

**SLOVENSKÁ POĽNOHOSPODÁRSKA UNIVERZITA
V NITRE**

FAKULTA AGROBIOLÓGIE A POTRAVINOVÝCH ZDROJOV

Katedra fyziológie rastlín

**Využitie diverzity fyziologických reakcií pre skrining
genotypov pšenice tolerantných na sucho**

Autoreferát dizertačnej práce
na získanie vedecko-akademickej hodnosti philosophiae doctor
vo vednom odbore: 41-31-9 Fyziológia plodín a drevín

Ing. Marek Živčák

Nitra, 2006

Dizertačná práca bola vypracovaná v internej forme doktorandského štúdia na Katedre fyziológie rastlín Fakulty agrobiológie a potravinových zdrojov Slovenskej poľnohospodárskej univerzity v Nitre.

Doktorand: *Ing. Marek Živčák*
Katedra fyziológie rastlín
Fakulta agrobiológie a potravinových zdrojov
Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre

Vedúci dizertačnej práce: *doc. Ing. Marián Brestič, CSc.*
Katedra fyziológie rastlín
Fakulta agrobiológie a potravinových zdrojov
Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre

Oponenti: Prof. RNDr. Ing. Michal V. Marek, DrSc.
Ústav systémové biologie a ekologie AV ČR, Brno

RNDr. Miroslava Luxová, CSc.
Botanický ústav SAV, Bratislava

Ing. Jozef Vidovič, CSc.
VÚRV Piešťany

Autoreferát bol odoslaný dňa:

Stanovisko k dizertácii vypracovala Katedra fyziológie rastlín, Fakulta agrobiológie a potravinových zdrojov, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre.

Obhajoba doktorandskej dizertácie sa koná dňa.....o.....h pred komisiou pre obhajobu dizertačných práce vedného odboru 41-31-9 Fyziológia plodín a drevín na Fakulte agrobiológie a potravinových zdrojov, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre.

Miesto konania: Katedra fyziológie rastlín
Fakulta agrobiológie a potravinových zdrojov
Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre
Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra

Miestnosť:

S dizertačnou prácou sa možno oboznámiť na dekanáte Fakulty agrobiológie a potravinových zdrojov.

Predseda komisie pre obhajoby vo vednom odbore 41-31-9

doc. Ing. Marián Brestič, CSc.
Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre

1.

ABSTRAKT

V rokoch 2003-2005 boli uskutočnené nádobové vegetačné a laboratórne experimenty so siedmimi odrodami pšenice letnej f. ozimnej (*Triticum aestivum* L.) domácej a zahraničnej proveniencie. Cieľom práce bolo kvantifikovať význam vybraných fyziologických parametrov pre udržanie produktivity rastlín v podmienkach sucha z pohľadu tvorby nových ekostabilných genotypov.

Boli testované parametre čistej fotosyntézy, difúznej vodivosti listov, rýchlej kinetiky fluorescencie chlorofylu *a*, vodného stavu v listoch, osmotického prispôsobenia, rastovo-fenologické znaky a úrodové ukazovatele.

Zaznamenali sme rozdielne protokoly pôsobenia vysokej teploty a sucha na fotosyntetický aparát. Vysoká teplota mala výrazný účinok na primárne procesy fotosyntézy, kým účinok vodného stresu bol zmiernovaný osmotickou úpravou a aktivitou prieduchov. V dizertačnej práci sa diskutuje regulácia mechanizmov fotosyntézy a citlivosť jednotlivých parametrov charakterizujúcich špecifickosť genotypov z hľadiska rastovo-produkčného procesu a efektívnosti využívania vody.

Teplota 40°C umožnila rozlíšiť genotypy na základe ich termostability. Zistili sme, že parametrom vhodným pre determináciu pôsobenia teplotného stresu a rozdielov v termostabilite fotosyntetického aparátu medzi odrodami je maximálny kvantový výťažok fotochémiie Fv/Fm. Deficit vody sa prejavuje len pozvoľnými zmenami fluorescenčných OJIP-kriviek. Najcitlivejším parametrom determinujúcim účinok vodného stresu a schopným odlíšiť citlivosť odrôd sa ukázal byť Performance Index (PI).

Zatváranie prieduchov bolo jednou z najrýchlejších sa prejavujúcich reakcií na vodný stres. Zaznamenali sme, že sa odrody líšia v citlivosti prieduchov na nastupujúci vodný deficit, čo je príčinou rozdielnej čistej asimilácie CO₂. Nižšie priemerné hodnoty difúznej vodivosti kontrolných rastlín boli priaznivou vlastnosťou preukazuje súvisiacou s nižším relatívnym poklesom úrod následkom stresu, čo je spojené s rozdielnou efektívnosťou využitia vody.

Sledované odrody sa líšili aj v kapacite pre osmotické prispôsobenie, pričom sme identifikovali skupinu odrôd s nízkym a vysokým osmotickým prispôobením. Tento znak bol spojený so schopnosťou odrôd udržať si vyššie hodnoty difúznej vodivosti prieduchov a tým aj rýchlosti čistej fotosyntézy v priebehu vodného stresu.

Vodný stres výrazne ovplyvnil hospodárske úrody odrôd pšenice vo všetkých troch sledovaných rokoch a to redukciou na úrovni počtu zŕn v klase a hmotnosť tisíc zŕn. Pozorovali sme aj rozdiely v naplňaní jednotlivých sinkov v klasoch odrôd spôsobené deficitom vody.

Zaznamenali sme rôznu mieru korelácie jednotlivých fyziologických znakov s úrodami odrôd v podmienkach sucha. Znakom s najvyššou úrovňou korelácie bol fenologický posun kritických fenofáz do skoršieho obdobia, čo malo dopad predovšetkým na redukcii úrodotvorného prvku počet zŕn v klase.

Zaradenie vybraných znakov do šľachtiteľského procesu môže napomôcť tvorbe nových, ekostabilnejších genotypov.

Kľúčové slová: pšenica, sucho, fotosyntéza, fluorescencia chlorofylu, osmotické prispôsobenie, fenológia, teplotný stres, vodivosť prieduchov, úroda

ABSTRACT

In seasons 2003-2005 were performed vegetation pot trials and laboratory experiments with seven genotypes of winter wheat (*Triticum aestivum* L.) of different provenance. The aim of our work was quantification of importance of selected physiological parameters for maintenance of plant productivity in drought conditions in terms of creation of new ecostable genotypes.

Parameters of net photosynthesis, stomatal conductance, fast chlorophyll *a* fluorescence kinetics, leave water status, osmotic adjustment, growth, phenology and yield were determined.

We observed different ways of heat and drought effect on photosynthetic apparatus. High temperature had pronounced effect on primary processes of photosynthesis, whereas the effect of drought stress was alleviated by osmotic adjustment and stomatal activity. In the dissertation thesis we discuss the regulation of photosynthetic mechanisms and sensitivity of individual parameters, which characterize genotypic specificity in terms of growth and production process and water use efficiency.

The temperature treatment at 40°C allows distinguishing genotypes upon their thermostability. We determined that maximum quantum yield of photochemistry Fv/Fm represents a suitable parameter for determination of heat stress effects and differences among genotypes induced by heat. Water deficit initiates only moderate changes in OJIP-transient. The Performance Index (PI) is the most sensitive parameter recording drought stress effects and genotypic differences in drought susceptibility.

Stomatal closure was one of the most rapid reactions induced by water deficit. The varieties differed in sensitivity of stomatal closure; it is reason of different values of CO₂ net assimilation rate. Lower non-stressed values of stomatal conductance of observed varieties were a suitable character correlated with lower relative yield decrease during drought stress. This trait is associated with different water use efficiency in genotypes.

Observed varieties differed in capacity for osmotic adjustment. We identified groups of genotypes with high and low osmotic adjustment. Higher values of this trait were associated with delayed stomatal closure and higher values of net assimilation rate during drought stress.

Water deficit influenced the grain yield of wheat cultivars in all of three observed years. Affected yield producing elements were number of kernels per spike and grain mass. We observed also genotypic differences in filling of sinks in spike caused by drought stress.

We observed different values of correlation indices between evaluated traits and yield decrease caused by drought. The best correlated trait was phenology. The shift of the most sensitive phenophases of heading and anthesis has impact especially on number of kernels per spike.

Integration of selected traits into breeding process could help in creation of new, more eco-stable genotypes.

Key words: wheat, drought stress, chlorophyll fluorescence, osmotic adjustment, photosynthesis, phenology, heat stress, stomatal conductance, proline, yield, genotypes

ÚVOD

V celosvetovom meradle sucho patrí k najzávažnejším faktorom limitujúcim úrody hlavných poľnohospodárskych plodín. I keď v našich podmienkach ešte nepredstavuje tak vážny problém, predsa čoraz častejšie sa vyskytujúce obdobia deficitu vody spôsobujú škody, ktoré sa vyčísľujú na stovky miliónov. Jedným z najmenej nákladných riešení je využitie genotypov, ktoré aj v sťažených podmienkach prinesú spoľahlivé úrody s primeranou kvalitou.

Hľadanie vhodných, spoľahlivých a univerzálne použiteľných kritérií hodnotenia tolerancie na sucho je veľmi zložitý proces, ktorý si vyžaduje komplexné poznanie fyziologických, ale aj biochemických a genetických zákonitostí reakcií rastlín na vodný deficit. Musí byť podložené množstvom experimentálnych výsledkov konfrontovaných s výsledkami výskumov bežiacich vo svete.

V práci na vybraných, vysoko produktívnych genotypoch rôzneho pôvodu sme sa pokúsili identifikovať mechanizmy tolerancie k suchu a vysokej teplote a stanoviť ich význam pre celkovú toleranciu a vysokú produktivitu.

2. PREHĽAD O SÚČASNOM STAVE RIEŠENEJ PROBLEMATIKY

V meniacich sa podmienkach prostredia narastá potreba využívania odrôd schopných tolerovať nepriaznivé faktory prostredia, predovšetkým sucho v rôznych fenofázach rastu. Všeobecne sa pri skríningu genotypov na toleranciu k menej priaznivým abiotickým a biotickým faktorom prostredia dostáva do popredia fyziologický prístup. Umožňuje pracovať s väčšou šírkou genotypov než klasický agronomický prístup zameraný na úrodu, čím urýchľuje šľachtiteľský proces. Zvlášť významné je to pri tak komplexnom faktore, ako je sucho, kde sa ešte nepodarilo presne špecifikovať genetickú podmienenosť (Reynolds et al., 2001). Hospodárska úroda z hľadiska skríningu obilnín, aj keď je rozhodujúca, determinuje ich dopad bez poznania mechanizmu účinku dosiahnutej reakcie na nepriaznivé podmienky prostredia (Kostrej et al., 2000). Využitie fyziologických znakov je pružnejšie, avšak je nutné vnímať ich komplexne. Môžu byť viac ako len doplnením a urýchlením empirického šľachtiteľského programu. Identifikácia limitujúcich faktorov môže upozorniť na fyziologické znaky, ktoré môže šľachtiteľ využiť ako nepriame selekčné kritériá. Aby mohol byť znak využiteľný ako selekčné kritérium, musí vykazovať dostatočnú genetickú variabilitu, mať veľkú genetickú koreláciu s úrodnosťou v nepriaznivých podmienkach, navyše hodnotenie týchto znakov musí byť rýchle, jednoduché a čo najmenej nákladné. Nie každý fyziologický znak má pre každú plodinu priamy a preukazný vplyv na produktivitu v priaznivých alebo nepriaznivých podmienkach – najmä znaky na nižších úrovniach organizácie (Araus et al., 2002).

