

**SLOVENSKÁ POĽNOHOSPODÁRSKA UNIVERZITA  
V NITRE**

**FAKULTA AGROBIOLÓGIE A POTRAVINOVÝCH ZDROJOV**

**Katedra fyziológie rastlín**

**Bioindikácia fyziologického stavu rastlín v ekosystéme  
v podmienkach environmentálneho stresu**

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

**Ing. Jana Repková**

**Nitra, 2007**

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. Jana Repková*  
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 systémovej biológie a ekológie AV ČR, Brno

*doc. Ing. Katarína Štrelcová, PhD.*  
Katedra prírodného prostredia  
Lesnícka fakulta  
Technická univerzita, Zvolen

*Ing. Jozef Vidovič, CSc.*  
SCPV, 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

## ABSTRAKT

V rokoch 2003- 2006 boli realizované nádobové vegetačné experimenty s jačmeňom jarným (*Hordeum vulgare*, L.), ktorých cieľom bolo indikovať fyziologický stav rastlín v ekosystéme v podmienkach environmentálneho stresu.

V priebehu vegetačného obdobia sme monitorovali mikroklimatické podmienky v prostredí i priamo v poraste na jednotlivých jeho úrovniach. Premenlivosť teploty a intenzity žiarenia ovplyvnila vývoj listovej plochy. S narastajúcou teplotou prostredia sme zaznamenali urýchlenie nástupu listov a ich expanzie. Zmena distribúcie prenikajúceho žiarenia vo vnútri zapojeného porastu iniciovala aklimáciu vnútroporastových listov. Na úrovni fotosyntetického aparátu vnútroporastových listov sme zaznamenali zmenu veľkosti svetlozberného komplexu vyjadrenú ako pomer chl *a/b*, pokles rýchlosti maximálnej fotosyntézy a pokles maximálnej fotochemickej efektívnosti fotochemických procesov spojeného so znížením rýchlosti elektrónového transportu.

Denný priebeh fotochemických a nefotochemických procesov rastlín aklimovaných na rozdielne svetelné podmienky poukazuje na prítomnosť fotoinhibície u tienneho variantu a vysoký podiel neaktívnych reakčných centier, ktorých obnova bola pomalšia v porovnaní so slnnym variantom. I keď sa výrazne aktivovali disipačné mechanizmy, k úplnej relaxácii nedošlo, čo dokazuje nízka hodnota parametra P.I. na konci dňa.

Expozícia vnútroporastových listov na priame slnečné žiarenie mala za následok zníženie maximálnej fotochemickej efektívnosti, nárast tepelnej disipácie, pokles prieduchovej vodivosti a s tým spojený pokles rýchlosti čistej fotosyntézy, rovnako ako u exponovaného tienneho variantu. Inhibičný účinok silného žiarenia nebol pozorovaný u neporušených listov priamo v poraste, ktoré si aj počas popoludňajších hodín udržali vysokú efektívnosť fotosyntetických procesov.

Jednou z najrýchlejších sa prejavujúcich reakcií na zmenu vodných pomerov bolo zatváranie prieduchov. Listy spodnej vrstvy porastu reagovali rýchlejšie na stratu vody znížením prieduchovej vodivosti v porovnaní s vyššie umiestnenými listami. Zatvorenie prieduchov malo za následok pokles intercelulárnej koncentrácie CO<sub>2</sub> v listoch a rýchlosti čistej fotosyntézy. Zaznamenali sme rozdielnu reakciu prieduchov spodnej strany listu, ktoré sa v porovnaní s vrchnou stranou, zatvárali rýchlejšie.

Účinok narastajúcej teploty na primárne fotochemické procesy sa prejavil poklesom maximálnej fotochemickej efektívnosti PSII a prítomnosťou K- kroku v priebehu OJIP krivky v dôsledku poškodenia kyslík- vyvíjajúceho komplexu. Reakcia mladých listov na teplotný stres bola v porovnaní s dospelými listami citlivejšia. Okrem veku listov ovplyvnili termostabilitu PSII aj interakcie environmentálnych faktorov, kedy mierny vodný deficit prispel k udržaniu funkčnosti PSII v prostredí s vysokou teplotou.

Štúdium mechanizmov reakcií individuálnych rastlín na environmentálne faktory môže prispieť k pochopeniu regulačných vzťahov na úrovni porastu i ekosystému.

*Kľúčové slová: jačmeň, žiarenie, fotosyntéza, fluorescencia chl a, teplotný stres*

## ABSTRACT

In seasons 2003- 2006 were performed vegetation pot trials experiments with spring barley (*Hordeum vulgare*, L.). The aim of the work was indicating of physiological state of plants in ecosystem in environmental stress conditions.

During growth season there were monitored microclimate environment conditions over and within the canopy. Leaf area development was affected by temperature and light irradiance. We observed faster leaf appearance and their expansion with increasing temperature. Leaf area growth had result in variation of penetrating irradiance and requirement in acclimation to these conditions. We recorded reactions of acclimation process of inner-canopy leaves as changes in size of light- harvesting complex expressed by chlorophyll *a/b* ratio, decrease of the maximal photosynthesis rate and decrease of primary photochemistry that was connected with decrease of electron transport rate.

Daily progress of photochemical and nonphotochemical processes showed inhibition effect of high light and increasing portion of inactive reaction centres in shade leaves. Recovery process was slower in compare with sun leaves. Despite activation of dissipation mechanisms regeneration of primary photochemistry was not full as describes low P.I. parameter before the sunset.

It was observed decrease of maximal photochemical efficiency, increase of dissipation mechanisms, stomatal closure and then the restriction of net photosynthesis rate after exposing of inner- canopy leaves to direct irradiance as well as for control shade leaves. The inhibition effect was not observed for non-exposed leaves that sustained higher efficiency of photosynthesis during the day.

Stomatal closure was one of the most rapid reactions induced by changes in water conditions. Reactions of leaves from low part of canopy were faster in compare with upper leaves. Decrease of stomatal conductance had result in decline of intercellular CO<sub>2</sub> concentration and than in depression of net photosynthesis rate. Stomata of the abaxial leaf side closed quicker than on adaxial leaf side.

Effect of increased temperature has been shown as decrease of maximal photochemical efficiency and K- step present in OJIP curve that occurs as result of oxygen- evolving complex damage. Thermostability of PSII increased with leaf age when young leaves were more sensitive to high temperature in contrast to mature leaves. Also mild water deficit could increase PSII thermostability during heat stress.

Individual plant response to environmental stress factors could contribute to understanding of regulative relationships at canopy and ecosystem level.

*Key words: barley, irradiance, photosynthesis, chl a fluorescence, heat stress*

## OBSAH

ABSTRAKT.....	3
ABSTRACT.....	4
OBSAH.....	4
ÚVOD.....	5
1. PREHLAD O SÚČASNOM STAVE RIEŠENEJ PROBLEMATIKY.....	5
2. CIEĽ PRÁCE.....	8
3. MATERIÁL A METÓDY.....	9

4.	VÝSLEDKY A DISKUSIA .....	9
4.1	Analýza mikroklimatických podmienok tvorby listovej plochy porastu .....	10
4.2	Aklímácia fotosyntetického aparátu .....	11
4.3	Zraniteľnosť porastových listov v podmienkach environmentálnych stresov ..	12
5.	ZÁVERY .....	15
6.	ZOZNAM POUŽITEJ LITERATÚRY .....	16
7.	VÝBER PUBLIKOVANÝCH PRÁC SÚVISIACICH S PROBLEMATIKOU ..	18

## ÚVOD

Základom produkcie biomasy rastlinných ekosystémov je fotosyntetická asimilácia. Nastupujúci trend klimatických zmien, a s tým súvisiaca zvyšujúca sa frekvencia environmentálnych stresov, negatívne ovplyvňuje realizáciu produkčných procesov nielen na úrovni poľnohospodárskych plodín, ale aj na úrovni prirodzených trávnych a lesných ekosystémov.

Pre lepšie pochopenie reakcií rastlín k meniacim sa klimatickým podmienkam, ako i pre predikciu vývoja ekosystémov počas nich, je potrebné bližšie charakterizovať reakcie rastlín ovplyvnených environmentálnym stresom. Výsledná reakcia ekosystémov bude totiž v konečnom dôsledku určená odpoveďou individuálnych jedincov a ich vzájomnými vzťahmi.

