

Slovenská poľnohospodárska univerzita
v Nitre
Fakulta biotechnológie a potravinárstva

1130994

Vplyv vodného stresu na parametre vodného
režimu a fotosyntézy rastlín jarného jačmeňa

Slovenská poľnohospodárska univerzita
v Nitre
Fakulta biotechnológie a potravinárstva

Vplyv vodného stresu na parametre vodného
režimu a fotosyntézy rastlín jarného jačmeňa

Bakalárska práca

Študijný program:	Agropotravinárstvo
Študijný odbor:	4170700 Spracovanie poľnohospodárskych produktov
Školiace pracovisko:	Katedra fyziológie rastlín
Školiteľ:	Ing. Marek Kovár, PhD.

Čestné vyhlásenie

Podpísaný Juraj Šnirc vyhlasujem, že som záverečnú prácu na tému „Vplyv vodného stresu na parametre vodného režimu a fotosyntézy rastlín jarného jačmeňa“ vypracoval samostatne s použitím uvedenej literatúry.

Som si vedomý zákonných dôsledkov v prípade, ak uvedené údaje nie sú pravdivé.

V Nitre 16. mája 2011

Juraj Šnirc

Pod'akovanie

Touto cestou by som sa chcel poďakovať svojmu školiteľovi Ing. Marekovi Kovárovi, PhD. za jeho pomoc, cenné rady, odborné vedenie a diskusie pri písaní mojej bakalárskej práce.

Tiež by som sa chcel poďakovať mojej priateľke a rodičom za trpezlivosť a psychickú podporu, ktorú mi dávali.

Abstrakt

Voda a rastliny podmieňujú život na Zemi, preto je nevyhnutné venovať im zvýšenú pozornosť. Sucho je jednou z hlavných príčin poklesu produkcie poľnohospodárskych plodín. Vodný stres pôsobí na rastlinu mnohými cestami a je považovaný za hlavný faktor limitujúci fotosyntézu. Táto limitácia môže byť stomatálna a metabolická. Pri dehydratácii rastlín dochádza k zmene polohy listov, zatváraniu prieduchov, tvorbe signálnych látok (ABA), expresii génov. Produkujú sa reaktívne formy kyslíka, ktoré môžu spôsobiť poškodenie niektorých dôležitých enzýmov. Znížená stomatálna a mezofilová vodivosť je príčinou nižšej asimilácie CO₂. Merania ukázali, ako sa niektoré genotypy v našich podmienkach prostredia dokážu prispôbiť suchu lepšie ako iné. Tiež možno posúdiť, ktoré odrody dokážu lepšie hospodáriť s vodou a ako vodný stres vplýva na produkčné parametre jačmeňa jarného.

Kľúčové slová: fotosyntéza, sucho, prieduchová limitácia, neprieduchová limitácia, jačmeň.

Abstract

Water and plants underlie life on the Earth. Because of it is necessary to put increased attention to them. Drought is one of the most important factors of decrease in production of crops. Water stress effects on plant in many ways and it is considered as main factor in limiting photosynthesis. This limitation could be stomatal or metabolic. With dehydration of plants there is a change in leaves position, stomatal closure, production of signal molecules (ABA), gene expression. There is production of reactive oxygen species, which can cause damage to some important enzymes. Decrease in stomatal and mesophyll conductance is source of lower CO₂ assimilation. Measurements shows how much some of genotypes are better able to adapt to drought as others in our environment conditions. It could be consider, which genotypes can better treat with water and how water stress exercise an influence on production parameters of barley.

Key words: photosynthesis, drought, stomatal limitation, non-stomatal limitation, barley.

Obsah

Použité skratky	7
Úvod	8
1 Ciele práce	9
2 Prehľad o súčasnom stave riešenej problematiky	10
2.1 Bunkové štruktúry podieľajúce sa na fotosyntéze	10
2.1.1 Chloroplasty	10
2.1.1.1 Chlorofyl	10
2.1.1.2 Karotenoidy	12
2.1.2 Oxido-redukčné komponenty tylakoidnej membrány	12
2.2 Fotosyntéza	13
2.3 Sucho	14
2.4 Vplyv sucha na fotosyntézu	14
2.4.1 Prieduchová a neprieduchová limitácia	14
2.4.2 Vplyv sucha na Rubisco	19
2.4.3 Vplyv sucha na produkciu hormónov a ROS	20
2.4.4 Cítanie a tolerancia stresu	21
2.5 Vplyv tepla na fotosyntézu	24
3 Materiál a metódy	26
3.1 Biologická charakteristika experimentálneho materiálu	26
3.2 Pestovanie biologického materiálu	26
3.3 Hodnotenie fyziologických parametrov	26
3.3.1 Relatívny obsah vody	26
3.3.2 Vodný potenciál	26
3.3.3 Osmotický potenciál	27
3.3.4 Tlakový potenciál	27
3.3.5 Kvantifikácia parametrov gazometrickej výmeny plynov	27
3.3.6 Hodnotenie produkčných parametrov	27
3.4 Štatistické hodnotenie a grafické spracovanie	28
4 Výsledky a diskusia	29
4.1 Zmeny relatívneho obsahu vody počas dehydratácie	29
4.2 Zmeny vodného potenciálu počas dehydratácie	31
4.3 Zmeny osmotického potenciálu počas dehydratácie	31
4.4 Zmeny tlakového potenciálu počas dehydratácie	33
4.5 Gazometrická výmena plynov počas postupnej dehydratácie	36

4.6	Hodnotenie produkčných parametrov	38
5	Záver	40
6	Použitá literatúra	41

Použité skratky

ABA	kyselina abscisová
A_n	rýchlosť fotosyntézy
A_{pot}	potenciálna rýchlosť fotosyntézy
ATP	adenozíntrifosfát
C_i	intercelulárna koncentrácia CO ₂ [ppm]
DW	hmotnosť vysušeného rastlinného materiálu [g]
F_m	maximálna intenzita fluorescencie chlorofylu <i>a</i>
FW	hmotnosť čerstvého rastlinného materiálu [g]
F_0	minimálna intenzita fluorescencie chlorofylu <i>a</i>
g_m	mezofylová vodivosť
g_s	prieduchová vodivosť
LAI	index listovej plochy
LHC	svetlozberná anténa fotosystému
NADPH + H ⁺	redukovaný nikotínamidnukleotid fosfát
NADP	oxidovaný nikotínamidnukleotid fosfát
OEC	kyslík vyvíjajúci komplex PS II
pH	záporný dekadický logaritmus aktivity H ⁺ iónov
PS I	fotosystém I
PS II	fotosystém II
ψ_P	tlakový potenciál pletiva listu [MPa]
ψ_S	osmotický potenciál pletiva listu [MPa]
ψ_W	vodný potenciál pletiva listu [MPa]
P ₆₈₀	pigment PS II
P ₇₀₀	pigment PS I
RCA	Rubisco aktiváza
ROS	reaktívne formy kyslíka
Rubisco	ribulóza-1,5-bisfosfát karboxyláza/oxygenáza
RuBP	ribulóza-1,5-bisfosfát
RWC	relatívny obsah vody [%]
SW	hmotnosť saturovaného rastlinného materiálu [g]
τ	faktor špecificity Rubisco
WMO	Svetová meteorologická organizácia
WUE	efektívnosť využitia vody pre fotosyntézu
ZI	zberový index

Úvod

Fotosyntéza je jedným z najvýznamnejších procesov na Zemi. Vďaka nej sa tvorí organická hmota zapracovávaním CO_2 zo vzduchu, čím má priamy vplyv na produkciu biomasy. Popri tom sa produkuje kyslík, ktorý je dôležitý pre všetky organizmy. Zníženie rýchlosti fotosyntézy vplyvom rôznych stresových faktorov má za následok nižšiu produkciu biomasy rastlín. S prichádzajúcou globálnou klimatickou zmenou je takýmto stresovým faktorom hlavne nedostatok vody a vyššie teploty, ktoré môžu rôznymi spôsobmi ovplyvňovať proces fotosyntézy. Úlohou vedcov je skúmať, ako tieto faktory fotosyntézu ovplyvňujú a ako sa im rastliny dokážu prispôbiť. Stúpajúci počet obyvateľov našej planéty je tiež jedným z dôvodov, prečo treba zistiť, ako sa rastliny čo najlepšie dokážu vysporiadať so stresovými faktormi a na základe toho vytvoriť odrody odolné voči týmto faktorom, čím by sa zabezpečila vyššia a kvalitnejšia úroda. Mnoho vedcov v posledných rokoch skúma vplyv stresových faktorov na fyziológiu, metabolické procesy ako aj na kvantitatívnu a kvalitatívnu produkciu rastlín. Táto práca je súhrnom časti poznatkov o pôsobení vodného stresu na rastliny a ich odpovedi na niektorých úrovniach.

1 Ciele práce

Všeobecným cieľom práce bolo popísať efekty postupnej dehydratácie v prirodzených podmienkach prostredia na vodný režim a gazometrickú výmenu plynov v ekologicky vzdialených genotypoch jačmeňa siateho formy jarnej (*Hordeum vulgare* L.). Čiastkovými cieľmi bolo:

1. Popísať kinetiku zmien vodného potenciálu a jeho zložiek počas postupnej dehydratácie pôdneho substrátu;
2. Identifikovať genotypové diferencie v regulácii otvorenosti prieduchového aparátu kontrastných odrôd počas dehydratačného cyklu;
3. Poukázať na potenciálne efekty stomatickej limitácie fotosyntetickej asimilácie oxidu uhličitého počas sucha.

2 Prehľad o súčasnom stave riešenej problematiky

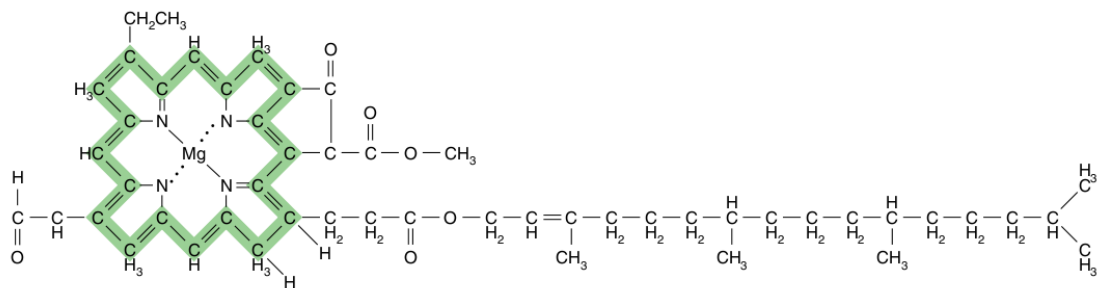
2.1 Bunkové štruktúry podieľajúce sa na fotosyntéze

2.1.1 Chloroplasty

Chloroplasty sú významné biologické organely, lebo zabezpečujú energiou všetko živé na našej planéte. Zachytávajú slnečnú energiu a v procese fotosyntézy ju transformujú na chemickú energiu. Sú najčastejšie sa vyskytujúce plastidy v zelených rastlinách, najmä v základnom fotosyntetizujúcom pletive - mezofyle listov. Veľkosť, počet, tvar a rozloženie chloroplastov varíruje v rôznych bunkách pri rôznych druhoch rastlín (Košťál *et al.*, 2007). Zo štruktúrneho hľadiska je organela ohraničená dvojitou membránou, ktoré sú od seba vzdialené 100-300nm (priestor medzi nimi nazývame periplastidový). Vo vnútornom priestore (*stróme*) sú uložené *tylakoidy*. Vnútorná membrána vytvára lamely strómy a lamely grán, ktoré tvoria tylakoidy. Na membrány strómy ako aj tylakoidov je viazaný chlorofyl ako aj iné farbivá (Zima *et al.*, 2002).

2.1.1.1 Chlorofyl

Slovo chlorofyl sa skladá z gréckeho *chloros*, čo znamená žltkasto zelená a *phyllon*, čo je list (Papageorgiou and Govindjee, 2004). Vo fotosyntetizujúcich organizmoch súčasne existujú najmenej tri odlišné triedy tertrapyrolov. Sú to uzavreté tertrapyroly chelátované buď Mg^{2+} (skupina chlorofylov) alebo Fe^{2+}/Fe^{3+} (skupina hémov) a otvorené tertrapyroly (fytochromobilíny). Množstvo dôkazov poukazuje na to, že väčšina z týchto látok je syntetizovaných v plastidoch, pričom niektoré môžu byť potencionálne exportované do iných priestorov bunky. Ako hlavný komponent fotosyntetického aparátu hrá chlorofyl významnú úlohu vo vývoji a zachovaní života. Napriek dôležitosti chlorofylu pre náš svet, detailný mechanizmus reakcií smerujúcich k jeho tvorbe, zatiaľ nebol plne objasnený (Pessaraki, 2005). Molekulárny vzorec chlorofylu *a* je $C_{55}H_{72}N_4O_5Mg$. Je to skoro štvorcovitá, rovinná molekula. Atóm horčíka v strede rovinnnej časti je koordinačne viazaný so štyrmi atómami N. Chemicky je chlorofyl súvisiaci s porfyrínmi, ktoré sú tiež tertrapyroly, ale vo všeobecnosti majú symetrickejšie molekuly. Chlorofyl *a* sa nachádza v každej známej eukaryotickej fotosyntetizujúcej bunke. Významnou variantou chlorofylu *a* je chlorofyl *á*. Tento pigment sa líši od chlorofylu *a* iba v stereochemii na pozícii C-13. Nachádza sa v malom množstve v komplexe fotosystému I, kde jedna molekula tvorí polovicu P_{700} , špeciálny pár pigmentov, ktoré sú primárnym donorom elektrónov. Súčasný dôkazy nasvedčujú tomu, že chlorofyl *á* je tvorený z už existujúceho chlorofylu *a* (Blankenship, 2002). Chlorofyl *a* je modro-zelenej farby a v bunke je ho asi 3 krát viac ako chlorofylu *b* (Stern, 2003). V širokom rozsahu viditeľného svetla chlorofyl *a* neabsorbuje svetlo. Táto oblasť sa nazýva ako "*zelené okno*" (Held, 2004).



Obr. 1: Molekula chlorofylu a, najdôležitejšieho pigmentu zapojeného do fotosyntézy (Stern, 2003).

Fluorescencia chlorofylu

Analýza fluorescencie chlorofylu sa stala jednou z najmocnejších a široko používaných techník dostupných pre rastlinných fyziológov a ekofyziológov. Bez niektorých dát fluorescencie by nemohli byť kompletne výskumy výkonnosti fotosyntézy v poľných podmienkach. Tento trend bol podporený aj predstavením množstva vysoko užívateľsky prívetivých a prenosných prístrojov.

