

Univerzita Karlova v Praze

Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Speciální chemicko-biologické obory

Studijní obor: Molekulární biologie a biochemie organismů



Věra Hlavatá

Fotosyntetické parametry jako sekundární selekční znaky pro šlechtění rostlin
na odolnost vůči nadměrnému zasolení

Photosynthetic parameters as secondary selection traits during plant breeding
for salt stress tolerance

Bakalářská práce

Školitel: RNDr. Marie Kočová, CSc.

Praha, 2012

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 27.08.2012

Podpis

Poděkování

Ráda bych poděkovala své školitelce RNDr. Marii Kočové, CSc. za odborné vedení, cenné připomínky, trpělivost, ochotu a čas, který mi věnovala.

Abstrakt

Vysoká koncentrace solí v půdě patří mezi abiotické stresové faktory, které významnou měrou negativně ovlivňují růst a vývoj rostlin a v konečném důsledku jejich výnos. Zvýšená tolerance rostlin vůči tomuto stresoru je proto jedním z hlavních cílů šlechtitelských programů zejména v oblastech, kde je salinita nejvýznamnějším stresorem. Pro testování tolerance k zasolení je doporučována celá řada fyziologických znaků. Parametry spojené s fotosyntézou hrají nepochybně hlavní roli, protože fotosyntetický aparát reaguje na stresové podmínky velmi rychle. Obecně jsou pro testování tolerance vůči abiotickým stresorům z fotosyntetických parametrů doporučovány rychlost čisté fotosyntézy, obsah chlorofylu, fluorescence chlorofylu a některé další parametry. Všechny tyto parametry jsou využívány i pro testování reakce různých hospodářsky významných rostlin na stres nadměrným zasolením. Výhodou měření těchto charakteristik je rychlost, obvykle neinvazivní techniky měření a zejména možnost současného porovnání většího souboru genotypů. Přesto, že byly některé znaky doporučeny jako vhodné pro testování tolerance vůči stresu, výsledky nejsou jednoznačné. Cílem předložené práce bylo podat stručný přehled výsledků prací, zabývajících se studiem změn vybraných fotosyntetických parametrů v souvislosti se stresem v důsledku nadměrného zasolení a možností využití těchto znaků jako vhodných selekčních znaků pro spolehlivý odhad tolerance k tomuto stresovému faktoru.

Klíčová slova: stres, salinita, tolerance, fotosyntéza, obsah chlorofylu, fluorescence, selekční znaky

Abstract

High salt concentration is important abiotic stress factor that negatively affect plant growth and development and finally also their yield. Increase of plant tolerance to this stress factor is thus one of the most important goals in breeding programmes, particularly in areas with saline environment. Various physiological traits have been suggested for the testing of plant tolerance to improved salinity. Photosynthetic parameters play undoubtedly the main role, because of their rapid response to stress conditions. Generally, photosynthetic rate, chlorophyll content and chlorophyll fluorescence belong to the photosynthetic parameters, that are usually recommended for the evaluation of stress tolerance. All of them were also used for study of salt tolerance in crop plants. The advantages of these measurements are rapidity, non-invasive techniques and particularly, the possibility to test wide collection of genotypes during the short period. Although some of the parameters were recommended for the evaluation of stress tolerance, the results are still ambiguous. The aim of this study was to briefly describe the changes of selected photosynthetic parameters of different plant species in consequence of salt stress and assess the usefulness of these parameters for reliable screening for salt tolerance.

Keywords: stress, salinity, tolerance, photosynthesis, chlorophyll content, fluorescence, selection markers

Seznam zkratek

Φ_{PS2}	efektivní kvantový výtěžek přeměny energie v PSII
CI	index chlorofylu
E	rychlost transpirace
EC	elektrická konduktivita
F'_0	minimální fluorescence ve světelně adaptovaném stavu
F'_m	maximální fluorescence ve světelně adaptovaném stavu
F_0	minimální fluorescence
F_m	maximální fluorescence
F_m°	maximální fluorescence v temnotně adaptovaném stavu
F_s	fluorescence v ustáleném stavu
F_v/F_m	maximální kvantová účinnost PSII
g_s	vodivost průduchů
Chl a/b	poměr mezi chlorofylem a a chlorofylem b
Chl a	chlorofyl a
Chl $a+b$	celkový obsah chlorofylu
Chl b	chlorofyl b
NPQ	nefotochemické zhášení
P_N	rychlost čisté fotosyntézy
PSI	fotosystém I
PSII	fotosystém II
qN	nefotochemické zhášení
ROS	reaktivní kyslíkové druhy
TE	účinnost transpirace
WUE	efektivita využití vody

OBSAH

1. Úvod.....	1
2. Reakce rostlin na stres zasolením.....	3
2.1 Mechanismy tolerance	3
2.2 Hodnocení tolerance	4
2.3 Vliv zasolení na fotosyntézu	5
2.3.1 Obsah a zastoupení pigmentů.....	6
2.3.1.1. Celkový obsah chlorofylu (Chl $a+b$)	6
2.3.1.2. Obsah chlorofylu a (Chl a)	8
2.3.1.3. Obsah chlorofylu b (Chl b)	9
2.3.1.4. Poměr mezi chlorofylem a a chlorofylem b (Chl a/b)	10
2.3.2. Parametry fluorescence chlorofylu a	11
2.3.2.1. Maximální kvantová účinnost PSII (F_v/F_m).....	11
2.3.2.2. Nefotochemické zhášení (NPQ, q_N)	13
2.3.2.3. Efektivní kvantový výtěžek přeměny energie v PSII (Φ_{PS2}).....	14
2.3.3. Parametry měřené na základě výměny plynů.....	14
2.3.3.1. Rychlost čisté fotosyntézy (P_N)	15
2.3.3.2. Rychlost transpirace (E).....	16
2.3.3.3. Efektivita využití vody (WUE)	17
3. Závěr	23
4. Seznam použité literatury.....	24

1. ÚVOD

Abiotické stresové faktory negativně ovlivňují významné funkce rostlin a mohou vést v konečném důsledku k poškození jednotlivých orgánů a celé rostliny. Zasolení patří mezi hlavní abiotické stresory a negativně ovlivňuje růst, vývoj a produktivitu většiny rostlin (Sudhir a Murthy, 2004, Kafi a Goldani, 2001).

Rostliny jsou zásadním zdrojem potravy pro lidstvo i hospodářská zvířata. Se zvyšujícím se počtem obyvatel Země a rostoucí životní úrovní se zejména v posledních letech významně zvyšuje poptávka po potravinách. Stoupají rovněž nároky na krmiva pro hospodářská zvířata a potravinářskou a další průmyslovou výrobu, která je závislá na kvalitních hospodářsky významných plodinách a zejména na jejich výnosu. Z celosvětového pohledu je stále jednou z nejdůležitějších potřeb zajištění dostatečného množství potravy i v nejhudších oblastech. Celosvětová populace vzrostla v posledních čtyřech desetiletích o 90 %, zatímco produkce potravin se zvýšila pouze o 25% na osobu (Noreen *et al.*, 2010). Z odhadů a výpočtů vyplývá, že pro uspokojení požadavků současné populace na výživu je zcela nezbytné vyprodukovat o 39% více potravin (Noreen *et al.*, 2010). Zajištění zdrojů pro dostatečnou produkci potravin je tedy velkou výzvou současnosti i budoucnosti.

Nadměrné zasolení půdy je časté zejména v aridních a semi-aridních oblastech. Z celkových 14 miliard ha intenzivně obdělávané půdy na světě je téměř polovina v aridních a semi-aridních oblastech a 1 miliarda této plochy je půda zasolená (Foolad, 2004).

K zasolení půdy může dojít několika způsoby: 1) mírným zavlažováním vodou, která obsahuje velké množství soli, 2) nahromaděním solí v horní vrstvě půdy z důvodu nadměrného zavlažování, 3) blízkostí moře, 4) vzlínáním solí z podzemní vody do kořenové zóny díky nadměrnému odpařování (Gama *et al.*, 2007). Další příčinou může být vysoké odpařování, nevhodné obdělávání půdy (Foolad, 2004), rostoucí hladina vody, nedostatečný odtokový systém (Sadeghi a Nazemosadat, 2011) a nedostatečné srážky k vymytí nadbytečných rozpustných solí z kořenové zóny (Kumar, 1999).

Nejefektivnějším způsobem, jak se vypořádat s problémem zasolení, je pěstování tolerantních druhů a kultivarů hospodářsky významných rostlin využívaných v daných oblastech.

Pro získání tolerantních genotypů rostlin a jejich praktické využití je nutné znát reakce rostlin na působení konkrétního stresového faktoru a příčiny případných změn. Další

šlechtění perspektivních tolerantních genotypů s ohledem na výnos je zásadní pro uspokojení zvyšujících se požadavků a nároků na pěstování hospodářsky významných plodin.

Tolerance vůči stresovým faktorům je testována a posuzována na nejrůznějších úrovních rostlin. Abiotické stresové faktory ovlivňují různé procesy v rostlinách a reakce rostlin lze studovat od subcelulární úrovně až po úroveň celé rostliny. Často jsou sledovány změny morfologických, fyziologických, biochemických a molekulárně genetických parametrů rostlin, podle jejichž změn je posuzována míra tolerance k určitému stresovému faktoru se snahou najít snadno měřitelný parametr, který by poskytoval spolehlivý odhad citlivosti/tolerance vůči působení stresu.

Fotosyntéza patří mezi fyziologické procesy, které jsou abiotickými stresovými faktory, včetně zasolení, postiženy a je současně významným procesem ovlivňujícím růst a hospodářský výnos rostlin.

Předložená bakalářská práce je zaměřena na přehled výsledků studia fotosyntetických parametrů rostlin vystavených působení nadměrného zasolení a možnosti využití takových parametrů jako sekundárních selekčních znaků pro testování a odhad tolerance k tomuto stresovému faktoru.

Tyto parametry mohou být snadno měřitelné, umožňují zpracovat velké množství vzorků v poměrně krátkém čase a mohou být sledovány už v časně fázi vývoje rostlin. Znaky založené na měření fluorescence navíc umožňují neinvazivní měření, které umožňuje opakované měření v čase, aniž by byl ovlivněn další růst a vývoj dané rostliny. Proto by tyto znaky mohly být vhodné pro hodnocení stupně tolerance/citlivosti po vystavení stresu nadměrným zasolením. Předpokládá se, že u tolerantních kultivarů budou fotosyntetické parametry při stresu ovlivněny méně než u citlivých kultivarů.

Fotosyntetických parametrů je celá řada a každý má svá specifika. Cílem mé práce bylo zmapovat fotosyntetické parametry v reakci na stres zasolením a zhodnotit jejich použitelnost jako selekčních znaků pro hodnocení tolerance k zasolení, potřebných při šlechtění odolných kultivarů rostlin.