Indikácia stresového stavu u porastových rastlín je zložitý proces, ktorý si vyžaduje komplexný pohľad na signalizáciu, prenos a transdukciu signálov, reguláciu fyziologických mechanizmov a výsledných odpovedí realizovaných na úrovni rastlín alebo ich morfológicky menších štruktúr. K štúdiu napomáha simulácia stresových podmienok, v ktorých je možné modulovať prítomnosť aj intenzitu pôsobiacich environmentálnych faktorov, a tak charakterizovať stresový účinok a interakčný efekt faktorov prostredia na fyziologické procesy rastlín.

Aktuálnosť ekofyziologickej analýzy fyziologických procesov a regulačných mechanizmov rastlín vyplýva z potreby definovať parametre vhodné pre rýchlu detekciu prítomnosti environmentálneho stresu v ekosystémoch. Svoju úlohu zohráva i v hľadaní kritérií potrebných pre zefektívnenie skringového procesu v šľachtení rastlín tolerantných k stresom.

Dizertačná práca bola riešená v súvislosti s riešením projektu MŠ SR AV/1109/2004 Klimatická zmena a sucho v SR: dopady a východiská pre udržateľné poľnohospodárstvo, produkciu a kvalitu.

## 1. PREHĽAD O SÚČASNOM STAVE RIEŠENEJ PROBLEMATIKY

Prirodzený ekosystém predstavuje súhrn vzájomných interakcií medzi organizmami a ich prostredím ako integrovaného systému, ktorý je navzájom prepojený tokom energie a hmoty a ovplyvňovaný fyzikálnymi faktormi prostredia. Bližšie pochopenie jednotlivých súvislostí si vyžaduje pochopenie faktorov, ktoré regulujú zásobu a tok látok a energie cez jednotlivé komponenty samotného ekosystému i ekosystémy navzájom (Chapin *et al.*, 2002).

Doterajšie prístupy hodnotenia produktivity a funkčnosti poľnohospodárskeho ekosystému boli zamerané na celkovú fotosyntézu, dýchanie, rast a veľkosť listovej

plochy (Kostrej *et al.*, 1998; Anten, 2005). Súčasnú štúdiu sa popri už spomínaných parametroch sústreďuje na reakcie individuálnych rastlín a ich štruktúr na orgánovej, morfolologickej a molekulárnej úrovni.

Na úrovni ekosystémov je jednotkou fotosyntézy porastová vrstva listov. Vývoj listovej plochy je v prirodzených podmienkach do veľkej miery ovplyvňovaný premenlivosťou teploty a intenzity žiarenia v prostredí. So zvyšujúcou teplotou sa urýchľuje nástup jednotlivých listov hlavného stbla i odnoží a zvyšuje sa rýchlosť predĺžovacieho rastu listov. V porovnaní s dĺžkou expanzie listovej plochy je rýchlosť expanzie oveľa citlivejšia k premenlivosti prostredia. Vystavenie nedospelých pletív environmentálnemu stresu znižuje rýchlosť expanzie listov.

Distribúcia listovej plochy je dôležitým faktorom rýchlosti fotosyntézy porastu. So zvyšujúcim sa indexom listovej pokrývnosti narastá podiel zachyteného žiarenia, výsledkom čoho je zvýšenie produktivity. Rozloženie listov v profile porastu určuje podiel žiarenia, ktoré prenikne k jeho najnižšie umiestneným listom. Keďže rastom listovej plochy vyššie postavených listov dochádza k zatieneniu spodných vrstiev, je potrebné optimalizovať veľkosť listovej plochy tak, aby aj najnižšie umiestnené listy v poraste absorbovali žiarenie dosahujúce kompenzačný bod.

Vysoká variabilita environmentálnych podmienok významne mení reakcie vyšších rastlín k pôsobiacim biotickým a abiotickým stresom. Rastliny disponujú rozdielnou schopnosťou prispôbiť fyziologické funkcie a štruktúrne komponenty zmeneným podmienkam, ktoré sa realizujú v časovom intervale niekoľkých sekúnd až celého vegetačného obdobia. Táto vlastnosť sa nazýva aklimácia, a na rozdiel od adaptácií realizovaných na genetickej úrovni, sa prejavuje na úrovni fenotypu.

Aklimačný potenciál rastlín je druhovo špecifický (Oguchi *et al.*, 2005) a daný schopnosťou rastlín reagovať na signály vonkajšieho prostredia (Walters *et al.*, 1999). Schopnosť aklimácie listov na zmeny ožiarenia je limitovaná už existujúcimi štruktúrami fotosyntetického aparátu (Murchie *et al.*, 2005) a vo veľkej miere závisí od podmienok, v ktorých sa list vyvíja, rovnako i od veku listov.

V prípade, že rastliny nie sú schopné efektívne využiť absorbovanú energiu vo fotochemických procesoch, môžu sa fotóny neustále prichádzajúce do reakčného centra stať zdrojom jeho poškodenia (Aro *et al.* 1993). Vznikajúce formy chlorofylu sú schopné reagovať s molekulárnym kyslíkom (Asada, 1999) a ten následne s molekulami pigmentov, zvyškami aminokyselín alebo lipidov. V dôsledku toho dochádza k zníženiu aktivity fotosystému PSII- fotoinhibícii (He, Malkin, 2000). Obnova efektívnosti fotochemických procesov môže prebiehať v krátkom časovom intervale niekoľkých minút (dynamická fotoinhibícia) alebo v priebehu niekoľkých hodín (chronická fotoinhibícia). Tvorba fotochemicky neaktívnych reakčných centier, schopných transformovať excitačnú energiu na teplo, môže ochraňovať okolité PSII pred ich prípadným poškodením (Zhang, Xu 2003).

Z hľadiska minimalizácie fotooxidatívneho poškodenia je potrebné vytvárať rovnováhu medzi absorpciou a využitím energie fotónov. Rastliny majú vyvinuté rôzne mechanizmy, ktoré im pomáhajú regulovať efektívnosť absorpcie, prenosu i využitia excitačnej energie vo fotochemických procesoch. Pohyb listov, buniek alebo chloroplastov alebo zmena reflektancie listov prispôsobuje kapacitu zachytávania žiarenia (Wada *et al.*, 2003). Na molekulárnej úrovni sa realizuje nefotochemická disipácia absorbovanej energie vo forme tepla alebo sa využívajú alternatívne cesty

transportu elektrónov (fotorespirácia, Mehlerova reakcia), ktoré uvoľňujú nadbytočnú energiu, čím ochraňujú fotosyntetický aparát pred poškodením.

Nedostatok vody je najvýznamnejším abiotickým faktorom, ktorý limituje rast a produktivitu rastlín, (Boyer, 1982). Na rozdiel od minerálnych živín má voda v ekosystémoch veľmi rýchly kolobeh a jej zásoba v rastlinách i v pôde stačí iba na pomerne krátku dobu. Syntéza kyseliny abscisovej ABA v koreňoch a jej transport do listov stimuluje zatváranie prieduchov, čím redukuje stratu vody z listu transpiráciou (Davies, Zhang, 1991). K zintenzívneniu reakcie prieduchov na prítomnosť ABA dochádza v prípade, ak už boli rastliny predtým vystavené pôsobeniu sucha (Tardieu, Davies, 1992). Podľa Comstocka (2002) reagujú prieduchy priamo na niektoré zmeny vodného stavu listu. Poukazuje tak na gradienty vodného potenciálu vznikajúce medzi koreňom a nadzemnou časťou ako výsledku transportu vody. Tento mechanizmus umožňuje stabilnejšiu reguláciu vodného stavu nadzemnej časti rastliny a lepšiu ochranu samotného transportného systému. Dôležitú úlohu v regulácii vodného režimu rastlín zohrávajú rozdiely v otvorenosti prieduchov medzi abaxiálnou a adaxiálnou stranou listu. Heterogénne zatváranie prieduchov na listoch obilnín je významným mechanizmom, ktorý spolu s morfológickou úpravou a pohybmi listov, prispieva k uchovaniu vody najmä v prvých fázach dehydratácie (Olšovská, Brestič, 2001).