Svetelná energia absorbovaná chlorofylom môže podstúpiť jednu z troch ciest. Môže byť použitá na pohon fotosyntézy, prebytok energie môže byť rozptýlený ako teplo alebo môže byť znova vyžiarený ako svetlo - fluorescencia chlorofylu. Tieto tri procesy sa navzájom kompenzujú. Takže akékoľvek zvýšenie vo výkonnosti jedného bude mať za následok pokles vo výnose zvyšných dvoch. Preto meraním výťažku fluorescencie chlorofylu môžeme získať informácie o účinnosti fotochémiie a tepelnom rozptyle. Hoci je celkové množstvo fluorescencie chlorofylu malé (iba 1-2% z celkového množstva absorbovaného svetla), je meranie celkom jednoduché. Spektrum fluorescencie je odlišné od spektra absorbovaného svetla s vrcholom emisie fluorescencie vo vyšších vlnových dĺžkach ako tých absorbných. Preto výťažok fluorescencie môže byť kvantifikovaný tým, že list vystavíme svetlu definovanej vlnovej dĺžky a meriame množstvo znovu vyžiareného svetla v dlhších vlnových dĺžkach. Toto meranie môže byť niekedy relatívne, pretože svetlo sa nevyhnutne stráca. Preto všetky analýzy musia obsahovať nejakú formu normalizácie.

Keď je list presunutý z tmy na svetlo, PSII reakčné cetrá sú postupne zatvárané. To vyvoláva (počas prvej sekundy) nárast výťažnosti fluorescencie chlorofylu. Hladina fluorescencie začne znova padať v časovom intervale niekoľkých minút. Tento fenomén, nazývaný ako zhášanie fluorescencie, je vysvetľovaný dvoma spôsobmi. Najskôr je nárast rýchlosti presunu elektrónov z PSII. Je to spôsobené hlavne svetlom indukovanou aktiváciou enzýmov zapojených v metabolizme uhlíka a otváraním prieduchov (fotochemické zhášanie). V tom istom čase narastá efektivita konverzie energie na teplo (nefotochemické zhášanie).

Za účelom získania užitočných informácií o výkonnosti fotosyntézy rastliny z me-

raní výťažnosti fluorescencie chlorofylu je nevyhnutné rozlíšiť fotochemický a nefotochemický príspevok k zhášaniu. Bežným postupom je vypnúť jeden z dvoch prispievateľov, presnejšie fotochémiu. Dá sa to dosiahnuť pomocou chemických látok ako napríklad herbicídov, ktoré inhibujú PSII na nulu (Papageorgiou and Govindjee, 2004; Maxwell and Johnson, 2000). Taktiež sa dá takáto inhibícia dosiahnuť pomocou krátkotrvajúceho záblesku svetla. Efektom je prechodné zatvorenie všetkých PSII reakčných centier. Počas záblesku dosiahne výťažnosť fluorescencie hodnotu ekvivalentnú tej, ktorú by dosiahla pri absencii akéhokoľvek fotochemického zhášania - maximálna fluorescencia - F_m . Tak, ako sa vyskytujú zmeny v účinnosti fotochémiu, tak sa vyskytujú v závislosti na rôznych interných a externých faktoroch aj zmeny v tepelnom rozptyle (nefotochemickom zhášaní). Tieto zmeny sa prejavujú v zmene F_m . Narozdiel od fotochémiu nie je možné celkom inhibovať tepelný rozptyl. Čiže nie je možnosť merať výťažnosť fluorescencie chlorofylu s absenciou nefotochemického zhášania (Maxwell and Johnson, 2000).

2.1.1.2 Karotenoidy

Karotenoidy sa nachádzajú vo všetkých známych prirodzených fotosyntetizujúcich organizmoch. Existuje niekoľko stoviek chemických molekúl, ktoré radíme medzi karotenoidy. Väčšina fotosyntetických karotenoidov má spoločné črty. Sú predĺžené s delokalizovaním π elektrónovým systémom, zvyčajne obsahujú kruhovú štruktúru na každom konci a majú vo svojej molekule atómy kyslíka najčastejšie v hydroxylovej alebo epoxidovej skupine.

Majú mnoho dobre zdokumentovaných funkcií vo fotosyntetickom systéme. Sú pomocným pigmentom pri zhromažďovaní a absorpcii svetla a pri transporte energie k chlorofylovým pigmentom. Zohrávajú dôležitú úlohu pri fotoprotekcii tým, že rýchlo tlmia tripletové excitované stavy chlorofylu. Karotenoidy sú tiež zapojené do regulácie transportu energie v anténach (Blankenship, 2002).

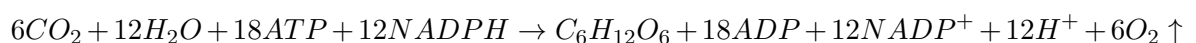
2.1.2 Oxido-redukčné komponenty tylakoidnej membrány

Dva typy fotosyntetických jednotiek tvoria fotosystémy, známe ako fotosystém I (PS I) a fotosystém II (PS II). Kým oba fotosystémy produkujú ATP, iba organizmy, ktoré majú oba fotosystémy, môžu tvoriť NADPH a kyslík ako dôsledok toku elektrónov. Každá fotosyntetická jednotka fotosystému I pozostáva z 200 alebo viac molekúl chlorofylu *a*, malého množstva chlorofylu *b*, karotenoidov s pripojenými proteínmi a so špeciálnym reakčným centrom chlorofylu, nazývaným P_{700} (Stern, 2003). Fotosystém I je supramolekulový komplex, ktorý sa nachádza v tylakoidoch strómy chloroplastov, ale nevyskytuje sa v granách. Anténny systém PS I (LHC I) získava elektróny pre svoje reakčné centrum z cytochrómového komplexu b_6/f a ich prenosom cez plastocyanín a feredoxín redukuje $NADP^+$ na $NADPH + H^+$ (Olšovská *et al.*, 2009). Fotosyntetické jednotky fotosystému II pozostávajú z chlorofylu *a*, β -karoténov spojených s proteínmi

a reakčného centra P₆₈₀ (Stern, 2003). PS II sa nachádza na granálnych tylakoidoch. Hlavnú časť tvorí šesť integrálnych a tri periférne proteíny. K PS II patrí aj komplex, v ktorom dochádza k fotolýze vody (OEC). Tento komplex je tvorený 3 periférnymi proteínmi, pripojenými na vnútornú stranu membrány tylakoidu. Na prenos elektrónov medzi OEC a P₆₈₀ slúžia redoxné zmeny v molekule aminokyseliny tyrozín. Poznáme 2 typy PS II. PS II α sa vyznačuje veľkou pripojenou anténou a obsahuje viac trimérov LHC II. Tieto systémy sú prevažne umiestnené v tylakoidoch grán. PS II β sa vyznačuje malou pripojenou anténou, obsahuje jeden alebo žiadny trimér LHC II, umiestnené sú prevažne v tylakoidoch strómy. Podiel PS II β je približne 30%, pričom rastliny rastúce na silnom svetle majú väčší podiel PS II β ako rastliny rastúce pri nízkom osvetlení (Olšovská *et al.*, 2009).

2.2 Fotosyntéza

Slovo fotosyntéza znamená "*postavený zo svetla*". Tento proces stavia pomocou rastlín, rias a baktérií organické zlúčeniny (hlavne sacharidy) z dvoch veľmi jednoduchých anorganických molekúl, vody (H₂O) a oxidu uhličitého (CO₂), za účasti svetla (Archer *et al.*, 2004). Inak povedané, je to zložitý, niekoľkostupňový proces premeny energie svetelného žiarenia na chemickú energiu živými organizmami, pričom základným substrátom je oxid uhličitý a voda, zdrojom energie je svetelné, napr. slnečné, žiarenie. Konečnými produktmi sú kyslík a cukry (Olšovská *et al.*, 2009). Prítomnosť kyslíka a produkcia potravín vyššími rastlinami umožňuje existenciu heterogénnych organizmov ako napr. človeka (Ke, 2001) a poskytuje väčšinu našich energetických zdrojov (Blankenship, 2002). Celkovú biochémiu fotosyntézy pre vznik jednej molekuly glukózy zo šiestich molekúl CO₂ môžeme napísať ako (Ke, 2001):



Proces fotosyntézy môžeme rozdeliť na 3 odlišné fázy (svetelnú, tmavú a fázu difúzných procesov) (Zima *et al.*, 2002). Ako svetelnú fázu fotosyntézy označujeme jej primárne reakcie závislé na svetle, ktoré sa uskutočňujú v tylakoidoch. Prebieha pri nich premena svetelnej energie na chemickú energiu a ako vedľajší produkt vzniká kyslík. Za tmavú fázu považujeme súhrn reakcií nezávislých od svetla. Prebiehajú v stróme chloroplastu a ukladajú chemickú energiu získanú v svetelnej fáze fixáciou CO₂ do sacharidov (Calvinov, Hatch-Slackov a CAM cyklus) (Olšovská *et al.*, 2009). Fázu difúzných procesov môžeme charakterizovať ako výmenu plynov medzi rastlinou a vonkajším prostredím (príjem CO₂ potrebného pre fotosyntézu, jeho vylučovanie, príjem O₂ potrebného pre dýchanie a jeho výdaj fotosyntézou) (Zima *et al.*, 2002).

2.3 Sucho

Sucho je klimatickým rizikom vyskytujúcim sa skoro v každom regióne sveta. Spôsobuje fyzickú bolesť, ekonomické straty a degradáciu prostredia. Je pomalšie a menej dramatické ako iné prírodné katastrofy, ale jeho vplyvy sú dlhotrvajúce a rozsiahle. Výsledkom sucha je menej vody v pôde, riekach a jazerách, či menej vody pre domáce a divožijúce zvieratá, ako aj zníženie produkcie úrody a plochy pasienkov.

Vo všeobecnosti môžeme za sucho považovať deficit zrážok, ktorý vytvorí nedostatok vody pre produkciu úrody, divokú zver, priemyselné účely, rekreáciu alebo iné účely. Podľa definície WMO ide o trvalý a predĺžený deficit zrážok. Z hľadiska delenia sucha je pre nás dôležité hlavne sucho agrikulturálne (poľnohospodárske), ktoré je definované ako nedostatok pôdnej vlhky pre pokrytie potrieb úrody v konkrétnom čase.

V rámci opisu sucha je dôležité porozumieť jeho trvaniu, priestorovému rozmeru, sile a iniciácii, a taktiež jeho ukončeniu. V závislosti na ploche, na ktorej sa vyskytuje deficit vody, môžeme sucho rozdeliť na bodové, maloplošné a kontinentálne (Mavi and Tupper, 2004).

2.4 Vplyv sucha na fotosyntézu

Rastliny sú počas svojho životného cyklu často vystavené obdobiam pôdneho a atmosferického vodného deficitu. Expanzia poľnohospodárstva do suchších a suchých oblastí s využitím intenzívneho zavlažovania bude mať za následok aj sekundárne zasolenie pôdy, ako výsledok zmien medzi aplikovanou vodou a vodou využitou rastlinami (transpiráciou). Rýchlejšie zmeny v globálnej klíme predpovedajú nárast sucha aj v polosuchých regiónoch, čo spolu s preľudnením bude viesť k drancovaniu vodných zdrojov pre poľnohospodárske účely (Chaves *et al.*, 2008).

Sucho môžeme jednoducho definovať ako obdobie zrážok pod dlhodobým normálom, ktoré obmedzuje produktivitu rastlín v prirodzenom a poľnohospodárskom systéme. Na poli môže sucho spôsobiť rastline niekoľko stresov, vrátane stresu z vysokej teploty, svetla a deficitu živín. Môžeme ho definovať aj ako pokles dostupnosti pôdnej vody. Tento pokles dostupnosti, môže byť stanovený ako pokles vodného potenciálu (ψ_W) (Verslues *et al.*, 2006).

2.4.1 Prieduchová a neprieduchová limitácia

Nízka dostupnosť vody je považovaná za hlavný environmentálny faktor limitujúci rast rastlín a tvorbu úrody (Flexas *et al.*, 2004, 2006, 2008; Bota *et al.*, 2004; Galmés *et al.*, 2007). Limitácia rastu rastlín indukovaná vodným stresom je spôsobená hlavne redukciami v uhlíkovej bilancii, ktorá závisí na rovnováhe medzi fotosyntézou a respiráciou. Značná pozornosť sa venovala odpovedi fotosyntézy na vodný stres. Viedol sa dlhotrvajúci spor o to, čo je primárnou limitáciou fotosyntézy - či prieduchová alebo

neprieduchová limitácia. Prieduchová limitácia vzniká následkom odporu kladenému difúzii CO₂ z atmosféry do intercelulárnych priestorov, kým neprieduchová limitácia je pripisovaná metabolickým obmedzeniam. Ukazuje sa, že mezofilová vodivosť determinujúca transfer CO₂ z intercelulárnych priestorov do okolia Rubisco, má ohraničené hodnoty a často klesá pri podmienkach sucha. Niektorí autori teda nahradili polemiku prieduchovej a neprieduchovej limitácie limitáciami difúznymi a metabolickými (alebo biochemickými). V posledných rokoch boli snahy o zovšeobecnenie odpovedí fotosyntézy vo vyšších rastlinách na vodný stres. Prevláda názor, že limitácia difúzie CO₂ uzatváraním prieduchového aparátu indukovaného ABA prevláda vo väčšine situácii vodného stresu. Tieto limitácie nezahŕňujú iba zatváranie prieduchov, ale aj zníženie mezofylovej vodivosti CO₂ (g_m), čo je významný, ale často zanedbávaný proces (Galmés *et al.*, 2007, 2010).

Zatváranie prieduchov patrí k prvotným fyziologickým javom, ktorý nastáva ako odpoveď na zníženú dostupnosť vody. Keďže zvyčajne nachádzame úzky vzťah medzi prieduchovou vodivosťou a čistou asimiláciou CO₂, bolo často predpokladané, že počas sucha zatváranie prieduchov redukuje vychytávanie CO₂. Toto tvrdenie však nie je vždy správne, lebo prieduchová vodivosť (g_s) môže byť znížená aj ako odpoveď na zníženú fotosyntetickú kapacitu. Bol navrhnutý model spájajúci stresom indukované zmeny dávky adenylátu v mezofylových a zatváracích bunkách so zatváraním prieduchov. Avšak, tento model nevysvetľuje zatváranie prieduchov v niektorých fyziologických podmienkach (ako napr. v tme). Na druhej strane, ak je znížená g_s faktorom limitujúcim asimiláciu CO₂, odstránenie a/alebo obídienie prieduchovej limitácie by malo zvrátiť stresom indukovaný pokles čistej asimilácie CO₂. Niekoľko štúdií ukázalo, že sa tak stane vo väčšine prípadov podmienok sucha (Flexas *et al.*, 2004).

Zatváranie prieduchov ako odpoveď na pokles turgoru listu, vysoký deficit tlaku vodných pár v atmosfére, alebo na koreňom vytvorené chemické signály (ABA), vyúsťuje v poklese zásoby CO₂ pre Rubisco v mieste karboxylácie, čo robí fotosyntetický aparát náchylným na zvýšenie spotreby energie a reguláciu fotosyntézy. V podmienkach mierneho stresu môže mať pokles v prieduchovej vodivosti ochranný efekt, dovoľujúc rastline šetrenie vodou a zlepšenie využitia vody (WUE). Navyše, znížená difúzia CO₂ cez prieduchy má za následok zníženú difúziu cez mezofyl listu (mezofylovú vodivosť). Účinná odpoveď na prostredie je pre rastliny dôležitá. Znamená schopnosť bunky rýchlo vnímať okolité signály. Systémové signály generované pletivami vystavenými abiotickým a biotickým stresom zohrávajú úlohu v koordinácii a realizácii odpovedí z hľadiska metabolických a vývinových úprav. Počas vodného stresu sú odpovede primárne spustené osmotickými stresovými signálmi, alebo sekundárne signálnymi metabolitmi, ktorých množstvo vo všeobecnosti klesá alebo stúpa. Neskôr zahrňuje aj hormóny a vnútrobunkových druhých poslov. Niektoré dôkazy naznačujú, že xylémové/apoplastické pH ovplyvňuje ABA a teda množstvo ABA dosahujúce prieduchy.

