

Univerzita Karlova v Praze

Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Genetika, molekulární biologie a virologie



Bc. Daniel Panchártek

**Analýza parametrů, u nichž se předpokládá souvislost se suchovzdorností,
u různých genotypů čiroku**

*Analysis of parameters presumably associated with drought-resistance
in various sorghum genotypes*

Typ závěrečné práce: diplomová

Vedoucí závěrečné práce/Školitel:

RNDr. Dana Holá, Ph.D.

Praha, 2013

Prohlášení:

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

V Praze, 5.5.2013

Poděkování:

Můj nezměrný dík patří především mé školitelce RNDr. Daně Holé, Ph.D, bez níž by neexistovala ani stránka této práce, pro její nehynoucí trpělivost, obětavost a psychickou i faktickou podporu, jíž mi vrchovatě dodávala po celou dobu psaní. Dále je na místě poděkovat celému osazenstvu Laboratoře genetiky rostlin, tj. všem „skřítkům“ v čele s Mgr. Lenkou Tůmovou, bez jejíž odborné a nezjištné pomoci by nebyla změřena ani jedna rostlina. Děkuji také své rodině a přítelkyni za vytvoření povětšinou klidného zázemí.

Práce byla finančně podpořena výzkumným záměrem MŠMT 0021620858.

Abstrakt

Cílem práce bylo 1) zjistit možnosti pěstování a hodnocení genotypů čiroku dvoubarevného (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) pocházejících z Indie v klimatu střední Evropy a 2) zhodnotit možnosti využití vybraných nedestruktivních a destruktivních metod založených především na měření fluorescence chlorofylu *a* a stanovení obsahu fotosyntetických pigmentů pro rozlišení genotypů čiroku na základě jejich předpokládané suchovzdornosti. Ve dvouletých polních pokusech bylo analyzováno patnáct genotypů tohoto rostlinného druhu (dvě *stay-green* rodičovské linie, dvě senescentní rodičovské linie a jedenáct introgresních linií s vnesenými *stay-green* lokusy), dva genotypy byly dále analyzovány ve skleníkových podmínkách, kde byl stres suchem navozen dvanáctidenním vysazením zálivky. U rostlin pěstovaných v polních podmínkách byly sice pozorovány rozdíly mezi některými genotypy ve všech měřených parametrech, ale pro většinu genotypů tyto rozdíly nebyly statisticky průkazné. Významně se v některých parametrech v obou pokusných sériích lišil pouze rodičovský *stay-green* genotyp B35, avšak mezi senescentními genotypy a ostatními *stay-green* genotypy rozdíly většinou nebyly. V podmínkách skleníku průkazné rozdíly mezi oběma genotypy, které se měly lišit svou suchovzdorností, také nebyly nalezeny v žádném z měřených parametrů. Využitelnost metod zkoumaných v této práci pro detekci suchovzdornosti je tudíž u čiroku sporná.

Klíčová slova

Čirok dvoubarevný; fotosyntéza; fluorescence chlorofylu; chlorofyly; karotenoidy; indexy spektrální odrazivosti; OJIP křivka; prolin; *Sorghum bicolor*; *stay-green*; stres; sucho; suchovzdornost

Abstract

The aims of this work were 1) to assess whether sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) genotypes originating from the India can be grown and analyzed in the climatic conditions of central Europe and 2) to find out the utilization potential of selected non-destructive and destructive methods based mostly on the chlorophyll *a* fluorescence measurements and the determination of photosynthetic pigments' content for the differentiation of sorghum genotypes based on their presumed drought tolerance. Field experiments made during 2 years compared 15 genotypes of this species (2 *stay-green* parental lines, 2 senescent parental lines and 11 introgression lines with *stay-green* loci), 2 of these genotypes were further analyzed in greenhouse conditions where the water deficit was induced by a cessation of watering for 12 days. The field-grown plants showed some differences between individual genotypes in all measured parameters; however, for the majority of the genotypes these differences were not statistically significant. The *stay-green* parental genotype B35 differed the most from the other ones in both field seasons, but the other *stay-green* genotypes usually did not differ from the senescent genotypes. No significant differences between both greenhouse-tested genotypes (presumably contrasting in their drought tolerance) were found. The possible utilization of the methods analyzed in this study for the determination of sorghum drought tolerance is thus questionable.

Key Words

Carotenoids; chlorophyll fluorescence; chlorophylls; drought; drought tolerance; OJIP curve, photosynthesis; proline; *Sorghum bicolor*; spectral reflectance indices; *stay-green*; stress

Obsah

1.	Úvod.....	8
2.	Přehled literatury	10
2.1	Čirok dvoubarevný – základní charakteristiky	10
2.1.1	Botanická a zemědělská klasifikace	10
2.1.2	Genom	11
2.1.3	Morfologie, anatomie a fyziologie	14
2.1.4	Zemědělské využití a šlechtitelství ve světě a v České republice	16
2.2	Selekce a šlechtění čiroku na odolnost vůči suchu	18
2.2.1	Sušina a její akumulace a remobilizace v rostlině	18
2.2.2	Morfologie kořenů.....	19
2.2.3	Vodní režim rostliny.....	19
2.2.3.1	Transpirace.....	19
2.2.3.2	Efektivita využití vody	20
2.2.3.3	Další parametry popisující využití vody rostlinou	21
2.2.3.4	Teplota porostu.....	21
2.2.4	Fotosyntéza a <i>stay green</i> fenotyp	22
2.2.4.1	Primární fotosyntetické procesy.....	22
2.2.4.2	Fotosyntetické pigmenty.....	22
2.2.4.3	Stay-green fenotyp.....	22
2.2.4.4	Fotosyntetické enzymy	26
2.2.5	Ochrana před poškozením buněk	27
2.2.5.1	Antioxidační enzymy.....	27
2.2.5.2	Prolin.....	27
2.2.5.3	Manitol.....	28
2.2.5.4	Dehydriny a jiné LEA proteiny.....	28
2.2.6	Transkripční faktory	29
2.2.7	Obsah biogenních prvků	30
2.2.8	Ethylen.....	31
2.2.9	Shrnutí	31
3.	Cíle práce	33
4.	Materiál a metody	34
4.1	Použitý rostlinný materiál.....	34
4.2	Organizace pokusů a pěstování rostlin.....	35
4.3	Metody	39
4.3.1	Morfologické a vývojové charakteristiky	39
4.3.2	Relativní obsah vody v listu a specifická listová hmotnost.....	40
4.3.3	Obsah prolinu	40
4.3.4	Obsah fotosyntetických barviv.....	41
4.3.5	Indexy spektrální odrazivosti listů	42
4.3.6	OJIP část křivky indukce fluorescence chlorofylu <i>a</i> a parametr Q_Y	42
4.3.7	Statistická analýza	47
5.	Výsledky	48
5.1	První pokusná série	48
5.2	Druhá pokusná série.....	52
5.3	Třetí pokusná série	64
6.	Diskuze.....	84
7.	Souhrn	91
8.	Seznam použité literatury.....	92

Seznam zkratek

ABA	kyselina abscisová; <i>Abscisic Acid</i>
ANOVA	analýza variance; <i>Analysis of Variance</i>
ARDM	množství remobilizované suché hmoty; <i>Amounts of Remobilized Dry Matter</i>
CAT	kataláza; <i>Catalase</i>
cDNA	komplementární DNA; <i>Complementary DNA</i>
CMS	cytoplazmatická samčí sterilita; <i>Cytoplasmatic Male Sterility</i>
cpDNA	chloroplastová DNA; <i>Chloroplast DNA</i>
DFI	index suchovzdornosti; <i>Drought Factor Index</i>
DSR	<i>Directorate of Sorghum Research</i>
EDXRF	rozptyl energie rentgenové fluorescence; <i>Energy Dispersive X-Ray Fluorescence</i>
F	označení pro fluorescenci chlorofylu <i>a</i>
ICRISAT	<i>International Crops Research Institute for the Semi-Arid-Tropics</i>
IL	introgresní linie; <i>Introgression Line</i>
LAI	pokryvnost listoví; <i>Leaf Area Index</i>
LEA	označení pro skupinu proteinů hojných při pozdní embryogenezi (a během stresové reakce); <i>Late Embryogenesis Abundant</i>
ME	jablečný enzym; <i>Malic Enzyme</i>
MITE	miniaturní transponovatelné elementy s invertovanými repeticemi; <i>Miniature Inverted Repeat Transposable Elements</i>
NDVI	normalizovaný diferenční vegetační index; <i>Normalized Difference Vegetation Index</i>
NIR	blízká infračervená oblast spektra slunečního záření; <i>Near Infra-Red Spectrum</i>
NIRS	spektroskopie založená na měření odrazivosti v blízké infračervené oblasti; <i>Near Infrared Reflectance Spectroscopy</i>
OEC	komplex vyvíjející kyslík; <i>Oxygen Evolving Complex</i>
OJIP	označení pro tzv. rychlou fázi křivky indukce fluorescence chlorofylu <i>a</i> (podle základních bodů O-J-I-P)
PEPC	fosfoenolpyruvátkarboxyláza; <i>Phosphoenolpyruvate Carboxylase</i>
PI	performanční index; <i>Performance Index</i>
PO	askorbátperoxidáza; <i>Ascorbate Peroxidase</i>
PPDK	pyruvátfosfát-dikináza; <i>Pyruvate Phosphate Dikinase</i>
PRI	fotchemický reflektanční index; <i>Photochemical Reflectance Index</i>
PřF UK	Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy
PS	fotosystém; <i>Photosystem</i>
PSMT	označení pro tzv. pomalou fázi křivky indukce fluorescence chlorofylu <i>a</i> (podle základních bodů P-S-M-T)
QTL	lokusy podmiňující kvantitativní znaky; <i>Quantitative Trait Loci</i>
Q _y	efektivní kvantový výtěžek fotochemické přeměny energie ve fotosystému II; <i>Effective Quantum Yield of Photosystem II Primary Photochemistry</i>
REE	remobilizační efektivita; <i>Remobilization Efficiency</i>
ROS	volné kyslíkové radikály; <i>Reactive Oxygen Species</i>
Rubisco	ribulózo-1,5-bisfosfátkarboxyláza/oxygenáza; <i>Ribulose-1,5-Bisphosphate Carboxylase/Oxygenase</i>
RWC	relativní obsah vody; <i>Relative Water Content</i>
SBI	označení chromozómů číroku dvoubarevného (<i>Sorghum bicolor</i>)
SLW	specifická listová hmotnost; <i>Specific Leaf Weight</i>
SOD	superoxiddismutáza; <i>Superoxide Dismutase</i>
SPAD	označení přístrojů umožňujících nedestruktivní stanovení obsahu chlorofylu v listech; zkratka pochází z termínu <i>Soil Plant Analysis Development</i>
SSR	mikrosatelit; <i>Simple Sequence Repeat</i>
TE	efektivita transpirace; <i>Transpiration Efficiency</i>
VIS	viditelná oblast spektra slunečního záření; <i>Visible Spectrum</i>
W	označení pro relativní variabilní fluorescenci chlorofylu <i>a</i>
WUE	efektivita využití vody; <i>Water Use Efficiency</i>

1. Úvod

Produkce rostlinné biomasy a hlavních zemědělských plodin se za posledních několik desítek let zvýšila ruku v ruce s masivním zvětšením lidské populace na Zemi. Nárůst objemu pěstovaných plodin je nutností především v rozvojových státech Afriky a jižní Asie, v nichž hustota populace často převyšuje možnosti tamního zemědělství, jehož úspěšnost je navíc často omezoována typem klimatu a stresory, především nedostatkem vody, který je pro tyto oblasti typický. Šlechtění plodin na zvýšenou odolnost vůči suchu se tudíž jeví jako jeden z hlavních cílů rostlinné genetiky a možná prevence před hladomorem pro většinu světové populace, která je jím přímo ohrožována. Současná věda se snaží ve velké míře využívat moderní šlechtitelské metody, především identifikaci QTL souvisejících se suchovzdorností, selekční strategie využívající molekulárních markerů a neméně též metody genového a metabolického inženýrství. Ty ovšem narážejí na určitá omezení plynoucí z dosud neúplných znalostí o fungování regulace protistresových reakcí a jejich komplexnosti v rostlinách, kdy jednoduchá genová manipulace obvykle nestačí pro významnou změnu v odolnosti transgenních rostlin vůči danému abiotickému stresoru. Navíc byla až dosud většina takových studií prováděna na modelových organismech huseníčku, tabáku, případně rýži a jejich výsledky tak nejsou vždy univerzálně aplikovatelné i na ostatní rostlinné druhy. K tomu se v poslední době ze strany společnosti čím dál více objevuje odmítavý přístup k výzkumu a využívání transgenních rostlin. Proto své uplatnění stále nacházejí i alternativní metody, hledající přímou nebo nepřímou souvislost odolnosti rostlin vůči suchu s určitými fyziologickými či morfologickými parametry, které je možné využít jako sekundární selekční znaky k výběru suchovzdorných genotypů a jejich hybridů u libovolného rostlinného druhu bez potřeby znalosti jeho genomu.

Jakékoli parametry využívané pro selekci a šlechtění musejí samozřejmě splňovat určité podmínky, mezi něž patří snadnost jejich měření (nízké nároky na počet a kvalifikaci potřebných pracovníků), rychlost měření (umožňující hodnocení velkého množství genotypů v krátkém čase), přesnost a dobrá rozlišovací schopnost (jednoznačná souvislost s odolností / citlivostí vůči příslušnému stresovému faktoru), nedestruktivnost (umožňující např. opakované hodnocení rostlin v různých vývojových stádiích, v různých časech stresového období, případně i po skončení stresu nebo při opakovaném stresu), stabilita během vývoje rostliny (nebo alespoň během určitých období vývoje) a samozřejmě i finanční nenáročnost. V tomto ohledu jsou v literatuře často doporučovány různé parametry související s fotosyntézou, především měření obsahu fotosyntetických barviv a hodnocení různých parametrů fluorescence chlorofylu *a*. Fotosyntetické procesy totiž na jakékoli vystavení

rostlin nepříznivým podmínkám reagují obvykle velmi rychle a jejich měření není příliš náročné. V ideálním případě by navíc mělo být možné využít analýzu takovýchto charakteristik k detekci suchovzdornosti nejen u rostlin přímo stresovaných suchem, ale rovnou i u rostlin pěstovaných v nestresových podmínkách, aby se tak nemuselo provádět polní (nebo i skleníkové) testování v různých typech prostředí, které je samozřejmě náročné na čas, práci i místo. Důležitá je pochopitelně i prokázaná spojitost s výnosem (především ve stresových podmínkách, ale při šlechtění s využitím sekundárních selekčních znaků by nemělo docházet ke snížení výnosu ani v podmínkách, kdy příslušný stresový faktor nepůsobí), existence genetické variability v daném znaku u hodnoceného rostlinného druhu a pokud možno vysoká dědivost tohoto znaku.

V této práci byl jako pokusná rostlina zvolen *Sorghum bicolor* (L.) Moench (čirok dvoubarevný), jehož hospodářský význam je především v tropickém a subtropickém pásmu značný (je to čtvrtá nejvíce pěstovaná plodina na světě). Na tento rostlinný druh je zaměřen i Přehled literatury, jehož cílem bylo především shromáždit a utřídit informace o různých morfo-fyziologických, biochemických a molekulárně-biologických parametrech, které jsou navrhovány jako vhodné selekční parametry při šlechtění čiroku na suchovzdornost. Práce navazuje na předchozí studie provedené v Laboratoři genetiky rostlin katedry genetiky a mikrobiologie Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy v Praze (PřF UK), zaměřené na analýzu různých morfo-fyziologických/biochemických parametrů souvisejících se suchovzdorností u různých druhů hospodářsky významných rostlin. Rozšiřuje je o další zemědělsky významnou C4 rostlinu (u níž bylo ovšem nejprve třeba zjistit, zda genotypy pocházející z Indie bude možné v podmínkách mírného klimatického pásma České republiky vůbec pěstovat a analyzovat) a věnuje se možnosti využití měření vybraných nedestruktivních a destruktivních (především fotosyntetických) parametrů pro rozlišení genotypů čiroku v souvislosti s jejich potenciální suchovzdorností. Pokud by se ukázalo, že souvislost mezi hodnotami těchto parametrů a rozdíly mezi tzv. *stay-green* genotypy (vykazujícími opožděnou senescenci listů, kdy je částečně nebo zcela zamezeno rozkladu fotosyntetického aparátu ve stárnoucím listovém pletivu; tento znak je u čiroku běžně doporučován jako hlavní selekční znak související s tolerancí k suchu) a tzv. senescentními (normálně stárnoucími) genotypy existuje, a že je možné takto testovat vnitrodruhovou variabilitu u čiroku v podmínkách mírného klimatického pásma, mohlo by to mít význam jednak pro praktickou spolupráci mezi mým pracovištěm a vědeckým pracovištěm International Crops Research Institute for the Semi-Arid-Tropics (ICRISAT) v Indii, jednak obecněji pro šlechtění čiroku na suchovzdornost jako takové.

2. Přehled literatury

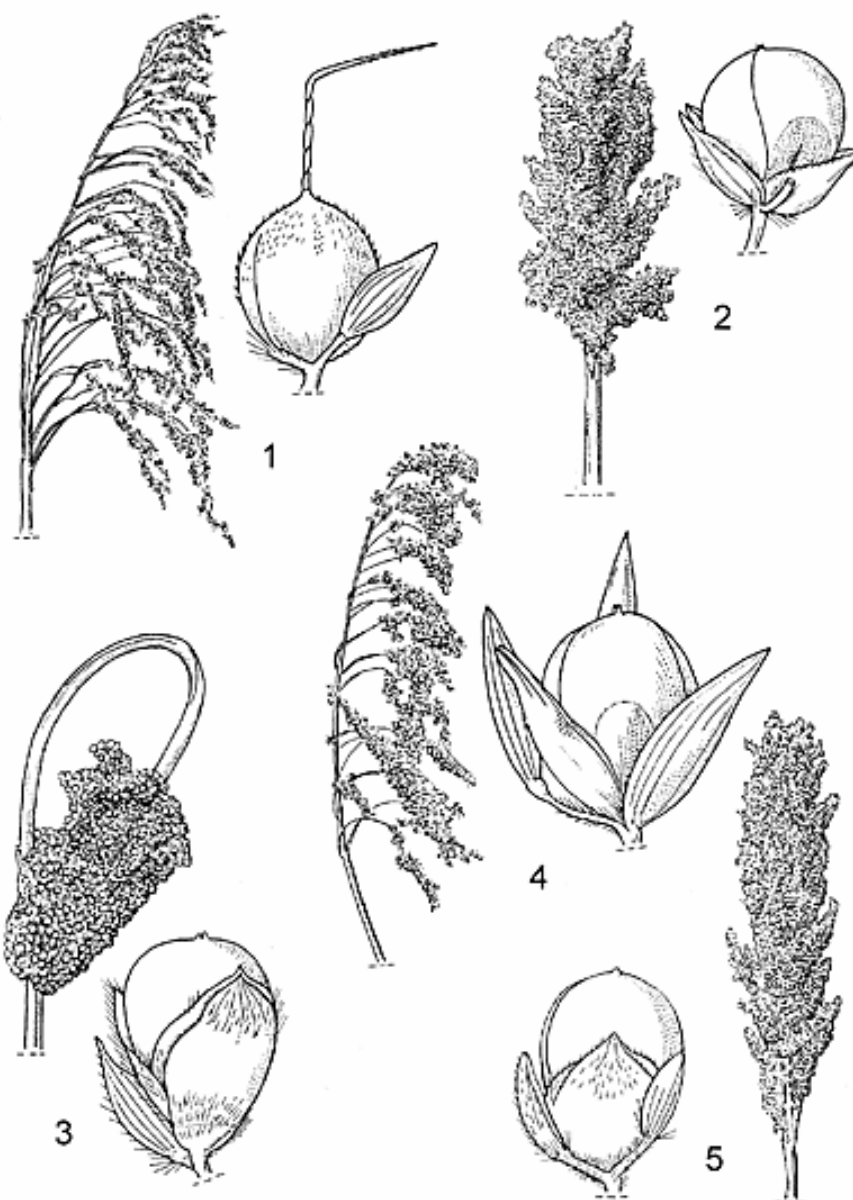
2.1 Čirok dvoubarevný – základní charakteristiky

2.1.1 Botanická a zemědělská klasifikace

Rostlinný druh *Sorghum bicolor* (L.) Moench, česky nazývaný čirok dvoubarevný nebo rovněž čirok obecný (taxonomické zařazení: rod *Sorghum*, podčeleď *Panicoidae*, čeleď *Poaceae*, řád *Poales*, třída *Liliopsida*, oddělení *Magnoliophyta*, říše *Plantae*), je jednou z pěti nejhojněji zemědělsky využívaných kulturních plodin na Zemi. Rozděluje se nejčastěji do tří poddruhů: *S. bicolor ssp. verticilliflorum* (planý čirok), *S. bicolor ssp. bicolor* (pěstovaný a zemědělsky využívaný čirok) a *S. bicolor ssp. drummondii* (většinou kříženci prvních dvou poddruhů) (Wiersema a Dahlberg, 2007). V zemědělské praxi se většinou dělí do tří hlavních variet, které jsou pěstovány pro produkci zrna (varieta *eusorghum*) či za účelem zisku sacharidů (varieta *sacharratum*), stejně jako je využívána jeho lata pro výrobu domácích pomůcek (hlavně varieta *technicum*).

Kromě toho existuje ještě tradiční fenotypové dělení tohoto druhu na pět skupin neboli tzv. ras (*races*) (Harlan a de Wet, 1972). Podle tvaru laty a klásku toto dělení rozděluje *S. bicolor* na skupiny *bicolor*, *caudatum*, *durra*, *guinea* a *kafir* (**Obr. 1**). Kromě těchto dvou parametrů jsou tyto skupiny jasně rozeznatelné mimo jiné i podle tvaru zrna, které je u skupiny *bicolor* protáhlé a téměř symetrické, u skupiny *caudatum* výrazně asymetrické a zespondu zploštělé, zatímco zrno skupiny *durra* je obvejčité klínového tvaru. Zrno *guinea* bývá placaté a během zrání se zkrucuje do pravého úhlu a zrno skupiny *kafir* je téměř symetrické, nezkroucené a během zrání praská (House *et al.*, 1985). Tyto skupiny se také do jisté míry liší svým geografickým výskytem, přičemž skupina *bicolor* je považována za původní typ, ze kterého vzešly ostatní 4 skupiny. Skupina *caudatum* se vyskytuje hlavně ve východní Africe, *durra* pochází z indické oblasti, *guinea* je pěstována hlavně v západní Africe a *kafir*, který hraje důležitou úlohu ve šlechtění čiroku, má původ v oblasti jižní Afriky (Brown *et al.*, 2011). Už v minulosti byla potvrzena jejich vhodnost pro budoucí šlechtění a genetické studie a u linií rasy *bicolor* se ukázala značná genetická heterogenita ve sledovaných SNP markerech (Deu *et al.*, 2006; Perumal *et al.*, 2007; Brown *et al.*, 2011). Kříženci těchto ras jsou také často zemědělsky a šlechtitelsky využíváni.

Dělení na pět uvedených skupin je hojně využíváno a zástupci jeho skupin hodnoceni při šlechtění na odolnost vůči suchu, kde skupina *caudatum* vykazuje větší genetickou stabilitu a vysoký výnos, zatímco *kafir* ukazuje velký potenciál ke zvyšování výnosu za podmínek sucha, a proto je skupinou vhodnou pro další průzkum ve šlechtitelských programech (Mutava *et al.*, 2011).

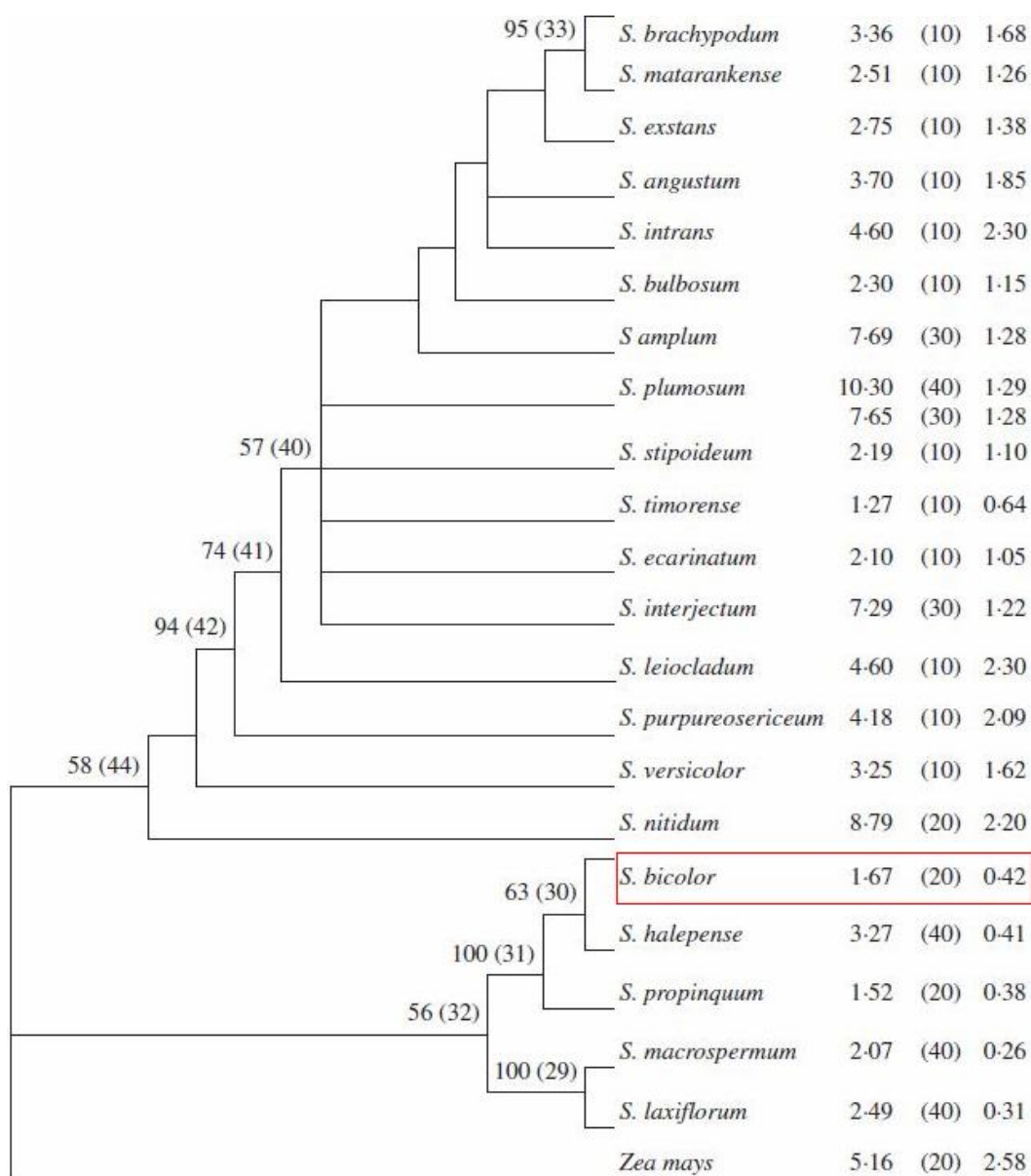


Obr. 1. Dělení čiroku dvoubarevného do pěti skupin (ras) podle odlišností ve tvaru a stavbě laty a klásku. 1 – *bicolor*, 2 – *caudatum*, 3 – *durra*, 4 – *guinea*, 5 – *kafir*. Převzato z Balole a Legwaila (2006).

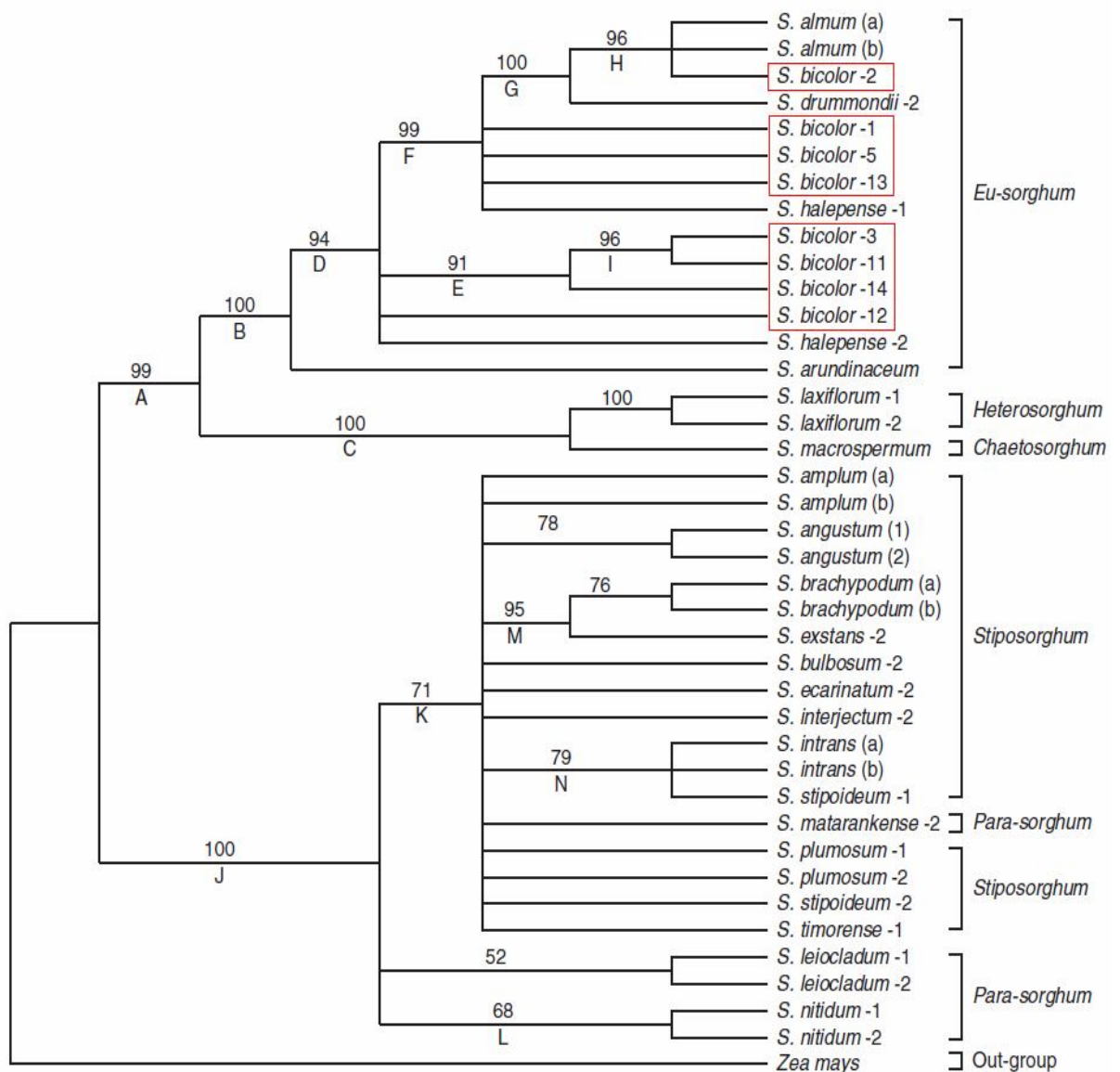
2.1.2 Genom

Předpokládá se, že základní chromozomové číslo rodu *Sorghum* je $x = 5$ a počet chromozomů v jádře pak nabývá hodnot 10, 20, 30 nebo 40. U druhu *S. bicolor* je $2n = 20$, z čehož je patrný jeho charakter tzv. dávného polyploidia, což je společný rys nejen u genomu různých druhů čiroku, ale i u většiny rostlinných genomů. Fylogeneze DNA sekvencí pomyslně rozděluje rod *Sorghum* do dvou linií, z nichž jedna zahrnuje druhy s $2n = 10$, velkými chromozomy a jejich polyploidní příbuzné (*S. amplum*, *S. plumosum*, *S. interjectum* a *S. nitidum*), a druhá linie představuje druhy s $2n = 20$ nebo 40 s relativně malými chromozomy (*S. bicolor*, *S. halepense*, *S. propinquum*, *S. macospermum* a *S. laxiflorum*). Přitom v případě linie s $2n = 10$ je patrné, že u ní v minulosti došlo k redukci velikosti

genomu (Price *et al.*, 2005). Fylogenetický strom podle Price *et al.* (2005) obsahující přehled všech druhů čiroku včetně jejich počtu chromozomů je znázorněn na **Obr. 2**. Jiný fylogenetický strom podle Ng'uni *et al.* (2010), sestavený na základě analýzy sekvenčních dat chloroplastové DNA (cpDNA) znázorňuje **Obr. 3**. I ten řadí k *S. halepense* do nejbližší příbuznosti k *S. bicolor*, navíc k němu přidává i *S. almum* a další nově vydělené druhy čiroku, jež se od *S. bicolor* ve vývoji během evoluce patrně oddělily dříve.



Obr. 2. Fylogenetický strom dosud známých druhů čiroku. Vpravo v prvním sloupci jsou uvedeny hodnoty obsahu celkové DNA v pg, v druhém sloupci počet chromozomů v diploidní sadě, v posledním sloupci hodnota obsahu DNA odpovídající $x = 5$ v pg. Čísla vlevo u jednotlivých fylogenetických linií odpovídají bootstrap hodnotám větším než 50 %, čísla v závorkách reprezentují počty jednoznačných nukleotidových substitucí v dané sekvenci DNA mezi dvěma příslušnými fylogenetickými liniemi. Převzato a upraveno podle Price *et al.* (2005).



Obr. 3. Fylogenetický strom dosud známých druhů čiroku, založený na hledání maximální parsimonie mezi sekvencemi pocházejícími z analýzy chloroplastové DNA. Čísla vlevo u jednotlivých fylogenetických linií odpovídají bootstrap hodnotám větším než 50 %, písmena pod nimi označují základní fylogenetické linie, ze kterých jsou odvozeny jednotlivé druhy čiroku. Převzato a upraveno podle Ng'uni *et al.* (2010).

Genom čiroku je v případě druhu *S. bicolor* diploidní a má velikost 818 Mbp, což odpovídá hmotnosti DNA 1,67 pg. U ostatních druhů se jeho velikost pohybuje v rozmezí 1,27 pg až 10,3 pg a často se zde vyskytuje triploidie nebo tetraploidie (Price *et al.*, 2005). Genom *S. bicolor* obsahuje 28 375 funkčních strukturních genů, přičemž 9 503 z nich jsou ortologní s geny v genomech huseníčku rolního (*Arabidopsis thaliana* L.), rýže (*Oryza sativa* L.) a topolu (*Populus tremula* L.) a 15 225 genů pak čirok sdílí aspoň s jedním ze třech těchto druhů (Paterson *et al.*, 2009). Heterochromatin tvoří podle jedné práce 50,1 % genomu (Kim *et al.*, 2005), podle jiné nejméně 62 % genomu (Paterson *et al.*, 2009), přitom ale genom obsahuje podobné absolutní množství euchromatinu, jako nalezneme v genomech ostatních zástupců trav. Platí, že oblasti euchromatinu vykazují mnohem vyšší frekvenci

rekombinací (~0,25 Mbp/cM) než oblasti heterochromatinu (~8,7 Mbp/cM) (Kim *et al.*, 2005). V nekódujících oblastech jsou bohatě zastoupeny transponovatelné elementy, především retroelementy patřící do rodin *gypsy-like* a *copia-like*, a dále pak DNA transpozony z rodiny *MITE* (*Miniature Inverted Repeat Transposable Elements*) a *CTA-like*, přičemž retrotranspozony tvoří 55 % genomu čiroku a DNA transpozony 7,5 % genomu (Paterson *et al.*, 2009). Navíc zde byly identifikovány specifické „Isaac“ CACTA elementy, které jsou společné pro čirok a kukuřici (*Zea mays* L.) a mohou tak sloužit jako genetické markery (Lee *et al.*, 2004). Retrotranspozony, z nichž většina je sekvenčně shodná s retrotranspozony nacházejícími se v genomu kukuřice (kde tvoří až 79 % genomu) se nacházejí především v centromerických oblastech, zatímco kódující oblasti společně s *MITE* transponovatelnými elementy byly identifikovány hlavně v oblastech blízkých telomerám. U čiroku dvoubarevného byla zároveň detekována specifická centromerická repetice označovaná jako *Cen38*. Při bioinformatických analýzách byla odhalena blízká sekvenční podobnost genomu čiroku s genomem kukuřice a cukrové třtiny (*Saccharum officinarum* L.) a také vysoký stupeň syntenie a kolinearity mezi jednotlivými chromozomy těchto genomů, což naznačuje blízkou příbuznost těchto druhů trav (Ming *et al.*, 1998; Paterson *et al.*, 2009).

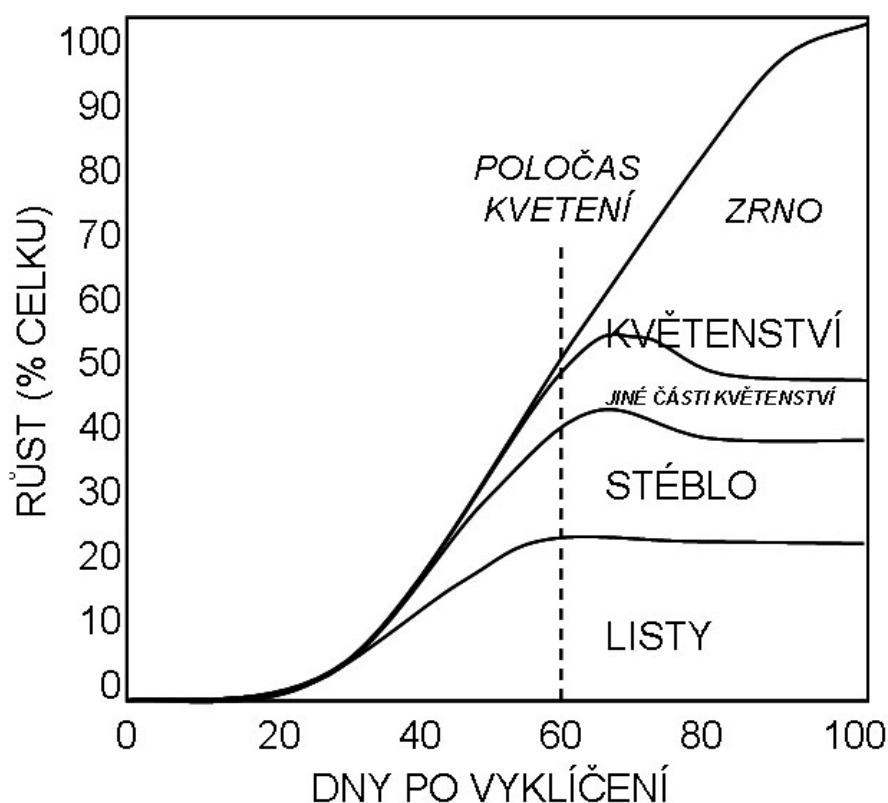
2.1.3 Morfologie, anatomie a fyziologie

Dosahovaná průměrná výška rostlin čiroku závisí na druhu čiroku a pohybuje se od 1 do 2,5 metrů i více. Stéblo je cylindrické, tvrdé a bohatě inkrustované křemičitany, což mu zajišťuje značnou odolnost. Je vyplněno dřevem, která je až do doby kvetení sladká a šťavnatá, čehož se využívá v zemědělství především u cukrové variety čiroku. Počet článků, které se na stéble během vývoje vytvoří, odpovídá délce vegetačního období, a proto podle toho rozdělujeme čiroky na rané (5-11 článků), střední (11-16 článků) a pozdní (16-20 článků) (Hermuth *et al.*, 2012). Listy čiroku, které bývají dlouhé až 80 cm a také dosti široké, jsou pokryty tenkou voskovou vrstvou, která spoluvytváří šedozelené zabarvení a zřejmě má spojitost s odolností vůči vysokým teplotám a suchu. Přitom platí, že za lepších pěstebních podmínek rostlina čiroku vyvine méně listů (14-17), zatímco za horších podmínek to může být až 30 listů (House *et al.*, 1985).

Čirok vytváří mohutný kořenový systém s bohatě větveným kořenovým vlášením, což je dobrým předpokladem pro schopnost přijímat vodu a živiny jak z širokého okolí rostliny, tak i velkých půdních hloubek – kořeny čiroku dosahují až 140-170 cm pod zem (Hermuth *et al.*, 2012). Zároveň je schopen vyvíjet postranní opěrné kořeny vyrůstající z nejnižších pater prýtu, které sice neslouží pro příjem živin a vody, ale díky nimž rostliny nepoléhají ani při silném větru (House *et al.*, 1985).

Květenství čiroku je tvořeno latou, která se skládá z jednotlivých jednokvětých klásků a bývá více nebo méně shloučená nebo naopak rozkladitá (**Obr. 1**). Od toho se do určité míry odvíjí i to, zda je daná skupina čiroku spíše samosprašná nebo se u ní vyskytuje v určité míře cizosprašnost. V rámci laty začíná kvetení nahoře a postupuje k níže položeným květům. Optimální teplota pro kvetení je v rozmezí 21-35 °C (Hermuth *et al.*, 2012). Toto optimum je ale při venkovním pěstování v podnebních podmínkách České republiky stěží dosažitelné. Zrna mohou být pluchatá i nahá, případně něco mezi tím, a jejich tvar závisí na skupině čiroku (viz kap. 2.1.1.)

Růst a vývoj čiroku je znázorněn na **Obr. 4**. Čirok zpočátku roste velmi pomalu a během prvních ~ 30 dní tvoří většinu nové biomasy listy. Poté začíná období rychlého růstu stébla (a přibývání dalších listových pater) a ~ 65 dní po vyklíčení je dosaženo maximální hmotnosti zelené části rostliny. Jednotlivá stádia vývoje vegetativní části rostliny jsou podobně jako u jiných trav označována symboly V1-VN podle počtu plně vyvinutých listů (1 až N; list je považován za plně vyvinutý tehdy, pokud je viditelná jeho pochva, „ouško“). V té době se již začíná vyvíjet květenství a po opylení dochází k rychlému nárůstu hmotnosti zrna. Jednotlivá stádia vývoje jsou detailně popsána na <http://sanangelo.tamu.edu/extension/agronomy/agronomy-publications/how-a-sorghum-plant-develops/>.



Obr. 4. Růst a vývoj čiroku znázorněný jako postupné přibývání hmotnosti sušiny různých částí rostliny. Převzato a upraveno podle <http://sanangelo.tamu.edu/extension/agronomy/agronomy-publications/how-a-sorghum-plant-develops/>.

Čirok patří mezi trávy a jeho anatomie vykazuje rysy typické pro tuto skupinu rostlin, s určitými odchylkami v anatomii listů, souvisejícími s tím, že čirok, stejně jako kukuřice či cukrová řepa, využívá tzv. C4 typ fotosyntézy. Má tzv. izobilaterální listy, tj. mezofyl u něj nediferencuje na palisádový parenchym u adaxiální strany listu a houbovitý parenchym u abaxiální strany listu, ale obě strany listu se vzájemně podobají. Vykazuje také tzv. Kranz anatomii typickou pro většinu C4 rostlinných druhů (cévní svazky jsou obklopeny tzv. buňkami pochev cévních svazků se silnou buněčnou stěnou a velkým množstvím většinou agranálních chloroplastů, kolem nichž je radiálně uspořádaná vrstva mezofylových buněk (Jiang *et al.*, 2011). C4 typ fotosyntézy je založen na zvýšení koncentrace CO₂ v buňkách pochev cévních svazků činností enzymu fosfoenolpyruvátkarboxylázy (PEPC), která fixuje CO₂ za vzniku čtyřuhlíkaté sloučeniny oxalacetátu. Protože PEPC na rozdíl od enzymu ribulózo-1,5-bisfosfátkarboxylázy/oxygenázy (Rubisco) nemá oxygenázovou aktivitu, nedochází u ní k soutěžení mezi O₂ a CO₂ o vazebné místo jako v případě Rubisco; toto soutěžení může u rostlin s C3 typem fotosyntézy značně snížit účinnost fotosyntetických procesů (zejména za podmínek omezeného přístupu k CO₂). Další reakce C4 fotosyntézy, při nichž dochází k přeměně oxalacetátu na jinou čtyřuhlíkatou sloučeninu, jejímu transportu do mezofylových buněk, dekarboxylaci této sloučeniny a vstupu takto uvolněného CO₂ do Calvinova cyklu, se liší mezi různými C4 druhy rostlin. Čirok patří k tzv. NADP-ME (*NADP Malic Enzyme*) subtypu C4 rostlin, u nichž je sloučeninou vznikající z oxalacetátu malát (Ghannoum, 2009).

C4 typ fotosyntézy se mimo jiné vyznačuje vyšší efektivitou využití vody (*Water Use Efficiency*; WUE), vyšší fotosyntetickou kapacitou a také vyšší schopností koncentrovat CO₂ i během zavírání průduchů v porovnání s běžnějším C3 typem. To vytváří předpoklad, že C4 rostliny jsou odolnější vůči nedostatku vody, což souhlasí s faktem, že tyto rostliny jsou hojně pěstovány v suchých geografických oblastech. Přesto se v nedávné době ukázalo, že na podmínky sucha jsou biochemické procesy C4 rostlin stejně nebo i více citlivé než u C3 rostlin a předpokládá se, že limitujícím faktorem by mohla být omezená fotorespirační kapacita nebo omezení Mehlerovy reakce, které při nedostatku vody nedokážou vykonávat funkci významných sinků elektronů (Ghannoum, 2009). Z toho zřejmě plyne, že výhodu ve suchovzdornosti získává čirok (jakož i jiné C4 rostliny) nejspíše jinými mechanismy.

2.1.4 Zemědělské využití a šlechtitelství ve světě a v České republice

Čirok je rozšířen především ve střední Africe a jižní Asii, ale některé variety a genotypy jsou pěstovány i v České republice. V současné době je největším producentem čiroku zřejmě USA (téměř 10 miliónů tun ročně), dále Indie (přes 7 miliónů tun ročně),

Nigerie (přes 5 miliónů tun ročně) a Súdán (přes 4 milióny tun ročně) (Varshney *et al.*, 2012). V těchto zemích se pěstuje zejména zrnový čirok, který je teplomilný a nejvyšších výnosů dosahuje při teplotách 40-43 °C a relativní vlhkosti vzduchu 10-30 %, kdy má vývoj květenství a dozrávání semen normální průběh (House, 1985). Obilky zbavené pluch se zde připravují buď v celku, nebo (častěji) se z nich mele mouka, která je vhodná především pro výrobu kaší (Hermuth *et al.*, 2012).

Šlechtění čiroku v těchto oblastech s velmi teplým klimatem je zaměřeno na sedm hlavních směrů, které byly v roce 2004 definovány ICRISAT v Indii (Rooney, 2007). Kromě výnosu zrna a jeho stability, kvality produkce, resistance ke škůdcům a chorobám a agromorfologických vlastností (resistance k poléhání nebo délka stébla) sem patří i schopnost přizpůsobení se pěstební podmínkám, jako jsou nezávislost na délce dne, ranost a odolnost vůči suchu nebo k vyššímu obsahu hliníkových iontů v půdě. Přitom právě zvyšování odolnosti čiroku vůči působení sucha je jedním z nejdůležitějších cílů šlechtitelů zaměřených na minimalizaci ztrát výnosu, neboť ty bývají často právě důsledkem stresu nedostatkem vody, který pravidelně doprovází pěstování na většině míst osazovaných touto plodinou (Kassahun *et al.*, 2010). Zároveň platí, že čirok obecně vykazuje vyšší přirozenou suchavzdornost než kukuřice (House, 1985).

