

Svoluji k zapůjčení své diplomové práce ke studijním účelům a prosím, aby byla vedena přesná evidence vypůjčovatelů. Převzaté údaje je nutno řádně ocitovat.

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA
KATEDRA GENETIKY A MIKROBIOLOGIE

*Vliv hypoxických a posthypoxických
podmínek
na fyziologické a morfologické
charakteristiky
kukuřice a genetické efekty
uplatňující se v jejich dědičnosti*

DIPLOMOVÁ PRÁCE

VYPRACOVALA: Jana Kholová *Jana Kholová*

PRAHA 2006

Předloženou práci jsem vypracovala pod vedením RNDr. Marie Kočové, CSc.

Prohlašuji, že jsem předloženou práci vypracovala samostatně, s použitím citované literatury a pod vedením RNDr. Marie Kočové, CSc.



Poděkování:

Touto cestou bych ráda poděkovala především RNDr. Marii Kočové CSc. za její přátelství, ochotu a vskutku nemalou trpělivost, s níž se mi věnovala při vypracovávání mé diplomové práce i ostatních studijních záležitostech.

RNDr. Daně Holé, PhD., RNDr. Olze Rothové a RNDr. Olze Votrubové, CSc., jakož i kolektivu laboratoří fyziologie rostlin patří můj dík za jejich cenné rady při pokusné činnosti i při tvorbě této práce.

Děkuji kolektivu pracovníků Genetické zahrady PŘF UK za morální podporu a péči o pokusný materiál.

V neposlední řadě patří můj vděk mé rodině za nesmírnou podporu a lásku v průběhu celého studia, rovněž i všem přátelům, kteří mi vždy podali pomocnou ruku v nelehkých časech.

Tato práce byla vypracována v letech 2003 - 2006 na Katedře genetiky a mikrobiologie PřF UK v Praze. Výzkum byl podporován grantovým projektem č. J13/98:113100003 MŠMT.

Abstract

Response of selected physiological and morphological parameters of maize to hypoxia/posthypoxia growing conditions and their genetic determination

Hypoxia and posthypoxia are two important abiotic stresses that limit the crop yield all over the world. Understanding the exact location and mechanisms of the waterlogging effects is very important for the future improvement of the crop productivity.

My diploma thesis is focused on characterization of various physiological (Hill reaction activity (HRA), photosystem 1 activity (PS1), photosynthetic pigments content and ratio (chlorophyll (chl) *a*, chl *b*, chl (*a+b*), chl *a/b*, carotenoids (car), chl/car), relative water content (RWC) and specific leaf mass) and morphological (metrical and weight parameters of plants) changes occurring in different maize genotypes under hypoxia (7 days) and posthypoxia. Two inbred lines (2023, CE704), their reciprocal F₁ hybrids and F₂ generation were used. Genetic analysis was performed to determine individual genetic effects.

I found that posthypoxia has more negative impact on maize plants than hypoxia. Significant decrease of photosynthetic pigments content (chl *a* and *b*) was also observed. It could be explained as an adaptative feature leading to the minimization of the photooxidative damage in the plant tissues. Photosystem 2 activity (expressed as HRA) was less affected with waterlogging than PS1. This could mean, that the capacity of HRA is higher than it is for PS1, which seems to limit an electron flow through photosystems under short-term hypoxia. It could also mean that photooxidation during 7 days of hypoxia is not so destructive for HRA. Differences in physiological traits among genotypes were rarely significant (usually under stress conditions). The parental line CE704 performed low values in majority of parameters with exception of RWC. Differences among genotypes were significant for many of the morphological parameters. Line CE704 attained less values in most of the traits again both under stress and nonstress conditions, but in contrast to other genotypes, the changes caused by hypoxia/posthypoxia were less pronounced. It could be concluded that the line CE704 is potentially the most tolerant to waterlogging. Genetic analysis of individual traits showed both additive and dominance genetic effects. Dominant maternal effects were also significant for most of parameters. The significant changes in genetic determination of traits were observed not only under hypoxia and posthypoxia but also during growth and development of plants.