Dôležitosť vodivosti prieduchov v zastavení dodávky CO<sub>2</sub> do metabolizmu (stomatická limitácia) a metabolické zmeny, ktoré znižujú potenciálnu rýchlosť fotosyntézy (nestomatická limitácia) sú stále diskutované. Pokles relatívneho obsahu vody v listoch (RWC) v intervale 100-75% spája Lawlor a Cornic (2002) so stomatickou limitáciou fotosyntézy, počas ktorej sa znižuje prieduchová vodivosť a klesá koncentrácia CO<sub>2</sub> v intercelulárnych priestoroch listu a následne aj fotosyntetická asimilácia uhlíka. Zmeny súvisiace so znížením RWC pod 75% pripisujú nestomatickej limitácii spojenej najmä s metabolickou inhibíciou potenciálnej fotosyntézy (znížená aktivita enzýmu Rubisco, pokles regenerácie ribulózy-1,5-bisfosfát, znížená dodávka ATP a NADPH do cyklu redukcie uhlíka, nahromadenie asimilátov v chloroplastoch). Zvýšením parciálneho tlaku CO<sub>2</sub> v prostredí sa môže inhibícia fotosyntézy čiastočne eliminovať, avšak nie na úroveň potenciálu nestresovaných rastlín (Tezara *et al.*, 1999), prípadne zostáva reakcia rastlín bez odpovede (Cornic, Massaci, 1996).

Vysoká teplota zasahuje fotosyntézu zmenou distribúcie excitačnej energie na úrovni tylakoidnej membrány (Berry, Björkman, 1980) a mení aktivitu Calvinovho cyklu a ďalších metabolických procesov (fotorespirácia a syntéza produktov). S narastajúcou teplotou dochádza najprv k rozpadu jednotlivých častí fotosystému (najmä k odtrhnutiu svetlozberných komplexov od reakčného centra) a následne k denaturácii proteínov. Zmena funkčnosti enzýmu Rubisco vysokou teplotou je spôsobená modifikáciou jeho substrátovej špecifickosti, čo ovplyvňuje i jeho aktivitu. Teplota limituje dostupnosť CO<sub>2</sub> zvýšením rezistencie difúzie plynov v listoch alebo zmenou relatívnej rozpustnosti CO<sub>2</sub> a O<sub>2</sub>. Makino *et al.* (1994) predpokladá, že intercelulárna vodivosť listov je ovplyvnená teplotou, v ktorej sa listy vyvíjali.

V prirodzených podmienkach nie je možné eliminovať pôsobenie niektorého z abiotických faktorov prostredia. Ich vzájomný vzťah je pomerne zložitý a prejavuje sa synergickým alebo antagonistickým pôsobením s výsledným dopadom na fyziologické procesy rastlín. Napríklad, kým nie je dostupnosť vody limitujúca, transpirácia zabraňuje prehrievaniu listov, a tým eliminuje účinok teploty na minimum.

Avšak neskôr, pri silnom deficite vody, je komplikované oddeliť priamy účinok teploty od vplyvu deficitu vody. Niektorí autori (Lu, Zhang, 1999; Havaux, 1992) poukazujú na antagonistický vplyv deficitu vody a účinku vysokej teploty, ktorý zvyšuje rezistenciu PSII k pôsobeniu vysokej teploty počas dehydratácie. Predpokladajú, že zvýšená termostabilita PSII je spojená s akumuláciou rozpustných komponentov, ktoré sa syntetizujú počas dehydratácie a prispievajú k stabilizácii tylakoidnej membrány.

Analýza fluorescencie chlorofylu *a* je jednou z najviac používaných techník vo fyziológii a ekofyziológii rastlín. V kombinácii s ďalšími prístupmi podáva komplexný obraz reakcií rastlín v podmienkach environmentálneho stresu.

Ekofyziologické prístupy využívajú analýzu fluorescencie chlorofylu *a* na monitorovanie fotochemických a nefotochemických procesov prebiehajúcich vo fotosystéme II. Princípom metódy je jedna z možných ciest využitia absorbovaného žiarenia, ktoré môže byť spracované vo fotochemických reakciách, disipované ako teplo alebo vyžiarené vo forme fluorescencie chlorofylu *a*. Tieto tri procesy existujú vo vzájomnej konkurencii a ak narastá efektivita jedného z nich, výsledkom je pokles výťažku zvyšných dvoch. Charakter emitovanej fluorescencie je daný absorbujúcimi pigmentmi, prenosom excitačnej energie, pôvodom a orientáciou fluorescujúcich pigmentov, redoxným stavom reakčných centier a donormi a akceptormi elektrónov vo fotosystéme PSII (Strasser *et al.*, 2000). Meraním výťažku fluorescencie chlorofylu je možné získať informácie o zmenách efektivity primárnych fotochemických a nefotochemických procesov.

Rýchla kinetika fluorescencie chlorofylu *a* pracuje rádovo v mikrosekundách. Jej výhody spočívajú v získaní veľkého množstva informácií v krátkom časovom intervale, dlhší možný čas merania priamo v teréne a rýchle spracovanie množstva vzoriek. Nevýhodou je však potreba zatienia. Výsledkom meraní je OJIP krivka charakterizujúca etapy prenosu elektrónov vo fotosystéme PSII. Podľa charakteru pôsobiaceho stresového faktora sa mení aj priebeh krivky. Kým vplyv vodného stresu sa na tvare krivky neprejaví až po hodnoty pomerne vážneho vodného deficitu (Lu, Zhang, 1999), účinok pôsobenia teploty spôsobuje viditeľné zmeny. V prvej fáze OJIP krivky (300 $\mu$ s) sa objavuje tzv. K- krok, ktorý je spojený s inhibíciou kyslík – vyvíjajúceho komplexu (OEC) (Strasser, 1997). Z hľadiska rýchlej detekcie aktivity primárnych fotochemických procesov je vhodným prostriedkom charakterizujúcim poškodenie fotosyntetického aparátu na úrovni PSII.

## 2. CIEĽ PRÁCE

V rámci dizertačnej práce „*Bioindikácia fyziologického stavu rastlín v ekosystéme v podmienkach environmentálneho stresu*“ boli riešené nasledovné ciele:

1. Sledovať premenlivosť mikroklímy porastu a kvantifikovať využitie slnečného žiarenia v závislosti od štruktúry porastu, priebehu vegetačného obdobia rastlín a fluktuácie klimatických faktorov.
2. Charakterizovať krátkodobý a dlhodobý vplyv environmentálnych stresov využitím porometrických, gazometrických, spektrofotometrických metód, analýzy fluorescencie chlorofylu *a*, rastovej analýzy a vymedziť limity produkcie biomasy.
3. Rozpracovať možnosti rýchlej detekcie environmentálneho stresu v poraste.



### 3. MATERIÁL A METÓDY

Ako biologický materiál bola použitá odroda jačmeňa jarného (*Hordeum vulgare* L.) ‚Kompakt‘ (ŠS Sládkovičovo, SR), stredne skorá, plastická odroda jačmeňa jarného so strednou odnožovacou schopnosťou, bohatou koreňovou sústavou a dobrou produktivitou, ktorá sa vyznačuje štandardnými fyziologickými vlastnosťami.

V rokoch 2003- 2006 boli realizované nádobové vegetačné pokusy s jačmeňom jarným so zameraním na štádium mechanizmov prebiehajúcich na úrovni PSII v podmienkach environmentálnych stresov v porastových rastlinách.

#### 1. Analýza mikroklimatických podmienok:

- Analýza svetelných podmienok- umiestnenie senzorov nad porastom a v dvoch úrovniach porastu- snímanie FAR v priebehu dňa a celého vegetačného obdobia v 1s intervaloch so zápisom v 5 min intervaloch
- Analýza teplotných podmienok v priebehu vegetačného obdobia so zápisom teploty vzduchu v 15 min intervaloch

#### 2. Aklimácia fotosyntetického aparátu na zmenu svetelného režimu vnútroporastových listov a listov aklimovaných na prirodzený svetelný režim:

- Kvantitatívne stanovenie obsahu asimilačných pigmentov spektrofotometricky
- Rýchle svetelné krivky (MiniPam, Waltz, Gemany)
- Analýza rýchlej kinetiky fluorescencie chlorofylu *a* (HandyPEA, Hansatech, Norfolk, UK)
- Stanovenie rýchlosti maximálnej fotosyntézy  $P_{max}$  (Cirac- 2PP-Systems, Norfolk, UK)

#### 3. Ekofyziologická analýza zraniteľnosti porastových listov:

- Expozícia vnútroporastových a tiennych listov jačmeňa priamemu slnečnému žiareniu a porovnanie reakcií s neexponovanými vnútroporastovými listami (analýza rýchlej kinetiky fluorescencie chlorofylu *a*, stanovenie rýchlosti čistej fotosyntézy  $P_n$ , stanovenie prieduchovej vodivosti (Delta- T- Device, Cambridge, UK)
- Postupná dehydratácia (relatívny obsah vody RWC, analýza rýchlej kinetiky fluorescencie chlorofylu *a*, stanovenie rýchlosti čistej fotosyntézy  $P_n$ , stanovenie prieduchovej vodivosti)
- Teplotný test: mechanizmus účinku narastajúcej teploty (38, 40, 42, 44°C) na fotosystém II a účinok vysokej teploty (40°C) v závislosti od veku listu.