V České republice je šlechtitelství čiroku zaměřeno hlavně na odolnost vůči nízkým teplotám, přičemž tomuto záměru více vyhovuje cukrová nežli zrnová varieta, nicméně využívány jsou obě. Šlechtění jako takové zde ale v současné době neprobíhá a veškerý rostlinný materiál je sem importován ze zemí, kde jsou šlechtitelské programy čiroku podporovány (House, 1985; Hermuth *et al.*, 2012). Důraz při výběru genotypů je kromě odolnosti vůči chladu kladen na co nejvíce zkrácenou vegetační dobu. I tak se v podnebí mírného pásma podaří zcela dopěstovat jen 30-40 % variet/genotypů. Jediným pracovištěm, které se na území České republiky zabývá hodnocením a introdukcí různých hybridních i nehybridních genotypů čiroku, je Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., v Praze-Ruzyni, jehož součástí je i Genová banka. V ní jsou za definovaných podmínek uloženy nově odzkoušené genetické zdroje čiroku, které se tak stávají rezervoárem genetického materiálu pro potenciální budoucí šlechtitelské programy v této oblasti (Hermuth *et al.*, 2012).

Pro šlechtění čiroku se nejčastěji používají techniky, které jsou obecně známé u kukuřice. Od 50. let 20. století se využívá metoda CMS (*Cytoplasmatic Male Sterility*) (Hermuth *et al.*, 2012), v poslední době se stále častěji uplatňují modernější metody šlechtění založené na mapování QTL (*Quantitative Trait Loci*) a šlechtění za pomoci molekulárních markerů (Deu *et al.*, 2006; Gebre, 2009; Rajarajan a Ganesamurthy, 2011).

2.2 Selektce a šlechtění čiroku na odolnost vůči suchu

Během pěstování bývá čirok obvykle vystaven působení mnoha abiotických stresorů, zejména suchu. Stres suchem je možno rozdělit do několika typů dle toho, v jaké fázi vývoje rostliny působí. Čirok se nejčastěji setkává s tzv. terminálním suchem, které ovlivňuje především zrání semen a jejich kvalitu a vyskytuje se tedy v období po vykvetení. Dále můžeme rozlišit sucho, jež se objevuje již před fází kvetení, a může mít tím pádem vliv na přechod z vegetativní do germinativní fáze. Nedostatek vody může být také indikován už v časných fázích vývoje u mladých rostlin čiroku, ale tento typ sucha se vzhledem k charakteru podnebí v zemích, kde je nejčastěji pěstován, příliš nevyskytuje (Kholova *et al.*, 2013).

Při šlechtění a testování čiroku na odolnost vůči suchu byla nalezena vysoká míra variability mezi jednotlivými genotypy a zároveň mezi zástupci jednotlivých skupin v mnoha měřených parametrech. Odlišnosti byly zaznamenány nejen v morfologických či zemědělských parametrech jako jsou morfologie kořenů, výška rostlin, výnos, počet zrn a jejich hmotnost v jednom klasu, ale také v různých fyziologických a biochemických parametrech, jako je účinnost transpirace, obsah chlorofylu, fotosyntetická kapacita nebo teplota listů (teplota porostu) (Mutava *et al.*, 2011). V poslední době se k tomu přidávají i parametry měřitelné pouze metodami molekulární biologie (genová exprese apod.). Vhodnost těchto parametrů pro praktické šlechtění a screening čiroku na suchovzdornost byla studována v řadě prací. Následující podkapitoly jsou věnovány jejich jednotlivým skupinám.

2.2.1 Sušina a její akumulace a remobilizace v rostlině

Akumulace sušiny a její remobilizace během období sucha je jednou ze vlastností suchovzdorných genotypů čiroku při jejich odpovědi na stres nedostatkem vody. Jde o měřitelný parametr, označovaný jako ARDM (*Amounts of Remobilized Dry Matter*), který je určen rozdílem hmotností sušiny nadzemní části rostliny v fázi kvetení a ve fázi zralosti, a navíc bývá často asociován s parametrem efektivity remobilizace, zkráceně REE (*Remobilization Efficiency*), který ARDM relativizuje. Tato vlastnost se přitom více uplatňuje za podmínek terminálního sucha, kdy rostlina stihne akumulovat dostatek sacharidů k vyrovnání se se stresem, než za podmínek sucha již během fáze kvetení. Zdá se, že pokud u rostlin čiroku proběhne stres suchem ještě během jejich reprodukčního období, dojde sice k výraznému snížení výnosu, ale efektivita remobilizace i relativní obsah sušiny vzroste. Zatímco u některých suchovzdorných genotypů se hodnoty tohoto parametru téměř nemění za normálních vs. stresových podmínek, většina suchovzdorných genotypů vykazuje významně vyšší ARDM i REE za podmínek nedostatku vody (Beheshti a Behboodi fard,

2010). V práci Ali *et al.* (2009) většina testovaných pákistánských suchovzdorných genotypů čiroku také vykazala vyšší hmotnost sušiny listů, ale některé genotypy odolné k suchu měly v tomto parametru ve srovnání s kontrolními rostlinami naopak průkazně nižší hodnoty. Vztah mezi hmotností sušiny, její akumulací či remobilizací a suchovzdorností tedy u čiroku není dosud zcela jednoznačný.

2.2.2 Morfologie kořenů

Hodnocení míry suchovzdornosti je možné také na základě srovnávání morfologických parametrů kořenů. Souvisí to se strategií, kdy se rostliny podrobené nedostatku vody soustředí na vývoj kořenového systému a tím se snaží nalézt jiný zdroj vody ležící ve větší hloubce nebo vzdálenosti od jejich stanoviště. Pákistánské genotypy čiroku selektované pro odolnost vůči suchu vykazaly větší délku, tloušťku a hmotnost sušiny kořenů a některé z těchto genotypů rovněž měly vyšší hmotnost kořenů v čerstvém stavu v porovnání s kontrolními rostlinami (Ali *et al.*, 2009). Dále byla u všech těchto odolných genotypů pozorována významně vyšší průměrná hodnota poměru hmotnosti kořen:prýt, což je jeden z nejčastěji hodnocených morfologických parametrů ve šlechtitelství rostlin na suchovzdornost (Ali *et al.*, 2011). Súdánský suchovzdorný genotyp čiroku prokázal schopnost využít vodu z hloubky 1-1,5 m pod zemí, což mu umožnilo významně delší kořeny. Kořeny také měly rozdílnou stavbu a kořenová síť byla hustší v hlubších vrstvách zeminy než u citlivého genotypu. Rovněž redukce růstu kořenového systému za podmínek sucha – suchovzdorný genotyp byl stále schopen tvořit tlusté uzlové kořeny - byla u suchovzdorného genotypu významně nižší než u genotypu citlivého na suchu (Tsuji *et al.*, 2005). Genotypy citlivé a odolné vůči suchu se také výrazně liší růstovým úhlem uzlových kořenů, kdy odolné rostliny dosahují menších hodnot úhlu a jsou tak lépe schopny prorůstat do hlubších vrstev půdy, přičemž tato variabilita není nijak ovlivněna obvyklou dosahovanou výškou rostliny, což bylo potvrzeno i v pozdější práci. Přitom se však bohužel zdá, že architektura kořenového systému je i vzhledem ke složitosti své regulace během růstu dědičná pouze slabě (Singh *et al.*, 2011).

2.2.3 Vodní režim rostliny

2.2.3.1 Transpirace

Jednou ze strategií rostlin, kterou využívají k vyrovnání se se stresem suchem a prostřednictvím již mohou zvýšit výnos zrna i za nepříznivých podmínek, bývá konzervace vody v rostlině. Totoho efektu lze dosáhnout zpomalením transpirace a současně zvýšením efektivity transpirace za podmínek nedostatku vody. Tato strategie umožňuje rostlině si

uchovat dostatek vody pro náročnou fázi zrání semen, kterou často sucho doprovází (Gholipour *et al.*, 2012). Genotypy čiroku je možné rozdělit do dvou skupin dle toho, zda si při omezení transpirace zachovávají vysoký nebo nízký práh frakce odpařitelné vody (*Fraction of Transpirable Soil Water*). Přitom vysoká hodnota tohoto práhu vede k tomu, že tyto genotypy nevykazují znak konzervace vody za vyšších hodnot deficitu tlaku par (*Vapor Pressure Deficit*), zatímco nízká hodnota práhu je typická pro ty genotypy, jež limitují transpiraci i za podmínek nízkého deficitu tlaku par (Gholipour *et al.*, 2012). Tyto genotypy dosahují pak uspokojivých výnosů za velmi nepříznivých pěstebních podmínek. Některé suchovzdorné genotypy vykazují menší snížení transpiračního toku při působení sucha, zatímco u jiných je snížení tohoto parametru za podmínek sucha srovnatelné s genotypy, které jsou v jiných parametrech hodnoceny jako na sucho citlivé, takže ani zde neexistuje jednoznačná souvislost se suchovzdorností (Tsuji *et al.*, 2003).

Vysoká efektivita transpirace (*Transpiration Efficiency*; TE), tedy množství vytvořené biomasy na jednotku transpirované vody, je typická pro všechny C4 rostliny. Jelikož vyšší hodnota TE bývá doprovázena vyšší akumulací biomasy než omezením transpirace vody, je tento parametr velmi vhodný pro další šlechtění kříženců, jež budou vykazovat vysoký výnos i za podmínek působení stresorů. V případě čiroku lze navíc v tomto parametru pozorovat značnou variabilitu mezi genotypy. U testovaných genotypů čiroku, z nichž většina vykazovala znak suchovzdornosti, se efektivita transpirace pohybovala v závislosti na stupni vývoje rostlin kolem 8,8 g kg⁻¹ u genotypů s vysokou průměrnou hodnotou TE a 7,3 g kg⁻¹ u genotypů s nízkým rozmezím zjištěné TE, přičemž tento rozdíl byl zachován na různých pěstebních místech a je tedy patrné, že vysokých nebo naopak nízkých hodnot TE dosahují příslušné genotypy čiroku nezávisle na prostředí, v němž jsou pěstovány. Vyšší změřené hodnoty TE listu pak zpravidla negativně souvisely s parciálním tlakem CO₂ uvnitř rostliny, což naznačuje spojitost s regulací zavírání průduchů. Ovšem tato souvislost opět nebyla u některých genotypů potvrzena (Xin *et al.*, 2009).

2.2.3.2 Efektivita využití vody

Sucho u většiny dosud studovaných genotypů čiroku nemění WUE, přičemž právě její vyšší úroveň je typická pro všechny C4 trávy (Beyel a Brüggemann, 2005). Ve studii, v níž byl hodnocen tento parametr u časných, středních a pozdních genotypů čiroku, se v tomto parametru významně lišily pouze rostliny se střední dobou dozrání, zatímco u podobně hodnocených genotypů prosa (*Panicum miliaceum* L.) byl rozdíl zaznamenán u všech tří kategorií (Emendack *et al.*, 2011). V dřívější práci byl ovšem zaznamenán význačný rozdíl v parametru WUE mezi genotypy s lesklým a hrubým povrchem svrchní strany listu, kdy

genotypy s lesklými listy prokázaly lepší efektivitu využití vody po celou dobu pěstování a také vysokou míru dědičnosti tohoto znaku do dalších generací. Tyto genotypy přitom vykázaly vysoký stupeň variability v odolnosti vůči suchu, zatímco genotypy s hrubým povrchem listů se v suchovzdornosti, která byla nízká, mezi sebou nelišily (Maiti *et al.*, 1994).

2.2.3.3 Další parametry popisující využití vody rostlinou

V parametru relativní obsah vody (*Relative Water Content*; RWC) vykazuje většina suchovzdorných genotypů čiroku významně vyšší hodnoty než kontrolní rostliny (Ali *et al.*, 2009). Významné rozdíly v hodnotě RWC mezi suchovzdorným a na sucho citlivým genotypem čiroku byly pozorovány především u vzorků pocházejících z nejnvýše položených listů (Xu *et al.*, 2000). U tří genotypů čiroku různě odolných vůči suchu, pocházejících z různých oblastí Sudánu lišících se v zásobení vodou, byly také pozorovány odlišnosti při odpovědi na sucho v dalších parametrech popisujících využití vody rostlinou. Rozdíly byly zaznamenány zejména ve vodivosti proudění vody rostlinou (*Liquid Water Flow Conductance*) a ve stupni redukce listové plochy oproti kontrolním rostlinám, které nebyly vystaveny suchu. Přitom jeden z genotypů, považovaný za lokální a přirozeně suchovzdorný, naopak zachoval průměrnou hodnotu vodního potenciálu v listech i za nedostatku vody, zatímco ostatní dva genotypy, mající svůj původ v zaplavených oblastech Sudánu, měly tento parametr za podmínek sucha významně snížen. Zatímco u tohoto suchovzdorného genotypu nebyl zaznamenán rozdíl v RWC v listech v závislosti na dostupnosti vody, jeden z citlivých genotypů vykázal za normálních pěstebních podmínek průkazně vyšší RWC než ostatní dva genotypy, ale za podmínek sucha naopak vykázal mnohem výraznější redukci RWC než oba zbylé genotypy a u obou citlivých genotypů byla přitom také významně nižší hodnota RWC než u suchovzdorného genotypu (Tsuji *et al.*, 2003).

2.2.3.4 Teplota porostu

Teplota porostu je sekundárním parametrem, který je často spojován s otevřeností průduchů a výdejem vody rostlinou (jsou-li průduchy zavřené, rostlina nevydává vodu a neochlazuje tudíž povrch listů). U čiroku se však teplota porostu se lišila mezi genotypy nezávisle na příslušnosti ke skupině a nezávisle na pěstebních podmínkách. Obecně platí, že rostliny čiroku, jež si udržují nižší teplotu porostu, vykazují větší výnosy, neboť využívají větší množství vody, zatímco rostliny s vyšší teplotou porostu vodu více zadržují a jsou tak schopny lépe odolávat podmínkám sucha (Mutava *et al.*, 2011).

2.2.4 Fotosyntéza a *stay green* fenotyp

2.2.4.1 Primární fotosyntetické procesy

Parametry související s efektivitou fotosyntézy jsou další skupinou, u níž se studuje možná souvislost se suchovzdorností čiroku. Při měření účinnosti primárních fotosyntetických procesů se často využívá metody analýzy OJIP křivky indukce fluorescence chlorofylu *a* (viz kap. 4.3.6). Z průběhu této křivky lze vypočítat hodnoty efektivity přenosu nebo naopak disipace energie v jednotlivých reakčních místech fotosyntetického elektron-transportního řetězce. Egyptské genotypy čiroku podrobené krátkodobému stresu suchem vykázaly buď jen nevýznamně malé nebo v případě genotypu nejtolerantnějšího k suchu žádné změny v průběhu OJIP křivky v porovnání s kontrolními rostlinami pěstovanými za normálních podmínek (Jedmowski *et al.*, 2013). Zdá se, že by zde mohl být potenciál pro budoucí využití této metody pro účely zjišťování míry suchovzdornosti čiroku.

2.2.4.2 Fotosyntetické pigmenty

Významnou roli ve funkci celého fotosyntetického aparátu hrají fotosyntetické pigmenty, obsažené ve světlosběrných anténách, jež jsou součástí fotosystémů. Jejich přibližný obsah lze zjistit např. pomocí nedestruktivních metod měření různých indexů spektrální odrazivosti (Sims a Gamon, 2002), nebo také pomocí tzv. SPAD (*Soil Plant Analysis Development*) přístroje, který měří absorbanci (resp. transmitanci) listu pro záření ve dvou vlnových délkách (Yadava, 1986). S jejich využitím bylo prokázáno, že zatímco u genotypů čiroku citlivých na suchu dochází během nedostatku vody k poklesu obsahu všech fotosyntetických pigmentů, u suchovzdorných genotypů byl tento pokles pouze malý a statisticky neprůkazný, což naznačuje, že vysoký obsah pigmentů v rostlinném pletivu by mohl být zásadní pro vyrovnávání se s nedostatkem vody (Talwar *et al.*, 2009). Sledování obsahu fotosyntetických pigmentů by tedy mohlo být do budoucna významnou metodou pro screening a šlechtění suchovzdorných genotypů čiroku. Přitom nezáleží, ve které vývojové fázi je rostlina podrobena stresu suchem – významný pokles obsahu pigmentů byl u citlivého genotypu cukrového čiroku zaznamenán nezávisle na tom, zda byl stres navozen ve vegetativní či reprodukční fázi nebo ve fázi zrání semen (Neto *et al.*, 2009).

2.2.4.3 *Stay-green* fenotyp

V případě šlechtění čiroku na odolnost vůči suchu se nejčastěji využívá fenoménu tzv. *stay-green* fenotypu. Ten byl už v minulosti popsán jako nejlépe charakterizovatelný rys, který přispívá k adaptaci čiroku na podmínky terminálního sucha (Rosenow a Clark, 1981).

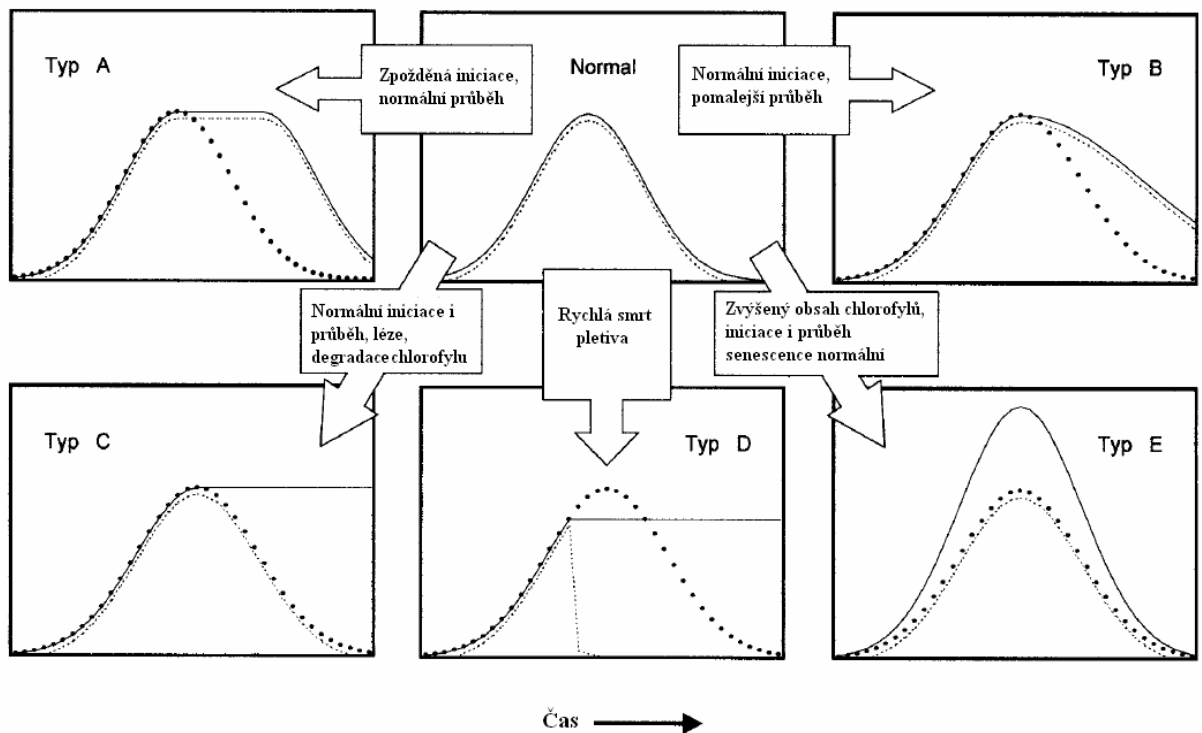
Jedná se o genetické varianty s opožděnou senescencí listů, u nichž je částečně nebo zcela zamezeno rozkladu fotosyntetického aparátu ve stárnoucím listovém pletivu. Společným rysem senescence je úbytek obsahu chlorofylu v listovém pletivu, což je jev pozorovatelný i pouhým okem, a také progresivní pokles fotosyntetické kapacity, jejímž důsledkem jsou špatná kvalita zrna a tím i redukce výnosu z pěstovaných plodin (Xu *et al.*, 2000). Senescence listů však na druhou stranu může rostlinu za podmínek dočasného sucha chránit před nadměrnými ztrátami vody (Beyel a Brüggemann, 2005). Přestože *stay-green* fenotyp má u všech druhů a genotypů velmi podobný projev, genetické a fyziologické cesty vedoucí k tomuto rysu jsou rozmanité (Thomas a Howarth, 2000).

Popsáno bylo 5 různých způsobů, kterými *stay-green* genotypy oddalují senescenci listů (**Obr. 5**). Typ A je způsob, kdy je senescence navozena později než u normálních genotypů, ale její průběh je poté normální. U chování typu B je senescence navozena v obvyklém čase, ale její průběh je v porovnání s ostatními genotypy stejného druhu značně zpomalen. V případě typu C je chlorofyl v listech ve větší nebo menší míře zadržován, ale měření fotosyntetické kapacity či jiných fyziologických parametrů ukazuje, že senescence přitom probíhá normální rychlostí, tudíž se jedná spíše o “kosmetický” jev. Další možností udržení fotosyntetických pigmentů v pletivu je rychlé zmrazení nebo naopak var (tj. rychlá smrt pletiva) a tento druh *stay-green* strategie je označován jako typ D. V poslední době byl definován typ E, kdy průběh a načasování senescence je standardní, pouze obsah fotosyntetických pigmentů je významně vyšší po celou dobu života rostliny. Přitom ale fotosyntetická kapacita zůstává zachována, protože vyšší je pouze obsah fotosyntetických barviv, ale obsah všech ostatních složek fotosystémů je stejný jako u senescentních genotypů (Thomas a Howarth, 2000).

Morfologické, fyziologické a biochemické parametry spojené se stay-green fenotypem

Mace *et al.* (2012) prokázali souvislost mezi *stay-green* fenotypem a růstovým úhlem uzlových kořenů. Z fyziologického hlediska se *stay-green* fenotyp zdá být důsledkem rovnováhy mezi poptávkou zrna po zvýšení hladiny dusíku a podporou jeho dodávky translokací z vegetativní části rostliny a jeho příjmem kořeny během zrání zrna (Borrell a Hammer, 2000). *Stay-green* kříženci asimilují více dusíku a mají vyšší specifický obsah dusíku v listovém pletivu (Borrell *et al.*, 2001). Důležitou roli v těchto procesech hraje zvýšená hladina kyseliny abscisové (ABA), již je regulována exprese celé řady genů asociovaných s odpovědí na stresové podmínky a jež zároveň reguluje úroveň otevírání stomat a jiné fyziologické děje, a naopak snížená hladina ethylenu a dalších rostlinných cytokininů (House, 1985). U *stay-green* genotypů čiroku byl také prokázán vyšší obsah

sacharózy ve všech měřených listech než u genotypů nevykazujících *stay-green* fenotyp, u nichž se zároveň lišil obsah sacharózy mezi jednotlivými měřenými listy a ten navíc vzrůstal během zrání (Burke *et al.*, 2010). Přitom v dřívější práci byla u trpasličího *stay-green* genotypu B35 popsána nižší úroveň syntézy sacharózy za podmínek dostatečné závlahy než u genotypu označovaného za senescentní (Sowder *et al.*, 1997). Mezi *stay-green* a senescentními genotypy byl rovněž zaznamenán významný rozdíl ve kvantovém výtěžku primárních dějů fotosyntézy během krátkodobého stresu suchem, a to ve prospěch *stay-green* genotypů (Burke *et al.*, 2010).



Obr. 5. Pět možných strategií *stay-green* genotypů při oddalování senescence listů. Nepřerušovaná křivka odpovídá průběhu změn v obsahu chlorofylu v listech, puntíková křivka značí normální průběh (u genotypů, které nejsou *stay-green*) a slabě tečkovaná křivka popisuje průběh hodnot fotosyntetické kapacity. Převzato a upraveno podle Thomas a Howarth (2000).

QTL mapování stay-green lokusů

Komplexnost odpovědi na stres suchem činí *stay-green* fenomén obtížně studovatelný za pomoci tradičních genetických a fyziologických metod. Proto je v poslední době prováděna stále častěji molekulární analýza *stay-green* genotypů široce za pomoci metody QTL. Výsledkem těchto QTL studií byla identifikace několika genomických oblastí spojených s odolností vůči stresorům v období po vývoji květenství (Gebre, 2009). Zpočátku bylo detekováno šest různých *stay-green* QTL patřících do pěti vazebných skupin, z nichž QTL ležící ve třech těchto vazebných skupinách byly rovněž pozitivně spojeny s vyšším výnosem zrna v podmínkách dostatečného zavlažování (Tuinstra *et al.*, 1997). To může

indikovat fyziologickou souvislost mezi expresí *stay-green* genů během sucha po období květu a výnosu zrna za podmínek dostatečné závlahy (Gebre, 2009). Posléze byly identifikovány čtyři hlavní *stay-green* QTL, označené jako *Stg1*, *Stg2*, *Stg3* a *Stg4*, a několik dalších minoritních lokusů, značené nejčastěji *StgA-J*, které mohou modulovat míru exprese *stay-green* fenotypu (Harris *et al.*, 2007). Lokusy *Stg1* a *Stg2* jsou lokalizovány na chromozomu SBI-03 a vysvětlují ~20 % , resp. ~30 % genetické variability u daného znaku (Xu *et al.*, 2000). Lokus *Stg3* leží na chromozomu SBI-02 a *Stg4* na chromozomu SBI-05 a vysvětlují ~16 % , resp. 10 % fenotypové variability (Sanchez *et al.*, 2002). U kříženců odvozených od genotypu B35, který se často využívá jako donor těchto *stay-green* QTL, je tedy míra jejich příspěvku ke *stay-green* genotypu hodnocena jako *Stg2>Stg1>Stg3>Stg4*. Přitom ty genomické oblasti, které odpovídají lokusům *Stg1* a *Stg2*, obsahují geny, jejichž exprese je regulována hladinou ABA, a také geny pro klíčové enzymy fotosyntetického aparátu a *heat-shock* proteiny (Gebre, 2009). V práci Xu *et al.* (2000) byly zároveň popsány tři QTL mající souvislost s udržováním obsahu chlorofylu v listech, které dohromady podmiňují 25-30 % pozorovatelné fenotypové variability.

Stay-green QTL byl rovněž nalezen na chromozomu SBI-01 (Kebede *et al.*, 2000). V jiné studii, kde byly k mapování využity introgressní linie odvozené křížením B35 s genotypy Tx7000 a Tx430, bylo identifikováno dalších sedm *stay-green* lokusů, z nichž tři hlavní (*StgA*, *StgD* a *StgG*) přispívají ke *stay-green* fenotypu ze 42 % , a čtyři minoritní lokusy (*StgB*, *StgI.1*, *StgI.2* a *StgJ*) vysvětlují dalších 25 % genetické variability *stay-green* fenotypu (Crasta *et al.*, 1999).

Jako donor *stay-green* QTL je často také využíván genotyp E36-1. V případě jeho kříženců s genotypy IS9830 a N13 bylo detekováno několik dalších *stay-green* QTL, vysvětlujících 31-42 % fenotypové variability, z nichž tři hlavní, ležící v regiorech LG A (chromozom SBI-01), LG E (chromozom SBI-07) a LG G (SBI-10) pocházejí právě od donorového rodiče E36-1 (Hausmann *et al.*, 2012). Tyto lokusy, společně se *stay-green* QTL pocházejícími z donorového genotypu B35, jsou potenciálními kandidáty pro přenos *stay-green* znaku na místně přizpůsobené elitní genotypy čiroku (Gebre, 2009). Popsány byly také četné epistatické interakce jednak mezi samotnými geny ležící v oblastech těchto *stay-green* QTL a rovněž mezi těmito geny *stay-green* lokusů a geny ležícími v ostatních oblastech genomu čiroku (Subudhi *et al.*, 2000).

Analýza stay-green fenotypu pomocí SSR markerů

Dalším možným přístupem při screeningu a selekci suchovzdorných genotypů čiroku je molekulární metoda využívající analýzu přítomnosti nebo absence konkrétních alel *Simple*

Sequence Repeat (SSR) markerů. Pomocí této metody byl vytvořen genotypový dendrogram pro 100 různých genotypů čiroku, pocházejících z odlišných geografických oblastí, u nichž byl v různé míře pozorován fenotypový projev *stay-green* znaku. Nalezeno bylo 13 různých SSR markerů s vyšším či nižším stupněm polymorfismu příslušných alel (2-9 různých polymorfních alel) (Rajarajan a Ganesamurthy, 2011). Jelikož je zároveň možné kvantifikovat míru projevu *stay-green* znaku na základě fyziologických a morfologických parametrů jako jsou rychlost senescence listů a především pak výhoda ve výnosu zrna za podmínek terminálního sucha v porovnání s genotypy, jež tento znak nevykazují, bylo možné hodnotit míru asociace jednotlivých přítomných SSR markerů se *stay-green* fenotypem a na základě tohoto hodnocení rozdělit testované genotypy čiroku do 27 podskupin, jimž odpovídají větve genotypového dendrogramu. Toto rozdělení přitom v zásadě neodpovídá geografickému původu jednotlivých genotypů, což mimo jiné ukazuje na vysokou míru variability mezi genotypy pocházejícími z jedné oblasti. V podskupinách VII a XV se nacházejí genotypy, které sice v menší míře vykazovaly *stay-green* znak, ale posléze se ukázaly být spíše citlivé vůči stresu suchem. Zdá se tedy, že v jejich genomu chybí *stay-green* specifické geny, čímž jsou tyto genotypy vhodné zejména pro pěstování v bohatě zavlažovaných lokalitách (Rajarajan a Ganesamurthy, 2011). Molekulární analýza SSR markerů se do budoucna zdá být velmi přínosnou a poměrně rychlou metodou pro šlechtění, screening a selekci výhodných hybridů s žádoucími vlastnostmi, a to nejen v případě čiroku.

2.2.4.4 Fotosyntetické enzymy

U suchovzorných genotypů čiroku byly také sledovány biochemické parametry popisující enzymovou aktivitu některých enzymů fotosyntetického aparátu C4 rostlin, jako jsou Rubisco, PEPC nebo pyruvátfosfát dikináza (PPDK) (Beyel a Brüggemann, 2005). Jejich enzymová aktivita je přitom limitována mimo jiné zavíráním průduchů, což je jedna z prvotních odpovědí rostlin na suchu. Vzrůst množství těchto enzymů u stresovaných rostlin je rovněž poměrně častým jevem a má zřejmě do jisté míry eliminovat sníženou enzymovou aktivitu. Ta v případě PPDK u kontrolních rostlin čiroku odpovídala současně měřené čisté rychlosti fotosyntézy, zatímco u stresovaných rostlin byla enzymová aktivita významně vyšší a převyšovala rychlost fotosyntézy. Aktivita PEPC je negativně ovlivněna hladinou malátu, který se v pletivu během stresu suchem obvykle akumuluje, a také hodnotou pH. Hladina malátu reguluje zároveň aktivitu enzymu Rubisco, jehož množství ani aktivita se však v tomto pokusu mezi jednotlivými genotypy čiroku prokazatelně nelišily (Beyel a Brüggemann, 2005). V jiné práci bylo přitom u stresovaných rostlin suchovzdorného genotypu E36-1 a částečně také u genotypu M35-1 zaznamenáno vyšší množství Rubisco,

vyšší aktivita PEPC a vyšší efektivita fotosyntézy v porovnání s ostatními testovanými suchovzdornými genotypy, a to i přesto, že u všech stresovaných rostlin všech genotypů došlo k poklesu obsahu chlorofylu v listovém pletivu o 20-30 % (Jagtap *et al.*, 1998). Zdá se tedy, že ani tyto parametry nejsou jednoznačně využitelné pro šlechtění a screening čiroku na suchovzdornost.

2.2.5 Ochrana před poškozením buněk

2.2.5.1 Antioxidační enzymy

Antioxidační enzymy jako superoxiddismutáza (SOD), askorbátperoxidáza (PO) nebo kataláza (CAT) jsou důležitou enzymatickou výbavou rostlin účastníci se odpovědi na stres suchem a odolnosti vůči následkům působení abiotických stresorů cestou odstraňování volných kyslíkových radikálů (ROS). U genotypu čiroku, který byl hodnocen jako citlivý na sucho a další abiotické stresory (vysokou teplotu a ozáření), došlo k mnohem vyšší peroxidaci lipidických membrán za působení všech tří typů stresů než u suchovzdorných genotypů, což je zřejmě důsledkem toho, že tento genotyp nevykázal významné zvýšení obsahu antioxidačních enzymů za stresových podmínek (Jagtap a Bhargava, 1995). Suchovzdorné genotypy čiroku se ale ve způsobu adaptace na nedostatek vody a tedy i zneškodňování ROS lišily - některé upřednostňovaly zvyšování množství a aktivity CAT, jiné genotypy, například E36-1, vykazující vyšší míru přizpůsobení na sucho, výrazně zvyšovaly za těchto podmínek množství SOD a většinou také PO. V každém případě se zdá, že genové manipulace vedoucí ke zvýšení exprese genů kódujících příslušné antioxidační enzymy by mohly vést k navození vyšší míry odolnosti vůči abiotickým stresorům u takto transformovaných rostlin.

2.2.5.2 Prolin

Prolin je aminokyselina úzce spjatá s odolností vůči různým abiotickým stresorům, zejména suchu. Bývá charakterizován jako kompatibilní solut a osmoprotektant, který chrání buněčné struktury před působením vysoké osmolarity a ROS, které druhotně vznikají během stresových období. U suchovzdorných genotypů čiroku byla pozorována vysoká míra akumulace prolinu během období nedostatku vody, zatímco u citlivých genotypů významný rozdíl hladin prolinu mezi stresovanými vs. kontrolními skupinami zjištěn nebyl (Sivaramakrishnan *et al.*, 1988). Náhlý vzrůst množství prolinu v listovém pletivu suchovzdorných linií čiroku je pozorovatelný, jakmile dojde k poklesu vodního potenciálu a relativního obsahu vody v listu. Rostlina prolin akumuluje převážně v zelených listech, zatímco v pletivu uschlých či opadaných listů nebyl prakticky nalezen. Jde přitom o dočasný

stav, kdy se po ukončení stresu suchem množství prolinu navrátí na úroveň kontrolních rostlin stejného genotypu již během několika dní (Sivaramakrishnan *et al.*, 1988). Zdá se, že prolin je i v případě čiroku jedním z nástrojů rostliny přispívající k jejímu rychlejšímu zotavení po působení sucha, a to zejména u těch genotypů, jež vykazují zvýšenou schopnost odolávat nedostatku vody.

2.2.5.3 *Manitol*

V případě čiroku se také v nedávné době objevila práce, v níž byla u genotypu citlivého na abiotické stresory uměle posílena dráha syntézy manitolu transformací rostlin genem kódujícím manitol-1-fosfátdehydrogenázu (*mt11*), pocházejícím z bakterie *Escherichia coli*. Transgenní rostliny staré 15 dnů vykazovaly významně vyšší klíčivost za přítomnosti 0,2 M NaCl a také významně větší průměrné hodnoty délky kořenů a prýtu za podmínek zasolení a nedostatku vody v porovnání s netransformovanými rostlinami. Transgenní rostliny si také byly schopny zachovat vyšší RWC v listu a po zotavení se z nedostatku vody vytvořily v průměru 2,8× delší kořeny a 1,7× delší prýt než netransformované rostliny (Maheswari *et al.*, 2010). Ačkoliv tyto výsledky poukazují na účinek manitolu v odolnosti vůči suchu a vyššímu zasolení, cíl a mechanismus účinku vysoké koncentrace manitolu v rostlinách čiroku dosud není zřejmý. Pravděpodobně bude, podobně jako u některých dalších rostlinných druhů, fungovat jako osmoprotektant a kompatibilní solut.

2.2.5.4 *Dehydriny a jiné LEA proteiny*

Suchovzdornost u čiroku souvisí i se zvýšenou produkcí některých antistresových proteinů, jejichž syntéza v rostlinách probíhá často v malé míře konstitutivně a její míra pak významně vzrůstá za nedostatku vody. Jedná se zejména o tzv. dehydriny, patřící do rodiny tzv. LEA (*Late Embryogenesis Abundant*) proteinů. Přestože u dehydrinů nebyla nikdy odhalena žádná enzymová aktivita, která by vysvětlovala jejich funkci pro vznik suchovzdornosti rostlin, a ani jiný mechanismus jejich působení během stresu prozatím není znám, je jisté, že spolu s prolinem a dalšími proteinovými produkty genů, jejichž exprese je indukovatelná abiotickými stresy, hrají významnou úlohu při ochraně vnitřního prostředí rostliny vůči působení stresorů.

V případě čiroku byl jako první odhalen hydrofilní peptid označovaný jako DHN1, který se vyskytuje jak u genotypů odolných, tak citlivých vůči suchu. Je kódován genem *dhn1*, jehož exprese prudce vzrůstá při působení sucha a jež je mimo jiné zřejmě regulována hladinou ABA, podobně jako je tomu u dalších genů kódujících tyto stresové proteiny

(Shinozaki a Yamaguchi-Shinozaki, 2007). Příslušná mRNA i pravděpodobný proteinový produkt, který má molekulovou hmotnost okolo 21 kDa a je tedy mnohem větší než 16,3 kDa peptid predikovaný na základě cDNA (*Complementary DNA*) sekvence, byly v mnohem větší míře zjištěny v pletivu dospělých rostlin než v pletivu mladých rostlin (Wood a Goldsbrough, 1997). Dále bylo u čiroku odhaleno 11 genů s různou mírou podobnosti s geny etablovanými u jiných rostlinných druhů jako geny kódující dehydriny nebo LEA proteiny. Míra exprese těchto genů byla několikrát vyšší při působení stresu suchem a vysokým stupněm zasolení. U genu *dhn2* byla pozorována 10-20× vyšší exprese v kořenech, a to i za nestresových podmínek (Buchanan *et al.*, 2005). Avšak vzhledem k tomu, že nebyly pozorovány významné rozdíly v expresi těchto inducibilních genů u odolných a citlivých genotypů čiroku během sucha, není možné tyto výsledky využít pro vysvětlení rozdílů mezi nimi (Wood a Goldsbrough, 1997).

Kromě dehydrinů a LEA proteinů, jejichž varianty se nacházejí i u jiných druhů rostlin, byl u čiroku identifikován specifický protein označený posléze jako BsCyp. Jde také o hydrofilní a navíc varu odolný protein, který zůstává rozpustný i za vysokých teplot, podobně jako LEA proteiny. K jeho syntéze docházelo u testovaného genotypu čiroku při stresu suchem, vysokou teplotou a také při podání exogenních dávek ABA (Sharma a Vasudeva, 2006). Pokud by se v budoucích pokusech potvrdil rozdíl v proteosyntéze BsCyp mezi odolnými a citlivými genotypy za podmínek sucha, mohl by tento protein posloužit jako další marker suchovzdornosti u čiroku.

2.2.6 Transkripční faktory

Studium genové exprese a její rozdílnosti mezi genotypy tolerujícími sucho a citlivými na sucho za podmínek nedostatku vody je další klíčovou metodou, která umožňuje lépe pochopit molekulární mechanismy suchovzdornosti čiroku. V pracích Buchanan *et al.* (2005) a Dugas *et al.* (2011) byla analýza transkriptomu provedena u rostlin čiroku, jež byly podrobeny stresu suchem, stresu nadbytkem solí a exogennímu podání ABA, přičemž stres suchem byl navozen pomocí 20% polyethylenglykolu. Významné odlišnosti ve složení transkriptomu byly zaznamenány jak mezi genotypy v rámci jednoho typu pěstování a také u každého genotypu mezi různými typy pěstebních stresů, tak i mezi prýtem a kořenem těchto rostlinných genotypů při působení různých typů stresu. U více než 1000 genů bylo po zahájení všech tří typů stresu zjištěno více jak dvojnásobné zvýšení míry exprese, což indikuje, že více než 4 % všech genů nacházejících se v genomu čiroku má spojitost s odpovědí na stres suchem či vysokým zasolením nebo reagují na vysokou koncentraci ABA (Buchanan *et al.*, 2005). Zároveň rostliny vystavené stresu suchem a vysoké koncentraci soli

(což bylo v obou případech doprovázeno ztrátou buněčného turgoru) buď ve velké míře akumulovaly ABA nebo případně střídaly různé dráhy její distribuce rostlinnými pletivy. Ta pak společně s dalšími fytohormony přímo nebo nepřímo ovlivnila expresi genů kódujících transkripční faktory spjaté s odolností vůči abiotickým stresorům. U čiroku bylo odhaleno 22 takovýchto genů, jejichž exprese souvisí s odpovědí na stres suchem a jejichž proteinové produkty se vážou na různé *cis*-elementy vyskytující se v promotorových oblastech jiných genů, jejichž produkty se přímo účastní vyrovnání se s působením stresorů (Buchanan *et al.*, 2005). Porovnáním transkriptomu genotypů čiroku s již známými transkripty rýže, kukuřice a huseníčku bylo dále odhaleno více než 50 různých ortologů genů, jejichž exprese byla modulována působením zmíněných stresorů, avšak o jejichž funkci dosud nebylo nic známo (Dugas *et al.*, 2011). V jiné práci zaměřené na analýzu transkriptomu byla v klíčících semenech čiroku nalezena 581 pb dlouhá sekvence, označená jako *SbEST8*, jejíž transkripce indukovaná za podmínek sucha byla po 30 dnech pěstování významně snížena pouze u genotypu citlivého na sucho, zatímco u odolných genotypů byla její míra zachována nebo dokonce významně vzrostla. Jde přitom o sekvenci bez homologie k zatím známým sekvencím a mechanismus jejího působení není prozatím objasněn (Sharma *et al.*, 2005).

2.2.7 Obsah biogenních prvků

Hodnocení suchovzdornosti rostlin je také možné provádět pomocí moderních analyzačních technik, jež dokáží přesně změřit obsah jednotlivých chemických prvků v rostlině. Jedná se o techniku měření rozptylu energie rentgenové fluorescence (*Energy Dispersive X-Ray Fluorescence*; EDXRF), která je vhodná k měření koncentrace kovových prvků v rostlinném pletivu. Jejím prostřednictvím bylo odhaleno, že zejména v semenech a mladých rostlinkách suchovzdorných genotypů čiroku se nacházejí Fe a K ve významně vyšších koncentracích než u citlivých genotypů. Významné odlišnosti byly u některých odolných genotypů zaznamenány také v koncentraci Zn. U citlivých genotypů naopak vzrůstala koncentrace Fe v průběhu zrání a v období zralosti pak byla významně vyšší než u odolných genotypů (Abu Assar *et al.*, 2002). Koncentrace ostatních biotických prvků se významně nelišily a zřejmě závisí spíše na pěstebních podmínkách a tedy jejich dostupnosti v půdě. Přitom optimální obsah K v půdě a tím i jeho zvýšený příjem a obsah v rostlině významně ovlivňuje schopnost odolávat suchu, a to nejen v případě suchovzdorných genotypů čiroku (Asgharipour a Heidari, 2011). EDXRF je jednou z dalších rychlých a nedestruktivních technik, jež by mohla v budoucnu najít širší využití při screeningu nových nebo dosud neprozkoumaných genotypů čiroku na odolnost vůči nejčastějším abiotickým stresorům.

2.2.8 Ethylen

Produkce ethylenu, který je považován za fytohormon spjatý se senescencí rostlin, byla sledována u mladých rostlin čiroku (genotypu odolného k suchu a genotypu citlivého k suchu), jež byly podrobeny krátkodobému stresu nedostatkem vody a poté byla její dodávka opět obnovena (Zhang a Kirkham, 1991). Rozdíl v produkci tohoto plynu mezi genotypy byl zaznamenán především po 6 hodinách stresu, přičemž po delší době byla produkce ethylenu u citlivého genotypu již srovnatelná nebo dokonce vyšší než u suchovzdorného genotypu ve stejné fázi stresu. Zdá se tedy, že množství produkovaného ethylenu neodráží až tak schopnost konkrétního genotypu čiroku odolávat stresu jako spíše míru nedostatku vody, tedy stres, jež na rostlinu aktuálně působí (Zhang a Kirkham, 1991).

2.2.9 Shrnutí

Vhodnost jednotlivých metod využitelných pro screening čiroku na suchovzdornost je podmíněna celou řadou faktorů. Jedním z nejdůležitějších je existence jednoznačně prokazatelné souvislosti mezi hodnotami měřeného parametru a suchovzdorností/citlivostí k suchu u jednotlivých genotypů. Ačkoliv v různých výše zmíněných pracích byla tato souvislost u řady parametrů popsána, jiní autoři, pracující s odlišnými genotypy, ji zase vyvrátili a nedá se tedy říci, že by měla obecnou platnost. To platí např. pro většinu parametrů popisujících vodní režim rostliny, ARDM a REE, obsah či aktivitu fotosyntetických enzymů, produkci ethylenu či obsah antistresových proteinů typu dehydrinů aj. U jiných parametrů se zatím souvislost se suchovzdorností zdá být jednoznačnější (i když autoři, kteří ji popisují, často hodnotili pouze malé množství genotypů), problémem však je relativně velká pracnost a časová náročnost příslušných metod měření, v podstatě znemožňující praktické použití při screeningu nebo selekci, kdy je vyžadováno hodnocení velkých počtů testovaných rostlin (např. různé parametry morfologie kořenů, obsah či aktivita antioxidantů a osmoprotektantů). V některých případech také není zcela zřejmé, zda by příslušné parametry vypovídaly o suchovzdornosti za jakýchkoli podmínek sucha a při hodnocení rostlin v jakémkoli vývojovém stádiu.

Zatím nejvhodnějším parametrem pro šlechtění a screening na suchovzdornost se u čiroku zdá být *stay-green* fenotyp. Molekulární metody pracující se *stay-green* QTL jsou sice značně vypovídající a jejich výsledky se zdají být jednoznačné, ale zároveň jsou finančně i časově více nákladné a kladou vysoké dovednostní a intelektuální nároky na hodnotitele. Z tohoto hlediska se zdají být lepší metody využívající měření spektrální odrazivosti listů a fluorescence chlorofylu *a*. Jejich výhodou je rychlost a tudíž možnost testovat mnoho rostlin najednou a v důsledku jejich nedestruktivní povahy také možnost opakování měření, což

umožňuje sledovat i dynamiku odolnosti a průběh senescence např. za různých podmínek. Jejich interpretovatelnost však nemusí být při malých souborech rostlin dostatečná (to pochopitelně platí i o většině ostatních metod).

Různé „molekulárně-biologické“ parametry (exprese specifických genů, množství určitých proteinů apod.) zatím u čiroku nejsou natolik dostatečně prostudovány, aby bylo možné jejich vhodnost pro šlechtění na suchovzdornost u tohoto rostlinného druhu jednoznačně doporučit. Slibnou výhlídkou do budoucna mohou být metody genového inženýrství rostlin, i když čirok v tomto ohledu značně zaostává za jinými druhy zemědělských plodin (především rýží, ale i pšenicí nebo kukuřicí) (Deikman *et al.*, 2012).

3. Cíle práce

- zjistit, zda je možné genotypy čiroku dvoubarevného, vyšlechtěné pro podmínky pěstování v Indii, úspěšně pěstovat v polních podmínkách i v České republice
- ověřit, zda je možno pro testování odolnosti genotypů čiroku k suchu využít mladé rostliny pěstované v podmínkách nádobových (skleníkových) pokusů
- zjistit možnosti využití vybraných metod měření fotosyntetických (případně dalších) parametrů k rozlišení různých genotypů čiroku na základě jejich předpokládané suchovzdornosti

4. Materiál a metody

4.1 Použitý rostlinný materiál

Pro účely pokusů byly vybrány čtyři linie čiroku (*S. bicolor* var. *eusorghum*): R16, S35, B35 a E36-1, které jsou často používány ve šlechtění na odolnost vůči suchu. Linie R16 byla vyšlechtěna v Directorate of Sorghum Research (DSR) v Indii a je odvozena z genotypů IS2950 a M35-1. Patří do skupiny *durra*, v indických podmínkách je řazena mezi *rabi* (zimní) genotypy, je pro ni charakteristická časná senescence a trpasličí fenotyp. Linie S35 byla vyšlechtěna v ústavu ICRISAT v Indii na základě křížení rodičů SPV 35, E35-1 a CS 3541. Patří do skupiny *caudatum*, v indických podmínkách je rovněž řazena mezi *rabi* (zimní) genotypy, vyznačuje se časnou senescencí, její stébla mají vysoký obsah cukru. Linie B35 (v současnosti značená také jako BT×642) byla vyšlechtěna v Texas Agricultural Experiment Station (Texas AgriLife Research, součást Texas A&M) v USA. Je odvozena od etiopské krajové odrůdy IS12555, patří do skupiny *durra* a vyznačuje se pozdní senescencí a výrazně trpasličím fenotypem. Používá se ve šlechtění na odolnost k suchu jako zdroj *stay-green* QTL. Linie E36-1 je krajová odrůda původem z Etiopie, patří do skupiny *guinea-caudatum*, je pro ni charakteristická časná senescence, stébla s vysokým obsahem cukru a trpasličí fenotyp a stejně jako B35 se používá ve šlechtění na odolnost k suchu jako zdroj *stay-green* QTL (*stay-green* fenotyp však podle Thomas a Howarth (2000) zřejmě vykazuje pouze v podmínkách sucha).