Key words: waterlogging, hypoxia/posthypoxia, maize, Hill reaction activity, photosystem 1 activity, photosynthetic pigments, genetic analysis

Klíčová slova: zaplavení, hypoxie/posthypoxie, kukuřice, aktivita Hillovy reakce, aktivita fotosystému 1, fotosyntetické pigmenty, genetická analýza

Obsah

1. Úvod.....	10
2. Přehled literatury.....	12
2.1. <i>Obecné charakteristiky stresu</i>	12
2.2. <i>Stres zaplavením</i>	14
2.2.1. Změny chemických vlastností půdy a příjem živin při zaplavení.....	15
2.2.2. Produkce a účinky fytohormonů při nedostatku kyslíku.....	18
2.2.3. Ovlivnění rostlinného metabolismu.....	21
2.2.4. Trvalá přizpůsobení k nadměrnému obsahu vody v půdě.....	25
2.3. <i>Fotooxidační stres</i>	26
2.3.1. Vznik a působení aktivních forem kyslíku (ROS).....	26
2.3.2. Mechanizmy potlačující negativní působení ROS.....	30
2.4. <i>Posthypoxický/postanoxický stres</i>	33
2.5. <i>Exprese genů a syntéza proteinů při nedostatku O₂</i>	34
2.6. <i>Dědičnost tolerance k hypoxickému/anoxickému stresu</i>	37
2.7. <i>Genetický stres</i>	39
3. Materiál a metody.....	42
3.1. <i>Pokusný materiál a způsob pěstování rostlin</i>	42
3.2. <i>Metody</i>	43
3.2.1. Odběr asimilačního pletiva.....	43
3.2.2. Izolace chloroplastů.....	43
3.2.3. Stanovení obsahu chlorofylu v suspenzích izolovaných chloroplastů.....	44
3.2.4. Stanovení fotochemické aktivity chloroplastů.....	44
3.2.4.1. <i>Kalibrace měřících soustav pro AHR a PS I</i>	44
3.2.4.2. <i>Měření AHR</i>	44
3.2.4.3. <i>Měření PS I</i>	45
3.2.4.4. <i>Výpočet aktivit AHR a PS I</i>	46
3.2.5. Stanovení RWC.....	46
3.2.6. Specifická hmotnost listu a obsah pigmentů.....	46
3.2.7. Obsah chlorofylu a celkových karotenoidů v listovém pletivu.....	47
3.2.8. Příprava anatomických preparátů a barvení.....	48
3.2.8.1. <i>Barvení safraninem s anilínovou modří</i>	48
3.2.9. Měření morfologických parametrů.....	49
3.2.10. Statistická analýza.....	49
3.2.11. Genetická analýza.....	50
4. Výsledky.....	54
4.1. <i>Reakce rostlin na stresové podmínky pěstování a rozdíly mezi genotypy</i>	54
4.1.1. Fyziologické charakteristiky.....	54
4.1.2. Morfologické charakteristiky.....	101
4.2. <i>Genetická analýza fyziologických a morfologických charakteristik</i>	127
4.3. <i>Korelační analýza fyziologických a morfologických charakteristik</i>	132
4.4. <i>Změny anatomické struktury listů</i>	144

5. Diskuze.....	150
5.1. <i>Statistická analýza</i>	151
5.1.1. Statistická analýza fyziologických znaků.....	151
5.1.2. Statistická analýza morfologických znaků.....	155
5.1.3. Rozdíly mezi genotypy.....	156
5.3. <i>Genetická analýza</i>	158
5.3.1. Genetická analýza jednotlivých znaků.....	158
5.3.2. Souhrné hodnocení výsledků genetické analýzy.....	161
5.4. <i>Korelační analýza</i>	162
5.4.1. Korelační analýza mezi jednotlivými znaky.....	162
5.4.2. Korelační analýza mezi bloky a sériemi.....	164
5.6. <i>Hodnocení anatomických charakteristik</i>	165
6. Souhrn.....	166
7. Seznam citované literatury.....	168

Seznam použitých zkratk

A	aditivní efekt
AHR	aktivita Hillovy reakce
c	cytoplazmatický efekt zdrojové populace
D	dominantní efekt
DCMU	3-(3',4'-dichlorfenyl)-1,1-dimetylmočovina
DCPIP	2,6-dichlorfenolindofenol
F ₁ , F ₁ '	kříženci (2023×CE704) a reciprocí kříženci (CE704×2023) první filiální generace
F ₂ , F ₂ '	druhé filiální generace vzniklé křížením (F ₁ ×F ₁) a (F ₁ '×F ₁ ')
FAA	fixační roztok obsahující formaldehyd, kyselinu octovou a ethanol
G	genotyp
Chl a	chlorofyl <i>a</i>
Chl b	chlorofyl <i>b</i>
Kar	karotenoidy
m	obecný průměr, genetické pozadí
MA	jaderný maternální aditivní efekt
MD	jaderný maternální dominantní efekt
P	způsob pěstování
P ₁ , P ₂	první (2023) a druhý parentální genotyp (CE704)
PS 1	fotosystém 1
PS2	fotosystém 2
RWC	relativní obsah vody
S	série
Tris-HCl	tris(hydroxymethyl)-aminomethan