Znaky potenciálne využiteľné ako fyziologické kritériá pre toleranciu na sucho môžeme rozdeliť na niekoľko skupín, odvodených od realizovaného obranného mechanizmu. Prvou skupinou znakov sú rastové a fenologické ukazovatele. Na rozdiel od ostatných skupín znakov predstavujú mechanizmus úniku (escape) pred nepriaznivými podmienkami prostredia. Unik je veľmi významný v prostrediach, v ktorých sa vyskytuje deficit vody v neskorších etapách vegetačného obdobia (Richards et al., 2001).

Pre minimalizáciu strát vody pri príjme nevyhnutného množstva CO₂ pre fotosyntézu slúži v prvom rade prieduchová regulácia výmeny plynov medzi listom a okolitým vzduchom. Prieduchy hrajú kľúčovú úlohu v aklimácii a adaptácii rastlín na ich

prostredie. Intenzívne reagujú na početné impulzy z prostredia (intenzitu a kvalitu svetla, CO₂, O₂, teplotu a relatívnu vlhkosť vzduchu, pôdnu zásobenosť vodou) ako aj na vnútorné pomery v rastline. Zohrávajú dôležitú úlohu v procese asimilácie – prostredníctvom ich prioritnej regulácie vodného režimu a prieniku CO₂ do rastliny. Zvýšená vodivosť prieduchov nie je len priamou výhodou pre fotosyntézu, ale znižuje teplotu porastu a predstavuje typ tolerancie k vysokým teplotám počas horúcich dní (Fischer et al., 1998).

S otvorenosťou prieduchov je úzko spätá aj transpirácia rastlín. Efektívnosť využitia vody pre fotosyntézu (WUE) daná pomerom fotosyntézy a transpirácie sa využíva ako kritérium pre hodnotenie suchovzdornosti genotypov. V podmienkach s nedostatkom vody je vysoká hodnota WUE nevyhnutná pre dosiahnutie vysokých úrod.

Efektívnym mechanizmom udržiavajúcim vodu v listoch je heterogenita v zatváraní prieduchov. Vyskytuje sa v prvej fáze dehydratácie, kedy umožňuje pokračovanie fotosyntetickej asimilácie až do štádia, keď dochádza k úplnému zatvoreniu prieduchov a pokles asimilácie CO₂ pod úroveň kompenzačného bodu (Brestič a Olšovská, 2001).

Pri hodnotení vplyvu sucha na fotosyntézu okrem aktivity prieduchov, ktorej význam nemožno poprieť (tzv. stomatický efekt), sa často diskutuje aj o tzv. nestomatickom efekte sucha na fotosyntézu. V poľných podmienkach sa pokles fotosyntézy ako dôsledok slabého až mierneho vodného stresu (po úroveň 70-75 % RWC) deje predovšetkým vplyvom zatvárania prieduchov. V počiatočných fázach, pri slabom a miernom vodnom strese je dominantná limitácia fotosyntézy určená zatvorením prieduchov. Následne, s inhibíciou metabolických procesov dochádza k poklesu obsahu RuBP, ktorý sa stáva hlavným limitujúcim faktorom pri silnom vodnom strese (Flexas a Medrano, 2002).

Osmotické prispôbenie (adjustácia) je jedným z dôležitých mechanizmov rezistencie voči suchu. Osmotické prispôbenie predstavuje znižovanie osmotického potenciálu v bunke akumuláciou molekúl rozpustných látok (Munns, 1988). Zvyšuje toleranciu k dehydratácii, čím sa predlžuje obdobie prežívania rastlín v podmienkach silného sucha. Zabezpečuje zachovanie turgoru a jeho stratu až pri nižších hodnotách vodného potenciálu. To je potrebné napríklad pre otváranie prieduchov, priebeh fotosyntézy a predlžovací rast (Blum, 1996). Jednou z významných funkcií osmotického prispôbenia však môže byť ochrana koreňových špičiek a ich rast pri znižovaní obsahu vody v pôde, čím sa korene dostávajú hlbšie do pôdy a zvyšuje sa tak dostupnosť pôdnej vody (Sinclair a Muchow, 2001).

Akumulácia prolínu je reakciou rastlín na vodný deficit, aj keď niektoré druhy reagujú syntézou iných metabolitov, predovšetkým cukrov, zložitejších alkoholov, betaínu. Schopnosť akumulovať tieto skupiny komponentov je viac-menej druhovo špecifická. Hare a Cress (1997) však uvádzajú, že obsah voľného prolínu v cytoplazme je nedostatočný pre dosiahnutie biofyzikálnych efektov, ako je sprostredkovanie osmotického prispôbenia, stabilizácia subcelulárnych štruktúr a zachytávanie voľných radikálov. V poslednom období sa však objavili práce, popisujúce úlohy prolínu priamo v redoxnom systéme počas vodného stresu. Hare et al. (1998) uvádza, že syntéza prolínu a glycín-betaínu pôsobi ako pufoer pre bunkový redoxný potenciál.

Prolín slúžiť aj ako alternatívny elektrónový donor pre fotosystém II (PS II) ak dôjde k inhibícii alebo disociácii komplexu uvoľňujúceho kyslík (OEC) vplyvom vysokých teplôt alebo iných stresových faktorov. Takto zvýšená akumulácia prolínu prispieva k

ochrane pred fotoinhibíciou a vylepšuje aj energetický stav rastlinných buniek pri ich regenerácii po uplynutí stresu (De Ronde et al., 2004).

V prirodzených podmienkach sú rastliny vystavené viacerým stresovým faktorom súčasne, pričom spolu so suchom nastupuje aj žiarenie a vysoká teplota. Kombinácia silného žiarenia (prípadne aj teploty) s obmedzením prístupu CO₂ do chloroplastu, predurčuje zníženie fotosyntézy rastlín a priebeh fotoinhibície. V takýchto podmienkach rýchlosť produkcie energie v primárnych procesoch fotosyntézy prekonáva rýchlosť jej spotreby v Calvinovom cykle. V rastlinách sa vyvinuli protekčné mechanizmy predchádzajúce produkcii nadbytočnej energie redukujúcich ekvivalentov, predstavujúce dôležité stratégie počas vodného stresu. Obranným mechanizmom pred nadmerným žiarením, zvlášť potrebným v podmienkach deficitu vody, je tzv. xantofylový cyklus (Horton et al., 1994). Tento metabolický proces je kompetitívny k fotochemickým procesom v spotrebe absorbovanej energie, čo vedie k zníženiu poklesu fotosyntézy meranej poklesom kvantového výťažku PS II. Chemicky predstavuje premenu deepoxidovaných komponentov xantofylového cyklu – anteraxantínu a zeaxantínu na violaxantín v priebehu dňa, čo je spojené s nefotochemickou disipáciou nadbytočnej energie žiarenia vo forme tepla.

Reakcie rastlín na suchu v letnom období taktiež zahŕňajú aj prispôsobenie sa stresom spojených s vysokou teplotou. Na vysokú teplotu je citlivých viacero fyziologicko-metabolických procesov v rastline. Je dobre zdokumentované, že vysoké teploty inhibujú fotosyntetickú fixáciu CO₂ bez zníženia vodivosti prieduchov, a to cestou poškodenia fotosyntetického elektrónového transportu, obzvlášť na strane PS II (Havaux a Tardy, 1996) alebo inhibíciou Rubisco aktivázy (Crafts-Brandner a Law, 2000).

Vplyv sucha na formovanie hospodárskej úrody a jej parametrov počas ontogenézy závisí od jeho nástupu a priebehu. Pri nástupe vodného stresu pred kvitnutím dochádza k poklesu počtu produktívnych klasov a poklesu počtu zŕn v klase, kým stres od kvitnutia po dozrievanie znižuje hmotnosť zŕn redukciou rýchlosti a skrátením obdobia naplňania zrna.

Aj pri vodnom deficite po kvitnutí zohráva dôležitú úlohu na jeho účinok čas nástupu stresu, čo súvisí s fázou vývinu zrna. Po kvitnutí nastupuje fáza aktívneho naplňania zŕn. Jeho prvou časťou je počiatočné pomalé naplňanie, ktoré trvá 15-18 dní po kvitnutí, nasleduje fáza rýchleho rastu a intenzívnej akumulácie sušiny zrna 18-35 dní po kvitnutí a končí sa fázou s trvale sa znižujúcou rýchlosťou rastu a pomalého naplňania zrna (Kostrej et al., 1998). Sucho postihuje úrodu zrna v najväčšej miere pri pôsobení v čase 1-14 dní po kvitnutí, kedy klesá tak počet zŕn ako aj hmotnosť zŕn. V období 15-28 dní po kvitnutí sa sucho prejavuje iba poklesom hmotnosti zŕn, v období dozrievania, 29-42 dní po kvitnutí už nenastáva pokles hmotnosti zŕn (Gooding et al., 2003).

Rastovo-morfologické zmeny rastlín počas sucha odrážajú citlivosť vzťahov zdroj – akceptor asimilátov, ktoré sa prejavujú v komplexe autoregulačných a kompenzačných reakcií a ktorých miera realizácie je závislá produkčného a adaptačného potenciálu odrôd. Hodnotenie akumulačného efektu sinkov sa ukazuje ako využiteľné kritérium hodnotenia tolerance genotypov na suchu (Brestič a Olšovská, 2001).

Merania fluorescencie chlorofylu majú široké spektrum uplatnení a poskytujú účinný prostriedok pre výskum transferu excitačnej energie, primárnej fotochémiie, toku elektrónov na donorovej aj akceptorovej strane fotosystému II, no súčasne sú efektívnou metódou pre rýchle zistenie mutácií PS II, inhibície či iného prispôsobenia sa stresom, či už teplotnému, vodnému stresu, stresu z nadmerného žiarenia, výživy či súčasných herbicídov (Govindjee, 1995). Meraným signálom je intenzita fluorescencie (vyjadrená v

relatívnych jednotkách) a najvýpovednejšie údaje sú odvodené z nárastu intenzity fluorescence dosiahnutej po aplikácii súvislého, prudkého svetla na predtým na tmu adaptovanú vzorku. Absorbovaná energia je prenášaná ako excitačná energia a je tiež zachytávaná v reakčnom centre a využitá ako energia pre chemické reakcie, alebo disipovaná hlavne ako teplo a menej ako emitované žiarenie – fluorescence. Hoci účinok každého faktoru na fluorescenciu je často nepriamy a nie je ho ľahko kvantifikovať a odlíšiť od iného faktoru, meranie fluorescence chlorofylu je úspešne používané na monitorovanie a popis širokej skupiny fotosyntetických javov (Strasser et al., 2000).