### 4. VÝSLEDKY A DISKUSIA

Vysoko aktuálna problematika detekcie environmentálneho stresu v prostredí ovplyvňovanom klimatickou zmenou poukazuje na potrebu poznať reakcie rastlín na jednotlivé environmentálne faktory a vymedziť ich pôsobenie na rôznych organizačných úrovniach ekosystému a rastlinného organizmu. Zložitosť problematiky vyplýva najmä z veľkej medzidruhovej variability, ako aj heterogenity vnútorného prostredia.

#### 4.1 Analýza mikroklimatických podmienok tvorby listovej plochy porastu

Na úrovni ekosystémov je jednotkou fotosyntézy porastová vrstva listov. Rýchlosť fotosyntézy i priebeh ďalších fyziologických procesov závisí od klimatických faktorov, štruktúry i fyziológie individuálnych listov.

Rýchlosť produkcie listov stebkami v porastových rastlinách závisí primárne na teplote expandujúcich listov, najmä zóny expanzie buniek. Relevantnou teplotou v období pred vytvorením stebľa je teplota okolitej pôdy alebo vzduchu tesne nad povrchom pôdy. Hay a Porter (2006) uvádzajú interval sumy teplôt potrebný pre vznik listov ozimnej pšenice v rozsahu 70- 160°C. V našom experimente sa hodnoty pre jarný jačmeň pohybujú v intervale 35- 115°C, čo súvisí s agrotechnickým termínom sejby jarného jačmeňa a kratšou dĺžkou jeho vegetačného obdobia v porovnaní s ozimnou pšenicom.

Aktuálna veľkosť listu závisí od rýchlosti a trvania jeho expanzie, pričom kardinálne teploty (minimum, optimum, maximum) pre rýchlosť expanzie listu sú podobné ako teploty uvádzané pre produkciu listu. Z hľadiska teploty je v optimálnych podmienkach trvanie expanzie listu od jeho objavenia až po dosiahnutie maximálnej veľkosti konštantné. Sezónny vývoj veľkosti listovej plochy u jačmeňa začína pomalým nárastom v priebehu apríla a mája, po ktorom nasleduje rýchly nárast spojený s vyššími teplotami a väčšou plochou individuálnych listov až k výraznému vrcholu v júni. Suma priemerných denných teplôt za ontogenézu jednotlivých listov je premenlivá v závislosti od poradia listu na hlavnom stebľa a od podmienok prostredia, v ktorých sa list vyvíjal (slnne a tienne podmienky). Najnižšie hodnoty pripadajú na prvé dva listy, ktoré majú najnižší počet dní ontogenézy. V porovnaní s prvým listom sme pri štvrtom, piatom a šiestom liste slnneho variantu zaznamenali dvojnásobné hodnoty, čo korešponduje s dĺžkou ontogenézy týchto listov, počas ktorej vytvárajú dostatočne veľkú a funkčnú fotosyntetizujúcu plochu. Najrýchlejší nástup sme pozorovali u tretieho a štvrtého listu slnneho variantu, ktorým postačoval interval sumy teplôt 35-50°C. Najdlhší interval, viac ako 100°C, vyžadoval nástup šiesteho a siedmeho listu hlavného stebľa.

Za celé vegetačné obdobie jarného jačmeňa dosiahla suma priemerných denných teplôt v našich podmienkach hodnotu takmer 1800°C, pričom suma maximálnych denných teplôt presiahla hodnotu 2300°C. Priemerná teplota za jeden deň predstavovala  $18,2 \pm 0,4^\circ\text{C}$ .

Určovanie radiačného režimu porastu je na rozdiel od iných mikroklimatických charakteristík pomerne zložitá. Zložitosť kvantitatívneho opisu vyplýva najmä z rozdelenia dopadajúceho žiarenia na priame a difúzne, variability radiačného poľa vo vnútri porastu, zmeny spektrálneho zloženia radiácie po preniknutí do profilu porastu či celkovej architektúry porastu. Celkové množstvo dopadajúceho FAR v priebehu celého vegetačného obdobia jačmeňa zodpovedalo hodnote približne 2000 mol.m<sup>-2</sup>, pričom v roku 2005 pripadlo maximum na máj (701,13 mol.m<sup>-2</sup>) a jún (697,51 mol.m<sup>-2</sup>) a v roku 2006 na jún (662,79 mol.m<sup>-2</sup>). Denná suma žiarenia sa pohybovala v rozpätí 33-30 mol.m<sup>-2</sup>.deň<sup>-1</sup> (maximum) až 5-7 mol.m<sup>-2</sup>.deň<sup>-1</sup> (minimum), v priemere 21 mol.m<sup>-2</sup>.deň<sup>-1</sup>. Vo vnútri porastu sa hodnoty pohybovali v intervale 2-4 mol.m<sup>-2</sup>.deň<sup>-1</sup>.

U C3 typu rastlín nastáva saturácia fotosyntézy svetlom pri 600 μmol.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup> (Larcher, 1995). Na základe svetelných kriviek sme stanovili bod saturácie pre porastové rastliny (700 μmol.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup>). Zaujímalo nás, aký podiel z dennej sumy

dosahuje žiarenie prevyšujúce túto hodnotu. Analýzou vybraných dní sme namerali 65-75%- ný podiel hodnôt vyšších, ako je bod saturácie. Z časového hľadiska predstavuje tento podiel takmer 7 hodín z celého dňa.

I keď sa problematika svetelných škvŕn intenzívne študuje najmä v lesných ekosystémoch, podľa nášho názoru, sa jej význam nestráca ani pri ekosystémoch tvorených hustosiatymi obilninami. Listy spodných vrstiev porastu sa taktiež musia vyrovnávať s nadsaturačnými intenzitami, čo si vyžaduje reguláciu fotosyntetického aparátu na úrovni vodivosti prieduchov, aktivácii enzýmov a mechanizmov disipácie nadbytku žiarenia. Zatiaľ čo vrchné listy sú v popoludňajších hodinách bezprostredne vystavené žiareniu takmer  $1300 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ , väčšina žiarenia prenikajúceho k spodným listom častokrát nepresahuje hodnoty  $100 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ . Podľa Pearcy *et al.* (1990) predstavujú svetelné škvŕny intenzitu žiarenia vyššiu ako  $200 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ . Vychádzajúc z tohto tvrdenia sme na úrovni vnútroporastového štvrtého a piateho listu hodnotili podiel žiarenia presahujúceho danú hodnotu. Pri plne zapojenom poraste predstavuje žiarenie vyššie ako  $200 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  podiel 15- 20% z dennej sumy žiarenia, z čoho 6- 8% preniká na úroveň piateho listu a iba 3% na úroveň štvrtého listu.

## 4.2 Aklimácia fotosyntetického aparátu

V priebehu ontogenézy rastlín podlieha svetelné prostredie neustálym zmenám, kvalitatívnym i kvantitatívnym. V reakcii na to sa fotosyntetický aparát prispôbuje a výsledkom je snaha maximalizovať využitie dopadajúceho žiarenia a zabrániť možnému poškodeniu z nadmerného žiarenia. Na úrovni chloroplastov dochádza u väčšiny rastlín k zmene pigment- proteínových komplexov a fotosyntetických enzýmov.