Počas sucha bolo napr. pozorované vyššie pH, ktoré viedlo k zníženiu odstraňovania ABA zo xylému, a tak viac ABA dosiahlo zatváracie bunky (Chaves *et al.*, 2008).

Redukcia difúzie CO₂ z atmosféry na miesto karboxylácie je hlavným dôvodom poklesu rýchlosti fotosyntézy počas sucha. Hoci v mnohých situáciách vodného stresu nemôže byť redukcia intenzity fotosyntézy vysvetlená samotným zatváraním prieduchov, skoršie experimenty ukázali kompletnú obnovu fotosyntézy, keď sa aplikovali veľmi vysoké dávky CO₂ do okolia listu, ktorá prekonala prieduchovú limitáciu. Fyziologické základy a úloha mezofylovej vodivosti ostávajú stále nie úplne objasnené, hoci je dôkaz, že g_m sa môže meniť prinajmenšom tak rýchlo ako prieduchová vodivosť a bolo poukázané, že niektoré akvaporíny sú zapojené v jeho regulácii, hlavne počas vodného stresu. Bez ohľadu na mechanizmus regulácie g_m , odpoveď fotosyntézy na nedostatok vody v pôde môžeme rozdeliť do dvoch odlišných fáz. Počas prvej fázy charakterizovanej denným maximom prieduchovej vodivosti nad 0,05-0,10 mol H₂O m⁻²s⁻¹ je fotosyntéza limitovaná zväčša obmedzenou difúziou CO₂. Počas druhej fázy charakterizovanej prieduchovou vodivosťou pod spomínanou hranicou môže nastať všeobecné zníženie metabolizmu, hlavne v podmienkach vysokej intenzity svetla, ktorá podporuje oxidatívny stres (Flexas *et al.*, 2009).

Je dobre známe, že fotosyntetický aparát je odolný voči miernemu suchu. V niektorých C₃ rastlinách vystaveným suchu (odpovedajúcemu zníženiu relatívneho obsahu vody o 20-25%), tok CO₂ môže klesnúť až na 80% bez efektu na listovú fotosyntetickú kapacitu meranú vo vysokých koncentráciách CO₂. Výsledkom toho je, že molárny pomer CO₂ vo vnútri fotosyntetizujúcich buniek je pravdepodobne nízky. V takýchto listoch nastávajú metabolické zmeny a fotosyntetický aparát môže byť poškodený, ak ďalej pokračuje dehydratácia mezofylových buniek. Efekty sucha sú charakterizované zmenami fyziologických a biochemických procesov, zahŕňajúcich inhibíciu syntézy proteínov (Fresneau *et al.*, 2007).

Jeden z primárnych fyziologických následkov sucha je inhibícia fotosyntézy. Za hlavnú príčinu sa považuje redukovaná difúzia CO₂ z atmosféry na miesto karboxylácie, ako výsledok zatvárania prieduchov a zníženej mezofylovej vodivosti. Avšak, ukázalo sa, že vodný stres ovplyvňuje zníženie metabolizmu a hlavne zníženie aktivity enzýmu Rubisco. Hoci znížená aktivita Rubisco nemusí byť hlavnou príčinou redukcie fotosyntézy počas sucha, jej zníženie ešte môže byť dôležité, pretože môže zamedziť rýchlejšej obnove fotosyntézy po rehydratácii rastlín (po daždi alebo zavlažení pôdy). Avšak, vyskytujú sa nezhody medzi autormi (od silnej redukcie aktivity Rubisco až po žiadnu redukciu), ktoré môžu byť spôsobené medzidruhovými rozdielmi a/alebo rozdielmi medzi použitými intenzitami vodného stresu (Flexas *et al.*, 2006).

Zatváranie prieduchov spolu s inhibíciou rastu listu sú prvými odpoveďami na suchu, ochraňujúc tak rastlinu od rozsiahlej straty vody, ktorá by mohla vyústiť k dehydratácii bunky, nekontrolovateľnej kavitácii xylému a smrti. Prieduchy vystupujú

ako regulátory tlaku, ktoré zamedzujú kavitácii v xyléme. Detailný mechanizmus stomatálnej odpovede na sucho nie je jednoduché racionalizovať, pretože v ktoromkoľvek momente môžu prieduchy odpovedať na komplex faktorov v rozmedzí od intenzity svetla po koncentráciu CO₂.

Významnú úlohu hrajú prieduchy aj pri kompromise medzi stratou vody a príjmom CO₂. Napríklad, pri poľných podmienkach pokles prieduchovej vodivosti okolo poludnia je významnou regulačnou odpoveďou na kontrolovanie straty vody, dokonca aj pri neobmedzujúcej dostupnosti vody v pôde. Taktiež vplýva na optimalizovanie príjmu uhlíka vo vzťahu k stratám vody. Intenzita tohoto poklesu sa mení v závislosti od vlhkosti vzduchu, teploty a vodného stavu rastliny (Pinheiro and Chaves, 2011; Chaves *et al.*, 2003).

Medzidruhové rozdiely v maximálnej prieduchovej vodivosti nemusia závisieť len na veľkosti a počte prieduchov, ale aj na maximálnej xylémovej vodivosti. Počas začiatku sucha prieduchová vodivosť klesá pred poklesom fotosyntézy. To poukazuje na inhibíciu fotosyntézy spôsobenú poklesom difúzie CO₂.

Rýchlosť fotosyntézy listov C₃ aj C₄ rastlín klesne, ak klesne ich relatívny obsah vody a vodný potenciál. Prieduchová limitácia je považovaná za dôvod poklesu rýchlosti fotosyntézy a koncentrácie CO₂ v intercelulárnom priestore listu (C_i), čo inhibuje metabolizmus. Limitovaná rýchlosť fotosyntézy znižuje spotrebu elektrónov uvoľnených z vody ako následok poškodenia svetelných reakcií. Nasledujúci prírastok excitačnej energie je rozptýlený nefotochemickou deexcitáciou absorbovanej energie xantofylovým cyklom vo fotosyntetickej anténe (Lawlor, 2002).

Na základe odpovedi rýchlosti čistej asimilácie CO₂ na substomatálnu koncentráciu CO₂ bolo navrhnuté, že kapacita pre regeneráciu ribulóza-1,5-bisfosfátu (RuBP) a účinnosť karboxylácie sú v podstate redukované počas sucha a každý z týchto procesov bol navrhnutý ako hlavný limitujúci faktor fotosyntézy spôsobený suchom v prostredí saturovanom svetlom a pri súčasnej koncentrácii CO₂ v ovzduší (cca 380 ppm). Je však široko diskutované, či analýza A_n-C_i z meraní gazometrickej výmeny plynov je spoľahlivá počas sucha. Za dva hlavné problémy spojené s výpočtom C_i sú považované nejednotné zatvorenie prieduchov (tzv. "*stomatal patchiness*") a zmeny v kutikulárnej vodivosti k vode. Okrem toho, aj zmeny v mezofylovej vodivosti môžu znehodnotiť interpretáciu analýzy A_n-C_i krivky (Bota *et al.*, 2004; Flexas *et al.*, 2004).

Nedávne štúdie poukázali na to, že odpovede na molekulárnej a metabolickej úrovni voči kombinácii stresových faktorov sú jedinečné a nemôžu byť určené z meraní individuálnych stresov. Navyše z pohľadu agrokultúry je sucho definované v zmysle jeho efektu na úrodu.

Ukázalo sa, že pôdny vodný deficit môže značne redukovať mezofylovú vodivosť, hoci vo všeobecnosti je menej citlivá na vodný stres ako vodivosť prieduchová. V druhoch dobre prispôbených suchému prostrediu je spätná odpoveď prieduchov na pôdne

a atmosférické sucho dôležitou časťou šetrenia vody.

Biochemická zložka limitácie fotosyntézy počas sucha je vo všeobecnosti považovaná za omnoho menšiu ako limitácia difúzna. Zmeny v expresii génov sa môžu vyvinúť skôr ako odpoveď na znižujúci sa vodný stav rastliny, hoci dopad na metabolity nemusí byť okamžitý. Transkripčná kontrola génov fotosyntézy transkripčnými faktormi ako reakcia na abiotický stres poukazuje na úlohu niekoľkých transkripčných faktorov patriacich do rodiny MYB v oboch limitáciách (prieduchová, metabolická) fotosyntézy. Sú zapojené v regulácii počtu a veľkosti prieduchov a metabolických zložiek fotosyntetického systému.

Pokles plochy prieduchov je sprevádzaný prispôbením listov vo všetkých úrovniach rastliny. Deje sa to inhibíciou rastu nových listov alebo v prípade dlhšie trvajúceho stresu rýchlejším stárnutím listov. V mnohých prípadoch nastáva spolu s dehydratáciou aj zmena uhlu postavenia listov, čo znižuje celkové zachytené žiarenie. Síce sa tým znižuje aj asimilácia uhlíka rastlinou, ale táto zmena má dôležitú ochrannú úlohu proti prebytku solárnej energie (Pinheiro and Chaves, 2011).

Počas sucha môže dochádzať k poklesu proteínov v tylakoidoch spolu s degradáciou lipoproteínov v membráne. Membránové proteíny sú obzvlášť dôležité pre funkciu fotosyntetického aparátu. Funkcie membránových proteínov sú ovplyvnené lipidmi. V rámci tylakoidov zohrávajú membránové lipidy úlohu v stabilizácii štruktúrneho usporiadania. Zmeny v množstve membránových lipidov vyvolávajú zmeny v štruktúre a funkcii proteínových komplexov tylakoidových membrán (Huseynova *et al.*, 2007).

Pokles relatívneho obsahu vody spomaľuje aktuálnu rýchlosť fotosyntetickej asimilácie CO_2 a znižuje aj potenciálnu rýchlosť. Vo všeobecnosti, ak relatívny obsah vody klesne zo 100% na 75%, poklesne aj prieduchová vodivosť a spolu s ňou aj rýchlosť fotosyntézy. Rozlišujeme 2 hlavné typy vzťahu A_{pot} k relatívnemu obsahu vody, ktoré označujeme ako Typ 1 a Typ 2. Typ 1 má dve hlavné fázy. Keď relatívny obsah vody poklesne zo 100% na 75%, rýchlosť potenciálnej fotosyntézy (A_{pot}) zostáva neovplyvnená, ale znižujúca sa prieduchová vodivosť má za následok nižšiu rýchlosť fotosyntézy (A_n) a nižšiu koncentráciu CO_2 vo vnútri listu a v chloroplaste a neskôr možný pád až na CO_2 kompenzačný bod. Predpokladá sa, že toto je pravá stresová fáza, kde pokles A_{pot} je spôsobený poklesom syntézy ATP a nasledujúcim poklese syntézy RuBP. Pri Type 2, A_{pot} klesá postupne a A je postupne menej obnovovaná na nestresovú hodnotu v reakcii na zvýšenú koncentráciu CO_2 v okolí listu. Znížená prieduchová vodivosť vedie k nižším hodnotám vnútrolistovej a chloroplastovej koncentrácie CO_2 , ale pravdepodobne nedosiahnú CO_2 kompenzačný bod. Ak relatívny obsah vody klesá, g_s sa postupne stáva menej významným zdrojom limitácie rýchlosti fotosyntézy, zatiaľ čo metabolické obmedzenie sa stáva významnejším (Lawlor *et al.*, 2002).

2.4.2 Vplyv sucha na Rubisco

Rubisco (ribulóza-1,5-bisfosátkarboxyláza/oxygenáza, EC 4.1.1.39) hrá hlavnú úlohu vo fotosyntéze rastlín, od kedy je zapojená do vychytávania CO_2 z atmosféry fotosyntetizujúcimi organizmami. Okrem jej karboxylačnej aktivity, Rubisco pôsobí ako oxygenáza v reakcii zahrňujúcej rivalitu medzi O_2 a CO_2 o naviazanie na ribulóza-1,5-bisfosát (RuBP) (kompetitívna inhibícia). Teda, kým fotosyntéza je iniciovaná karboxylačnou aktivitou, oxygenázová aktivita katalyzuje prvú reakciu fotorespirácie. Súčasné modely listovej fotosyntézy predpokladajú konštantnú hodnotu faktora špecificity Rubisco (τ) medzi rastlinami C_3 typu fotosyntézy, alebo ju odvodzujú nepriamo z kompenzačného bodu CO_2 pri absencii mitochondriálnej respirácie (Γ^*) po meraní gazometrickej výmeny plynov. Avšak τ nemusí byť konštantné v meniacich sa environmentálnych podmienkach, ako je napr. kvalita a kvantita svetla, či vodný stres. Obzvlášť vodný stres indukuje zatváranie prieduchov a pokles koncentrácie CO_2 v liste, a tak favorizuje oxygenázovú aktivitu Rubisco, čo zvyšuje pomer fotorespirácie k fotosyntéze (Galmés *et al.*, 2006).

Enzým Rubisco sa skladá zo 16 podjednotiek. Z 8 veľkých podjednotiek (4 diméry, 56kDa), kódovaných v genóme chloroplastu viacnásobnými identickými kópiami *rbcL*, a 8 malých podjednotiek (2 tertraméry, 14kDa), kódovaných 5-12 jadrovými génmi rodiny *rbcS*. Dve aktívne centrá sa nachádzajú na rozhraní veľkých podjednotiek v každom diméri, čo znamená 8 katalytických miest na jeden holoenzým (Olšovská *et al.*, 2009; Galmés *et al.*, 2006).

Vodný stres znižuje dostupnosť plynného substrátu pre ribulóza-1,5-bisfosát karboxyláza/oxygenázu (Rubisco) znižovaním listovej vodivosti CO_2 . Napriek obmedzenej fotosyntetickej asimilácii uhlíka hlavne v takých podmienkach prostredia, kde je sucho prevládajúcim faktorom ovplyvňujúcim rast rastlín a úrody, sú efekty straty vody na mechanizmy kontrolujúce Rubisco nejasné.

Súčasná koncentrácia CO_2 v atmosfére je výrazne nižšia ako potreba pre saturáciu fotosyntézy, čiže rýchlosť metabolizmu, ktorá limituje fotosyntézu vo väčšine rastlín je karboxylácia Rubisco skôr než transport elektrónov alebo regenerácia RuBP. Pri vodnom deficite je dostupnosť CO_2 v listoch znížená vplyvom uzatvorenia prieduchov, čiže rastlina musí fungovať v takom rozsahu CO_2 , ktorý je limitujúci pre karboxyláciu Rubisco. Ak sa vyskytne obmedzenie metabolizmu počas sucha, je veľmi pravdepodobné, že je sprostredkované aktivitou Rubisco.