Kromě těchto čtyř linií bylo do pokusu zahrnuto celkem 11 tzv. QTL-introgresních linií (IL) čiroku vzniklých 3-4 generacemi zpětného křížení linie B35 na linii S35 nebo linii R16. Tyto IL byly vyšlechtěny v posledních několika letech v ICRISAT, odkud také pocházelo veškeré osivo, z něhož byly rostliny použité v této práci vypěstovány. Jelikož se jedná o nedávno vyšlechtěné genotypy, je známo jejich genetické pozadí, avšak jejich fenotypový projev prozatím není příliš prozkoumán. Přehled těchto IL je uveden v **Tab. 1**. Křížení a následná selekce IL byly v ICRISAT prováděny tak, aby se z donorové linie B35 do potomstva přenesl vždy pouze jeden ze šesti známých *stay-green* QTL (Stg 1, Stg 2, Stg 3, Stg 4, Stg A, Stg B) (Vadez *et al.*, 2011).

Tab. 1. *Stay-green* QTL-introgressní linie zkoumané v této práci, připravené zpětným křížením linie B35 na rekurentního rodiče.

Označení linie v ICRISAT	Zkratka používaná v této práci	Rekurentní rodič	Typ <i>stay-green</i> QTL
K214	K214	R16	Stg B
K241	K241	R16	Stg A
K258	K258	R16	Stg 3
K279	K279	R16	Stg 4
K359 white	K359	R16	Stg B
S35 SG 6001	01	S35	Stg B
S35 SG 6008	08	S35	Stg A
S35 SG 6016	16	S35	Stg 3
S35 SG 6024	24	S35	Stg 4
S35 SG 6026	26	S35	Stg 2
S35 SG 6040	40	S35	Stg 1

4.2 Organizace pokusů a pěstování rostlin

První metodické pokusy byly provedeny v létě a na podzim 2011 (první pokusná série). Jejich účelem bylo ověření možnosti pěstovat indické genotypy čiroku v polních podmínkách v podnebí mírného pásma a ověření možnosti využití vybraných destruktivních i nedestruktivních měřících metod, které jsou často navrhovány jako vhodné metody pro stanovení suchovzdornosti, na těchto rostlinách. Od každého z 15 výše uvedených genotypů čiroku bylo dne 31.5.2011 vyseto přibližně 30-40 semen, a to přímo na pokusné pole v Brožkově genetické zahradě Katedry genetiky a mikrobiologie, Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy v Praze (54°04' severní šířky, 14°25' východní délky, nadmořská výška 238 metrů) do mělkých řádků vzdálených od sebe 50 cm. Vzdálenost mezi body v řádku byla cca 15 cm, obvykle byla do jednoho bodu umístěna vždy 2-3 semena. Rostliny byly průběžně zalévány podle potřeby a nijak uměle nepřihnojovány ani jinak neošetřovány či jednoceny. Po 120 dnech od výsevu, dne 29.9.2011, bylo provedeno jednorázové měření indexů spektrální odrazivosti NDVI (*Normalized Difference Vegetation Index*), PRI (*Photochemical Reflectance Index*), efektivního kvantového výtěžku fotochemické přeměny energie ve fotosystému II (Q_Y) a OJIP části křivky indukce fluorescence chlorofylu *a* (dále jen „OJIP křivky“) u náhodně vybraných 10 rostlin od každého z genotypů. Všechna měření byla prováděna na praporcových listech, které byly poté odebrány a uskladněny v hlubokomrazicím boxu při teplotě -80 °C pro pozdější stanovení obsahu prolinu.

V létě a na podzim roku 2012 byla uskutečněna druhá série polních pokusů. Opět bylo v polních podmínkách v Brožkově genetické zahradě vyseto dne 14.5.2012 přibližně 60 semen od každého z 15 genotypů čiroku; podmínky pěstování byly podobné jako v předchozím roce, pouze vzdálenosti mezi řádky byly tentokrát 70 cm, mezi rostlinami v řádku byly 50 cm (po zkušenostech z minulého roku bylo rozhodnuto vzdálenosti zvětšit,

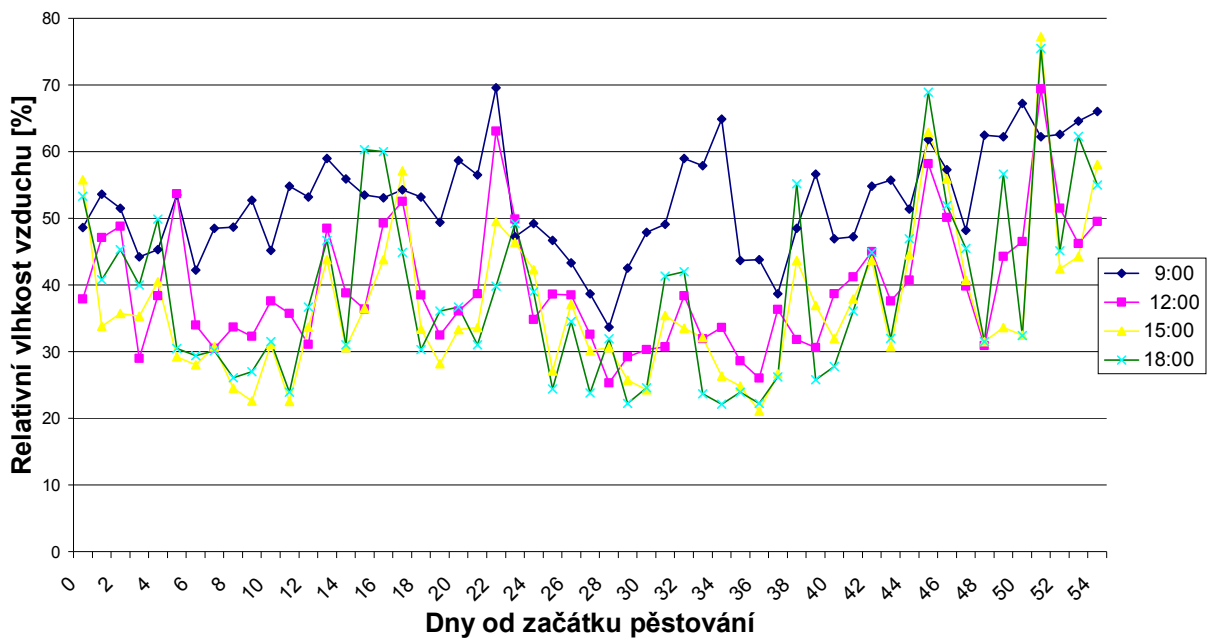
aby se s rostlinami dalo lépe manipulovat a byl k nim lepší přístup). Po 98 dnech od výsevu, dne 20.8.2012, bylo zahájeno měření parametrů NDVI, PRI, Q_Y a OJIP křivky u vybraných rostlin každého genotypu, přičemž u všech rostlin (vždy stejných) toto měření proběhlo čtyřikrát s intervalem ~ 7 dní. Měřeno bylo vždy 12-31 rostlin každého genotypu, tj. všechny rostliny, které vyrostly. Vzhled jednotlivých genotypů týden po zahájení pokusů znázorňuje **Obr. 6**. Na konci těchto měření, dne 21.9.2012, byl rovněž proveden odběr listů měřených rostlin pro pozdější měření obsahu prolinu a fotosyntetických pigmentů. Všechna měření byla opět prováděna na praporcovém listu.

V květnu až červnu roku 2012 byly také provedeny nádobové pokusy ve skleníkových podmínkách (třetí pokusná série). Do květináčů naplněných směsí zahradní zem : písek : zahradní kompost v poměru 5:3:1 v:v:v (průměr květináče 24 cm, hloubka 22 cm) bylo dne 20.4.2012 vyseto 100 semen od každého ze dvou genotypů R16 a K359. Tyto dva genotypy byly zvoleny na základě doporučení Dr. Jany Kholové z ICRISAT, protože některé předběžné výsledky získané na tomto pracovišti v polních pokusech naznačily, že by mohly být kontrastní v odolnosti k suchu (R16 citlivý, K359 odolný k suchu). Vyseta byla vždy 2 semena do jednoho květináče. Květináče byly umístěny na parapetní stůl (výška 90 cm od podlahy) ve skleníku na Brožkově genetické zahradě, a rostliny byly pěstovány po dobu 54 dnů (přirozené osvětlení, zalévání podle potřeby, bez umělého přihnojování). Teplotu a relativní vlhkost vzduchu ve skleníku ve vybraných hodinách v průběhu celého pěstování ukazuje **Obr. 7**, zaznamenávána byla automatickými záznamníky *Testo 175 T-1* (*Testo, Česká republika*). Po 27 dnech pěstování (17.5.2012) byly rostliny vyjednoceny tak, aby vždy zůstala pouze jedna rostlina v květináči. Po 42 dnech pěstování (1.6.2012, „Den 0“) bylo od každého genotypu vybráno 47 rostlin, které byly dále analyzovány. Sedm z nich bylo použito pro odběr vzorků pro stanovení obsahu prolinu v listové hmotě, dalších osm rostlin bylo použito pro měření různých nedestruktivních a destruktivních parametrů (viz dále). Zbýlých 32 rostlin od každého genotypu bylo rozděleno mezi 16 kontrolních rostlin a 16 rostlin stresovaných nedostatkem vody. Stres byl navozen zastavením zalévání po dobu 12 dní, po nichž následovalo dne 13.6.2012 („Den 12“) měření všech dále vyjmenovaných parametrů, a to vždy u osmi rostlin příslušného genotypu/varianty zalévání. Zbývajících osm rostlin bylo opět využito pro stanovení obsahu prolinu. Pro všechna měření a odběry byl použit vždy nejmladší plně vyvinutý list z každé rostliny. **Obr. 8** ukazuje, jak byly rostliny v nádobových pokusech pěstovány.

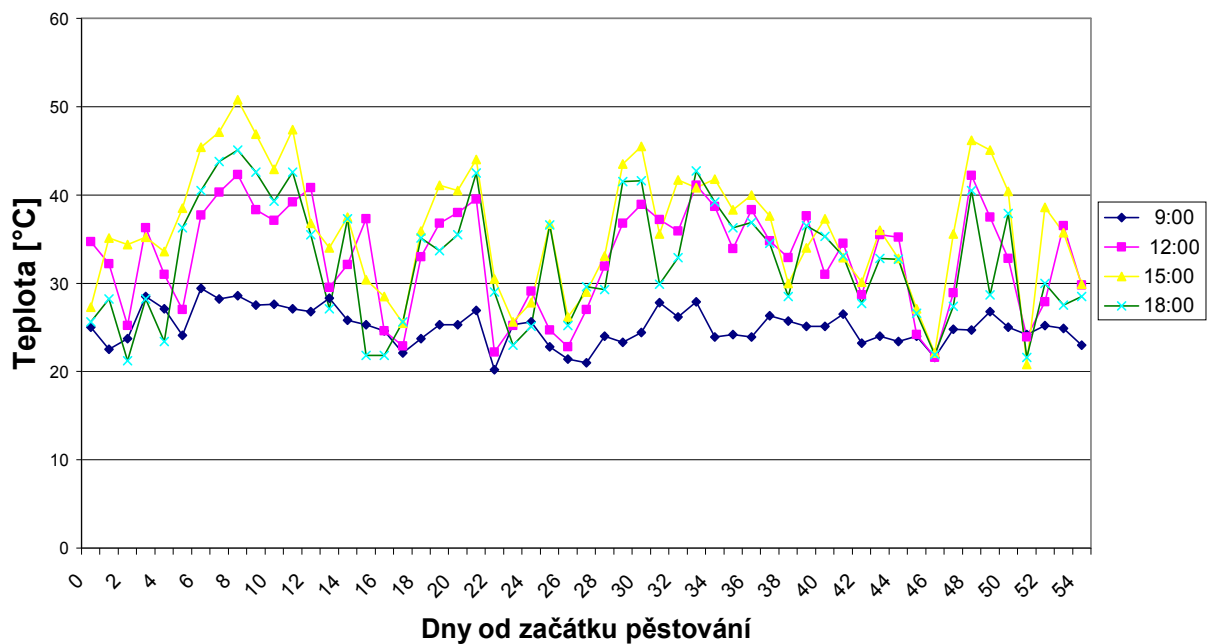


Obr. 6. Studované genotypy čiroku pěstované v polních podmínkách v Brožkově genetické zahradě katedry genetiky a mikrobiologie PšF UK v Praze. V horní řadě linie R16, S35, B35 a E36-1, v prostřední řadě QTL-introgresní linie získané zpětným křížením B35 na R16 jako rekurentního rodiče, v dolní řadě QTL-introgresní linie získané zpětným křížením B35 na S35 jako rekurentního rodiče. Fotografováno 27.8.2012. Úsečka odpovídá 20 cm. Fotografie poskytl D. Holá.

Relativní vlhkost vzduchu ve skleníku



Teplota vzduchu ve skleníku



Obr. 7. Průběh relativní vlhkosti a teploty vzduchu ve skleníku během třetí pokusné série. Hodnoty obou parametrů byly zaznamenávány pro každý den během celého pěstování v hodinových intervalech, na grafech jsou uvedeny ve čtyřech různých časech měření.



Obr. 8. Rostliny čiroku pěstované v nádobových pokusech ve skleníku Brožkovy genetické zahrady katedry genetiky a mikrobiologie PřF UK v Praze. Ve dvou předních řadách jsou rostliny, u kterých byla po 42 dnech pěstování závlhka na 12 dní přerušena, ve dvou zadních řadách rostliny zalévané po celou dobu pěstování. Fotografováno 13.6.2012. Fotografie poskytla D. Holá.

4.3 Metody

4.3.1 Morfologické a vývojové charakteristiky

V případě nádobových pokusů (třetí pokusná série) byla sledována celá řada morfologických a vývojových parametrů. Po celou dobu pěstování byl u všech rostlin zaznamenáván počet plně vyvinutých listů a také jejich stav (změny barvy a jejich poškození). Během pokusných dní, tedy na začátku a na konci období stresu, byla u rostlin změřena vzdálenost jednotlivých internodií až k nejmladšímu plně vyvinutému listu (součet těchto vzdáleností byl označen jako celková výška rostliny) a maximální výška rostliny, která byla stanovena od úrovně zeminy v květináči ke špičce nejdelšího plně nataženého listu. Po změření všech nedestruktivních charakteristik a odběru terčků z listové čepele (viz dále) byly rostliny vyndány z květináčů a jejich kořeny byly pod proudem vody pečlivě očištěny od zbytků zeminy a odděleny od nadzemní části. Obě části rostlin byly v papírových sáčkách umístěny minimálně po dobu jednoho týdne v sušárně při 80 °C. Po usušení do konstantní hmotnosti byla u těchto částí rostlin určena hmotnost sušiny na analytických vahách s přesností na 0,1 mg.

4.3.2 Relativní obsah vody v listu a specifická listová hmotnost

Během nádobových pokusů bylo po změření všech nedestruktivních charakteristik (viz dále) odebráno ze střední části čepele příslušného listu každé měřené rostliny 6 kruhových terčků o definované ploše (průměr terčků 8 mm) a ihned poté byla zjištěna jejich hmotnost (tzv. čerstvá hmotnost). Tyto terčiky byly vloženy do Petriho misky na několikrát přeložený kus gázy, zality vodovodní vodou, ponechány při pokojové teplotě ve tmě po dobu 5 hodin a následně po jemném osušení kouskem gázy opět zváženy, čímž byla stanovena jejich tzv. nasycená hmotnost. Terčiky byly posléze připíchnuty špendlíkem na polystyrenové destičky a dehydratovány v sušárně při 80 °C po dobu 5 dnů. Po jejich vysušení do konstantní hmotnosti bylo možno určit hmotnost sušiny terčků. Stanovení čerstvé a nasycené hmotnosti bylo prováděno na analytických vahách s přesností na 0,1 mg, hmotnost sušiny byla stanovena na mikrovahách s přesností na 0,01 mg. Z těchto hodnot pak byl vypočten RWC v listu podle vzorce:

$$\text{RWC} = \frac{\text{čerstvá hmotnost [g]} - \text{hmotnost sušiny [g]}}{\text{nasycená hmotnost [g]} - \text{hmotnost sušiny [g]}} \cdot 100 [\%]$$

Z výsledků, které poskytlo vážení sušiny terčků, byla zároveň vypočtena specifická listová hmotnost (*Specific Leaf Weight*; SLW) podle vzorce:

$$\text{SLW} = \frac{\text{hmotnost sušiny terčků [g]}}{\text{součet plochy vážených terčků [m}^2\text{]}} [\text{g}\cdot\text{m}^{-2}]$$

V případě polních pokusů (první a druhá pokusná série) se RWC nehodnotil, stanovila se pouze SLW, pro toto stanovení bylo opět odebráno z příslušného listu každé měřené rostliny 6 kruhových terčků o průměru 8 mm, které byly usušeny a zváženy popsáním způsobem.

4.3.3 Obsah prolinu

U všech pokusných rostlin pěstovaných v první pokusné sérii a také u vybraných rostlin v případě nádobových pokusů (třetí pokusná série) byl odebrán příslušný list (viz výše) nejprve do nádoby s tekutým dusíkem a tyto vzorky byly umístěny v hlubokomrazicím boxu (*Dairei ULTF 420, Dánsko*) při -80 °C. Obsah volného prolinu ve vzorcích byl

stanoven metodou podle Bateše *et al.* (1973). Z každého vzorku bylo naváženo přibližně 0,5 g rostlinného pletiva (přesná hmotnost příslušné navážky byla vždy zaznamenána), které bylo rozetřeno v třecí misce v roztoku 5 ml 3% (w:v) kyseliny salicylové. Tato směs byla přefiltrována přes filtrační papír do zkumavek, z nichž bylo odebráno 1 ml vzorku a do něho pak byl přidán 1 ml roztoku ninhydrinu (0,14 M ninhydrin ve směsi kyselina octová : 6 N kyselina *o*-fosforečná 3:2 v:v, vždy čerstvě připravováno) a 1 ml kyseliny octové. Tato směs byla promíchána, následně zahřívána ve vodní lázni (100 °C) po dobu 30 minut, zchlazena (přibližně 5 minut) v ledové lázni a poté k ní byly přidány 3 ml toluenu a vše bylo důkladně promícháno a ponecháno při pokojové teplotě. Po 20 minutách došlo k dokonalému oddělení fází, z horní vrstvy byl odebrán 1 ml vzorku a obsah prolinu v něm byl měřen spektrofotometricky při vlnové délce 520 nm (*Anthelie Advanced 2, Secomam, Francie*). Zároveň s tím byla připravena kalibrační křivka v různých předem definovaných koncentracích (0-0,25 mM) roztoku komerčně dodávaného prolinu a z její směrnice a naměřených hodnot absorbance vzorků pak bylo možné vypočítat obsah prolinu ve vzorcích. Ten byl vztahován na jednotku hmotnosti sušiny pomocí předem zvážených (0,5 g), poté usušených a znovu zvážených vzorků připravených z ekvivalentní části listového pletiva jako vzorky pro stanovení obsahu prolinu (souběžně s nimi).

4.3.4 Obsah fotosyntetických barviv

Kromě určování přibližného obsahu fotosyntetických barviv měřením spektrální odrazivosti listů (viz dále) byl přesný obsah chlorofylu *a*, chlorofylu *b* a celkových karotenoidů určen spektrofotometricky po jejich extrakci z listového pletiva N,N-dimethylformamidem (Wellburn, 1994). Současně s vysekáváním terčičků pro stanovení RWC a SLW byly z každého listu vyraženy další 4 terčičky o definované ploše (průměr terčičku 8 mm) a tyto byly umístěny do zkumavek, zality 10 ml N,N-dimethylformamidu, dobře promíchány, zkumavky byly zakryty parafilmem a alobalem a ponechány po dobu 7 dní uložené v lednici. Poté byly vzorky opět promíchány a spektrofotometricky v nich byla stanovena absorbance v oblasti monochromatického záření o vlnových délkách 480 nm (A_{480}), 647 nm (A_{647}), 664 nm (A_{664}) a 710 nm (A_{710}) přístrojem *Anthelie Advanced 2*. Ze změřených hodnot byl posléze vypočten obsah jednotlivých fotosyntetických barviv podle vzorců:

$$\text{chlorofyl } a: \text{chl}_a = 11,65 \cdot (A_{664} - A_{710}) - 2,69 \cdot (A_{647} - A_{710})$$

$$\text{chlorofyl } b: \text{chl}_b = 20,81 \cdot (A_{647} - A_{710}) - 4,53 \cdot (A_{664} - A_{710})$$

$$\text{celkové karotenoidy: kar} = (1000 \cdot (A_{480} - A_{710}) - 0,89 \cdot \text{chl}_a - 52,02 \cdot \text{chl}_b) / 245$$

Vypočtené hodnoty bylo dále nutno vydělit hodnotou celkové plochy terčků a násobit 10 (vzhledem k použitému objemu N,N-dimethylformamidu), výsledkem čehož byl obsah uvedených fotosyntetických barviv vztažený na jednotku plochy listu. Z těchto hodnot pak bylo s využitím vypočtené hodnoty SLW u každého vzorku možné přepočíst obsahy jednotlivých pigmentů i na jednotku hmotnosti sušiny, tato data však v práci neuvádím.

4.3.5 Indexy spektrální odrazivosti listů

Indexy spektrální odrazivosti NDVI (Rouse *et al.*, 1974) a PRI (Gamon *et al.*, 1992) slouží k rychlému, ale pouze přibližnému stanovení obsahu chlorofylů (v případě NDVI) a efektivity využití světelného toku a epoxidačního stavu pigmentů xantofylového cyklu, případně poměru mezi karotenoidy a chlorofyly (v případě PRI) v rostlinném materiálu. Obě tyto veličiny jsou vypočítávány z rozdílů odrazivosti dvou monochromatických záření rozdílné vlnové délky od rostlinného pletiva. U parametru NDVI jde o záření viditelné oblasti spektra o vlnové délce 635 nm a záření blízké infračervené oblasti spektra záření o vlnové délce 760 nm (dále označované jako VIS a NIR), u PRI jsou to dvě záření viditelné oblasti spektra o vlnových délkách 531 a 570 nm (dále jako R_{531} a R_{570}). Zde uvádím vzorce výpočtu těchto dvou indexů:

$$\text{NDVI} = (\text{NIR} - \text{VIS}) / (\text{NIR} + \text{VIS})$$

$$\text{PRI} = (R_{570} - R_{531}) / (R_{570} + R_{531})$$

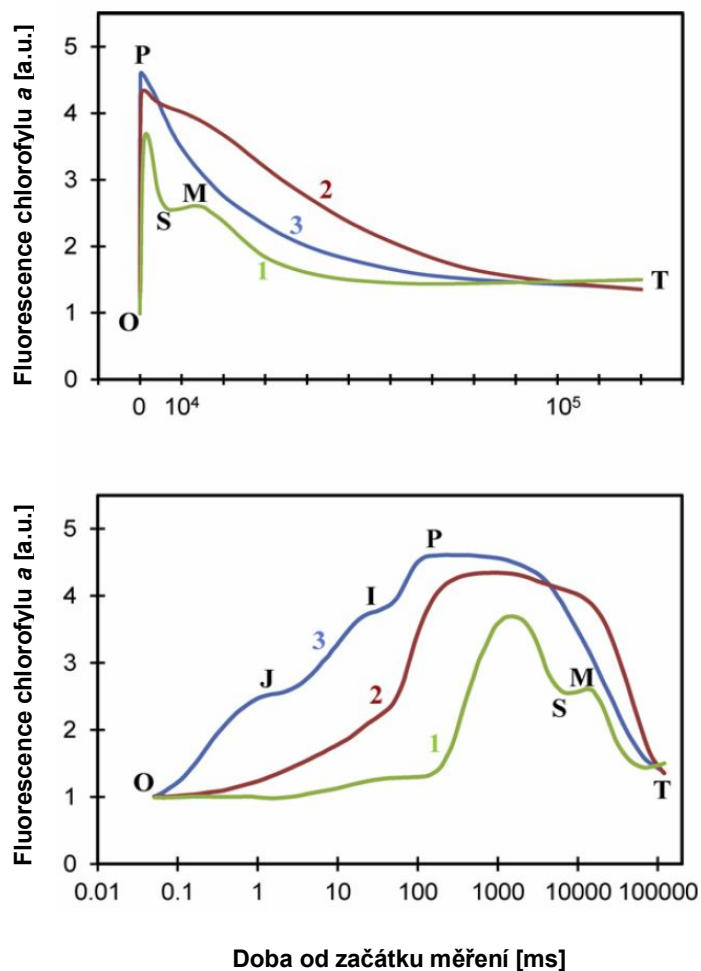
K měření těchto indexů byly ve všech sériích pokusů užity přístroje *PlantPen NDVI 300* a *PlantPen PRI 200* (*Photon System Instruments, Česká republika*). Doba pulsu byla v obou případech 2 ms. Měření byla prováděna vždy na svrchní straně příslušného listu. U všech rostlin v polních pokusech byla u každého listu v jednotlivých pokusných dnech provedena vždy dvě technická opakování měření těsně za sebou, u rostlin v nádobových pokusech byly tyto parametry měřeny čtyřikrát za sebou. Průměrné hodnoty z těchto technických opakování pak byly použity jako biologická opakování (jednotlivé rostliny) – základní data pro statistickou analýzu.

4.3.6 OJIP část křivky indukce fluorescence chlorofylu *a* a parametr Q_Y

Tato metoda, patřící mezi nedestruktivní, byla hlavní metodou v hodnocení genotypů u první a druhé série polních pokusů, ale byla zařazena i do série třetí – nádobových pokusů. Umožňuje velmi rychlé zhodnocení stavu rostliny a efektivity fotosyntetických procesů v ní

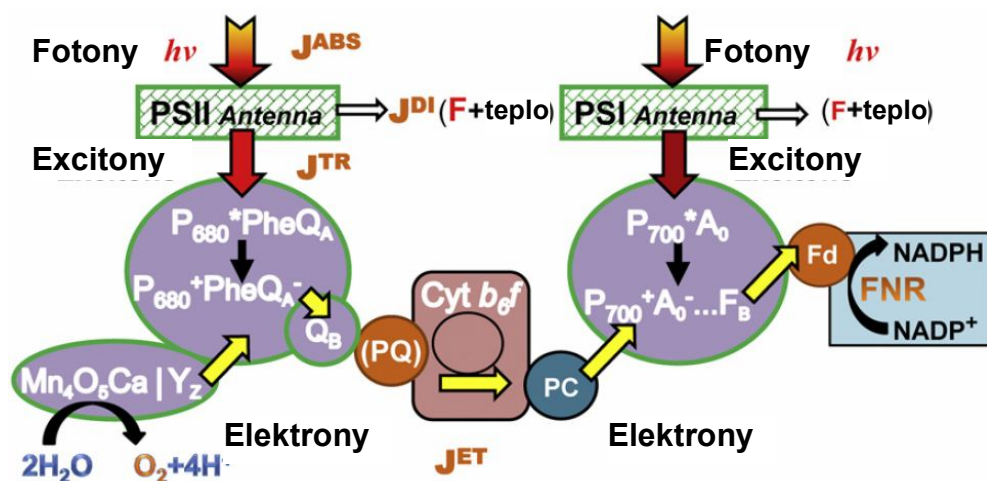
probíhající bez jakéhokoliv zásahu do rostliny a také snadné srovnávání těchto parametrů v čase a vývoji rostliny, jakož i mezi genotypy nebo různými způsoby pěstování.

Měření indukce fluorescence chlorofylu *a* podrobně popisuje a kvantifikuje dynamiku primárních fotosyntetických procesů, především dějů probíhajících ve fotosystému II (PSII), v daném rostlinném vzorku. Využívá tzv. Kautského efektu, tedy jevu, kdy u temnotně adaptované rostliny nebo rostlinného materiálu je při náhlém vystavení světelnému pulzu o vysoké intenzitě (obvykle kolem $3200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) pozorována indukce fluorescence chlorofylu *a* (Stirbet a Govindjee, 2011). Jedná se o tzv. fluorescenční přechodový jev a při vynesení intenzity fluorescence chlorofylu *a* do grafu v závislosti na čase lze jeho průběh rozdělit na dvě fáze. Rychlá fáze je podle historické nomenklatury označována jako „OJIP“, kde O značí *origin*, tedy začátek indukce fluorescence, J a I jsou inflexní body křivky a P znamená *peak*, tedy maximum, přičemž celá fáze měření trvá vždy méně než 1 s. Pomalá fáze, označovaná zkratkou „PSMT“, jejíž součástí jsou body S (poloustálený stav), M jako maximum a T jako terminální ustálený stav, naproti tomu odpovídá času měření v řádu jednotek až desítek sekund. Z těchto důvodů je nutné vynášet tuto křivku do grafu se semilogaritmickým uspořádáním. Rozdíl mezi lineárním a semilogaritmickým vynesením a zároveň rozdíly v průběhu křivek při třech různých intenzitách použitého excitačního světla znázorňuje **Obr. 9**.



Obr. 9. Časový průběh změn fluorescence chlorofylu *a* znázorněný v lineárním (horní obrázek) a semilogaritmickém (dolní obrázek) vynesení při třech různých intenzitách excitačního světla (1 = $32 \mu\text{mol fotonů m}^{-2} \text{s}^{-1}$, 2 = $320 \mu\text{mol fotonů m}^{-2} \text{s}^{-1}$, 3 = $3200 \mu\text{mol fotonů m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Převzato a upraveno podle Stirbet a Govindjee (2011).

Změny fluorescence v rychlé fázi přechodového jevu vypovídají o tom, jak postupně dochází k redukci různých akceptorů elektronů ve fotosyntetickém elektron-transportním řetězci. Platí, že u temnotně adaptovaného vzorku je ve fázi O (fluorescence pro tento bod, F_0 , se obvykle odečítá v čase 40-50 μ s) naprostá většina akceptorů elektronů v PSII v oxidovaném stavu, tj. všechna reakční centra PSII jsou „otevřena“, zatímco ve fázi P (maximální fluorescence $F_P \approx F_M$ zjištěná během měření OJIP křivky) jsou všechny tyto molekuly již v redukovaném stavu a všechna reakční centra PSII jsou „zavřena“. Předpokládá se, že ve fázi J (fluorescence F_J odečítaná obvykle v čase 2 ms) přenášené elektrony dosáhnou Q_A akceptoru elektronů v PSII, zatímco ve fázi I (fluorescence F_I odečítaná obvykle v čase 30 ms) jsou elektrony již přeneseny na plastocyanin a začíná jejich přenos až na koncové akceptory PSI. Mezi body O a J je někdy možné pozorovat ještě body L (fluorescence F_L odečítaná obvykle v čase 150 μ s) a K (fluorescence F_K odečítaná obvykle v čase 300 μ s); rychlou fázi fluorescenční indukční křivky lze tedy také označovat jako „OLKJIP“. Na základě tohoto a dalších poznatků vypracoval R.J. Strasser a jeho spolupracovníci tzv. JIP test, založený na teorii tzv. toků energie (*energy fluxes*) v biomembránách (Strasser a Strasser 1995; Strasser *et al.*, 2000; Strasser *et al.*, 2004). Tento test byl pak dalšími autory ještě rozšířen (např. Stirbet a Govindjee, 2011) a umožňuje ze základních hodnot fluorescence v bodech O, K, J, I a P vypočítat mnoho různých parametrů popisujících různé děje v elektron-transportním řetězci. Schematické znázornění těchto různých toků energie je vidět na **Obr. 10**. Nejdůležitější parametry JIP testu uplatněné v této práci, jejich výpočet a jejich biologický význam uvádím v **Tab. 2**.



Obr. 10. Schématické znázornění hlavních energetických toků (J) souvisejících s fluorescencí (F) chlorofylu *a*. J^{ABS} označuje množství fotonů přijatých všemi anténami fotosystému (PS) II, J^{DI} reprezentuje energii fotonů disipovanou ze systému ve formě tepla a přímé fluorescence, J^{TR} značí množství excitovaných elektronů zachycených primárním donorem elektronů v PSII P_{680} ; J^{ET} označuje proud elektronového transportu z vody na ferredoxin, popř. $NADP^+$ nebo jiné akceptory elektronů PSI. A_0 ... primární akceptor elektronů v PSI, Cyt ... cytochrom, F_B ... sekundární akceptor elektronů v PSI, Fd ... ferredoxin, FNR ... ferredoxin/NADP reduktáza, $Mn_4O_5Ca|Y_Z$... komplex produkující kyslík v PSII, Phe ... feofytin, PQ ... plastochinon, PS ... plastocyanin, Q_A a Q_B ... primární a sekundární akceptory elektronů v PSII. Převzato a upraveno podle Stirbet a Govindjee (2011).

Tab. 2. Vybrané fotosyntetické parametry JIP testu založeného na teorii energetických toků v biomembránách (Strasser *et al.*, 2004), vypočítané na základě hodnot fluorescence chlorofylu *a* v časech 40 μs (F_0), 300 μs (F_K), 2 ms (F_J), 30 ms (F_I) a maximální fluorescence (F_M), naměřených během rychlé fáze fluorescenčního přechodového jevu (OJIP). Plocha ... plocha mezi OJIP křivkou a hodnotou F_M , PS ... fotosystém, RC ... reakční centrum.

Parametr	Biologický význam	Vzorec pro výpočet
V_J	Relativní variabilní fluorescence v bodě J	$(F_J - F_0) / (F_M - F_0)$
V_I	Relativní variabilní fluorescence v bodě I	$(F_I - F_0) / (F_M - F_0)$
M_0	Přibližný počáteční sklon OJIP křivky fluorescenčního přechodového jevu	$4 \cdot (F_K - F_0) / (F_M - F_0)$
Φ_{P0}	Maximální kvantový výtěžek fotochemické přeměny energie v PSII	$(F_M - F_0) / F_M$
Φ_{E0}	Kvantový výtěžek toku přenosu elektronů z Q_A na Q_B	$[1 - (F_0 / F_M)] \cdot \Psi_{E0}$
Φ_{R0}	Kvantový výtěžek toku přenosu elektronů až na koncové akceptory PSI	$1 - (F_I / F_M)$
Φ_{D0}	Kvantový výtěžek disipace zachycené energie	F_0 / F_M
Ψ_{E0}	Účinnost/pravděpodobnost, s kterou je elektron zachycený PSII přenesen z Q_A na Q_B	$1 - V_J$
Ψ_{R0}	Účinnost/pravděpodobnost, s kterou je elektron zachycený PSII přenesen až na koncové akceptory PSI	$1 - V_I$
δ_{R0}	Účinnost/pravděpodobnost, s kterou je elektron zachycený PSII přenesen z Q_B až na koncové akceptory PSI	$(1 - V_I) / (1 - V_J)$
γ_{RC}	Pravděpodobnost, že PSII chlorofyl funguje jako RC	$1 / (ABS/RC + 1)$
ABS/RC	Průměrný tok zachycených fotonů vyjádřený na jedno PSII RC (zdánlivá velikost světlosběrné antény aktivního PSII)	$(M_0 / V_J) \cdot (1 / \Phi_{P0})$
TP ₀ /RC	Maximální tok zachycených excitonů vyjádřený na jedno PSII RC	M_0 / V_J
ET ₀ /RC	Tok přenosu elektronů z Q_A na Q_B vyjádřený na jedno PSII RC	$(M_0 / V_J) \cdot \Psi_{E0}$
RE ₀ /RC	Tok přenosu elektronů až na koncové akceptory PSI vyjádřený na jedno PSII RC	$(M_0 / V_J) \cdot \Psi_{R0}$
DI ₀ /RC	Tok disipované energie vyjádřený na jedno PSII RC	$(ABS/RC) - (TP_0/RC)$
PI _{ABS}	Performanční index zachování energie fotonů zachycených světlosběrnou anténou PSII až po redukci Q_B	$[1 / (ABS/RC)] \cdot [\Phi_{P0} / (1 - \Phi_{P0})] \cdot [\Psi_{E0} / (1 - \Psi_{E0})]$
PI _{TOTAL}	Performanční index zachování energie fotonů zachycených světlosběrnou anténou PSII až po redukci koncových akceptorů PSI	$PI_{ABS} \cdot [\delta_{R0} / (1 - \delta_{R0})]$

Kromě hodnot fluorescence významných bodů je možné hodnotit také průběh částí OJIP křivky, kdy se často využívá tzv. normalizace – výpočtu relativní variabilní fluorescence, která se dále uplatňuje při sestavování tzv. křivek diferenční kinetiky mezi vzorky, jež se liší v určitém faktoru, například genotypem nebo ve způsobu pěstování (tj. jde o srovnání typu vzorek – kontrola) (Yusuf *et al.*, 2010). Relativní variabilní fluorescence W se počítá pro oblasti O-J, O-K, O-I a I-P jako:

$$W_{OI} = (F_t - F_0) / (F_I - F_0)$$

$$W_{OJ} = (F_t - F_0) / (F_J - F_0)$$

$$W_{OK} = (F_t - F_0) / (F_K - F_0)$$

$$W_{IP} = (F_t - F_I) / (F_P - F_I)$$

kde F_t představuje fluorescenci zjištěnou v jednotlivých časových bodech během celého měření OJIP křivky a ostatní parametry jsou hodnoty fluorescence změřené v příslušných inflexních bodech křivky (viz výše). W_{OJ} a W_{OK} křivky relativní variabilní fluorescence umožňují lépe zobrazit tzv. K a L pásy OJIP křivky. Část W_{OI} křivky relativní variabilní fluorescence v oblasti, kde jsou hodnoty W_{OI} rovny nebo větší než 1 (tj. od 30 ms dále), umožňuje lépe znázornit maximální amplitudu nárůstu fluorescence, která odráží velikost hotovosti koncových akceptorů elektronů za PSI. Normalizace OJIP křivky mezi I a P krokem (W_{IP}), kdy je maximální amplituda křivky fixována jako 1, umožňuje srovnat rychlosti redukce koncových akceptorů elektronů za PSI (Yusuf *et al.*, 2010).

Křivky diferenční kinetiky $\Delta W = (W_{\text{vzorek}} - W_{\text{kontrola}})$, pak umožňují lépe znázornit rozdíly průběhu fluorescence ve význačných úsecích OJIP křivky – K a L pásech. Úsek křivky diferenční kinetiky mezi O a J krokem (ΔW_{OJ}) odhaluje tzv. K-pás (200 – 400 μs s maximem kolem 300 μs), který, pokud je pozitivní, naznačuje zvýšenou rychlost redukce Q_A na Q_A^- , což může znamenat destabilizaci komplexu vyvíjejícího kyslík (OEC), především jeho manganového komplexu (Strasser *et al.*, 2004). Pozitivní K-pás však také může indikovat zvětšení velikosti funkční antény PSII. Úsek mezi O a K krokem (ΔW_{OK}) odhaluje tzv. L-pás (100 – 200 μs , maximum kolem 150 μs), který je indikátorem energetické konektivity („seskupování“) PSII jednotek – pokud je v rámci křivky diferenční kinetiky negativní, považuje se to za příznak lepší vzájemné výměny excitační energie mezi PSII jednotkami, tj. lepší energetické konektivity, zatímco pozitivní L pás se považuje za příznak poklesu energetické konektivity (Strasser a Stirbet, 1998).

Přístroj *FluorPen FP100* (Photon System Instruments, Česká republika), používaný k měření OJIP křivky ve všech třech sériích pokusů, pracuje s monochromatickým zářením o vlnové délce 455 nm, použitá intenzita saturačního pulsu byla 3000 $\mu\text{mol fotonů m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Záznam fluorescence chlorofylu probíhá v časovém rozmezí 10 μs až 2 s, přičemž během prvních 600 μs dochází k záznamu každých 10 μs , poté až do času 14 ms přístroj zaznamenává fluorescenci každých 100 μs , do času 90 ms je jeden záznam každou 1 ms a ve zbytku doby měření je interval mezi jednotlivými záznamy 10 ms. Fluorescence zaznamenávaná v čase 40 μs je považována za bod O (F_0), fluorescence v čase 2 ms odpovídá bodu J (F_J), fluorescence F_I (bod I) je odečítána v čase 30 ms a za bod P je považován čas, kdy je hodnota fluorescence nejvyšší (F_M). Z časových důvodů se v případě OJIP křivky uskutečnilo vždy pouze jedno technické opakování každého měření, která byla prováděna na svrchní straně listů. Zatemnění listů bylo u polních pokusů provedeno obalením části příslušného listu kouskem alobalu na dobu minimálně 20 minut (ne však více

než 30 minut). Ve třetí sérii pokusů (nádobové pokusy) byly testované rostliny umístěny i s květináči po dobu 20 minut do temné místnosti a tamtéž také následně měřeny.

Přístrojem *FluorPen FP100* byl zároveň také měřen parametr Q_Y , který vyjadřuje efektivní kvantový výtěžek fotochemické přeměny energie v PSII (tzv. aktuální fotochemickou účinnost PSII), měří se u vzorků adaptovaných na světlo a počítá se podle vzorce $(F_M' - F_0') / F_M'$, kde F_M' je maximální fluorescence chlorofylu *a* a F_0' je základní fluorescence chlorofylu *a* u světelně adaptovaných rostlin (Roháček, 2002). Počet technických opakování tohoto měření byl stejný jako u indexů spektrální odrazivosti, měření byla opět prováděna vždy na svrchní straně příslušného listu.

4.3.7 Statistická analýza

Všechna kvantitativní data získaná ve všech třech sériích pokusů byla statisticky hodnocena. Výsledky měření v polních pokusech byly v případě první série podrobeny analýze variance (ANOVA) jednoduchého třídění, kde byly statisticky hodnoceny rozdíly mezi všemi pěstovanými genotypy. V případě druhé série pokusů to byla ANOVA dvojného třídění s interakcemi, kde byly jako zdroje možné variability použity genotypy a dny měření, a dále ANOVA jednoduchého třídění (v rámci jednotlivých pokusných dnů). Tyto statistické metody byly použity i k analýze dat pocházející ze třetí série pokusů, kde byly rozdíly mezi oběma genotypy a způsoby pěstování posuzovány u dat získaných v „Den 0” pomocí ANOVA jednoduchého třídění a u dat získaných v „Den S“ pomocí ANOVA dvojného třídění s interakcemi (jako zdroje možné variability použity genotypy a způsob pěstování) i pomocí ANOVA jednoduchého třídění (jako zdroje možné variability použita kombinace genotyp/způsob pěstování). Po všech hodnoceních pomocí ANOVA jednoduchého třídění byly rozdíly mezi jednotlivými vzorky dále testovány pomocí *post-hoc* Tukey-Kramerova testu. Jako kritická hladina statistické významnosti byla zvolena hladina 5 % ($p = 0,05$). Pro vyhotovení této statistické analýzy byl výhradně použit program *CoStat*, verze 6.204, *CoHort Software, Kalifornie, USA*.

5. Výsledky

5.1 První pokusná série

V první pokusné sérii (polní pokusy 2011) proběhlo jednorázové měření parametrů OJIP křivky, indexů spektrální odrazivosti NDVI a PRI, spektrofotometrické stanovení obsahu fotosyntetických barviv a stanovení obsahu prolinu a specifické listové hmotnosti u 15 genotypů čiroku (4 linií a 11 *stay-green* QTL-IL, viz kapitola 4.1). Hodnoty těchto parametrů spolu se statistickou průkazností rozdílů mezi jednotlivými genotypy jsou uvedeny v **Tab. 3-5**. Ve všech parametrech byly zaznamenány průkazné rozdíly mezi genotypy, ovšem často pouze mezi některými z nich a většina genotypů se mezi sebou statisticky průkazně neodlišovala.

Výrazně se lišila především *stay-green* linie B35, která vykazovala vysokou účinnost primárních fotosyntetických procesů spojených především s přenosem elektronů z Q_Y na Q_B v rámci PSII (parametry ϕ_{P0} , ϕ_{E0} , ψ_{E0} , TP_0/RC , ET_0/RC a PI_{ABS} ; **Tab. 3, 4**) a obsah fotosyntetických barviv (**Tab. 5**). V parametrech popisujících disipaci přebytečné energie (ϕ_{D0} , DI_0/RC) naopak často vykazovala nejnižší hodnoty ze všech studovaných genotypů a rovněž procesy spojené s přenosem elektronů až na koncové akceptory PSI (parametry ϕ_{R0} , δ_{R0} , RE_0/RC) u ní neprobíhaly příliš efektivně (**Tab. 3, 4**). Tato linie se také vyznačovala nejnižší hodnotou SLW stejně jako nízkým obsahem prolinu v listech (**Tab. 5**). Nedalo se však říci, že by v rozdílech mezi touto *stay-green* linií a ostatními třemi rodičovskými liniemi (druhou *stay-green* linií E36-1 a oběma senescentními rodičovskými liniemi bez *stay-green* fenotypu, R16 a S35) existoval nějaký výrazný trend, který by umožnil na základě studovaných parametrů *stay-green* a *non-stay-green* genotypy od sebe jednoznačně odlišit.

Ani IL vzniklé introgresním zpětným křížením linie B35 na linii S35 nebo linii R16 se mezi sebou většinou příliš nelišily. V parametrech popisujících účinnost primárních fotosyntetických procesů měly IL vzniklé křížením mezi B35 a R16 obvykle o něco vyšší hodnoty než IL vzniklé křížením mezi B35 a S35 a obrácená situace platila pro parametry související s disipací přebytečné energie (což odpovídalo i rozdílům mezi R16 a S35), uvedené rozdíly však až na výjimky nebyly statisticky průkazné a neplatily zcela obecně (**Tab. 4, 5**). V obsahu či poměru fotosyntetických barviv, SLW a obsahu prolinu žádný takový trend zaznamenaný vůbec nebyl (**Tab. 5**).

Tab. 3. Hodnoty vybraných fotosyntetických parametrů JIP testu vycházejícího z měření OJIP křivky fluorescence chlorofylu a (ϕ_{P0} ... maximální kvantový výtěžek fotochemické přeměny energie ve fotosystému (PS) II, ϕ_{P80} ... kvantový výtěžek toku přenosu elektronů z Q_A na Q_B , ϕ_{PEP} ... kvantový výtěžek toku přenosu elektronů až na koncové akceptory PSI, ϕ_{D0} ... kvantový výtěžek disipace zachycené energie, ψ_{E0} ... účinnost/pravděpodobnost, s kterou je elektron zachycený PSII přenesen z Q_A na Q_B , ψ_{R0} ... účinnost/pravděpodobnost, s kterou je elektron zachycený PSII přenesen až na koncové akceptory PSI, δ_{R0} ... účinnost/pravděpodobnost, s kterou je elektron zachycený PSII přenesen z Q_B až na koncové akceptory PSI, γ_{RC} ... pravděpodobnost, že PSII chlorofyl funguje jako reakční centrum). Uvedené parametry byly měřeny u 15 různých genotypů širokou dvoubarevného v rámci první série polních pokusů (rok 2011), měření bylo provedeno 29.9.2011. Uvedeny jsou průměry \pm směrodatné odchylky, písmena a - e popisují statistickou významnost rozdílů mezi genotypy (pouze ty, které jsou označeny odlišnými písmeny, se od sebe statisticky průkazně liší na hladině významnosti $\leq 0,05$ na základě analýzy *post-hoc* Tukey-Kramerovým testem následujícím po analýze variance jednoduchého třídění). Genotyp s nejvyšší hodnotou příslušného parametru je označen tučně, genotyp s nejnižší hodnotou příslušného parametru je označen tučně a kurzívou.