V praxi sa využívajú dve techniky merania fluorescence: priame meranie fluorescence a modulovaná fluorescence. Priame meranie je založené na rýchlej indukcii fluorescence dosiahnutej saturačným pulzom trvajúcim jednu sekundu, pričom fluorescence je počas jednej sekundy meraná v časových intervaloch od 10 μ s. Strasser et al. (1995) formulovali skupinu fluorescenčných parametrov, nazývanú JIP-test, ktorá kvantifikuje postupný tok energie cez fotosystém PS II, využitím vstupných dát z fluorescenčnej krivky. Bolo zistené, že keď je list adaptovaný na tmu náhle osvetlený vysokou intenzitou fotosynteticky aktívneho žiarenia (3000 μ mol.s⁻¹), fluorescenčná krivka vykazuje polyfázový rast, zahŕňajúci fázy O, J, I a P. Tvar O-J-I-P prechodu je veľmi citlivý na stres spôsobený zmenami rôznych environmentálnych podmienok, napr. intenzity svetla, teploty, sucha, obsahu atmosférického CO₂ alebo ozónu a na chemické vplyvy.

3. CIEĽ PRÁCE

Všeobecné ciele dizertačnej práce sú zamerané na charakterizovanie vlastností vybraných genotypov pšenice z hľadiska ich tolerance na suchu, štruktúrnych a funkčných zmien fotosyntetizujúcich listov a na úrovni celistvých rastlín.

Špecifické ciele sú spojené s kvantifikovaním významu fyziologických parametrov pre udržanie produktivity rastlín v podmienkach sucha, t.j.:

- fenologických a rastových zmien orgánov a ich rozdielnej citlivosti na modulované vodné deficity,
- vlastnosti prieduchov, limitácie čistej fotosyntézy, zmien produkčných parametrov a distribúcie sušiny,
- parametrov súvisiacich s efektívnejším využívaním vody počas sucha,
- kapacity pre osmotickú úpravu, stabilitu fotosyntetických membrán a molekulárneho pozadia vyššej tolerance na suchu,
- autoregulačných a kompenzačných schopností porastových rastlín.

Experimentálne merania smerujú k návrhu kritérií pre tvorbu ekostabilného genotypu na podmienky sucha.

4. METODIKA PRÁCE

V rokoch 2003-2005 boli realizované vegetačné nádobové a laboratórne pokusy s pšenicou letnou, f. ozimnou (*Triticum aestivum* L.), zastúpenou siedmimi odrodami domácej i zahraničnej proveniencie: 'Viginta', 'Ilona', 'Arida', 'Eva' (Slovensko), 'Pobeda' (Republika Srbsko a Čierna Hora), 'Stephens' (USA) a 'BU-9' (Francúzsko).

Vo vegetačných nádobových pokusoch boli sledované fyziologické reakcie rastlín jednotlivých genotypov na postupnú riadenú dehydratáciu v kritických štádiách rastlín vo

vzťahu k suchu. Merania počas dehydratácie boli realizované prevažne na zástavkovom liste. Počas vegetačného obdobia boli hodnotené aj rastové a fenologické ukazovatele jednotlivých odrôd, na konci vegetačného obdobia bola realizovaná analýza úrody.

Experimentálne merania a pozorovania v nádobových vegetačných pokusoch:

- Difúzna vodivosť – porometrom Delta T AP4 (Delta T, UK) na zástavkovom liste dehydratovaných a kontrolných rastlín.
- Rýchlosť čistej fotosyntézy P_N , difúzna vodivosť g_s a ďalšie parametre výmeny plynov merané gazometrom Ciras-2 (PP-systems, UK) na zástavkovom liste rastlín pšenice, stanovenie efektívnosti využitia vody WUE ako podiel rýchlosti čistej fotosyntézy a transpirácie – P_N/E a determinácia nestomatickej inhibície fotosyntézy pomocou pomeru rýchlosti čistej fotosyntézy a intercelulárneho obsahu CO_2 – P_N/C_i .
- Meranie hodnôt rýchlej fluorescence chlorofylu v podmienkach postupujúceho vodného stresu fluorimetrom HandyPEA (Hansatech, UK) na zástavkovom liste pšenice, analýza meraní pomocou parametrov JIP-testu (podľa Strasser et al., 1995).
- Stanovenie relatívneho obsahu vody (RWC) v listoch gravimetricky na základe aktuálnej hmotnosti vzorky listu, hmotnosti po štvorhodinovej saturácii v chlade a tme a hmotnosti sušiny (podľa Boyer, 1968).
- Stanovenie osmotického potenciálu listov (Ψ_s) na základe meraní psychrometrom Wescor HR-33 (Wescor, USA) po rozmrazení vzoriek listov zmrazených ihneď po odbere v tekutom dusíku.
- Stanovenie obsahu voľného prolínu (podľa Bates et al., 1973) v listoch spektrofotometricky na spektrofotometri Spekol 11.
- Výpočet hodnoty osmotického prispôsobenia v listoch (podľa Wilson et al., 1979).
- Analýza úrody.

Laboratórne pokusy boli realizované v kultivačnom boxe s umelým osvetlením. V laboratórnych nádobových pokusoch boli sledované fyziologické reakcie rastlín jednotlivých genotypov na postupnú riadenú dehydratáciu mladých rastlín pšenice, no súčasne bol hodnotený aj účinok ošetrovania listov vysokou teplotou na primárne procesy fotosyntézy. Cieľom pokusu bol detailnejší pohľad na zmeny fyziologických parametrov účinkom sucha a vysokej teploty i na realizáciu protekčných mechanizmov a to predovšetkým prostredníctvom meraní rýchlej kinetiky fluorescence. Merania boli realizované na najmladšom plne vyvinutom liste.

Experimentálne merania a pozorovania v nádobových laboratórnych pokusoch:

- Meranie hodnôt rýchlej fluorescence chlorofylu a v podmienkach postupujúceho vodného stresu alebo po vystavení listov vysokej teplote fluorimetrom HandyPEA (Hansatech, UK), analýza meraní pomocou parametrov JIP-testu (podľa Strasser et al., 1995).
- Stanovenie relatívneho obsahu vody (RWC) v listoch.
- Stanovenie vodného potenciálu listov (Ψ_w) prístrojom Wescor HR-33 (Wescor, USA) na terčikoch okamžite po vyseknutí z čerstvých listov.
- Stanovenie obsahu prolínu (podľa Bates et al., 1973) spektrofotometricky na spektrofotometri Spekol 11.

Laboratórne hydroponické pokusy so simuláciou vodného stresu aplikáciou 10 % PEG 6000 (polyetylén glykol) boli využité na testovanie reakcií rastlín jednotlivých genotypov na rýchlu dehydratáciu v skorých štádiách rastu rastliny s cieľom overiť vhodnosť metódy pre jej potenciálne využitie v skríningu.

Experimentálne merania a pozorovania v laboratórnych hydroponických pokusoch:

- Stanovenie relatívneho obsahu vody (RWC)
- Suma transpirácie gravimetricky na základe zmeny celkovej hmotnosti baniek meranej na váhach HF-200G, za časový interval dehydratácie stresovaných rastlín.
- Stanovenie predĺžovacieho rastu listov v pravidelných intervaloch.

Pre porovnanie zmien nameraných parametrov medzi kontrolou a stresom pre súbor odrôd sme použili relatívne hodnotenie zmeny parametra oproti kontrole pomocou tzv. stresových indexov pre daný znak (upravené podľa Fischera a Maurera, 1978). Vzťahy medzi sledovanými parametrami v pokusoch navzájom, ako aj vzťahy s poklesom úrody v podmienkach stresu boli hodnotené pomocou korelačných analýz. Pri spracovaní výsledkov boli použité programy MS Excel 2000 a SigmaPlot 9.0.

5. VÝSLEDKY A DISKUSIA

4.1 Fluorescencia chlorofylu *a* v detekcii citlivosti genotypov

Rýchle meranie fluorescence a jeho analýza JIP-testom sú už v súčasnosti široko využívané pre skríning na odolnosť voči rôznym stresovým faktorom.

Stupňujúci sa vodný stres ako aj rastúce teploty hodnotené v rozsahu 30 až 45°C výrazne menili priebeh fluorescenčných kriviek. Kým pri vodnom strese sme pozorovali viditeľnú zmenu iba na úrovni maximálnej fluorescence F_m , teplotný stres vyvolal aj výrazný nárast počiatkovej fluorescence F_o . Môžeme pozorovať aj zmenu charakteru polyfázovej krivky, kde po počiatkovom náraste nasleduje pokles. Vodný stres vyvolal pokles podielu fáz I a P na úkor podielu fázy J, čo býva interpretované ako dôsledok akumulácie Q_B -neredukujúcich reakčných centier, vyskytujúci sa často už pri miernom strese (Lazar et al., 1997).

Teplotný stres od 40°C naproti tomu spôsobil značné zmeny priebehu rýchlejšej kinetiky fluorescence. Jeho najtypickejšou črtou bolo objavenie sa tzv. K-kroku v čase 100 až 300 μ s, ktoré je symptómom poškodenia funkcie kyslík uvoľňujúceho komplexu (OEC) v PS II (Strasser et al., 2000). Následne dochádza k doplneniu chýbajúcich elektrónov od alternatívnych donorov, pričom dôjde ku krátkodobému nárastu koncentrácie redukovaného primárneho elektrónového akceptora Q_A . Tento proces je rýchlejší než tok elektrónov z OEC, preto aj dočasný nárast krivky prebieha rýchlejšie, kapacita alternatívnych donorov je ale obmedzená, preto po kroku K nasleduje pokles intenzity fluorescence (DeRonde et al., 2004). Pri 40°C sme pozorovali iba nevýrazný alebo žiadny pokles nasledujúci po K-kroku, teda nasledoval nárast do I a P kroku, aj keď redukovaný. Pri 42,5 a 45°C boli však už fázy I a P potlačené a fluorescence v čase 300 μ s (F_K) bola vyššia než fluorescence v čase 1 s (F_P). To je pravdepodobne spôsobené blokováním toku elektrónov z donorovej strany PS II (Srivastava et al., 1997).