2. REAKCE ROSTLIN NA STRES ZASOLENÍM

Rostliny pěstované na zasolených půdách musí čelit hned několika stresovým faktorům - osmotickému stresu, iontovému stresu, oxidativnímu stresu - a jejich důsledkům (Munns, 2002; Munns, 2006; Verslues *et al.*, 2010; Ashraf a Ashraf, 2012). Nižší vodní potenciál půdy způsobený nahromaděním solí snižuje dostupnost vody pro kořeny (Munns, 2002; Parida a Das, 2005; Munns, 2006) a rostliny omezují růst, počet chloroplastů, rychlost fotosyntézy a dochází k předčasné senescenci listů a tím ke snížení asimilační plochy. Rostliny vystavené stresu zasolením jsou náchylnější k účinkům vyšší ozáření v důsledku zvýšeného množství ROS (Parida a Das, 2005).

NaCl, snadno rozpustný ve vodě, je nejvýznamnější složkou zasoleného prostředí. Rostliny přijímají a hromadí ionty Na^+ a Cl^- prostřednictvím transpiračního toku (Munns, 2006) v koncentracích, které mohou být pro rostlinu toxické. Transport je pasivním procesem a závisí na gradientu iontů a na přítomnosti propustných kanálů v membráně. Odlišná propustnost kanálů pro různé ionty vede současně k poklesu obsahu iontů Ca^{2+} , K^+ a Mg^{2+} , jejichž přítomnost ve fyziologických koncentracích je pro rostliny životně důležitá (Parida a Das, 2005). Hromadění toxických iontů v listech způsobuje jejich poškození a může vést k předčasné senescenci (Munns, 2002). Rostliny ukládají toxické ionty do vakuoly a při dalším nadbytku dochází k jejich rychlému hromadění v cytoplasmě, což vede k negativnímu ovlivnění až inhibici enzymatických aktivit buňky. Ionty se mohou zabudovávat i do buněčné stěny, což může vést k dehydrataci buněk (Munns a Passioura, 1984). Zasolení tak ovlivňuje růst a vývoj rostlin ve dvou fázích: 1) osmotický stres, který má stejný dopad jako stres suchem, 2) později se přidá iontový stres, jak se v listech hromadí nadměrné množství iontů, které vede až k předčasné senescenci (Munns, 2002). Zvýšení odolnosti vůči suchu zvyšuje odolnost rostlin i vůči zasolení. Nicméně tolerance vůči zasolení závisí i na regulaci příjmu a lokalizaci iontů uvnitř buněk (Munns, 2002).

2.1 Mechanismy tolerance

Rostliny vyvinuly různé strategie, kterými se mohou bránit nepříznivým důsledkům vlivu nadměrného zasolení prostředí.

Tyto strategie zahrnují:

- 1) selektivní akumulaci nebo vyloučení iontů,
- 2) kontrolu příjmu iontů kořeny a transport do listů,
- 3) kompartmentalizaci iontů na buněčné úrovni a na úrovni celé rostliny,
- 4) syntézu kompatibilních nízkomolekulárních organických látek, chránících struktury a funkce rostlin,
- 5) změny struktury a funkce fotosyntetického aparátu,
- 6) změny ve struktuře membrán,
- 7) aktivace antioxidantních enzymů a
- 8) aktivace rostlinných hormonů (Parida a Das, 2005).

Podle Munns (2002) se rostliny tolerantní k zasolení liší od citlivých nižší rychlostí transportu Na^+ a Cl^- do listů a schopností lokalizovat tyto ionty ve vakuole, aby se předešlo hromadění iontů v cytoplazmě nebo buněčné stěně. Rostlina se tak vyhne toxickému efektu NaCl.

Munns a Tester (2008) považují za nejdůležitější mechanismy tolerance k zasolení:

- 1) toleranci k osmotickému stresu (ta je účinná pouze při dostatečné dodávce vody)
- 2) vyloučení iontů Na^+ z listové čepele a
- 3) tkáňovou toleranci založenou na schopnosti kompartmentalizace, čímž se zabrání toxické koncentraci iontů v cytoplazmě.

2.2 Hodnocení tolerance

Míra tolerance k zasolení je obvykle hodnocena prostřednictvím procent produkce biomasy po určité době působení stresu zasolením oproti produkci biomasy v nestresovém prostředí (Munns, 2002). U vytrvalých rostlin může být hodnocena i jako míra přežití, ale pro jednoleté rostliny je účelnější hodnotit rychlost produkce biomasy, která většinou koreluje s hodnotami výnosu. (Munns, 2002).

Pro hodnocení vhodnosti různých parametrů jako selekčních kritérií pro toleranci k zasolení použil Ulfat *et al.* (2007) vztah hodnot fyziologických znaků a sušiny za použití lineární regrese, z níž lze odhadnout stupeň genetické variability pro daný parametr.

Existence vnitrodruhové variability je pro studium tolerance rostlin k nadměrnému zasolení významná a je zásadní pro výběr perspektivních genotypů pro další šlechtění na

vyšší odolnost vůči stresoru (Shahbaz *et al.*, 2011). Při posuzování vhodnosti konkrétních parametrů pro odhad tolerance rostlin vůči stresovým faktorům jsou porovnávány jejich reakce na stres a to jak u kultivarů s neznámou tolerancí, tak u kultivarů, které jsou charakterizovány jako tolerantní a citlivé na základě jiných testovaných parametrů.

2.3 Vliv zasolení na fotosyntézu

Je obecně známo, že fotosyntetický aparát reaguje velmi rychle na většinu stresových faktorů, kterým mohou být rostliny vystaveny. Z tohoto důvodu jsou fotosyntetické parametry používány jako potenciální selekční znaky pro hodnocení tolerance ke stresovým faktorům včetně zasolení.

Nadměrné zasolení vede u mnoha druhů rostlin k poklesu fotosyntézy, jejíž účinnost záleží na účinnosti primárních fotochemických procesů, na enzymech zapojených do asimilace uhlíku, na struktuře fotosyntetického aparátu a na transportu fotosyntetických meziproduktů mezi buněčnými kompartmenty (Parida a Das, 2005). Fotosyntéza je v zasoleném prostředí inhibována jednak snížením vodivosti průduchů a s tím spojeným poklesem koncentrace CO₂ v buňkách (Brugnoli a Björkman, 1992), jednak poklesem v obsahu fotosyntetických pigmentů (Kolchevskii *et al.*, 1995). Kafi (2009) považuje vodivost průduchů za hlavní faktor limitující fotosyntézu během zasolení. Zavření průduchů je důsledkem sníženého příjmu iontů K⁺ a následného poklesu tlaku ve svěracích buňkách (Shahid *et al.*, 2011), dále pak důsledkem zvýšené koncentrace kyseliny abscisové (Ashraf, 2004).

Aktivita PSII je více citlivá na vystavení abiotickým stresům včetně zasolení než PSI (Havaux, 1992; Tiwari *et al.*, 1997).

Rostliny vystavené zasolení jsou náchylnější k fotoinhibici způsobené vyšším ozářením, když se sníží rychlost fotosyntézy v důsledku produkce ROS (Parida a Das, 2005). ROS přímo inaktivují reakční centrum PSII nebo brání syntéze proteinů *de novo* a tím inhibují opravu PSII, který byl poškozen přímým efektem světla na komplex uvolňující kyslík (Murata *et al.*, 2007). Allakhverdiev *et al.* (2002) pozorovali u *Synechocystis*, že nadměrná ozářenost vyvolá poškození PSII a stres zasolením pouze inhibuje opravu PSII poškozeného nadměrnou ozářeností, ale neurychluje poškození přímo. Větší fotoinhibiční poškození pak vede k degradaci proteinů tylakoidních membrán (Mittal *et al.*, 2012)

2.3.1 Obsah a zastoupení pigmentů

Fotosyntetické pigmenty - chlorofyl *a* (Chl *a*) a chlorofyl *b* (Chl *b*) mají u vyšších rostlin nezastupitelnou roli v oxidaci vody, elektronovém transportu, karotenoidy mají zásadní význam ve světlosběrných komplexech fotosystémů a navíc mají klíčovou funkci v ochraně rostlin proti ROS.

Množství chlorofylu se stanovuje destruktivně, extrakcí předem stanovené plochy/hmotnosti listů v acetonu nebo jiné extrakční látce (Arnon, 1949; Hiscox a Isrealstam, 1979; Lichtenthaler, 1987; Welburn, 1994) nebo nedestruktivně, *in situ*, optickými metodami založenými na odrazivosti listů (Richardson *et al.*, 2002; Gitelson *et al.*, 2003).

Množství fotosyntetických pigmentů je závislé na rovnováze mezi syntézou a degradací v metabolismu chloroplastů (Sun *et al.*, 2010) a pokles v obsahu chlorofylu po vystavení stresu zasolením naznačuje buď zpomalení syntézy anebo urychlení degradace pigmentů (Misra *et al.*, 1997).

Akumulace ROS v chloroplastech při zasolení vede ke snížení aktivity porphobilinogendeaminasy, což inhibuje přeměnu porphobilinogenu na uroporphyrinogen III a následnou biosyntézu chlorofylu (Sun *et al.*, 2010). Pokles v obsahu chlorofylu v důsledku zasolení je připisován také poklesu v endogenním obsahu kyseliny 5-aminolevulové, prekursoru chlorofylu (Santos, 2004). Santos (2004) u slunečnice (*Helianthus annuus* L.) zjistil, že stres zasolením ovlivňuje mnohem více syntézu chlorofylu než jeho degradaci prostřednictvím chlorofylasy.

2.3.1.1. Celkový obsah chlorofylu (Chl *a+b*)

Stres zasolením způsobil pokles celkového obsahu Chl *a+b* u rýže (Lutts *et al.*, 1996; Singh *et al.*, 2007; Cha-um *et al.*, 2009; Siringam *et al.*, 2009), hořčice (Mittal *et al.*, 2012), pšenice (Zheng *et al.*, 2009; Ashraf a Ashraf, 2012), hrachu (Shahid *et al.*, 2011), ovsa (Zhao *et al.*, 2007), prosa (Sabir *et al.*, 2009), morušovníku (Kumar *et al.*, 1999) a rajčete (Dogan *et al.*, 2010).

Změny v celkovém obsahu fotosyntetických pigmentů však vykazují značnou vnitrodruhovou variabilitu.

Např. u pšenice (*Triticum aestivum* L.) způsobil stress zasolením pokles celkového obsahu chlorofylu u citlivého (JN17) i tolerantního (DK961) kultivaru, ale pokles u DK961 byl nižší než u JN17. Při 50 a 100 mM NaCl byl obsah chlorofylu u DK961 o 8, resp. o 22% vyšší než u JN17. Významný pokles obsahu chlorofylu u tolerantního kultivaru byl zjištěn až při 150 mM NaCl, nicméně obsah chlorofylu byl stále o 7% vyšší než u citlivého kultivaru při stejné koncentraci soli (Zheng *et al.*, 2009). Vyšší pokles celkového obsahu chlorofylu u citlivých kultivarů než u tolerantních byl zjištěn a potvrzen i u hořčice (Mittal *et al.*, 2012), pšenice (Ashraf a Ashraf, 2012), rýže (Lutts *et al.*, 1996; Singh *et al.*, 2007; Cha-um *et al.*, 2009; Siringam *et al.*, 2009) a rajčete (Dogan *et al.*, 2010).