Genotyp	ϕ_{P0} (a.u.)	ϕ_{P80} (a.u.)	ϕ_{PEP} (a.u.)	ϕ_{D0} (a.u.)	ψ_{E0} (a.u.)	ψ_{R0} (a.u.)	δ_{R0} (a.u.)	γ_{RC} (a.u.)
R16	0,726 \pm 0,044 ^{abc}	0,383 \pm 0,041 ^{abc}	0,223 \pm 0,039 ^{ab}	0,274 \pm 0,044 ^{bed}	0,527 \pm 0,032 ^{ab}	0,311 \pm 0,072 ^{abc}	0,594 \pm 0,147 ^{abc}	0,263 \pm 0,011 ^{abcd}
S35	0,663 \pm 0,038 ^{cd}	0,315 \pm 0,033 ^{bed}	0,154 \pm 0,032 ^{cd}	0,337 \pm 0,039 ^{ab}	0,474 \pm 0,027 ^b	0,234 \pm 0,051 ^{cde}	0,493 \pm 0,102 ^{abcd}	0,236 \pm 0,012 ^{de}
B35	0,781\pm0,010^a	0,470\pm0,035^a	0,161 \pm 0,025 ^{cd}	0,219\pm0,009^d	0,601\pm0,041^a	0,206\pm0,033^e	0,345\pm0,073^d	0,265 \pm 0,011 ^{abc}
E36-1	0,677 \pm 0,032 ^{bed}	0,344 \pm 0,038 ^{bed}	0,188 \pm 0,036 ^{abcd}	0,323 \pm 0,032 ^{abc}	0,507 \pm 0,041 ^b	0,278 \pm 0,053 ^{abcde}	0,546 \pm 0,077 ^{abc}	0,248 \pm 0,015 ^{abcde}
K214	0,744 \pm 0,022 ^{ab}	0,397 \pm 0,032 ^{ab}	0,241\pm0,053^a	0,256 \pm 0,022 ^{cd}	0,533 \pm 0,037 ^{ab}	0,325 \pm 0,076 ^{ab}	0,608 \pm 0,127 ^{abc}	0,266 \pm 0,007 ^{abc}
K241	0,721 \pm 0,030 ^{abc}	0,366 \pm 0,048 ^{bed}	0,204 \pm 0,058 ^{abc}	0,279 \pm 0,030 ^{abc}	0,504 \pm 0,052 ^b	0,283 \pm 0,079 ^{abcde}	0,555 \pm 0,122 ^{abc}	0,272 \pm 0,017 ^{ab}
K258	0,711 \pm 0,052 ^{abcd}	0,377 \pm 0,082 ^{bed}	0,237 \pm 0,041 ^a	0,289 \pm 0,052 ^{abcd}	0,525 \pm 0,086 ^{ab}	0,333\pm0,048^a	0,640 \pm 0,083 ^{ab}	0,270 \pm 0,021 ^{abc}
K279	0,686 \pm 0,051 ^{bed}	0,318 \pm 0,085 ^{bed}	0,204 \pm 0,042 ^{abcd}	0,347 \pm 0,051 ^{abc}	0,374 \pm 0,095 ^b	0,296 \pm 0,050 ^{abcd}	0,653\pm0,076^a	0,268 \pm 0,017 ^{abc}
K359	0,684 \pm 0,065 ^{bed}	0,316 \pm 0,072 ^{bed}	0,159 \pm 0,025 ^{cd}	0,316 \pm 0,065 ^{abc}	0,457 \pm 0,065 ^b	0,233 \pm 0,041 ^{cde}	0,523 \pm 0,131 ^{abc}	0,251 \pm 0,020 ^{bcd}
01	0,655 \pm 0,054 ^{cd}	0,307 \pm 0,051 ^{cd}	0,147\pm0,024^d	0,345 \pm 0,054 ^{ab}	0,467 \pm 0,052 ^b	0,296 \pm 0,051 ^{de}	0,490 \pm 0,092 ^{bed}	0,230\pm0,015^e
08	0,700 \pm 0,048 ^{bed}	0,343 \pm 0,063 ^{bed}	0,153 \pm 0,033 ^{cd}	0,300 \pm 0,048 ^{abc}	0,487 \pm 0,064 ^b	0,219 \pm 0,045 ^{de}	0,458 \pm 0,110 ^{cd}	0,254 \pm 0,018 ^{bcd}
16	0,672 \pm 0,042 ^{cd}	0,314 \pm 0,052 ^{bed}	0,157 \pm 0,028 ^{cd}	0,328 \pm 0,042 ^{ab}	0,466 \pm 0,053 ^b	0,235 \pm 0,040 ^{cde}	0,507 \pm 0,078 ^{abcd}	0,243 \pm 0,017 ^{cde}
24	0,644\pm0,033^d	0,292\pm0,033^d	0,158 \pm 0,012 ^{cd}	0,356\pm0,033^a	0,453\pm0,037^b	0,246 \pm 0,028 ^{bcd}	0,547 \pm 0,078 ^{abc}	0,234 \pm 0,009 ^e
26	0,678 \pm 0,078 ^{bed}	0,317 \pm 0,091 ^{bed}	0,175 \pm 0,050 ^{bed}	0,322 \pm 0,078 ^{abc}	0,460 \pm 0,103 ^b	0,259 \pm 0,068 ^{abcde}	0,574 \pm 0,157 ^{abc}	0,247 \pm 0,014 ^{bcd}
40	0,663 \pm 0,044 ^{cd}	0,302 \pm 0,041 ^{cd}	0,153 \pm 0,023 ^{cd}	0,337 \pm 0,044 ^{ab}	0,454 \pm 0,036 ^b	0,230 \pm 0,026 ^{de}	0,508 \pm 0,059 ^{abcd}	0,288\pm0,042^a

Tab. 4. Hodnoty vybraných fotosyntetických parametrů JIP testu vycházejícího z měření OJIP křivky fluorescence chlorofylu *a* (ABS/RC ... průměrný tok zachycených fotonů vyjádřený na jedno reakční centrum PSII (zdámlivá velikost světlosběrné antény aktivního PSII), TP₀/RC ... maximální tok zachycených excitonů vyjádřený na jedno reakční centrum PSII, ET₀/RC ... tok přenosu elektronů z Q_A na Q_B vyjádřený na jedno reakční centrum PSII, RE₀/RC ... tok přenosu elektronů až na koncové akceptory PSI vyjádřený na jedno reakční centrum PSII, DI₀/RC ... tok disipované energie vyjádřený na jedno reakční centrum PSII, PI_{ABS} ... performanční index zachování energie fotonů zachycených světlosběrnou anténou PSII až po redukci Q_B, PI_{TOTAL} ... performanční index zachování energie fotonů zachycených světlosběrnou anténou PSII a efektivního kvantového výtežku fotochemické přeměny energie ve fotosystému (PS) II (Q_Y). Uvedené parametry byly měřeny u 15 různých koncových akceptorů PSI a efektivního kvantového výtežku fotochemické přeměny energie v rámci první série polních pokusů (rok 2011), měření bylo provedeno 29.9.2011. Uvedeny jsou průměry ± směrodatné odchylky, písmena *a-e* popisují statistickou významnost rozdílů mezi genotypy (pouze ty, které jsou označeny odlišnými písmeny, se od sebe statisticky průkazně liší na hladině významnosti ≤ 0,05 na základě analýzy *post-hoc* Tukey-Kramerovým testem následujícím po analýze variance jednoduchého třídění). Genotyp s nejvyšší hodnotou příslušného parametru je označen tučně, genotyp s nejnižší hodnotou příslušného parametru je označen tučně a kurzívou.

Genotyp	ABS/RC (a.u.)	TP ₀ /RC (a.u.)	ET ₀ /RC (a.u.)	RE ₀ /RC (a.u.)	DI ₀ /RC (a.u.)	PI _{ABS} (a.u.)	PI _{TOTAL} (a.u.)	Q _Y (a.u.)
R16	2,815±0,162 ^{bed}	2,042±0,157 ^{ab}	1,079±0,129 ^{abc}	0,629±0,113 ^{abc}	0,774±0,135 ^{def}	1,116±0,410 ^{bc}	1,791±0,940 ^{ab}	0,676±0,073 ^{ab}
S35	3,249±0,224 ^a	2,154±0,187 ^{ab}	1,021±0,108 ^{bc}	0,496±0,079 ^{bcde}	1,095±0,153 ^{abc}	0,568±0,149 ^{cde}	0,581±0,261 ^{de}	0,550±0,080 ^c
B35	2,782±0,151 ^{bed}	2,172±0,116 ^a	1,304±0,095^a	0,446±0,061 ^{de}	0,610±0,045^f	1,985±0,430^a	1,049±0,274 ^{bcde}	0,732±0,060^a
E36-1	3,043±0,238 ^{abc}	2,059±0,156 ^{ab}	1,040±0,079 ^{bc}	0,567±0,086 ^{abcd}	0,984±0,142 ^{abcde}	0,745±0,227 ^{bcde}	0,946±0,417 ^{bcde}	0,533±0,077^c
K214	2,755±0,102 ^{bed}	2,050±0,110 ^{ab}	1,093±0,098 ^{ab}	0,661±0,141^a	0,705±0,059 ^{ef}	1,231±0,249 ^b	2,208±1,243^a	0,644±0,081 ^{abc}
K241	2,693±0,241 ^{cd}	1,939±0,161 ^{abc}	0,980±0,108 ^{bcd}	0,544±0,138 ^{abcd}	0,753±0,123 ^{def}	1,055±0,374 ^{bcd}	1,542±1,035 ^{abc}	0,621±0,085 ^{abc}
K258	2,727±0,325 ^{bed}	1,923±0,086 ^{abc}	1,006±0,147 ^{bc}	0,638±0,087 ^{ab}	0,804±0,256 ^{cdef}	1,202±0,656 ^b	2,019±0,769 ^a	0,640±0,088 ^{abc}
K279	2,745±0,233 ^{bed}	1,876±0,120 ^{bc}	0,863±0,201 ^{cd}	0,556±0,098 ^{abcd}	0,869±0,204 ^{bcdef}	0,393±0,537 ^{bcde}	1,450±0,698 ^{abcd}	0,610±0,071 ^{bc}
K359	3,013±0,342 ^{abc}	2,046±0,167 ^{ab}	0,937±0,168 ^{bcd}	0,473±0,059 ^{de}	0,967±0,292 ^{abcde}	0,722±0,404 ^{bcde}	0,736±0,304 ^{cde}	0,647±0,070 ^{abc}
01	3,368±0,305^a	2,195±0,136^a	1,024±0,125 ^{bc}	0,494±0,075 ^{cde}	1,173±0,280^a	0,545±0,230 ^{de}	0,501±0,184^f	0,572±0,076 ^{bc}
08	2,958±0,275 ^{abcd}	2,065±0,171 ^{ab}	1,005±0,158 ^{bc}	0,450±0,084 ^{de}	0,893±0,203 ^{abcdef}	0,843±0,390 ^{bcde}	0,699±0,350 ^{cde}	0,627±0,081 ^{abc}
16	3,134±0,300 ^{ab}	2,098±0,144 ^{ab}	0,975±0,118 ^{bcd}	0,492±0,085 ^{cde}	1,036±0,214 ^{abcd}	0,627±0,277 ^{cde}	0,632±0,266 ^{cde}	0,586±0,060 ^{bc}
24	3,280±0,166 ^a	2,116±0,192 ^{ab}	0,960±0,126 ^{bcd}	0,518±0,035 ^{abcde}	1,164±0,093 ^{ab}	0,472±0,124^f	0,564±0,095 ^{de}	0,561±0,085 ^{bc}
26	3,054±0,240 ^{abc}	2,065±0,249 ^{ab}	0,956±0,247 ^{bcd}	0,526±0,126 ^{abcde}	0,989±0,279 ^{abcde}	0,724±0,404 ^{bcde}	1,037±0,603 ^{bcde}	0,561±0,070 ^{bc}
40	2,544±0,551^d	1,686±0,379^c	0,769±0,202^d	0,382±0,068^e	0,858±0,215 ^{cdef}	0,548±0,165 ^{de}	0,573±0,209 ^{de}	0,571±0,084 ^{bc}

Tab. 5. Hodnoty indexů spektrální odrazivosti *Photochemical Reflectance Index* (PRI) a *Normalized Difference Vegetative Index* (NDVI), obsahů a poměrů chlorofylů (Chl) a celkových karotenoidů (Kar), specifické hmotnosti listu (SLW) a obsahu prolinu. Uvedené parametry byly měřeny u 15 různých genotypů čiroku dvoubarevného v rámci první série polních pokusů (rok 2011), měření bylo provedeno 29.9.2011. Uvedeny jsou průměry ± směrodatné odchylky, písmena *a-h* popisují statistickou významnost rozdílů mezi genotypy (pouze ty, které jsou označeny odlišnými písmeny, se od sebe statisticky průkazně liší na hladině významnosti ≤ 0,05 na základě analýzy *post-hoc* Tukey-Kramerovým testem následujícím po analýze variance jednoduchého třídění). Genotyp s nejvyšší hodnotou příslušného parametru je označen tučně, genotyp s nejnižší hodnotou příslušného parametru je označen tučně a kurzívou.

Genotyp	PRI (a.u.)	NDVI (a.u.)	Chl a (mg m ⁻²)	Chl b (mg m ⁻²)	Kar (mg m ⁻²)	Chl a/b	Chl/Kar	SLW (g m ⁻²)	Prolin (g kg ⁻¹)
R16	0,056±0,022 ^{bed}	0,742±0,020 ^{ab}	421,20±62,05 ^{bc}	66,94±12,33 ^{bc}	96,36±8,09 ^{ab}	6,32±0,27 ^{bcd}	5,05±0,45 ^b	53,31±4,99 ^{ab}	10,54±2,69^a
S35	0,059±0,012 ^{bc}	0,720±0,008 ^{bcd}	354,01±31,80 ^{bcd}	57,73±5,18 ^{bcd}	89,95±6,58 ^{abc}	6,13±0,15 ^{cdef}	4,58±0,33 ^{bcd}	50,11±3,84 ^{abc}	7,90±2,37 ^{ab}
B35	0,095±0,010^a	0,765±0,014^a	523,01±41,15^a	93,71±7,42^a	102,19±9,03^a	5,59±0,22 ^{gh}	6,05±0,31^a	43,02±4,66^c	6,55±1,76 ^b
E36-1	0,039±0,01 ^{cd}	0,714±0,018 ^{cde}	357,44±53,92 ^{bcd}	62,17±12,68 ^{bcd}	89,07±7,79 ^{abcd}	5,82±0,39 ^{fgh}	4,69±0,44 ^{bcd}	57,08±6,71 ^a	8,72±2,70 ^{ab}
K214	0,052±0,016 ^{bed}	0,719±0,017 ^{bcd}	310,30±73,59 ^{de}	44,89±10,13^e	77,50±16,58 ^{cd}	6,89±0,34 ^a	4,55±0,37 ^{bcd}	49,53±6,20 ^{abc}	9,29±2,82 ^{ab}
K241	0,038±0,012 ^{cd}	0,723±0,017 ^{bcd}	363,84±52,40 ^{bcd}	56,33±8,72 ^{bcd}	90,60±8,25 ^{abc}	6,47±0,30 ^{abc}	4,63±0,39 ^{bcd}	55,67±4,97 ^{ab}	6,84±1,16 ^{ab}
K258	0,069±0,015 ^b	0,74±0,012 ^{abc}	424,73±90,23 ^b	66,88±16,63 ^{bc}	99,24±12,40 ^{ab}	6,41±0,31 ^{bcd}	4,91±0,53 ^{bc}	52,21±5,90 ^{abc}	7,27±2,00 ^{ab}
K279	0,028±0,006 ^d	0,703±0,016 ^{de}	399,14±77,15 ^{bcd}	62,15±14,50 ^{bcd}	95,18±12,16 ^{ab}	6,47±0,38 ^{abc}	4,81±0,42 ^{bcd}	58,03±6,55 ^a	7,72±1,53 ^{ab}
K359	0,066±0,024 ^{bc}	0,743±0,021 ^{ab}	397,74±58,62 ^{bcd}	63,61±11,22 ^{bcd}	92,18±8,97 ^{abc}	6,29±0,29 ^{bcd}	4,99±0,45 ^b	55,54±5,15 ^{ab}	8,56±2,06 ^{ab}
01	0,028±0,014^d	0,699±0,017^e	277,39±53,27^e	49,89±8,93 ^{cde}	73,95±9,03^d	5,55±0,17^h	4,40±0,34 ^{cd}	57,71±7,91 ^a	6,83±3,09 ^{ab}
08	0,068±0,014 ^b	0,73±0,016 ^{bcd}	416,06±64,75 ^{bc}	59,12±13,35 ^{bcd}	94,46±11,42 ^{ab}	6,91±0,35^a	4,97±0,36 ^b	51,60±8,03 ^{abc}	9,43±4,21 ^{ab}
16	0,059±0,027 ^{bc}	0,709±0,025 ^{de}	330,41±32,57 ^{cde}	49,47±6,05 ^{cde}	78,76±5,93 ^{cd}	6,70±0,23 ^{ab}	4,82±0,30 ^{bcd}	51,76±8,31 ^{abc}	6,67±2,38 ^b
24	0,055±0,019 ^{bcd}	0,716±0,016 ^{bcd}	282,85±43,22 ^c	47,18±6,73 ^{de}	77,27±7,51 ^{cd}	5,99±0,16 ^{defg}	4,26±0,35^d	47,26±4,95 ^{bc}	6,09±1,58^b
26	0,062±0,014 ^{bc}	0,706±0,017 ^{de}	310,60±56,79 ^{de}	49,96±8,38 ^{cde}	83,62±10,50 ^{bcd}	6,20±0,27 ^{cdef}	4,29±0,35 ^d	58,36±5,82^a	8,50±2,60 ^{ab}
40	0,067±0,018 ^b	0,729±0,021 ^{bcd}	408,72±60,76 ^{bc}	68,98±11,72 ^b	98,50±12,94 ^{ab}	5,95±0,19 ^{efgh}	4,84±0,30 ^{bcd}	52,54±6,22 ^{ab}	6,83±1,74 ^{ab}

5.2 Druhá pokusná série

V druhé pokusné sérii (plní pokusy 2012) proběhla celkem čtyři kola měření parametrů OJIP křivky, indexů spektrální odrazivosti NDVI a PRI a spektrofotometrické stanovení obsahu fotosyntetických barviv u stejných 15 genotypů čiroku jako v rámci první pokusné série, a to v období 21.8-20.9.2012 s intervalem ~ 7 dní. Hodnoty těchto parametrů spolu se statistickou průkazností rozdílů mezi jednotlivými genotypy jsou uvedeny v **Tab. 6-15**. Ve všech nedestruktivních i destruktivních parametrech byly zaznamenány průkazné rozdíly mezi genotypy (**Tab. 6-16**), ovšem často pouze mezi některými z nich a většina genotypů se mezi sebou statisticky průkazně neodlišovala. Významné rozdíly byly naopak ve všech nedestruktivních parametrech zaznamenány mezi jednotlivými koly měření, a také interakce mezi dny měření a genotypy byly vždy statisticky průkazné, což naznačovalo, že trend změn hodnot příslušných parametrů během postupného vývoje praporcového listu nebyl u jednotlivých genotypů stejný (**Tab. 16**). Obecně se nicméně dá prohlásit, že u většiny genotypů měly parametry popisující přenos elektronů v rámci PSII a oba performanční indexy (**Tab. 6, 8, 11, 12, 13**) v průběhu měření víceméně vyrovnaný trend s poklesem na konci (poslední, čtvrté měření bylo charakterizováno nejnižšími hodnotami). U parametrů týkajících se celého elektron-transportního řetězce (ϕ_{R0} , ψ_{R0} , δ_{R0} , RE_0/RC) a obou indexů spektrální odrazivosti tento pokles nebyl pozorován nebo nebyl tak výrazný (**Tab. 7, 8, 9, 11, 14**). U parametrů popisujících světlosběrné antény a disipaci energie z fotosystémů (ϕ_{D0} , ABS/RC , DI_0/RC) byl trend opačný (**Tab. 7, 10, 12**).

Stay-green linie B35, která i v této pokusné sérii vykazovala vysokou účinnost některých primárních fotosyntetických procesů spojených především s přenosem elektronů z Q_Y na Q_B v rámci PSII (TP_0/RC , ET_0/RC a PI_{ABS} ; **Tab. 10, 11, 13**) a také vyšší hodnoty v indexu spektrální odrazivosti NDVI a obsahu fotosyntetických barviv (**Tab. 14, 15**). V ostatních parametrech pak významné rozdíly od ostatních studovaných genotypů většinou vůbec nevykazovala. Druhá *stay-green* linie E36-1 v některých parametrech (ψ_{R0} , PI_{TOTAL} ; **Tab. 8, 13**) vykázala nejnižší hodnoty, ačkoliv rozdíly od ostatních genotypů nebyly vždy průkazné a jednotlivá měření se obvykle lišila. Obě senescentní rodičovské linie (R16 a S35) se v žádném z parametrů v naprosté většině případů mezi sebou nelišily a vykazovaly spíše průměrné hodnoty v rámci hodnoceného spektra genotypů, kromě PRI, kde linie S35 vykázala v několika měřeních velmi nízké hodnoty (**Tab. 14**).

Ani v této pokusné sérii se IL vzniklé introgresním zpětným křížením linie B35 na linii S35 nebo linii R16 mezi sebou většinou příliš nelišily (**Tab. 6-15**). Tentokrát nebylo možné pozorovat ani náznak podobného trendu jako v předchozím roce, a to ani při posledním, čtvrtém měření, které odpovídalo měření v první pokusné sérii.

Tab. 6. Hodnoty maximálního kvantového výtěžku fotochemické přeměny energie ve fotosystému II (Φ_{P0}) a kvantového výtěžku toku přenosu elektronů z Q_A na Q_B (Φ_{P0}) u 15 různých genotypů čirou dvoubarevného v rámci druhé série polních pokusů (rok 2012). V období 20.8.-21.9.2012 byla provedena celkem čtyři měření s intervalem ~7 dní. Uvedeny jsou průměry \pm směrodatné odchytky, písmena *a-g* popisují statistickou významnost rozdílů mezi genotypy (pouze ty, které jsou označeny odlišnými písmeny, se od sebe statisticky průkazně liší na hladině významnosti $\leq 0,05$ na základě analýzy *post-hoc* Tukey-Kramerovým testem následujícím po analýze variance jednoduchého třídění). Genotyp s nejvyšší hodnotou příslušného parametru je označen tučně, genotyp s nejnižší hodnotou příslušného parametru je označen tučně a kurzivou.

Genotyp	Φ_{P0} (a.u.)				Φ_{P0} (a.u.)			
	1. měření	2. měření	3. měření	4. měření	1. měření	2. měření	3. měření	4. měření
R16	0,711 \pm 0,050 ^{ed}	0,746 \pm 0,030 ^{bed}	0,721 \pm 0,045 ^{edef}	0,656 \pm 0,077 ^{ab}	0,361 \pm 0,066 ^{cd}	0,389 \pm 0,063 ^{bed}	0,373 \pm 0,056 ^{ede}	0,279 \pm 0,060 ^{abcd}
S35	0,687\pm0,066^d	0,735 \pm 0,080 ^{cd}	0,718 \pm 0,032 ^{def}	0,595 \pm 0,058 ^{bed}	0,346 \pm 0,068 ^{cd}	0,384 \pm 0,065 ^{cd}	0,338 \pm 0,042 ^{ef}	0,262 \pm 0,041 ^{bede}
B35	0,712 \pm 0,069 ^{cd}	0,760 \pm 0,043 ^{abe}	0,758 \pm 0,021 ^{abc}	0,673\pm0,056^a	0,387 \pm 0,067 ^{bc}	0,415 \pm 0,055 ^{bc}	0,412 \pm 0,039 ^{abc}	0,315\pm0,056^a
E36-1	0,718 \pm 0,057 ^{cd}	0,741 \pm 0,058 ^{cd}	0,711 \pm 0,034 ^{efg}	0,549 \pm 0,114 ^{def}	0,357 \pm 0,057 ^{cd}	0,380 \pm 0,059 ^{cd}	0,347 \pm 0,033 ^{def}	0,254 \pm 0,066 ^{bede}
K214	0,700 \pm 0,054 ^{cd}	0,742 \pm 0,027 ^{cd}	0,718 \pm 0,047 ^{defg}	0,549 \pm 0,098 ^{cddef}	0,349 \pm 0,066 ^{cd}	0,394 \pm 0,052 ^{bed}	0,343 \pm 0,057 ^{def}	0,241 \pm 0,073 ^{ede}
K241	0,710 \pm 0,058 ^{cd}	0,765 \pm 0,023 ^{abc}	0,676\pm0,096^g	0,534 \pm 0,135 ^{def}	0,371 \pm 0,059 ^{bed}	0,424 \pm 0,058 ^{abc}	0,330 \pm 0,080 ^{ef}	0,251 \pm 0,076 ^{bede}
K258	0,771 \pm 0,031 ^{ab}	0,764 \pm 0,039 ^{abc}	0,768\pm0,030^a	0,606 \pm 0,104 ^{bc}	0,429 \pm 0,056 ^{ab}	0,398 \pm 0,073 ^{bed}	0,425 \pm 0,072 ^{ab}	0,300 \pm 0,074 ^{ab}
K279	0,743 \pm 0,028 ^{bc}	0,782\pm0,014^a	0,764 \pm 0,031 ^{ab}	0,559 \pm 0,081 ^{cddef}	0,390 \pm 0,034 ^{bc}	0,432 \pm 0,051 ^{ab}	0,394 \pm 0,066 ^{abcd}	0,239 \pm 0,048 ^{de}
K359	0,692 \pm 0,088 ^d	0,745 \pm 0,037 ^{cd}	0,733 \pm 0,071 ^{bede}	0,654 \pm 0,088 ^{ab}	0,368 \pm 0,076 ^{cd}	0,376 \pm 0,057 ^{cd}	0,367 \pm 0,073 ^{de}	0,280 \pm 0,068 ^{abcd}
01	0,699 \pm 0,059 ^d	0,776 \pm 0,012 ^{ab}	0,718 \pm 0,040 ^{def}	0,501\pm0,060^f	0,322\pm0,061^d	0,454\pm0,035^a	0,353 \pm 0,048 ^{def}	0,222\pm0,040^e
08	0,788\pm0,014^a	0,751 \pm 0,026 ^{bc}	0,768 \pm 0,026 ^a	0,540 \pm 0,057 ^{def}	0,453\pm0,043^a	0,409 \pm 0,051 ^{bc}	0,429\pm0,070^a	0,270 \pm 0,064 ^{bed}
16	0,724 \pm 0,048 ^{cd}	0,759 \pm 0,018 ^{abc}	0,725 \pm 0,027 ^{cddef}	0,517 \pm 0,063 ^f	0,338 \pm 0,061 ^d	0,400 \pm 0,051 ^{bed}	0,358 \pm 0,046 ^{def}	0,253 \pm 0,047 ^{bede}
24	0,785 \pm 0,015 ^a	0,726\pm0,047^d	0,704 \pm 0,051 ^{fg}	0,579 \pm 0,074 ^{ede}	0,424 \pm 0,036 ^{ab}	0,367\pm0,047^d	0,320\pm0,066^f	0,285 \pm 0,057 ^{abc}
26	0,709 \pm 0,068 ^{cd}	0,749 \pm 0,034 ^{bed}	0,730 \pm 0,052 ^{bedef}	0,529 \pm 0,080 ^{ef}	0,353 \pm 0,071 ^{cd}	0,397 \pm 0,069 ^{bed}	0,376 \pm 0,072 ^{ede}	0,266 \pm 0,067 ^{bed}
40	0,782 \pm 0,033 ^{ab}	0,781 \pm 0,021 ^a	0,754 \pm 0,025 ^{abcd}	0,519 \pm 0,057 ^f	0,429 \pm 0,040 ^{ab}	0,402 \pm 0,042 ^{bed}	0,384 \pm 0,043 ^{bed}	0,225 \pm 0,046 ^e

Tab. 7. Hodnoty kvantového výtěžku toku přenosu elektronů až na koncové akceptory fotosystému I (ϕ_{PSI}) a kvantového výtěžku disipace zachycené energie (ϕ_{D0}) u 15 různých genotypů čiroku dvoubarevného v rámci druhé série polních pokusů (rok 2012). V období 20.8.-21.9.2012 byla provedena celkem čtyři měření s intervalem ~7 dní. Uvedeny jsou průměry \pm směrodatné odchylky, písmena *a-g* popisují statistickou významnost rozdílů mezi genotypy (pouze ty, které jsou označeny odlišnými písmeny, se od sebe statisticky průkazně liší na hladině významnosti $\leq 0,05$ na základě analýzy *post-hoc* Tukey-Kramerovým testem následujícím po analýze variance jednoduchého třídění). Genotyp s nejvyšší hodnotou příslušného parametru je označen tučně, genotyp s nejnižší hodnotou příslušného parametru je označen tučně a kurzívou.

Genotyp	ϕ_{REO} (a.u.)				ϕ_{D0} (a.u.)			
	1. měření	2. měření	3. měření	4. měření	1. měření	2. měření	3. měření	4. měření
R16	0,270 \pm 0,058 ^{abcd}	0,249 \pm 0,032 ^{abc}	0,240 \pm 0,031 ^{abc}	0,161 \pm 0,036 ^{bde}	0,289 \pm 0,050 ^{ab}	0,254 \pm 0,030 ^{abc}	0,279 \pm 0,045 ^{bde}	0,344 \pm 0,077 ^{ef}
S35	0,259 \pm 0,053 ^{ede}	0,230 \pm 0,048 ^{bde}	0,211 \pm 0,020 ^{cdef}	0,165 \pm 0,026 ^{bde}	0,313\pm0,066^a	0,265 \pm 0,080 ^{ab}	0,282 \pm 0,032 ^{bed}	0,405 \pm 0,058 ^{ede}
B35	0,247 \pm 0,055 ^{de}	0,207 \pm 0,047 ^{ef}	0,226 \pm 0,038 ^{ghed}	0,201\pm0,037^a	0,288 \pm 0,069 ^{ab}	0,240 \pm 0,043 ^{bed}	0,243 \pm 0,021 ^{efg}	0,327\pm0,056^f
E36-1	0,209 \pm 0,044 ^e	0,187\pm0,031^f	0,182 \pm 0,027 ^f	0,148 \pm 0,042 ^{de}	0,282 \pm 0,057 ^{ab}	0,259 \pm 0,058 ^{ab}	0,289 \pm 0,034 ^{abc}	0,451 \pm 0,114 ^{abc}
K214	0,214 \pm 0,052 ^e	0,217 \pm 0,043 ^{cdef}	0,192 \pm 0,037 ^{ef}	0,157 \pm 0,048 ^{bde}	0,300 \pm 0,054 ^{ab}	0,258 \pm 0,027 ^{ab}	0,282 \pm 0,047 ^{abcd}	0,451 \pm 0,098 ^{abcd}
K241	0,202\pm0,035^e	0,207 \pm 0,056 ^{def}	0,178\pm0,040^f	0,159 \pm 0,041 ^{bde}	0,290 \pm 0,057 ^{ab}	0,235 \pm 0,023 ^{bed}	0,324\pm0,096^a	0,466 \pm 0,135 ^{abc}
K258	0,299 \pm 0,038 ^{ab}	0,231 \pm 0,049 ^{bde}	0,253 \pm 0,050 ^a	0,201\pm0,057^a	0,229 \pm 0,032 ^{cd}	0,236 \pm 0,039 ^{bed}	0,232\pm0,030^g	0,394 \pm 0,104 ^{de}
K279	0,308\pm0,041^a	0,242 \pm 0,042 ^{abcd}	0,263\pm0,036^a	0,174 \pm 0,029 ^{abcde}	0,257 \pm 0,028 ^{bc}	0,218\pm0,014^d	0,236 \pm 0,031 ^{fg}	0,441 \pm 0,081 ^{abcd}
K359	0,291 \pm 0,078 ^{abc}	0,215 \pm 0,046 ^{cdef}	0,202 \pm 0,042 ^{def}	0,144\pm0,029^e	0,308 \pm 0,088 ^a	0,255 \pm 0,037 ^{ab}	0,267 \pm 0,071 ^{cdef}	0,346 \pm 0,088 ^{ef}
01	0,244 \pm 0,042 ^{de}	0,263\pm0,036^a	0,236 \pm 0,029 ^{abc}	0,157 \pm 0,026 ^{ede}	0,301 \pm 0,059 ^a	0,224 \pm 0,012 ^{cd}	0,282 \pm 0,040 ^{bed}	0,499\pm0,060^a
08	0,238 \pm 0,046 ^{de}	0,256 \pm 0,040 ^{ab}	0,220 \pm 0,039 ^{ede}	0,189 \pm 0,055 ^{ab}	0,212\pm0,014^d	0,249 \pm 0,026 ^{bc}	0,232 \pm 0,026 ^g	0,460 \pm 0,057 ^{abc}
16	0,233 \pm 0,058 ^{de}	0,224 \pm 0,043 ^{ede}	0,238 \pm 0,035 ^{abc}	0,177 \pm 0,036 ^{abcd}	0,276 \pm 0,048 ^{ab}	0,241 \pm 0,018 ^{ghed}	0,275 \pm 0,027 ^{bode}	0,483 \pm 0,063 ^a
24	0,202 \pm 0,040 ^e	0,240 \pm 0,037 ^{abcd}	0,197 \pm 0,034 ^{ef}	0,180 \pm 0,040 ^{abc}	0,215 \pm 0,015 ^d	0,274\pm0,047^a	0,296 \pm 0,051 ^{ab}	0,421 \pm 0,074 ^{abcd}
26	0,269 \pm 0,047 ^{bed}	0,248 \pm 0,042 ^{abc}	0,244 \pm 0,043 ^{ab}	0,185 \pm 0,049 ^{ab}	0,291 \pm 0,068 ^{ab}	0,251 \pm 0,034 ^{abc}	0,270 \pm 0,052 ^{bdef}	0,471 \pm 0,080 ^{ab}
40	0,263 \pm 0,033 ^{ed}	0,221 \pm 0,031 ^{ede}	0,205 \pm 0,023 ^{def}	0,157 \pm 0,037 ^{cde}	0,218 \pm 0,033 ^{sd}	0,219 \pm 0,021 ^d	0,246 \pm 0,025 ^{defg}	0,481 \pm 0,057 ^a

Tab. 8. Hodnoty účinnosti / pravděpodobnosti, s kterou je elektron zachycený fotosystémem II přenesen z Q_A na Q_B (ψ_{RO}) nebo až na koncové akceptory fotosystému I (ψ_{R0}) u 15 různých genotypů čiroku dvoubarevného v rámci druhé série polních pokusů (rok 2012). V období 20.8.-21.9.2012 byla provedena celkem čtyři měření s intervalem ~7 dní. Uvedeny jsou průměry \pm směrodatné odchylky, písmena *a-e* popisují statistickou významnost rozdílů mezi genotypy (pouze ty, které jsou označeny odlišnými písmeny, se od sebe statisticky průkazně liší na hladině významnosti $\leq 0,05$ na základě analýzy *post-hoc* Tukey-Kramerovým testem následujícím po analýze variance jednoduchého třídění). Genotyp s nejvyšší hodnotou příslušného parametru je označen tučně, genotyp s nejnižší hodnotou příslušného parametru je označen tučně a kurzívou.

Genotyp	ψ_{RO} (a.u.)				ψ_{R0} (a.u.)			
	1. měření	2. měření	3. měření	4. měření	1. měření	2. měření	3. měření	4. měření
R16	0,504±0,064 ^{bcd}	0,519±0,070 ^b	0,516±0,060 ^{abc}	0,424±0,071 ^{bc}	0,379±0,069 ^{abc}	0,334±0,043 ^{ab}	0,332±0,038 ^{ab}	0,247±0,058 ^{de}
S35	0,499±0,061 ^{cde}	0,518±0,058 ^b	0,470±0,043 ^{cd}	0,440±0,052 ^{abc}	0,376±0,064 ^{abc}	0,312±0,055 ^{abc}	0,294±0,028 ^{bc}	0,278±0,045 ^{cd}
B35	0,539±0,064 ^{abc}	0,544±0,049 ^b	0,543±0,041 ^{ab}	0,466±0,060 ^{abc}	0,353±0,095 ^{bcd}	0,273±0,060 ^{cd}	0,299±0,053 ^{bc}	0,299±0,056 ^{bcd}
E36-1	0,495±0,053 ^{cde}	0,510±0,054 ^b	0,488±0,034 ^{cd}	0,458±0,096 ^{abc}	0,291±0,053 ^{de}	0,251±0,034^d	0,256±0,041^d	0,270±0,081 ^{cde}
K214	0,495±0,066 ^{cde}	0,530±0,054 ^b	0,475±0,058 ^{cd}	0,434±0,086 ^{abc}	0,305±0,062 ^{de}	0,293±0,051 ^{bcd}	0,267±0,048 ^{cd}	0,286±0,067 ^{bcd}
K241	0,519±0,049 ^{abcde}	0,554±0,065 ^{ab}	0,480±0,078 ^{cd}	0,467±0,065 ^{abc}	0,284±0,043 ^{de}	0,270±0,071 ^{cd}	0,262±0,042 ^{cd}	0,302±0,051 ^{abcd}
K258	0,554±0,060 ^{ab}	0,517±0,080 ^b	0,551±0,086 ^{ab}	0,493±0,085 ^a	0,388±0,047 ^{ab}	0,302±0,056 ^{bc}	0,330±0,065 ^{ab}	0,335±0,087 ^{ab}
K279	0,523±0,029 ^{abcd}	0,552±0,058 ^{ab}	0,514±0,072 ^{abc}	0,429±0,063 ^{bc}	0,417±0,055 ^a	0,310±0,051 ^{abc}	0,345±0,049^a	0,313±0,045 ^{abc}
K359	0,528±0,074 ^{abcd}	0,503±0,059^b	0,495±0,066 ^c	0,422±0,062^c	0,425±0,117^a	0,289±0,061 ^{cd}	0,275±0,051 ^{cd}	0,222±0,039^e
01	0,462±0,090^e	0,585±0,040^a	0,489±0,049 ^{cd}	0,443±0,054 ^{abc}	0,346±0,066 ^{bcd}	0,340±0,044 ^a	0,329±0,044 ^{ab}	0,315±0,047 ^{abc}
08	0,574±0,048^a	0,544±0,056 ^b	0,558±0,081^a	0,501±0,105^a	0,302±0,056 ^{de}	0,341±0,056^a	0,286±0,048 ^{cd}	0,350±0,097^a
16	0,465±0,068 ^e	0,527±0,058 ^b	0,493±0,050 ^{cd}	0,489±0,070 ^{ab}	0,311±0,011 ^d	0,294±0,054 ^{bc}	0,328±0,052 ^{ab}	0,344±0,065 ^{ab}
24	0,540±0,040 ^{abc}	0,504±0,040 ^b	0,451±0,069^d	0,490±0,077 ^a	0,257±0,049^e	0,330±0,047 ^{ab}	0,281±0,045 ^{cd}	0,312±0,061 ^{abc}
26	0,493±0,070 ^{de}	0,529±0,076 ^b	0,512±0,078 ^{bc}	0,500±0,092 ^a	0,380±0,054 ^{abc}	0,330±0,051 ^{ab}	0,335±0,055 ^a	0,350±0,077 ^a
40	0,548±0,037 ^{abc}	0,514±0,044 ^b	0,508±0,044 ^{bc}	0,432±0,070 ^{bc}	0,337±0,043 ^{cd}	0,283±0,036 ^{cd}	0,272±0,029 ^{cd}	0,304±0,066 ^{abc}

Tab. 9. Hodnoty účinnosti / pravděpodobnosti, s kterou je elektron zachycený fotosystémem II přenesen z Q_B až na koncové akceptory fotosystému I (δ_{R0}) a pravděpodobnosti, že chlorofyl ve fotosystému II funguje jako reakční centrum (γ_{RC}) u 15 různých genotypů široko dvoubarevného v rámci druhé série polních pokusů (rok 2012). V období 20.8.-21.9.2012 byla provedena celkem čtyři měření s intervalem ~7 dní. Uvedeny jsou průměry \pm směrodatné odchylky, písmena a-g popisují statistickou významnost rozdílů mezi genotypy (pouze ty, které jsou označeny odlišnými písmeny, se od sebe statisticky průkazně liší na hladině významnosti $\leq 0,05$ na základě analýzy *post-hoc* Tukey-Kramerovým testem následujícím po analýze variance jednoduchého třídění). Genotyp s nejvyšší hodnotou příslušného parametru je označen tučně, genotyp s nejnižší hodnotou příslušného parametru je označen tučně a kurzívou.

Genotyp	δ_{R0} (a.u.)				γ_{RC} (a.u.)			
	1. měření	2. měření	3. měření	4. měření	1. měření	2. měření	3. měření	4. měření
R16	0,762 \pm 0,152 ^{abc}	0,655 \pm 0,126 ^{ab}	0,648 \pm 0,072 ^{abc}	0,580 \pm 0,069 ^{fg}	0,263 \pm 0,026 ^{ede}	0,282 \pm 0,016 ^{bed}	0,275 \pm 0,020 ^{abcd}	0,247\pm0,015^a
S35	0,759 \pm 0,133 ^{abc}	0,608 \pm 0,108 ^{abcd}	0,629 \pm 0,071 ^{abc}	0,632 \pm 0,057 ^{ef}	0,238 \pm 0,025 ^{efg}	0,260 \pm 0,029 ^{ef}	0,260 \pm 0,016 ^{de}	0,236 \pm 0,016 ^{abc}
B35	0,676 \pm 0,267 ^{bed}	0,499 \pm 0,094 ^e	0,556 \pm 0,115 ^{bed}	0,642 \pm 0,087 ^{def}	0,227\pm0,036^g	0,253 \pm 0,030 ^f	0,252 \pm 0,012 ^e	0,234 \pm 0,016 ^{abc}
E36-1	0,588 \pm 0,090 ^{de}	0,498 \pm 0,080 ^e	0,526 \pm 0,081 ^d	0,588 \pm 0,082 ^f	0,245 \pm 0,032 ^{defg}	0,263 \pm 0,021 ^{def}	0,252 \pm 0,014 ^e	0,220 \pm 0,023 ^{cdef}
K214	0,621 \pm 0,126 ^{ede}	0,551 \pm 0,071 ^{ode}	0,564 \pm 0,073 ^{abcd}	0,656 \pm 0,057 ^{bedef}	0,231 \pm 0,036 ^{fg}	0,250\pm0,033^f	0,247 \pm 0,030 ^{ef}	0,205 \pm 0,036 ^{fg}
K241	0,548 \pm 0,076 ^{def}	0,482\pm0,090^g	0,555 \pm 0,086 ^{bed}	0,646 \pm 0,057 ^{edef}	0,239 \pm 0,025 ^{defg}	0,262 \pm 0,033 ^{def}	0,234\pm0,033^f	0,198\pm0,037^g
K258	0,710 \pm 0,128 ^{abcd}	0,589 \pm 0,097 ^{bed}	0,638 \pm 0,331 ^{abc}	0,671 \pm 0,093 ^{bede}	0,299\pm0,018^a	0,290 \pm 0,015 ^{ab}	0,288 \pm 0,014 ^a	0,237 \pm 0,023 ^{ab}
K279	0,798 \pm 0,114 ^a	0,560 \pm 0,064 ^{ede}	0,683\pm0,132^a	0,732\pm0,074^a	0,269 \pm 0,021 ^{bed}	0,303\pm0,018^a	0,288\pm0,015^a	0,234 \pm 0,018 ^{abcd}
K359	0,811\pm0,223^a	0,583 \pm 0,147 ^{bed}	0,564 \pm 0,125 ^{abcd}	0,532\pm0,098^g	0,251 \pm 0,036 ^{def}	0,279 \pm 0,024 ^{bed}	0,271 \pm 0,025 ^{ed}	0,244 \pm 0,024 ^a
01	0,768 \pm 0,173 ^{ab}	0,580 \pm 0,058 ^{od}	0,680 \pm 0,116 ^a	0,713 \pm 0,058 ^{ab}	0,246 \pm 0,049 ^{def}	0,281 \pm 0,016 ^{bed}	0,254 \pm 0,013 ^e	0,205 \pm 0,018 ^{fg}
08	0,523 \pm 0,080 ^{ef}	0,629 \pm 0,100 ^{abc}	0,517\pm0,069^g	0,688 \pm 0,073 ^{abcd}	0,288 \pm 0,020 ^{ab}	0,273 \pm 0,015 ^{ede}	0,285 \pm 0,017 ^{ab}	0,225 \pm 0,016 ^{bede}
16	0,671 \pm 0,202 ^{bed}	0,557 \pm 0,062 ^{ede}	0,668 \pm 0,101 ^{ab}	0,699 \pm 0,055 ^{abc}	0,262 \pm 0,020 ^{de}	0,285 \pm 0,015 ^{bc}	0,274 \pm 0,013 ^{bed}	0,219 \pm 0,013 ^{cdef}
24	0,475\pm0,080^f	0,659\pm0,105^a	0,631 \pm 0,115 ^{abc}	0,637 \pm 0,082 ^{ef}	0,285 \pm 0,016 ^{abc}	0,263 \pm 0,015 ^{def}	0,260 \pm 0,017 ^{de}	0,235 \pm 0,020 ^{abc}
26	0,782 \pm 0,142 ^{ab}	0,627 \pm 0,062 ^{abc}	0,661 \pm 0,105 ^{ab}	0,695 \pm 0,054 ^{abc}	0,252 \pm 0,021 ^{def}	0,273 \pm 0,019 ^{ede}	0,267 \pm 0,014 ^{ed}	0,219 \pm 0,023 ^{def}
40	0,618 \pm 0,087 ^{de}	0,550 \pm 0,047 ^{de}	0,537 \pm 0,054 ^{cd}	0,698 \pm 0,066 ^{abc}	0,291 \pm 0,023 ^{ab}	0,292 \pm 0,018 ^{ab}	0,277 \pm 0,014 ^{abc}	0,215 \pm 0,017 ^{efg}

Tab. 10. Hodnoty průměrného toku zachycených fotonů (zdanlivá velikost světlosběrné antény aktivního fotosystému II; ABS/RC) a maximálního toku zachycených excitonů (TP₀/RC), vyjádřených na jedno reakční centrum fotosystému II, u 15 různých genotypů čiroku dvoubarevného v rámci druhé série polních pokusů (rok 2012). V období 20.8.-21.9.2012 byla provedena celkem čtyři měření s intervalem ~7 dní. Uvedeny jsou průměry ± směrodatné odchylky, písmena *a-h* popisují statistickou významnost rozdílů mezi genotypy (pouze ty, které jsou označeny odlišnými písmeny, se od sebe statisticky průkazně liší na hladině významnosti ≤ 0,05 na základě analýzy *post-hoc* Tukey-Kramerovým testem následujícím po analýze variance jednoduchého třídění). Genotyp s nejvyšší hodnotou příslušného parametru je označen tučně, genotyp s nejnižší hodnotou příslušného parametru je označen tučně a kurzivou.