Jedným zo základných parametrov fluorescence je maximálny kvantový výťažok fotochémie Fv/Fm. Pri hodnotách RWC v listoch nad 80% boli namerané pomerne stabilné hodnoty parametra (približne na úrovni 0,83). Pokles RWC z 80% na 60% na 9. až 16. deň dehydratácie spôsobil len mierny plynulý pokles Fv/Fm na hodnotu 0,75. Výrazný pokles až na hodnoty približne 0,60 bol zaznamenaný pri niektorých odrodách iba v poslednom, 18 dni pri poklese RWC na 50 až 55%. Potvrdil sa nám tak dobre známy fakt, že kvantový výťažok fotochémie je málo citlivý na vodný stres (Fracheboud a Leipner, 2003). Teplotný stres však vyvolal výrazný pokles Fv/Fm na hodnoty 0,55 až 0,7 už pri teplote 40°C, pri vyšších teplotách (od 42,5°C) klesli hodnoty Fv/Fm pod 0,4. Rozdiel medzi genotypmi bol zjavný iba pri 40°C.

Vysoká teplota od 40°C spôsobila výrazný nárast hodnôt Fo, pri 45°C dosahovali hodnoty Fo pri niektorých odrodách takmer dvojnásobok v porovnaní so stavom pred expozíciou pri vysokej teplote. Nárast Fo je pripisovaný odpojeniu svetlozberného komplexu, resp. niektorých jeho subjednotiek od reakčného centra (Srivastava et al., 1997) a je signálom ireverzibilného alebo len čiastočne vratného poškodenia fotosyntetického aparátu (Pastenes a Horton, 1999).

Spomedzi sledovaných parametrov bol najcitlivejším Performance Index, a to tak pri vysokej teplote ako aj pri dehydratácii. Pri vodnom strese výrazne a plynulo klesal pri všetkých odrodách, teda na rozdiel od Fv/Fm koreloval s prehlbujúcim sa vodným deficitom. Dokázal taktiež odlišiť citlivosť odrôd, aj keď preukazuje až v posledných fázach dehydratácie. Tento parameter vystihujúci odchýlky fluorescenčného prechodu od optimálnych hodnôt je podľa Strassera et al. (2000) mimoriadne citlivý na akékoľvek stresy.

Pri rastlinách neadaptovaných na stres sme zaznamenali, že najcitlivejším bodom sa ukázali byť reakčné centrá, keďže počet funkčných centier výraznejšie poklesol už pri 35°C. Pri 37,5°C sa pridala aj mierny nárast variabilnej fluorescence v čase K (W_K) signalizujúci zmeny na úrovni OEC. Fo narástol až pri teplotách nad 40°C. K podobným výsledkom dospeli aj Wen et al. (2005) pri meraniach realizovaných na rastlinách neadaptovaných na stres.

Pri vodnom strese je pomerne rýchlou reakciou pokles počtu plne funkčných reakčných centier. Okrem toho, zaujímavý je aj mierny, no jednoznačný rast variabilnej fluorescence v čase K (W_K), ktorý ukazuje, že K-krok sa prejavuje v obmedzenej miere aj pri vodnom strese, podobne ako publikoval Guisse et al. (1995). Srivastava et al. (1997) predpokladá, že K-krok je prítomný pri všetkých rastlinách produkujúcich kyslík, je však súčasťou normálneho priebehu krivky v prípade, ak je ustálená rovnováha medzi elektrónovými reakciami zodpovednými za tvar fluorescenčnej krivky.

Spomedzi veľkého počtu sledovaných parametrov použitých na determináciu citlivosti sledovaného súboru genotypov na vysokú teplotu (40°C) sme osobitne upriamili pozornosť na parametre Fv/Fm a W_K . Obidva parametre boli dostatočne citlivé na zachytenie termostability, pričom ale nemali úplne rovnaký trend, čo ukazuje na fakt, že veľkosť kroku K nemusí byť vždy priamo úmerná poklesu Fv/Fm. Citlivosť genotypov na teplotný stres pomerne dobre korelovala s citlivosťou genotypov determinovanou pri vodnom strese.

Pri použití rýchlej kinetiky fluorescence vo vegetačných pokusoch bolo len pomerne málo parametrov dostatočne citlivých už na mierny vodný stres, ešte menší počet dokázal zachytiť rozdiely medzi odrodami. Na základe týchto kritérií sme vybrali Performance Index (PI). Vzťah parametrov s relatívnym obsahom vody v listoch (RWC)

rovnako ukázal, že najlepšie a najplynulejšie s poklesom hydratácie koreloval Performance Index.-

4.2 Aktivita prieduchov vo vzťahu k efektívnosti využitia vody pre fotosyntézu

Reakcia prieduchov predstavuje jeden z najdôležitejších mechanizmov ochrany rastlín pred deficitom vody, súčasne je však bariérou pre nerušenú asimiláciu CO₂ (Tardieu a Davis, 1993). Počas postupujúcej dehydratácie sme pozorovali pokles difúznej vodivosti listov (g_s) tak na vrchnej ako aj na spodnej strane listu. Na vrchnej strane listu sme namerali vyššie, približne dvojnásobné hodnoty g_s , táto strana listu bola navyše aj menej citlivá na vodný deficit a k poklesu na minimum dochádzalo neskôr ako na spodnej strane listu.

V rokoch 2003 a 2005 sa rozdiely v citlivosti medzi genotypmi premietli iba počas niekoľkých zlomových dní. Merania difúznej vodivosti na rastlinách v podmienkach stresu navyše sprevádzala pomerne veľká variabilita, kde sme pri jednej odrode namerali pomerne rozdielne hodnoty. Napriek tomu sme identifikovali rozdielnu citlivosť genotypov na pokles difúznej vodivosti meranej na zástavkovom liste v podmienkach sucha. Švihra et al. (1996) pri meraniach na zástavkovom a podzástavkovom liste pšenice pozorovali rozdielny trend hodnôt difúznej rezistencie listov počas stresu, čo svedčí o heterogenite v reakciách prieduchov v rámci rastliny.

Nižšia citlivosť prieduchov na suchu je považovaná za faktor zvyšujúci úrodu plodín v podmienkach deficitu vody. Častočne aj preto, že nízka prieduchová vodivosť vedie k vyššej teplote porastu a väčšiemu poklesu tlaku vodných pár v okolitej atmosfére (Turner, 1997). Oveľa častejšie je však pozitívny vplyv vyššej difúznej vodivosti pripisovaný zachovaniu vyššej úrovne asimilácie CO₂ počas deficitu vody a s tým spojeným pozitívnym efektom na úrodu v podmienkach sucha (Blum, 1996).

S tým súvisia aj naše merania rýchlosti čistej fotosyntézy (P_N) v roku 2005. Pozorovali sme podobný trend ako pri difúznej vodivosti, teda pokles hodnôt g_s sprevádzal približne rovnaký trend poklesu P_N , so stupňujúcim sa prejavom poľudňajšej depresie, ktorý je dôsledkom čiastočného zatvárania prieduchov vplyvom zvyšujúceho sa vodného deficitu počas dňa (Shen, 1994). Odrody sa mierne líšili v rýchlosti poklesu P_N v čase, ale aj v trende vývinu hodnôt vo vzťahu k poklesu relatívneho obsahu vody (RWC), čo je v protiklade s prácou Švihru et al. (1996), ktorí pri sledovaných odrodách pšenice nepozorovali rozdiely v trende zatvárania prieduchov v závislosti od RWC. Všeobecne, pre všetky odrody platí, že pri poklese RWC pod 90% dochádza k lineárnemu poklesu rýchlosti čistej fotosyntézy, pričom pri 80% RWC dosahovali približne polovičné hodnoty oproti úvodným meraniam a pri 70% RWC sa hodnoty P_N blížili k nule, čo súvisí s tým, že hodnota 70% RWC je pri pšenici približná hranica, pri ktorej rastliny strácajú turgor (Morgan, 1992). Pri odrodách môžeme pozorovať dva protichodné modely správania sa prieduchov, citlivú a menej citlivú reakciu na pokles RWC, čo predstavuje dve rozdielne stratégie vyrovnávania sa s vodným stresom (Sinclair a Muchow, 2001) spojené s osmotickým prispôbením a zachovaním turgoru (Blum et al., 1999).

Významným ukazovateľom hospodárenia rastlín s vodou je aj efektívnosť využitia vody (WUE), ktorý je počítaný buď ako podiel celkovej vyprodukovanej sušiny k celkovej transpirácii, alebo ako podiel rýchlosti čistej fotosyntézy a transpirácie (P_N/E), čo sa niekedy nazýva aj efektívnosť transpirácie (Turner, 1997). Keď začína pôsobiť vodný deficit, prieduchová vodivosť listov obyčajne klesá rýchlejšie než asimilácia uhlíka, čo vedie k vyššej efektívnosti využitia vody (Chavesa et al., 2002). Rozhodujúce

množstvo vody v pôde sa ale odčerpá rastlinami ešte pred nástupom zmien vyvolaných deficitom vody (Serraj a Sinclair, 2002), preto je dôležité, aby genotypy dosahovali vyššie hodnoty WUE aj v podmienkach, keď ešte nie sú limitované nedostatkom vody. Preto sme na základe meraní na otvorenom gazometrickom systéme Ciras-2 v roku 2005 pri kontrolných rastlinách vyčíslili efektívnosť využitia vody vyjadrenej pomerom rýchlosti čistej fotosyntézy a transpirácie – P_N/E . Viacero autorov sa domnieva, že genetický zisk v náraste úrody v podmienkach, kde je voda limitujúcim faktorom, je možný práve cestou zvyšovania efektívnosti transpirácie (Richards et al., 2001). Tomu napovedá aj pomerne široký interval hodnôt WUE, v ktorom sa pohybovali nami sledované odrody. Nepriamo sme efektívnosť využitia vody odvodili aj na základe hodnôt difúznej vodivosti. Tie sa pri kontrolných rastlinách odrôd pohybovali v rozmedzí 280 až 400 $\text{mmol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$. Hodnoty difúznej vodivosti sú nepriamo úmerné hodnotám efektívnosti využitia vody. Teda vysoké priemerné hodnoty difúznej vodivosti pri kontrolných (nie stresovaných) rastlinách signalizujú nižšiu WUE.