Aktivita Rubisco závisí od jej aktivácie reakciou s CO_2 , ktorej výsledkom je karbamylovanie lysylového zvyšku v aktívnej časti Rubisco, koncentrácie Rubisco a od koncentrácie inhibítorov. Počas vodného stresu boli pozorované zmeny koncentrácie Rubisco, ale aj v takejto situácii je koncentrácia považovaná za dostatočnú na to, aby nelimitovala fotosyntézu. Taktiež bol zistený nárast inhibítorov Rubisco pri vodnom

deficite, hoci to nebolo pevne stanovené. Preto regulácia aktivity Rubisco je pripisovaná zmenám v karbamylácii a stavu aktivácie. V situácii, kde svetlo saturuje list a listová vodivosť neobmedzuje zásobovanie CO₂, aktivačný stav Rubisco je maximálny (Galmés *et al.*, 2011).

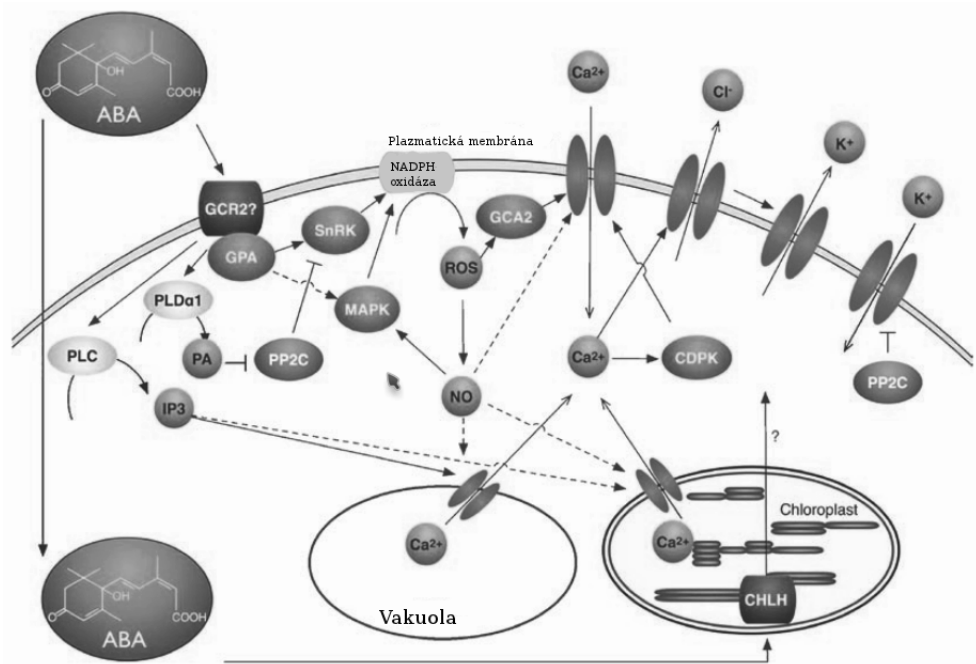
Vodný deficit spôsobuje aj nárast koncentrácie zložiek s nízkou molekulárnou hmotnosťou, ako je prolín. Tento nárast často súvisí s kapacitou pre osmotické prispôsobenie.

Pokles v kvalite vody alebo jej dostupnosti v závislosti od závlah často narúša osmotické prostredie koreňovej zóny. To môže viesť k vodnému alebo osmotickému stresu. Typické symptómy vodného stresu zahŕňajú už spomínané zatváranie prieduchov, inhibíciu fotosyntézy, ale aj desikáciu listov, stárnutie listov, obmedzenie rastu či odumieranie koreňov. Fyziologické poškodenie spôsobené vodným stresom je úzko spojené s hladinou a rovnováhou endogénnych hormónov. Syntéza a transport cytokinínov je zvyčajne inhibovaný a počas vodného stresu je podporovaná aj ich degradácia. Následkom týchto zmien je inhibícia rastu a zníženie tolerancie stresu. Stárnutie listov je taktiež spojené s nízkym obsahom cytokinínov u rôznych druhov rastlín (Merewitz *et al.*, 2010). Zvýšená koncentrácia cytokinínov v xyléme znižuje prieduchovú citlivosť na ABA a priamo podporuje otváranie prieduchov (Chaves *et al.*, 2003).

2.4.3 Vplyv sucha na produkciu hormónov a ROS

Vodný deficit ovplyvňuje biosyntézu, akumuláciu a redistribúciu hlavných rastlinných hormónov, kde hlavnú úlohu hrá ABA. Prieduchová citlivosť na ABA je menená množstvom externých vplyvov, ako je teplota, ovzdušie, výživa dusíkom (často zmenená vo vysychajúcej pôde), ale aj endogénnymi zložkami zahrňujúcimi cytosólové pH alebo hydraulické signály. To môže buď zosilniť, alebo oslabiť signály sprostredkované ABA. Prieduchové funkcie sú závislé aj na iných hormónoch (auxíny, cytokiníny, etylén, kyselina salicylová, brasinosteroidy) a na stupni ich interakcie. Všetky tieto hormóny menia expresiu rôznych so suchom spojených génov. S reguláciou zatváracích buniek prieduchov súvisia aj iné biochemické javy ako aktivácia G-proteínov, produkcia reaktívnych foriem kyslíka (ROS) a NO, fosforylácia a defosforylácia proteínov. ROS sú produkované v pletivách ako dôsledok čiastočnej redukcie kyslíka vo fotosyntetických a respiračných reťazcoch alebo sa akumulujú ako výsledok aktivity peroxidáz, membránových NADPH oxidáz a ďalších a táto produkcia stúpa počas environmentálnych stresov (Pinheiro and Chaves, 2011). ROS zastávajú úlohu v rámci aklimatizácie a stresovej odpovede (ako druhý posol). ROS poškodzujú ATP syntetázu, čo poskytuje vysvetlenie pozorovaného poklesu ATP syntetázy a obsahu ATP počas vodného deficitu. V dôsledku toho dochádza k poklesu syntézy RuBP a s tým k poklesu asimilácie CO₂. Molekuly antioxidantov a enzýmov uložených v rozličných častiach bunky môžu eliminovať ROS. Medzi ne patria superoxid dismutáza, kataláza a iné. Množstvo antioxidantov je závislé na intenzite stresu, ako aj na druhu a vývojovom štádiu rastliny.

Prispôsobenie suchu sa teda viaže aj so zvýšenou aktivitou antioxidantov, a tak udržiava koncentráciu ROS relatívne nízko (Chaves *et al.*, 2003).



Obr. 2: Signalizácia pomocou ABA pri zatváraní prieduchov. Šípky ukazujú pozitívnu alebo negatívnu interakciu medzi faktormi (Prevzaté z Pareek *et al.*, 2010).

Kyselina abscisová bola identifikovaná ako jedna z chemických signálov zapojených v regulácii prieduchových funkcií. Táto regulácia nie je jednoduchá a zahŕňa diaľkový transport ako aj moduláciu koncentrácie ABA v zatváracích bunkách. Medzi faktory zapájajúce sa do tejto modulácie patrí xylémová šťava a pH listového tkaniva, ktoré môžu stúpať v podmienkach vysokej evaporácie napr. pri veľkom deficite vodnej pary vo vzduchu, vysokej intenzite svetla alebo vysokej teplote listu.

Vyhnutie sa poškodeniu ATP syntetázy môže byť pri rastlinách prioritou, čo vyžaduje zachovanie obsahu vody v bunke a reguláciu koncentrácie iónov. Zatváranie prieduchov znižuje straty vody a zachováva obsah vody, ale s rizikom poškodenia fotosyntetického metabolizmu. Potreba zachovať ATP syntetázu a iné zložky metabolizmu funkčné, môže vysvetliť množstvo metód, ktorými rastlina uchováva vodu, čo zahŕňa modifikáciu straty, príjmu a uchovávaní vody (Lawlor, 2009).

2.4.4 Cítenie a tolerancia stresu

Prvým krokom v zapnutí molekulárnej odpovede na environmentálny signál (ako je napríklad vodný deficit) je jeho zachytenie špecifickým receptorom. Na základe tejto aktivácie tieto receptory spúšťajú (alebo potláčajú) kaskádu odpovedí na prenos informácie. Vodný stres, po ktorom nasleduje osmotický stres, spúšťa expresiu predpokladaného osmosenzora. Tento senzor má histidín kinázovú doménu, prijímaciu doménu

a dve transmembránové domény. Môže byť prvým komponentom „cítenia“ zmien v osmotickom potenciáli vo vnútri bunky a spúšťa signálovú kaskádu, ktorá vyúsťuje v dehydratáciou vyvolanú expresiu génov (Chaves *et al.*, 2003).

Podľa Havauxa (1992) sa pri meraniach ukázal PSII ako odolný voči suchu. Taktiež vodný stres výrazne modifikuje odpoveď PSII na iné obmedzenia. Stabilita PSII voči teplu zaznamenala nárast v listoch vystavených podmienkam vodného stresu. Napríklad pri 42°C v tme, pri ktorých je spôsobená kompletná a nevratná inhibícia PSII v dobre zvodnených listoch, spôsobí v listoch vystavených suchu len malú a plne obnoviteľnú redukciu fotochemickej účinnosti PSII. Predpokladá sa, že ochrana PSII voči extrémnemu tepelnému stresu v listoch stresovaných vodným deficitom môže vzniknúť následkom zvýšenej stability membrán v dehydratovaných tkanivách (Chaves *et al.*, 2003).

Rezistencia rastlín voči suchu je spojená s ich schopnosťou udržiavať vyšší relatívny obsah vody v listoch počas obdobia sucha. Pri obmedzených vodných podmienkach sa mení aj expresia génov rastliny. Aktivita niektorých enzýmov zapojených v regenerácii RuBP je postupne znižovaná už od skorých fáz vodného stresu. To ukazuje na možnosť, že niektoré z týchto enzýmov hrajú kľúčovú úlohu v regulácii fotosyntézy (Shahniyar *et al.*, 2010).

Pojem stres je používaný v rôznych významoch. Flexibilita normálneho metabolizmu umožňuje iniciáciu odpovede na environmentálne zmeny, ktoré sa pravidelne menia a dajú sa predpovedať v rámci denných alebo sezónnych cyklov. A tak nie každá odchýlka od optima musí nevyhnutne končiť ako stres. Stres je obmedzenie alebo vysoko nepredvídateľný výkyv, ktorý má dopad na normálny metabolizmus a spôsobuje zranenia, choroby alebo nenormálnu fyziológiu.

Vodný stres značne potláča rast buniek vďaka nízkemu turgoru. Osmotická regulácia umožňuje udržať turgor bunky alebo pomôcť rastline rásť. Fotosyntetické pigmenty sú pre rastliny dôležité, pretože zachytávajú svetlo a produkujú redukčnú silu. Chlorofyl *a* aj *b* sú náchylné na vysychanie pôdy. Karotenoidy majú prídavnú úlohu a čiastočne pomáhajú rastlinám odolať proti suchu, najmä pohlcovaním svetla a ochranou od oxidatívneho poškodenia. Tým pádom zvýšený obsah karotenoidov je dôležitý pri tolerancii stresu. Vodný deficit spôsobuje zmeny v pomere medzi chlorofylom *a*, *b* a karotenoidmi. Vodný deficit, medzi inými zmenami, dokáže redukovať pletivové koncentrácie chlorofylu a karotenoidov, hlavne produkciou ROS v tylakoidoch. Sucho ovplyvňuje rast, obsah sušiny a zberateľnej úrody (Jaleel *et al.*, 2009).

Fotosyntetické systémy sú rôzne, štruktúrne a funkčne dynamické a závisia na prostredí, ktoré je taktiež extrémne dynamické. Fotosyntetická asimilácia CO₂ na jednotku plochy a čas (rýchlosť fotosyntézy) je inhibovaná rýchlo sa vyvíjajúcim vodným deficitom, čo sa považuje za príčinu poklesu produkcie sušiny. Samozrejme, pre celkovú produkciu je dôležitá aj plocha listu. Rýchlosť fotosyntézy je integrovaná s respiráciou,

transportom elektrónov a syntézou ATP.

Zmeny v g_s závisia na kvapalinových faktoroch (RWC, ψ , turgor) v prieduchovom aparáte, vrátane transportu vody cez membrány a metabolických procesov. Zmeny v g_s môžu byť rýchle. Môžu nastať rádovo v minútach od zmeny vo vlhkosti atmosféry alebo vodnom a osmotickom potenciáli. Slúži to na reguláciu straty vody, tým pádom RWC klesne len málo. Rozvoj buniek a pletív sa spomaľuje už pri malom vodnom deficite. V poľných podmienkach s pomalým vývojom vodného stresu nie sú rastliny často vystavené veľkému poklesu g_s . Dlhodobé prispôbenie zahŕňa menší index listovej plochy. Napríklad, pri jačmeni rastúcom v poľných podmienkach sa pri pomalom vývoji vodného deficitu (niekoľko týždňov) namiesto zatvárania prieduchov vyhlo nízkeho RWC znížením LAI a zmenou vodnej bilancie, a tým aj strate vody.

Prenos energie do reakčných centier PSI a PSII má za následok transfer elektrónov na ferredoxín a potom redukciu $NADP^+$. Následkom vodného deficitu a zníženia rýchlosti fotosyntézy klesá aj spotreba NADPH a teda so stúpajúcim deficitom vody klesá celkový transport elektrónov.

Ďalším faktorom určujúcim vplyv vodného stresu na produktivitu rastlín je efekt na mitochondriálnu respiráciu v koreňoch, stonkách a listoch (Atkin and Macherel, 2009). Vo všeobecnosti rýchlosť respirácie počas vodného stresu klesá. Avšak takýto jav sa nemusí vyskytovať u všetkých druhov rastlín. V niektorých prípadoch je pozorovaný nárast respirácie. Celková rýchlosť respirácie je, narozdiel od tej fotosyntetickej, zvyčajne udržiavaná v úzkom rozhraní. To vedie k zvýšenému pomeru respirácia/fotosyntéza, t.j. k poklesu bilancie uhlíka.

Limitácia rastu rastliny spôsobená nízkou dostupnosťou vody je spôsobená hlavne redukciami v uhlíkovej bilancii, ktorá závisí na pomere medzi fotosyntézou a respiráciou. Oba procesy sú úzko prepojené. Napríklad bolo dokázané, že transgenické rastliny s modifikovanou respiráciou zmenili aj ich fotosyntetické správanie. Taktiež nárast rýchlosti respirácie po období vodného stresu je potrebný pre obnovenie fotosyntézy. Z celkového asimilovaného uhlíka počas fotosyntézy sa viac ako polovica stratí v procese respirácie. Tá je nevyhnutná pre rast a udržiavacie procesy. Ale táto bilancia sa môže meniť.

Odpovede na dlhodobý pôdny vodný stres zahŕňajú nárast v prieduchovej vodivosti a fotosyntetickej kapacite, zvýšenie koncentrácie viacerých fotosyntetických enzýmov súčasne so znížením ich špecifickej aktivity a v udržaní vysokej rýchlosti transportu elektrónov v tylakoidoch.

Obyčajne rastliny vystavené vodnému stresu obnovia iba 40-60% z maximálnej rýchlosti fotosyntézy počas jedného dňa po dodaní vody. Následne obnova pokračuje niekoľko dní, avšak maximálne hodnoty v niektorých prípadoch dosiahnuté nie sú. Rýchlosť a rozsah obnovy môže závisieť aj na iných faktoroch, ako je napríklad sekundárny oxidatívny stres. Antioxidačné systémy rastliny po závlahe zvyšujú svoju aktivitu

a množstvo a rastliny, ktoré dosahujú vyššie hodnoty antioxidantov sú schopné obnovy podstatne rýchlejšie (Flexas *et al.*, 2006).