Přestože ve většině prací byl pozorován pokles celkového obsahu chlorofylu v souvislosti s nadměrným zasolením, jsou i práce, v nichž byly zjištěny opačné výsledky. Např. Kafi (2009) pozoroval u citlivých i tolerantních kultivarů pšenice (*Triticum aestivum* L.) nárůst obsahu chlorofylu se zvyšujícím se zasolením nad 50 mol m⁻³ NaCl, ale rozdíly mezi 100, 150 a 200 mol m⁻³ NaCl nebyly statisticky průkazné. Podle autora může nárůst obsahu chlorofylu souviset s pozitivním efektem zasolení na tloušťku listu, což v konečném důsledku vede k vyššímu obsahu chlorofylu na jednotku listové plochy. Nárůst v obsahu chlorofylu při zasolení pozorovali také Misra *et al.* (1997) u tolerantního kultivaru rýže (*Oryza sativa* L.) Damodar u 15ti i 25ti denních semenáčků, zatímco u citlivého kultivaru Jaya došlo u 15ti denních semenáčků k poklesu a u 25ti denních k nárůstu obsahu chlorofylu. Nárůst vysvětluje autor zvýšením počtu chloroplastů ve stresovaných listech.

Shahid *et al.* (2011) zjistili u hrachu (*Pisum sativum* L.) vystaveného nadměrnému zasolení pozitivní korelaci mezi celkovým obsahem chlorofylu a produkcí biomasy a uvádějí, že obsah chlorofylu lze považovat za užitečný selekční nástroj pro toleranci k zasolení.

Podle Lutts *et al.* (1996) může být množství chlorofylu ve stresovaných tkáních interpretováno jako jeden z možných indexů tkáňové tolerance k NaCl a Dogan *et al.* (2010) také považují množství chlorofylu jako možný identifikátor tolerance k zasolení.

Wanichananan *et al.* (2003) doporučují jako rychlou metodu pro selekci linií rýže (*Oryza sativa* L.) tolerantních k zasolení stanovení indexu chlorofylu (poměr v obsahu chlorofylu po 8 dnech ošetření vztažený k obsahu chlorofylu před ošetřením, CI). Za tolerantní považovali rostliny s indexem CI větším než 1,0.

2.3.1.2. Obsah chlorofylu *a* (Chl *a*)

Změny v celkovém obsahu chlorofylu v podmínkách nadměrného zasolení jsou ve většině případů shodné se změnami chlorofylu *a* a *b*. Spíše výjimečně je míra změny u obou chlorofylů odlišná.

V důsledku zasolení klesá obsah chlorofylu *a* u rýže (Lutts *et al.*, 1996; Singh *et al.*, 2007; Siringam *et al.*, 2009; Cha-um *et al.*, 2009), hořčice (Mittal *et al.*, 2012), světlice (Siddiqi *et al.*, 2009), hrachu (Shahid *et al.*, 2011) a tuřínu (Noreen *et al.*, 2010) a stejně jako u celkového obsahu chlorofylu je pokles výraznější u citlivých genotypů ve srovnání s tolerantními u hořčice (Mittal *et al.*, 2012) a rýže (Singh *et al.*, 2007; Cha-um *et al.*, 2009; Siringam *et al.*, 2009).

Např. u citlivého genotypu rýže (*Oryza sativa* L. *spp. indica*) PT1 klesl v důsledku stresu nadměrným zasolením (85,5; 171,0; 256,5 a 346 mM NaCl) obsah chlorofylu *a* o 22,9 – 58,9%, zatímco u tolerantního genotypu HJ o 18,75 – 33,43% (Siringham *et al.*, 2009).

U tuřínu (*Brassica rapa* L.) poklesly hodnoty Chl *a* i Chl *b* v závislosti na vystavení stresu zasolením, ale nebyl nalezen pozitivní vztah Chl *a* ani Chl *b* s růstem, tudíž je jasné, že variabilita kultivarů tuřínu k toleranci k zasolení nebyla spojena s obsahem chlorofylů (Noreen *et al.*, 2010).

Stres zasolením (120 mM NaCl po dobu 3 týdnů) způsobil pokles obsahu Chl *a* u 18 genotypů prosa (*Panicum miliaceum* L.) a tento pokles byl v souladu s mírou tolerance k zasolení u jednotlivých genotypů, proto může být Chl *a* u prosa spojován s tolerancí k zasolení (Sabir *et al.*, 2009). Podobně Shahid *et al.* (2011) považují Chl *a* za užitečný selekční nástroj pro toleranci k zasolení.

Naproti tomu Kafi (2009) sledoval u pšenice (*Triticum aestivum* L.) stejně jako u celkového obsahu chlorofylu nárůst v obsahu Chl *a*. A Shahbaz *et al.* (2011) nepozorovali u různých kultivarů slunečnice (*Helianthus annuus* L.) žádnou významnou změnu v obsahu Chl *a* (ani v obsahu Chl *b* a poměru Chl *a/b*) v souvislosti s nadměrným zasolením a nedoporučují tento parametr jako vhodný pro posouzení tolerance ke stresu zasolením.

2.3.1.3. Obsah chlorofylu *b* (Chl *b*)

Jak již bylo uvedeno výše, změny obsahu jednotlivých chlorofylů v důsledku nadměrného zasolení nemusejí být zcela shodné a různé druhy rostlin, popřípadě různé genotypy mohou vykazovat více nebo méně odlišné reakce. Bylo například publikováno, že Chl *a* je méně citlivý nebo lépe chráněný proti stresu zasolením než Chl *b* u hrachu (*Pisum sativum* L.) (Shahid *et al.*, 2011). K podobným závěrům dospěli rovněž Mittal *et al.* (2012) u hořčice (*Brassica juncea* L.), kteří zjistili, že se obsah Chl *a* mění se zasolením méně výrazně než obsah Chl *b*.

Většinou však rostliny reagují na stresové podmínky v podstatě shodně a změny obsahu chlorofylu *a* odpovídají změnám obsahu chlorofylu *b*. To bylo zjištěno a opakovaně potvrzeno u mnoha rostlinných druhů a u mnoha stresorů včetně nadměrného zasolení (Singh *et al.*, 2007; Shahid *et al.*, 2011; Mittal *et al.*, 2012).

Stres zasolením vede k poklesu obsahu Chl *b* u rýže (Singh *et al.*, 2007; Siringam *et al.*, 2009; Cha-um *et al.*, 2009), hořčice (Mittal *et al.*, 2012), světlice (Siddiqi *et al.*, 2009), hrachu (Shahid *et al.*, 2011), tuřínu (Noreen *et al.*, 2010) a prosa (Sabir *et al.*, 2009).

Citlivé kultivary vykazovaly v porovnání s tolerantními kultivary větší pokles při vystavení zasolení u hořčice (Mittal *et al.*, 2012) a rýže (Singh *et al.*, 2007; Siringam *et al.*, 2009; Cha-um *et al.*, 2009).

Zajímavé výsledky publikovali Singh *et al.* (2007) u různě citlivých kultivarů rýže (*Oryza sativa* L.). Pozorovali, že u kultivaru CSR-30, který byl vyhodnocený jako středně tolerantní k zasolení, klesl obsah chlorofylu *b* při míře zasolení vyjádřené elektrickou konduktivitou EC: 6 dSm⁻¹, ale při 12 dSm⁻¹ se naopak zvýšil oproti kontrole o 7%. U tolerantního kultivaru Pokkali i u citlivého HBC-19 klesá obsah Chl *b* při 6 i 12 dSm⁻¹. Podle autorů je větší množství chlorofylu *b* u CSR-30 známkou menšího poškození způsobeného zasolením.

Možnost využití stanovení obsahu chlorofylu *b* jako vhodného selekčního znaku pro testování tolerance k nadměrnému zasolení je stejně jako v případě obsahu chlorofylu *a* diskutována v mnoha pracích a výsledky nejsou jednoznačné. Shahbaz *et al.* (2011) nepozorovali u slunečnice (*Helianthus annuus* L.) při zasolení žádnou změnu v obsahu Chl *b*. Noreen *et al.* (2009) zjistili, že variabilita kultivarů tuřínu (*Brassica rapa* L.) k toleranci k zasolení nebyla spojena s obsahem Chl *b* a Kafi (2009) pozoroval u pšenice (*Triticum*

aestivum L.) nárůst v obsahu Chl *b* shodný s nárůstem celkového obsahu chlorofylu, ale nepovažuje Chl *b* za limitující faktor fotosyntézy a za vhodný selekční znak. Naopak Shahid *et al.* (2011) považují Chl *b* za užitečný selekční nástroj pro toleranci k zasolení.

2.3.1.4. Poměr mezi chlorofylem *a* a chlorofylem *b* (Chl *a/b*)

Další parametr, který se často využívá pro charakterizování stavu fotosyntetického aparátu a obsahu chlorofylu je poměr Chl *a/b*. Tento parametr informuje o stavu a velikosti světlosběrných antén fotosystémů a nepřímo o možné účinnosti světlosběrných komplexů.

Poměr se mění v závislosti na změnách obsahu obou chlorofylů. Pokud je míra změny pro Chl *a* a Chl *b* odlišná, tato skutečnost se projeví výrazně na změně poměru Chl *a/b*.

Například u hořčice (*Brassica juncea* L.) klesá obsah Chl *a* i Chl *b* v důsledku stresu zasolením, ale pokles Chl *a* je méně výrazný (9% u Bio902, 20% u Urvashi při 200 mM NaCl) než Chl *b* (38% u Bio902, 52% u Urvashi při 200 mM NaCl) a v důsledku toho roste podíl obou pigmentů (Mittal *et al.*, 2012). K podobným výsledkům dospěli rovněž Misra *et al.* (1997) u rýže (*Oryza sativa* L.). U pšenice (*Triticum aestivum* L.) došlo k poklesu Chl *a/b*, ale až při vyšším zasolení (Kafi, 2009). U pšenice (*Triticum aestivum* L.) (Ashraf a Ashraf, 2012) a u ova (*Avena sativa* L.) (Sabir *et al.*, 2009) byla reakce na stres zasolením variabilní. Naproti tomu u světlice (*Carthamus tinctories* L.) se Chl *a/b* u 8 linií zvýšil a u 2 snížil (Siddiqi *et al.*, 2009). U rýže (*Oryza sativa* L.) došlo nejdříve k poklesu a při delším vystavení stresu zasolením k nárůstu Chl *a/b*, což bylo způsobeno zpožděným poklesem v obsahu Chl *b* oproti Chl *a* (Lutts *et al.*, 1996). U slunečnice (*Helianthus annuus* L.) (Shahbaz *et al.*, 2011) a tuřínu (*Brassica rapa* L.) (Noreen *et al.*, 2010) nedošlo k žádné změně.