1. Úvod

Ačkoliv produkce kulturních plodin v posledních desetiletích značně vzrostla, nadále přetrvává celosvětový problém hladu, který je zatím nedořešený. Kolem 30% hospodářsky využívané půdy je ovlivněno nadměrným množstvím vody přinejmenším v určitých vegetačních obdobích, což snižuje výnosy plodin až o 25 – 30%. Proto je nutné produkovat takové genotypy hospodářsky významných plodin, které budou schopné tolerovat hypoxické podmínky navozené nadměrným obsahem vody v půdě beze změny růstových a výnosových parametrů.

Kukuřice (*Zea mays* L.) je po pšenici (*Triticum aestivum* L.) a rýži (*Oryza sativa* L.) třetí plodinou z hlediska celosvětové produkce a současně jedním z nejlépe prostudovaných rostlinných druhů využívaných dlouhodobě jako modelový objekt v rostlinné fyziologii a genetice. Je známo mnoho inbredních linií a hybridů, a také mnoho genově modifikovaných genotypů kukuřice, které se využívají ve šlechtění na vyšší odolnost vůči biotickým a abiotickým stresovým faktorům, a které se výrazně liší reakcí na stres. Příčiny této vnitrodruhové variability nejsou dosud uspokojivě objasněny. Všeobecně je kukuřice z hlediska odolnosti vůči hypoxickým podmínkám klasifikována jako citlivá rostlina.

Abiotické stresory včetně nadměrného zaplavení negativně ovlivňují významné funkce rostlin od subcelulární úrovně k rostlině jako celku. Fotosyntéza patří mezi procesy, které jsou nadměrným zaplavením postiženy po velmi krátké době trvání stresu, což má pro rostlinu nepříznivé důsledky. Účinnost fotosyntézy se stala velmi důležitým hlediskem při výběru vhodných kultivarů, které by vykazovaly odolnost vůči nadbytku vody. Celkovou fotosyntetickou účinnost ve stresových podmínkách ovlivňuje celá řada dílčích mechanismů souvisejících se strukturou i funkcí fotosyntetického aparátu chloroplastů, s obsahem různých ochranných látek, s morfologickým i anatomickým přizpůsobením rostlinných pletiv a orgánů, které jsou zvláště v posledních letech intenzivně studovány. Pro získávání perspektivních genotypů tolerantních vůči určitému stresu a jejich využívání ve šlechtění je nezbytné tyto skutečnosti znát. Je známo velice málo o zákonitostech dědičnosti jednotlivých znaků a jejich projevech během vystavení rostlin stresovým podmínkám. Dosud se většina prací omezuje na porovnávání nepříbuzných tolerantních a netolerantních genotypů. Reakce inbredních a hybridních genotypů na stres, změny genetické determinace a význam jednotlivých genetických efektů v dědičnosti jsou studovány zcela výjimečně.

Předložená diplomová práce je zaměřena na analýzu změn genetických efektů

vybraných fyziologických a morfologických charakteristik u dvou inbredních kombinací kukuřice se zvláštním důrazem na detekci a vliv maternálních efektů během vystavení rostlin stresovým podmínkám. Její součástí je studium schopnosti jednotlivých genotypů obnovit původní účinnost fotosyntetického aparátu a analyzovat změny genetických efektů poté, co u rostlin stresovaných hypoxií dojde k navrácení do standardních podmínek.

Cíle lze shrnout následovně:

- Zjistit, zda a jak se mění hodnoty fyziologických a vybraných morfologických a anatomických charakteristik listů kukuřice po vystavení rostlin hypoxii a po návratu do optimálních podmínek pěstování.
- Určit, zda a jak se liší z hlediska vybraných parametrů inbrední rodičovské linie a jejich kříženci F_1 a generace F_2 v reakci na hypoxii a obnovu.
- Provést genetickou analýzu měřených charakteristik a zjistit, zda se projevy genetických efektů mění u stresovaných rostlin oproti rostlinám kontrolním, případně zda se mění i u rostlin, které byly po období hypoxie vráceny do standardních podmínek.
- Provést korelační analýzu, a stanovit tak míru vzájemné závislosti studovaných charakteristik.