Ďalšou široko diskutovanou otázkou je, do akej miery sa na znížení asimilácie CO_2 podieľa okrem prieduchov aj narušenie metabolických procesov, teda tzv. nestomatická limitácia fotosyntézy. Aj keď detailne je možné odhaliť nestomatickú limitáciu iba na základe biochemických analýz, dá sa odhadnúť aj na základe pomeru medzi čistou rýchlosťou fotosyntézy a intercelulárnym obsahom CO_2 – P_N/C_i . Môžeme tu pozorovať, že až do siedmeho dňa sa udržiavali takmer stabilné hodnoty parametra, prakticky zhodné pri stresovaných i kontrolných rastlinách približne v intervale 0,06 až 0,12. Pri popoludňajšom meraní na siedmy deň a pri meraniach na 10 deň už môžeme sledovať výrazný pokles hodnôt pri stresovaných rastlinách pod hodnotu 0,05. Zníženie hodnoty tohto ukazovateľa signalizuje nestomatické zmeny asimilácie CO_2 . Ak dáme hodnoty P_N/C_i do vzťahu s vodným stavom v listoch vyjadreným v hodnotách relatívneho obsahu vody, vidíme, že k poklesu hodnôt došlo až pri RWC okolo 75%. Zaujímavé je tiež porovnanie priemerných hodnôt stresovaných rastlín a kontroly počas dopoludňajšieho a popoludňajšieho merania. Môžeme pozorovať, že popoludňajšie hodnoty P_N/C_i boli už na tretí a piaty deň nižšie ako pri kontrole. To nás oprávňuje domnievať sa, že fluktuácie v nestomatической limitácii pri vodnom strese je možné pozorovať aj v priebehu dňa. Pokles efektívnosti prijímania CO_2 v intercelulárnych priestoroch počas dňa môže byť spôsobený fotoinhibíciou (Chaves a Oliveira, 2004), ale aj pôsobením vysokej teploty na listy, ktoré majú pri rastlinách vystavených stresu vyššiu teplotu ako dobre hydratované rastliny.

4.3 Osmotické prispôsobenie a jeho význam pre toleranciu genotypov

Za jeden z najvýznamnejších mechanizmov, ktorý rozhoduje o tolerancii rastlín k suchu je považované osmotické prispôsobenie (OA), pod čím chápeme zníženie osmotického potenciálu aktívnou akumuláciou širokého spektra rozpustných látok (Munns, 1988).

Spomedzi štyroch najznámejších metód, ktoré sa používajú na stanovenie osmotického prispôsobenia sme pri rastlinách v nádobových vegetačných pokusoch použili metódu odhadu OA ako rozdielu osmotických potenciálov kontrolných a stresovaných rastlín prepočítaných na plné nasýtenie vodou podľa Wilsona et al. (1979). Táto metóda síce nie je spomedzi používaných metód najpresnejšia (Babu et al., 1999), je ale najmenej náročná na čas a prácu, čo je rozhodujúce pre výber metódy pre skringing.

Na základe meraní v rokoch 2003-2005 sme vypočítali hodnoty osmotického prispôsobenia pre všetky sledované odrody pri silnom vodnom strese, približne na úrovni

60% RWC. Odrody môžeme rozdeliť na dve skupiny: S vysokým osmotickým prispôsobením (v priemere za roky 2003-2005 mali hodnoty OA vyššie ako 0,8 MPa) – ‘BU-9’, ‘Ilona’, ‘Stephens’, ‘Pobeda’ a s nízkym osmotickým prispôsobením (v priemere za tri roky mali hodnoty OA nižšie ako 0,6 MPa) – ‘Arida’, ‘Viginta’ a ‘Eva’. Priemerné osmotické prispôsobenie za roky 2003-2005 bolo 0,70 MPa, rozpätie stanovených hodnôt bolo 0,33 až 1,12 MPa, čo je v súlade s hodnotami publikovaným viacerými autormi pre rastliny vystavené silnému vodnému stresu (Blum et al., 1999; Morgan, 1992). Na základe analýzy viacerých prác Serraj a Sinclair (2002) uvádzajú, že pre pšenicu môže dosahovať osmotické prispôsobenie hodnoty 0 až 2 MPa, no extrémne vysoké hodnoty sa dosahujú až po vystavení rastlín mimoriadne nepriaznivým podmienkam.

Pri porovnaní klasifikácie odrôd na základe osmotického prispôsobenia v laboratórnych a vegetačných pokusoch, môžeme nájsť zhodu v hodnotení šiestich zo siedmich odrôd. Blízkosť výsledkov hodnotení na mladých a dospelých rastlinách ako aj približne zachovaný trend medzi jednotlivými sledovanými rokmi nám naznačuje, že osmotické prispôsobenie v podmienkach sucha je geneticky podmienené a je genotypovou charakteristikou (Zhang et al., 1999).

Osmotickému prispôsobeniu sú pripisované rôzne funkcie. K jednej z najdôležitejších patrí zachovanie turgoru počas vodného deficitu, čo je potrebné pre otváranie prieduchov a teda fungovanie fotosyntetickej asimilácie CO₂, predĺžovací rast a ďalšie fyziologické procesy (Blum et al., 1999). Vzťah medzi výškou maximálneho osmotického prispôsobenia a citlivosti na pokles difúznej vodivosti počas vodného stresu nám ukazuje, že odrody s nízkou úrovňou osmotického prispôsobenia reagovali na deficit vody citlivejšie zatváraním prieduchov, než odrody s jeho vysokými hodnotami. To nám potvrdilo funkciu osmotického prispôsobenia v udržaní schopnosti otvárať prieduchy pri deficite vody, čo pravdepodobne vyplýva z udržania turgoru po dlhší čas. To isté sme zaznamenali aj pri vzťahu osmotického prispôsobenia a citlivosti na pokles rýchlosti čistej fotosyntézy počas stresu.

Z hľadiska osmoprotekcie je osmotické prispôsobenie príliš hrubý ukazovateľ, keďže nemôže pokryť špecifické ochranné funkcie jednotlivých jeho zložiek. Zvláštne postavenie medzi akumulovanými látkami má prolín, ktorého hromadenie v listoch je takmer univerzálnou reakciou nielen na vodný stres, ale aj na zasolenie, chlad, vysokú teplotu (Hare et al., 1997). Obsah prolínu sme podrobnejšie sledovali v laboratórnych pokusoch. Počas postupnej dehydratácie nám obsah prolínu stúpil z takmer nulových hodnôt (0,3-0,7 $\mu\text{mol.g}^{-1}$) až na 25-75 $\mu\text{mol.g}^{-1}$ v čerstvej hmote, teda aj viac ako stonásobne. Odrody sa teda výrazne líšili tak svojimi maximálnymi hodnotami (kapacitou) ako aj rýchlosťou spúšťania procesov akumulácie prolínu (citlivosťou).

Vo vegetačných nádobových pokusoch sme prolín stanovovali spolu s osmotickým prispôsobením pri 60-65% RWC vo všetkých troch rokoch, pričom hodnoty sa pohybovali v rozpätí 14 až 42 $\mu\text{mol.g}^{-1}$. Výsledky z laboratórnych a vegetačných pokusov pre jednotlivé odrody spolu dobre korelovali, čo potvrdzuje dobre známy fakt o genetickej podmienenosti obsahu prolínu. To navyše dáva aj možnosť presunúť prípadný skrining na vysokú kapacitu pre akumuláciu prolínu už do štádia mladých rastlín v kontrolovaných podmienkach.

Zo vzťahu medzi obsahom prolínu a citlivosťou primárnych procesov fotosyntézy vyjadrených Performance Indexom je zrejmé, že odrody s nízkou kapacitou pre akumuláciu prolínu (s hodnotami pod 20 $\mu\text{mol.g}^{-1}$) boli citlivejšie na pokles P.I. ako odrody s vysokou kapacitou (okolo 30 $\mu\text{mol.g}^{-1}$). Vyššie hodnoty ako 30 $\mu\text{mol.g}^{-1}$ už ale

nepreukazovali ďalšie navýšenie ochranného efektu. Význam prolínu ako komponentu osmotického prispôsobenia bol potlačený do úzadia, vzhľadom na jeho príliš nízky obsah pre zabezpečovanie biofyzikálnych efektov (Hare et al., 1998). Tomu nasvedčuje aj nami determinovaný podiel voľného prolínu na celkovom osmotickom prispôsobení, ktorý dosahoval 5,72 až 16,69%, v priemere 9,87%, teda rozhodujúca časť osmotického prispôsobenia bola zabezpečovaná inými komponentmi. Aj na základe našich výsledkov je zrejme, že prolín nie je rozhodujúcou zložkou osmotického prispôsobenia. Zaslúži si však pozornosť pre svoje špecifické funkcie vedúce k ochrane metabolických procesov (Hare et al., 1998).

4.4 Únik stresu ako mechanizmus vedúci k vyšším úrodám

Obdobie vodného stresu sa v našich agroklimatických podmienkach sa zvyčajne vyskytuje až v neskorších reprodukčných fázach a fáze naplňania zŕn obilnín. Dôležitú úlohu zohráva preto fenológia, ktorá sa vzťahuje k úniku vodnému stresu posunutím fenofáz s vysokými nárokmi na vodu do obdobia, keď ešte voda nie je limitujúcim faktorom (Slafer et al., 2005).

Za jeden z dôležitých ukazovateľov vedúcich k efektívnejšiemu využitiu vody a tvorby biomasy je skorý a intenzívny rast. Zvyšuje sa tým podiel vody vydanej transpiráciou oproti neužitočnému výparu, zvyšuje sa konkurenčná schopnosť plodín voči burinám, ale dochádza aj k produkcii značného podielu asimilátov ešte pred nástupom stresu (Turner, 1997). Pri sledovaní dynamiky listovej plochy sme zaznamenali posun vo vývine listovej pokrývnosti pri jednotlivých odrodách v rozsahu približne 10 dní, maximum však spadalo do obdobia, ktoré nebýva postihované deficitom vody. Druhým spôsobom úniku stresu je posun citlivých fenologických fáz šľachtením na skorosť (Araus et al., 2002). Medzi najskoršou ('Ilona') a najneskoršou odrodou ('Eva') sme zaznamenali posun približne 8 dní v nástupe kvitnutia, čo sa prejavilo výrazným rozdielom v redukcii počtu zŕn medzi týmito odrodami. Pri pôsobení vodného stresu počas kvitnutia a do 14 dní po kvitnutí môže nastať redukcia počtu zŕn (Gooding et al., 2003) a to tým väčšia, čím je stres intenzívnejší a čím skôr nastupuje. Treba však podotknúť, že fenológia nevysvetľuje celkom pozorované rozdiely medzi odrodami v redukcii počtu zŕn následkom vodného stresu, keďže pomerne výrazné diferencie sme zaznamenali aj medzi genotypmi s prakticky zhodnými fenologickými charakteristikami.

4.5 Formovanie hospodárskej úrody v kontexte sledovaných znakov

Vodný stres výrazne redukoval úrody zrna vo všetkých troch sledovaných rokoch. Najvýraznejšie v roku 2003 (v priemere o 60%), najmenej v roku 2005 (o 23%). Spomedzi úrodotvorných prvkov sa pri vodnom strese, ktorý nastáva na konci kvitnutia a po kvitnutí, najvýraznejšie prejavuje úbytok počtu zŕn v klase a hmotnosti zŕn. Shpiler a Blum (1991) považujú za významnejší faktor limitujúci úrody počet zŕn, to však v našich podmienkach platilo iba v roku 2004, keď z poklesu úrody bolo 53,7% zapríčinené úbytkom počtu zŕn. V roku 2003 dosiahol podiel parametra počet zŕn na poklese hospodárskej úrody 37,9% a v roku 2005 iba na 14,8%. To ukazuje na fakt, že napriek priebehu dehydratácie v takmer rovnakom termíne, v jednotlivých rokoch zasiahol vodný stres rastliny v odlišnom čase vzhľadom ku kvitnutiu. Do 14. dňa po antéze totiž postupne klesá zraniteľnosť na úrovni počtu zŕn a od 15. dňa sa vodný stres prejavuje už iba redukciami hmotnosti zŕn (Gooding et al., 2003). Aj na úrovni odrôd sme zaznamenali rozdiely v podiele počtu a hmotnosti zŕn ma celkovej redukcii úrody.