V dôsledku pribúdania listovej plochy vrchných listov sme vo vnútri porastu v krátkom čase (7 dní) pozorovali rýchlu zmenu svetelných podmienok až na hodnoty namerané v simulovaných tiennych podmienkach. Zmeny žiarenia v profile porastu mali hlavný účinok na stupeň saturácie fotosyntézy vnútroporastových listov i možnosť fotoinhibície. S narastajúcou hĺbkou porastu bolo možné pozorovať pokles maximálnej fotosyntézy a zníženie pomeru chlorofylu *a/b*, ktorý poukazuje na zmenu veľkosti svetlozbernej antény (Murchie *et al.*, 2002). Už na 11.deň od dosiahnutia maximálnej veľkosti listovej plochy vnútroporastového listu sme pozorovali pokles maximálnej a aktuálnej fotochemickej efektívnosti na úroveň hodnôt nameraných u kontrolného tienneho variantu, ktorý súvisel s poklesom rýchlosti elektrónového transportu. Až do začiatku senescencie listu korešpondovali tieto hodnoty s hodnotami nameranými v simulovaných tiennych podmienkach.

Ochranná funkcia neradiačnej disipácie absorbovanej energie vyjadrená ako koeficient nefotochemického uhasinania fluorescencie chlorofylu *a* (NPQ), je založená na redukcii excitačného tlaku na PSII. Rastliny rastúce v prostredí so silným žiarením majú zvýšenú kapacitu NPQ v porovnaní s rastlinami pochádzajúcimi z prostredia so slabým svetlom. U väčšiny rastlín aklimovaných na silné žiarenie koreluje vyššia kapacita neradiačnej disipácie absorbovanej energie so zvýšenou zásobou violaxantínu, anteraxantínu a zeaxantínu a obsahom deepoxidovaných xantofylov (Demmig-Adams, Adams, 1994). Tienne listy sú charakteristické zmenšením svetlozberného komplexu, ktorý je spájaný s neradiačnou disipáciou v PSII, preto sa predpokladá nižšia kapacita nefotochemických procesov.

Prenos slnných rastlín do simulovaných tiennych podmienok sa prejavil zmenou vzájomného pomeru chl  $a/b$  a zmenou rýchlosti maximálnej fotosyntézy ( $P_{\max}$ ). Z pôvodných  $43,1 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  klesla  $P_{\max}$  na 5.deň na  $29,5 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ , na 7.deň po prenose to bolo už iba  $27,2$  a na 9.deň na  $21,4 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ , čo predstavuje porovnateľnú hodnotu s tiennym variantom na začiatku sledovaného obdobia, u ktorého dosahovala  $P_{\max}$   $23,9 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ . Pokles  $P_{\max}$  poukázal na znižovanie kapacity fotosyntézy a s tým súvisiaceho poklesu obsahu enzýmu Rubisco (Hidema *et al.*, 1991), ku ktorému dochádza vplyvom zmeneného svetelného režimu. Aklimácia  $P_{\max}$  na žiarenie má obyčajne za výsledok optimalizáciu pomeru medzi absorbovanými a využitými fotónmi, takže k saturácii svetlom pri slabom ožiarení nedochádza. Hikosaka (1996) predpokladá, že svetlo je dominantným faktorom v určovaní charakteristik fotosyntézy listov v dospelom poraste a profilu dusíka v jednotlivých listoch. Pre nižšie postavené listy (a teda i staršie v porovnaní s vyššie lokalizovanými listami) je vek listov rovnako dôležitý ako obsah dusíka v nich, nakoľko v skorších štádiách určuje rýchlosť maximálnej fotosyntézy. Časový interval, v ktorom môže fotosyntéza pracovať pri dosiahnutí maximálnych hodnôt, zodpovedá krátkemu časovému úseku dĺžky ontogenézy samotného listu. Pokles  $P_{\max}$  sa pripisuje začiatku senescencie listu a s ňou spojených procesov, ako i samotnému poklesu obsahu enzýmu Rubisco. Na druhej strane však môže účinok tienenia v poraste spomaliť rýchlosť starnutia vnútroporastových listov, a teda i degradácie enzýmu Rubisco (Murchie *et al.* (2002).

### 4.3 Zraniteľnosť porastových listov v podmienkach environmentálnych stresov

Aklimácia na rôzne svetelné podmienky v profile porastu ovplyvňuje zraniteľnosť jednotlivých listov k pôsobiacim environmentálnym stresom, nakoľko disponujú rozdielnou kapacitou pre fotochemické i nefotochemické reakcie .

Z denného priebehu vybraných parametrov rýchlej kinetiky fluorescence chlorofylu  $a$  nameraných u slnneho a tienneho listu počas jasného slnečného dňa sme v poľudňajších hodinách zaznamenali pokles  $F_v/F_m$  pre oba varianty, i keď na rozdiel od tienneho listu, pre slnný list bol pokles hodnôt menej výrazný. Rýchle zníženie  $F_v/F_m$  tienneho variantu na poľudnie bolo nasledované pomalšou relaxáciou  $F_v/F_m$  k podvečerným hodinám, čo poukazuje na prítomnosť chronickej fotoinhibície a zníženie efektívnosti využitia žiarenia, ktorá vyplýva z fotopoškodenia alebo reverzibilného nefotochemického uhasinania spojeného s ochrannými mechanizmami (Demmig- Adams, Adams, 1992). Nižšie hodnoty parametra  $ET_0/CS$  pre tienny variant, ktorý charakterizuje elektrónový transport cez aktívne a neaktívne reakčné centrá, poukazuje na vyšší podiel neaktívnych reakčných centier v poľudňajších hodinách v porovnaní so slnnym variantom. Inaktívacia reakčných centier plní ochrannú funkciu. Tieto reakčné centrá majú modifikovanú konformáciu a menia sa na tzv. „tepelné sinky“, ktoré sú schopné prijať excitón, ale všetku jeho energiu premieňajú na teplo, čím ochraňujú susediace aktívne reakčné centrá. Po odstránení stresu sa môžu opäť transformovať na aktívne. Pokles hodnôt P. I. (Performance Index) z 3 na  $1,02$  a jeho obnova na  $1,7$  poukazuje na zníženie „výkonnosti“ fotochemických procesov tienneho listu. U slnneho listu sme síce zaznamenali pokles P.I v priebehu dňa, ale v podvečerných hodinách sa obnovil na hodnoty porovnateľné s hodnotami nameranými v ranných hodinách.

Obnova funkčnosti fotosyntetických procesov je spájaná s fotoochrannými mechanizmami zahŕňajúcimi xantofylový cyklus (Gilmore 1997). Zvýšená kapacita disipácie energie prostredníctvom xantofylového cyklu zohráva dôležitú úlohu v aklimácii listov na rozdielne svetelné podmienky prostredia. Keďže slnne rastliny disponujú vyššou zásobou pigmentov xantofylového cyklu úzko spojeného s vysokým nefotochemickým uhasinám fluorescencie chlorofylu *a*, rovnako ako i väčšou kapacitou pre rýchlu premenu tejto zásoby na anteraxantín a zeaxantín, zaznamenávajú v prostredí s fluktuujúcim žiarením menšie poškodenie fotochemických procesov. Tienne rastliny sú považované za viac zraniteľné fotoinhibíciou na silnom svetle z dôvodu väčšieho svetlozberného PSII anténneho systému spojeného s vyššími LHClI koncentraciami. Zaznamenali sme výrazný nárast podielu nefotochemických reakcií ( $F_0/F_m$ ), výťažku celkovej tepelnej disipácie ( $PHI_{D0}$ ) a disipácie v aktívnych reakčných centrách ( $DI_0/RC$ ) u tienneho variantu. V porovnaní s 10%-ným nárastom parametra  $DI_0/RC$  u slnného listu sme pre tienne list namerali zvýšenie takmer o 50% z hodnôt nameraných ráno.

Expozícia porastových listov na priame slnečné žiarenie poukazuje na rozdielny priebeh fotochemických a nefotochemických procesov u porastových listov v neporušenom poraste a v podmienkach presahujúcich dlhodobý charakter svetelného režimu vo vnútri porastu. Zaznamenali sme pokles výťažku fluorescencie po expozícii u tienneho i exponovaného vnútroporastového listu. Priebeh jednotlivých fáz OJIP kriviek u exponovaného listu bol slabo rozlíšiteľný s výsledným poklesom  $F_v/F_m$  na 0,71, na rozdiel od neexponovaného vnútroporastového listu, u ktorého došlo k zníženiu  $F_v/F_m$  na 0,81. Okolité prostredie súvislého porastu zabránilo prenikaniu nadmerného množstva žiarenia, na ktoré neboli listy v poraste aklimované, čím sa zabezpečilo udržanie vysokej efektívnosti fotochemických reakcií v priebehu celého dňa. Dokumentuje to aj parameter P.I., ktorého hodnoty sa znížili z 1,49 na 1,37. Pri exponovanom vnútroporastovom liste sme zaznamenali pokles až na 0,48. Fotoinhibičný účinok silného žiarenia charakterizujú zmeny parametra  $ET_0/TR_0$ , ktorý vyjadruje pravdepodobnosť prenosu elektrónu z primárneho akceptora ďalej do elektrónového transportného reťazca. Jeho pokles účinkom silného žiarenia signalizuje vysoký podiel zatvorených reakčných centier, ktoré nie sú schopné prenosu elektrónov.