2. Přehled literatury

Rostliny jsou během svého života vystaveny celé řadě vnějších faktorů, které příznivě či nepříznivě ovlivňují jejich další existenci. Nepříznivé faktory mohou nejen zpomalovat životně důležité funkce rostlin, ale také poškozovat jejich jednotlivé orgány, což může vést až k jejich uhynutí. Vlivy vnějšího prostředí ohrožující rostlinu se nazývají stresory a stav rostlin vyvolaný jejich působením se označuje jako stres. Studium těchto stavů je komplikováno skutečností, že se často jedná o celý soubor reakcí, které se mohou měnit v závislosti na podmínkách při působení stresorů.

2.1. Obecné charakteristiky stresu

Stresory lze nejobecněji dělit na biotické a abiotické. K biotickým stresorům řadíme interakce rostlin s cizími organizmy, ale i vzájemné působení rostlin. Abiotické stresory jsou všechny vlivy vnějšího prostředí fyzikálně – chemického charakteru.

Biotické stresory:

- herbivorie (spásání, poranění)
- patogeny (viry, houby, bakterie)
- vzájemné ovlivnění rostlin (alelopatie, parazitizmus)

Abiotické stresory:

- fyzikální
 - nadměrné ozáření (UV, viditelné záření)
 - extrémní teploty (horko, chlad, mráz)
 - mechanické účinky větru
- chemické
 - sucho
 - anoxie, hypoxie
 - nedostatek a nadbytek živin
 - nedostatek a nadbytek iontů solí a vodíku v půdě
 - toxické látky v půdě
 - toxické plyny ve vzduchu

Rostliny si během evoluce, v závislosti na intenzitě stresorů působících v místě jejich rozšíření, vyvinuly různě silné pasivní a aktivní ochranné mechanismy, kterými mohou účinně reagovat na působení stresorů. V případě pasivní obrany se jedná o záležitost chronickou, kdy rostliny vyvinuly schopnost vyhnout se stresu např. pomocí ochranných struktur (zesílená kutikula listů, impregnace buněčných stěn, rezervoáry vody) či vhodným načasováním životních cyklů. Aktivní obrana představuje bezprostřední akutní reakci rostliny na působení stresových faktorů – tzv. stresová reakce, kterou lze charakterizovat několika po sobě jdoucími fázemi:

1/ *Poplachová fáze*

- nastává bezprostředně po působení stresoru
- dochází k narušení struktur a funkcí rostlinných pletiv
- pokud je intenzita stresoru příliš silná, rostliny odumírají

2/ *Restituční fáze*

- dochází k mobilizaci kompenzačních mechanismů
- roste odolnost rostliny

3/ *Otužovací fáze*

- nadále se zvyšuje odolnost rostlin

4/ *Fáze rezistence*

- rostliny dosáhnou nejvyšší úrovně odolnosti

5/ *Fáze vyčerpání*

- nastává, pokud je působení stresoru dlouhodobé a intenzivní
- jedná se o trvalý pokles odolnosti, který je vystřídán konečným letálním stavem

Průběh a výsledek stresové reakce je závislý jednak na délce a síle působení stresoru, jednak na genetických předpokladech odpovědi (tzv. adaptační schopnosti), které se liší nejen mezi jednotlivými druhy rostlin, ale také mezi liniemi či genotypy.

Aklimací (aklimatizací) se rozumí přechodné buď krátkodobé zvýšení odolnosti pod vlivem stresoru (např. syntéza specifických metabolitů), nebo dlouhodobé (např. tvorba

nových orgánů a jejich vnitřních struktur).

Ke zvýšení odolnosti dochází většinou za zvýšených energetických nákladů, hlavně při tvorbě specifických metabolitů (např. prolin, betain, sacharóza). Tyto metabolické změny jsou často provázány sníženou rychlostí příjmu látek z prostředí i výměny plynů, což se negativně odráží na rychlosti tvorby biomasy. Změny tohoto rázu pak ovlivňují další vývoj rostliny i po ustanovení optimálních podmínek (Sgherri *et al.* 1993).