S kvantitatívnymi a kvalitatívnymi ukazovateľmi súvisí aj priestorová distribúcia hmotnosti zŕn v rámci klasu a jej modifikácia ako následok vodného deficitu. Pravdepodobnou príčinou tohto stavu sú rozdiely v lokalizácii poklesu počtu zŕn. Typický účinok redukcie vzťahu source-sink na hmotnosť zŕn je pri odrodách pšenice najväčší v hornej časti klasu, menší na báze a najmenší v strednej časti klasu. V rámci klásku hmotnosť zŕn klesá najviac na 3. a 4. zrne od bázy klásku (Yin et al., 1998).

Zo znakov hodnotených počas troch rokov nádobových vegetačných pokusov s hospodárskou úrodou v podmienkach stresu najlepšie korelovala fenológia, teda fenologický posun fenofázy kvitnutia do skoršieho obdobia mal preukazne pozitívny vplyv na udržanie si vyšších úrod v podmienkach sucha nastupujúceho na konci vegetačného obdobia.

Podobne vysoký a na základe trojročných výsledkov aj preukazný bol vzťah medzi hodnotami difúznej vodivosti listov (g_s) pri rastlinách nelimitovaných nedostatkom vody a citlivosťou rastlín na suchu vyjadrený znížením úrod. Keďže nami sledované odrody mali podobný fotosyntetický potenciál, vyššia vodivosť prieduchov pravdepodobne znižovala efektívnosť využitia vody pre fotosyntézu. To potvrdili aj jednoročné merania gazometrickej výmeny plynov, na základe ktorých vypočítaná efektívnosť využitia vody (P_N/E) tiež veľmi dobre korelovala s toleranciou, resp. citlivosťou odrôd vyjadrenou v hospodárskej úrode stresovaných rastlín.

Zdanlivo v protiklade s tým je vzťah vodivosti prieduchov pri stresovaných rastlinách s ich úrodou, kde sme pre trojročné merania stanovili pomerne vysoký korelačný koeficient medzi schopnosťou odrôd udržať si čo najdlhšie otvorené prieduchy a ich toleranciou na pokles úrod. V skutočnosti je však vo vzťahu efektívneho využitia vody vyšší výdaj vody kompenzovaný podstatne vyššou rýchlosťou fotosyntézy pri aspoň sčasti otvorených prieduchoch. To je podporené aj meraniami rýchlosti čistej fotosyntézy počas stresu, kde sa potvrdilo, že tolerantnejšie odrody si udržiavajú relatívne vyššie hodnoty P_N čo najdlhšie počas dehydratácie. Tento jav pravdepodobne súvisí s ich vyšším osmotickým prispôbením. Z trojročných výsledkov sme vysokú mieru korelácie zaznamenali aj pri osmotickom prispôbení, kde sa ukázalo, že pre tolerantnejšie odrody bola charakteristická o niečo vyššia hodnota osmotického prispôbenia než pre citlivejšie odrody. Toto sa nie celkom potvrdilo pri kapacite pre akumuláciu voľného prolínu v listoch, ktorá síce nemala protichodný trend s našim očakávaním, no jej korelačný koeficient bol pomerne nízky.

V rokoch 2004 a 2005 sme hodnotili aj schopnosť metódy merania rýchlej fluorescence chlorofylu zachytiť rozdiely v citlivosti genotypov na suchu. Z množstva parametrov iba niekoľko bolo dostatočne citlivých a z nich nám sľubnú, pomerne vysokú koreláciu preukázal parameter Performance Index (P.I.), ktorý si pri tolerantnejších odrodách zachovával relatívne vyššie hodnoty počas dehydratácie. Techniky fluorescence chlorofylu boli použité vo viacerých prácach pre hodnotenie tolerance genotypov obilnín na suchu a pomerne spoľahlivé korelácie s úrodou boli zistené predovšetkým v prostredí, kde okrem sucha výrazne spolupôsobí aj vysoká teplota (Araus et al., 1998).

Výsledky z laboratórnych pokusov na mladých rastlinách ukázali, že sledované parametre pri jednotlivých odrodách len pomerne málo korelujú s citlivosťou odrôd stanovenou na základe poklesu úrod vo vegetačných pokusoch. Aplikácia polyetylén glykolu (PEG 6000) pri mladých rastlinách je tak vhodná skôr na sledovanie prenosu hydraulického a chemického signálu a iných mechanizmov pôsobiacich pri strese (Olšovská a Brestič, 2001) než na skríning genotypov.

Vyššiu mieru korelácie zaznamenali iba výsledky teplotného testu, čo naznačuje, že typickou vlastnosťou na suchu tolerantných odrôd je aj ich zvýšená tolerancia membránových štruktúr na vysokú teplotu.

6. ZÁVERY

V rokoch 2003-2005 boli realizované vegetačné nádobové pokusy a laboratórne pokusy s odrodami pšenice letnej, f. ozimnej (*Triticum aestivum* L.) rôzneho geografického pôvodu s cieľom determinovať znaky a mechanizmy spojené s toleranciou na suchu potenciálne použiteľné ako skríningové kritériá. Na základe aplikovaných experimentálnych postupov sme dospeli k nasledovným záverom:

- Pri aplikácii protokolov rýchlej kinetiky fluorescence chlorofylu *a* sme zaznamenali rozdielne mechanizmy účinku vysokej teploty a sucha na fotosyntetický aparát.
- Deficit vody sa prejavil pozvoľnými zmenami fluorescenčných OJIP-kriviek. Parameter charakterizujúci maximálny kvantový výťažok fotochémiie (Fv/Fm) bol relatívne rezistentný na vodný deficit až do úrovne 70% RWC. Vodný stres vyvolal progresívny pokles počtu plne funkčných reakčných centier a nárast disipácie vo forme tepla. Najcitlivejším biofyzikálnym parametrom determinujúcim účinok vodného stresu a schopným odlišiť citlivosť odrôd bol Performance Index (PI).
- Pôsobenie teploty na primárne procesy fotosyntézy bolo významné od úrovne 35°C. Vyššie teploty (42,5 °C a 45°C) spôsobili takmer úplnú inhibíciu primárnych procesov fotosyntézy. Maximálny kvantový výťažok fotochémiie, Fv/Fm, meraný po expozícii listov pri 40°C sa ukázal ako parameter vhodný pre determináciu pôsobenia teplotného stresu a rozdielov v termostabilite fotosyntetického aparátu medzi odrodami.
- Analýza citlivosti prieduchov na adaxiálnej a abaxiálnej strane listov na nastupujúci vodný deficit ukazuje odrodové odlišnosti, ktoré korešponujú so zmenami rýchlosti čistej asimilácie CO₂. Nižšie hodnoty difúznej vodivosti kontrolných rastlín boli znakom preukazne priaznivým pre dosiahnutie vyšších úrod v podmienkach stresu. Uvedený vzťah je vhodný ako rýchle fyziologické kritérium hodnotenia efektívnosti využitia vody pri jednotlivých odrodách.
- Pri vodnom deficite listov do 75% RWC bol dominantný stomatický efekt limitovania čistej asimilácie CO₂. Pri pretrvávajúcom suchu, predovšetkým v interakcii s inými faktormi prostredia bol zaznamenaný pokles efektívnosti využitia intercelulárneho CO₂ ako jeden z fyziologických fenoménov poľudňajšej depresie fotosyntézy.
- Osmotické prispôsobenie merané na základe priamych meraní osmotického potenciálu a RWC je vhodným dynamickým kritériom pre identifikáciu osmoregulačnej kapacity genotypov. Tento znak koreluje so schopnosťou odrôd udržiavania difúznej vodivosti prieduchov a fotosyntetickej aktivity počas sucha. Obsah voľného prolínu citlivo odráža špecifitu genotypov v reakciách na vodný deficit a umožňuje prispieť k vytvoreniu modelov s rozdielnou osmoprotekčnou kapacitou.
- Znakom s najvyššou úrovňou korelácie s redukciou hospodárskej úrody v podmienkach stresu bol posun kritických fenofáz do skoršieho obdobia, čo malo dopad predovšetkým na redukcii počtu zrn v klase. Dôležitosť tohto znaku rástla s intenzitou a rýchlosťou nástupu vodného stresu v danom roku.
- Testovanie citlivosti odrôd na úrovni mladých hydroponicky pestovaných rastlín s použitím 10% PEG 6000 neprinieslo výsledky v zhode s neskoršími analýzami na

úrovni vegetačných a nádobových pokusov. Táto metóda sa tak javí ako nevhodná pre použitie v skríningu pšenice na toleranciu na sucho.

- Vodný deficit bol významným limitujúcim faktorom tvorby úrody, výraznejšia redukcia bola v počte zŕn v klase ako v hmotnosti tisíc zŕn. Grafické modely akumuláčného efektu sinkov sa ukazujú ako užitočné kritérium komplexnej rezistencie genotypov na sucho.
- Na základe multimetodického hodnotenia tolerance genotypov pšenice na sucho najpriaznivejšie vlastnosti prejavila 'Ilona'. Vyššiu mieru tolerance preukázali aj 'BU-9' a 'Pobeda'. Priemernou úrovňou tolerance boli charakteristické odrody 'Arida' a 'Viginta'. Ako menej tolerantné sa prejavili odrody 'Stephens' a predovšetkým odroda 'Eva', ktorá bola citlivá aj vo väčšine sledovaných znakov.

Zaradenie vybraných znakov do šľachtiteľského procesu, predovšetkým fenológie, efektívnosti využitia vody, osmotického prispôsobenia a metódy merania rýchlej kinetiky fluorescence môže viesť k efektívnejšiemu výberu a tým napomôcť tvorbe nových, ekostabilnejších genotypov.