Súčasne so znižovaním efektívnosti fotochemických reakcií exponovaných listov narástla efektívnosť disipačných mechanizmov, ktorých úlohou bolo zabrániť poškodeniu fotosyntetického aparátu. U exponovaného porastového listu sme zaznamenali dvojnásobný nárast  $DI_0/CS$  v porovnaní s hodnotami nameranými v ranných hodinách, rovnako ako i u tienneho listu. To znamená, že exponovaný porastový list si zachoval zásobu xantofylov (nakoľko išlo pôvodne o slnný list, ktorý sa neskôr aklimoval na tienne podmienky vo vnútri porastu) a v prípade potreby bol schopný túto zásobu rýchlo aktivovať a využiť. Takýto predpoklad vysvetľuje nárast disipačných mechanizmov u exponovaného porastového listu počas popoludňajších hodín, i keď v konečnom dôsledku sa ich ochranný účinok neprejavil na celkovej efektívnosti fotosyntetických procesov exponovaných listov.

Rovnako, ako primárne fotochemické reakcie, boli silným žiarením zasiahnuté i reakcie tmavej fázy fotosyntézy. V popoludňajších hodinách sme zaznamenali zníženie prieduchej vodivosti vplyvom zatvárania prieduchov, pričom prieduchy na spodnej strane listov reagovali rýchlejšie na signál z vonkajšieho prostredia. Bezprostredné vystavenie listov priamemu žiareniu zvýšilo ich teplotu, čo si vyžiadalo

zintenzívnenie transpirácie. Zároveň však došlo k zvýšenému výdaju vody, ktorý signalizoval potrebu zatvorenia prieduchov. Na rozdiel od exponovaných listov sme u neexponovaného vnútroporastového listu nezaznamenali pokles prieduchovej vodivosti a rýchlosti čistej fotosyntézy v popoludňajších hodinách. Nízka premenlivosť svetelného režimu v poraste mu zabezpečila podmienky pre vysokú efektívnosť fotosyntézy počas celého dňa. Naopak, u exponovaných listov sme po expozícii namerali zníženie prieduchovej vodivosti a v dôsledku toho aj intercelulárnej koncentrácie CO<sub>2</sub>, čo sa prejavilo depresiou rýchlosti čistej fotosyntézy.

Otvorenosť prieduchov je dôležitou cestou výmeny plynov medzi rastlinami a prostredím. Reguláciou prieduchovej vodivosti sú rastliny schopné zabrániť nadmernej strate vody, ale na druhej strane môžu zatvorené prieduchy, najmä v období sucha, limitovať prísun CO<sub>2</sub> potrebného pre fotosyntetickú asimiláciu (Tardieu, Davies, 1992). Strata vody z listov počas dehydratácie sa prejavila rýchlejšie u nižšie postavených listov v poraste. Už so slabým poklesom relatívneho obsahu vody v listoch (RWC 83%) sme zaznamenali pokles prieduchovej vodivosti listov. Vyššie umiestnené listy zatvárali prieduchy pri poklese RWC na 75-78%. Rovnako, ako Olšovská a Brestič (2001), sme pozorovali rozdielnu reakciu prieduchov na vrchnej a spodnej strane listu. Prieduchy na spodnej strane sa zatvárali rýchlejšie v porovnaní s vrchnou stranou u všetkých meraných listov. Heterogenita zatvárania prieduchov tak na jednej strane regulovala stratu vody, ale zároveň umožnila tok CO<sub>2</sub> do listu. Pokles prieduchovej vodivosti indukoval zníženie intercelulárnej koncentrácie CO<sub>2</sub> a následne aj rýchlosti čistej fotosyntézy. U nižšie postavených listov došlo k poklesu rýchlosti fotosyntézy na nulu skôr, čo súviselo s rýchlejšou stratou vody a skorším zatvorením prieduchov.

Na rozdiel od deficitu vody, ktorý účinkuje nepriamo na komponenty fotosystémov, teplotný stres zasahuje tylakoidnú membránu priamo. Narastajúca teplota (36, 38, 40, 42 a 44°C) sa prejavila zvýšením minimálnej fluorescence a poklesom maximálnej fluorescence s výsledným poklesom Fv/Fm. Nárast minimálnej fluorescence možno vysvetliť ako dôsledok poklesu sumy všetkých deexcitačných rýchlostných konštánt alebo prítomnosťou voľného chlorofylu a odpojených proteínov antén, ku ktorému došlo v dôsledku pôsobenia tepla alebo nahromadením redukovanej formy primárneho akceptora elektrónov (Yamane *et al.*, 2000). Účinok teplôt 42 a 44°C bol v porovnaní s teplotami 36, 38 a 40°C oveľa výraznejší, hodnoty Fv/Fm boli znížené na polovicu.

V zobrazení OJIP krivky (300 μs) sme pri teplote 42 a 44°C pozorovali náhle zvýšenie fluorescence, tzv. K krok, po ktorom nasledoval jej pokles. K krok sa objavuje, keď elektrónový tok na akceptorovej strane presahuje elektrónový tok na strane donora, čo vedie k oxidácii reakčného centra (Strasser, 1997). Účinok teploty na akceptorovej strane možno charakterizovať pomocou parametra V<sub>i</sub> (relatívna variabilná fluorescence v čase I), ktorého nárast poukazuje na inhibíciu transportu elektrónov na akceptorovej strane PSII. Nárast V<sub>i</sub> je spájaný s poklesom fluorescence v P fáze. To pravdepodobne znamená, že pokles fluorescence v P fáze môže byť indikátorom pre inhibíciu aktivity kyslík vyvíjajúceho komplexu (OEC) ako následku teplotného stresu. K charakteristike K kroku možno použiť aj vzájomný pomer hodnôt fluorescence v čase 300μs (K fáza) a 2ms (J fáza), F<sub>K</sub>/F<sub>J</sub> (Jiang *et al.*, 2006). Nárast pomeru F<sub>K</sub>/F<sub>J</sub> poukazuje na vyšší výtlačok fluorescence v čase 300μs v porovnaní s výtlačkom fluorescence v čase 2ms, a tak i na poškodenie kyslík- vyvíjajúceho komplexu. Vysoká

teplota výrazne ovplyvňuje parameter Area, ktorý charakterizuje veľkosť zásoby akceptorov elektrónového transportu. V porovnaní s kontrolnou vzorkou sme pri teplote 42°C namerali nárast hodnôt o 50% a pri 44°C viac ako o 100%. Rovnaký trend sme zaznamenali aj pri parametroch charakterizujúcich disipáciu energie z reakčných centier ( $DI_0/RC$ ) a parametra  $dV/dt_0$ , ktorý vyjadruje rýchlosť akumulácie zatvorených reakčných centier.

V priebehu vývoja samotných listov sa mení aj fotosystém II, pričom so zväčšujúcim sa rastom listu narastá aj maximálny kvantový výťažok primárnej fotochémie fotosystému II (Choinski *et al.*, 2003). V novo vznikajúcich listoch PSII ešte nie je úplne kompletný, a preto je i viac zraniteľný environmentálnymi faktormi. Z priebehu OJIP kriviek nameraných v teplotnom teste pri 40°C sme pozorovali rozdielnu citlivosť fotosyntetického aparátu rôzneho veku k pôsobiacej teplote. Zaujímavý bol výskyt K kroku iba pri mladom liste tesne pred dosiahnutím jeho maximálnej listovej plochy (11.deň od objavenia). Neskôr, po dosiahnutí dospelosti, K krok v priebehu fluorescenčnej krivky chýbal, čo naznačuje nárast termostability u dospelých listov (Jiang *et al.*, 2006). Pokles termostability reakčných centier PSII u mladých listoch môže byť spojený s poškodením OEC, načo poukazuje prítomnosť K kroku v priebehu JIP krivky mladých listov. pričom s rastúcim listom sa jeho termostabilita zvyšovala

V prirodzených podmienkach prostredia je nutné uvažovať nad výskytom interaktívneho stresu, nakoľko pôsobenie jednotlivých environmentálnych faktorov nie je možné eliminovať. Ich synergické alebo antagonistické pôsobenie má za výsledok zaujímavé interakcie s dopadom na procesy fotosyntézy. V teplotnom teste (40°C) rastlín s rozdielnym vodným potenciálom sme v priebehu dňa pozorovali, že pokles vodného potenciálu priaznivo ovplyvňuje primárne fotochemické procesy v prostredí s vysokou teplotou. Kým popoludní sa teplotný stres prejavil iba znížením kvantového výťažku fluorescencie chlorofylu *a*, účinok vysokej teploty v ranných hodinách pri vyššom vodnom potenciáli zaznamenal mierny nárast fluorescencie v počiatočnej fáze JIP krivky, teda v čase, kedy sa objavuje K krok.