Citlivé a tolerantní genotypy reagují na stres zasolením obvykle odlišně a poměr Chl *a/b* opět závisí na míře změny jednotlivých chlorofylů v závislosti na genotypu.

Misra *et al.* (1997) pozorovali u tolerantního kultivaru rýže (*Oryza sativa* L.) Damodar menší nárůst Chl *a/b* než u citlivého kultivaru Jaya. Mittal *et al.* (2012) zjistili naopak u tolerantního kultivaru hořčice (*Brassica juncea* L.) Bio902 větší nárůst Chl *a/b* než u citlivého kultivaru Urvashi. Zjištěné výsledky však autoři nediskutovali.

U pšenice (*Triticum aestivum* L.) roste významně poměr Chl *a/b* během vegetativní fáze vývoje při 50 a 100 mM NaCl u citlivého (MH-97) i tolerantního (S-24) kultivaru. Ve fázi, kdy

se objevuje praporcový list roste poměr Chl *a/b* pouze u citlivého MH-97 při 50 mM NaCl, zatímco u tolerantního S-24 poměr klesá. V reprodukčním stádiu se u citlivého kultivaru poměr již nezměnil bez ohledu na koncentraci NaCl, zatímco u tolerantního kultivaru konzistentně klesal. Při vyšších koncentracích NaCl (100, 150 mM) dochází většinou již k poklesu Chl *a/b* u všech vývojových stádií. Změny v Chl *a/b* v různých růstových stádiích jsou přisuzovány nerovnoměrné degradaci chlorofylu *a* a *b* při zasolení (Ashraf a Ashraf, 2012).

2.3.2. Parametry fluorescence chlorofylu *a*

Fluorescence je emise elektromagnetického záření při přechodu elektronu mezi dvěma stavy ve fotosyntéze a následuje po absorpci záření molekulami chlorofylu *a*. S pomocí fluorescenčních parametrů lze nedestruktivně studovat stav a účinnost fotosyntetického aparátu. Fluorescence chlorofylu slouží jako odraz primárních reakcí fotosyntézy (Sayed, 2003).

Absorbované světlo se v rostlinách využije k fixování CO₂ ve fotosyntéze nebo se vyzáří ve formě tepla nebo fluorescence. Jelikož jsou tyto tři procesy navzájem propojené, můžeme z hodnot fluorescence chlorofylu získat informace o výkonu fotosyntézy a vyzáření tepla (Maxwell a Johnson, 2000).

Výhody stanovení fluorescenčních parametrů jsou zejména rychlost měření a nedestruktivní postup. Je možné měřit celou škálu fluorescenčních parametrů, které nám dávají cenné informace o funkčnosti fotosyntetického aparátu.

2.3.2.1. Maximální kvantová účinnost PSII (F_v/F_m)

Vypočítá se jako:

$F_v/F_m = (F_m - F_0)/F_m$; F_m značí maximální fluorescenci a F_0 minimální fluorescenci (Maxwell a Johnson, 2000).

F_v/F_m odráží potenciální/maximální kvantovou účinnost PSII a používá se jako citlivý indikátor výkonu fotosyntézy s optimálními hodnotami okolo 0,83 (Maxwell a Johnson, 2000). Rostliny ovlivněné stresem např. v důsledku fotoinhibice vykazují nižší hodnoty (Maxwell a Johnson, 2000). Tento parametr se tedy s výhodou používá k monitorování změn v důsledku působení stresových faktorů, protože lze získat okamžitou informaci o stavu

fotosyntetického aparátu a celé rostliny a měření lze provádět průběžně bez jakéhokoliv poškození listového pletiva, které navozuje další stres, který lze jen stěží specifikovat.

Maximální účinnost fotosystému II vyjádřená parametrem F_v/F_m se po vystavení stresu zasolením snižuje například u rýže (Lutts *et al.*, 1996; Tiwari *et al.*, 1997; Cha-um *et al.*, 2009; Siringam *et al.*, 2009) a pšenice (Kafi, 2009; Kanwal *et al.*, 2011; Ashraf a Ashraf, 2012). Při porovnání předem známých tolerantních a citlivých kultivarů vůči stresu zasolením byl u obou těchto druhů pozorován menší pokles u tolerantních kultivarů než u citlivých (Lutts *et al.*, 1996; Tiwari *et al.*, 1997; Cha-um *et al.*, 2009; Ashraf a Ashraf, 2012).

Kafi (2009) u 3 kultivarů pšenice (*Triticum aestivum* L.) s odlišnou tolerancí k zasolení pozoroval, že s postupně se zvyšující koncentrací NaCl (100, 200 a 300 mol m⁻³ NaCl a CaCl₂ 5:1) se postupně snižují i hodnoty F_v/F_m , ale nebyl zjištěn žádný rozdíl mezi kontrolou (5 mol m⁻³ NaCl) a 100 mol m⁻³ NaCl. U téměř všech úrovní zasolení (100, 200 mol m⁻³ NaCl) měl tolerantní kultivar pšenice Kharchia nejvyšší, zatímco tolerantní CR nejnižší F_v/F_m . Hodnoty u citlivého kultivaru Ghods se pohybovaly v průměru hodnot obou tolerantních kultivarů. Hodnoty F_v/F_m však byly relativně vysoké (0,83-0,86) u kontrol i při zasolení (100, 200, 300 mol m⁻³ NaCl).

Nicméně, ani výsledky studia změn fluorescence u různých druhů rostlin u citlivých a tolerantních genotypů nejsou zcela jednoznačné. Např. Siringam *et al.* (2009) pozorovali překvapivě větší pokles F_v/F_m u tolerantního kultivaru rýže (*Oryza sativa* L. *spp. indica*) HJ než u citlivého PT1.

Podobně Doinisio-Sese a Tobita (2000) zjistili, že se hodnoty F_v/F_m u rostlin rýže (*Oryza sativa* L.) vystavených zvýšené hladině solí (6, 12 dSm⁻¹) významně neliší od kontrolních rostlin, pěstovaných v optimálních podmínkách i když čistý přírůstek sušiny (hodnocený parametrem P_N) byl značně redukován.

Podle Lutts *et al.* (1996) se parametr F_v/F_m nezdá být spolehlivým znakem pro časnou identifikaci genotypů citlivých k zasolení, protože významný rozdíl byl mezi různě citlivými kultivary rýže (*Oryza sativa* L.) zaznamenán až po déle trvajícím stresu (déle než 18 dní).

Naproti tomu u pšenice (*Triticum aestivum* L.) se hodnoty F_v/F_m při stresu zasolením výrazně snížily (Kanwal *et al.*, 2011) a autoři uvádějí, že měřením tohoto parametru by bylo možné snadno rozlišit citlivé a tolerantní kultivary.

2.3.2.2. Nefotochemické zhášení (NPQ, qN)

Parametry NPQ a qN charakterizují nefotochemické zhášení, tj. podíl energie vyzářené ve formě tepla. Parametr qN je využíván méně často, protože nezahrnuje zcela všechny komponenty nefotochemického zhášení. Nabývá hodnot 0–1 a není citlivý na změny ve zhášení při vyšších hodnotách. Hodnoty, kterých může dosahovat parametr NPQ nejsou shora omezené a mohou se pohybovat na škále 0–nekonečno, typicky mezi 0,5–3,5 při saturačním ozáření (Maxwell a Johnson, 2000).

NPQ se počítá jako: $NPQ = (F_m^{\circ} - F'_m) / F'_m$; kde F_m° je maximální fluorescence v temnotně adaptovaném stavu a F'_m značí maximální fluorescenci v listech adaptovaných na světlo (Maxwell a Johnson, 2000). Belkhdja *et al.*, (1999) počítali NPQ jako: $NPQ = (F_m / F'_m) - 1$. qN se vypočte jako: $qN = 1 - (F'_m - F'_0) / (F_m - F_0)$ (Doinisio-Sese a Tobita, 2000; Moradi a Ismail, 2007).

Nefotochemické zhášení reaguje na stres poměrně variabilně. Hodnoty NPQ se po vystavení rostlin stresu zasolením zvýšily u pšenice (*Triticum aestivum* L.) (Ashraf a Ashraf, 2012) a rýže (*Oryza sativa* L. *spp. indica*) (Cha-um *et al.*, 2009). Pokles byl naopak popsán v jiných pracích rovněž u pšenice (*Triticum aestivum* L.) (Abdeshahian *et al.*, 2010) a rýže (*Oryza sativa* L. *spp. indica*) (Siringam *et al.*, 2009). Hodnoty qN se v důsledku stresu zvýšily u rýže (*Oryza sativa* L.) (Doinisio-Sese a Tobita, 2000; Moradi a Ismail, 2007).

Pokud jde o rozdíly mezi citlivými a tolerantními kultivary, hodnoty NPQ se významně zvýšily jak u citlivého (MH-97), tak tolerantního (S-24) kultivaru pšenice (*Triticum aestivum* L.) pěstovaných v podmínkách nadměrného zasolení, a to v průběhu všech vývojových stádií, ale nárůst hodnot byl překvapivě výraznější u tolerantního kultivaru (Ashraf a Ashraf, 2012).

Pokles hodnot NPQ při zasolení pozorovaný u rýže (*Oryza sativa* L. *spp. indica*) byl výraznější u citlivého kultivaru rýže (PT1) než u tolerantního (HJ) (Siringam *et al.*, 2009). Cha-um *et al.* (2009), kteří u stejných kultivarů rýže (*Oryza sativa* L. *spp. indica*) popsali naopak zvýšení hodnot NPQ, pozorovali u PT1 větší nárůst NPQ než u HJ.

Doinisio-Sese a Tobita (2000) pozorovali při zasolení (60, 120mmol/L NaCl) nárůst qN u citlivých kultivarů rýže (*Oryza sativa* L.) Hitomebore, IR28 a Bankat, zatímco u tolerantního Pukkali nepozorovali při zasolení žádnou změnu.

Moradi a Ismail (2007) sice popsali u různých kultivarů rýže (*Oryza sativa* L.) nárůst hodnot qN v důsledku zasolení, ale nezjistili při zasolení žádné významné rozdíly mezi kultivary.

Z uvedeného stručného přehledu je patrné, že pro NPQ a qN nejsou výsledky jednoznačné a to jak mezi různými rostlinnými druhy, tak v rámci druhu.

2.3.2.3. Efektivní kvantový výtěžek přeměny energie v PSII (Φ_{PS2})

Tento parametr vyjadřuje podíl světla absorbovaného molekulami chlorofylu v PSII, který se využije ve fotochemické reakci (Maxwell a Johnson, 2000).