7. ZOZNAM POUŽITEJ LITERATÚRY

- Araus, J. L. – Amaro, T. – Voltas, J. – Nakkoul, H. – Nachit, M. M. 1998. Chlorophyll fluorescence as a selection criterion for grain yield in durum wheat under Mediterranean conditions. In: *Field Crops Research*, 1998, 55, 209-223.
- Araus, J. L. – Slafer, G. A. – Reynolds, M. P. – Royo, C. 2002. Plant breeding and drought in C3 cereals: What should we breed for? In: *Annals of Botany*, 2002, 89, 925-940.
- Babu, R. C. – Pathan, M. S. – Blum, A. – Nguyen, H. T. 1999. Comparison of measurement methods of osmotic adjustment in rice cultivars. In: *Crop Science*, 1999, 39, 150-158.
- Bates, L. S. – Waldren, R. P. – Teare, J. D. 1973. Rapid determination of proline for water stress studies. In: *Plant and Soil*, 1973, 39, 205-207.
- Blum, A. 1996. Crop responses to drought and interpretation of adaptation. In: *Plant Growth Regulation*, 1996, 20 (2), 135-148.
- Blum, A., Zhang, J. X., Nguyen, H. T. 1999. Consistent differences among wheat cultivars in osmotic adjustment and their relationship to plant production. In: *Field Crops Research*, 1999, 64 (3), 287-291.
- Brestič, M. – Olšovská, K. 2001. *Vodný stres rastlín: príčiny, dôsledky, perspektívy*. Nitra: SPU, 2001, 149 s. ISBN 80-7137-902-6.
- Boyer, J.S. 1968. Measurement of the water status of plants. In: *Annual Review of Plant Physiology*, 9, 351-363, 1968.
- Chaves, M. M. – Oliveira, M. M. 2004. Mechanisms underlying plant resilience to water deficits: prospects for water-saving agriculture. In: *Journal of Experimental Botany*, 2004, 55, 2365-2384.
- Chaves, M. M. – Pereira, J. S. – Maroco, J. – Rodriguez, M. L. – Ricardo, C. P. P. – Osório, M. L. – Carvalho, J. – Faria, T. – Pinheiro, C. 2002. How Plants Cope with Water Stress in the Field. Photosynthesis and Growth. In: *Annals of Botany*, 2002, 89, 907-916.
- Crafts-Brandner, S. J. – Law, R. D. 2000. Effect of heat stress on the inhibition and recovery of the ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase activation state. In: *Planta*, 2000, 212, 67 – 74.

- De Ronde, J. A. – Cress, W. A. – Krüger, G. H. J. 2004. Photosynthetic response of transgenic soybean plants, containing an Arabidopsis P5CR gene, during heat and drought stress. In: *Journal of Plant Physiology*, 2004, 161, 1211-1224.
- Fischer, R. A. – Maurer, R. 1978. Drought resistance in spring wheat cultivars: I. Grain yield responses. In: *Australian Journal of Agricultural Research*, 1978, 29, 897-912.
- Fischer, R. A. – Rees, D. Sayre, K. D. et al. 1998. Wheat Yield Progress Associated with Higher Stomatal Conductance and Photosynthetic Rate, and Cooler Canopies. In: *Crop Science*, 1998, 38, 1467-1475.
- Flexas, J. – Medrano, H. 2002. Drought-inhibition of photosynthesis in C3 plants: Stomatal and non-stomatal limitations revisited. In: *Annals of Botany*, 2002, 89, 183-189.
- Force, L. – Critchley, C. – Van Rensen, J. J. S. 2003. New fluorescence parameters for monitoring photosynthesis in plants – 1. The effect of illumination on the fluorescence parameters of the JIP-test. In: *Photosynthesis research*, 2003, 78 (1), 17-33.
- Fracheboud, Y. – Leipner, J. 2003. The application of chlorophyll fluorescence to study light, temperature, and drought stress. In: *Practical application of chlorophyll fluorescence in plant biology*. Boston, Dordrecht, London : Kluwer Academic Press, 2003, 151-184. ISBN 1-4020-7440-9.
- Gooding, M. J. – Ellis, R. H. – Shewry, P. R. – Schofield, J. D. 2003. Effects of restricted water availability and increased temperature on the grain filling, drying and quality of winter wheat. In: *Journal of Cereal Science*, 2003, 37, 295-309.
- Govindjee. 1995. Sixty-three years since Kautsky: Chlorophyll *a* fluorescence. In: *Australian Journal of Plant Physiology*, 1995, 22, 131-160.
- Guissé, B. – Srivastava, A. – Strasser, R. J. 1995. Effects of high temperature and water stress on the polyphasic chlorophyll *a* fluorescence transient of potato leaves. In: *Photosynthesis (P. Mathis ed.)*. Dordrecht: Kluwer, 1995. S. 913-916.
- Hare, P. D. – Cress, W. A. 1997. Metabolic implications of stress-induced proline accumulation in plants. In: *Plant Growth Regulation*, 1997, 21, 79-102.
- Hare, P. D. – Cress, W. A. – Van Staden, J. 1998. Dissecting the roles of osmolyte accumulation during stress. In: *Plant, Cell and Environment*, 1998, 21, 535-553.
- Havaux, M. – Tardy, F. 1996. Temperature-dependent adjustment of the thermal stability of photosystem II in vivo: possible involvement of xanthophyll-cycle pigments. In: *Planta*, 1996, 198, 324-333.
- Horton, P. – Ruban, A. V. – Walters, R. G. 1994. Regulation of light harvesting in green plants. In: *Plant Physiology*, 1994, 106, 415-420.
- Kostrej, A. – Danko, J. – Jureková, Z. et al. 1998. Ekofyziológia produkčného procesu porastu a plodín. Nitra: SPU, 1998, 179 s. ISBN 80-7137-528-4.
- Kostrej, A. – Brestič, M. – Danko, J. – Jureková, Z. – Olšovská, K. 2000. Funkčné parametre produkčného procesu obilnín v meniacich sa podmienkach prostredia. Nitra: SPU, 2000, 110 s. ISBN-81-9974-41.
- Lazar, D. – Naus, J. – Matouskova, M. – Flasarova, M. 1997. Mathematical Modeling of Changes in Chlorophyll Fluorescence Induction Caused by Herbicides. In: *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 1997, 57(3), 200-210.
- Morgan, J. M. 1992. Osmotic Components and Properties Associated with Genotypic Differences in Osmoregulation in Wheat. In: *Australian Journal of Plant Physiology*, 1992, 19, 67-76.
- Munns, R. 1988. Why measure Osmotic Adjustment? In: *Australian Journal of Plant Physiology*, 1988, 15, 717-726.

- Olšovská, K. – Brestič, M. 2001. Funkcia hydraulickej a chemickej signalizácie o vodnom strese pri hodnotení suchovzdornosti juvenilných rastlín. In: *Journal of Central European Agriculture*, 2001,3-4, 167-173.
- Pastenes, C. – Horton, P. 1999. Resistance of photosynthesis to high temperature in two bean varieties (*Phaseolus vulgaris* L.). In: *Photosynthesis Research*, 1999, 62, 197-203.
- Reynolds, M. P. – Trethovan, R. M. – Van Ginkel, M. – Rajaram, S. 2001. Application of Physiology in Wheat Breeding. In: *Reynolds, M. P. – Ortiz-Monasterio, J. I. – McNab, A. (eds.) 2001: Application of Physiology in Wheat Breeding*. Mexiko, D.F. : CIMMYT, 2001. ISBN 970-648-077-3.
- Richards, R. A. – Condon, A. G. – Rebetzke, G. J. 2001. Traits to improve yield in dry environments. In: *Reynolds, M. P. – Ortiz-Monasterio, J. I. – McNab, A. (eds.) 2001: Application of Physiology in Wheat Breeding*. Mexiko, D.F.: CIMMYT, 2001. ISBN 970-648-077-3.
- Serraj, R. – Sinclair, T. R. 2002. Osmolyte accumulation: can it really help increase crop yield under drought conditions? In: *Plant, Cell and Environment*, 2002, 25, 333-341.
- Shen, Y. 1994. Dynamic approaches to mechanism of photosynthesis. In: *Photosynthesis Research*, 1994, 39 (1), 1-13.
- Shpiler, L. – Blum, A. 1991. Heat tolerance to yield and its components in different wheat cultivars. In: *Euphytica*, 1991, 51, 257-263.
- Sinclair, T. R. – Muchow, R. C. 2001. System analysis of plant traits to increase grain yield on limited water supplies. In: *Agronomy Journal*, 2001, 93, 263-270.
- Slafer, G. A. – Araus, J. L. – Royo, C. – Del Moral, L. F. G. 2005. Promising eco-physiological traits for genetic improvement of cereal yields in Mediterranean environments. In: *Annals of Applied Biology*, 2005, 146, 61-70.
- Srivastava, A. – Guisse, B. – Greppin, H. – Strasser, R. J. 1997. Regulation of antenna structure and electron transport in PS II of *Pisum sativum* under elevated temperature probed by the fast polyphasic chlorophyll *a* fluorescence transient OKJIP. In: *Biochimica and Biophysica Acta*, 1997, 1320, 95-106.
- Strasser, R. J. – Srivastava, A. – Govindjee. 1995. Polyphasic chlorophyll *a* fluorescence transients in plants and cyanobacteria. In: *Photochemistry and Photobiology*, 1995, 61, 32-42.
- Strasser, R. J. – Srivastava, A. – Tsimilli-Michael, M. 2000. The fluorescence transient as a tool to characterise and screen photosynthetic samples. In: *Probing Photosynthesis Mechanisms, Regulation and Adaptation*. London and New York : Taylor and Francis, 2000, 25, 445-483.
- Strasser, R. J. – Tsimilli-Michael, M. – Srivastava, A. 2004. Analysis of the fluorescence transient. In: *George C, Papageorgiou C, Govindjee (eds) Chlorophyll Fluorescence: A Signature of Photosynthesis. Advances in Photosynthesis and Respiration Series..* Dordrecht : Kluwer Academic Publishers, 2004, 820 s. ISBN: 1-4020-3217-X.
- Švihra, J. – Brestič, M. – Olšovská, K. 1996. The effect of water and temperature stress on productivity of winter wheat varieties. In: *Rostlinna výroba*, 1996, 42 (9), 425-429.
- Tardieu, F. – Davies, W. J. 1993. Integration of hydraulic and chemical signalling in the control of stomatal conductance and water status of droughted plants. In: *Plant, Cell and Environment*, 19, 75 – 84.
- Turner, N. C. 1997. Further Progress in Crop Water Relations. In: *Advances in Agronomy*, 1997, 58, 293-338.

- Wen, X. – Qiu, N. – Lu, Q. – Lu, C. 2005. Enhanced thermotolerance of photosystem II in salt adapted plants of halophyte *Artemisia anethifolia*. In: *Planta*, 2005, 220, 486-497.
- Wilson, J. R. – Fisher, M. J. – Schultze, G. R. – Dolby, G. R. – Ludlow, M. M. 1979. Comparison between pressure-volume and dew point hygrometry techniques for determining the water relations characteristics of grass and legume leaves. In: *Oecologia*, 1979, 41, 77-88.
- Yin, Y. - Wang, Z. - He, M. - Fu, J. - Lu, S. 1998. Postanthesis allocation of photosynthates and grain growth in wheat cultivars as affected by source/sink change. In: *Biologia Plantarum*, 1998, 41 (2), 1573-1582.
- Zhang, J. – Nguyen, H. T. – Blum, A. 1999. Genetic analysis of osmotic adjustment in crop plants. In: *Journal of Experimental Botany*, 1999, 50, 332, 291-302.