2.5 Vplyv tepla na fotosyntézu

Vďaka globálnemu otepľovaniu v budúcnosti môžeme očakávať dlhšie, viac sa vyskytujúce a intenzívnejšie obdobia tepla, čo môže mať významný ekologický vplyv. Globálne otepľovanie je jednou z najvýznamnejších charakteristík globálnej environmentálnej zmeny. V poslednom storočí globálny priemer teplôt stúpol o $0,74^{\circ}\text{C}$, pričom aktuálne nárast pokračuje približne o $0,1^{\circ}\text{C}$ za desaťročie. Okrem zvýšenia priemernej ročnej teploty, extrémne teplé dni sa stanú častejšími na väčšine území. Takéto extrémne javy, hoci krátkodobé, môžu mať ekologický vplyv, ktorý môže byť podstatne väčší ako vplyv spojený s nárastom priemernej teploty.

Vysoké teploty nepriaznivo ovplyvňujú rast rastlín v mnohých smeroch. Fotosyntéza je považovaná za jeden z procesov najviac senzitívnych na teplo. Fotosystém II (PSII) je kritickým miestom poškodenia vysokou teplotou. Teplota nad 45°C poškodzuje PSII. Mierny tepelný stres ($35\text{--}42^{\circ}\text{C}$) zvyšuje cyklický tok elektrónov v PSI a redukuje rýchlosť fotosyntézy, ale PSII iba čiastočne a reverzibilne inhibuje. Poprípade rastliny majú efektívny regulačný systém na ochranu fotosyntézy od mierne zvýšenej teploty, ktorá nepoškodzuje PSII, napríklad reguláciou PSII alebo tepelným rozptylom (Song *et al.*, 2010).

Pri C_3 rastlinách zvýšenie teploty listu nad optimálnu teplotu rastu vedie k redukcii fotosyntézy. Toto sa deje v dôsledku rozšírenej oxygenázovej aktivity Rubisco a zmien v karboxylačnej kapacite (Sage and Kubien, 2007; Stasik and Jones, 2007). V poľných podmienkach sú vysoké teploty často sprevádzané vodným deficitom a zatváraním prieduchov s následným poklesom dostupnosti CO_2 . Vysoké teploty môžu taktiež viesť k separácii LHCII od PSII, čo sa prejaví ako zvýšenie základnej fluorescence F_0 . Pokles v aktivite PSII vplyvom vysokej teploty môže byť následok fotoinhibičnej regulácie transportu elektrónov a nie priameho teplom indukovaného poškodenia (Stasik and Jones, 2007).

Dôležitá je pre fotosyntézu ako pri optimálnej tak aj pri zvýšenej teplote hladina Rubisco aktivázy (RCA). Napríklad niektoré rastliny tabaku mali pri deficite RCA zníženú rýchlosť fixácie CO_2 pri 25°C a zvýšenú citlivosť fotosyntézy na teplo v porovnaní s rastlinami s normálnou hladinou RCA (Ristic *et al.*, 2009).

Fotosyntéza je ľahko zrušená zvýšenými teplotami. PSII sa v rámci fotosyntetického aparátu javí ako najviac na teplo senzitívna funkcia, zatiaľ čo aktivita PSI je pomerne viac termostabilná. Zvýšenie teploty najskôr vedie k zablokovaniu reakčných centier PSII a následne k oddeleniu anténneho pigment-proteínového komplexu od centrálného jadra svetlozberného aparátu PSII. Zvýšenie termostability PSII bolo po-

zorované v listoch vystavených fyzikálno-chemickým stresom ako vysoká slanosť alebo hypertonický stres. Tiež zmeny vo vodnom a osmotickom potenciáli listu ovplyvňujú tepelnú toleranciu fotosyntézy. Z takýchto pozorovaní vyplýva antagonistický vplyv environmentálnych stresov, z ktorých jeden zvýši toleranciu fotosyntézy voči inému. So zreteľom na teplotný stres je to dôležité z ekofyziologického hľadiska, pretože v prirodzených podmienkach teplotný stres je často kombinovaný s inými obmedzeniami ako vodný deficit a silné svetlo (Havaux, 1992).

Syntéza lipidov je regulovaná tak, aby poskytovala lipidy potrebné pre normálne zostavenie a funkciu membrány tylakoidov ako aj iných membrán rastlinnej bunky. Vplyv teploty na obsah a zloženie lipidov závisí od druhu a rozpätia teplôt, ktorému je rastlina vystavená (Falk *et al.*, 1996). Pri vysokých teplotách sa membrána tylakoidov stáva presakujúcou, čo potencionálne môže rozpájať tok elektrónov z fotofosforylácie.

V jačmeni zvýšená teplota aktivuje cyklický tok elektrónov, tým že odkloní elektróny od NADPH na plastochinón. Aktivácia cyklického toku elektrónov na úkor lineárneho toku chráni PSII od možného poškodenia vysokou teplotou. Deje sa to prostredníctvom fotoprotektívneho tlmenia, stabilizácie tylakoidovej membrány a redukcie veľkosti svetlozbernej antény PSII.

Aktívne oligoméry vplyvom vyššej teploty ľahšie disociujú na neaktívne diméry alebo monoméry, a tým spôsobujú stratu kapacity Rubisco aktívázy. V mnohých druhoch pri teplote 42-45°C podjednotky Rubisco aktívázy nevratne denaturujú na nerozpustné komplexy, ktoré nemajú schopnosť hydrolýzy ATP. V rastlinách, na ktoré pôsobia vyššie teploty, sa môže začať produkovať iná forma Rubisco aktívázy. Táto forma má lepšiu tepelnú stabilitu.

Difúzia CO₂ do listu a chloroplastov je priamo závislá na teplote, prieduchovej kontrole a membránovej permeabilite. V závislosti na druhu a pomienkach rastu môže zvyšujúca sa teplota otvárať, zatvárať alebo nemusí ovplyvňovať prieduchy. Mezofylová vodivosť je citlivá na teplotu a je kontrolovaná proteínmi (Sage and Kubien, 2007).

Teplotná závislosť fotosyntézy je citlivá na koncentráciu CO₂, pričom optimálna teplota rastie s koncentráciou CO₂. Prieduchová vodivosť je viac citlivá na deficit tlaku pár ako na teplotu. Ak teplota stúpa pri konštantnom tlaku vodných pár, deficit tlaku sa zvyšuje, čo môže spôsobiť pokles C_i. Inaktivácia Rubisco pri vysokých teplotách môže spôsobiť pokles aktivity Rubisco aktívázy a nárast syntézy xylulóza-1,5-bisfosfátu, ktorý inaktivuje Rubisco (Hikosaka *et al.*, 2006).

3 Materiál a metódy

3.1 Biologická charakteristika experimentálneho materiálu

K práci sme použili rastliny jačmeňa siateho formy jarnej (*Hordeum vulgare* L.) štyroch genotypov:

1. *Dobla* je španielska odroda, s vyššou osmotickou adjustáciou.
2. *Escobar* je holandská odroda.
3. *Miccucio* je talianska odroda.
4. *Nitran* je slovenská odroda.

3.2 Pestovanie biologického materiálu

Rastliny boli pestované v 25kg nádobách s pôdnym substrátom. Do každej nádoby bolo vysiatych 49 semien (7x7). Postupná dehydratácia substrátu bola uskutočnená prerušením zalievania rastlín umiestnených pod fóliovým krytom v 9. etape organogenézy.

3.3 Hodnotenie fyziologických parametrov

3.3.1 Relatívny obsah vody

RWC je užitočným indikátorom vodnej bilancie rastliny, pretože vyjadruje celkové množstvo vody, ktoré rastlina potrebuje na dosiahnutie plnej saturácie. RWC teda vyjadruje obsah vody v % v danom čase oproti obsahu vody pri plnom turgore.

Vypočíta sa ako:

$$RWC[\%] = \frac{FW - DW}{SW - DW} * 100 \quad (1)$$

kde FW je hmotnosť čerstvého segmentu, DW hmotnosť vysušeného segmentu a SW hmotnosť saturovaného segmentu listu.

Na dosiahnutie plnej saturácie je potrebné dosiahnuť konštantnú hmotnosť pletiva. Dôležité je aj zabrániť rastu a respirácii, preto saturáciu vykonávame pri teplote 4°C v čo najkratšom možnom čase (González and González-Vilar, 2003).

3.3.2 Vodný potenciál

Vodný potenciál bol meraný pomocou tlakovej komory. Časť stonky s listami sa po odrezaní rýchlo preniesie do tlakovej nádoby a koniec stonky sa utesní do gumovej zátky. Tlak v komore sa pomaly zvyšuje a pozoruje sa rezná plocha stonky. Akonáhle sa objaví prvá kvapka vody, tak tlak v komore je rovný priemernému vodnému potenciálu (Šetlík *et al.*, 1998).

3.3.3 Osmotický potenciál

ψ_S [MPa] sa rovná tlaku, ktorým by molekuly rozpustnej látky tlačili na steny uzavretého priestoru, keby boli pri danej teplote v plynnom stave (Zima *et al.*, 2002). Rozpustné látky redukujú voľnú energiu vody jej zriedením.

Osmotický potenciál bol meraný psychometricky. Vzorka sa umiestni do malej hermeticky uzavretej komôrky, ktorej teplota sa veľmi presne udržiava na stálej hodnote. Po ustálení rovnováhy medzi vzorkou a vzduchom sa zmeria relatívna vlhkosť vzduchu a z nej sa vypočíta osmotický potenciál, ktorý je rovnaký pre vodu vo vzduchu ako aj pre vodu vo vzorke, pretože sú v rovnováhe (Šetlík *et al.*, 1998).

Vzorky mali priemer 5mm.

3.3.4 Tlakový potenciál

ψ_P je vlastne hydrostatický tlak roztoku. Kladný hydrostatický tlak vo vnútri bunky sa nazýva turgor (Taiz and Zeiger, 2002). Tlakový potenciál bol vypočítaný ako rozdiel vodného potenciálu (ψ_W) a potenciálu osmotického (ψ_S):

$$\psi_P = \psi_W - \psi_S \quad (2)$$

3.3.5 Kvantifikácia parametrov gazometrickej výmeny plynov

Parametre gazometrickej výmeny plynov boli merané infračerveným analyzátorom v otvorenom systéme Ciras-2 (PP Systems International, Inc. Amesbury, USA). List bol vložený do asimilačnej komory. Čas adaptácie listu na podmienky uzatvorenej komory (teplotné vyrovnanie a ustálenie koncentrácie CO₂) predstavoval 60 sek. Rýchlosť čistej asimilácie CO₂ (A_{CO_2} ; $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) a prieduchová vodivosť (g_S ; $\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) boli merané v normálnej atmosfére, relatívnej vzdušnej vlhkosti 40% RH a teplote 25 °C a intenzite fotosynteticky aktívneho žiarenia 1200 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$. Parametre gazometrickej výmeny plynov boli automaticky kalkulované na základe kontinuálnych meraní spotreby CO₂ intaktných listov v čase po uzatvorení do asimilačnej komory podľa fotosyntetického modelu Farquhar *et al.* (1980). Efektívnosť využitia vody pre fotosyntézu (WUE; $\mu\text{mol}\cdot\text{mmol}^{-1}$) bola počítaná rýchlosťou čistej asimilácie (A_{CO_2}) a prieduchovej vodivosti (g_S):

$$WUE = \frac{A_{CO_2}}{g_S} \quad (3)$$

3.3.6 Hodnotenie produkčných parametrov

Produkčné parametre sme hodnotili pri 3 odrodách tak pri dobre hydratovaných ako aj pri dehydratovaných rastlinách. Hodnotili sme priemernú výšku rastliny, hmotnosť

nadzemnej biomasy, hmotnosť nadzemnej biomasy stebľa a odnoží, hmotnosť zrna, zberový index (ZI), počet odnoží a počet produktívnych odnoží.

3.4 Štatistické hodnotenie a grafické spracovanie

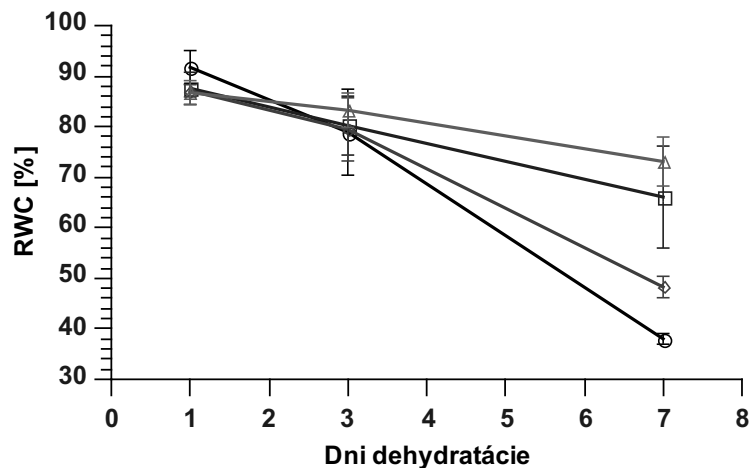
Výsledky boli matematicko-štatisticky spracované programom OpenOffice.org Calc. Údaje boli následne graficky spracované programom QtiPlot.

4 Výsledky a diskusia

Merania vybraných parametrov vodného stresu boli uskutočnené po 1, 3 a 7 dňoch dehydratácie.

4.1 Zmeny relatívneho obsahu vody počas dehydratácie

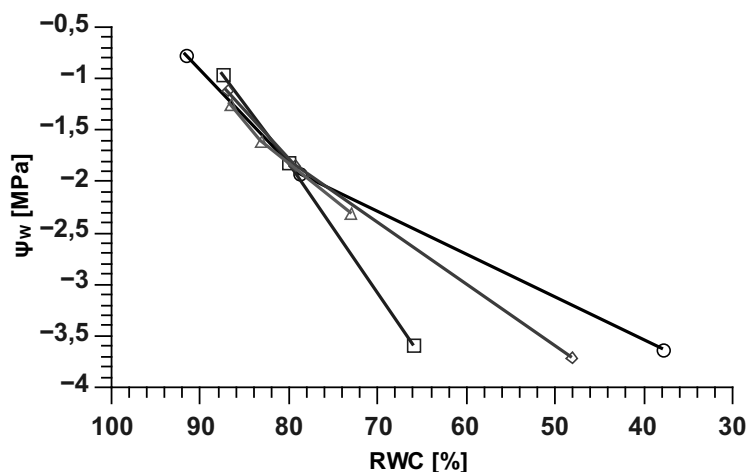
Ako možno vidieť na obrázku 3, relatívny obsah vody počas dehydratácie klesal vo všetkých 4 použitých odrodách. Počas prvých troch dní klesá RWC u všetkých 4 odrôd približne rovnako. Od tretieho po siedmy deň dehydratácie sa rozdiely v relatívnom obsahu vody medzi jednotlivými odrodami zväčšujú. Najvýraznejší pokles (z 91,74% po 1 dni dehydratácie na 38,01% po 7 dni dehydratácie) bol zaznamenaný pri talianskej odrode Miccucio. Naopak najmenší pokles (z 86,72% na 73,10%) bol pri odrode vyšľachtenej na Slovensku - Nitran. Zvyšné dve odrody sa pohybovali v rozmedzí týchto hodnôt, pričom vyšší relatívny obsah vody po 7 dňoch dehydratácie mala odroda Dobra, nižší odroda Escobar.