Působení stresorů však může mít i pozitivní biologický nebo ekonomický charakter. Je totiž i důležitým morfogenním faktorem vzniklým v průběhu evoluce. Účastní se například procesu klíčení (semena některých rostlin musí nutně projít stadiem dormance, které souvisí s odvodněním cytoplazmy buněk embrya) či tvorby květů (tzv. jarovizace, což je proces kdy dlouhodobé působení nízkých teplot umožňuje kvetení, nebo alespoň zvyšuje citlivost rostlin k fotoperiodě). Odezva na stres umožňuje rostlinám přežít bez ohledu na jakýkoliv zásah člověka a může tudíž být i ekonomicky prospěšná.

2.2. Stres zaplavením

Rostliny jsou obligátní aerobní organizmy, které pro optimální růst a vývoj vyžadují neustálý příjem kyslíku. Oproti prýtu jsou orgány rostlin vyskytující se v půdě vystaveny většímu riziku částečného (hypoxie) nebo úplného nedostatku kyslíku (anoxie), které je vyvoláno působením vnějších vlivů (udusání půdy, nadměrné zvýšení obsahu vody v půdě). Nedostatkem kyslíku však mohou být postiženy i vnitřní části rostlin, např. vnitřní pletiva kořenů, plodů a hlíz, kde se vytvářejí tzv. anaerobní zóny bez působení vnějšího prostředí (Geigenberger 2003; Gibbs a Greenway 2003).

Při **hypoxii** je dostupnost kyslíku pro rostlinu snížena. Vlivem snížení parciálního tlaku O₂ je omezen vznik ATP oxidativní fosforylací. Roste podíl ATP vzniklý glykolýzou, ale celková koncentrace ATP se výrazně nemění. Buňky pletiv vystavených hypoxii odumírají selektivně programovanou buněčnou smrtí. Při **anoxii** je úplně znemožněn přísun kyslíku ke všem částem rostliny. ATP je produkován pouze glykolýzou a jeho celková koncentrace se snižuje. K odumírání buněk dochází převážně nektrózou (Subbaiah a Sachs 2003).

Následkem takovýchto hypoxických až anoxických podmínek dochází již po 2 – 3 dnech k vážnému poškození rostlin, jež nejsou na tyto podmínky adaptovány.

2.2.1. Změny chemických vlastností půdy a příjem živin při zaplavení

Pokud je půda trvale zaplavena, dojde ke změnám jejích fyzikálních a chemických vlastností, které mají negativní vliv na metabolismus rostlin. Saturace půdy vodou má pro rostlinu dramatické následky, především pokud jde o dostupnost kyslíku. Rozpustnost plynů ve vodě je totiž zhruba 10 000-krát nižší než ve vzduchu. Snížená rozpustnost kyslíku ve vodě má za následek **změnu pH a redoxního potenciálu (Eh)** půdy (Probert a Keating 2000). Při anaerobních podmínkách dochází k uvolnění redukováných iontů z jejich nerozpustných forem. Zvyšuje se koncentrace H^+ a tím se snižuje pH. Vše je násobeno tím, že tento proces je pufrován H_2CO_3 , HCO_3^- a CO_3^{2-} vznikajícím rozpouštěním CO_2 ve vodě, což přispívá k udržování nízkého pH. Vzniklé ionty jsou ve vyšších koncentracích toxické (Probert a Keating 2000). Dostupnost živin ve vodou saturované půdě je zásadně ovlivněna kyselým pH společně s měnícím se Eh.

