972.
- Takahashi F, Shinozaki K. 2019. Long-distance signaling in plant stress response. *Current Opinion in Plant Biology* **47**:106–111.
- Tan D-X, Hardeland R, Back K, Manchester LC, Alatorre-Jimenez MA, Reiter RJ. 2016. On the significance of an alternate pathway of melatonin synthesis via 5-methoxytryptamine: comparisons across species. *Journal of Pineal Research* **61**:27–40.
- Tadele Z. 2019. Orphan crops: their importance and the urgency of improvement. *Planta* **250**:677–694.
- Tan DX, Hardeland R, Manchester LC, Paredes SD, Korkmaz A, Sainz RM, Mayo JC, Fuentes-Broto L, Reiter RJ. 2010. The changing biological roles of melatonin during evolution: from an antioxidant to signals of darkness, sexual selection and fitness. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society* **85**:607–623.
- Tan DX, Reiter RJ, Manchester LC, Yan MT, El-Sawi M, Sainz RM, Mayo JC, Kohen R, Allegra M, Hardeland R. 2002. Chemical and physical properties and potential mechanisms: melatonin as a broad spectrum antioxidant and free radical scavenger. *Current Topics in Medicinal Chemistry* **2**:181–197.
- Trenberth K, Dai A, van der Schrier G, Jones P, Barichivich J, Briffa K, Sheffield J. 2014. Global warming and changes in drought. *Nature Climate Change* **4**:17–22.
- Tan D-X, Hardeland R, Manchester LC, Korkmaz A, Ma S, Rosales-Corral S, Reiter RJ. 2012. Functional roles of melatonin in plants, and perspectives in nutritional and agricultural science. *Journal of Experimental Botany* **63**:577–597.
- Valerio M, Lovelli S, Perniola M, Di Tommaso T, Ziska L. 2013. The role of water availability on weed–crop interactions in processing tomato for southern Italy. *Acta Agriculture Scandinavica Section B* **63**:62–68.
- Wang G, Schultz P, Tipton A, Zhang J, Zhang F, Bever JD. 2019. Soil microbiome mediates positive plant diversity-productivity relationships in late successional grassland species. *Ecology Letters* **22**: 1221–1232.
- Wei Y, Chang Y, Zeng H, Liu G, He C, Shi H. 2018. RAV transcription factors are essential for disease resistance against cassava bacterial blight via activation of melatonin biosynthesis genes. *Journal of Pineal Research* **64**:12454.
- Wuest SB, Albrecht SL, Skirvin KW. 2000. Crop residue position and interference with wheat seedling development. *Soil and Tillage Research* **55**:175–182.
- Yamazaki M, Iwamoto S, Seiwa K. 2009. Distance- and density- dependent seedling mortality caused by several diseases in eight tree species co-occurring in a temperate forest. *Forest Ecology* **201**:181–196.
- Zhang N, Zhao B, Zhang H-J, Weeda S, Yang C, Yang Z-C, Ren S, Guo Y-D. 2013. Melatonin promotes water-stress tolerance, lateral root formation, and seed germination in cucumber (*Cucumis sativus* L.): *Melatonin alleviates water stress in cucumber*. *Journal of Pineal Research* **54**:15–23.
- Zhang R, Hu X, Baskin JM, Baskin CC, Wang Y. 2017. Effects of litter on seedling emergence and seed persistence of three common species on the loess plateau in northwestern China. *Frontiers in Plant Science* **8**: 103.
- Zhang N, Sun Q, Zhang H, Cao Y, Weeda S, Ren S, Guo Y. 2015. Roles of melatonin in abiotic stress resistance in plants. *Journal of Experimental Botany* **66**:647–56.
- Zhang LJ, Jia JF, Hao JG, Cen JR, Li TK. 2011. A modified protocol for the comet assay allowing the processing of multiple samples. *Mutation Research* **721**:153–156.
- Zhao D, Wang H, Chen S, Yu D, Reiter RJ. 2021. Phytomelatonin: An Emerging Regulator of Plant Biotic Stress Resistance. *Trends in Plant Science* **26**:70–82.



- Zhao D, Yu Y, Shen Y, Liu Q, Zhao Z, Sharma R, Reiter RJ. 2019. Melatonin Synthesis and Function: Evolutionary History in Animals and Plants. *Frontiers in Endocrinology* **10**:249.
- Zhao Y, Qi LW, Wang WM, Saxena PK, Liu CZ. 2011. Melatonin improves the survival of cryopreserved callus of *Rhodiola crenulata*. *Journal of Pineal Research* **50**:83–88.
- Zhou Y, Liao L, Liu X, Liu B, Chen X, Guo Y, Huang C, Zhao Y, Zeng Z. 2020. Crystal structure of *Oryza sativa* TDC reveals the substrate specificity for TDC-mediated melatonin biosynthesis. *Journal of Advances Research* **24**:501–511.
- Zhu J, Werf W van der, Vos J, Anten NPR, Putten PEL van der, Evers JB. 2016. High productivity of wheat intercropped with maize is associated with plant architectural responses. *Annals of Applied Biology* **68**: 357–372.
- Ziska LH, Tomecek MB, Gealy DR. 2010. Evaluation of competitive ability between cultivated and red weedy rice as a function of recent and projected increases in atmospheric CO<sub>2</sub>. *Agronomy Journal* **102**:118–123.

## 9 Seznam obrázků

Obrázek 1 Chemická struktura melatoninu (Mannino et al. 2021) .....	19
Obrázek 2 Tvorba esenciálního meziproduktu serotoninu (Mannino et al. 2021) .....	22
Obrázek 3 Poslední dvě reakce vedoucí ke vzniku melatoninu (Mannino et al. 2021).....	23
Obrázek 4, 5 Příprava pšenice seté do Petriho misky k naklíčení (autor práce) .....	29
Obrázek 6 Pšenice setá – varianta A (kontrola) (autor práce) .....	30
Obrázek 7, 8 Pšenice setá po vyklíčení – varianta A (vlevo), C (vpravo) (autor práce) .....	34
Obrázek 9, 10 Pšenice setá po vyklíčení – varianta D (vlevo), E (vpravo) (autor práce) .....	34
Obrázek 11 Pšenice setá po vyklíčení – varianta F (autor práce) .....	34

## 10 Seznam grafů

Graf 1 Počet vyklíčených semen pšenice seté; $F(6, 28) = 80,989$ , $p = 0,00000$ .....	30
Graf 2 Průměrná délka koleoptile semen pšenice seté; $F(6, 28) = 25,962$ , $p = 0,00000$ .....	31
Graf 3 Průměrná délka kořínků semen pšenice seté; $F(6, 28) = 34,412$ , $p = 0,00000$ .....	32
Graf 4 Průměrná hmotnost čerstvé nadzemní hmoty – koleoptile; $F(6, 28) = 130,28$ , $p = 0,00000$ .....	34
Graf 5 Průměrná hmotnost čerstvé podzemní hmoty – kořínky; $F(6, 28) = 12,709$ , $p = 0,00000$ .....	35
Graf 6 Hmotnost sušiny klíčnic rostlin pšenice seté – koleoptile; $F(6, 28) = 60,693$ , $p = 0,00000$ .....	36
Graf 7 Hmotnost sušiny klíčnic rostlin pšenice seté – kořínky; $F(6, 28) = 8,1322$ , $p = 0,00004$ .....	37