## 5. ZÁVERY

V rokoch 2003- 2006 boli v rámci riešenia doktorandskej práce uskutočnené viaceré experimentálne prístupy so simulovaným porastom jačmeňa jarného, z ktorých vyplynuli nasledovné závery:

- Analýza mikroklimy porastu vytvára vhodné podmienky pre prognózovanie rastu a produkcie biomasy, ako aj pre indikovanie prítomnosti environmentálneho stresu.
- Suma žiarenia za celé vegetačné obdobie jačmeňa jarného predstavuje hodnotu približne 2000 mol.m<sup>-2</sup>. V simulovaných experimentoch zodpovedá maximum dennej sumy žiarenia hodnote 33-30 mol.m<sup>-2</sup>, minimum 7-5 mol.m<sup>-2</sup> a v priemere za jeden deň hodnote 21 mol.m<sup>-2</sup>. Vo vnútri porastu sa denná suma FAR pohybuje v intervale 2- 4 mol.m<sup>-2</sup>.
- Podiel žiarenia presahujúceho saturačnú hodnotu (700 μmol.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup>) predstavuje 65- 75% z dennej sumy, čo je približne 7 hodín z celého dňa, z čoho vyplýva pravdepodobnosť fotoinhibície vrchných listov.

- Suma teplôt za celé vegetačné obdobie zodpovedá hodnote približne 1800°C s priemernou teplotou 18,2°C za deň. Suma priemerných denných teplôt potrebných pre vznik listov sa pohybuje v rozmedzí 35- 115°C, pričom nárast teploty prostredia urýchľuje objavenie nového listu o 3-5 dní.
- Zníženie vodivosti prieduchov signalizuje zmeny vodného stavu rastlín u vnútroporastových listov už pri poklese RWC na 83%. U vrchných listov dochádza k znižovaniu vodivosti pri poklese RWC na 75-78%. Rýchla reakcia prieduchov spodných listov poukazuje na potenciálnu účasť vnútroporastových listov pri signalizácii environmentálneho stresu.
- Účinok silného žiarenia a vysokej teploty sa najviac odráža na fotosyntetických svetelných reakciách. Teploty vyššie ako 40°C sa prejavujú poškodením kyslík-vyvíjajúceho komplexu (OEC). Ako indikátor poškodenia OEC môže slúžiť prítomnosť K kroku (300μs) v priebehu OJIP krivky,  $V_I$  (relatívna variabilná fluorescencia v čase I) a  $F_K/F_J$  (pomer fluorescencie v čase 300μs a 2ms).
- Zraniteľnosť vnútroporastových listov narastá v podmienkach expozície na priame žiarenie, ktoré znižuje efektívnosť fotochemických procesov exponovaných listov. Fotoinhibičný účinok silného žiarenia priamo v poraste nebol zaznamenaný.

## 6. ZOZNAM POUŽITEJ LITERATÚRY

- Anten, N. P. R. 2005. Optimal photosynthetic characteristics of individual plants in vegetation stands and implications for species coexistence. In: *Annals of Botany*, 2005, 95, 495-506.
- Aro, E.-M. – Virgin, I.- Anderson, B. 1993. Photoinhibition of photosystem II. Inactivation, protein damage and turnover – *Biochimica et Biophysica Acta*, 1993, 1143, 113-134.
- Asada, K. 1999. The water- water cycle in chloroplast: scavenging of the active oxygen and dissipation of excess process. In: *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 1999, 50, 601- 639.
- Berry, J.- Björkman, O. 1980. Photosynthetic response and adaptation to temperature in higher plants. In: *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 1980, 31, 491- 543.
- Chapin, F.S.- Matson, P. A.- Mooney, H. A. 2002. Principles of terrestrial ecosystem ecology. Springer Verlag, New York, 436 s., ISBN 0- 387- 95443- 0.
- Choinski, J. S.- Ralph, P.- Eamus, D. 2003. Changes in photosynthesis during leaf expansion in *Corymbia gummifera*. In: *Australian Journal of Botany*, 2003, 51, 111-118.
- Comstock, J.P. 2002. Hydraulic and chemical signalling in the control of stomatal conductance and transpiration. In: *Journal of Experimental Botany*, 2001, 53, 195-200.
- Cornic, G.- Massaci, A. 1996. Leaf photosynthesis under drought stress. In: *Photosynthesis and the environment* (Baker, N. R eds.), Kluwer, Dordrecht, 1996, s. 347- 366.
- Critchley, C. 2000. Photoinhibition. In: Raghavendra, A. S. (eds.). *Photosynthesis. A comprehensive Treatise*. Cambridge University Press, 2000, pp.264-272



- Davies, W. J.- Zhang, J. 1991. Root signals and the regulation of growth and development of plants in drying soil. In: Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, 1991, 42, 55- 76.
- Demmig- Adams, B.- Adams, W. W. 1992. Carotenoid composition in sun and shade leaves of plants with different life forms. In: Plant, Cell and Environment, 1992, 15, 411- 419.
- Demmig- Adams, B.- Adams, W. W. 1994. Capacity for energy dissipation in the pigment bed in leaves with different xanthophylls cycle pools. In: Australian Journal of Plant Physiology, 1994, 21, 575- 588.
- Gilmore, A.M. 1997. Mechanistic aspects of xanthophyll cycle-dependent photoprotection in higher plant chloroplast and leaves. In: Physiologia Plantarum, 1997, 99, 197-209.
- Havaux, M. 1992. Stress tolerance of photosystem II in vivo. Antagonistic effects of water, heat and photoinhibition stresses. Plant Physiology, 1992, 100, 424-432.
- Hay, R. K. M.- Porter, J. R. 2006. The physiology of crop yield. Blackwell Publishing, 2006, 314s. ISBN -13: 978-14051-0859-1
- He, W.Z.- Malkin, R. 2000. Photosystem I and II. In: Raghavendra, A. S. (eds.). Photosynthesis. A comprehensive Treatise. Cambridge University Press, 2000, pp.29-43.
- Hidema, J.- Makino, A.- Kurita, Y.- Mae, T.- Ojima, K. 1992. Changes in the levels of chlorophyll and light- harvesting chlorophyll a /b protein of PSII in rice leaves aged under different irradiances from full expansion through senescence. In: Plant and Cell Physiology, 1992, 33, 1209- 1214.
- Hikosaka, K. 1996. Effects of leaf age, nitrogen nutrition and photon flux density on the organization of the photosynthetic apparatus in leaves of vine (*Ipomea tricolor* Cav.) grown horizontally to avoid mutual shading of leaves. In: Planta, 1996, 198, 144-150.
- Jiang, Ch.-D. – Jiang, G.M.- Wang, X.- Li, L.H.- Biswas, D. K.- Li, Y.G. 2006. Increased photosynthetic activities and thermostability of photosystem II with leaf development of elm seedlings (*Ulmus pumila*) probed by the fast fluorescence rise OJIP. In: Environmental and Experimental Botany, 2006, 58, 261- 268.
- Kostrej, A. – Danko, J.- Jureková, Z.- Zima, M.- Gáborčík, N.- Vidovič, J. 1998. Ekofyziológia produkčného procesu porastu a plodín. SPU: Nitra, 1. vyd. 1998. 187 s. ISBN 80- 7137- 528- 4
- Lawlor, D.W.- Cornic, G. 2002. Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficit in higher plants. In: Plant, Cell and Environment, 2002, 25, 275-294.
- Larcher, W. 1995. Physiological plant ecology. Ecophysiology and stress physiology of functional groups. Springer- Verlag, Berlin. 1995. 506s. ISBN 3-540-58116-2
- Lu, C.- Zhang, J. 1999. Effects of water stress on photosystem II photochemistry and its thermostability in wheat plants. In: Journal of Experimental Botany, 1999, 50, 1199-1206.
- Makino, A.- Nakano, H.- Mae, T. 1994. Responses of ribulose-1,5- biphosphate carboxylase, cytochrome f, and sucrose synthesis enzymes in rice leaves to leaf nitrogen and their relationship to photosynthesis. In: Plant Physiology, 1994, 105, 173- 179.