Je definován jako $\Phi_{PS2} = (F'_m - F_s)/F'_m$; kde F'_m je maximální fluorescence v listech adaptovaných na světlo a F_s fluorescence v ustáleném stavu (Belkhdja *et al.*, 1999; Maxwell a Johnson, 2000; Moradi a Ismail, 2007).

U rýže (Misra *et al.*, 1997; Tiwari *et al.*, 1997; Cha-um *et al.*, 2009; Siringam *et al.*, 2009) a pšenice (Abdeshahian *et al.*, 2010) došlo při zasolení k poklesu Φ_{PS2} , který byl u rýže (*Oryza sativa* L.) výraznější u citlivých než u tolerantních kultivarů (Tiwari *et al.*, 1997; Cha-um *et al.*, 2009).

Naopak Siringam *et al.* (2009) zjistil při zasolení větší pokles u tolerantního kultivaru rýže (*Oryza sativa* L. *spp. indica*) HJ než u citlivého PT1, což je opět v rozporu s výsledky Cha-um *et al.* (2009) získanými u stejných kultivarů rýže (*Oryza sativa* L. *spp. indica*). Efektivní kvantový výtěžek Φ_{PS2} vykazoval pozitivní korelaci s množstvím sušiny u HJ ($r^2 = 0,86$) i u PT1 ($r^2 = 0,67$) (Siringam *et al.*, 2009).

U ječmene (*Hordeum vulgare* L.) nebyl pozorován signifikantní pokles Φ_{PS2} při 8 ani při 15 dSm^{-1} hodnotách zasolení a autoři proto nepovažují Φ_{PS2} za účelný nástroj pro hodnocení genotypů ječmene (*Hordeum vulgare* L.) k testování toleranci k zasolení (Belkhdja *et al.*, 1999).

2.3.3. Parametry měřené na základě výměny plynů

V rostlině dochází k několika paralelním jevům ovlivňujícím výměnu plynů s okolím. Při fotosyntéze se spotřebovává CO_2 a uvolňuje O_2 . Současně probíhá respirace a fotorespirace, při nichž se O_2 spotřebovává a uvolňuje CO_2 .

2.3.3.1. Rychlost čisté fotosyntézy (P_N)

P_N vyjadřuje bilanci množství CO_2 zabudovaného ve fotosyntéze, a uvolněného při respiraci a fotorespiraci za určitý čas vztážené na jednotku listové plochy. Rychlost čisté fotosyntézy je ovlivněna celou řadou vnitřních a vnějších faktorů mezi něž patří i vystavení rostlin stresovým faktorům, včetně stresu nadměrným zasolením.

Po vystavení rostlin zasolení byl pozorován pokles hodnot P_N u rýže (Tiwari *et al.*, 1997; Doinisio-Sese a Tobita, 2000; Moradi a Ismail, 2007; Singh *et al.*, 2007; Cha-um *et al.*, 2009), pšenice (Ashraf a Shahbaz, 2003; Kafi, 2009; Zheng *et al.*, 2009; Abdesahian *et al.*, 2010; Kanwal *et al.*, 2011; Sadeghi a Nazemosadat, 2011; Ashraf a Ashraf, 2012), ječmene (Belkhodja *et al.*, 1999; Jiang *et al.*, 2006), ovsu (Zhao *et al.*, 2007), řepky (Ulfat *et al.*, 2007), světlice (Siddiqi *et al.*, 2009), slunečnice (Shahbaz *et al.*, 2011), hrachu (Shahid *et al.*, 2011), tuřínu (Noreen *et al.*, 2010), fazole (Gama *et al.*, 2007) a morušovníku (Kumar *et al.*, 1999).

Větší pokles P_N při zasolení u citlivých kultivarů než u tolerantních byl zaznamenán u pšenice (Zheng *et al.*, 2009; Sadeghi a Nazemosadat, 2011; Ashraf a Ashraf, 2012), rýže (Doinisio-Sese a Tobita, 2000; Singh *et al.*, 2007; Cha-um *et al.*, 2009) a morušovníku (Kumar *et al.*, 1999).

Tiwari *et al.* (1997) pozorovali významný pokles P_N i u tolerantních kultivarů rýže (*Oryza sativa* L.), ale až při hodnotách zasolení 200 mM NaCl a Zheng *et al.* (2009) u tolerantního kultivaru pšenice (*Triticum aestivum* L.) DK961 až při 150 mM NaCl.

Kafi (2009) neprokázal mezi genotypy pšenice (*Triticum aestivum* L.) žádné významné rozdíly v hodnotách P_N v závislosti na zvýšeném zasolení.

Ulfat *et al.* (2007) považují P_N za nejvhodnější kritérium pro selekci kultivarů odolných k zasolení u řepky (*Brassica napus* L.) přestože jako vhodné označili i další parametry měřené na základě výměny plynů, E a WUE. Pozitivní korelace byla zjištěna mezi hodnotami P_N a specifickou hmotností suché biomasy u hrachu (*Pisum sativum* L.) (Shahid *et al.*, 2011), tuřínu (*Brassica rapa* L.) (Noreen *et al.*, 2010) a světlice (*Carthamus tinctories* L.) (Siddiqi *et al.*, 2009). P_N vykazovala rovněž pozitivní korelaci se specifickou hmotností čerstvé biomasy u mnohoštetu (*Aegilops tauschii* L.) se změnou na 1D chromozómu (Afzaal *et al.*, 2006). Z výsledků je patrné, že P_N přímo a nepřímo souvisí s výnosem a biomasou (Afzaal *et al.*, 2006). Proto Belkhodja *et al.* (1999), Zhao *et al.* (2007), Siddiqi *et al.* (2009), Noreen *et al.*

(2010) spolu s Shahid *et al.* (2011) považují rychlost čisté fotosyntézy za vhodné selekční kritérium pro hodnocení tolerance k zasolení.

Shahbaz *et al.* (2011) nezjistili u osmi kultivarů slunečnice (*Helianthus annuus* L.), s výjimkou Hysun-38, pozitivní korelaci mezi nárůstem biomasy a P_N . Proto P_N nedoporučují jako účinné selekční kritérium pro toleranci k zasolení u tohoto rostlinného druhu.

K obdobným výsledkům dospěli Ashraf a Shabanaz (2003) u pšenice (*Triticum aestivum* L.), kteří nepozorovali průkaznou korelaci mezi hodnotami P_N a obsahem sušiny ani výnosem a nepozorovali u studovaných genotypů pšenice korelaci P_N s tolerancí k zasolení.

Podle Ashraf (2004) je rychlost fotosyntézy použitelná jako selekční kritérium pouze u druhů, u kterých je za stresových podmínek přímý vztah mezi fotosyntézou a růstem.

Podle Kafi (2009) by se při měření a významu parametru P_N pro odhad tolerance k zasolení měla brát v úvahu i metoda výpočtu P_N , čas měření v rámci dne, délka vystavení zasolení, úroveň zasolení, míra ozáření a růstové stádium. Sadeghi a Nazemosadat (2011) pozorovali změnu v P_N v průběhu dne. Mezi 8 a 12 hodinou hodnota P_N vzrůstala díky zvyšující se ozářenosti a mezi 12 a 14 hodinou klesla vzhledem ke zvyšující se teplotě, transpiraci a uzavřenosti průduchů.

Vodivost průduchů (g_s) je primárním faktorem limitujícím fotosyntézu i při stresu zasolením (Netondo *et al.*, 2004). Významnou korelaci mezi P_N a g_s pozorovali Belkhodja *et al.* (1999) ($r = 0,99$), Kafi (2009) ($r = 0,98$), Doinisio-Sese a Tobita (2000) ($r = 0,91-0,77$). Podobný průběh změn u P_N a g_s zaznamenali také Gama *et al.* (2007) a Shahid *et al.* (2011). P_N není limitována pouze vodivostí průduchů. Po 7 dnech zasolení (6 a 12 dSm^{-1}) klesly hodnoty P_N u semenáčků rýže (*Oryza sativa* L.) o 18 a 35%, přestože g_s klesla mnohem výrazněji (o 58 a 74%) (Moradi a Ismail, 2007).

Byla pozorována pozitivní korelace mezi Chl *a*, Chl *b* a P_N ($r = 0,61$; $r = 0,81$), což naznačuje, že snížení rychlosti asimilace CO_2 při zasolení může být částečně způsobeno poklesem v obsahu chlorofylů (Siddiqi *et al.*, 2009).

2.3.3.2. Rychlost transpirace (E)

E udává množství CO_2 vytranspirované za určitý čas vztažené na jednotku listové plochy. Podobně jako jiné fotosyntetické parametry je i rychlost transpirace ovlivněna zejména působením stresových faktorů včetně nadměrného zasolení.

V podmínkách zvýšené salinity byl opakovaně potvrzen pokles rychlosti transpirace u pšenice (Ashraf a Shabanaz, 2003; Kanwal *et al.*, 2011; Sadeghi a Nazemosadat, 2011; Ashraf a Ashraf, 2012) mnohoštětu (Afzaal *et al.*, 2006), rýže (Moradi a Ismail, 2007; Cha-um *et al.*, 2009), řepky (Ulfat *et al.*, 2007), světlice (Siddiqi *et al.*, 2009), slunečnice (Shahbaz *et al.*, 2011), hrachu (Shahid *et al.*, 2011), ječmene (Belkhodja *et al.*, 1999), tuřínu (Noreen *et al.*, 2010), fazole (Gama *et al.*, 2007) a morušovníku (Kumar *et al.*, 1999).

U tolerantních kultivarů došlo po vystavení stresu zasolením k menšímu poklesu E než u citlivých kultivarů u pšenice (Sadeghi a Nazemosadat, 2011; Ashraf a Ashraf, 2012), rýže (Moradi a Ismail, 2007; Cha-um *et al.*, 2009) a morušovníku (Kumar *et al.*, 1999).

U slunečnice (*Helianthus annuus* L.) došlo po vystavení zasolení k poklesu rychlosti transpirace a byly zjištěny statisticky průkazné rozdíly mezi studovanými kultivary (Shahbaz *et al.*, 2011).

Pokud byly současně studovány i korelační vztahy s výnosovými parametry, byly opět zjištěny rozdílné výsledky. Afzaal *et al.* (2006) zjistili u mnohoštětu (*Aegilops tauschii* L.) průkaznou pozitivní korelaci s celkovou hmotností čerstvé biomasy ($r = 0,773$), ovšem pouze u rostlin pěstovaných v optimálních podmínkách bez zasolení. Korelaci s výnosem zrna nezjistili. Zdá se, že E může přímo či nepřímo souviset s výnosem a celkovou hmotností biomasy (Afzaal *et al.*, 2006). Také Siddiqi *et al.* (2009) pozorovali u světlice (*Carthamus tinctorius* L.) pozitivní korelaci E s hmotností suché biomasy nadzemních částí rostlin i kořenů ($r = 0,66$; $r = 0,60$). Podle Ulfat *et al.* (2007) může být i parametr rychlosti transpirace E použit jako selekční kritérium pro hodnocení tolerance na stres zasolením.