Obr. 3: Grafické znázornenie zmeny relatívneho obsahu vody (RWC) vo vybraných odrodách počas obdobia dehydratácie. □ - Dobra, ◇ - Escobar, ○ - Miccucio, △ - Nitran.

Podobné zníženie relatívneho obsahu vody v rôznych genotypoch jačmeňa dokázali viaceré štúdie. Kovár (2003) pozoroval počas dehydratácie pokles RWC. Ten bol po šiestich dňoch na úrovni 50%. V použitých odrodách klesol aj vodný, osmotický a tlakový potenciál. ψ_W dosiahol po siedmich dňoch dehydratácie úroveň približne -2 MPa (podobne ako pri odrode Nitran) a výraznejší pokles nastal až neskôr. ψ_S mal podobný priebeh poklesu, pričom na siedmy deň dosiahol hodnotu -3 MPa. Tlakový

potenciál sa udržal nad hodnotou 0 MPa a turgor rastliny stratili až po deviatich dňoch od začiatku dehydratácie.



Obr. 4: Grafické znázornenie zmeny vodného potenciálu (ψ_w) v závislosti od zmeny relatívneho obsahu vody (RWC) počas obdobia dehydratácie. \square - Dobra, \diamond - Escobar, \circ - Miccucio, \triangle - Nitran.

Kovár, Brestič a Olšovská (2003) publikovali výsledky, ktoré sa približne zhodujú s našimi meraniami. RWC pri tom kleslo v záverečnej fáze dehydratácie na 43%, pričom klesal aj vodný a osmotický potenciál (podobne ako na obrázku 4, 5, 7, 8) až pod -4 MPa. Tlakový potenciál si udržoval hodnotu dobre hydratovaných rastlín, ale postupne klesal.

Teulat *et al.* (2003) pri poľných pokusoch v piatich rôznych oblastiach pri 5 rôznych intenzitách sucha pozorovali počas dlhšej doby pokles RWC až na úroveň 21% pri dlhotrvajúcej dehydratácii.

Relatívny obsah vody zaznamenal aj Vaezi *et al.* (2010) pri pokusoch s 12 genotypmi jačmeňa, kde sa RWC pohyboval v rastlinách vystavených suchu na úrovni 45-75%. Hodnoty RWC namerané pri hodnote osmotického potenciálu -3 MPa môžu indikovať kapacitu osmotického prispôsobenia. Pri nami skúmaných odrodách boli v tomto mieste (obrázok 5) výrazné rozdiely, pričom odroda Nitran ani nedosiahla hodnotu ψ_s rovnú -3 MPa. RWC sa ukázalo ako relevantný screeningový nástroj na stanovenie tolerance obilnín voči suchu, a tiež aj ako dobrý indikátor vodného statusu rastlín.

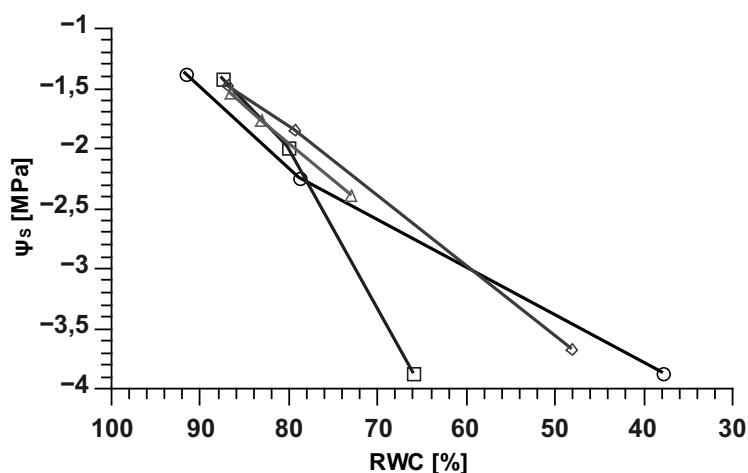
Pokles osmotického a vodného potenciálu nastal aj pri skúmaní obmedzenia rastu listov vplyvom vodného stresu, ktorý v roku 1998 publikoval Lu a Neumann.

Zníženie RWC počas suchom indukovaného stresu pozoroval Keyvan (2010) pri rastlinách pšenice. Zistené rozdiely pripisuje schopnosti niektorých genotypov lepšie absorbovať vodu z pôdy alebo lepšej možnosti prieduchov zabrániť stratám vody. Čiže

genotypy, ktoré sú odolnejšie suchu majú zvyčajne vyšší relatívny obsah vody.

Pri 5 rôznych druhoch zaznamenal pokles RWC a aj ψ_W Bota *et al.* 2004, hoci nie pri všetkých druhoch bolo zníženie dramatické.

Galmés *et al.* (2010) pozoroval pokles relatívneho obsahu vody a vodného potenciálu pri znižujúcom sa obsahu vody v pôde. Tiež ukázal zvýšenie hodnôt týchto ukazovateľov po opätovnom zavlažení.



Obr. 5: Grafické znázornenie zmeny osmotického potenciálu (ψ_s) v závislosti od zmeny relatívneho obsahu vody (RWC) počas obdobia dehydratácie. \square - Dobla, \diamond - Escobar, \circ - Miccucio, \triangle - Nitran.

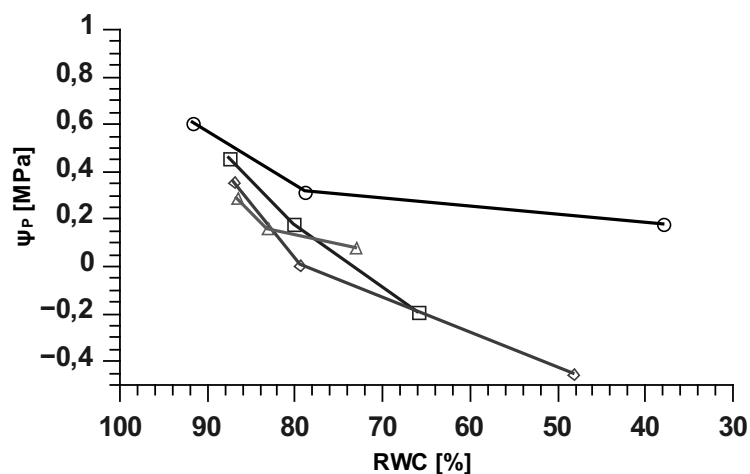
4.2 Zmeny vodného potenciálu počas dehydratácie

Grafické znázornenie na obrázku 7 ukazuje zmeny vodného potenciálu (ψ_W) počas 7 dní dehydratácie skúmaných odrôd.

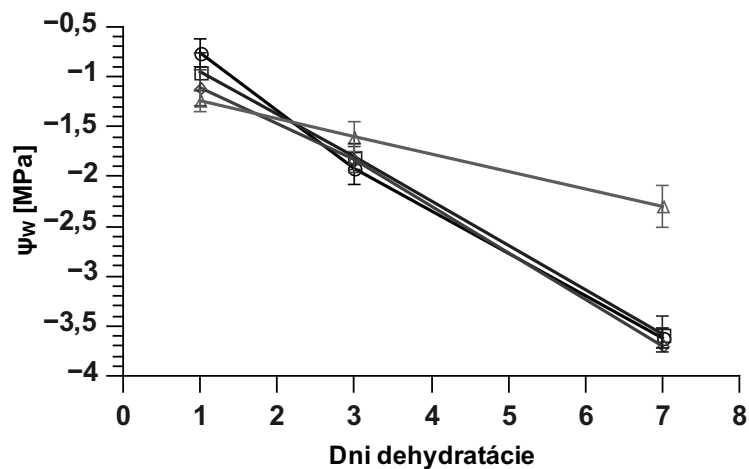
Vodný potenciál klesal takmer lineárne pri všetkých odrodách. Najnižší pokles vodného potenciálu počas dehydratácie bol zmeraný pri odrode Nitran (pokles z -1,24 MPa na -2,30 MPa). Ostatné tri odrody sa pohybovali po 7 dňoch dehydratácie pod hodnotou -3 MPa, pričom najväčší rozdiel medzi začiatkom dehydratácie a jej koncom bol pri odrode Miccucio (-2,86 MPa).

4.3 Zmeny osmotického potenciálu počas dehydratácie

Hodnoty osmotického potenciálu (ψ_s) dehydratovaných odrôd (obrázok 8) podobne ako hodnoty predchádzajúcich parametrov zaznamenali počas experimentu pokles. Súvisí to s poklesom obsahu vody v pletivách a bunkách rastlín, čím sa v nich zvýši koncentrácia osmoticky aktívnych látok, a tým sa zníži hodnota osmotického potenciálu.

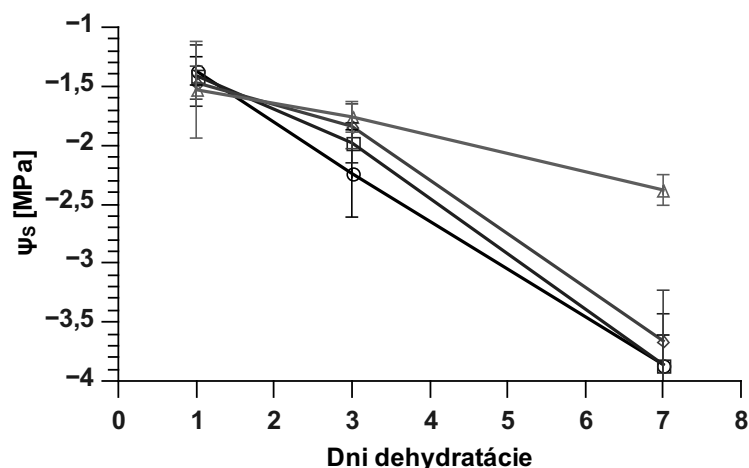


Obr. 6: Grafické znázornenie zmeny tlakového potenciálu (ψ_P) v závislosti od zmeny relatívneho obsahu vody (RWC) počas obdobia dehydratácie. □ - Dobla, ◇ - Escobar, ○ - Miccucio, △ - Nitran.



Obr. 7: Grafické znázornenie zmeny vodného potenciálu (ψ_W) vo vybraných odrodách počas obdobia dehydratácie. □ - Dobla, ◇ - Escobar, ○ - Miccucio, △ - Nitran.

Pokles ψ_S v prvých 3 dňoch dehydratácie bol nižší ako v nasledujúcich dňoch, kde zaznamenal výraznejší prepad. Najnižší pokles bol psychrometrickou metódou nameraný pri odrode Nitran. Táto slovenská odroda vykázala zmenu osmotického potenciálu v priemere na úrovni -0,85 MPa. Pri ostatných odrodách bol zistený rozdiel medzi začiatkom a koncom dehydratácie väčší. V priemere najväčšia zmena nastala pri odrode Miccucio, pri ktorej dosiahla hodnotu $\Delta\psi_S = -2,49$ MPa.



Obr. 8: Grafické znázornenie zmeny osmotického potenciálu (ψ_s) vo vybraných odrodách počas obdobia dehydratácie. □ - Dobla, ◇ - Escobar, ○ - Miccucio, △ - Nitran.

4.4 Zmeny tlakového potenciálu počas dehydratácie

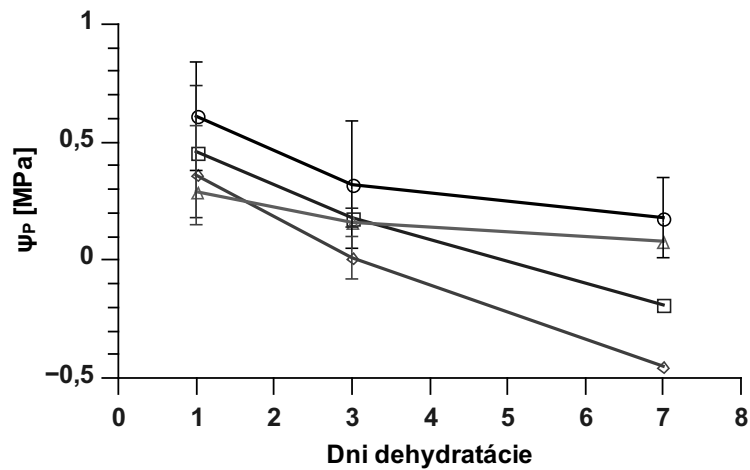
Zmena tlakového potenciálu (ψ_P , obrázok 9) vypočítaná ako rozdiel hodnôt vodného a osmotického potenciálu nebola až taká výrazná. Pri odrode Nitran predstavovala -0,21 MPa, pričom po 3 dňoch dehydratácie sa menila len minimálne. Pri odrode Escobar bol rozdiel v tlakovom potenciáli medzi prvým a siedmym dňom vodného stresu -1,09 MPa a turgor stratila už po 3 dňoch dehydratácie. Nitran a Miccucio si turgor počas sedemdnového vodného stresu udržali, Dobla ho stratila po približne 5 dňoch.

Na obrázku 4 je vidieť, ako s klesajúcim relatívnym obsahom vody viac či menej klesá hodnota vodného potenciálu v rastlinách jarného jačmeňa. Graf ukazuje, že odroda Nitran s najnižším poklesom RWC počas vodného stresu mala aj najmenšiu zmenu ψ_W . Dobla mala pri relatívne podobnej zmene relatívneho obsahu vody viac zníženú hodnotu vodného potenciálu. Miccucio aj Escobar dosiahli pri nižších hodnotách RWC výsledný vodný potenciál porovnateľný s odrodou Dobla.

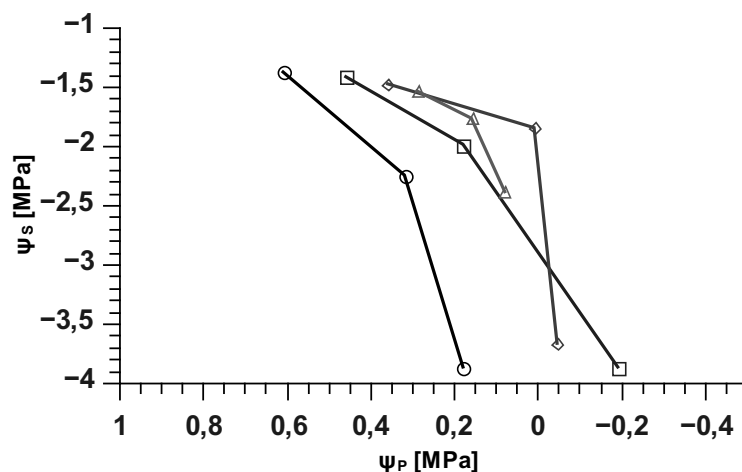
Podobné výsledky ako pre závislosť ψ_W od RWC na obrázku 4 môžeme vidieť aj pri grafickom znázornení závislosti zmeny osmotického potenciálu od zmeny RWC počas dehydratácie na obrázku 5. Osmotický potenciál klesal so znižujúcim sa relatívnym obsahom vody v rastlinách, pričom najmenej sa jeho hodnota menila pri slovenskej odrode.