- Murchie, E.H.- Hubbart, S.- Chen, Y.- Peng, S.- Horton, P. 2002. Acclimation of rice photosynthesis to irradiance under field conditions. In: *Plant Physiology*, 2002, 130, 1999-2010.
- Murchie, E.H.- Hubbart, S.- Peng, S.- Horton, P. 2005. Acclimation of photosynthesis to high irradiance in rice: gene expression and interactions with leaf development. In: *Journal of Experimental Botany*, 2005, 56, 449-460.
- Oguchi, R.- Hikosaka, K.- Hirose, T. 2005. Leaf anatomy as a constraint for photosynthetic acclimation: differential responses in leaf anatomy to increasing growth irradiance among three deciduous trees. In: *Plant, Cell and Environment*, 2005, 28, 916-927.
- Olšovská, K.- Brestič, M. 2001. Function of hydraulic and chemical water stress signalization in evaluation of drought resistance of juvenile plants. In: *Journal of Central European Agriculture*, 2001, 2.
- Pearcy, R. W.- Roden, J. S.- Gamon, J. A. 1990. Sunfleck dynamics in relation to canopy structure in a soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) canopy. In: *Agricultural and Forest Meteorology*, 1990, 52, 359- 372. Australian
- Strasser, B.J. 1997. Donor side capacity of photosystem II probed by chlorophyll a fluorescence transient. *Photosynthesis Research*, 1997, 52, 147-155.
- Strasser, R. J. – Srivastava, A.- Tsimilli-Michael, M. 2000. The fluorescence transient as a tool to characterize and screen photosynthetic samples. In: Yunus, M., Pathre, U., Mohanty, P. (eds.) *Probing photosynthesis. Mechanism, regulation and adaptation*. Taylor and Francis, London, UK, 2000, 445-483.
- Tardieu, F.- Davies, W.J. 1992. Stomatal response to abscisic acid is a function of current plant water status. In: *Plant Physiology*, 1992, 98, 540-545.
- Tezara, W.- Mitchell, V.J.- Driscoll, S.D.- Lawlor, D.W. 1999. Water stress inhibits plant photosynthesis by decreasing coupling factor and ATP. In: *Nature*, 1999, 401, 914-917.
- Walters, R. G.- Rogers, J. J. M.- Shephard, F.- Horton, P. 1999. Acclimation of *Arabidopsis thaliana* to the light environment: the role of photoreceptors. In: *Planta*, 1999, 209, 517- 527.
- Yamane, Y.- Shikanai, T.- Kashino, Y.- Koike, H.- Satoh, K. 2000. Reduction of  $Q_A$  in the dark: Another cause of fluorescence  $F_0$  increases by high temperature in higher plants. In: *Photosynthesis Research*, 2000, 63, 23- 34.
- Zhang, H-B.- Xu, D-Q. 2003. Role of light-harvesting complex 2 dissociation in protecting the photosystem 2 reaction centres against photodamage in soybean leaves and thylakoids. In: *Photosynthetica*, 2003, 41, 383-391.

## 7. VÝBER PUBLIKOVANÝCH PRÁČ SÚVISIACICH S PROBLEMATIKOU

- Repková, J.: Rýchla detekcia poškodenia fotosyntetického aparátu po zmene vodných pomerov u rastlín. In: Zborník abstraktov z X. medzinárodnej vedeckej konferencie študentov a doktorandov. Nitra: SPU, 2004, s.88, ISBN 80-8069-352-8.
- Repková, J.- Brestič, M.: Príspevok vysokej teploty k zmenám aktivity PSII na rastlinách jačmeňa počas dehydratácie. In: Aktuálne otázky v ekofyziológii rastlín. Zborník z medzinárodnej vedeckej konferencie, Račkova dolina 2004. Nitra: SPU, 2004, s.43.

- Repková, J.: Detekcia environmentálneho stresu využitím fluorescencie chlorofylu *a*. In: Aktuálne problémy riešené v agrokomplexe, 19.november 2004 (zborník abstraktov), Nitra: SPU, 2004, s.30. ISBN 80-8069-477-8.
- Repková, J. – Brestič, M.: Photosynthesis of spring barley and its acclimation to irradiance under natural conditions. In: Photosynthesis and Stress. Biophysical and Biochemical Methods in Photosynthesis Research- Central European conference. Book of abstracts. Brno: Masaryk University, 2005, s.64, ISBN 80-210-3762-8.
- Repková, J. – Brestič, M.: Leaf photosynthesis of spring barley under drought conditions. In: Review of scientific papers of the students of agronomy with international participation. Čačak: Faculty of Agronomy, 2005, s.3-9, YU ISSN 1450-7323.
- Repková, J.- Živčák, M.- Ferus, P.- Brestič, M.- Olšovská, K.: Bioindikácia stresového stavu v ekosystéme. In: Zborník prednášok VII. zjazdu Slovenskej spoločnosti pre poľnohospodárske, lesnícke, potravinárske a veterinárne vedy pri SAV. Bratislava, 2005, s.124-125, ISBN 80-227-2308-8.
- Ferus, P.- Repková, J.- Živčák, M.- Olšovská, K.- Brestič, M.: Zefektívnenie využitia žiarenia a vody v primárnych procesoch tvorby biomasy vo fluktuálnych podmienkach. In: Zborník prednášok VII. zjazdu Slovenskej spoločnosti pre poľnohospodárske, lesnícke, potravinárske a veterinárne vedy pri SAV. Bratislava, 2005, s.65-69, ISBN 80-227-2308-8.
- Repková, J.- Brestič, M.: Ecological approaches of evaluation of primary production in spring barley canopy. In: International conference in ecophysiology of plants: 15 years of EU supported ecophysiological research in the Czech Republic. Book of abstracts. September 18-21, 2006, Olomouc.
- Repková, J.- Brestič, M.: Hodnotenie tolerancie genotypov jačmeňa jarného k vysokej teplote využitím parametrov rýchlej fluorescencie chlorofylu *a*. In: Nové poznatky z genetiky a šľachtenia poľnohospodárskych rastlín (zborník príspevkov). Piešťany : VÚRV, 2006, s.164-165. ISBN 80-88872-57-X.
- Brestič, M.- Živčák, M.- Olšovská, K.- Repková, J.- Datko, M.: Functional study of PSII and PSI energy use and dissipation mechanisms in chlorina mutants of barley in conditions of high light treatment. In: 14th International congress of photosynthesis, 22nd- 27th July 2007, Glasgow, Photosynthesis Research, 91, 2-3, p.304
- Ferus, P.- Brestič, M.- Olšovská, K.- Repková, J.- Živčák, M.- Hunková, E.- Ferencová, J.: Aklimácie antioxidantného systému vnútroprastových listov jarného jačmeňa. In: Konferencie experimentálnej biológie rastlín, 11. dny fyziológie rastlín, 9.- 12.7.2007 Olomouc, s. 94, ISSN 1213- 6670
- Repková, J.- Brestič, M.- Olšovská, K.: Variabilita fotosyntetických reakcií C3 a C4 rastlín v ekosystéme a ich citlivosť na vysokú teplotu. In: Vliv abiotických a biotických stresorů na vlastnosti rostlin 2007. Sborník příspěvků. Praha: VÚRV a ČZU, 2007, s. 546 – 550, ISBN 978- 80- 87011-00- 3.
- Repková, J.- Brestič, M. - Ferus, P.- Živčák, M.: Je zraniteľnosť listov v poraste jačmeňa jarného určovaná prostredím, na ktoré sú aklimované? In: Konferencie experimentálnej biológie rastlín, 11. dny fyziológie rastlín, 9.- 12.7.2007 Olomouc, s. 97, ISSN 1213- 6670