Genotyp	ABS/RC (a.u.)				TP ₀ /RC (a.u.)			
	1. měření	2. měření	3. měření	4. měření	1. měření	2. měření	3. měření	4. měření
R16	2,838±0,395 ^{edef}	2,556±0,194 ^{cdefg}	2,658±0,303 ^{def}	3,062±0,260^f	2,01±0,240 ^{cdef}	1,905±0,145 ^{efgh}	1,908±0,147 ^e	1,994±0,168 ^{bed}
S35	3,251±0,467 ^{abc}	2,913±0,652 ^{ab}	2,867±0,239 ^{bed}	3,261±0,306 ^{de}	2,211±0,225 ^{bc}	2,096±0,212 ^{bed}	2,054±0,134 ^{cd}	1,927±0,134 ^{cde}
B35	3,544±0,852^a	3,007±0,524 ^a	2,972±0,188 ^b	3,289±0,304 ^{de}	2,473±0,349^a	2,265±0,256^a	2,250±0,126^a	2,200±0,128^a
E36-1	3,147±0,585 ^{bed}	2,833±0,318 ^{abc}	2,983±0,226 ^b	3,780±1,257 ^{abc}	2,234±0,296 ^{bc}	2,092±0,231 ^{bed}	2,120±0,168 ^{bc}	1,959±0,186 ^{cd}
K214	3,426±0,698 ^{ab}	3,056±0,487^a	3,103±0,520 ^{ab}	4,046±1,018 ^{ab}	2,370±0,367 ^{ab}	2,257±0,313 ^{ab}	2,208±0,257 ^{ab}	2,137±0,219 ^{ab}
K241	3,228±0,393 ^{abcd}	2,872±0,501 ^{abc}	3,377±0,759^a	4,220±0,938^a	2,286±0,283 ^{abc}	2,189±0,334 ^{abc}	2,226±0,265 ^{ab}	2,143±0,225 ^{ab}
K258	2,357±0,210^f	2,453±0,177 ^{efg}	2,480±0,165^f	3,278±0,542 ^{de}	1,817±0,180^f	1,872±0,144 ^{gh}	1,905±0,140 ^f	1,939±0,167 ^{cde}
K279	2,737±0,293 ^{def}	2,310±0,218^g	2,482±0,192 ^f	3,309±0,460 ^{cde}	2,032±0,194 ^{cde}	1,806±0,176^h	1,893±0,142^e	1,825±0,176^e
K359	3,083±0,713 ^{bed}	2,616±0,330 ^{cdef}	2,738±0,536 ^{de}	3,147±0,560 ^e	2,088±0,322 ^{cd}	1,944±0,212 ^{efgh}	1,977±0,165 ^{de}	2,021±0,176 ^{bc}
01	3,148±0,462 ^{bed}	2,573±0,203 ^{cdef}	2,949±0,208 ^{bc}	3,912±0,502 ^{ab}	2,198±0,303 ^{bc}	1,996±0,141 ^{defg}	2,114±0,127 ^{bc}	1,936±0,149 ^{cde}
08	2,487±0,250 ^{fg}	2,672±0,200 ^{bcde}	2,523±0,207 ^f	3,467±0,319 ^{cde}	1,959±0,175 ^{def}	2,007±0,154 ^{def}	1,936±0,158 ^e	1,861±0,160 ^{de}
16	2,843±0,297 ^{cde}	2,521±0,179 ^{defg}	2,662±0,171 ^{def}	3,577±0,275 ^{bcde}	2,050±0,168 ^{cde}	1,912±0,135 ^{efgh}	1,930±0,121 ^e	1,835±0,143 ^e
24	2,515±0,202 ^{efg}	2,812±0,231 ^{abc}	2,861±0,272 ^{bed}	3,311±0,667 ^{cde}	1,973±0,148 ^{def}	2,035±0,129 ^{cde}	2,004±0,148 ^{de}	1,880±0,148 ^{de}
26	2,991±0,374 ^{cd}	2,679±0,269 ^{bcd}	2,753±0,217 ^{cde}	3,627±0,629 ^{bed}	2,100±0,152 ^{cd}	1,999±0,134 ^{defg}	2,003±0,109 ^{de}	1,876±0,132 ^{de}
40	2,463±0,299 ^{fg}	2,436±0,224 ^{fg}	2,622±0,189 ^{ef}	3,685±0,393 ^{bed}	1,918±0,169 ^{ef}	1,898±0,140 ^{fgh}	1,975±0,123 ^{de}	1,896±0,146 ^{de}

Tab. 11. Hodnoty toku přenosu elektronů z Q_A na Q_B (ET₀/RC) nebo až na koncové akceptory fotosystému I (RE₀/RC), vyjádřených na jedno reakční centrum fotosystému II, u 15 různých genotypů široku dvoubarevného v rámci druhé série polních pokusů (rok 2012). V období 20.8.-21.9.2012 byla provedena celkem čtyři měření s intervalem ~7 dní. Uvedeny jsou průměry ± směrodatné odchylky, písmena a-f popisují statistickou významnost rozdílů mezi genotypy (pouze ty, které jsou označeny odlišnými písmeny, se od sebe statisticky průkazně liší na hladině významnosti ≤ 0,05 na základě analýzy *post-hoc* Tukey-Kramerovým testem následujícím po analýze variance jednoduchého třídění). Genotyp s nejvyšší hodnotou příslušného parametru je označen tučně, genotyp s nejnižší hodnotou příslušného parametru je označen tučně a kurzivou.

Genotyp	ET ₀ /RC (a.u.)				RE ₀ /RC (a.u.)			
	1. měření	2. měření	3. měření	4. měření	1. měření	2. měření	3. měření	4. měření
R16	1,011±0,168 ^{bc}	0,990±0,157 ^{def}	0,983±0,125 ^{bed}	0,844±0,144 ^{bc}	0,754±0,127 ^{abcd}	0,633±0,076 ^{abcd}	0,632±0,065 ^{abcd}	0,488±0,093 ^{cd}
S35	1,100±0,158 ^b	1,085±0,158 ^{bed}	0,963±0,096 ^{cd}	0,846±0,103 ^{bc}	0,821±0,102 ^{abc}	0,646±0,085 ^{abc}	0,602±0,052 ^{cde}	0,534±0,081 ^{bed}
B35	1,332±0,230^a	1,224±0,094^a	1,222±0,105^a	1,025±0,135^a	0,881±0,306^a	0,613±0,135 ^{bcd}	0,671±0,109 ^{ab}	0,656±0,115 ^a
E36-1	1,100±0,142 ^b	1,071±0,184 ^{cde}	1,034±0,110 ^{bc}	0,896±0,186 ^{bc}	0,640±0,093 ^{def}	0,522±0,069^f	0,540±0,079 ^e	0,537±0,112 ^{bc}
K214	1,167±0,206 ^b	1,189±0,148 ^{abc}	1,043±0,124 ^{bc}	0,916±0,125 ^{abc}	0,707±0,120 ^{bcd}	0,650±0,088 ^{abc}	0,584±0,085 ^{cde}	0,601±0,102 ^{abc}
K241	1,187±0,186 ^{ab}	1,199±0,134 ^{ab}	1,074±0,219 ^{bc}	0,997±0,138 ^{ab}	0,643±0,091 ^{cdef}	0,572±0,095 ^{cdef}	0,583±0,105 ^{cde}	0,643±0,099 ^{ab}
K258	1,010±0,156 ^{bc}	0,971±0,170^f	1,051±0,172 ^{bc}	0,953±0,163 ^{ab}	0,702±0,087 ^{cde}	0,562±0,097 ^{def}	0,623±0,108 ^{bed}	0,642±0,152 ^{ab}
K279	1,064±0,119 ^{bc}	0,997±0,141 ^{def}	0,975±0,162 ^{bed}	0,783±0,142^c	0,839±0,087 ^{ab}	0,555±0,082 ^{def}	0,649±0,078 ^{abc}	0,568±0,081 ^{abc}
K359	1,112±0,288 ^b	0,980±0,168 ^{ef}	0,978±0,156 ^{bed}	0,855±0,154 ^{bc}	0,878±0,293 ^a	0,553±0,098 ^{ef}	0,537±0,080^f	0,446±0,071^d
01	1,001±0,191 ^{bc}	1,164±0,071 ^{abc}	1,034±0,115 ^{bc}	0,855±0,108 ^{bc}	0,763±0,172 ^{abc}	0,675±0,078 ^a	0,693±0,080^a	0,608±0,088 ^{ab}
08	1,121±0,101 ^b	1,091±0,129 ^{bed}	1,078±0,161 ^b	0,928±0,199 ^{ab}	0,583±0,087 ^{ef}	0,679±0,093^a	0,551±0,082 ^c	0,649±0,186 ^a
16	0,952±0,157^c	1,005±0,115 ^{def}	0,951±0,112 ^{cd}	0,897±0,140 ^{bc}	0,635±0,224 ^{def}	0,559±0,089 ^{def}	0,634±0,108 ^{abc}	0,629±0,119 ^{ab}
24	1,065±0,101 ^{bc}	1,027±0,111 ^{def}	0,904±0,154^d	0,920±0,159 ^{ab}	0,503±0,084^f	0,669±0,082 ^{ab}	0,560±0,082 ^{de}	0,585±0,117 ^{abc}
26	1,040±0,174 ^{bc}	1,054±0,146 ^{def}	1,026±0,170 ^{bc}	0,941±0,193 ^{ab}	0,797±0,123 ^{abc}	0,658±0,101 ^{ab}	0,669±0,110 ^{ab}	0,657±0,156^a
40	1,049±0,112 ^{bc}	0,974±0,100 ^f	1,003±0,106 ^{bc}	0,815±0,115 ^c	0,646±0,099 ^{cde}	0,536±0,069 ^f	0,538±0,071 ^e	0,571±0,108 ^{abc}

Tab. 12. Hodnoty toku disipované energie vyjádřené na jedno reakční centrum fotosystému II (DI₀/RC) a efektivního kvantového výtěžku fotochemické přeměny energie ve fotosystému II (Q_Y) u 15 různých genotypů širokou dvoubarevného v rámci druhé série polních pokusů (rok 2012). V období 20.8.-21.9.2012 byla provedena celkem čtyři měření s intervalem ~7 dní. Uvedeny jsou průměry ± směrodatné odchylky, písmena *a-g* popisují statistickou významnost rozdílů mezi genotypy (pouze ty, které jsou označeny odlišnými písmeny, se od sebe statisticky průkazně liší na hladině významnosti ≤ 0,05 na základě analýzy *post-hoc* Tukey-Kramerovým testem následujícím po analýze variance jednoduchého třídění). Genotyp s nejvyšší hodnotou příslušného parametru je označen tučně, genotyp s nejnižší hodnotou příslušného parametru je označen tučně a kurzívou.

Genotyp	DI ₀ /RC (a.u.)				Q _Y (a.u.)			
	1. měření	2. měření	3. měření	4. měření	1. měření	2. měření	3. měření	4. měření
R16	0,828±0,226 ^{abc}	0,651±0,104 ^{abc}	0,750±0,212 ^{bcd}	1,068±0,312^c	0,652±0,079 ^{cd}	0,692±0,070 ^{abc}	0,553±0,145 ^{cde}	0,507±0,159 ^{ab}
S35	1,041±0,365 ^{ab}	0,818±0,638^a	0,813±0,147 ^{bc}	1,334±0,295 ^{bc}	0,579±0,117^e	0,653±0,080 ^{cde}	0,495±0,120 ^{de}	0,258±0,114 ^{efg}
B35	1,071±0,568^a	0,742±0,282 ^{ab}	0,723±0,092 ^{bcd}	1,089±0,273 ^c	0,680±0,073 ^{bcd}	0,690±0,042 ^{abc}	0,668±0,107 ^{ab}	0,444±0,141 ^{abc}
E36-1	0,913±0,373 ^{abc}	0,740±0,238 ^{ab}	0,863±0,137 ^b	1,821±1,343 ^{ab}	0,682±0,069 ^{bcd}	0,623±0,077 ^{de}	0,467±0,163^e	0,353±0,173 ^{de}
K214	1,056±0,395 ^{ab}	0,799±0,188 ^{ab}	0,895±0,306 ^b	1,908±0,921 ^{ab}	0,649±0,048 ^{cd}	0,730±0,027^a	0,641±0,096 ^{abc}	0,249±0,068 ^{efg}
K241	0,942±0,244 ^{abc}	0,683±0,175 ^{abc}	1,150±0,667^a	2,077±0,999^a	0,688±0,058 ^{abcd}	0,730±0,024 ^a	0,554±0,127 ^{cde}	0,285±0,132 ^{efg}
K258	0,540±0,087 ^d	0,581±0,121 ^e	0,575±0,088^e	1,339±0,641 ^{bc}	0,726±0,032 ^{ab}	0,726±0,025 ^a	0,723±0,062^a	0,360±0,163 ^{cde}
K279	0,706±0,135 ^{cd}	0,503±0,055^e	0,589±0,105 ^{de}	1,484±0,478 ^{abc}	0,685±0,060 ^{abcd}	0,726±0,024 ^a	0,673±0,070 ^{ab}	0,422±0,136 ^{bcd}
K359	0,994±0,612 ^{ab}	0,673±0,168 ^{abc}	0,761±0,467 ^{bcd}	1,126±0,543 ^c	0,667±0,054 ^{cd}	0,687±0,064 ^{abc}	0,662±0,139 ^{ab}	0,531±0,182^a
01	0,949±0,265 ^{abc}	0,577±0,069 ^e	0,836±0,173 ^b	1,976±0,485 ^a	0,636±0,067 ^d	0,702±0,031 ^{ab}	0,578±0,080 ^{cd}	0,233±0,107 ^{fg}
08	0,529±0,083^d	0,665±0,094 ^{abc}	0,588±0,094 ^e	1,606±0,314 ^{ab}	0,728±0,054 ^a	0,621±0,113^e	0,628±0,097 ^{bc}	0,241±0,097 ^{fg}
16	0,793±0,215 ^{bc}	0,609±0,068 ^{bc}	0,732±0,097 ^{bcd}	1,742±0,342 ^{ab}	0,631±0,082 ^{de}	0,666±0,042 ^{bcd}	0,563±0,088 ^{cd}	0,231±0,081 ^{fg}
24	0,542±0,068 ^d	0,776±0,196 ^{ab}	0,857±0,230 ^b	1,431±0,700 ^{bc}	0,732±0,047^a	0,653±0,079 ^{cde}	0,551±0,107 ^{cde}	0,321±0,141 ^{cf}
26	0,891±0,358 ^{abc}	0,680±0,159 ^{abc}	0,750±0,213 ^{bcd}	1,751±0,673 ^{ab}	0,628±0,078 ^{de}	0,637±0,053 ^{de}	0,586±0,091 ^e	0,217±0,066 ^g
40	0,545±0,162 ^d	0,538±0,101 ^e	0,646±0,100 ^{cde}	1,789±0,383 ^{ab}	0,692±0,040 ^{abc}	0,696±0,054 ^{abc}	0,602±0,101 ^{bc}	0,206±0,040^g

Tab. 13. Hodnoty performančního indexu zachování energie fotonů zachycených světlosběrnou anténou fotosystému II až po redukci Q_B (PI_{ABS}) nebo až po redukci koncových akceptorů fotosystému I (PI_{TOTAL}) u 15 různých genotypů čiroku dvoubarevného v rámci druhé série polních pokusů (rok 2012). V období 20.8.-21.9.2012 byla provedena celkem čtyři měření s intervalem ~7 dní. Uvedeny jsou průměry ± směrodatné odchylky, písmena *a-g* popisují statistickou významnost rozdílů mezi genotypy (pouze ty, které jsou označeny odlišnými písmeny, se od sebe statisticky průkazně liší na hladině významnosti $\leq 0,05$ na základě analýzy *post-hoc* Tukey-Kramerovým testem následujícím po analýze variance jednoduchého třídění). Genotyp s nejvyšší hodnotou příslušného parametru je označen tučně, genotyp s nejnižší hodnotou příslušného parametru je označen tučně a kurzívou.

Genotyp	PI_{ABS} (a.u.)				PI_{TOTAL} (a.u.)			
	1. měření	2. měření	3. měření	4. měření	1. měření	2. měření	3. měření	4. měření
R16	1,031±0,508 ^{bc}	1,362±0,535 ^{bed}	1,153±0,476 ^{bede}	0,533±0,276 ^{abcd}	3,653±1,730 ^{bc}	2,613±1,062 ^{abc}	2,124±0,803 ^{bed}	0,732±0,397 ^{cdef}
S35	0,804±0,396^c	1,196±0,424 ^{cd}	0,842±0,295 ^{de}	0,385±0,156 ^{cdefg}	2,871±2,115 ^{cd}	1,945±0,984 ^{bede}	1,408±0,370 ^{efg}	0,657±0,247 ^{cdef}
B35	1,017±0,509 ^{bc}	1,473±0,718 ^{bc}	1,313±0,405 ^{bc}	0,620±0,287^a	2,226±1,718 ^{cd}	1,552±0,971 ^{de}	1,714±0,629 ^{cdef}	1,118±0,513 ^{ab}
E36-1	0,930±0,423 ^c	1,166±0,345 ^{cd}	0,820±0,203 ^e	0,347±0,167 ^{defg}	1,453±1,194 ^d	1,160±0,412^e	0,924±0,274 ^g	0,505±0,243^f
K214	0,817±0,499 ^e	1,228±0,789 ^{bed}	0,861±0,434 ^{cde}	0,320±0,250 ^{defg}	1,523±0,965 ^d	1,623±1,352 ^{cde}	1,142±0,760 ^{fg}	0,606±0,498 ^{cdef}
K241	0,935±0,443 ^{bc}	1,623±0,837 ^{abc}	0,735±0,344^e	0,356±0,354 ^{cdefg}	1,147±0,577^a	1,729±1,159 ^{bede}	0,871±0,426^g	0,587±0,471 ^{cdef}
K258	1,906±0,589 ^{ab}	1,588±0,646 ^{abc}	1,816±0,712 ^a	0,575±0,358 ^{ab}	4,717±1,788 ^{ab}	2,456±1,408 ^{abc}	2,866±1,194 ^a	1,222±0,764^a
K279	1,225±0,339 ^{bc}	2,024±0,655^a	1,534±0,697 ^{ab}	0,321±0,152 ^{defg}	5,376±3,064^a	2,698±1,090 ^{ab}	3,393±1,536^a	0,888±0,328 ^{abcd}
K359	1,012±0,490 ^{bc}	1,262±0,571 ^{bed}	1,185±0,544 ^{bed}	0,545±0,302 ^{abc}	2,699±2,024 ^{cd}	2,005±1,255 ^{bed}	1,579±0,799 ^{def}	0,579±0,272 ^{def}
01	1,037±0,576 ^{bc}	1,975±0,476 ^a	0,896±0,320 ^{cde}	0,224±0,095^g	3,008±2,410 ^{cd}	2,829±0,898^a	2,025±0,787 ^{bed}	0,549±0,201 ^{ef}
08	2,145±0,696^a	1,452±0,545 ^{bc}	1,845±0,792^a	0,387±0,193 ^{cdef}	2,544±1,202 ^{cd}	2,573±0,970 ^{abc}	1,971±0,878 ^{bede}	0,951±0,552 ^{abc}
16	0,899±0,362 ^c	1,494±0,606 ^{bc}	1,022±0,352 ^{cde}	0,315±0,135 ^{efg}	2,454±2,078 ^{cd}	1,988±1,104 ^{bed}	2,164±0,726 ^{bc}	0,757±0,385 ^{cdef}
24	1,774±0,474 ^{ab}	1,042±0,347^d	0,791±0,432 ^e	0,455±0,188 ^{bede}	1,718±0,761 ^d	2,194±0,993 ^{abcd}	1,356±0,606 ^{fg}	0,798±0,382 ^{cde}
26	0,944±0,460 ^{bc}	1,425±0,670 ^{bc}	1,185±0,538 ^{bed}	0,370±0,192 ^{cdefg}	3,600±1,977 ^{bc}	2,375±1,107 ^{abc}	2,288±0,767 ^b	0,864±0,466 ^{bed}
40	1,880±0,528 ^{ab}	1,630±0,475 ^{ab}	1,284±0,464 ^{bc}	0,250±0,126 ^{fg}	3,150±1,043 ^e	2,039±0,722 ^{bed}	1,480±0,462 ^{defg}	0,604±0,342 ^{cdef}

Tab. 14. Hodnoty indexů spektrální odrazivosti *Photochemical Reflectance Index* (PRI) a *Normalized Difference Vegetative Index* (NDVI) u 15 různých genotypů čiroku dvoubarevného v rámci druhé série polních pokusů (rok 2012). V období 20.8.-21.9.2012 byla provedena celkem čtyři měření s intervalem ~7 dní. Uvedeny jsou průměry ± směrodatné odchylky, písmena *a-g* popisují statistickou významnost rozdílů mezi genotypy (pouze ty, které jsou označeny odlišnými písmeny, se od sebe statisticky průkazně liší na hladině významnosti ≤ 0,05 na základě analýzy *post-hoc* Tukey-Kramerovým testem následujícím po analýze variance jednoduchého třídění). Genotyp s nejvyšší hodnotou příslušného parametru je označen tučně, genotyp s nejnižší hodnotou příslušného parametru je označen tučně a kurzivou.

Genotyp	PRI (a.u.)				NDVI (a.u.)			
	1. měření	2. měření	3. měření	4. měření	1. měření	2. měření	3. měření	4. měření
R16	0,028±0,013 ^{bc}	0,038±0,008 ^{ab}	0,022±0,014 ^{bcde}	0,014±0,010 ^a	0,692±0,021 ^{abcd}	0,698±0,036 ^{abcde}	0,683±0,041 ^{bc}	
S35	0,020±0,008 ^{cd}	0,019±0,012 ^c	0,013±0,009^e	0,006±0,004^f	0,644±0,061 ^{de}	0,710±0,020 ^{abc}	0,693±0,016 ^{bc}	
B35	0,017±0,007 ^{fg}	0,013±0,005 ^{cde}	0,022±0,010 ^{cde}	0,017±0,009 ^a	0,746±0,017^a	0,739±0,025^a	0,734±0,018^a	
E36-1	0,028±0,013 ^c	0,042±0,013^a	0,021±0,013 ^{cde}	0,012±0,009 ^a	0,634±0,062 ^e	0,713±0,017 ^{abc}	0,700±0,016 ^{ab}	
K214	0,043±0,013^a	0,033±0,013 ^b	0,025±0,017 ^{bcd}	0,022±0,007^a	0,615±0,059^e	0,634±0,036^e	0,627±0,062 ^{de}	
K241	0,039±0,016 ^{ab}	0,036±0,013 ^{ab}	0,025±0,017 ^{bc}	0,012±0,011 ^a	0,649±0,043 ^{cde}	0,664±0,045 ^{de}	0,613±0,077^e	
K258	0,018±0,009 ^{efg}	0,016±0,008 ^{cd}	0,016±0,011 ^{cde}	0,013±0,008 ^a	0,713±0,059 ^{ab}	0,702±0,017 ^{abc}	0,714±0,022 ^{ab}	
K279	0,037±0,014 ^{ab}	0,019±0,008 ^c	0,032±0,014 ^b	0,012±0,010 ^a	0,710±0,031 ^{ab}	0,703±0,013 ^{abc}	0,707±0,022 ^{ab}	
K359	0,018±0,013 ^{efg}	0,012±0,008 ^{de}	0,032±0,012 ^b	0,011±0,007 ^a	0,687±0,038 ^{bcd}	0,686±0,026 ^{abcd}	0,658±0,074 ^{cde}	
01	0,021±0,011 ^{cdef}	0,015±0,007 ^{cd}	0,055±0,015^a	0,008±0,005 ^a	0,696±0,024 ^{bc}	0,687±0,013 ^{abcd}	0,679±0,020 ^{bc}	
08	0,025±0,011 ^{cde}	0,015±0,010 ^{cd}	0,016±0,009 ^{cde}	0,007±0,003 ^a	0,705±0,022 ^b	0,672±0,098 ^d	0,704±0,023 ^{ab}	
16	0,026±0,010 ^{cde}	0,013±0,005 ^{cde}	0,018±0,012 ^{cde}	0,015±0,012 ^a	0,647±0,016 ^{de}	0,690±0,015 ^{abcd}	0,681±0,027 ^{bc}	
24	0,020±0,006 ^{def}	0,011±0,008 ^{de}	0,013±0,011^e	0,015±0,009 ^a	0,706±0,020 ^b	0,685±0,023 ^{bcd}	0,699±0,024 ^{ab}	
26	0,026±0,010 ^{cd}	0,012±0,005 ^{de}	0,014±0,008 ^{de}	0,010±0,002 ^a	0,708±0,015 ^{ab}	0,681±0,011 ^{cd}	0,661±0,118 ^{cd}	
40	0,012±0,006^g	0,007±0,005^e	0,014±0,008 ^c	0,008±0,011 ^a	0,709±0,000 ^{ab}	0,681±0,014 ^{cd}	0,693±0,024 ^{bc}	

Tab. 15. Hodnoty obsahů a poměrů chlorofylů (Chl) a celkových karotenoidů (Kar) a specifické hmotnosti listu (SLW) u různých genotypů čiroku dvoubarevného v rámci druhé série polních pokusů (rok 2012). Odběr vzorků pro stanovení příslušných parametrů byl proveden 21.9.2012. Uvedeny jsou průměry ± směrodatné odchylky, písmena *a-f* popisují statistickou významnost rozdílů mezi genotypy (pouze ty, které jsou označeny odlišnými písmeny, se od sebe statisticky průkazně liší na hladině významnosti $\leq 0,05$ na základě analýzy *post-hoc* Tukey-Kramerovým testem následujícím po analýze variance jednoduchého třídění). Genotyp s nejvyšší hodnotou příslušného parametru je označen tučně, genotyp s nejnižší hodnotou příslušného parametru je označen tučně a kurzívou.

Genotyp	Chl a (mg m ⁻²)	Chl b (mg m ⁻²)	Kar (mg m ⁻²)	Chl a/b	Chl/Kar	SLW (g m ⁻²)
R16	271,74±68,23 ^{bed}	59,67±14,18 ^{bed}	61,96±11,50 ^{bede}	4,54±0,12 ^{ab}	5,29±0,52 ^{bed}	38,97±3,33 ^{bc}
S35	242,28±58,25 ^{ed}	54,59±13,31 ^d	59,03±10,03 ^{ede}	4,44±0,14 ^{ab}	4,97±0,43 ^{bede}	39,36±2,64 ^{bc}
B35	447,73±42,58^a	107,72±8,71^a	82,49±6,28^a	4,15±0,14^b	6,73±0,24^a	37,50±5,61 ^{bc}
E36-1	233,16±29,45 ^d	54,84±7,27 ^d	52,85±5,00 ^e	4,26±0,12 ^{ab}	5,45±0,45 ^{bc}	41,13±3,23 ^{ab}
K214	140,85±40,85^e	31,45±8,25^e	40,74±8,12 ^f	4,45±0,21 ^{ab}	4,18±0,72^e	35,70±3,30^f
K241	145,93±76,53 ^e	34,75±17,68 ^e	36,60±13,30^f	4,21±0,21 ^{ab}	4,75±0,91 ^{ede}	37,24±4,80 ^{bc}
K258	303,47±59,95 ^{bc}	71,85±18,52 ^{bc}	66,09±7,57 ^{bed}	4,28±0,39 ^{ab}	5,65±0,81 ^b	39,22±3,97 ^{bc}
K279	307,53±63,52 ^{bc}	71,83±15,94 ^{bc}	65,85±8,27 ^{bed}	4,30±0,14 ^{ab}	5,72±0,62 ^b	40,23±3,44 ^{bc}
K359	260,72±102,82 ^{bed}	58,92±23,69 ^{ed}	58,46±14,96 ^{ede}	4,84±2,00 ^a	5,19±1,33 ^{bed}	44,62±5,73^a
01	251,81±40,67 ^{ed}	59,74±10,05 ^{bed}	59,41±6,77 ^{ede}	4,22±0,15 ^{ab}	5,22±0,45 ^{bed}	39,25±2,92 ^{bc}
08	267,90±54,19 ^{bed}	55,30±12,01 ^d	58,10±8,55 ^{de}	4,86±0,22^a	5,54±0,56 ^{bc}	38,89±3,22 ^{bc}
16	304,72±48,44 ^{bc}	62,88±10,78 ^{bed}	66,80±7,21 ^{bc}	4,86±0,20^a	5,48±0,52 ^{bc}	40,32±4,65 ^{bc}
24	281,70±35,59 ^{bed}	64,51±8,34 ^{bed}	64,49±7,48 ^{bed}	4,37±0,12 ^{ab}	5,39±0,64 ^{bc}	38,38±3,01 ^{bc}
26	238,08±55,56 ^d	59,08±14,68 ^{ed}	62,76±6,44 ^{bed}	4,16±0,76 ^b	4,69±0,51 ^{de}	39,37±3,12 ^{bc}
40	309,74±47,50 ^b	72,57±11,09 ^b	71,16±6,75 ^b	4,27±0,10 ^{ab}	5,35±0,38 ^{bc}	37,48±3,03 ^{bc}

Tab. 16. Výsledky analýzy variance dvojného třídění s interakcemi, provedené u vybraných fotosyntetických parametrů JIP testu vycházejícího z měření OJIP křivky fluorescence chlorofylu *a*, efektivního kvantového výtěžku fotochemické přeměny energie ve fotosystému (PS) II (Q_Y) a indexů spektrální odrazivosti PRI a NDVI u 15 genotypů široku dvoubarevného v rámci druhé série polních pokusů (rok 2012), kdy v období 20.8.-21.9.2012 byla provedena celkem čtyři měření s intervalem ~10 dní. Uvedeny jsou hladiny statistické významnosti (p), jako zdroj variability byly při analýze použity genotypy, měření a interakce mezi nimi (G×M). Statistická významnost ($p \leq 0,05$) je vyznačena tučně.

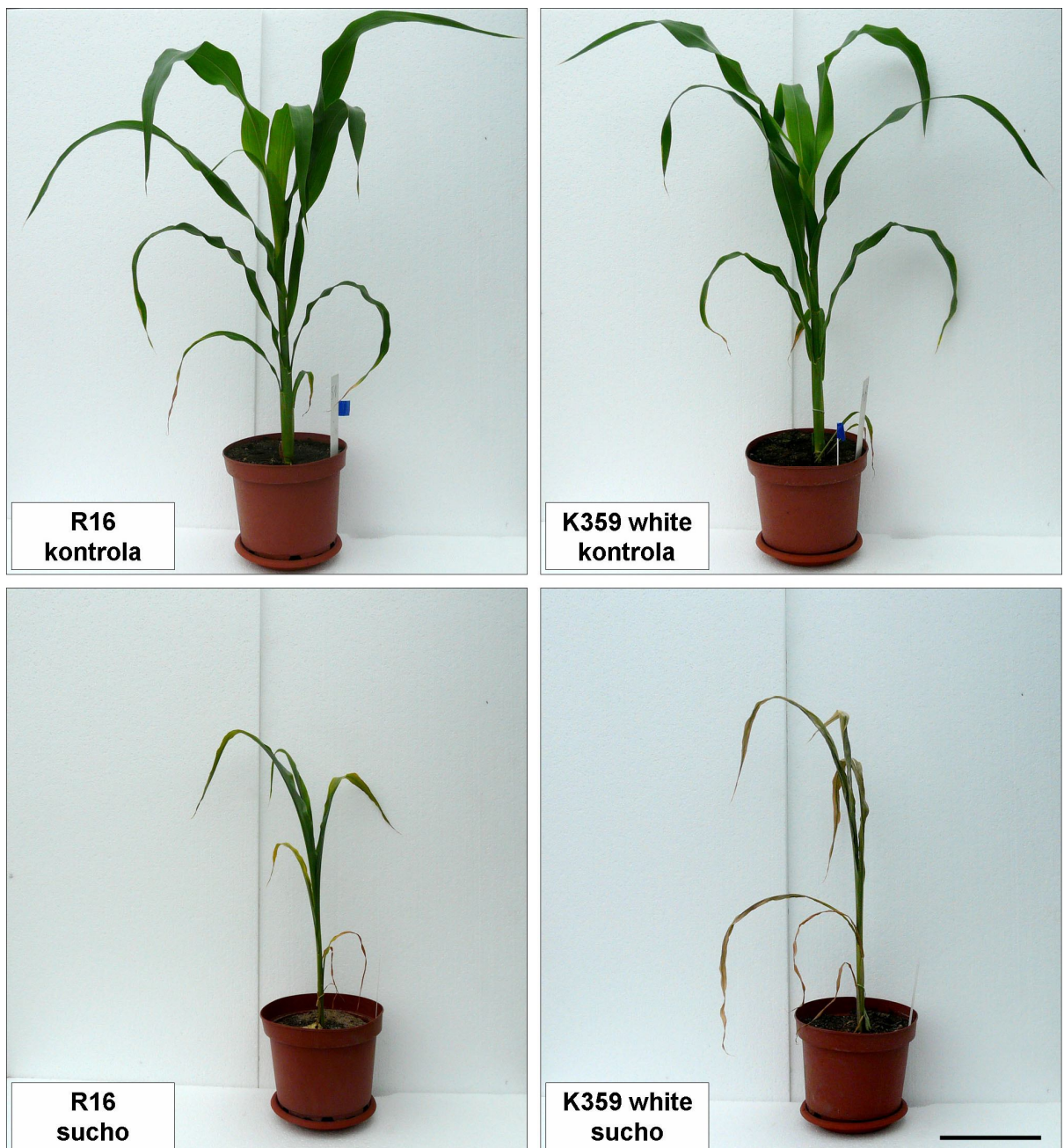
Parametr		Genotypy	Měření	G×M
Φ_{P0}	Maximální kvantový výtěžek fotochemické přeměny energie v PSII	0,000	0,000	0,000
Φ_{E0}	Kvantový výtěžek toku přenosu elektronů z Q_A na Q_B	0,000	0,000	0,000
Φ_{R0}	Kvantový výtěžek toku přenosu elektronů až na koncové akceptory PSI	0,000	0,000	0,000
Φ_{D0}	Kvantový výtěžek disipace zachycené energie	0,000	0,000	0,000
Ψ_{E0}	Účinnost/pravděpodobnost, s kterou je elektron zachycený PSII přenesen z Q_A na Q_B	0,000	0,000	0,000
Ψ_{R0}	Účinnost /pravděpodobnost, s kterou je elektron zachycený PSII přenesen až na koncové akceptory PSI	0,000	0,000	0,000
δ_{R0}	Účinnost /pravděpodobnost, s kterou je elektron zachycený PSII přenesen z Q_B až na koncové akceptory PSI	0,000	0,000	0,000
γ_{RC}	Pravděpodobnost, že PSII chlorofyl funguje jako reakční centrum	0,000	0,000	0,000
ABS/RC	Průměrný tok zachycených fotonů vyjádřený na jedno PSII reakční centrum (zdánlivá velikost světloběrné antény aktivního PSII)	0,000	0,000	0,000
TP ₀ /RC	Maximální tok zachycených excitonů vyjádřený na jedno PSII reakční centrum	0,000	0,000	0,000
ET ₀ /RC	Tok přenosu elektronů z Q_A na Q_B vyjádřený na jedno PSII reakční centrum	0,000	0,000	0,000
RE ₀ /RC	Tok přenosu elektronů až na koncové akceptory PSI vyjádřený na jedno PSII reakční centrum	0,000	0,000	0,000
DI ₀ /RC	Tok disipované energie vyjádřený na jedno PSII reakční centrum	0,000	0,000	0,000
PI _{ABS}	Performanční index zachování energie fotonů zachycených světloběrnou anténou PSII až po redukci Q_B	0,000	0,000	0,000
PI _{TOTAL}	Performanční index zachování energie fotonů zachycených světloběrnou anténou PSII až po redukci koncových akceptorů PSI	0,000	0,000	0,000
Q_Y	Efektivní kvantový výtěžek fotochemické přeměny energie v PSII	0,000	0,000	0,000
PRI	<i>Photochemical Reflectance Index</i>	0,000	0,000	0,000
NDVI	<i>Normalized Difference Vegetative Index</i>	0,000	0,000	0,000

5.3 Třetí pokusná série

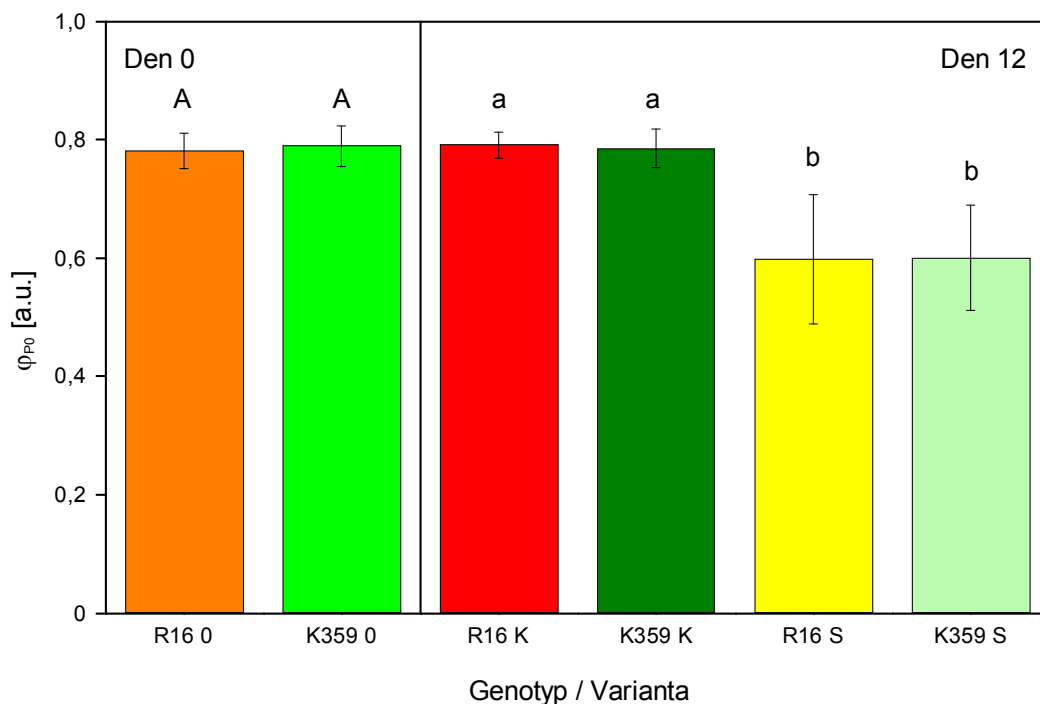
V třetí pokusné sérii (skleníkové pokusy 2012) proběhlo měření parametrů OJIP křivky, indexů spektrální odrazivosti NDVI a PRI, morfologická měření, stanovení RWC a spektrofotometrické stanovení obsahu fotosyntetických barviv u dvou vybraných genotypů čiroku, z nichž genotyp R16 měl představovat k suchu citlivou linii a K359 zastupoval jednu z IL selektovanou na přítomnost *stay-green* QTL a byl u něj předpoklad, že bude vykazovat suchovzdorné rysy. Nejprve byly analyzovány kontrolní rostliny v rámci „Dne 0“ a poté byl u poloviny zbývajících rostlin navozen stres suchem po dobu 12 dní, po jejichž uplynutí proběhla všechna měření u stresovaných a kontrolních rostlin („Dne 12“). Vzhled reprezentativních rostlin obou genotypů v obou variantách pěstování v rámci „Dne 12“ je znázorněn na **Obr. 11**. Hodnoty vybraných výše uvedených parametrů v těchto pokusných dnech jsou znázorněny na **Obr. 12-35**.

Rostliny obou genotypů testované před započítáním stresu („Dne 0“) se významně lišily pouze v některých morfologických parametrech, jako jsou hmotnost sušiny celé rostliny a sušiny kořenů (**Obr. 30 a 31**) nebo celková výška rostliny a maximální výška rostliny (**Obr. 32 a 33**). V ostatních parametrech rozdíly mezi oběma genotypy nebyly statisticky průkazné.

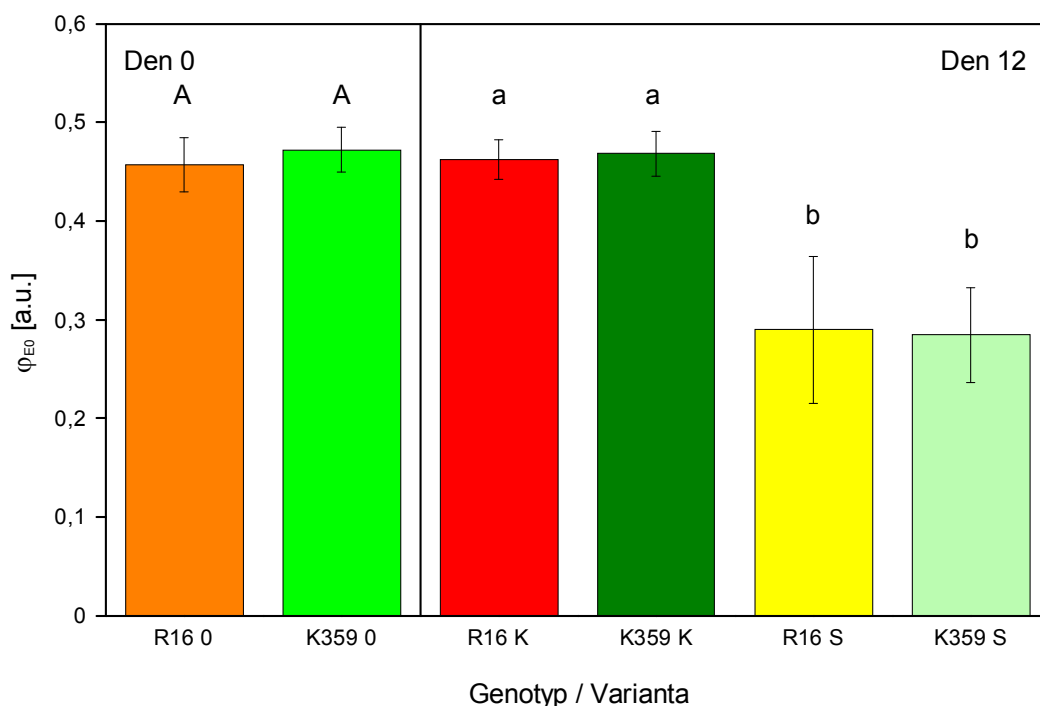
Analýza variance dvojného třídění provedená u dat ze „Dne 12“ (**Tab. 17**) neprokázala u žádného z hodnocených parametrů ani významný vliv genotypů na celkovou variabilitu v daném znaku, ani statisticky významné interakce mezi genotypy a způsobem pěstování, což vypovídá o tom, že oba testované genotypy reagovaly na stres suchem naprosto stejně. Po dvanácti dnech stresu byly u měřených rostlin obou genotypů v porovnání s kontrolními nestresovanými rostlinami zaznamenány významné rozdíly ve všech parametrech týkajících se obsahu fotosyntetických barviv (**Obr. 22-26**), RWC (**Obr. 34**) a dále v morfologických parametrech (**Obr. 30-33**). Ve všech těchto případech došlo k statisticky průkaznému poklesu hodnot u stresovaných rostlin. Rozdíly mezi kontrolou a stresem byly také v obsahu prolinu v rostlinném pletivu (**Obr. 35**), kdy stresované rostliny nezávisle na genotypu akumulovaly ~100× vyšší množství prolinu než zalévané rostliny. Také v OJIP parametrech popisujících primární fotosyntetické procesy došlo k statisticky průkaznému poklesu u stresovaných rostlin oproti rostlinám kontrolním (**Obr. 12-14, 16-21**), zatímco v parametru týkajícím se disipace přebytečné energie vykázaly stresované rostliny nárůst oproti kontrolním (**Obr. 15**). Statisticky významné rozdíly mezi oběma genotypy však nebyly nalezeny u žádného z měřených parametrů.



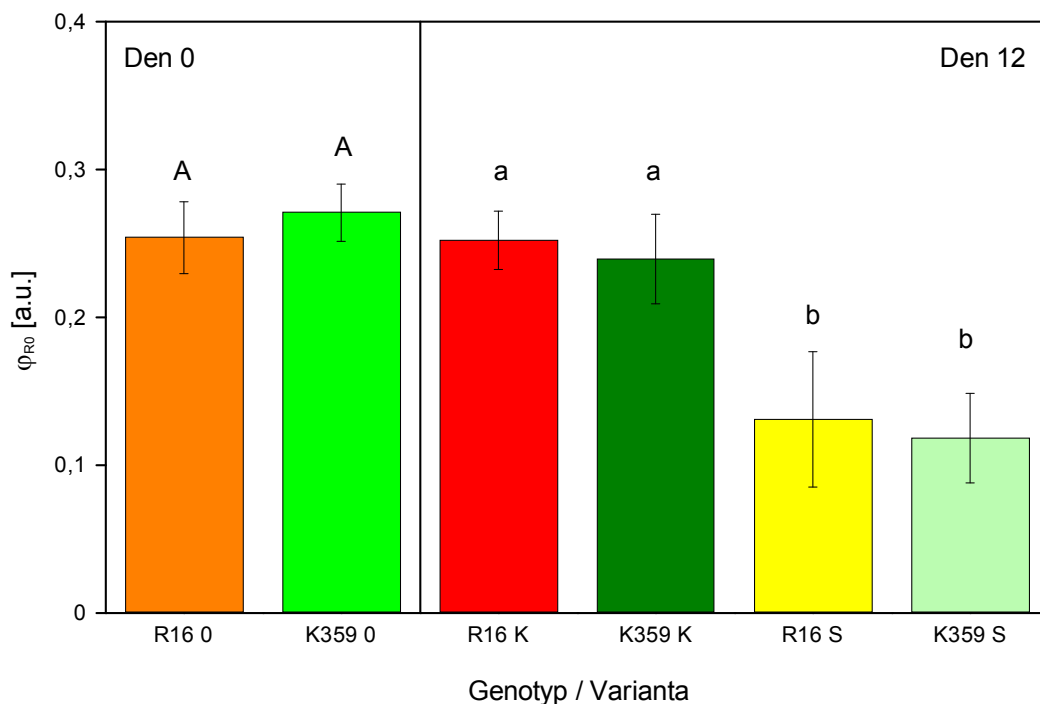
Obr. 11. Rostliny rodičovské linie čiroku R16 a její QTL-introgressní linie K359 white pěstované v nádobových pokusech ve skleníku Brožkovy genetické zahrady katedry genetiky a mikrobiologie PšF UK v Praze v květnu až červnu 2012. Kontrola ... rostliny zalévané po celou dobu pěstování, sucho ... rostliny, u kterých byla po 42 dnech pěstování zálivka na 12 dní přerušena. Fotografováno 13.6.2012, tj. na konci stresového období. Úsečka odpovídá 20 cm. Fotografie poskytla D. Holá.



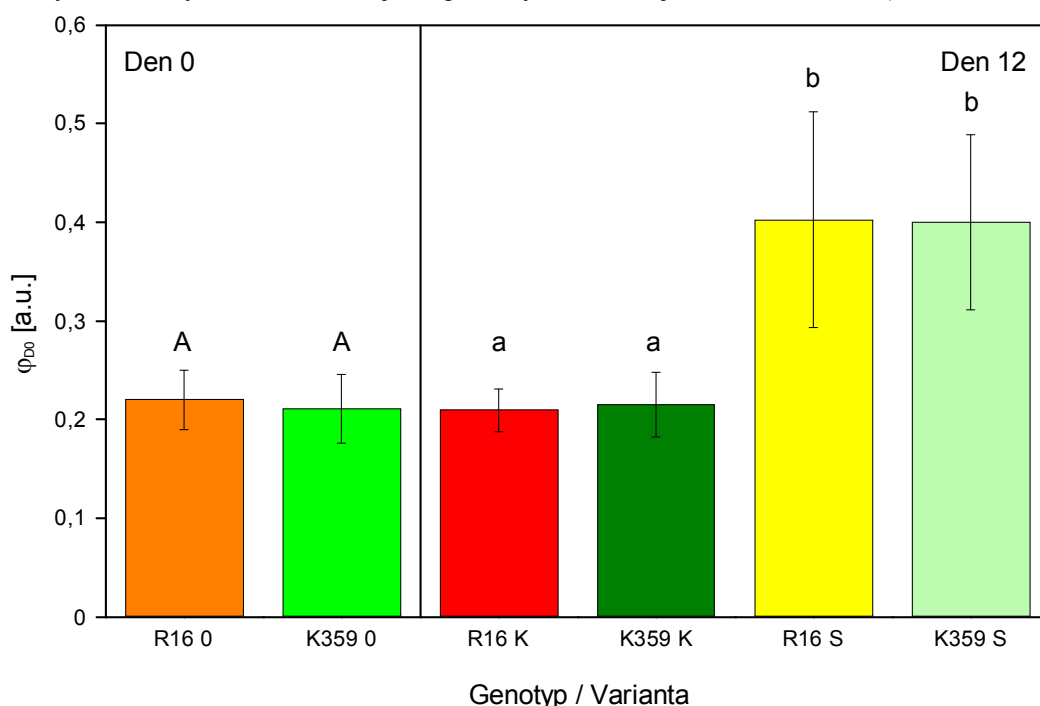
Obr. 12. Hodnoty maximálního kvantového výtěžku fotochemické přeměny energie ve fotosystému II (ϕ_{Po}) u dvou genotypů čiroku dvoubarevného (R16, K359) v rámci třetí série pokusů (skleníkové pokusy, rok 2012). Den 0 ... měřeno na začátku stresového období u rostlin, které byly celou dobu pěstování normálně zalévány (0), Den 12 ... měřeno po dalších 12 dnech u rostlin, které byly i nadále normálně zalévány (K) a u rostlin, u nichž byla zálivka zastavena (S). Uvedeny jsou průměry \pm směrodatné odchylky, písmena A/a-b popisují statistickou významnost rozdílů mezi genotypy (pouze ty genotypy/varianty pěstování, které jsou označeny odlišnými písmeny, se od sebe statisticky průkazně liší na hladině významnosti $\leq 0,05$ na základě analýzy *post-hoc* Tukey-Kramerovým testem následujícím po analýze variance jednoduchého třídění).