Tak ako ψ_W a ψ_S aj tlakový potenciál u všetkých odrôd v závislosti od RWC klesal (obrázok 6). ψ_P sa znížil najmenej (relatívne k RWC) pri talianskej odrode Miccucio, ktorá si napriek výraznému poklesu relatívneho obsahu vody dokázala udržať turgor.

Tlakový potenciál sa v závislosti od osmotického potenciálu (obrázok 10) znižoval



Obr. 9: Grafické znázornenie zmeny tlakového potenciálu (ψ_P) vo vybraných odrodách počas obdobia dehydratácie. □ - Dobla, ◇ - Escobar, ○ - Miccucio, △ - Nitran.



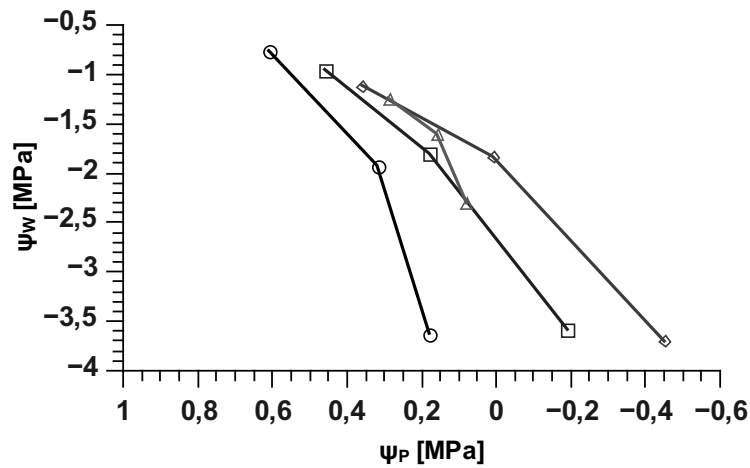
Obr. 10: Grafické znázornenie zmeny osmotického potenciálu (ψ_S) v závislosti od tlakového potenciálu (ψ_P) obdobia dehydratácie. □ - Dobla, ◇ - Escobar, ○ - Miccucio, △ - Nitran.

hlavne počas prvých troch dní dehydratácie, kedy ψ_S neklesal až tak výrazne. V nasledujúcich dňoch pri výraznejšom poklese ψ_S nedochádzalo k veľmi veľkému zníženiu tlakového potenciálu.

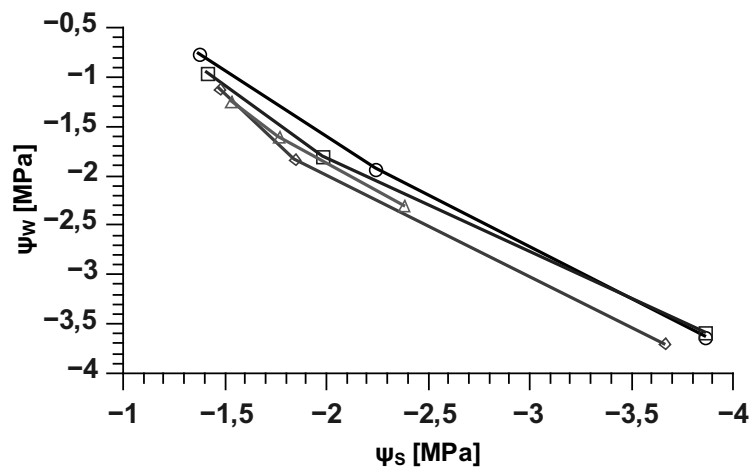
Keďže vodný a osmotický potenciál dosahovali približne rovnaké hodnoty aj závislosť medzi ψ_W a ψ_P (obrázok 10) a medzi ψ_S a ψ_P na obrázku 12 sa podobajú. Čiže s klesajúcim vodným potenciálom viac-menej klesal aj potenciál tlakový.

Graf na obrázku 12 zobrazujúci závislosť medzi vodným a osmotickým potenciálom

ukazuje, že počas vodného stresu sú obidva parametre v pozitívnej korelácii (s poklesom jedného klesá aj druhý). Výraznejší pokles oboch parametrov nastáva medzi 3 a 7 dňom dehydratácie.



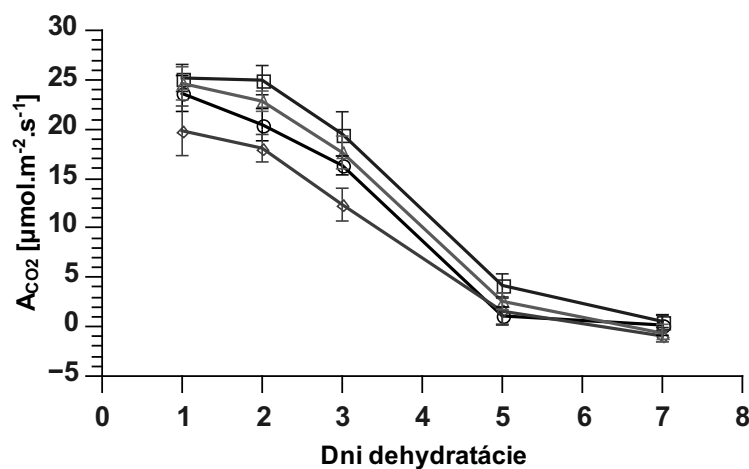
Obr. 11: Grafické znázornenie zmeny vodného potenciálu (ψ_w) v závislosti od tlakového potenciálu (ψ_p) počas obdobia dehydratácie. \square - Dobla, \diamond - Escobar, \circ - Miccucio, \triangle - Nitran.



Obr. 12: Grafické znázornenie zmeny vodného potenciálu (ψ_w) v závislosti od osmotického potenciálu (ψ_s) počas obdobia dehydratácie. \square - Dobla, \diamond - Escobar, \circ - Miccucio, \triangle - Nitran.

4.5 Gazometrická výmena plynov počas postupnej dehydratácie

V priebehu postupnej dehydratácie dochádzalo k zníženiu rýchlosti asimilácie CO_2 (obrázok 13). Hodnoty na začiatku dehydratácie sa pohybovali v rozmedzí 19,83-25,18 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$. Počas indukovaného sucha rýchlosť klesala. Výrazný pokles nastal medzi druhým a piatym dňom, pričom po posledný siedmy deň A_{CO_2} ešte mierne klesla. Výsledné hodnoty sa pohybovali na úrovni -0,94-0,54 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$. Najvyššie hodnoty si počas dehydratácie udržal genotyp Dobla.

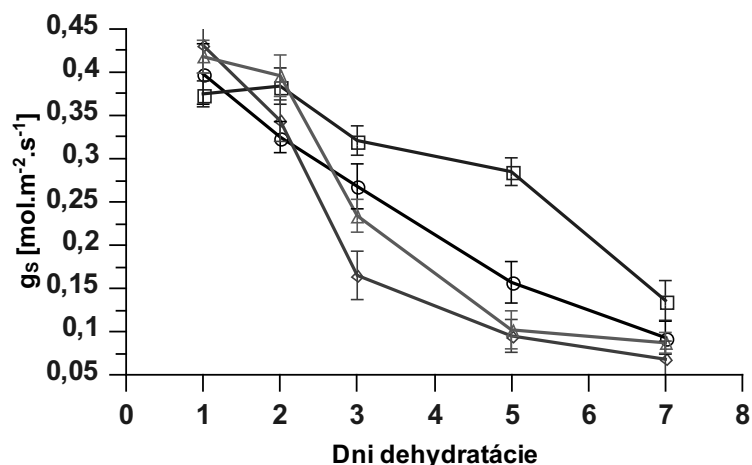


Obr. 13: Rýchlosť asimilácie oxidu uhličitého (A_{CO_2} ; $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) listu genotypov jačmeňa jarného počas postupnej dehydratácie pôdneho substrátu. Údaje predstavujú priemer \pm RD. Počet opakovaní 4. \square - Dobla, \diamond - Escobar, \circ - Miccucio, \triangle - Nitran.

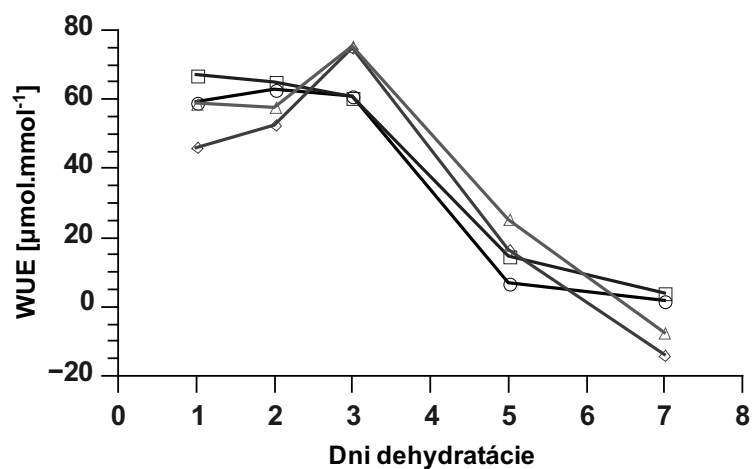
Pokles z pôvodných 0,375-0,431 $\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ na 0,068-0,136 $\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ sme zaznamenali pri prieduchovej vodivosti (g_s , obrázok 14). Síce počiatočná hodnota bola najnižšia pri odrode Dobla, počas dehydratácie si udržala, podobne ako pri A_{CO_2} najvyššie hodnoty. To sa prejavilo aj v lepšom využívaní prístupnej vody pre fotosyntézu počas sucha (obrázok 15). Opačná situácia bola pri odrode Escobar, ktorý zaznamenal najväčší prepád v g_s .

Schopnosť využitia vody rastlinami pre fotosyntézu klesala spolu s vyššie uvedenými parametrami. Hoci genotypy Nitran a Escobar po začiatku dehydratácie zaznamenali nárast s následným prudkým poklesom.

Podobné údaje získal aj Kovár (2003) pri experimentoch s 2 genotypmi jačmeňa, pričom v terminálnej fáze stresu dosiahli hodnoty rýchlosti asimilácie oxidu uhličitého úroveň -0,134-2,242 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$. Taktiež zaznamenal aj zníženie stomatálnej konduktivity z pôvodných 0,464-0,514 na hodnoty 0,070-0,095 $\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$. Tiež klesal aj



Obr. 14: Prieduchová vodivosť (g_s ; $\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) listu genotypov jačmeňa jarného počas postupnej dehydratácie pôdneho substrátu. Údaje predstavujú priemer \pm RD. Počet opakovaní 4. \square - Dobla, \diamond - Escobar, \circ - Miccucio, \triangle - Nitran.



Obr. 15: Efektívnosť využitia vody pre fotosyntézu (WUE; počítané ako A_{CO_2}/g_s) listu genotypov jačmeňa jarného počas postupnej dehydratácie pôdneho substrátu. Údaje predstavujú priemer \pm RD. Počet opakovaní 4. \square - Dobla, \diamond - Escobar, \circ - Miccucio, \triangle - Nitran.

pomer medzi A_{CO_2} a g_s (WUE).

Galmés *et al.* (2006) pri pokusoch s rastlinami sóje (*Glycine max* L.) počas 10 dní pozoroval pokles g_s z úrovne $0,3 \text{ mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ na hodnotu pod $0,05 \text{ mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$. Podobné údaje získal aj pri rastlinách tabaku (*Nicotiana tabaccum* L.). Pre oba druhy rastlín platil aj pokles A_{CO_2} . Pokles hodnôt oboch parametrov (A_{CO_2} a g_s) pozoroval aj

Bota *et al.* (2004) na 5 rôznych druhoch rastlín. Podobne Galmés *et al.* (2007, 2010) na 10 druhoch rastlín potvrdil pokles týchto parametrov, pričom ukázal aj nárast hodnôt rýchlosti asimilácie CO₂ a prieduchovej vodivosti po opätovnom dodaní vody.

Zníženie rýchlosti asimilácie CO₂ v stresovaných rastlinách pšenice pozoroval aj Fresneau *et al.* (2007) a Brestič (2001) v rastlinách fazule.

4.6 Hodnotenie produkčných parametrov

Produkčné parametre sme hodnotili pri odrodách Dobla, Escobar a Nitran. Ich presné hodnoty sú uvedené v tabuľke 1. Tabuľka ukazuje, ako dobre hydratované rastliny dosahovali lepšie hodnoty týchto parametrov. Dehydratáciou rastlín sa znížila ich výška o 2 až 4 cm. Hmotnosť nadzemnej biomasy pri rastlinách vystavených vodnému stresu klesla oproti dobre hydratovaným rastlinám až do výšky 21%. To znamená pokles hmotnosti jednotlivých častí nadzemnej biomasy (zrna, odnoží aj hlavného stebľa) ako aj zníženie počtu odnoží.

	Dobre hydratované rastliny			Dehydratované rastliny		
	Dobla	Escobar	Nitran	Dobla	Escobar	Nitran
Výška rastliny [m]	0,53	0,6	0,64	0,5	0,56	0,62
Hmotnosť nadzemnej biomasy [g]	2,049	1,589	1,736	1,599	1,281	1,482
Hmotnosť nadzemnej biomasy hlavného stebľa [g]	0,835	0,862	0,925	0,627	0,617	0,866
Hmotnosť nadzemnej biomasy odnoží [g]	0,149	0,145	0,135	0,135	0,128	0,109
Hmotnosť zrna [g]	1,065	0,582	0,676	0,837	0,536	0,507
ZI	0,52	0,37	0,39	0,52	0,42	0,34
Počet odnoží [ks]	1,11	1,34	1,22	1,03	1,19	1,15
Počet produktívnych odnoží [ks]	1,07	1,12	1,19	0,76	1,06	0,83

Tabuľka 1: Hodnotenie produkčných parametrov troch odrôd rastlín jačmeňa jarného.

Vaezi *et al.* (2010), pri svojich pokus s 12 genotypmi jačmeňa poukazuje na zníženú hmotnosť 1000 zrn, a tým aj na celkové zníženie úrody na 1 ha. Hydratované rastliny mali aj väčší počet zrn v klase ako rastliny vystavené vodnému stresu. Podobne, ako pri našich genotypochoch klesla výška stresovaných rastlín.

Pokles hmotnosti nadzemnej biomasy sa prejavil aj pri pokusoch Kovára (2003). Hmotnosť rastlín, ktoré neboli zalievané, zaznamenala pokles o 10-18%. Hmotnosť zrna

v klase sa znížila o 30-40%. V našom pokuse sa snížila o 7-25%. Podobne, ako v tabuľke 1 aj pri jeho experimentálnej práci klesli všetky významné produkčné parametre.

Mamnouie *et al.* (2006) tiež hovorí o znížení hmotnosti 1000 zrn, ako aj o menšom množstve klasov na m² a počte zrn v klase, pričom poukazuje na zníženú rýchlosť asimilácie.

Khan *et al.* (2001) pri pokusoch s kukuricou tiež zaznamenal výrazný pokles vo výške rastlín a zníženie HTZ.