2.3.3.3. Efektivita využití vody (WUE)

Vyjadřuje množství vytvořené biomasy na jednotku spotřebované vody. Označuje se i jako účinnost transpirace TE. Vypočítá se jako poměr P_N/E . Podobně jako u ostatních výše uvedených parametrů nejsou ani v případě studia změn WUE v souvislosti se zasolením výsledky zcela jednoznačné.

Pokles hodnot WUE v důsledku zasolení byl popsán např. u pšenice (Ashraf a Shahbaz, 2003; Kanwal *et al.*, 2011; Ashraf a Ashraf, 2012), světlice (Siddiqi *et al.*, 2009), tuřínu (Noreen *et al.*, 2010) a slunečnice (Shahbaz *et al.*, 2011). Naproti tomu u ječmene (Jiang *et al.*, 2006) se při zasolení WUE naopak zvýšila.

U devíti linií světlic (*Carthamus tinctories* L.) došlo při zasolení (150mM NaCl) k poklesu WUE, zatímco pouze v jedné ze studovaných linií nebyla při zasolení pozorována téměř žádná změna. Byla však zjištěna pozitivní korelace WUE s produkcí biomasy (Siddiqi *et al.*, 2009).

WUE se snížila v reakci na stres zasolením u obou kultivarů pšenice (*Triticum aestivum* L.) (tolerantní S-24, citlivý MH-97), ale změna WUE byla značně variabilní v závislosti na růstovému stádiu, ve kterém byl parametr měřen (Ashraf a Ashraf, 2012).

U všech kultivarů ječmene (*Hordeum vulgare* L.) WUE při zasolení vzrostla, ale nebyly pozorovány žádné rozdíly mezi kultivary. Ačkoli se hodnoty P_N i E lišily, jejich variabilita byla stejná a v hodnotách WUE se rozdíly neprojeví (Jiang *et al.*, 2006).

Nicméně podle Ulfat *et al.* (2007) může být i tento parametr použit jako selekční kritérium pro hodnocení tolerance na stres zasolením.

Změny vybraných fotosyntetických parametrů u různých rostlinných druhů v důsledku stresu zasolením a vnitrodruhová variabilita v hodnotách těchto parametrů jsou uvedeny v Tab. 1.

Změny vybraných fotosyntetických parametrů a reakce citlivých a tolerantních kultivarů/genotypů na vystavení stresu nadměrným zasolením jsou uvedeny v Tab. 2

Tab. 1 Změny vybraných fotosyntetických parametrů u různých druhů rostlin v důsledku stresu zasolením a vnitrodruhová variabilita

rostlinný druh	počet kultivarů	Chl a+b	vnitrodruhová variabilita	Chl a	vnitrodruhová variabilita	Chl b	vnitrodruhová variabilita	Chl a/b	vnitrodruhová variabilita	F _v /F _m	vnitrodruhová variabilita	citace
<i>Avena sativa</i> L.	2	pokles										Zhao <i>et al.</i> , 2007
<i>Brassica juncea</i> L.	2	pokles	ano	pokles	ano	pokles	ano	nárůst	ano			Mittal <i>et al.</i> , 2012
<i>Brassica napus</i> L.	34											Ulfat <i>et al.</i> , 2007
<i>Brassica rapa</i> L.	5			pokles	ano	pokles	ano	nezměněn	ne			Noreen <i>et al.</i> , 2010
<i>Carthamus tinctorius</i> L.	10			pokles	ano	pokles	ano	variabilní	ano			Siddiqi <i>et al.</i> , 2009
<i>Helianthus annuus</i> L.	8			nezměněn	ano	nezměněn	ano	nezměněn	ne			Shahbaz <i>et al.</i> , 2011
<i>Hordeum vulgare</i> L.	4									nezměněn	ne	Belkhodja <i>et al.</i> , 1999
<i>Hordeum vulgare</i> L.	14											Jiang <i>et al.</i> , 2006
<i>Morus alba</i> L.	2	pokles	ano									Kumar <i>et al.</i> , 1999
<i>Oryza sativa</i> L.	4											Doinisio-Sese a Tobita, 2000
<i>Oryza sativa</i> L. spp. indica	2	pokles	ano	pokles	ano	pokles	ano			pokles	ano	Cha-um <i>et al.</i> , 2009
<i>Oryza sativa</i> L.	5	pokles	ano	pokles		nezměněn, pokles	ne	variabilní		pokles	ano	Lutts <i>et al.</i> , 1996
<i>Oryza sativa</i> L.	2	pokles, nárůst						nárůst	ano			Misra <i>et al.</i> , 1997
<i>Oryza sativa</i> L.	3											Moradi a Ismail, 2007
<i>Oryza sativa</i> L.	3	pokles	ano	pokles	ano	pokles	ano					Singh <i>et al.</i> , 2007
<i>Oryza sativa</i> L. spp. indica	2	pokles	ano	pokles	ano	pokles	ano			pokles	ano	Siringam <i>et al.</i> , 2009
<i>Oryza sativa</i> L.	4									pokles	ano	Tiwari <i>et al.</i> , 1997
<i>Panicum miliaceum</i> L.	18	pokles	ano			pokles	ano	variabilní	ano			Sabir <i>et al.</i> , 2009
<i>Phaseolus vulgaris</i> L.	5											Gama <i>et al.</i> , 2007
<i>Pisum sativum</i> L.	10	pokles	ano	pokles	ano	pokles	ano					Shahid <i>et al.</i> , 2011
<i>Triticum aestivum</i> L.	2	pokles	ano					variabilní		pokles	ano	Ashraf a Ashraf, 2012
<i>Triticum aestivum</i> L.	25											Ashraf a Shabanaz, 2003
<i>Triticum aestivum</i> L.	3	nárůst	ano	nárůst		nárůst		nezměněn, pokles		nezměněn, pokles	ano	Kafi, 2009
<i>Triticum aestivum</i> L.	10									pokles	ano	Kanwal <i>et al.</i> , 2011
<i>Triticum aestivum</i> L.	2											Sadeghi a Nazemosadat, 2011
<i>Triticum aestivum</i> L.	2	pokles	ano									Zheng <i>et al.</i> , 2009

Tab. 1 Pokračování

rostlinný druh	počet kultivarů	NPQ	vnitrodruhová variabilita	Φ_{PS2}	vnitrodruhová variabilita	P_N	vnitrodruhová variabilita	E	vnitrodruhová variabilita	WUE	vnitrodruhová variabilita	citace
<i>Avena sativa</i> L.	2					pokles	ano					Zhao <i>et al.</i> , 2007
<i>Brassica juncea</i> L.	2											Mittal <i>et al.</i> , 2012
<i>Brassica napus</i> L.	34					pokles	ano	pokles	ano	variabilní	ano	Ulfat <i>et al.</i> , 2007
<i>Brassica rapa</i> L.	5					pokles	ano	pokles	ano	pokles	ano	Noreen <i>et al.</i> , 2010
<i>Carthamus tinctorius</i> L.	10					pokles	ano	pokles	ano	nezměněn, pokles	ano	Siddiqi <i>et al.</i> , 2009
<i>Helianthus annuus</i> L.	8					pokles	ano	pokles	ano	pokles	ano	Shahbaz <i>et al.</i> , 2011
<i>Hordeum vulgare</i> L.	4			nezměněn		pokles	ano	pokles	ano			Belkhodja <i>et al.</i> , 1999
<i>Hordeum vulgare</i> L.	14					pokles	ano		ano	nárůst	ne	Jiang <i>et al.</i> , 2006
<i>Morus alba</i> L.	2					pokles	ano	pokles	ne			Kumar <i>et al.</i> , 1999
<i>Oryza sativa</i> L.	4	nezměněn, nárůst	ano			pokles	ano					Doinisio-Sese a Tobita, 2000
<i>Oryza sativa</i> L. <i>spp. indica</i>	2	nárůst	ano	pokles	ano	pokles	ano	pokles	ano			Cha-um <i>et al.</i> , 2009
<i>Oryza sativa</i> L.	5											Lutts <i>et al.</i> , 1996
<i>Oryza sativa</i> L.	2			pokles	ano							Misra <i>et al.</i> , 1997
<i>Oryza sativa</i> L.	3	nárůst	ne			pokles	ano	pokles	ano			Moradi a Ismail, 2007
<i>Oryza sativa</i> L.	3					pokles	ano					Singh <i>et al.</i> , 2007
<i>Oryza sativa</i> L. <i>spp. indica</i>	2	pokles	ano	pokles	ano							Siringam <i>et al.</i> , 2009
<i>Oryza sativa</i> L.	4			pokles	ano	pokles	ano					Tiwari <i>et al.</i> , 1997
<i>Panicum miliaceum</i> L.	18											Sabir <i>et al.</i> , 2009
<i>Phaseolus vulgaris</i> L.	5					pokles	ano	pokles	ano			Gama <i>et al.</i> , 2007
<i>Pisum sativum</i> L.	10					pokles	ano	pokles	ano			Shahid <i>et al.</i> , 2011
<i>Triticum aestivum</i> L.	2	nárůst	ano			pokles	ano	pokles	ano	pokles	ano	Ashraf a Ashraf, 2012
<i>Triticum aestivum</i> L.	25					pokles	ano	pokles	ano	pokles	ano	Ashraf a Shabanaz, 2003
<i>Triticum aestivum</i> L.	3					pokles	ne					Kafi, 2009
<i>Triticum aestivum</i> L.	10					pokles	ano	pokles	ano	pokles	ano	Kanwal <i>et al.</i> , 2011
<i>Triticum aestivum</i> L.	2					pokles	ano	pokles	ano			Sadeghi a Nazemosadat, 2011
<i>Triticum aestivum</i> L.	2					nezměněn, pokles	ano					Zheng <i>et al.</i> , 2009