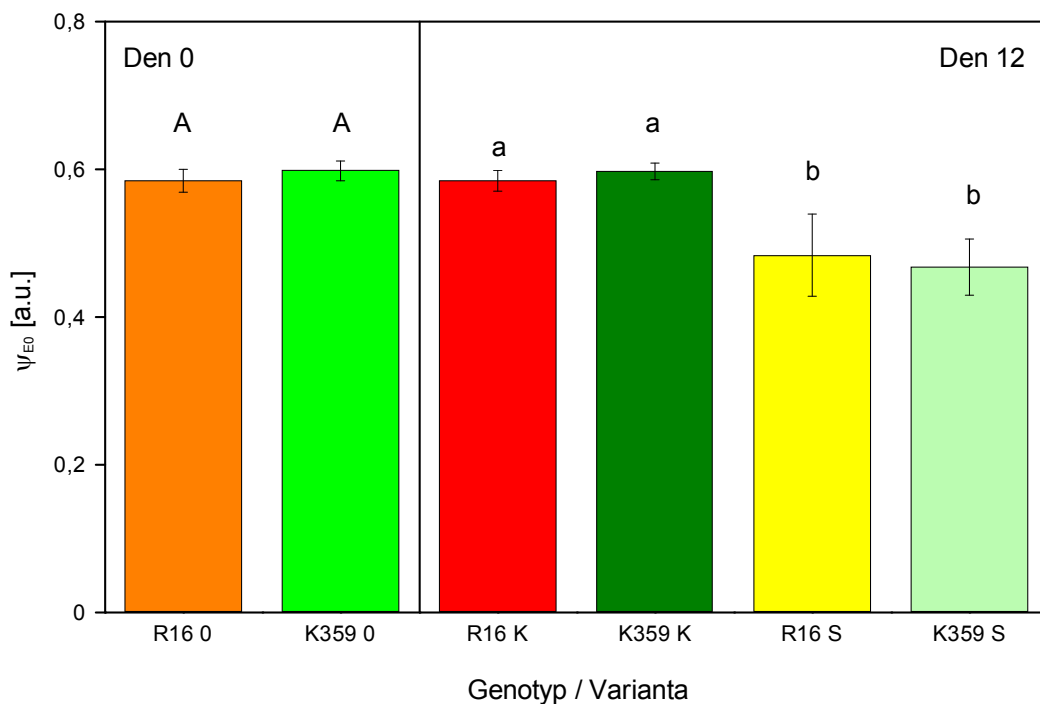
Obr. 13. Hodnoty kvantového výtěžku toku přenosu elektronů z Q_A na Q_B (ϕ_{E0}) u dvou genotypů čiroku dvoubarevného (R16, K359) v rámci třetí série pokusů (skleníkové pokusy, rok 2012). Den 0 ... měřeno na začátku stresového období u rostlin, které byly celou dobu pěstování normálně zalévány (0), Den 12 ... měřeno po dalších 12 dnech u rostlin, které byly i nadále normálně zalévány (K) a u rostlin, u nichž byla zálivka zastavena (S). Uvedeny jsou průměry \pm směrodatné odchylky, písmena A/a-b popisují statistickou významnost rozdílů mezi genotypy (pouze ty genotypy/varianty pěstování, které jsou označeny odlišnými písmeny, se od sebe statisticky průkazně liší na hladině významnosti $\leq 0,05$ na základě analýzy *post-hoc* Tukey-Kramerovým testem následujícím po analýze variance jednoduchého třídění).



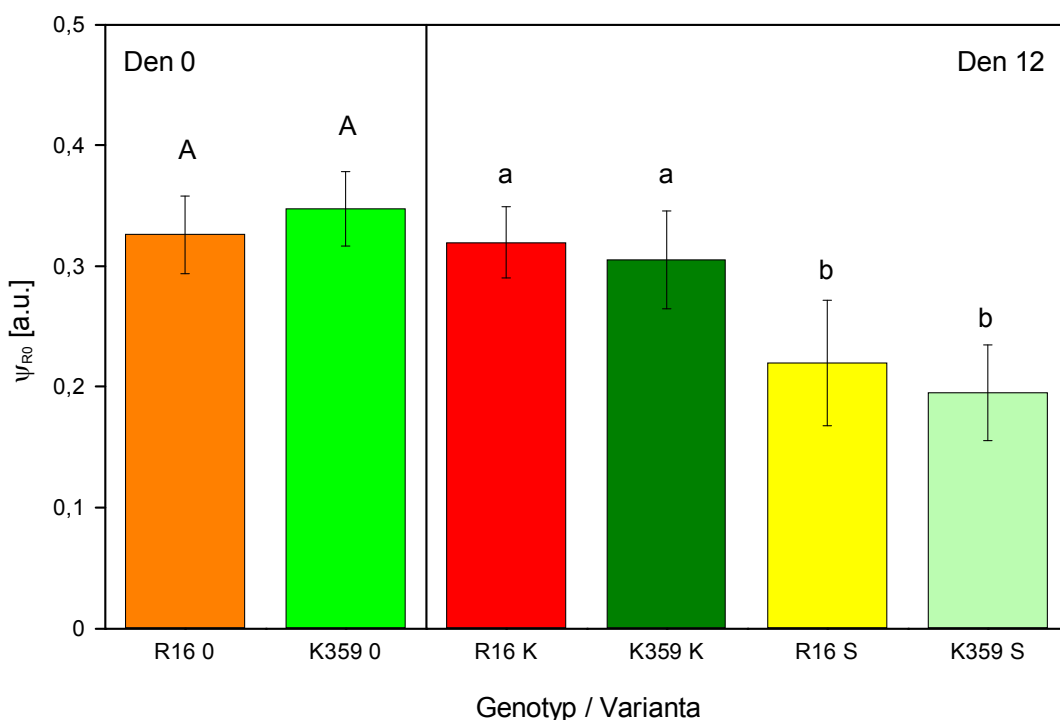
Obr. 14. Hodnoty kvantového výtěžku toku přenosu elektronů až na koncové akceptory fotosystému I (ϕ_{PE0}) u dvou genotypů čiroku dvoubarevného (R16, K359) v rámci třetí série pokusů (skleníkové pokusy, rok 2012). Den 0 ... měřeno na začátku stresového období u rostlin, které byly celou dobu pěstování normálně zalévány (0), Den 12 ... měřeno po dalších 12 dnech u rostlin, které byly i nadále normálně zalévány (K) a u rostlin, u nichž byla závlivka zastavena (S). Uvedeny jsou průměry \pm směrodatné odchytky, písmena A/a-b popisují statistickou významnost rozdílů mezi genotypy (pouze ty genotypy/varianty pěstování, které jsou označeny odlišnými písmeny, se od sebe statisticky průkazně liší na hladině významnosti $\leq 0,05$ na základě analýzy *post-hoc* Tukey-Kramerovým testem následujícím po analýze variance jednoduchého třídění).



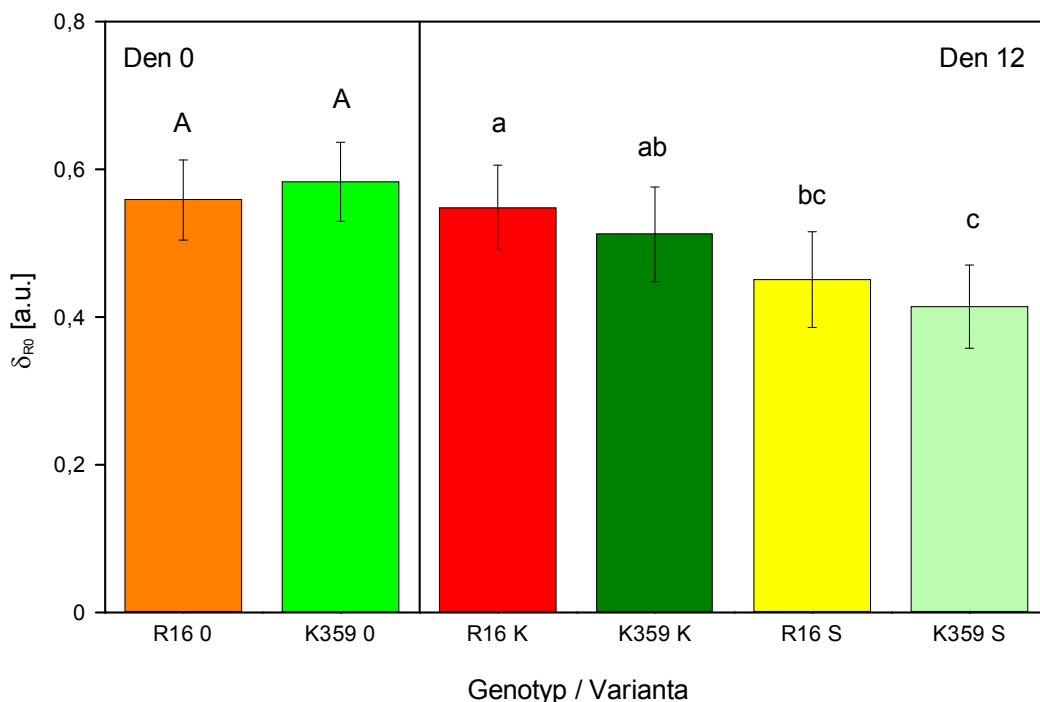
Obr. 15. Hodnoty kvantového výtěžku disipace zachycené energie (ϕ_{D0}) u dvou genotypů čiroku dvoubarevného (R16, K359) v rámci třetí série pokusů (skleníkové pokusy, rok 2012). Den 0 ... měřeno na začátku stresového období u rostlin, které byly celou dobu pěstování normálně zalévány (0), Den 12 ... měřeno po dalších 12 dnech u rostlin, které byly i nadále normálně zalévány (K) a u rostlin, u nichž byla závlivka zastavena (S). Uvedeny jsou průměry \pm směrodatné odchytky, písmena A/a-b popisují statistickou významnost rozdílů mezi genotypy (pouze ty genotypy/varianty pěstování, které jsou označeny odlišnými písmeny, se od sebe statisticky průkazně liší na hladině významnosti $\leq 0,05$ na základě analýzy *post-hoc* Tukey-Kramerovým testem následujícím po analýze variance jednoduchého třídění).



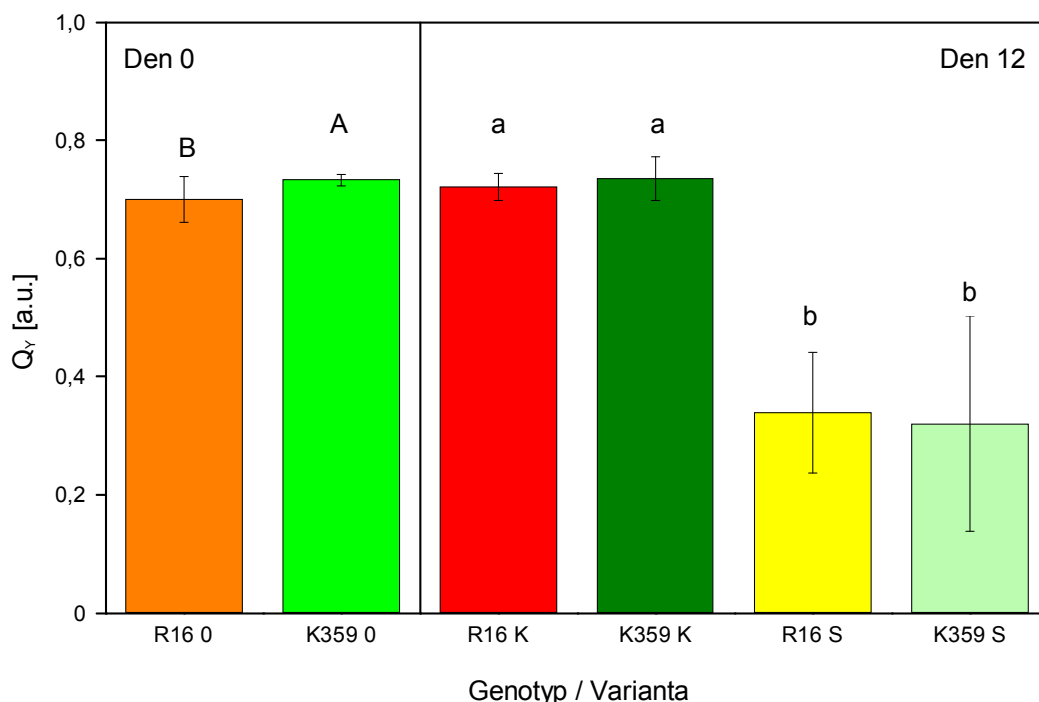
Obr. 16. Hodnoty účinnosti / pravděpodobnosti, s kterou je elektron zachycený fotosystémem II přenesen z Q_A na Q_B (ψ_{E0}) u dvou genotypů čiroku dvoubarevného (R16, K359) v rámci třetí série pokusů (skleníkové pokusy, rok 2012). Den 0 ... měřeno na začátku stresového období u rostlin, které byly celou dobu pěstování normálně zalévány (0), Den 12 ... měřeno po dalších 12 dnech u rostlin, které byly i nadále normálně zalévány (K) a u rostlin, u nichž byla zálivka zastavena (S). Uvedeny jsou průměry \pm směrodatné odchylky, písmena A/a-b popisují statistickou významnost rozdílů mezi genotypy (pouze ty genotypy/varianty pěstování, které jsou označeny odlišnými písmeny, se od sebe statisticky průkazně liší na hladině významnosti $\leq 0,05$ na základě analýzy *post-hoc* Tukey-Kramerovým testem následujícím po analýze variance jednoduchého třídění).



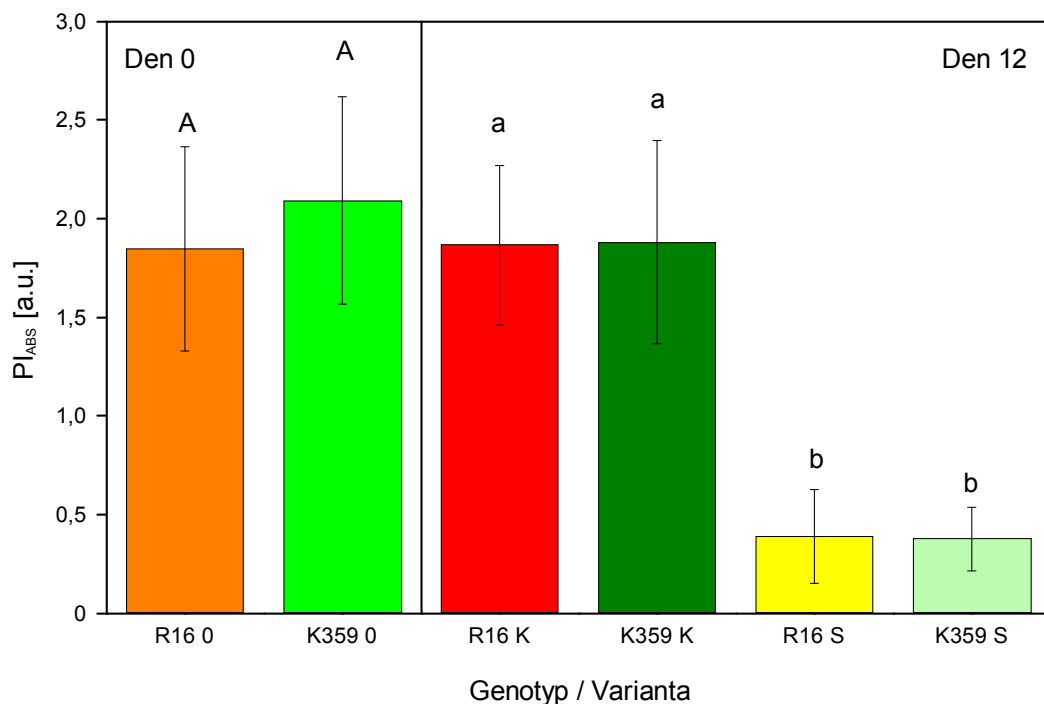
Obr. 17. Hodnoty účinnosti / pravděpodobnosti, s kterou je elektron zachycený fotosystémem II přenesen až na koncové akceptory fotosystému I (ψ_{R0}) u dvou genotypů čiroku dvoubarevného (R16, K359) v rámci třetí série pokusů (skleníkové pokusy, rok 2012). Den 0 ... měřeno na začátku stresového období u rostlin, které byly celou dobu pěstování normálně zalévány (0), Den 12 ... měřeno po dalších 12 dnech u rostlin, které byly i nadále normálně zalévány (K) a u rostlin, u nichž byla zálivka zastavena (S). Uvedeny jsou průměry \pm směrodatné odchylky, písmena A/a-b popisují statistickou významnost rozdílů mezi genotypy (pouze ty genotypy/varianty pěstování, které jsou označeny odlišnými písmeny, se od sebe statisticky průkazně liší na hladině významnosti $\leq 0,05$ na základě analýzy *post-hoc* Tukey-Kramerovým testem následujícím po analýze variance jednoduchého třídění).



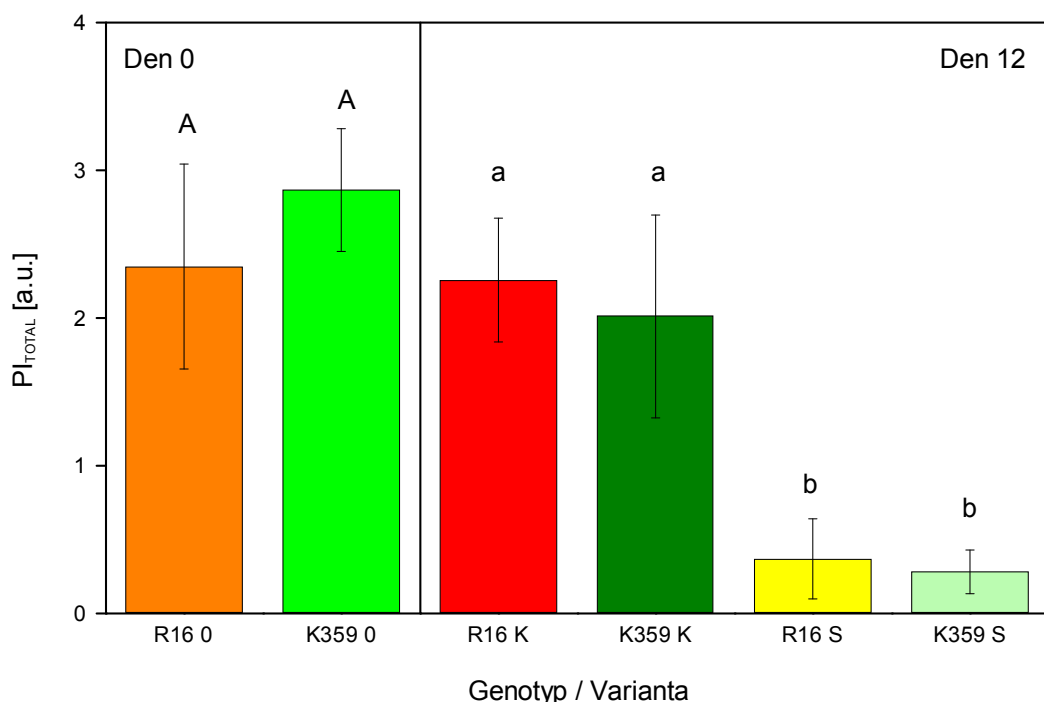
Obr. 18. Hodnoty účinnosti / pravděpodobnosti, s kterou je elektron zachycený fotosystémem II přenesen z Q_B až na koncové akceptory fotosystému I (δ_{R0}) u dvou genotypů široko dvoubarevného (R16, K359) v rámci třetí série pokusů (skleníkové pokusy, rok 2012). Den 0 ... měřeno na začátku stresového období u rostlin, které byly celou dobu pěstování normálně zalévány (0), Den 12 ... měřeno po dalších 12 dnech u rostlin, které byly i nadále normálně zalévány (K) a u rostlin, u nichž byla zálivka zastavena (S). Uvedeny jsou průměry \pm směrodatné odchylky, písmena A/a-c popisují statistickou významnost rozdílů mezi genotypy (pouze ty genotypy/varianty pěstování, které jsou označeny odlišnými písmeny, se od sebe statisticky průkazně liší na hladině významnosti $\leq 0,05$ na základě analýzy *post-hoc* Tukey-Kramerovým testem následujícím po analýze variance jednoduchého třídění).



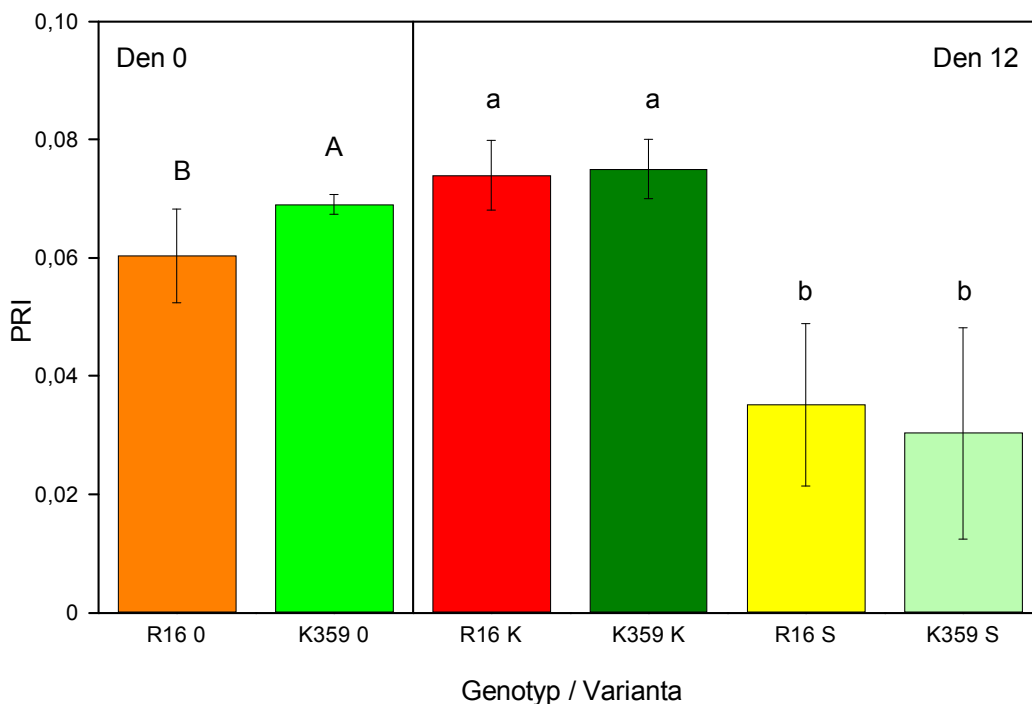
Obr. 19. Hodnoty efektivního kvantového výtěžku fotochemické přeměny energie ve fotosystému II (Q_y) u dvou genotypů široko dvoubarevného (R16, K359) v rámci třetí série pokusů (skleníkové pokusy, rok 2012). Den 0 ... měřeno na začátku stresového období u rostlin, které byly celou dobu pěstování normálně zalévány (0), Den 12 ... měřeno po dalších 12 dnech u rostlin, které byly i nadále normálně zalévány (K) a u rostlin, u nichž byla zálivka zastavena (S). Uvedeny jsou průměry \pm směrodatné odchylky, písmena A/a-B/b popisují statistickou významnost rozdílů mezi genotypy (pouze ty genotypy/varianty pěstování, které jsou označeny odlišnými písmeny, se od sebe statisticky průkazně liší na hladině významnosti $\leq 0,05$ na základě analýzy *post-hoc* Tukey-Kramerovým testem následujícím po analýze variance jednoduchého třídění).



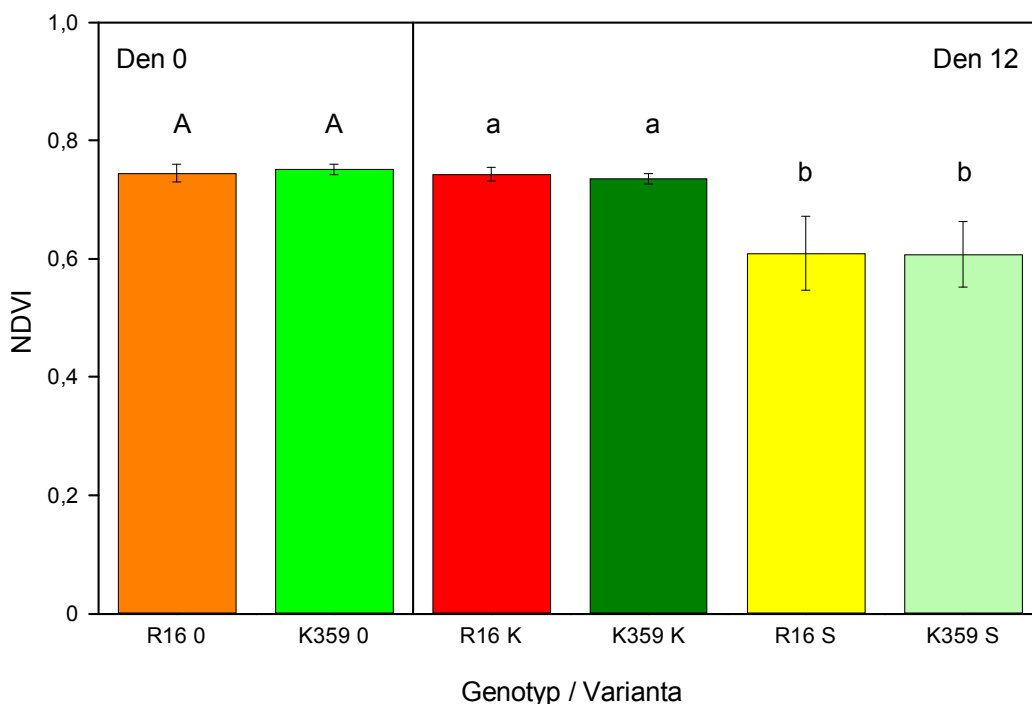
Obr. 20. Hodnoty performančního indexu zachování energie fotonů zachycených světlosběrnou anténou fotosystému II až po redukci Q_B (PI_{ABS}) u dvou genotypů čiroku dvoubarevného (R16, K359) v rámci třetí série pokusů (skleníkové pokusy, rok 2012). Den 0 ... měřeno na začátku stresového období u rostlin, které byly celou dobu pěstování normálně zalévány (0), Den 12 ... měřeno po dalších 12 dnech u rostlin, které byly i nadále normálně zalévány (K) a u rostlin, u nichž byla závlivka zastavena (S). Uvedeny jsou průměry \pm směrodatné odchylky, písmena *A/a-b* popisují statistickou významnost rozdílů mezi genotypy (pouze ty genotypy/varianty pěstování, které jsou označeny odlišnými písmeny, se od sebe statisticky průkazně liší na hladině významnosti $\leq 0,05$ na základě analýzy *post-hoc* Tukey-Kramerovým testem následujícím po analýze variance jednoduchého třídění).



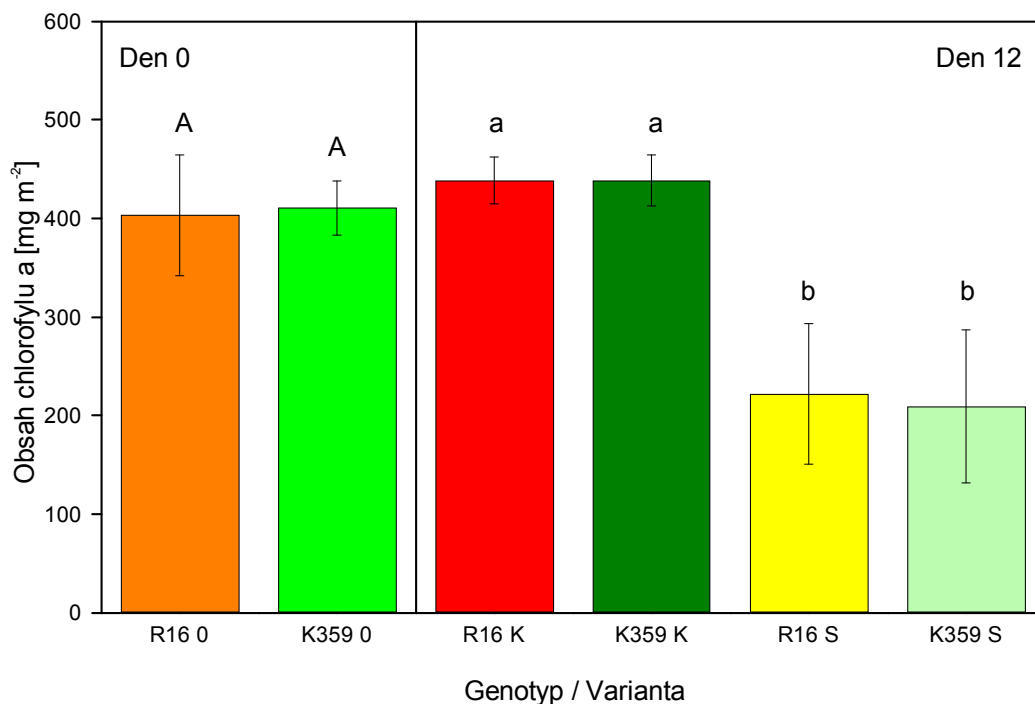
Obr. 21. Hodnoty performančního indexu zachování energie fotonů zachycených světlosběrnou anténou fotosystému II až po redukci koncových akceptorů fotosystému I (PI_{TOTAL}) u dvou genotypů čiroku dvoubarevného (R16, K359) v rámci třetí série pokusů (skleníkové pokusy, rok 2012). Den 0 ... měřeno na začátku stresového období u rostlin, které byly celou dobu pěstování normálně zalévány (0), Den 12 ... měřeno po dalších 12 dnech u rostlin, které byly i nadále normálně zalévány (K) a u rostlin, u nichž byla závlivka zastavena (S). Uvedeny jsou průměry \pm směrodatné odchylky, písmena *A/a-b* popisují statistickou významnost rozdílů mezi genotypy (pouze ty genotypy/varianty pěstování, které jsou označeny odlišnými písmeny, se od sebe statisticky průkazně liší na hladině významnosti $\leq 0,05$ na základě analýzy *post-hoc* Tukey-Kramerovým testem následujícím po analýze variance jednoduchého třídění).



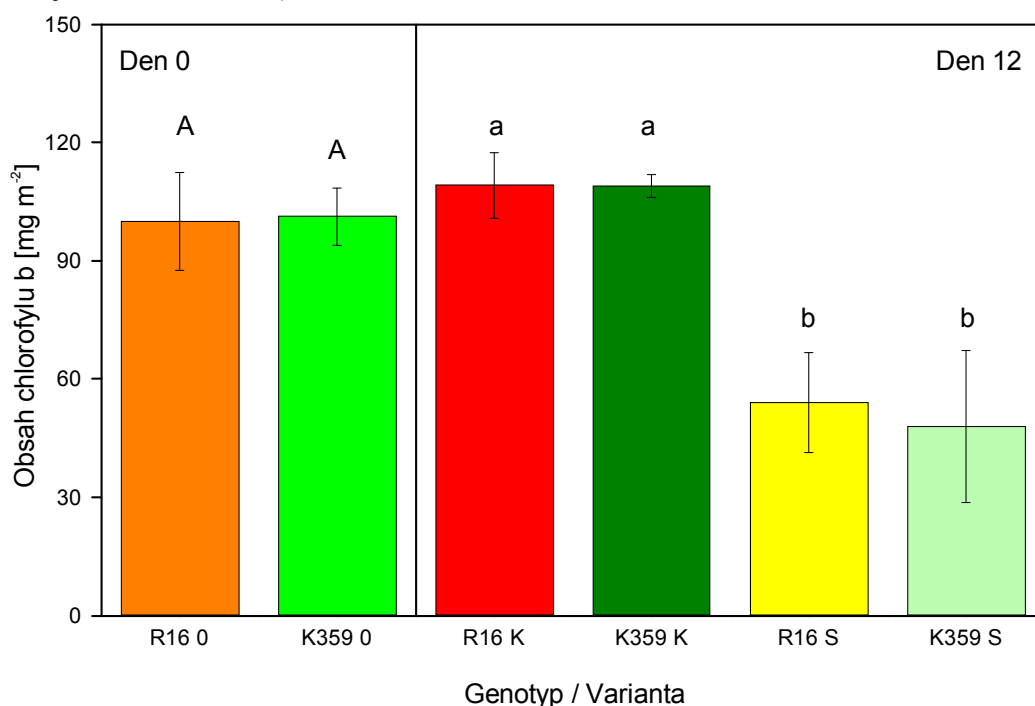
Obr. 22. Hodnoty indexu spektrální odrazivosti *Photochemical Reflectance Index* (PRI) u dvou genotypů čiroku dvoubarevného (R16, K359) v rámci třetí série pokusů (skleníkové pokusy, rok 2012). Den 0 ... měřeno na začátku stresového období u rostlin, které byly celou dobu pěstování normálně zalévány (0), Den 12 ... měřeno po dalších 12 dnech u rostlin, které byly i nadále normálně zalévány (K) a u rostlin, u nichž byla zálivka zastavena (S). Uvedeny jsou průměry ± směrodatné odchylky, písmena *A/a-B/b* popisují statistickou významnost rozdílů mezi genotypy (pouze ty genotypy/varianty pěstování, které jsou označeny odlišnými písmeny, se od sebe statisticky průkazně liší na hladině významnosti $\leq 0,05$ na základě analýzy *post-hoc* Tukey-Kramerovým testem následujícím po analýze variance jednoduchého třídění).



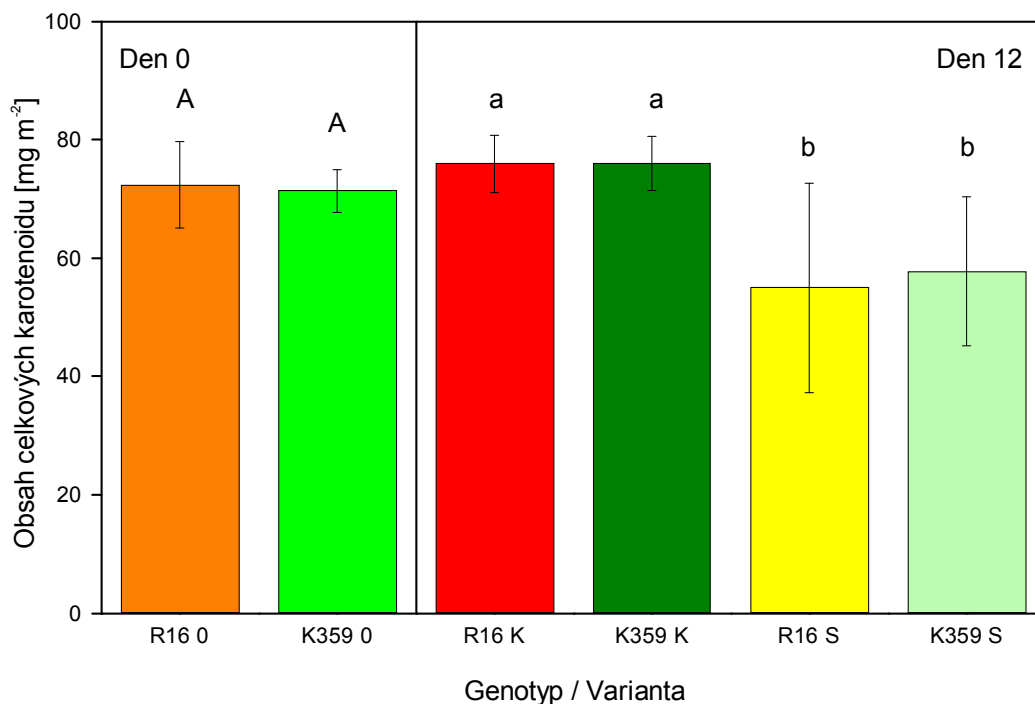
Obr. 23. Hodnoty indexu spektrální odrazivosti *Normalized Difference Vegetative Index* (NDVI) u dvou genotypů čiroku dvoubarevného (R16, K359) v rámci třetí série pokusů (skleníkové pokusy, rok 2012). Den 0 ... měřeno na začátku stresového období u rostlin, které byly celou dobu pěstování normálně zalévány (0), Den 12 ... měřeno po dalších 12 dnech u rostlin, které byly i nadále normálně zalévány (K) a u rostlin, u nichž byla zálivka zastavena (S). Uvedeny jsou průměry ± směrodatné odchylky, písmena *A/a-b* popisují statistickou významnost rozdílů mezi genotypy (pouze ty genotypy/varianty pěstování, které jsou označeny odlišnými písmeny, se od sebe statisticky průkazně liší na hladině významnosti $\leq 0,05$ na základě analýzy *post-hoc* Tukey-Kramerovým testem následujícím po analýze variance jednoduchého třídění).



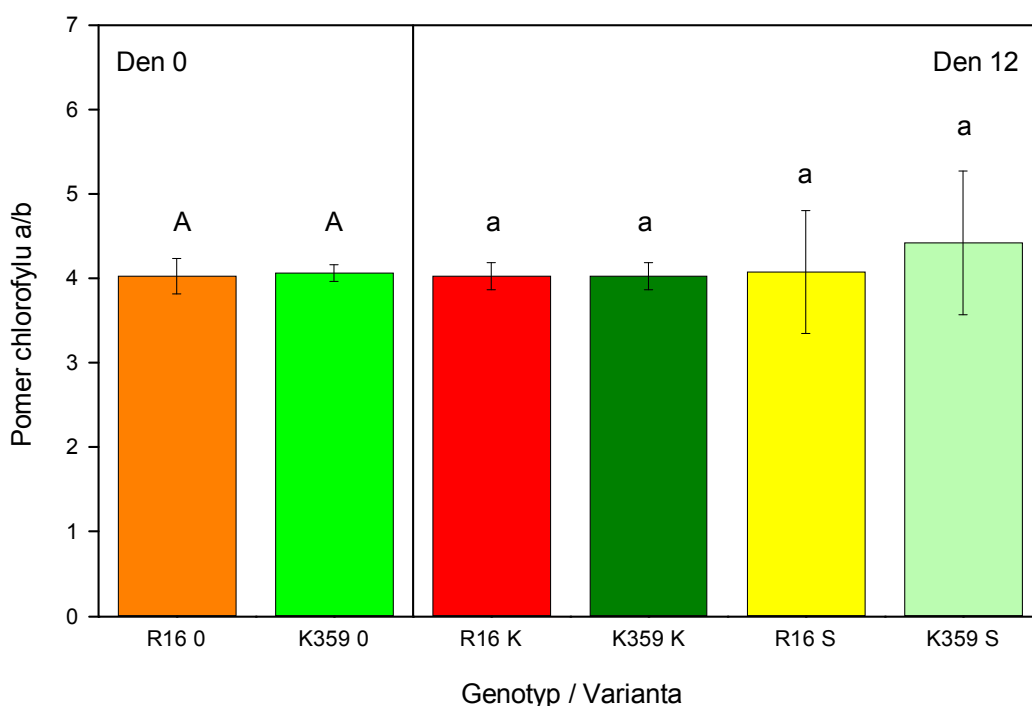
Obr. 24. Hodnoty obsahu chlorofylu *a* u dvou genotypů čiroku dvoubarevného (R16, K359) v rámci třetí série pokusů (skleníkové pokusy, rok 2012). Den 0 ... měřeno na začátku stresového období u rostlin, které byly celou dobu pěstování normálně zalévány (0), Den 12 ... měřeno po dalších 12 dnech u rostlin, které byly i nadále normálně zalévány (K) a u rostlin, u nichž byla záливka zastavena (S). Uvedeny jsou průměry ± směrodatné odchylky, písmena *A/a-b* popisují statistickou významnost rozdílů mezi genotypy (pouze ty genotypy/varianty pěstování, které jsou označeny odlišnými písmeny, se od sebe statisticky průkazně liší na hladině významnosti $\leq 0,05$ na základě analýzy *post-hoc* Tukey-Kramerovým testem následujícím po analýze variance jednoduchého třídění).



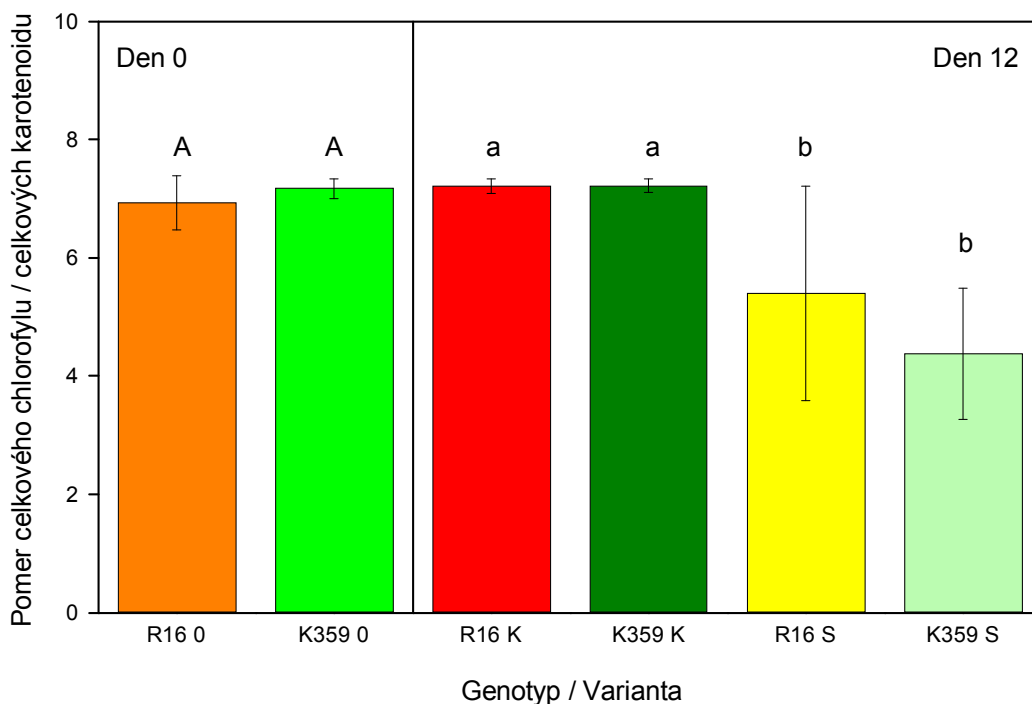
Obr. 25. Hodnoty obsahu chlorofylu *b* u dvou genotypů čiroku dvoubarevného (R16, K359) v rámci třetí série pokusů (skleníkové pokusy, rok 2012). Den 0 ... měřeno na začátku stresového období u rostlin, které byly celou dobu pěstování normálně zalévány (0), Den 12 ... měřeno po dalších 12 dnech u rostlin, které byly i nadále normálně zalévány (K) a u rostlin, u nichž byla záливka zastavena (S). Uvedeny jsou průměry ± směrodatné odchylky, písmena *A/a-b* popisují statistickou významnost rozdílů mezi genotypy (pouze ty genotypy/varianty pěstování, které jsou označeny odlišnými písmeny, se od sebe statisticky průkazně liší na hladině významnosti $\leq 0,05$ na základě analýzy *post-hoc* Tukey-Kramerovým testem následujícím po analýze variance jednoduchého třídění).



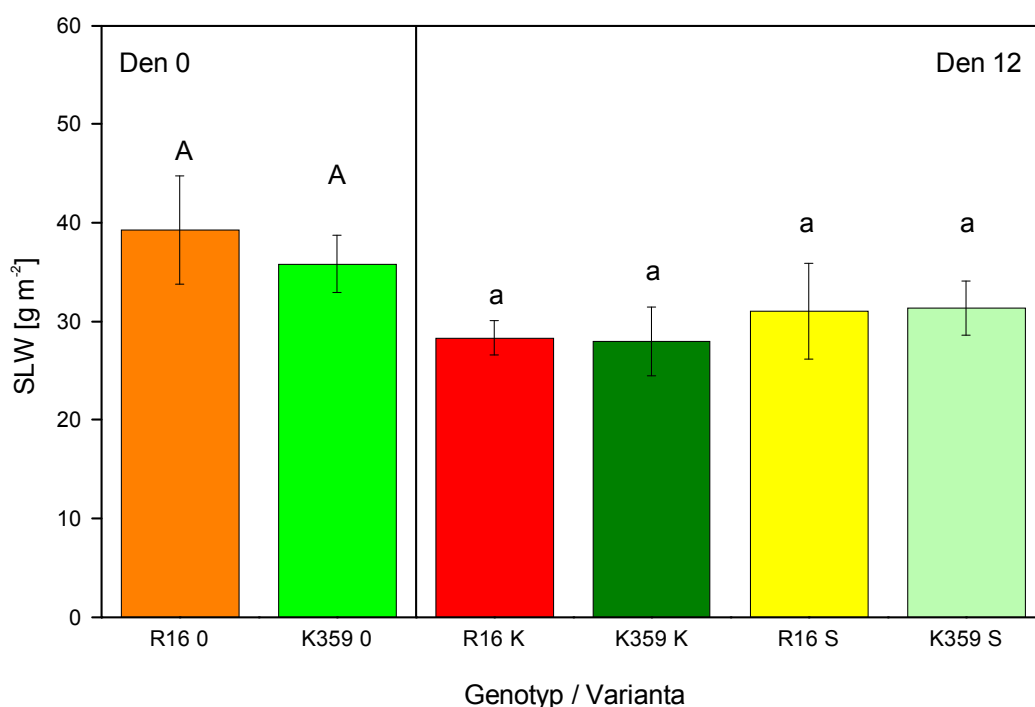
Obr. 26. Hodnoty obsahu celkových karotenoidů u dvou genotypů čiroku dvoubarevného (R16, K359) v rámci třetí série pokusů (skleníkové pokusy, rok 2012). Den 0 ... měřeno na začátku stresového období u rostlin, které byly celou dobu pěstování normálně zalévány (0), Den 12 ... měřeno po dalších 12 dnech u rostlin, které byly i nadále normálně zalévány (K) a u rostlin, u nichž byla zálivka zastavena (S). Uvedeny jsou průměry ± směrodatné odchylky, písmena *A/a-b* popisují statistickou významnost rozdílů mezi genotypy (pouze ty genotypy/varianty pěstování, které jsou označeny odlišnými písmeny, se od sebe statisticky průkazně liší na hladině významnosti $\leq 0,05$ na základě analýzy *post-hoc* Tukey-Kramerovým testem následujícím po analýze variance jednoduchého třídění).