5 Záver

Sucho je jedným z faktorov, ktorý v poľných podmienkach dokáže výrazne ovplyvniť produkciu poľnohospodárskych plodín. So zvyšovaním teplôt v rámci globálnej klimatickej zmeny a drancovaním vodných zdrojov sa môže jeho vplyv ešte znásobiť. Rastliny sa však v mnohých prípadoch dokážu prispôbiť zmenou metabolizmu, fyziologických funkcií, ale aj prispôbením celkovej morfológie. Avšak dlhotrvajúce obdobie sucha spolu s ostatnými abiotickými a biotickými faktormi môžu viesť až k zániku organizmu.

Na základe pozorovaných výsledkov možno formulovať nasledovné závery:

- Počas nedostatku vody dochádza k poklesu relatívneho obsahu vody ako aj vodného, osmotického a tlakového potenciálu, pričom na základe ich hodnôt možno určiť stupeň odolnosti voči narastajúcej dehydratácii.
- Pokles relatívneho obsahu vody vedie spolu s chemickou signalizáciou k zníženiu prieduchovej vodivosti listu.
- Rýchlosť asimilácie CO_2 počas postupnej dehydratácie klesala s genotypovými rozdielmi. Najrýchlejšie A_{CO_2} klesla na úroveň kompenzačného bodu v odrode Micuccio a Escobar. Pozitívna úroveň A_{CO_2} sa udržala počas dehydratačného cyklu v odrodách Nitran a Dobra.
- Efektívnosť využitia vody pre fotosyntézu (WUE) v počiatočnej fáze dehydratačného cyklu vo všetkých genotypoch narástla v dôsledku vyššej inhibície g_s . Tento výsledok potvrdzuje, že v prvých fázach dehydratácie bola fotosyntéza vo všetkých genotypoch limitovaná stomaticky.
- Limitovanie fotosyntetickej efektívnosti rastlín počas postupnej dehydratácie v období kvitnutia sa prejavilo do produkčných parametrov s genotypovými rozdielmi. Najintenzívnejšie sa sucho prejavilo v redukcii hmotnosti zrna v klase a poklese zberového indexu.
- Z jednotlivých odrôd sa v podmienkach experimentu ukázala ako suchu najodolnejšia odroda Nitran.

6 Použitá literatúra

1. ARCHER, M. D. - BARBER, J., 2004. *Molecular to global photosynthesis*. London: Imperial College Press, 2004. 788 p. ISBN 978-1-86094-256-3.
2. ATKIN, O. K. - MACHEREL, D., 2009. The crucial role of plant mitochondria in orchestrating drought tolerance. In *Annals of Botany*, vol. 103, 2009, p. 581-597.
3. BAYRAMOV, S. M. - BABAYEV, H. G. - KHALIGZADE, M. N. - GULIYEV, N. M. - RAINES, CH. A., 2010. Effect of water stress on protein content of some Calvin cycle enzymes in different wheat genotypes. In *Proceedings of ANAS*, vol. 65, 2010, p. 106-111.
4. BLANKENSHIP, E. R., 2002. *Molecular mechanisms of photosynthesis*. Blackwell Science Ltd., 2002, 321 p. ISBN 0-632-04321-0.
5. BOTA, J. - MEDRANO, H. - FLEXAS, J., 2004. Is photosynthesis limited by decreased Rubisco activity and RuBP content under progressive water stress? In *New phytologist*, vol. 162, 2004, p. 671-681.
6. BRESTIČ, M., 2001. Determinácia citlivých miest fotosyntézy počas dlhodobej dehydratácie rastlín. In *Journal of central european agriculture*, vol. 2, 2001, p. 217-226.
7. CORNIC, G. - MASSACCI, A., 1996. Leaf photosynthesis under drought stress. In *Neil R. Baker (ed): Photosynthesis and the Environment*, 1996, p. 347-366.
8. FALK, S. - MAXWELL D. P. - LAUDENBACH D. E. - HUNER N. P. A., 1996. In *Neil R. Baker (ed): Photosynthesis and the Environment*, 1996, p. 367-385.
9. FARQUHAR, G.D. - VON CAEMMERER, S.V. - BERRY, J.A., 1980. A biochemical model of photosynthesis CO₂ assimilation in leaves of C₃ species. In *Planta*, Vol. 149, 1980, p. 78-90.
10. FLEXAS, J. - BARÓN, M. - BOTA, J. - DUCRUET, J. - GALLÉ, A. - GALMÉS, J. - JIMÉNEZ, M. - POU, A. - RIBAS-CARBÓ, M. - SAJNANI, C. - TOMÁS, M. - MEDRANO, H., 2009. Photosynthesis limitations during water stress acclimation and recovery in the drought-adapted *Vitis* hybrid Richter-110 (*V. berlandieri* x *V. rupestris*). In *Journal of Experimental Botany*, vol. 60, 2009, p. 2361-2377.
11. FLEXAS, J. - BOTA, J. - GALMÉS, J. - MEDRANO, H. - RIBAS-CARBÓ, M., 2006. Keeping a positive carbon balance under adverse conditions: responses of photosynthesis and respiration to water stress. In *Physiologia Plantarum*, vol. 127, 2006, p. 343-352.

12. FLEXAS, J. - BOTA, J. - LORETO, F. - CORNIC, G. - SHARKEY, T. D., 2004. Diffusive and Metabolic Limitations to Photosynthesis under Drought and Salinity in C₃ Plants. In *Plant Biology*, vol. 6, 2004, p. 269-279.
13. FLEXAS, J. - RIBAS-CARBO M. - BOTA, J. - GALMÉS, J. - HENKLE, M. - MARTÍNEZ-CANELLAS, S. - MEDRANO, H., 2006. Decreased Rubisco activity during water stress is not induced by decreased relative water content but related to conditions of low stomatal conductance and chloroplast CO₂ concentration. In *New Phytologist*, vol. 172, 2006, p. 73-82.
14. FRESNEAU, C. - GHASHGHAIE, J. - CORNIC, G., 2007. Drought effect on nitrate reductase and sucrose-phosphate synthase activities in wheat (*Triticum durum* L.): role of leaf internal CO₂. In *Journal of Experimental Botany*, vol. 58, 2007, p. 2983-2992.
15. GALMÉS, J. - MEDRANO, H. - FLEXAS, J., 2006. Acclimation of Rubisco specificity factor to drought in tobacco: discrepancies between in vitro and in vivo estimations. In *Journal of Experimental Botany*, vol. 57, 2006, p. 3659-3667.
16. GALMÉS, J. - MEDRANO, H. - FLEXAS, J., 2007. Photosynthetic limitations in response to water stress and recovery in Mediterranean plants with different growth form. In *New phytologist*, vol. 175, 2007, p. 81-93.
17. GALMÉS, J. - RIBAS-CARBÓ, M. - MEDRANO, H. FLEXAS, J., 2011. Rubisco activity in Mediterranean species is regulated by the chloroplastic CO₂ concentration under water stress. In *Journal of experimental botany*, vol. 62, 2011, p. 653-665.
18. GONZÁLEZ, L. - GONZÁLZEZ-VILAR, M., 2003. Determination of Relative Water Content. In *Reigosa Roger (ed): Handbook of Plant Ecophysiology Techniques*, 2003, p. 207-212.
19. HAVAUX, M., 1992. Stress tolerance of photosystem II in vivo: Antagonistic effects of water, heat and photoinhibition stress. In *Plant Physiology*, vol. 100, 1992, p. 424-432.
20. HELD, H., 2004. *Plant biochemistry*. 3. vyd. Academic Press, 2004. 656 p. ISBN 978-01-208-8391-2
21. HIKOSAKA, K. - ISHIKAWA, K. - BORJIGIDAI, A. - MULLER, O. - ONODA, Y., 2006. Temperature acclimation of photosynthesis: mechanisms involved in the changes in temperature dependence of photosynthetic rate. In *Journal of experimental botany*, vol. 57, 2006, p. 291-302.

22. HUSEYNOVA, I. - SULEYMANOV, S. Y. - ALIYEV, J. A., 2007. Structural-functional state of thylakoid membranes of wheat genotypes under water stress. In *Biochimica et Biophysica Acta*, vol. 1767, 2007, p. 869-875.
23. CHAVES, M. - MAROCO, J. P. - PEREIRA, J.S., 2003. Understanding plant responses to drought - from genes to whole plant. In *Functional Plant Biology*, vol.30, 2003, p. 239-264.
24. CHAVES, M. M. - FLEXAS, J. - PINHEIRO, C., 2009. Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. In *Annals of Botany*, vol. 103, 2009, p. 551-560.
25. JALEEL, CH. A. - MANIVANNAN, P. - WAHID, A. - FAROOQ, M. - AL-JUBURI, H. J. - SOMASUNDARAM, R. - PANNEERSELVAM, R., 2009. Drought stress in plants: a review on morphological characteristics and pigment composition. In *International Journal of Agriculture & Biology*, vol. 11, 2009, p. 100-105.
26. KE, B., 2001. *Photosynthesis, Photobiochemistry and Photobiophysics*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 2001. 792 p. ISBN 0-7923-6334-5.
27. KEYVAN, S., 2010. The effects of drought stress on yield, relative water content, proline, soluble carbohydrates and chlorophyll of bread wheat cultivars. In *Journal of animal and plant sciences*, vol. 8, 2010, p. 1051-1060. ISSN 2071-7024.
28. KHAN, M. B. - HUSSAIN, N. - IQBAL, M., 2001. Effect of water stress on growth and yield components of maize variety YHS 202. In *Journal of research*, vol. 12, 2001, p. 15-18. ISSN 1021-1012.
29. KOŠŤÁL, L. - BOBÁK, M. - IKRÉNYI, I. - ĎURIŠOVÁ, Ľ., 2007. *Štruktúrálna botanika*. 4. upravené vyd. Nitra: SPU v Nitre, 2007. 156 s. ISBN 978-80-8069-876-8.
30. KOVÁR, M. - BRESTIČ, M. - OLŠOVSKÁ, K., 2003. Mechanizmy tolerancie jarného jačmeňa na sucho: Osmotické prispôsobenie a metódy jeho hodnotenia. In *Acta fytotechnica et zootechnica*, vol. 3, 2003, p. 76-81.
31. KOVÁR, M., 2003. *Integrované prístupy hodnotenia tolerancie jarného jačmeňa na sucho*: dizertačná práca. Nitra: SPU, 2003. 173 s.
32. LAWLOR, D. W. - CORNIC, G., 2002. Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants. In *Plant, Cell and Environment*, vol. 25, 2002, p. 275-294.

33. LAWLOR, D. W. - TEZARA, W., 2009. Causes of decreased photosynthetic rate and metabolic capacity in water-deficient leaf cells: a critical evaluation of mechanisms and integration of processes. In *Annals of botany*, vol. 103, 2009, p. 561-579.
34. LAWLOR, D. W., 2002. Limitation to Photosynthesis in Water-stressed Leaves: Stomata vs. Metabolism and the Role of ATP. In *Annals of Botany*, vol. 89, 2002, p. 871-885.
35. LAWLOR, D. W., 2009. Musing about the effects of environment on photosynthesis. In *Annals of botany*, vol. 103, 2009, p. 543-549.
36. LU, Z. - NEUMANN, P. M., 1998. Water-stressed maize, barley and rice seedlings show species diversity in mechanisms of leaf growth inhibition. In *Journal of experimental botany*, vol. 49, p. 1945-1952.
37. MAMNOUIE, E. - GHAZVINI, R. F. - ESFAHANY, M. - NAKHODA, B., 2006. The effects of water deficit on crop yield and the physiological characteristics of barley (*Hordeum vulgare L.*) varieties. In *J. Agric. Sci. Technol.*, vol. 8, 2006, p. 211-219.
38. MAVI, H. S. - TUPPER, G. J., 2004. *Agrometeorology: Principles and Applications of Climate Studies in Agriculture*. 1. vyd., CRC Press, 2004. 447 p. ISBN 1560229721.
39. MAXWELL, K. - JOHNSON, G. N., 2000. Chlorophyll fluorescence - a practical guide. In *Journal of experimental botany*, vol. 51, 2000, p. 659-668.
40. OLŠOVSKÁ, K. - BRESTIČ, M. - ŽIVČÁK, M. - KMEŤ, J., 2009. *Fyziológia a ekofyziológia rastlín : Systematický výkladový slovník*. 2. vyd. Nitra: SPU v Nitre, 2009. 160 s. ISBN 978-80-552-0288-4.
41. PAREEK, A. - SOPORY, S. K. - BOHNERT, H. J. - GOVINDJEE, 2010. *Abiotic Stress Adaptation in Plants: Physiological, Molecular and Genomic Foundation*. 1. vyd., Springer, 2010. 553 p. ISBN 978-9048131112.
42. PESSARAKLI, M. *et al.*, 2005. *Handbook of photosynthesis*. 2. vyd. CRC Press, 2005. 952 p. ISBN 978-08-247-5839-4
43. PINHEIRO, C. - CHAVES, M. M., 2010. Photosynthesis and drought: can we make metabolic connections from available data? In *Journal of experimental botany*, vol. 62, 2011, p. 869-882.
44. SAGE, R. F. - KUBIEN, D. S., 2007. The temperature response of C₃ and C₄ photosynthesis. In *Plant, Cell and Environment*, vol. 30, 2007, p. 1086-1106.

45. SONG, L. - CHOW, W. S. - SUN, L. - LI, CH. - PENG, CH., 2010. Acclimation of photosystem II to high temperature in two *Wedelia* species from different geographical origins: implications for biological invasions upon global warming. In *Journal of experimental botany*, vol. 61, 2010, p. 4087-4096.
46. STASIK, O. - JONES, H. G., 2007. Responses of photosynthetic apparatus to moderate high temperature in contrasting wheat cultivars at different oxygen concentrations. In *Journal of experimental botany*, vol. 58, 2007, p. 2133-2143.
47. STERN, K. R., 2003. *Introductory Plant Biology*. 9. vyd. McGraw-Hill Science, 2003. 640 p. ISBN 978-00-729-3038-2
48. ŠETLÍK, I. - SEIDLOVÁ, F. - ŠANTRŮČEK, J., 1998. *Fyziologie rostlin*. Dostupné na internete: <<http://kfr.prf.jcu.cz/?act=2>>
49. TAIZ, L. - ZEIGER, E., 2002. *Plant Physiology*. 3. vyd., Sinauer Associates, 2002. 690 p. ISBN 0878938230.
50. TEULAT, B. - ZOUMAROU-WALLIS, N. - ROTTER, B. - SALEM, B. M. - BAHRI, H. - THIS, D., 2003. QTL for relative water content in field-grown barley and their stability across Mediterranean environments. In *Theor Appl Genet*, vol. 108, 2003, p. 181-188.
51. VAEZI, B. - BAVEI, V. - SHIRAN, B., 2010. Screening of barley genotypes for drought tolerance by agro-physiological traits in field condition. In *African Journal of Agricultural Research*, vol. 5, 2010, p. 881-892. ISSN 1991-637X.
52. VERSLUES, P. E. - AGARWAL, M. - KATIYAR-AGARWAL, S. - ZHU, J., 2006. Methods and concepts in qualifying resistance to drought, salt and freezing, abiotic stresses that affect plant water status. In *The Plant Journal*, vol. 45, 2006, p. 523-539.
53. ZIMA, M. *et al.*, 2002. *Fyziológia rastlín*. 3. nezmenené vyd. Nitra: SPU v Nitre, 2002. 154 s. ISBN 80-8069-011-1.