Tab. 2 Změny vybraných fotosyntetických parametrů u různých druhů rostlin a reakce citlivých (S) a tolerantních (T) kultivarů/genotypů na vystavení stresu nadměrným zasolením

rostlinný druh	kultivar	S	T	Chl a+b	změna	Chl a	změna	Chl b	změna	Chl a/b	změna	F _v /F _m	změna	citace
<i>Brassica juncea</i> L.	Urvashi	x		pokles	větší	pokles	větší	pokles	větší	nárůst	menší			Mittal <i>et al.</i> , 2012
	Bio902		x	pokles	menší	pokles	menší	pokles	menší	nárůst	větší			
<i>Morus alba</i> L.	S1		x	pokles	menší									Kumar <i>et al.</i> , 1999
	ATP	x		pokles	větší									
<i>Oryza sativa</i> L.	Hitomebore	x										nezměněn	stejný	Doinisio-Sese a Tobita, 2000
	IR28	x										nezměněn	stejný	
	Bankat	x										nezměněn	stejný	
	Pokkali		x									nezměněn	stejný	
<i>Oryza sativa</i> L. spp. <i>indica</i>	HJ		x	pokles	menší	pokles	menší	pokles	menší			pokles	menší	Cha-um <i>et al.</i> , 2009
	PT1	x		pokles	větší	pokles	větší	pokles	větší			pokles	větší	
<i>Oryza sativa</i> L.	IKP	x		pokles	střední	pokles		pokles		pokles, nárůst		pokles	větší	Lutts <i>et al.</i> , 1996
	IR 31785	x		pokles	větší	pokles		pokles		pokles, nárůst		pokles	větší	
	Nona Bokra		x	pokles	menší	pokles		pokles		pokles, nárůst		pokles	menší	
	IR 4630	x		pokles	nejmenší	pokles		pokles		pokles, nárůst		pokles	menší	
Aiwu			pokles	střední	pokles		pokles		pokles, nárůst		pokles	větší		
<i>Oryza sativa</i> L.	Damodar		x	nárůst						nárůst	menší			Misra <i>et al.</i> , 1997
	Jaya	x		pokles, nárůst						nárůst	větší			
<i>Oryza sativa</i> L.	IR651		x											Moradi a Ismail, 2007
	IR632		x											
	IR29	x												
<i>Oryza sativa</i> L.	Pokkali		x	pokles	menší	pokles	menší	pokles	menší					Singh <i>et al.</i> , 2007
	CSR-30			pokles	menší	pokles	menší	pokles, nárůst						
	HBC-19	x		pokles	větší	pokles	větší	pokles	větší					
<i>Oryza sativa</i> L. spp. <i>indica</i>	HJ		x	pokles	menší	pokles	menší	pokles	menší			pokles	větší	Siringam <i>et al.</i> , 2009
	PT1	x		pokles	větší	pokles	větší	pokles	větší			pokles	menší	
<i>Oryza sativa</i> L.	Nona Bokra		x									pokles	menší	Tiwari <i>et al.</i> , 1997
	Pokkali		x									pokles	menší	
	IR 29	x										pokles	větší	
	IR 8	x										pokles	větší	
<i>Triticum aestivum</i> L.	S-24		x	pokles	menší					variabilní		pokles	menší	Ashraf a Ashraf, 2012
	MH-97	x		pokles	větší					variabilní		pokles	větší	
<i>Triticum aestivum</i> L.	CR		x	nárůst	menší	nárůst		nárůst		nezměněn, pokles		nezměněn, pokles	největší	Kafi, 2009
	Kharchia-65		x	nárůst	menší	nárůst		nárůst		nezměněn, pokles		nezměněn, pokles	nejmenší	
	Ghods	x		nárůst	větší	nárůst		nárůst		nezměněn, pokles		nezměněn, pokles	střední	
<i>Triticum aestivum</i> L.	Kavir		x											Sadeghi a Nazemosadat, 2011
	Shiraz	x												
<i>Triticum aestivum</i> L.	DK961		x	pokles	menší									Zheng <i>et al.</i> , 2009
	JN17	x		pokles	větší									

Tab. 2 Pokračování

rostlinný druh	kultivar	S	T	NPQ, qN	změna	Φ_{PS2}	změna	P_N	změna	E	změna	WUE	změna	citace
<i>Brassica juncea</i> L.	Urvashi	x												Mittal <i>et al.</i> , 2012
	Bio902		x											
<i>Morus alba</i> L.	S1		x					pokles	menší	pokles	stejný			Kumar <i>et al.</i> , 1999
	ATP	x						pokles	větší	pokles	stejný			
<i>Oryza sativa</i> L.	Hitomebore	x		nárůst	větší			pokles	větší					Doinisio-Sese a Tobita, 2000
	IR28	x		nárůst	větší			pokles	větší					
	Bankat	x		nárůst	větší			pokles	větší					
	Pokkali		x	nezměněn	stejný			pokles	menší					
<i>Oryza sativa</i> L. spp. <i>indica</i>	HJ		x	nárůst	menší	pokles	menší	pokles	menší	pokles	menší			Cha-um <i>et al.</i> , 2009
	PT1	x		nárůst	větší	pokles	větší	pokles	větší	pokles	větší			
<i>Oryza sativa</i> L.	IKP	x												Lutts <i>et al.</i> , 1996
	IR 31785	x												
	Nona Bokra		x											
	IR 4630		x											
<i>Oryza sativa</i> L.	Aiwu													Misra <i>et al.</i> , 1997
	Damodar		x											
<i>Oryza sativa</i> L.	Jaya	x												Moradi a Ismail, 2007
	IR651		x	nárůst	stejný	nezměněn	stejný	pokles	menší	pokles	menší			
IR632		x		nárůst	stejný	nezměněn	stejný	pokles	větší	pokles	menší			
<i>Oryza sativa</i> L.	IR29	x		nárůst	stejný	nezměněn	stejný	pokles	střední	pokles	větší			Singh <i>et al.</i> , 2007
	Pokkali		x					pokles	menší					
	CSR-30							pokles	menší					
<i>Oryza sativa</i> L. spp. <i>indica</i>	HBC-19	x						pokles	větší					Siringam <i>et al.</i> , 2009
	HJ		x	pokles	menší	pokles	větší							
<i>Oryza sativa</i> L.	PT1	x		pokles	větší	pokles	menší							Tiwari <i>et al.</i> , 1997
	Nona Bokra		x			pokles	menší	nezměněn, pokles	menší					
	Pokkali		x			pokles	menší	nezměněn, pokles	menší					
	IR 29	x				pokles	větší	pokles	větší					
<i>Triticum aestivum</i> L.	IR 8	x				pokles	větší	pokles	větší					Ashraf a Ashraf, 2012
	S-24		x	nárůst	větší			pokles	menší	pokles	menší	pokles	variabilní	
<i>Triticum aestivum</i> L.	MH-97	x		nárůst	menší			pokles	větší	pokles	větší	pokles	variabilní	Kafi, 2009
	CR		x					pokles	stejný					
	Kharchia-65		x					pokles	stejný					
<i>Triticum aestivum</i> L.	Ghods	x						pokles	stejný					Sadeghi a Nazemosadat, 2011
	Kavir		x					pokles	menší	pokles	menší			
<i>Triticum aestivum</i> L.	Shiraz	x						pokles	větší	pokles	větší			Zheng <i>et al.</i> , 2009
	DK961		x					nezměněn, pokles	menší					
JN17	x							pokles	větší					

3. ZÁVĚR

Z uvedené práce je patrné, že reakce fotosyntetických parametrů na zvýšené množství soli v půdě nejsou jednoznačné a liší se jak mezi různými druhy, tak v rámci stejného druhu. Byly publikovány i práce, v nichž různí autoři dospěli ke zcela protichůdným výsledkům dokonce u stejných kultivarů. Přestože v řadě prací byly vybrané fotosyntetické parametry doporučeny jako vhodné selekční znaky pro odhad a testování tolerance vůči stresu nadměrným zasolením, nepanuje ani v tomto ohledu shoda. Rozdílné výsledky mohou souviset s odlišnými experimentálními podmínkami a prvotním výběrem tolerantních a citlivých kultivarů v těch experimentech, kde byla citlivost kultivarů předem, podle jiných kritérií stanovena. V případě přímo rozporných výsledků získaných u týchž kultivarů lze pouze polemizovat o odlišném uspořádání pokusů a podmínkách měření vybraných parametrů, o homogenitě a genetické stálosti použitých kultivarů. Žádný ze sledovaných parametrů nelze doporučit jako jednoznačný selekční znak pro šlechtění rostlin na odolnost vůči stresu nadměrným zasolením. I přesto, že výsledky studií, zaměřených na spolehlivé testování tolerance vůči stresu zasolením nejsou jednoznačné, byl ve fotosyntetických parametrech pozorovaný jako častější trend spíše pokles hodnot. Lze je proto využít alespoň k primárnímu a rychlému testování a předběžnému výběru potenciálně vhodných kultivarů, které budou podrobeny dalšímu testování. Rychlost čisté fotosyntézy se zdá být v tomto ohledu nejvhodnějším parametrem, což dobře odpovídá významu fotosyntézy jako jednoho z nejvýznamnějších funkčních procesů rostlin. Nicméně, i přesto, že byly některé z fotosyntetických parametrů doporučeny jako potenciální selekční znaky pro testování tolerance vůči stresu suchem, jejich obecné využití ve šlechtitelských programech je stále omezeno. Najít spolehlivé, snadno měřitelné selekční znaky pro testování tolerance vůči stresu nadměrným zasolením tedy stále zůstává nedořešeným problémem.

4. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

Abdeshahian, M., M. Nabipour and M. Meskarbashee (2010) "*Chlorophyll Fluorescence as Criterion for the Diagnosis Salt Stress in Wheat (Triticum aestivum) Plants.*" International Journal of Chemical and Biological Engineering 4:184-186.

Afzaal, M., S. Farooq, M. Akram, F. Naz, R. Arshad and A. Bano (2006). "*Differences in agronomic and physiological performance of various wheat genotypes grown under saline conditions.*" Pakistan Journal of Botany 38(5): 1745-1750.

Allakhverdiev, S. I., Y. Nishiyama, S. Miyairi, H. Yamamoto, N. Inagaki, Y. Kanesaki and N. Murata (2002) "*Salt Stress Inhibits the Repair of Photodamaged Photosystem II by Suppressing the Transcription and Translation of psbA Genes in Synechocystis.*" Plant Physiology 130(3):1443-1453.

Arnon, D. I. (1949) "*Cooper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in beta vulgaris.*" Plant Physiol. 24(1):1-15.

Ashraf, M. (2004). "*Some important physiological selection criteria for salt tolerance in plants.*" Flora 199(5): 361-376.

Ashraf, M. A. and M. Ashraf (2012). "*Salt-Induced Variation in Some Potential Physiochemical Attributes of Two Genetically Diverse Spring Wheat (Triticum Aestivum L.) Cultivars: Photosynthesis and Photosystem II Efficiency.*" Pakistan Journal of Botany 44(1): 53-64.

Ashraf, M. and M. Shahbaz (2003) "*Assessment of Genotypic Variation in Salt Tolerance of early CIMMYT Hexaploid Wheat Germplasm Using Photosynthetic Capacity and Water Relations as Selection Criteria.*" Photosynthetica 41(2):273-280.

Belkhodja, R., F. Morales, A. Abadia, H. Medrano and J. Abadia (1999). "*Effects of salinity on chlorophyll fluorescence and photosynthesis of barley (Hordeum vulgare L.) grown under a triple-line-source sprinkler system in the field.*" Photosynthetica 36(3): 375-387.

Brugnoli, E. and O. Björkman (1992) "*Growth of cotton under continuous salinity stress: influence on allocation pattern, stomatal and non-stomatal components of photosynthesis and dissipation of excess light energy.*" Planta 187(3):335-347.

Dionisio-Sese, M. L. and S. Tobita (2000). "*Effects of salinity on sodium content and photosynthetic responses of rice seedlings differing in salt tolerance.*" Journal of Plant Physiology 157(1): 54-58.