8. ZOZNAM PUBLIKOVANÝCH PRÁC SÚVISIACICH S TÉMATIKOU

1. Živčák, M. 2001. Využitie charakteristík fotosyntetického aparátu pre determináciu vplyvu environmentálnych faktorov. In: *VII. Vedecká konferencia študentov a doktorandov*. Nitra : Slovenská poľnohospodárska univerzita, 2001, s. 23. ISBN 80-7137-851-8
2. Živčák, M. 2001. *Využitie charakteristík fotosyntetického aparátu pre determináciu vplyvu environmentálnych faktorov (diplomová práca)*. Nitra : Slovenská poľnohospodárska univerzita, 2001, 42 s.
3. Živčák, M. 2003. Príspevok genotypov pšenice rôzneho geografického pôvodu k štúdiu tolerancie na suchu. In: *Nové poznatky z genetiky a šľachtenia poľnohospodárskych rastlín*. Piešťany : VÚRV, 2003, s. 156-157. ISBN 80-88790-29-8
4. Živčák, M. 2003. Možnosti rýchleho testovania mladých rastlín obilnín na toleranciu voči suchu. In: *IX. medzinárodná vedecká konferencia študentov a doktorandov (zborník abstraktov)*. Nitra : SPU, 2003, s. 89-90. ISBN 80-8069-181-9
5. Živčák, M. 2003. Využitie genotypov pšenice rôzneho pôvodu pre tvorbu kritérií hodnotenia tolerancie voči suchu. In: *Aktuálne problémy riešené v agrokomplexe: Zborník z medzinárodného vedeckého seminára*. Nitra : SPU, 2003. ISBN 80-8069-295-5
6. Živčák, M. 2004. Návrh fyziologických kritérií hodnotenia tolerancie genotypov obilnín na deficit vody a vysokú teplotu. In: *X. vedecká konferencia študentov a doktorandov*. Nitra: SPU, 2004, s. 89-90. ISBN 80-8069-352-8
7. Živčák, M. – Brestič, M. – Olšovská, K. – Repková, J. 2004. Application of chlorophyll fluorescence rapid phase for assessment of genotypic sensitivity to drought and high temperature. In: *Xth Days of Plant Physiology: Book of Abstracts*. Bratislava : FPV UK, 2004, s. 137.
8. Živčák, M. – Brestič, M. – Olšovská, K. 2004. Využitie OJIP-testu pre hodnotenie termostability listov pšenice. In: *Aktuálne otázky v ekofyziológii rastlín: zborník z medzinárodnej vedeckej konferencie, Račkova dolina 2004*. In: Nitra : SPU, 2004, s. 53.
9. Repková, J. – Brestič, M. – Olšovská, K. – Živčák, M. 2004. Environmental stress measurement in agroecosystem. In: *Xth Days of Plant Physiology: Book of Abstracts*. Bratislava: FPV UK, 2004, s. 77.
10. Brestič, M. – Olšovská, K. – Danko, J. – Hojčuš, R. – Ferus, P. – Živčák, M. – Repková, J. 2004. História, súčasnosť a perspektívy ekofyziológie rastlín na SPU

- v Nitre. In: *Aktuálne otázky v ekofyziológii rastlín: zborník z medzinárodnej vedeckej konferencie, Račkova dolina 2004*. In: Nitra : SPU, 2004, s. 29.
11. Ferus, P. – Živčák, M. – Olšovská, K. – Brestič, M. 2004. Využitie rýchlych svetelných kriviek pre detekciu zmien fotosyntetických reakcií počas sucha. In: *Aktuálne otázky v ekofyziológii rastlín: zborník z medzinárodnej vedeckej konferencie, Račkova dolina 2004*. In: Nitra : SPU, 2004, s. 53.
 12. Živčák, M. – Brestič, M. – Hunková, E. – Ferencová, J. 2004. Schopnosť akumulácie prolínu v listoch ako indikátor tolerancie genotypov pšenice na sucho. In: *Aktuálne problémy riešené v agrokomplexe: CD*. Nitra : VES SPU, 2004, s. 183-187. ISBN 80-8069-488-6
 13. Živčák, M. – Brestič, M. – Hunková, E. – Ferencová, J. 2004. Capacity of proline accumulation in leaves as a drought tolerance indicator of wheat genotypes. In: *Topical tasks solved in agro-food sector: Book of Abstracts*. Nitra : VES SPU, 2004, s. 33-34. ISBN 80-8069-477-8
 14. Živčák, M. 2004. The use of wheat genotype of different provenance for assessment of drought tolerance (abstract). In: *Journal of Central European Agriculture*, 2004 (5), 1, s. 58.
 15. Živčák, M.- Brestič, M.- Olšovská, K.- Repková, J. 2004. Možnosti využitia JIP testu pre skríning genotypov pšenice s vyššou úrovňou termotolerancie. In: *Nové poznatky z genetiky a šľachtenia poľnohospodárskych rastlín (Zborník)*. Piešťany : VÚRV, 2004, s. 118-119. ISBN 80-88790-34-4
 16. Živčák, M. – Brestič, M. – Hunková, E. – Ferencová, J. 2004. Hľadanie skríningových kritérií pre vyššiu toleranciu genotypov pšenice na sucho. In: *Nové poznatky z genetiky a šľachtenia poľnohospodárskych rastlín (Zborník)*. Piešťany : VÚRV, 2004, s. 117-118. ISBN 80-88790-34-4
 17. Živčák, M. – Brestič, M. 2005. Hodnotenie citlivosti fotosyntetického aparátu genotypov pšenice na vodný stres. In: *Vliv abiotických a biotických stresorů na vlastnosti rostlin 2005: Sborník příspěvků*. Praha : VÚRV, 2005, s. 345-350. ISBN 80-86555-63-1
 18. Hunková, E. – Brestič, M. – Živčák, M. 2005 – Ferencová, J. 2005. Vplyv vodného stresu na úrodovné prvky vybraných odrôd pšenice letnej, f. ozimnej. In: *Vliv abiotických a biotických stresorů na vlastnosti rostlin 2005: Sborník příspěvků*. Praha: VÚRV, 2005, s. 145-149. ISBN 80-86555-63-1
 19. Živčák, M. – Brestič, M. 2005. Application of fast chlorophyll *a* fluorescence technique for detection of sensitivity of photosynthetic apparatus of wheat genotypes during drought. In: *Eco-physiological aspects of plant response to stress factors, Supplement to Acta Physiologiae Plantarum*, 2005 (27), 4, s. 106.
 20. Živčák, M. – Brestič, M. 2005. Application of chlorophyll fluorescence technique for drought and high temperature tolerance assessment in wheat genotypes. In: *Plant Physiology Conference of PhD Students and Young Scientists (Book of Abstracts)*. Bratislava : BÚ SAV, 2005, s. 45.
 21. Živčák, M.- Brestič, M. 2005. Využitie parametrov rýchleho merania fluorescencie chlorofylu pre hodnotenie citlivosti genotypov pšenice na sucho a vysokú teplotu. In: *Hodnotenie genetických zdrojov rastlín (Zborník)*. Piešťany: VÚRV, 2005, s. 224-225. ISBN 80-88790-38-7.

22. Živčák, M.: Fyziologický prístup hodnotenia tolerance genotypov pšenice na suchu a vysokú teplotu. In: *XI. vedecká konferencia študentov a doktorandov*. Nitra : SPU, 2005, s. 14. ISBN 80-8069-505-9
23. Živčák, M. – Brestič, M. 2005. Application of physiological methods for assessment of drought and high temperature tolerance of wheat genotypes. In: *Review of Scientific Papers of the Students of Agronomy: Book of Papers*. Čačák: Faculty of Agronomy, 2005, s. 11-19.
24. Brestič, M. – Olšovská, K. – Živčák, M. 2005. Adaptation of photosynthetic responses of plants to drought and high temperature. In: *InterDrought-II, The 2nd International Conference on Integrated Approaches to Sustain and Improve Plant Production Under Drought Stress (Abstract Book)*. Rome : University of Rome 'La Sapienza', 2005.
25. Olšovská, K. – Brestič, M. – Živčák, M. – Ferus, P. 2005. Drought network in Slovakia: interdisciplinary approach to study crop drought tolerance. In: *InterDrought-II, The 2nd International Conference on Integrated Approaches to Sustain and Improve Plant Production Under Drought Stress (Abstract Book)*. Rome : University of Rome 'La Sapienza', 2005.
26. Živčák, M. – Brestič, M. – Olšovská, K. – Hunková, E. – Ferencová, J. 2005.: Determinácia citlivosti fotosyntetického aparátu genotypov pšenice na suchu a vysokú teplotu. In: *Nové poznatky z genetiky a šľachtenia poľnohospodárskych rastlín (zborník)*. Piešťany : VÚRV, 2005, s 180-181. ISBN 80-88790-43-3
27. Ferus, P. – Repková, J. – Živčák, M. – Olšovská, K. – Brestič, M. 2005. Zefektívňovanie využitia žiarenia a vody v primárnych procesoch tvorby biomasy. In: *Zborník prednášok VII. zjazdu Slovenskej spoločnosti pre poľnohospodárske, lesnícke, potravinárske a veterinárne vedy pri SAV. Poľnohospodárska sekcia*. Bratislava : Slovenská spoločnosť pre poľnohospodárske, lesnícke, potravinárske a veterinárne vedy pri SAV, 2005, s. 65-69.
28. Živčák, M. – Repková, J. – Ferus, P. – Olšovská, K. – Brestič, M. 2005. Rýchla determinácia citlivosti fotosyntetického aparátu na suchu a vysokú teplotu. In: *Zborník prednášok VII. zjazdu Slovenskej spoločnosti pre poľnohospodárske, lesnícke, potravinárske a veterinárne vedy pri SAV. Poľnohospodárska sekcia*. Bratislava : Slovenská spoločnosť pre poľnohospodárske, lesnícke, potravinárske a veterinárne vedy pri SAV, 2005, s. 121-123.
29. Repková, J. – Živčák, M. – Ferus, P.– Brestič, M. – Olšovská, K. 2005. Bioindikácia stresového stavu rastlín v ekosystéme. In: *Zborník prednášok VII. zjazdu Slovenskej spoločnosti pre poľnohospodárske, lesnícke, potravinárske a veterinárne vedy pri SAV. Poľnohospodárska sekcia*. Bratislava : Slovenská spoločnosť pre poľnohospodárske, lesnícke, potravinárske a veterinárne vedy pri SAV, 2005, s. 124-125.
30. Živčák, M. – Brestič, M. – Olšovská, K. – Ferus, P. Hodnotenie osmotického prispôsobenia vo vzťahu k tolerancii genotypov pšenice na suchu. In: *Vliv abiotických a biotických stresorů na vlastnosti rostlin*. Praha: ČZU a VÚRV, 2006, 116 – 119.