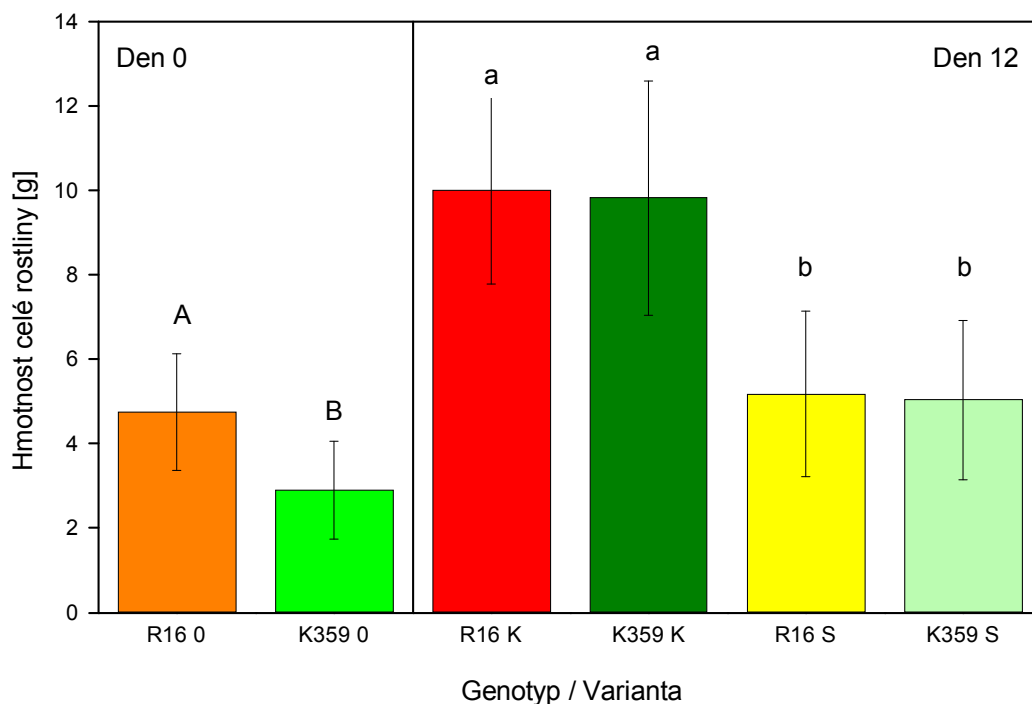
Obr. 27. Hodnoty poměru chlorofylů *a/b* u dvou genotypů čiroku dvoubarevného (R16, K359) v rámci třetí série pokusů (skleníkové pokusy, rok 2012). Den 0 ... měřeno na začátku stresového období u rostlin, které byly celou dobu pěstování normálně zalévány (0), Den 12 ... měřeno po dalších 12 dnech u rostlin, které byly i nadále normálně zalévány (K) a u rostlin, u nichž byla zálivka zastavena (S). Uvedeny jsou průměry ± směrodatné odchylky, písmena *A/a* popisují statistickou významnost rozdílů mezi genotypy (pouze ty genotypy/varianty pěstování, které jsou označeny odlišnými písmeny, se od sebe statisticky průkazně liší na hladině významnosti $\leq 0,05$ na základě analýzy *post-hoc* Tukey-Kramerovým testem následujícím po analýze variance jednoduchého třídění).



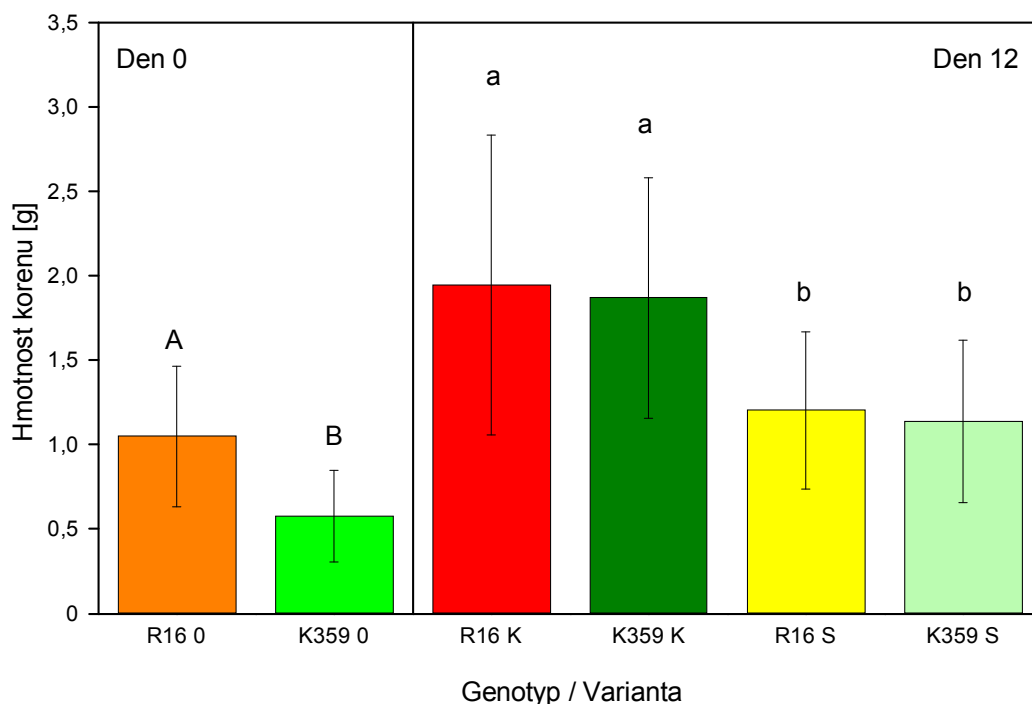
Obr. 28. Hodnoty poměru celkového chlorofylu / celkových karotenoidů u dvou genotypů čiroku dvoubarevného (R16, K359) v rámci třetí série pokusů (skleníkové pokusy, rok 2012). Den 0 ... měřeno na začátku stresového období u rostlin, které byly celou dobu pěstování normálně zalévány (0), Den 12 ... měřeno po dalších 12 dnech u rostlin, které byly i nadále normálně zalévány (K) a u rostlin, u nichž byla závlivka zastavena (S). Uvedeny jsou průměry ± směrodatné odchylky, písmena *A/a-b* popisují statistickou významnost rozdílů mezi genotypy (pouze ty genotypy/varianty pěstování, které jsou označeny odlišnými písmeny, se od sebe statisticky průkazně liší na hladině významnosti $\leq 0,05$ na základě analýzy *post-hoc* Tukey-Kramerovým testem následujícím po analýze variance jednoduchého třídění).



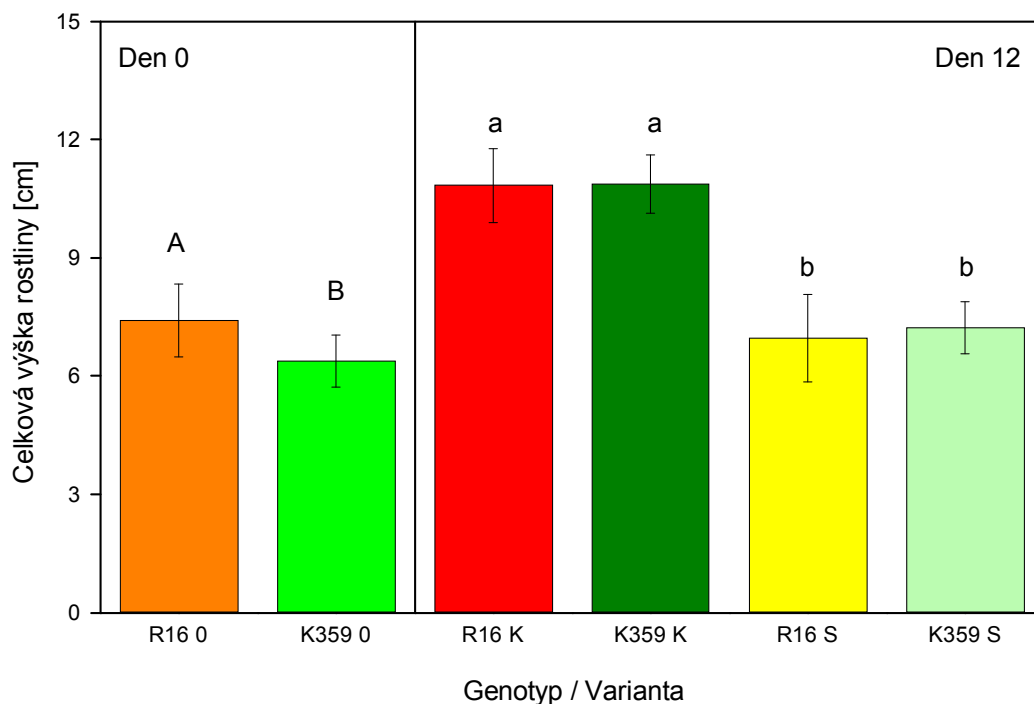
Obr. 29. Hodnoty specifické hmotnosti listu (SLW) u dvou genotypů čiroku dvoubarevného (R16, K359) v rámci třetí série pokusů (skleníkové pokusy, rok 2012). Den 0 ... měřeno na začátku stresového období u rostlin, které byly celou dobu pěstování normálně zalévány (0), Den 12 ... měřeno po dalších 12 dnech u rostlin, které byly i nadále normálně zalévány (K) a u rostlin, u nichž byla závlivka zastavena (S). Uvedeny jsou průměry ± směrodatné odchylky, písmena *A/a* popisují statistickou významnost rozdílů mezi genotypy (pouze ty genotypy/varianty pěstování, které jsou označeny odlišnými písmeny, se od sebe statisticky průkazně liší na hladině významnosti $\leq 0,05$ na základě analýzy *post-hoc* Tukey-Kramerovým testem následujícím po analýze variance jednoduchého třídění).



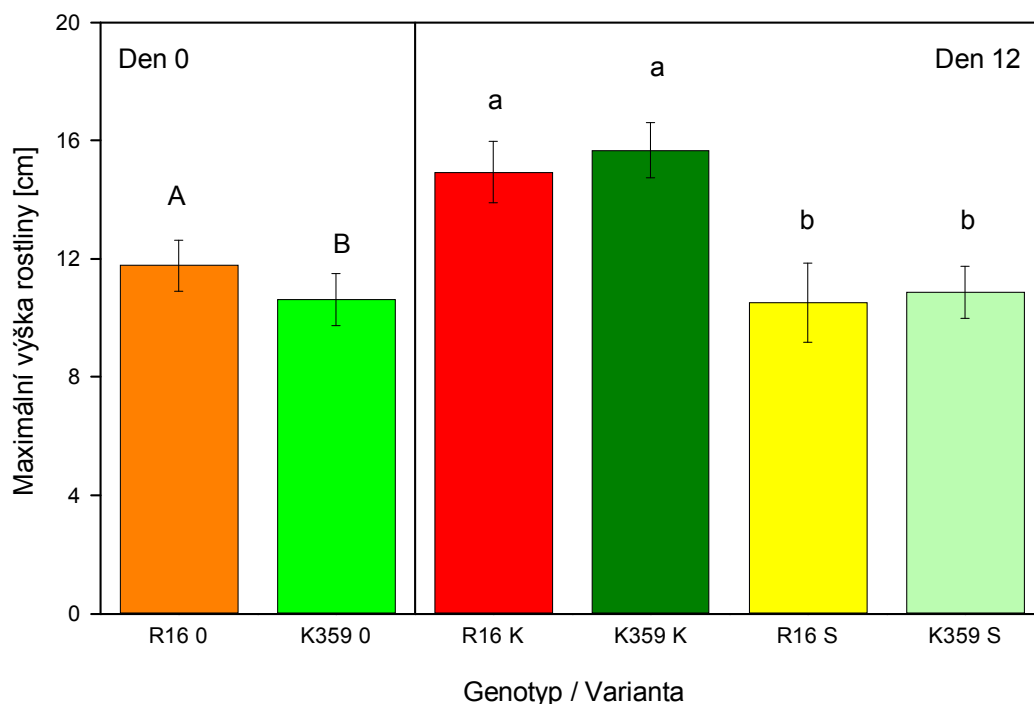
Obr. 30. Hodnoty hmotnosti sušiny celé rostliny u dvou genotypů čiroku dvoubarevného (R16, K359) v rámci třetí série pokusů (skleníkové pokusy, rok 2012). Den 0 ... měřeno na začátku stresového období u rostlin, které byly celou dobu pěstování normálně zalévány (0), Den 12 ... měřeno po dalších 12 dnech u rostlin, které byly i nadále normálně zalévány (K) a u rostlin, u nichž byla závlivka zastavena (S). Uvedeny jsou průměry \pm směrodatné odchylky, písmena *A/a-B/b* popisují statistickou významnost rozdílů mezi genotypy (pouze ty genotypy/varianty pěstování, které jsou označeny odlišnými písmeny, se od sebe statisticky průkazně liší na hladině významnosti $\leq 0,05$ na základě analýzy *post-hoc* Tukey-Kramerovým testem následujícím po analýze variance jednoduchého třídění).



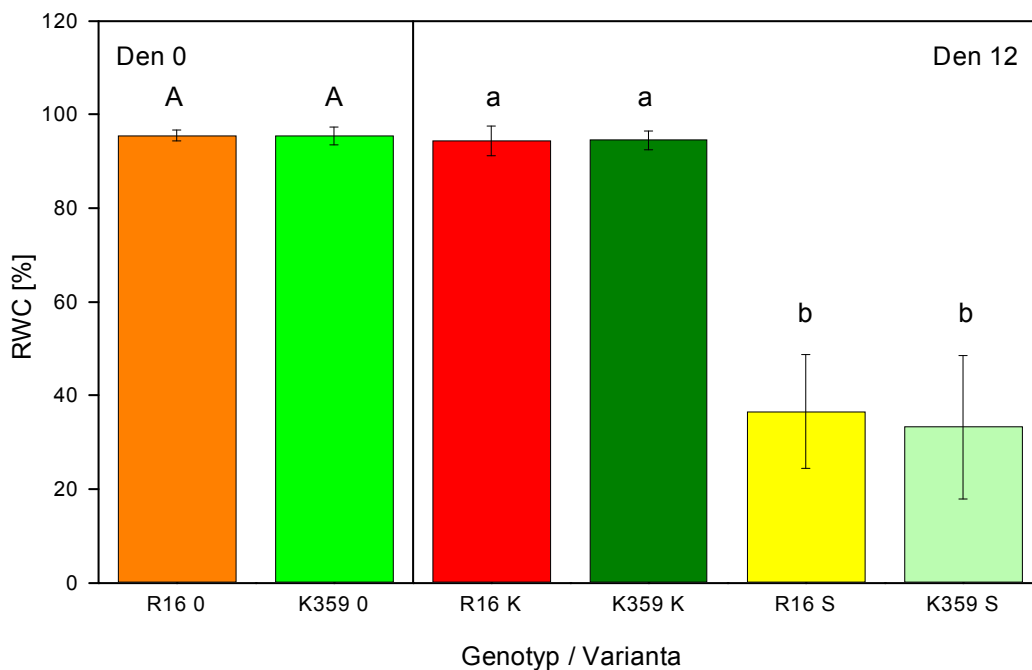
Obr. 31. Hodnoty hmotnosti sušiny kořenů u dvou genotypů čiroku dvoubarevného (R16, K359) v rámci třetí série pokusů (skleníkové pokusy, rok 2012). Den 0 ... měřeno na začátku stresového období u rostlin, které byly celou dobu pěstování normálně zalévány (0), Den 12 ... měřeno po dalších 12 dnech u rostlin, které byly i nadále normálně zalévány (K) a u rostlin, u nichž byla závlivka zastavena (S). Uvedeny jsou průměry \pm směrodatné odchylky, písmena *A/a-B/b* popisují statistickou významnost rozdílů mezi genotypy (pouze ty genotypy/varianty pěstování, které jsou označeny odlišnými písmeny, se od sebe statisticky průkazně liší na hladině významnosti $\leq 0,05$ na základě analýzy *post-hoc* Tukey-Kramerovým testem následujícím po analýze variance jednoduchého třídění).



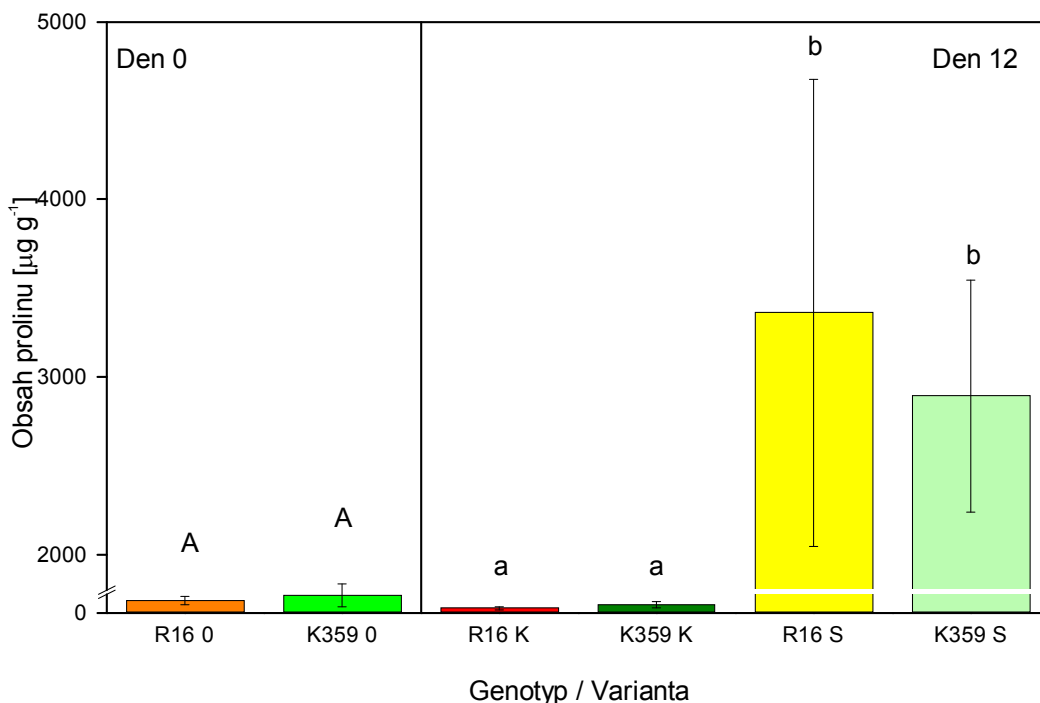
Obr. 32. Hodnoty celkové výšky rostliny (součtu délky jednotlivých internodií) u dvou genotypů čiroku dvoubarevného (R16, K359) v rámci třetí série pokusů (skleníkové pokusy, rok 2012). Den 0 ... měřeno na začátku stresového období u rostlin, které byly celou dobu pěstování normálně zalévány (0), Den 12 ... měřeno po dalších 12 dnech u rostlin, které byly i nadále normálně zalévány (K) a u rostlin, u nichž byla zálivka zastavena (S). Uvedeny jsou průměry ± směrodatné odchylky, písmena *A/a-B/b* popisují statistickou významnost rozdílů mezi genotypy (pouze ty genotypy/varianty pěstování, které jsou označeny odlišnými písmeny, se od sebe statisticky průkazně liší na hladině významnosti $\leq 0,05$ na základě analýzy *post-hoc* Tukey-Kramerovým testem následujícím po analýze variance jednoduchého třídění).



Obr. 33. Hodnoty maximální výšky rostliny (ke špičce nejdelšího listu) u dvou genotypů čiroku dvoubarevného (R16, K359) v rámci třetí série pokusů (skleníkové pokusy, rok 2012). Den 0 ... měřeno na začátku stresového období u rostlin, které byly celou dobu pěstování normálně zalévány (0), Den 12 ... měřeno po dalších 12 dnech u rostlin, které byly i nadále normálně zalévány (K) a u rostlin, u nichž byla zálivka zastavena (S). Uvedeny jsou průměry ± směrodatné odchylky, písmena *A/a-B/b* popisují statistickou významnost rozdílů mezi genotypy (pouze ty genotypy/varianty pěstování, které jsou označeny odlišnými písmeny, se od sebe statisticky průkazně liší na hladině významnosti $\leq 0,05$ na základě analýzy *post-hoc* Tukey-Kramerovým testem následujícím po analýze variance jednoduchého třídění).



Obr. 34. Hodnoty relativního obsahu vody (RWC) v listech dvou genotypů čiroku dvoubarevného (R16, K359) v rámci třetí série pokusů (skleníkové pokusy, rok 2012). Den 0 ... měřeno na začátku stresového období u rostlin, které byly celou dobu pěstování normálně zalévány (0), Den 12 ... měřeno po dalších 12 dnech u rostlin, které byly i nadále normálně zalévány (K) a u rostlin, u nichž byla závlivka zastavena (S). Uvedeny jsou průměry ± směrodatné odchylky, písmena *A/a-b* popisují statistickou významnost rozdílů mezi genotypy (pouze ty genotypy/varianty pěstování, které jsou označeny odlišnými písmeny, se od sebe statisticky průkazně liší na hladině významnosti $\leq 0,05$ na základě analýzy *post-hoc* Tukey-Kramerovým testem následujícím po analýze variance jednoduchého třídění).

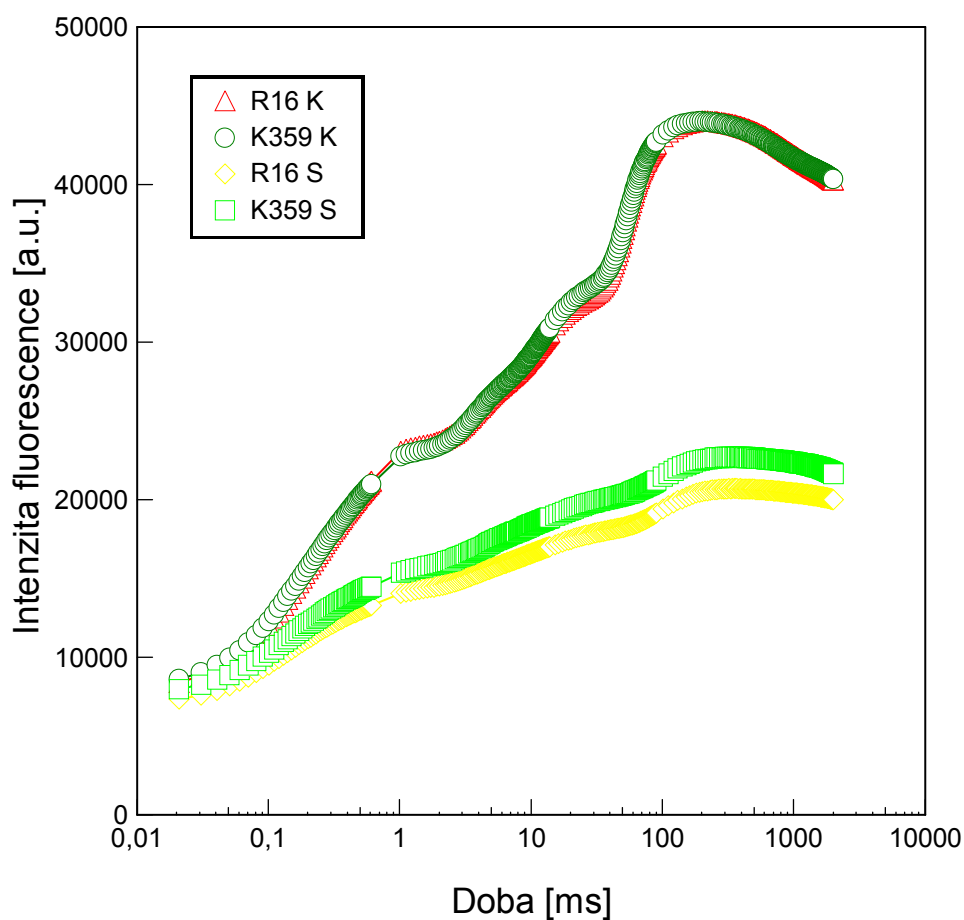


Obr. 35. Hodnoty obsahu prolinu v listech dvou genotypů čiroku dvoubarevného (R16, K359) v rámci třetí série pokusů (skleníkové pokusy, rok 2012). Den 0 ... měřeno na začátku stresového období u rostlin, které byly celou dobu pěstování normálně zalévány (0), Den 12 ... měřeno po dalších 12 dnech u rostlin, které byly i nadále normálně zalévány (K) a u rostlin, u nichž byla závlivka zastavena (S). Uvedeny jsou průměry ± směrodatné odchylky, písmena *A/a-b* popisují statistickou významnost rozdílů mezi genotypy (pouze ty genotypy/varianty pěstování, které jsou označeny odlišnými písmeny, se od sebe statisticky průkazně liší na hladině významnosti $\leq 0,05$ na základě analýzy *post-hoc* Tukey-Kramerovým testem následujícím po analýze variance jednoduchého třídění).

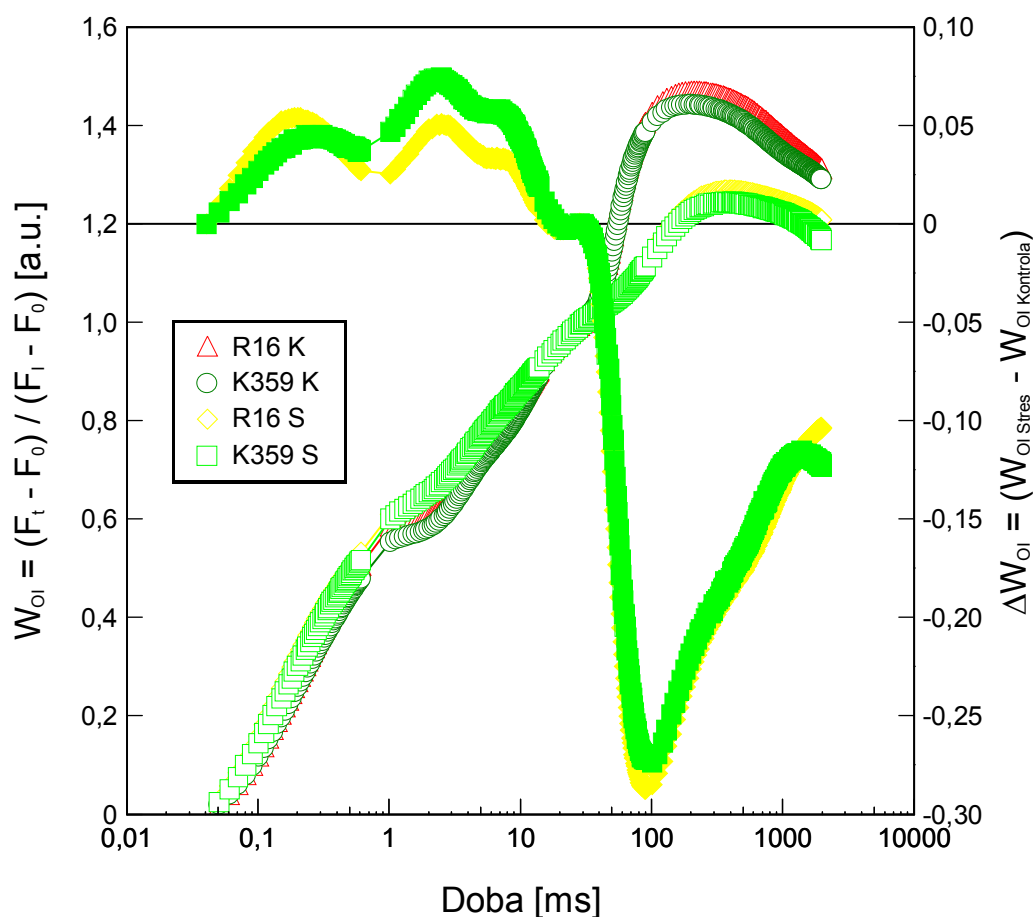
Tab. 17. Výsledky analýzy variance dvojného třídění s interakcemi, provedené u vybraných fotosyntetických parametrů JIP testu vycházejícího z měření OJIP křivky fluorescence chlorofylu *a*, efektivního kvantového výtěžku fotochemické přeměny energie ve fotosystému (PS) II (Q_Y), indexů spektrální odrazivosti PRI a NDVI, obsahů a poměrů fotosyntetických barviv, morfologických parametrů, relativního obsahu vody v listech a obsahu prolinu; uvedené parametry byly měřeny u dvou genotypů čiroku dvoubarevného (R16, K359) v rámci třetí série pokusů (rok 2012, skleníkové pokusy, dvanáctidenní stres suchem). Uvedeny jsou hladiny statistické významnosti (p), jako zdroj variability byly při analýze použity genotypy, pěstování (kontrola vs stres) a interakce mezi nimi ($G \times P$). Statistická významnost ($p \leq 0,05$) je vyznačena tučně.

Parametr		Genotypy	Pěstování	G×P
Φ_{P0}	Maximální kvantový výtěžek fotochemické přeměny energie v PSII	0,956	0,000	0,869
Φ_{E0}	Kvantový výtěžek toku přenosu elektronů z Q_A na Q_B	0,977	0,000	0,733
Φ_{R0}	Kvantový výtěžek toku přenosu elektronů až na koncové akceptory PSI	0,303	0,000	0,994
Φ_{D0}	Kvantový výtěžek disipace zachycené energie	0,939	0,000	0,754
Ψ_{E0}	Účinnost/pravděpodobnost, s kterou je elektron zachycený PSII přenesen z Q_A na Q_B	0,889	0,000	0,263
Ψ_{R0}	Účinnost /pravděpodobnost, s kterou je elektron zachycený PSII přenesen až na koncové akceptory PSI	0,208	0,000	0,723
δ_{R0}	Účinnost /pravděpodobnost, s kterou je elektron zachycený PSII přenesen z Q_B až na koncové akceptory PSI	0,112	0,000	0,980
γ_{RC}	Pravděpodobnost, že PSII chlorofyl funguje jako reakční centrum	0,905	0,000	0,761
ABS/RC	Průměrný tok zachycených fotonů vyjádřený na jedno PSII reakční centrum (zdánlivá velikost světloběrné antény aktivního PSII)	0,752	0,000	0,634
TP ₀ /RC	Maximální tok zachycených excitonů vyjádřený na jedno PSII reakční centrum	0,723	0,552	0,658
ET ₀ /RC	Tok přenosu elektronů z Q_A na Q_B vyjádřený na jedno PSII reakční centrum	0,818	0,000	0,313
RE ₀ /RC	Tok přenosu elektronů až na koncové akceptory PSI vyjádřený na jedno PSII reakční centrum	0,236	0,000	0,735
DI ₀ /RC	Tok disipované energie vyjádřený na jedno PSII reakční centrum	0,823	0,000	0,714
PI _{ABS}	Performanční index zachování energie fotonů zachycených světloběrnou anténou PSII až po redukcii Q_B	0,987	0,000	0,926
PI _{TOTAL}	Performanční index zachování energie fotonů zachycených světloběrnou anténou PSII až po redukcii koncových akceptorů PSI	0,314	0,000	0,632
Q_Y	Efektivní kvantový výtěžek fotochemické přeměny energie v PSII	0,957	0,000	0,667
PRI	<i>Photochemical Reflectance Index</i>	0,662	0,000	0,504
NDVI	<i>Normalized Difference Vegetation Index</i>	0,760	0,000	0,845
Obsah chlorofylu <i>a</i>		0,752	0,000	0,748
Obsah chlorofylu <i>b</i>		0,485	0,000	0,502
Obsah celkových karotenoidů		0,733	0,000	0,734
Poměr chlorofylů <i>a/b</i>		0,408	0,284	0,394
Poměr celkového chlorofylu / celkových karotenoidů		0,186	0,000	0,186
SLW	Specifická hmotnost listu	0,989	0,018	0,774
Celková hmotnost sušiny rostliny		0,838	0,000	0,989
Výška rostliny		0,163	0,000	0,605
Maximální výška rostliny		0,621	0,000	0,707
RWC	Relativní obsah vody v listu	0,646	0,000	0,634
Obsah prolinu		0,405	0,000	0,365

Rozdíly mezi kontrolními a stresovanými rostlinami a nepřítomnost výraznějších rozdílů mezi oběma hodnocenými genotypy byly patrné i z podrobnějšího rozboru OJIP křivek (**Obr. 36-40**), ať už z vlastního průběhu fluorescence chlorofylu *a* během celé OJIP části indukce fluorescenčního přechodového jevu (**Obr. 36**), nebo z křivek relativní variabilní fluorescence W_{OI} , W_{OJ} , W_{OK} a W_{IP} (**Obr. 37-40**, *znázorněno na levé ose grafů*) či z křivky diferenční kinetiky ΔW_{OI} vypočítané jako rozdíl mezi stresovanými a kontrolními rostlinami (**Obr. 37**, *znázorněno na pravé ose grafu*).

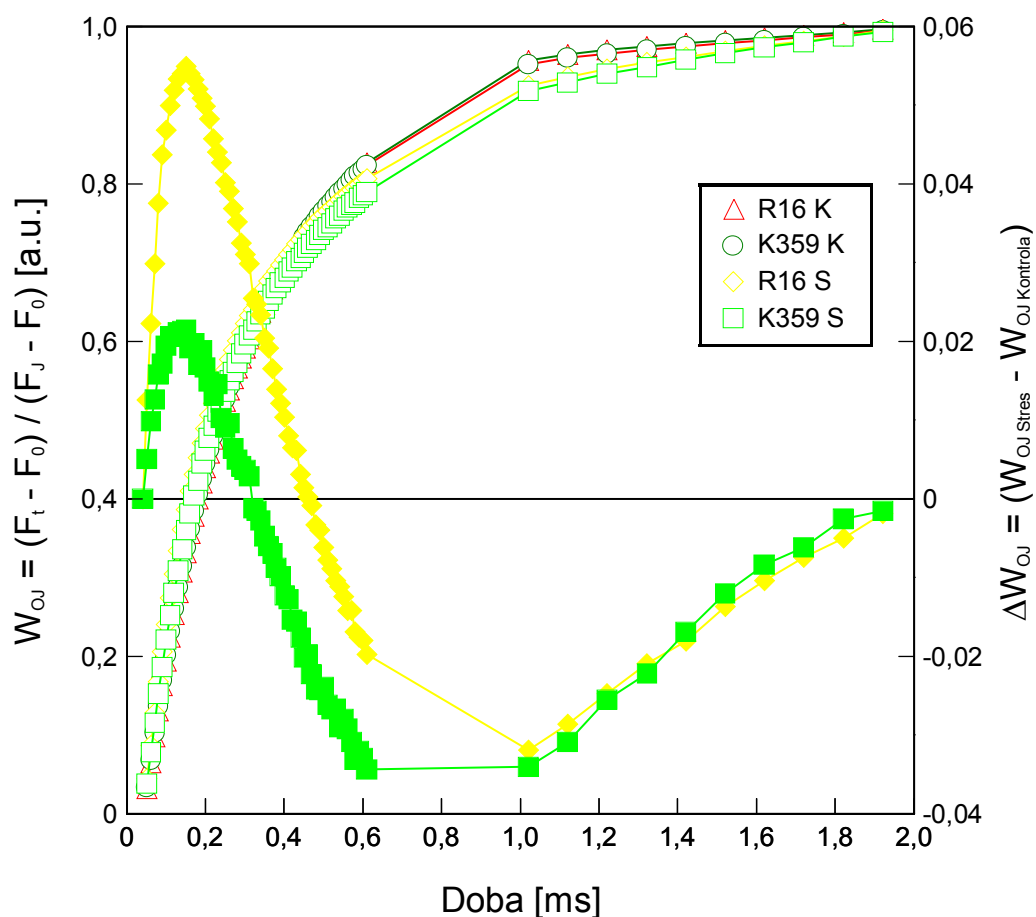


Obr. 36. Polyfázický nárůst fluorescence chlorofylu *a* (OJIP křivka) měřený na temnotně adaptovaných listech dvou genotypů čiroku dvoubarevného (R16, K359) v rámci třetí série pokusů (skleníkové pokusy, rok 2012). Měřeno u rostlin, které byly normálně zalévány (K) a u rostlin, u nichž byla zálivka zastavena na 12 dnů (S). Jednotlivé hodnoty jsou vždy průměry z 8 (v případě S 7) opakování.



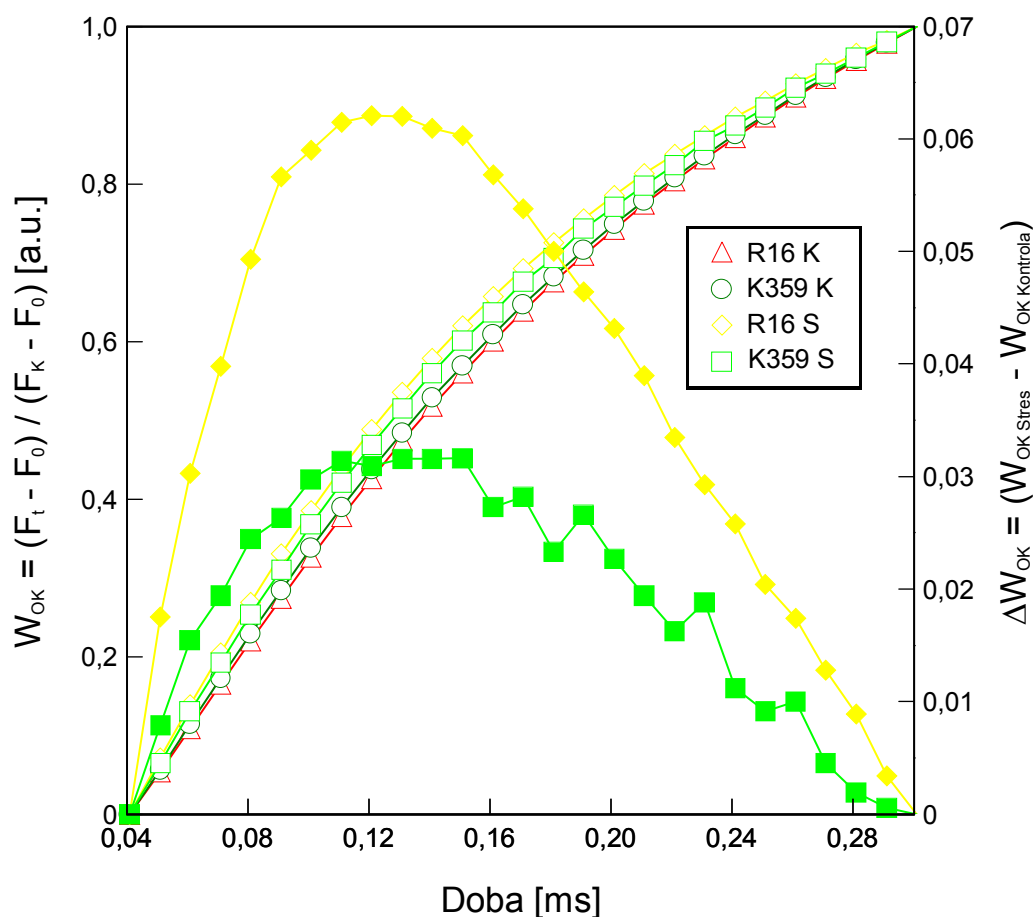
Obr. 37. Relativní variabilní fluorescence chlorofylu *a* v oblasti mezi body O a I (W_{OI} , znázorněná na levé ose grafu, prázdné symboly) a křivka diferenční kinetiky v této oblasti (ΔW_{OI} , znázorněná na pravé ose grafu, plné symboly) u dvou genotypů široko dvoubarevného (R16, K359) v rámci třetí série pokusů (skleníkové pokusy, rok 2012). Vypočítáno z hodnot fluorescence chlorofylu *a* měřené na temnotně adaptovaných listech u rostlin, které byly normálně zalévány (K) a u rostlin, u nichž byla závlhka zastavena na 12 dnů (S). Jednotlivé hodnoty jsou vždy průměry z 8 (v případě S 7) opakování.

Hodnoty křivky diferenční kinetiky ΔW_{OI} (**Obr. 38, znázorněno na pravé ose grafu**) se zpočátku pohybovaly v pozitivní oblasti (pozitivní K-pás), což by mohlo znamenat destabilizaci OEC, případně zvětšení velikosti funkční světlosběrné antény PSII (přičemž u R16 bylo poškození OEC / zvětšení velikosti antény PSII o něco větší) u stresovaných genotypů ve srovnání s kontrolními, poté ale poklesly pod nulovou hodnotu, takže z uvedeného grafu nelze vyvozovat jednoznačné závěry.



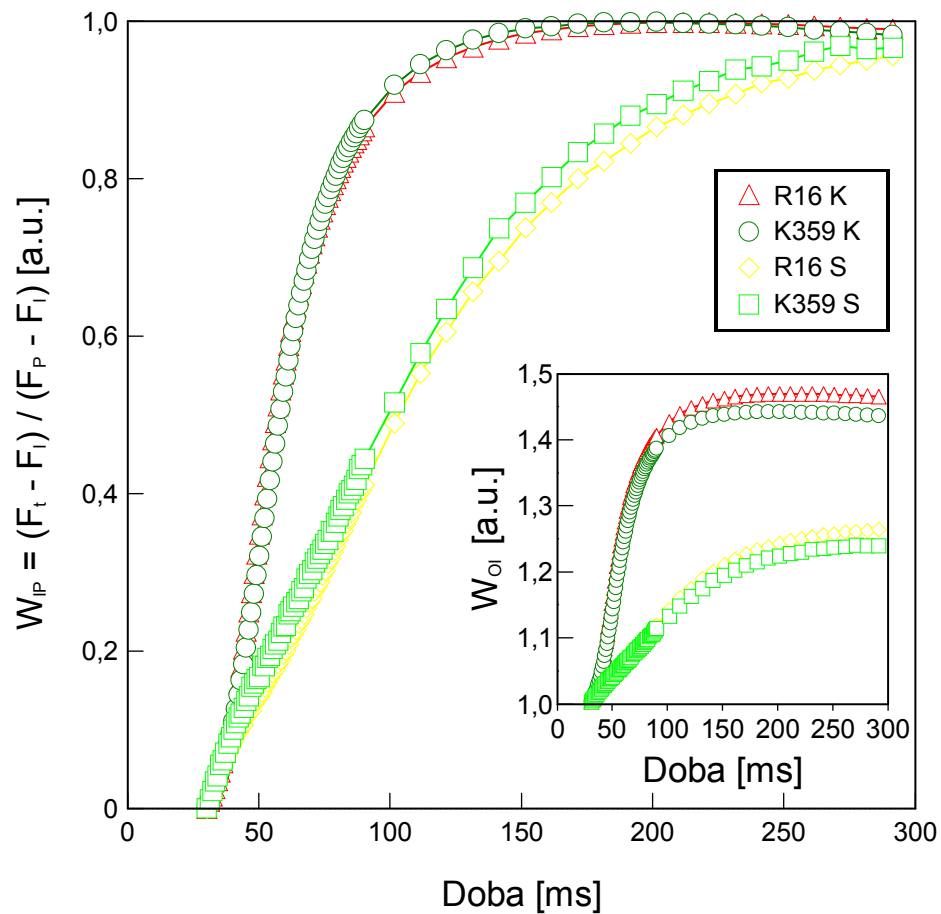
Obr. 38. Relativní variabilní fluorescence chlorofylu *a* mezi body O a J (W_{OJ} , znázorněná na levé ose grafu, prázdné symboly) a křivka diferenční kinetiky v této oblasti (ΔW_{OJ} , znázorněná na pravé ose grafu, plné symboly) u dvou genotypů široko dvoubarevného (R16, K359) v rámci třetí série pokusů (skleníkové pokusy, rok 2012). Vypočítáno z hodnot fluorescence chlorofylu *a* měřené na temnotně adaptovaných listech u rostlin, které byly normálně zalévány (K) a u rostlin, u nichž byla zálivka zastavena na 12 dnů (S). Jednotlivé hodnoty jsou vždy průměry z 8 (v případě S 7) opakování.

Křivky diferenční kinetiky ΔW_{OK} , která odhaluje L-pás, se nacházely také v pozitivní oblasti, což naznačuje horší energetickou konektivitu (vzájemnou výměnu energie) mezi PSII jednotkami u rostlin vystavených působení sucha; genotyp R16 byl v tomto ohledu opět „horší“ než genotyp K359 (**Obr. 39, znázorněno na pravé ose grafu**).



Obr. 39. Relativní variabilní fluorescence chlorofylu *a* mezi body O a K (W_{OK} , znázorněná na levé ose grafu, prázdné symboly) a křivka diferenční kinetiky v této oblasti (ΔW_{OK} , znázorněná na pravé ose grafu, plné symboly) u dvou genotypů čiroku dvoubarevného (R16, K359) v rámci třetí série pokusů (skleníkové pokusy, rok 2012). Vypočítáno z hodnot fluorescence chlorofylu *a* měřené na temnotně adaptovaných listech u rostlin, které byly normálně zalévány (K) a u rostlin, u nichž byla zálivka zastavena na 12 dnů (S). Jednotlivé hodnoty jsou vždy průměry z 8 (v případě S 7) opakování.

Výrazný pokles rychlosti redukce hotovosti koncových akceptorů elektronů za PSI, a také snížení velikosti této hotovosti u stresovaných rostlin obou genotypů byl zřejmý z křivek relativní variabilní fluorescence W_{IP} a W_{OI} , mezi oběma genotypy však nebyly v tomto ohledu příliš velké rozdíly (**Obr. 40**).



Obr. 40. Relativní variabilní fluorescence chlorofylu *a* mezi body I a P s maximální amplitudou fixovanou jako 1 (W_{IP} , znázorněná na hlavním grafu) a část křivky relativní variabilní fluorescence chlorofylu *a* mezi body O a I s hodnotami vyššími než 1 (W_{OI} , znázorněná na vnořeném grafu) u dvou genotypů čiroku dvoubarevného (R16, K359) v rámci třetí série pokusů (skleníkové pokusy, rok 2012). Vypočítáno z hodnot fluorescence chlorofylu *a* měřené na temnotně adaptovaných listech u rostlin, které byly normálně zalévány (K) a u rostlin, u nichž byla zálivka zastavena na 12 dnů (S). Jednotlivé hodnoty jsou vždy průměry z 8 (v případě S 7) opakování.

6. Diskuze

Sucho je v současnosti jedním z nejčastějších rostlinných stresorů, jež mají vliv na snižování výnosu u zemědělsky využívaných plodin. Šlechtitelství, jehož výsledkem jsou suchovzdorné odrůdy, které jsou schopny zachovat vysoký výnos i za podmínek dlouhotrvajícího nedostatku vody, je dnes stále více zaměřeno na výběr a hodnocení charakteristik, jež spolehlivě vypovídají o odolnosti nebo naopak citlivosti vůči suchu, ať už se jedná o jejich přímé využití jako sekundárních selekčních znaků, nebo o jejich využití pro spolehlivou fenotypizaci v souvislosti s metodologií „molekulárního šlechtění“ (Furbank a Tester, 2011; Cabrera-Bosquet *et al.*, 2012; Tuberosa, 2012). U těchto šlechtitelských programů je kladen důraz na ty metody, u nichž je možné testovat mnoho rostlin nebo genotypů co nejnázem a za krátký čas, což umožňuje zrychlení a vyšší efektivitu celého šlechtitelského procesu. Často jde navíc o nedestruktivní metody, kde je možné provádět opakovaná měření a sledovat změny v čase a působení různých klimatických faktorů na tytéž rostliny, případně sledovat odpověď rostlin v poststresovém období, což je stav, který se v přírodě vyskytuje často.

Tato práce měla ve svém Přehledu literatury za cíl uceleně popsat platnost a použitelnost některých parametrů, u nichž se předpokládá přímá nebo nepřímá souvislost s odolností vůči nedostatku vody u čiroku dvoubarevného (*Sorghum bicolor* (L.) Moench.). V experimentální části bylo cílem práce nejprve otestovat, zda bude možné indické genotypy tohoto rostlinného druhu (které jsou přirozeně adaptovány na zcela odlišné klimatické podmínky) pěstovat a hodnotit i v podmínkách mírného pásma, a dále zjistit, zda by vybrané fotosyntetické (případně i jiné) charakteristiky, měřitelné především nedestruktivními metodami, mohly být využitelné k rozlišení genotypů, u nichž se předpokládá odolnost (založená na přítomnosti některého ze *stay-green* QTL) nebo naopak citlivost (tzv. senescentní genotypy) k suchu. Jde o genotypy, které byly vyšlechtěny a částečně testovány v jiných charakteristikách (sklizňový index, TE a *total water use*) na pracovišti ICRISAT v Indii (Vadez *et al.* 2011), s nímž Laboratoř genetiky rostlin katedry genetiky a mikrobiologie PřF UK v Praze spolupracuje. Podle Vadez *et al.* (2011) některé z těchto genotypů vykazovaly suchovzdorné rysy, souvislost s původem IL (tím, zda bylo křížení prováděno na senescentní rodičovskou linii R16 nebo S35) však záležela na hodnoceném parametru. Zjištěny byly také interakce mezi jednotlivými Stg QTL a genetickým pozadím ve znacích spojených se schopností rostlin využívat dostupnou vodu. IL odvozené od linie R16 a obsahující StgB QTL (což by se v mém případě týkalo genotypů K214 a K359) např. podle Vadez *et al.* (2011) vykazovaly vyšší hodnoty TE, u IL odvozených od linie S35 a nesoucích tentýž QTL (v mém případě by šlo o IL 01) to však zjištěno nebylo. Naproti tomu

IL odvozené od rodičovské linie S35 a nesoucí Stg1 QTL (v mém případě by to byla IL 40) se zase vyznačovaly lepší schopností získávat vodu kořeny. V každém případě v indických podmínkách ve výše uvedených parametrech existovala mnohem vyšší variabilita mezi studovanými IL (i jejich rodičovskými liniemi) jak v podmínkách dobré dostupnosti vody, tak v podmínkách sucha, než byla variabilita, kterou jsem pozoroval já v parametrech hodnocených v této diplomové práci, ať už se jednalo o polní nebo skleníkové pokusy.