Dogan, M., R. Tipirdamaz and Y. Demir (2010) "*Salt resistance of tomato species grown in sand culture.*" Plant Soil Environ 56(11):499-507.

Foolad, M. R. (2004). "Recent Advances in Genetics of Salt Tolerance in Tomato." *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 76(2): 101-119.

Gama, P. B. S., S. Inanaga, K. Tanaka and R. Nakazawa (2007). "Physiological response of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seedlings to salinity stress." *African Journal of Biotechnology* 6(2): 79-88.

Gitelson, A. A., Gritz, Y. and Merzlyak, M. N. (2003). "Relationships between leaf chlorophyll content and spectral reflectance and algorithms for non-destructive chlorophyll assessment in higher plant leaves." *J Plant Physiol* 160(3): 271-282.

Havaux, M. (1992). "Stress Tolerance of Photosystem II in Vivo: Antagonistic Effects of Water, Heat, and Photoinhibition Stresses." *Plant Physiol* 100(1): 424-432.

Hiscox, J.D. and G.F. Israelstam (1979) "Method for extraction of chlorophyll from leaf tissue without maceration." *Canadian Journal of Botany Revue* 57(12):1332-1334.

Cha-um, S., A. Charoenpanich, S. Roytrakul and C. Kirdmanee (2009). "Sugar accumulation, photosynthesis and growth of two indica rice varieties in response to salt stress." *Acta Physiologiae Plantarum* 31(3): 477-486.

Jiang, Q. Z., D. Roche, T. A. Monaco and S. Durham (2006). "Gas exchange, chlorophyll fluorescence parameters and carbon isotope discrimination of 14 barley genetic lines in response to salinity." *Field Crops Research* 96(2-3): 269-278.

Kafi, M. (2009). "The Effects of Salinity and Light on Photosynthesis, Respiration and Chlorophyll fluorescence in Salt-tolerant and Salt-sensitive Wheat (*Triticum aestivum* L.) Cultivars." *Journal of Agricultural Science and Technology* 11(5): 535-547.

Kafi, F. M. and M. Goldani (2001). " Effects of water potential and type of gsmoticum on seed germination of free crop species of beat, sugarbeet, and chikpea. " *Agricultural sciences and technology* 15(1):121-133.

Kanwal, H., M. Ashraf and M. Shahbaz (2011). "Assessment of Salt Tolerance of Some Newly Developed and Candidate Wheat (*Triticum Aestivum* L.) Cultivars Using Gas Exchange and Chlorophyll Fluorescence Attributes." *Pakistan Journal of Botany* 43(6): 2693-2699.

Kolchevskii, K.G.; O.Ya. Koroleva and N.I.Kocharyan (1995) "Effect of salinity on photosynthetic characteristics and ion accumulation in C3 and C4 plants of Ararat plain." *Photosynthetica* 31:277-282.

Kumar Giridara, S., A. Lakshmi, K.V. Madhusudhan, S.Ramanjulu and C. Sudhakar (1999). "Photosynthesis Parameters in Two Cultivars of Mulberry Differing in Salt Tolerance." *Photosynthetica* 36(4):611-616.

Lichtenthaler, H.K. (1987) "Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes." *Meth Enzymol* 148:350-382.

Lutts, S., J. M. Kinet and J. Bouharmont (1996). "*NaCl-induced senescence in leaves of rice (Oryza sativa L) cultivars differing in salinity resistance.*" *Annals of Botany* 78(3): 389-398.

Maxwell, K. and Johnson, G. N. (2000). "*Chlorophyll fluorescence--a practical guide.*" *J Exp Bot* 51(345): 659-668.

Misra, A. N., S. M. Sahu, M. Misra, P. Singh, I. Meera, N. Das, M. Kar and P. Sahu (1997). "*Sodium chloride induced changes in leaf growth, and pigment and protein contents in two rice cultivars.*" *Biologia Plantarum* 39(2): 257-262.

Mittal, S., N. Kumari and V. Sharma (2012). "*Differential response of salt stress on Brassica juncea: Photosynthetic performance, pigment, proline, D1 and antioxidant enzymes.*" *Plant Physiology and Biochemistry* 54: 17-26.

Moradi, F. and A. M. Ismail (2007). "*Responses of photosynthesis, chlorophyll fluorescence and ROS-Scavenging systems to salt stress during seedling and reproductive stages in rice.*" *Annals of Botany* 99(6): 1161-1173.

Munns, R. (2002). "*Comparative physiology of salt and water stress.*" *Plant Cell and Environment* 25(2): 239-250.

Munns, R., R. A. James and A. Läuchli (2006) "*Approaches to increasing the salt tolerance of wheat and other cereals.*" *Journal of Experimental Botany* 57(5):1025-1043.

Munns, R. and J.B. Passioura (1984) "*Effect of Prolonged Exposure to Nacl on the Osmotic Pressure of Leaf Xylem Sap From Intact, Transpiring Barley Plants.*" *Australian Journal of Plant Physiology* 11(6):497-507.

Munns, R. and M. Tester (2008). "*Mechanisms of salinity tolerance.*" *Annual Review of Plant Biology* 59: 651-681.

Murata, N., Takahashi, S., Nishiyama, Y. and Allakhverdiev, S. I. (2007). "*Photoinhibition of photosystem II under environmental stress.*" *Biochim Biophys Acta* 1767(6): 414-421.

Netondo, G. W., Onyango, J. C. and Beck, E. (2004). "*Sorghum and Salinity.*" *Crop Sci.* 44(3): 806-811.

Noreen, Z., M. Ashraf and N. A. Akram (2010). "*Salt-Induced Regulation of Some Key Antioxidant Enzymes and Physio-Biochemical Phenomena in Five Diverse Cultivars of Turnip (Brassica rapa L.).*" *Journal of Agronomy and Crop Science* 196(4): 273-285.

Parida, A. K. and A. B. Das (2005). "*Salt tolerance and salinity effects on plants: a review.*" *Ecotoxicology and Environmental Safety* 60(3): 324-349.

Richardson, A. D., S. P. Duigan and G. P. Berlyn (2002) "*An evaluation of noninvasive methods to estimate foliar chlorophyll content.*" *New Phytologist* 153(1):185–194.

Sabir, P., M. Ashraf, M. Hussain and A. Jamil (2009). "Relationship of Photosynthetic Pigments and Water Relations with Salt Tolerance of Proso Millet (*Panicum Miliaceum* L.) Accessions." Pakistan Journal of Botany 41(6): 2957-2964.

Sadeghi, H. and M. J. Nazemosadat (2011). "Effects of different levels of sodium chloride and photosynthetic photon flux density on some physiological traits in two wheat cultivars." African Journal of Agricultural Research 6(29): 6326-6333.

Vieira Santos, C. (2004) "Regulation of chlorophyll biosynthesis and degradation by salt stress in sunflower leaves." Scientia Horticulturae, 103(1):93-99.

Sayed, O. H. (2003). "Chlorophyll fluorescence as a tool in cereal crop research." Photosynthetica 41(3): 321-330.

Shahbaz, M., M. Ashraf, N. A. Akram, A. Hanif, S. Hameed, S. Joham and R. Rehman (2011). "Salt-induced modulation in growth, photosynthetic capacity, proline content and ion accumulation in sunflower (*Helianthus annuus* L.)." Acta Physiologiae Plantarum 33(4): 1113-1122.

Shahid, M. A., M. A. Pervez, R. M. Balal, C. M. Ayyub, U. Ghazanfar, T. Abbas, A. Rashid, F. Garcia-Sanchez, N. S. Mattson and A. Akram (2011). "Effect of salt stress on growth, gas exchange attributes and chlorophyll contents of pea (*Pisum sativum*)." African Journal of Agricultural Research 6(27): 5808-5816.

Siddiqi, E. H., M. Ashraf, M. Hussain and A. Jamil (2009). "Assessment of Inter-Cultivar Variation for Salt Tolerance in Safflower (*Carthamus Tinctorius* L.) Using Gas Exchange Characteristics as Selection Criteria." Pakistan Journal of Botany 41(5): 2251-2259.

Singh, M. P., D. K. Singh and M. Rai (2007). "Assessment of growth, physiological and biochemical parameters and activities of antioxidative enzymes in salinity tolerant and sensitive basmati rice varieties." Journal of Agronomy and Crop Science 193(6): 398-412.

Siringam, K., N. Juntawong, S. Cha-um and C. Kirdmanee (2009). "Relationships between Sodium Ion Accumulation and Physiological Characteristics in Rice (*Oryza Sativa* L. Spp. *Indica*) Seedlings Grown under Iso-Osmotic Salinity Stress." Pakistan Journal of Botany 41(4): 1837-1850.

Sudhir, P. and S. D. S. Murthy (2004). "Effects of salt stress on basic processes of photosynthesis." Photosynthetica 42(4): 481-486.

Sun, J., Y. X. Jia, S. R. Guo, J. Li and S. Shu (2010). "Resistance of spinach plants to seawater stress is correlated with higher activity of xanthophyll cycle and better maintenance of chlorophyll metabolism." Photosynthetica 48(4): 567-579.

Tiwari, B. S., A. Bose and B. Ghosh (1997). "Photosynthesis in rice under a salt stress." Photosynthetica 34(2): 303-306.

Ulfat, M., H. U. R. Athar, M. Ashraf, N. A. Akram and A. Jamil (2007). "Appraisal of physiological and biochemical selection criteria for evaluation of salt tolerance in canola (*Brassica napus* L.)." *Pakistan Journal of Botany* 39(5): 1593-1608.

Verslues, P. E., M. Agarwal, S. Katiyar-Agarwal, J. H. Zhu and J. K. Zhu (2006). "Methods and concepts in quantifying resistance to drought, salt and freezing, abiotic stresses that affect plant water status." *Plant Journal* 45(4): 523-539.

Wanichananan, P., C. Kirdmaneea and C. Vutiyanob (2003) "Effect of Salinity on Biochemical and Physiological Characteristics in Correlation to Selection of Salttolerance in Aromatic Rice (*Oryza sativa* L.)" *ScienceAsia* 29:333-339.

Wellburn, A. R. (1994) "The Spectral Determination of Chlorophylls a and b, as well as Total Carotenoids, Using Various Solvents with Spectrophotometers of Different Resolution." *Journal of Plant Physiology* 144(3):307-313.

Zhao, G. Q., B. L. Ma and C. Z. Ren (2007). "Growth, gas exchange, chlorophyll fluorescence, and ion content of naked oat in response to salinity." *Crop Science* 47(1): 123-131.

Zheng, Y. H., X. B. Xu, M. Y. Wang, X. H. Zheng, Z. J. Li and G. M. Jiang (2009). "Responses of salt-tolerant and intolerant wheat genotypes to sodium chloride: Photosynthesis, antioxidants activities, and yield." *Photosynthetica* 47(1): 87-94.