Metody, které jsem především v této práci testoval, jsou založeny jednak na analýze různých parametrů popisujících primární fotosyntetické procesy a odvozených z měření tzv. rychlé fáze indukce fluorescence chlorofylu *a* (tzv. OJIP křivky), jednak na stanovení obsahů a poměrů fotosyntetických barviv, ať už nedestruktivním hodnocením dvou indexů spektrální odrazivosti – PRI a NDVI (které umožňuje stanovit přibližný obsah chlorofylů v případě NDVI a přibližný obsah karotenoidů xantofylového cyklu nebo poměru mezi karotenoidy a chlorofyly v případě PRI), nebo spektrofotometrickým měřením po extrakci fotosyntetických barviv z listů. Obě tyto skupiny parametrů jsou přitom u jiných rostlinných druhů často doporučovány jako sekundární selekční znaky nebo znaky vhodné pro fenotypizaci v souvislosti se suchovzdorností (Tuberosa, 2012).

Fluorescence chlorofylu *a* a parametry založené na jejím měření jsou poměrně oblíbeným tématem, kterému se vědci zabývající se potenciálním využitím různých charakteristik při selekci a šlechtění na suchovzdornost rostlin věnují. Ačkoliv v některých studiích nebyla za podmínek nedostatku vody potvrzena souvislost mezi charakteristikami odvozenými na základě měření chlorofylové fluorescence a sklizňovým indexem (Bogale *et al.*, 2011) nebo byla vykázána pouze slabá souvislost a tudíž nebyly pro tento účel příliš doporučeny (např. Longenberger *et al.*, 2009), u většiny dosud zkoumaných druhů zemědělsky významných rostlin se obvykle tvrdí, že tyto parametry s odolností vůči suchu úzce souvisí. Autoři se až dosud v souvislosti se screeningem na suchovzdornost obvykle zaměřovali především na pomalou (PSMT) fázi fluorescenční indukční křivky a parametry z ní počítané (nejčastěji maximální nebo efektivní kvantový výtěžek fotochemické přeměny energie v PSII, případně fotochemické či nefotochemické zhášení fluorescence chlorofylu *a*). Někteří se však věnovali i rychlé (OJIP) fázi, a to nejen jednoduchým „číselným“ parametrům, ale i tvaru křivky indukce chlorofylové fluorescence nebo jejich jednotlivých částí (Oukarroum *et al.*, 2007; 2009; Jedmowski *et al.*, 2013).

Často se uvádí, že velkou míru využitelnosti skýtá především maximální kvantový výtěžek fotochemické přeměny energie v PSII, ϕ_{P0} (označovaný také jako F_V/F_M). Nejvíce autorů, kteří tento parametr studovali a na základě svých výsledků doporučili pro testování na suchovzdornost, pracovalo s pšenicí (*Triticum aestivum* L.) (Royo *et al.*, 2000; Paknejad *et*

al., 2007; Sayar *et al.*, 2008; Guoth *et al.*, 2009; Balouchi, 2010; Roostaei *et al.*, 2011). Arous *et al.* (1998) ovšem u tohoto rostlinného druhu uvedený fluorescenční parametr považují za nejméně vhodný pro screening na suchovzdornost a doporučují spíše poločas nárůstu hodnoty fluorescence mezi body F_0 a F_M , případně základní fluorescenci chlorofylu (F_0). F_0 do jisté míry vypovídala o míře suchovzdornosti i v další práci (Roostaei *et al.*, 2011) zaměřené na testování 144 linií pšenice. Na druhou stranu ovšem Paknejad *et al.* (2007), kteří také pracovali s pšenicí, žádnou korelaci mezi výnosem v podmínkách stresu suchem a hodnotou F_0 nenašli. Já sám jsem tento parametr přímo statisticky nehodnotil, ale na základě naměřených hodnot se nezdá, že by v něm u genotypů čiroku, které jsem testoval, existovala nějaká výraznější variabilita (*data nejsou v práci uvedena*).

Další studie, v nichž byly pomocí ϕ_{P0} odlišeny suchovzdorné genotypy od genotypů citlivých k suchu, byly provedeny např. u ječmene (*Hordeum vulgare* L.) (Guo *et al.*, 2008), kukuřice (Lepeduš *et al.*, 2012), cukrové třtiny (*Saccharum* sp.) (De Almeida Silva *et al.*, 2007; 2011; Cha-um *et al.*, 2012), dále u cizrny (*Cicer arietinum* L.) (Rahbarian *et al.*, 2011), olivovníku (*Olea europaea* L.) (Faraloni *et al.*, 2011) či modelové rostliny huseničku (*Arabidopsis thaliana* L.) (Woo *et al.*, 2008). Všechny tyto práce považují parametr ϕ_{P0} pro selekci a šlechtění na suchovzdornost za velmi vhodný. V mém případě jsem ovšem žádné výrazné rozdíly mezi studovanými genotypy čiroku v tomto parametru nepozoroval a nemohu jej tedy pro testování suchovzdornosti u tohoto rostlinného druhu doporučit. Schafleitner *et al.* (2007) také nepozorovali žádnou souvislost mezi suchovzdorností a hodnotami ϕ_{P0} u bramboru (*Solanum tuberosum* L.). Ani Bota *et al.* (2001) u vinné révy (*Vitis vinifera* L.) nenašli v tomto parametru žádnou variabilitu spojenou se suchovzdorností a dokonce nepozorovali ani žádné změny hodnot ϕ_{P0} v důsledku stresu suchem. Tito autoři testovali i další parametry odvozené z pomalé fáze fluorescenční indukční křivky (nefotochemické zhášení chlorofylové fluorescence, efektivní kvantový výtěžek fotochemické přeměny energie v PSII) a ani v nich nezjistili průkaznou souvislost mezi jejich hodnotami a suchovzdorností studovaných kultivarů vinné révy (Bota *et al.*, 2001). Podobný výsledek popsali i Guoth *et al.* (2009) u pšenice, kteří testovali jak maximální, tak efektivní kvantový výtěžek fotochemické přeměny energie v PSII, fotochemické i nefotochemické zhášení fluorescence chlorofylu *a*. Rovněž Boureima *et al.* (2012) nezjistili výrazné rozdíly mezi suchovzdornými a k suchu citlivými genotypy sezamu (*Sesamum indicum* L.) v parametru ϕ_{P0} . Doporučují však využití parametru PI_{ABS} a z něj odvozeného indexu DFI (*Drought Factor Index*), počítaného z hodnot PI_{ABS} stanovených u různě dlouho stresovaných rostlin. Lepeduš *et al.* (2012), kteří pracovali s kukuřicí, doporučují parametry ϕ_{P0} a PI_{ABS} kombinovat a používat je vždy společně.

O většině ostatních parametrů vycházejících z průběhu OJIP křivky, které jsem měřil i já v této práci, se v současnosti dostupné studie zmiňují méně často. Výše zmínění autoři Boureima *et al.* (2012) neuvádějí kromě PI_{ABS} žádné jiné parametry OJIP křivky, které by u sezamu doporučili pro screening na suchovzdornost. Oukarroum *et al.* (2007) u ječmene doporučují rovněž PI_{ABS} a DFI, a také sledování změn tzv. K- a L-pásů (na počátku O-J oblasti) na křivkách diferenční kinetiky. V pozdější práci na stejném materiálu tito autoři navrhují pro screening ječmene na suchovzdornost sledování změn chlorofylové fluorescence v oblasti mezi body I a P, parametru RE_0/RC a odvozených poměrů RE_0/ABS a RE_0/ET_0 (Oukarroum *et al.*; 2009). Já jsem v svých skleníkových pokusech s čirokem žádný rozdíl mezi oběma hodnocenými genotypy v parametru RE_0/RC nepozoroval a ani v polních pokusech jsem nenašel nějaký obecný trend, který by tento parametr doporučil. V práci Jedmowski *et al.* (2013), v níž byla hodnocena suchovzdornost analýzou OJIP křivky u genotypů čiroku a ječmene (*Hordeum vulgare* L.), byl u tolerantních genotypů ječmene popsán významně menší dopad na tvar L-páso OJIP křivky za podmínek sucha než u genotypů citlivých na nedostatek vody, což je jev, který jsem částečně pozoroval i já u obou genotypů čiroku hodnocených ve skleníkových pokusech, takže analýza tohoto páso by u čiroku možná mohla být k detekci suchovzdornosti využita. Jedmowski *et al.* (2012) však zároveň popsali, že vystavení suchu u suchovzdorných genotypů čiroku s významně menší měrou než u genotypů citlivých k suchu měnilo samotný průběh celé OJIP křivky, což jsem v případě mých pokusů nezjistil. Bylo by potřeba provést další pokusy s větším množstvím různých genotypů čiroku s jednoznačně definovanou a předem známou suchovzdorností, než by se změny tvaru různých částí OJIP křivky mohly skutečně doporučit pro praktický screening a šlechtění.

Zdá se tedy, že použitelnost parametrů počítaných na základě měření fluorescence chlorofylu *a* silně závisí na rostlinném druhu, na hodnoceném parametru a pravděpodobně i na podmínkách simulace stresu suchem. Souvislost mezi suchovzdorností a různými parametry fluorescence chlorofylu *a* také může výrazně záviset na vývojovém období, během kterého je testování prováděno, jak ukázali např. Bogale *et al.* (2011) u pšenice a jak jsem do jisté míry pozoroval i já sám v polní sezóně 2012, kdy se vzájemné postavení/pořadí jednotlivých genotypů v testovaném souboru měnilo v průběhu hodnoceného období (navíc u různých parametrů různě). Fluorescenční parametry rozhodně nelze doporučovat zcela obecně jako sekundární selekční znaky a u každého rostlinného druhu je vždy nutné provést důkladné testování v různých podmínkách a velkých genotypových souborech.

Využití při hledání suchovzdorných genotypů lze nalézt i pro metody založené na měření různých indexů spektrální odrazivosti listů, které slouží mimo jiné i pro přibližné a

rychlé stanovení obsahu fotosyntetických pigmentů. Parametr PRI se poměrně dobře osvědčil při selekci pšenice (Babar *et al.*, 2006) a bramboru (Schafleitner *et al.*, 2007) na suchovzdornost, ale pro určování odolnosti čiroku vůči suchu v mé práci se nejevil jako vhodný a často vykazoval nulové nebo dokonce záporné hodnoty a také velký rozptyl výsledných hodnot, tudíž ho nemohu pro tyto účely doporučit. Ani druhý z hodnocených indexů spektrální odrazivosti, NDVI, se na základě mých výsledků nezdá být příliš vhodným kritériem pro jednoznačné rozlišení genotypů čiroku na základě jejich předpokládané suchovzdornosti. Práce Lu *et al.* (2011), zkoumající suchovzdornost u 550 inbredních linií kukuřice (*Zea mays* L.) navrhuje sledovat parametr NDVI pouze jako sekundární a tedy doplňkovou charakteristiku a Monneveux *et al.* (2013) dodává, že by tento parametr mohl být u některých rostlinných druhů, v tomto případě bramboru (*Solanum tuberosum* L.), v časných fázích ovlivněn například vlastnostmi půdy, a proto doporučuje kombinaci NDVI s váženým indexem NIRS (*Near Infrared Reflectance Spectroscopy*), který zahrnuje i šikmost půdního povrchu. Metoda NIRS je doporučena i v její nevážené podobě pro fenotypizaci kukuřice (Cabrera-Bosquet *et al.*, 2012), ovšem zatím není příliš dostupná. Royo *et al.* (2000) doporučují u pšenice používat NDVI index pro predikci výnosu v podmínkách sucha pouze v těch vývojových stádiích nebo v takových prostředích, kde hodnota pokryvnosti listoví (LAI; *Leaf Area Index*) nepřevyšuje 3. Také Schafleitner *et al.* (2007) u bramboru uvádějí, že NDVI index velmi výrazně souvisí s LAI. Babar *et al.* (2006), pracující s pšenicí, navrhují místo NDVI používat spíše jiné indexy založené na odrazivosti čistě v blízké infračervené oblasti.

Jako lépe využitelnější se zdánlivě jeví metoda měření obsahu chlorofylu na základě absorbance (transmitance) listu pro záření ve dvou vlnových délkách pomocí SPAD přístrojů, jejíž aplikace při selekci suchovzdorných genotypů se ukázala jako velmi vhodná např. u cizrny (Kashiwagi *et al.*, 2010), podzemnice olejné (*Arachis hypogaea* L.) (Arunyanark *et al.*, 2008; 2009; Jongrunklang *et al.*, 2008; Songsri *et al.*, 2008; 2009; Painawadee *et al.*, 2009), cukrové třtiny (De Almeida Silva *et al.*, 2007; 2011) a pšenice (Fotovat *et al.*, 2007; Balouchi, 2010; Karimizadeh *et al.*, 2011; Talebi, 2011; Arjenaki *et al.*, 2012). Tuto metodu jsem však v této práci nepoužil a místo toho jsem měřil obsah fotosyntetických barviv spektrofotometricky, což by mělo být přesnější. A ačkoliv bývá tento parametr velmi často spojován se suchovzdorností, v případě mé práce se ani tato metoda neprokázala jako vhodná pro jednoznačné rozlišení genotypů čiroku odolných a citlivých k suchu. Ani Royo *et al.* (2000) či Reynolds *et al.* (2007), kteří hodnotili obsah chlorofylu pomocí SPAD metody u pšenice, nedoporučují stanovení obsahu chlorofylu pro selekci na suchovzdornost. Stejně jako v případě charakteristik založených na analýze fluorescence chlorofylu a tedy měření

obsahu fotosyntetických barviv očividně závisí na mnoha faktorech a nemůže být jako sekundární selekční znak doporučeno zcela obecně.

Obsah prolinu je charakteristika často spojovaná se stresem suchem a tolerancí vůči němu, a proto je rovněž poměrně často využíván. Souvislost mezi tímto parametrem a suchovzdorností byla potvrzena u cukrové třtiny (Cha-um *et al.*, 2012), cizrny (Ulemale *et al.*, 2013) i pšenice (Geravandi *et al.*, 2011). V této práci jsem ale u čiroku žádnou významnou souvislost nezaznamenal, ať už šlo o mladé rostliny pěstované ve skleníku, nebo rostliny v polních podmínkách. Rovněž parametr RWC se mi pro hodnocení odolnosti vůči suchu u mladých rostlin čiroku neosvědčil, přestože v pracích Xu *et al.* (2000), Ali *et al.* (2009) či Mutisya *et al.* (2010) byla jeho vhodnost pro šlechtění čiroku na suchovzdornost podpořena a rovněž je doporučován i pro další rostlinné druhy, např. pšenici (Balouchi, 2010; Arjenaki *et al.*, 2011; Bogale *et al.*, 2011; Geravandi *et al.*, 2011) a cukrovou třtinu (De Almeida Silva *et al.*, 2011).

Ačkoliv jsou tedy různé výše zmíněné parametry často doporučovány jako sekundární selekční znaky v souvislosti se suchovzdorností rostlin u čiroku se mi ani v polních pokusech, ani ve skleníkových pokusech, kde byly rostliny přímo vystavené nedostatku vody, nepodařilo v podstatě u žádné z charakteristik, které jsem hodnotil (jednotlivé parametry odvozené z OJIP křivky, oba indexy spektrální odrazivosti, obsahy a poměry fotosyntetických pigmentů stanovené spektrofotometricky po extrakci z listového pletiva, obsah prolinu, RWC, vybrané morfologické parametry) prokázat jednoznačnou souvislost mezi jejich vysokými či nízkými hodnotami a předpokládanou citlivostí či odolností genotypů k suchu. Jediný genotyp, který se v některých parametrech v polních pokusech od obou senescentních rodičovských linií poměrně pravidelně odlišoval, byla šlechtitelsky osvědčená *stay-green* linie B35, ale druhá *stay-green* linie E36-1, která se ve šlechtění čiroku na suchovzdornost používá téměř stejně často, takové rozdíly nevykazovala a ani žádná z QTL-IL obsahujících různé *stg* lokusy se od senescentních linií obvykle nelišila. Domnívám se, že důvodem by mohly být především odlišné klimatické podmínky, než na jaké jsou tyto rostliny vyšlechtěné a adaptované. Tím pádem na ně během celého pěstování působily mnohé další vlivy, s nimiž se musely vyrovnávat, zejména chlad, nedostatečná ozáření a odlišná délka dne. Změřená data jsou pak spíše odrazem komplexnosti odpovědi rostlin na kombinaci všech těchto nestandardních pěstebních faktorů.

Na základě získaných výsledků se domnívám, že použité metody, především měření OJIP křivky indukce fluorescence chlorofylu *a*, jsou sice možná vhodné u některých druhů plodin a pro určování míry tolerance sucha u rostlin, které jsou pěstované ve svém „přirozeném“ prostředí (prostředí, na něž jsou již dlouhodobě adaptované), pro testování

čiroku v našich klimatických podmínkách (ať už v polních pokusech nebo v nádobových pokusech ve skleníku) je zřejmě nelze doporučit. Přesto si téma možného využití nedestruktivních fotosyntetických parametrů pro screening, selekci a šlechtění na suchovzdornost rozhodně zaslouží být i nadále studováno.

7. Souhrn

- Genotypy čiroku dvoubarevného vyšlechtěné v Indii lze s omezením pěstovat i v podmínkách České republiky, avšak rostliny nejsou na tyto podmínky příliš adaptované, neboť jejich vývoj neproběhne celý a ještě před dozráním semen vykazují příznaky senescence (a to i *stay-green* genotypy).
- Různé nedestruktivní parametry popisující primární fotosyntetické procesy a založené na analýze OJIP části křivky indukce fluorescence chlorofylu *a*, indexy spektrální odrazivosti NDVI a PRI, destruktivní stanovení obsahu fotosyntetických barviv ani stanovení obsahu prolinu neumožňují od sebe v polních podmínkách mírného klimatického pásma rozlišit genotypy čiroku podle jejich *stay-green* / senescentního fenotypu. Důvodem je pravděpodobně množství jiných faktorů prostředí, které na rostliny za těchto podmínek působí.
- Měření výše uvedených parametrů u mladých rostlin čiroku pěstovaných v podmínkách skleníku a lišících se předpokládanou suchovzdorností (*stay-green* / senescentní fenotyp) není zřejmě příliš možné použít pro detekci této variability. Výjimkou by mohla být analýza kinetiky některých částí OJIP křivky indukce fluorescence chlorofylu *a*, konkrétně tzv. L-pásu.

8. Seznam použité literatury

- Abu AA, Joseph D, Suprasanna P, Choudhury RK, Saxena A, Bapat VA. 2002. Study of trace element correlations with drought tolerance in different sorghum genotypes using energy-dispersive X-ray fluorescence technique. *Biol. Trace Elem. Res.* 85: 255-267.
- Ali MA, Abbas A, Niaz S, Zulkiffal M, Ali S. 2009. Morpho-physiological criteria for drought tolerance in sorghum (*Sorghum bicolor*) at seedling and post-anthesis stages. *Int. J. Agric. Biol.* 11: 674-680.
- Ali MA, Jabran K, Awan SI, Abbas A, Ehsanullah, Zulkiffal M, Acet T, Farooq J, Rehman A. 2011. Morpho-physiological diversity and its implications for improving drought tolerance in grain sorghum at different growth stages. *Austr. J. Crop Sci.* 5: 311-320.
- Araus JL, Amaro T, Voltas J, Nakkoul H, Nachit MM. 1998. Chlorophyll fluorescence as a selection criterion for grain yield in durum wheat under Mediterranean conditions. *Field Crops Res.* 55: 209-223.
- Arjenaki FG, Jabbari R, Morshedi A. 2012. Evaluation of drought stress on relative water content, chlorophyll content and mineral elements on wheat (*Triticum aestivum*) varieties. *Int. J. Agri. Crop Sci.* 4: 726-729.
- Arunyanark A, Jogloy S, Akkasaeng C, Vorasoot N, Kesmla T, Nageswara Rao RC, Wright GC, Patanothai A. 2008. Chlorophyll stability is an indicator of drought tolerance in peanut. *J. Agron. Crop Sci.* 194: 113-125.
- Arunyanark A, Jogloy S, Vorasoot N, Akkasaeng C, Kesmla T, Patanothai A. 2009. Stability of relationship between chlorophyll density and Soil Plant Analysis Development chlorophyll meter readings in peanut across different drought stress conditions. *Asian J. Plant Sci.* 8: 102-110.
- Asgharipour MR, Heidari M. 2011. Effect of potassium supply on drought resistance in sorghum: plant growth and macronutrient content. *Pak. J. Agri. Sci.* 48: 197-204.
- Babar MA, van Ginkel M, Klatt AR, Prasad B, Reynolds MP. 2006. The potential of using spectral reflectance indices to estimate yield in wheat grown under reduced irrigation. *Euphytica* 150: 155-172.
- Balole TV, Legwaila GM. 2006. *Sorghum bicolor* (L.) Moench. [Internet] Record from PROTA4U. In: Brink M, Belay G (eds.). PROTA (Plant Resources of Tropical Africa / Ressources végétales de l'Afrique tropicale), Wageningen. <http://www.prota4u.org/search.asp>. Accessed 8 April 2013.
- Balouchi HR. 2010. Screening wheat parents of mapping population for heat and drought tolerance, detection of wheat genetic variation. *World Acad. Sci. Eng. Technol.* 43: 210-220.
- Bates LS, Waldren RP, Teare ID. 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant Soil* 39: 205-207.
- Beheshti AR, Behboodi fard B. 2010. Dry matter accumulation and remobilization in grain sorghum genotypes (*Sorghum bicolor* (L.) Moench.) under drought stress. *Austr. J. Crop Sci.* 4: 185-189.

- Beyel V, Brüggemann W. 2005. Differential inhibition of photosynthesis during pre-flowering drought stress in *Sorghum bicolor* genotypes with different senescence traits. *Physiol. Plant.* 124: 249-259.
- Bogale A, Tesfaye K, Geleto T. 2011. Morphological and physiological attributes associated to drought tolerance of Ethiopian durum wheat genotypes under water deficit condition. *J. Biodiversity Environ. Sci.* 2: 22-36.
- Borrell AK, Hammer GL. 2000. Nitrogen dynamics and physiological basis of stay-green in sorghum. *Crop Sci.* 40: 1295-1307.
- Borrell AK, Hammer GL, van Oosterom E. 2001. Stay-green: A consequence of the balance between supply and demand for nitrogen during grain filling? *Ann. Appl. Biol.* 138: 91-95.
- Bota J, Flexas J, Medrano H. 2001. Genetic variability of photosynthesis and water use in Balearic grapevine cultivars. *Ann. Appl. Biol.* 138: 353-361.
- Boureima S, Oukarroum A, Diouf M, Cisse N, van Damme P. 2012. Screening for drought tolerance in mutant germplasm of sesame (*Sesamum indicum*) probing by chlorophyll *a* fluorescence. *Environ. Exp. Bot.* 81: 37-43.
- Brown PJ, Myles S, Kresovich S. 2011. Genetic support for phenotype-based racial classification in sorghum. *Crop Sci.* 51: 224-230.
- Buchanan CD, Lim S, Salzman RA, Kagiampakis I, Morishige DT, Weers BD, Klein RR, Pratt LH, Cordonier-Pratt MM, Klein PE, Mullet JE. 2005. *Sorghum bicolor*'s transcriptome response to dehydration, high salinity and ABA. *Plant Mol. Biol.* 58: 699-720.
- Burke JJ, Franks CD, Burow G, Xin Z. 2010. Selection system for the stay-green drought tolerance trait in sorghum germplasm. *Agron. J.* 102: 1118-1122.
- Cabrera-Bosquet L, Crossa J, von Zitzewitz J, Serret MD, Araus JL. 2012. High-throughput phenotyping and genomic selection: The frontiers of crop breeding converge. *J. Integr. Plant Biol.* 54: 312-320.
- Crasta OR, Xu WW, Rosenow DT, Mullet J, Nguyen HT. 1999. Mapping of post-flowering drought tolerance traits in grain sorghum: association between QTLs influencing premature senescence and maturity. *Mol. Gen. Genet.* 262: 579-588.
- De Almeida Silva M, Jifon JL, da Silva JAG, Sharma V. 2007. Use of physiological parameters as fast tools to screen for drought tolerance in sugarcane. *Braz. J. Plant Physiol.* 19: 193-201.
- De Almeida Silva M, Jifon JL, Sharma V, da Silva JAG, Caputo MM, Damaj MD, Guimaraes ER, Ferro MIT. 2011. Use of physiological parameters in screening drought tolerance in sugarcane genotypes. *Sugar Technol.* 13: 191-197.
- Deikman J, Petracek M, Heard JE. 2012. Drought tolerance through biotechnology: improving translation from the laboratory to farmers' fields. *Curr. Opin. Biotechnol.* 23: 243-250.
- Deu M, Rattunde F, Chantreau J. 2006. A global view of genetic diversity in cultivated sorghum using a core collection. *Genome* 49: 168-180.

- Dugas DV, Monaco MK, Olson A, Klein RR, Kumari S, Ware D, Klein PE. 2011. Functional annotation of transcriptome of *Sorghum bicolor* in response to osmotic stress and abscisic acid. *BMC Genomics* 12: 514.
- Emendack Y, Herzog H, Götz KP, Malinowski DP. 2011. Mid-season water stress on yield and water use of millet (*Panicum miliaceum*) and sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench.). *Austr. J. Crop Sci.* 5: 1486-1492.
- Faraloni C, Cutino I, Petruccelli R, Leva AR, Lazzeri S, Torzillo G. 2011. Chlorophyll fluorescence technique as a rapid tool for *in vitro* screening of olive cultivars (*Olea europaea* L.) tolerant to drought stress. *Environ. Exp. Bot.* 73: 49-56.
- Fotovat R, Valizadeh M, Toorchi M. 2007. Association between water-use efficiency components and total chlorophyll content (SPAD) in wheat (*Triticum aestivum* L.) under well-watered and drought stress conditions. *J. Food. Agric. Environ.* 5: 225-227.
- Furbank RT, Tester M. 2001. Phenomics – technologies to relieve the phenotyping bottleneck. *Trends Plant Sci.* 16: 635-644.
- Gamon JA, Penuelas J, Field CB. 1992. A narrow-waveband spectral index that tracks diurnal changes in photosynthetic efficiency. *Remote Sens. Environ.* 41: 35-44.
- Gebre A. 2009. Molecular mapping of stay-green and other drought tolerance related traits in sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench.). M.Sc. Thesis. Department of Biotechnology, College of Agriculture, University of Agricultural Sciences, Dharwad, India.
- Geravandi M, Farshadfar E, Kahrizi D. 2011. Evaluation of some physiological traits as indicators of drought tolerance in bread wheat genotypes. *Russ. J. Plant Physiol.* 58: 69-75.
- Ghannoum O. 2009. C4 photosynthesis and water stress. *Ann. Bot.* 103: 635-644.
- Gholipoor M, Sinclair TR, Vara Prasad PV. 2012. Genotypic variation within sorghum for transpiration response to drying soil. *Plant Soil* 357: 35-40.
- Guo P, Baum M, Varshney RK, Graner A, Grando S, Ceccarelli S. 2008. QTLs for chlorophyll and chlorophyll fluorescence parameters in barley under post-flowering drought. *Euphytica* 163: 203-214.
- Guoth A, Tari I, Gallé Á, Csiszár J, Horváth F, Pécsváradi A, Cseuz L, Erdei L. 2009. Chlorophyll *a* fluorescence induction parameters of flag leaves characterize genotypes and not the drought tolerance of wheat during grain filling under water deficit. *Acta Biol. Szeged.* 53: 1-7.
- Harlan JR, de Wet MJM. 1972. A simplified classification of cultivated sorghum. *Crop Sci.* 12: 172-176.
- Harris K, Subudhi PK, Borrell A, Jordan D, Rosenow D, Nguyen H, Klein P, Klein R, Mullet J. 2007. Sorghum stay-green QTL individually reduce post-flowering drought-induced leaf senescence. *J. Exp. Bot.* 58: 327-338.
- Hausmann BIG, Ratunde HF, Weltzien-Ratunde E, Traoré PS, vom Brocke K, Parzies HK. 2012. Breeding strategies for adaptation of pearl millet and sorghum to climate variability and change in West Africa. *J. Agron. Crop Sci.* 198: 327-339.

Hermuth J, Janovská D, Stražil Z, Ust'ak S, Hýsek J. 2012. Čirok obecný (*Sorghum bicolor* (L.) Moench.), možnosti využití v podmínkách České republiky. Výzkumný ústav rostlinné výroby v.v.i, Praha - Ruzyně.

House LR. 1985. A guide to sorghum breeding (2nd ed.). ICRISAT, Patancheru, India.

Cha-um S, Wangmoon S, Mongkolsirivatana C, Ashraf M, Kirdmanne C. 2012. Evaluating sugarcane (*Saccharum* sp.) cultivars for water deficit tolerance using some key physiological markers. *Plant Biotechnol.* 29: 431-439.

Jagtap V, Bhargava S. 1995. Variation in the antioxidant metabolism of drought tolerant and drought susceptible varieties of *Sorghum bicolor* (L.) Moench. exposed to high light, low water and high temperature stress. *J. Plant Physiol.* 145: 195-197.

Jagtap V, Bhargava S, Streb P, Feierabend J. 1998. Comparative effect of water, heat and light stresses on photosynthetic reactions in *Sorghum bicolor* (L.) Moench. *J. Exp. Bot.* 49: 1715-1721.

Jedmowski C, Ashoub A, Brüggemann W. 2013. Reaction of Egyptian landraces of *Hordeum vulgare* and *Sorghum bicolor* to drought stress evaluated by the OJIP fluorescence transient analysis. *Acta Physiol. Plant.* 35: 345-354.

Jiang CD, Wang X, Gao H-Y, Shi L, Chow WS. 2011. Systemic regulation of leaf anatomical structure, photosynthetic performance, and high-light tolerance in sorghum. *Plant Physiol.* 155: 1416-1424.

Jongrungklang N, Toomsan B, Vorasoot N, Jogloy S, Kesmala T, Patanothai A. 2008. Identification of peanut genotypes with high water use efficiency under drought stress conditions from peanut germplasm of diverse origins. *Asian J. Plant Sci.* 7: 628-638.

Karimizadeh R, Mohammadi M, Ghaffaripour S, Karimpour F, Shefazadeh MK. 2011. Evaluation of physiological screening techniques for drought-resistance breeding of durum wheat genotypes in Iran. *Afr. J. Biotechnol.* 10: 12107-12117.

Kashiwagi J, Upadhyaya HD, Krishnamurthy L. 2010. Significance and genetic diversity of SPAD chlorophyll meter reading (SCMR) in a chickpea (*Cicer arietinum* L.) germplasm in the semi-arid environments. *J. Food Legumes* 23: 99-105.

Kassahun B, Bidinger FR, Hash CT. 2010. Stay-green expression in early generation sorghum *Sorghum bicolor* (L.) Moench. QTL introgression lines. *Euphytica* 172: 351-362.

Kebede H, Subudhi PK, Rosenow D, Nguyen H. 2000. Quantitative trait loci influencing drought tolerance in grain sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench.). *Theor. Appl. Genet.* 103: 266-276.

Kholova J, McLean G, Vadez V, Craufurd P, Hammer GL. 2013. Drought stress characterization of post-rainy season (*rabi*) sorghum in India. *Field Crops Res.* 141: 38-46.

Kim JS, Islam-Faridi MN, Klein PE, Stelly DM, Price HJ, Klein RR, Mullet JE. 2005. Comprehensive molecular cytogenetic analysis of sorghum genome architecture: Distribution of euchromatin, heterochromatin, genes and recombination in comparison to rice. *Genetics* 171: 1963-1976.

Lee JK, Kwon S-J, Park K-C, Kim N-S. 2004. *Isaac*-CACTA transposons: new genetic markers in maize and sorghum. *Genome* 48: 455-460.

- Lepeduš H, Brkić I, Cesar V, Jurković V, Antunović J, Jambrović A, Brkić J, Šimić D. 2012. Chlorophyll fluorescence analysis of photosynthetic performance in seven maize inbred lines under water-limited conditions. *Period. Biol.* 114: 73-76.
- Longenberger PS, Smith CW, Duke SE, McMichael BL. 2009. Evaluation of chlorophyll fluorescence as a tool for the identification of drought tolerance in upland cotton. *Euphytica* 166: 25-33.
- Lu Y, Zhuanfang H, Xie C, Crossa J, Araus J-L, Gao S, Vivek BS, Magorokosho C, Mugo S, Makumbi D, Taba S, Pan G, Li X, Rong T, Zhang S, Xu Y. 2011. Large-scale screening for maize drought resistance using multiple selection criteria evaluated under water-stressed and well-watered environments. *Field Crops Res.* 124: 37-45.
- Mace ES, Singh V, Van Oosterom EJ, Hammer GL, Hunt CH, Jordan DR. 2012. QTL for nodal root angle in sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench) co-locate with QTL for traits associated with drought adaptation. *Theor. Appl. Genet.* 124: 97-109.
- Maheswari M, Varalaxmi Y, Vijayalakshmi A, Yadav SK, Sharmila P, Venkatesvarlu B, Vanaja M, Pardha Saradhi P. 2010. Metabolic engineering using *mtl1D* gene enhances tolerance to water deficit and salinity in sorghum. *Biol. Plant.* 54: 647-652.
- Maiti RK, Reddy YVR, Vidyasagar RK. 1994. Seedling growth of glossy and non-glossy sorghums (*Sorghum bicolor* (L.) Moench.) under water stress and non-stress conditions. *Phyton* 55: 1-8.
- Ming R, Liu S-C, Lin Y-R, da Silva J, Wilson W, Braga D, van Deynze A, Wenslaff TF, Wu KK, Moore PH, Burnquist W, Sorrells ME, Irvine JE, Paterson AH. 1998. Detailed alignment of *Saccharum* and *Sorghum* chromosomes: Comparative organization of closely related diploid and polyploid genomes. *Genetics* 150: 1663-1682.
- Monneveux P, Ramírez DA, Pino M-T. 2013. Drought tolerance in potato (*S. tuberosum* L.). Can we learn from drought tolerance research in cereals? Review. *Plant Sci.* 205-206: 76-86.
- Munns R, James RA, Sirault XRR, Furbank RT, Jones HG. 2010. New phenotyping methods for screening wheat and barley for beneficial responses to water stress. *J. Exp. Bot.* 61: 3499-3507.
- Mutava RN, Prasad PVV, Tuinstra MR, Kofoid KD, Yu J. 2011. Characterization of sorghum genotypes for traits related to drought tolerance. *Field Crops Res.* 123: 10-18.
- Mutisya J, Siteney JK, Gichuki ST. 2010. Phenotypic and physiological aspects related to drought tolerance in sorghum. *Afr. Crop Sci. J.* 18: 175-182.
- Neto CFD, Lobato AKD, Goncalves-Vidigal MC, da Costa RCL, dos Santos BG, Alves GA R, Maia WJDES, Cruz FJR, Neves HKB, Lopes MJD. 2009. Carbon compounds and chlorophyll contents in sorghum submitted to water deficit during three growth stages. *J. Food, Agric. Environ.* 3-4: 588-593.
- Ng'uni D, Geleta M, Fatih M, Bryngelsson T. 2010. Phylogenetic analysis of the genus *Sorghum* based on combined sequence data from cpDNA regions and ITS generate well-supported trees with two major lineages. *Ann. Bot.* 105: 471-480.

- Oukarroum A, El Madidi S, Schansker G, Strasser RJ. 2007. Probing the responses of barley cultivars (*Hordeum vulgare* L.) by chlorophyll *a* fluorescence OLKJIP under drought stress and re-watering. *Environ. Exp. Bot.* 60: 438-446.
- Oukarroum A, Schansker G, Strasser RJ. 2009. Drought stress effects on photosystem I content and photosystem II thermotolerance analyzed using Chl *a* fluorescence kinetics in barley varieties differing in their drought tolerance. *Physiol. Plant.* 137: 188-199.
- Painawadee M, Jogloy S, Kesmala T, Akkasaeng C, Patanothai A. 2009. Identification of traits related to drought resistance in peanut (*Arachis hypogaea* L.). *Asian J. Plant Sci.* 8: 120-128.
- Paknejad F, Nasri M, Moghadam HRT, Zahedi H, Alahmadi MJ. 2007. Effects of drought stress on chlorophyll fluorescence parameters, chlorophyll content and grain yield of wheat cultivars. *J. Biol. Sci.* 7: 841-847.
- Paterson A, Bowers JE, Bruggmann R, Dubchak I, Grimwood J, Gundlach H, Haberler G, Hellsten U, Mitros T, Poliakov A, Schmutz J, Spannagl M, Tang H, Wang X, Wicker T, Bharti AK, Chapman J, Feltus FA, Gowik U, Grigoriev IV, Lyons E, Maher CA, Martis M, Narechania A, Otillar RP, Penning BW, Salamov AA, Wang Y, Zhang L, Carpita NC, Freeling M, Gingle AR, Hash CT, Keller B, Patricia Klein, Kresovich S, McCann MC, Ming R, Peterson DG, Mehboob-ur-Rahman, Ware D, Westhoff P, Mayer KFX, Messing J, Rokhsar DS. 2009. The *Sorghum bicolor* genome and the diversification of grasses. *Nature* 457: 551-556.
- Perumal R, Krishnaramanujam R, Menz MA, Katile S, Dahlberg J, Magill CW, Rooney WL. 2007. Genetic diversity among sorghum races and working groups based on AFLPs and SSRs. *Crop Sci.* 47: 1375-1383.
- Price HJ, Dillon SL, Hodnett G, Rooney WL, Ross L, Johnston JS. 2005. Genome evolution in the genus *Sorghum* (*Poaceae*). *Ann. Bot.* 95: 219-227.
- Rahbarian R, Khavari-Nejad R, Ganjeali A, Bagheri A, Najafi F. 2011. Drought stress effects on photosynthesis, chlorophyll fluorescence and water relations in tolerant and susceptible chickpea (*Cicer arietinum* L.) genotypes. *Acta Biol. Cracov., Ser. Bot.* 53: 47-56.
- Rajaraman K, Ganesamurthy K. 2011. Genetic diversity analysis of sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench.) genotypes for drought tolerance using SSR markers. *Indian J. Genet. Plant Breed.* 71: 17-24.
- Reynolds MP, Saint Pierre C, Vargas M, Saad ASI, Condon AG. 2007. Evaluating potential genetic gains in wheat associated with stress-adaptive trait expression in elite genetic resources under drought and heat stress. *Crop Sci.* 47 (S3): S172-S189.
- Roháček K. 2002. Chlorophyll fluorescence parameters: The definitions, photosynthetic meaning, and mutual relationships. *Photosynthetica* 40: 13-29.
- Rooney WL. 2007. Breeding sorghum. In: Acquaah G (ed.). Principles of Plant Genetics and Breeding, Blackwell Publishing, Malden-Oxford-Victoria. 509-518.
- Roostaei M, Mohammadi SA, Amri A, Majidi E, Nachit M, Haghparast R. 2011. Chlorophyll fluorescence parameters and drought tolerance in mapping population of winter bread wheat in the highlands of Iran. *Russ. J. Plant Physiol.* 58: 351-358.

- Rosenow DT, Clark LE. 1981. Drought tolerance in sorghum. *In: Proceedings of the 36th Annual Corn and Sorghum Research Conference, Chicago, Illinois, 9-11 December, 1981.* 18-30.
- Rouse JW, Jr., Haas RH, Deering DV, Schell JA, Harlan JC. 1974. Monitoring of vernal advancement and retrogradation (green wave effect) of natural vegetation. NASA/GSFC, Type II, Final Report, Greenbelt, Maryland. 371.
- Royo C., Garcia del Moral LF, Aparicio N, Villegas D, Casadesús J, Araus JL. 2000. Tools for improving the efficiency of durum wheat selection under Mediterranean conditions. *In: Royo C, Nachit M, Di Fonzo N, Araus JL (eds.). Durum wheat improvement in the Mediterranean region: New challenges, CIHEAM, Zaragoza.* 63-70.
- Sanchez AC, Subudhi PK, Rosenow DT, Nguyen HT. 2002. Mapping QTLs associated with drought resistance in sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench.). *Plant Mol. Biol.* 48: 713-726.
- Sayar R, Khemira H, Kameli A, Mosbahi M. 2008. Physiological tests as predictive appreciation for drought tolerance in durum wheat (*Triticum durum* Desf.). *Agron. Res.* 6: 79-90.
- Sharma AD, Kumar S, Singh P. 2005. Expression analysis of a stress-modulated transcript in drought tolerant and susceptible cultivars of sorghum (*Sorghum bicolor*). *J. Plant Physiol.* 163: 570-576.
- Sharma AD, Vasudeva R. 2006. Expression of a boiling-stable protein (BsCyp) in response to heat shock, drought and ABA treatments in *Sorghum bicolor*. *Plant Growth Regul.* 50: 249-254.
- Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K. 2007. Gene networks involved in drought stress response and tolerance. *J. Exp. Bot.* 58: 221-227.
- Schafleitner R, Gutierrez R, Espino R, Gaudin A, Pérez J, Martínez M, Domínguez A, Tincopa L, Alvarado C, Numberto G, Bonierbale M. 2007. Field screening for variation of drought tolerance in *Solanum tuberosum* L. by agronomical, physiological and genetic analysis. *Potato Res.* 50: 71-85.
- Sims DA, Gamon JA. 2002. Relationships between leaf pigment content and spectral reflectance across a wide range of species, leaf structures and developmental stages. *Remote Sens. Environ.* 81: 337-354.
- Singh V, van Oosterom EJ, Jordan DR, Hunt CH, Hammer GL. 2011. Genetic variability and control of nodal root angle in sorghum. *Crop Sci.* 51: 2011-2020.
- Sivaramakrishnan S, Patell VZ, Flower DJ, Peacock JM. 1988. Proline accumulation and nitrate-reductase activity in contrasting sorghum lines during mid-season drought stress. *Physiol. Plant.* 74: 418-426.
- Songsri P, Jogloy S, Holbrook CC, Kesmala T, Vorasoot N, Akkasaeng C, Patanothai A. 2009. Association of root, specific leaf area and SPAD chlorophyll meter reading to water use efficiency of peanut under different available soil water. *Agric. Water Manage.* 96: 790-798.

- Songsri P, Jogloy S, Kesmala T, Vorasoot N, Akkasaeng C, Patanothai A, Holbrook CC. 2008. Heritability of drought resistance traits and correlation of drought resistance and agronomic traits in peanut. *Crop Scil* 48: 2245-2253.
- Sowder CM, Tarpley L, Vietor DM, Miller FR. 1997. Leaf photoassimilation and partitioning in stress-tolerant sorghum. *Crop Sci.* 37: 833-838.
- Stirbet AD, Govindjee. 2011. On the relation between the Kautsky effect (chlorophyll *a* fluorescence induction) and Photosystem II: Basics and application of the OJIP fluorescence transient. *J. Photochem. Photobiol. B-Biol.* 104: 236-257.
- Strasser BJ, Stirbet AD. 1998. Heterogeneity of photosystem II probed by the numerically simulated chlorophyll *a* fluorescence rise. *Math. Comput. Simulat.* 48: 3-9.
- Strasser BJ, Strasser RJ. 1995. Measuring fast fluorescence transients to address environmental questions: The JIP-test. In: Mathis P (ed.). *Photosynthesis: From Light to Biosphere*, Vol. 5, Kluwer Academics, London. 977-980.
- Strasser RJ, Srivastava A, Tsimilli-Michael M. 2000. The fluorescence transient as a tool to characterize and screen photosynthetic samples. In: Mohanty P, Yunus U, Pathre M (eds.). *Probing Photosynthesis: Mechanism, Regulation and Adaptation*, Taylor and Francis, London. 445-483.
- Strasser RJ, Tsimilli-Michael M, Srivastava A. 2004. Analysis of the chlorophyll *a* fluorescence transient. In: Papageorgiou GC, Govindjee (eds.). *Chlorophyll *a* fluorescence. A signature of photosynthesis (Advances in Photosynthesis and Respiration, Vol. 19)*. Springer, Dordrecht. 321-362.
- Subudhi PK, Rosenow DT, Nguyen HT. 2000. Quantitative trait loci for the stay-green trait in sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench.): Consistency across genetic backgrounds and environments. *Theor. Appl. Genet.* 101: 733-741.
- Talebi R. 2011. Evaluation of chlorophyll content and canopy temperature as indicators for drought tolerance in durum wheat (*Triticum durum* desf.). *Aust. J. Basic Appl. Sci.* 5: 1457-1462.
- Talwar HS, Surwenshi A, Seetharama N. 2009. Use of SPAD chlorophyll meter to screen sorghum (*Sorghum bicolor*) lines for postflowering drought tolerance. *Indian J. Agric. Sci.* 79: 35-39.
- Thomas H, Howarth CJ. 2000. Five ways to stay green. *J. Exp. Bot.* 51: 329-337.
- Tsuji W, Ali MEK, Inanaga S, Sugimoto Y. 2003. Growth and gas exchange of three sorghum cultivars under drought stress. *Biol. Plant.* 46: 583-587.
- Tsuji W, Inanaga S, Araki H, Morita S, An P, Sonobe K. 2005. Development and distribution of root system in two grain sorghum cultivars originated from Sudan under drought stress. *Plant Prod. Sci.* 8: 553-562.
- Tuberosa R. 2012. Phenotyping for drought tolerance of crops in the genomics era. *Front. Physiol.* 3: Article 347.
- Tuinstra MR, Grote EM, Goldsbrough PB, Ejeta G. 1997. Genetic analysis of post-flowering drought tolerance and components of grain development in *Sorghum bicolor* (L.) Moench. *Mol. Breed.* 3: 439-448.

- Ulemale CS, Mate SN, Deshmukh DV. 2013. Physiological indices for drought tolerance in chickpea (*Cicer arietinum* L.). *World J. Agric. Sci.* 9: 123-131.
- Vadez V, Deshpande SP, Kholova J, Hammer GL, Borrell AK, Talwar HS, Hash CT. 2011. Stay-green quantitative trait loci's effects on water extraction, transpiration efficiency and seed yield depend on recipient parent background. *Funct. Plant Biol.* 38: 553-566.
- Varshney RK, Ribaut J-M, Buckler ES, Tuberosa R, Rafalski JA, Langridge P. 2012. Can genomics boost productivity of orphan crops? *Nature Biotechnol.* 30: 1172-1176.
- Wellburn AL. 1994. The spectral determination of chlorophylls *a* and *b*, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. *J. Plant Physiol.* 144: 307-313.
- Wiersema JH, Dahlberg J. 2007. The nomenclature of *Sorghum bicolor* (L.) Moench (*Gramineae*). *Taxon* 56: 941-946.
- Woo NS, Badger MR, Pogson BJ. 2008. A rapid, non-invasive procedure for quantitative assessment of drought survival using chlorophyll fluorescence. *Plant Methods* 4: 27.
- Wood AJ, Goldsbrough PB. 1997. Characterization and expression of dehydrins in water-stressed *Sorghum bicolor*. *Physiol. Plant.* 99: 144-152.
- Xin Z, Aiken R, Burke J. 2009. Genetic diversity of transpiration efficiency in sorghum. *Field Crops Res.* 111: 74-80.
- Xu W, Subudhi PK, Crasta OR, Rosenow DT, Mullet JE, Nguyen HT. 2000. Molecular mapping of QTLs conferring stay-green in grain sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench.). *Genome* 43: 461-469.
- Yadava UL. 1986. A rapid and nondestructive method to determine chlorophyll in intact leaves. *HortScience* 21: 1449-1450.
- Yusuf MA, Kumar D, Rajwanshi R, Strasser RJ, Tsimilli-Michael M, Govindjee, Sarin NB. 2010. Overexpression of γ -tocopherol methyl transferase gene in transgenic *Brassica juncea* plants alleviates abiotic stress: physiological and chlorophyll *a* fluorescence measurements. *Biochim. Biophys. Acta, Bioenerg.* 1797: 1428-1438.
- Zhang J, Kirkham MB. 1991. Ethylene production by two genotypes of sorghum varying in drought resistance. *Cereal Res. Commun.* 19: 357-360.