Změna pH a Eh v zaplavené půdě dále způsobí, že v neadaptovaných rostlinách klesá obsah **dusíku (N)**. Hlavním důvodem tohoto poklesu je snížená schopnost rostlin dusík přijímat, neboť NO_3^- je v těchto podmínkách redukován na NH_4^+ (denitrifikace), který je pak fixován do půdních kationtových komplexů a tím se stává pro rostlinu méně dostupným (Pezeshki 2001). Stávající NO_3^- slouží denitrifikujícím anaerobním mikroorganismům jako akceptor elektronů (Ponnamperuma 1972), čímž vzniká NH_4^+ a naopak proces mineralizace, a tak i koloběh organické hmoty v půdě je omezen, neboť kromě svrchní vrstvy zatopené půdy zde není dostatek O_2 pro oxidaci NH_4^+ na NO_3^- (Probert a Keating 2000). N se poté v půdě hromadí ve formě NH_4^+ a také většina přijatého dusíku je ve formě amonných iontů, které mají ve vyšších koncentracích pro rostliny inhibiční až toxické účinky (Probert a Keating 2000). K amonifikaci přispívá i vypotřebovávání zbylého O_2 půdními aerobními mikroorganismy (Watanabe *et al.* 1996). Ke snížení obsahu N dochází i v rostlinných pletivech důsledkem poklesu aktivity nitrátreduktasy (NR) a glutaminsyntetasy (GS), které zajišťují jeho rovnováhu. Aktivita těchto enzymů se liší v závislosti na rostlinném druhu, většinou je však regulována dostupností jejich substrátů (Reggiani *et al.* 1988; Liao a Lin 2001). Ve stresových podmínkách se také mění forma dusíku uvnitř rostlinných pletiv. Za normálních podmínek převažující nitrátové (NO_2^-) a nitritové ionty (NO_3^-) jsou redukovány na NO enzymatickou nebo neenzymatickou cestou. Při kyselém pH vzniká NO neenzymatickou cestou za účasti karotenoidů, ale je také produkován enzymy cytozolickou nitrátreduktasou (cNR) (Rockel *et al.* 2002) a na plazmatickou membránu vázanou nitrit:NO reduktasou (NI-NOR) (Stohr *et al.* 2001). Se zvýšenou akumulací NO se pak zrychluje odumírání kořenových buněk

v hypoxických podmínkách. NO byl také identifikován jako jeden z možných prvotních signálů při záplavovém stresu (Dordas *et al.* 2003; Igamberdiev a Hill 2004). U rostlin se známky nedostatku N projevují chlorózou (ztrátou pigmentů) a urychlením procesu senescence listů. Dochází také k přesunu N z vývojově starších listů do mladších (Thought a Drew 1980). U kukuřice se tyto symptomy projeví po 2-3 dnech od počátku zaplavení půdy (Singh a Ghildyal 1980). I u pšenice (Labanauskas *et al.* 1975), ječmene (Drew a Sisworo 1997), hrachu (Jackson 1979) a bavlny (Lety *et al.* 1961) byl zaznamenán snížený obsah N v pletivech. Naopak u druhů tolerantních k hypoxickým podmínkám, jako je rýže, některé krytosemenné dřeviny a jehličnany, stoupá při zaplavení obsah N v pletivech, což je umožněno schopností těchto druhů přizpůsobit svou morfologii nadměrnému zaplavení (např. tvorba adventivních kořenů u povrchu půdy) (Hook *et al.* 1983).

Výrazně je ovlivněn i obsah **fosforu (P)** v rostlinných pletivech. Po zaplavení dobře provzdušněných půd s dostatkem P bylo dokumentováno snížení obsahu P u netolerantních rostlin jako kukuřice (Shapiro *et al.* 1956), pšenice (Trought a Drew 1980) a slunečnice (Lety *et al.* 1961). To je zřejmě způsobeno inhibicí příjmu P během anaerobiozy (Drew a Lynch 1986). Další příčinou může být změna Eh, která vyvolává redukci Fe^{3+} na Fe^{2+} a ten se pak váže do půdních komplexů namísto P. P je následně uvolňován ve formě pro rostlinu nedostupných oxidů (Pezeshki 2001). Naopak u půd, které jsou za normálních podmínek chudé na P, způsobuje zaplavení jeho vyvázání z nerozpustných sloučenin a jeho zpřístupnění pro rostliny (Ponnamperuma 1972), což vede ke zvýšení jeho příjmu (Dewit a Francis 1972). Zvýšený příjem P byl zjištěn u tolerantních druhů jako je hrách (Jackson 1979), *Celtis Laevigata* (Hosner a Leaf 1962), některé krytosemenné dřeviny (Hosner a Leaf 1962) a rýže (Karim a Alam 1967).

Pokles hladiny **draslíku (K)** po zaplavení byl pozorován u ječmene (Leyshon a Sheard 1974), pšenice (Trought a Drew 1980) a kukuřice (Lal a Taylor 1970). Snížení hladiny K v rostlinných pletivech zřejmě souvisí s omezenou schopností kořenů K přijímat (Hammond *et al.* 1955; Singh a Ghildyal 1980; Trought a Drew 1980). Nicméně jako u ostatních živin je i příjem K v zaplavené půdě závislý na její kvalitě. Pokud se jedná o půdu s vysokým obsahem organických látek a nízkou výměnnou kapacitou iontů, pak se hladina K v rostlinách během anaerobie může i zvyšovat (Jones a Etherington 1970).

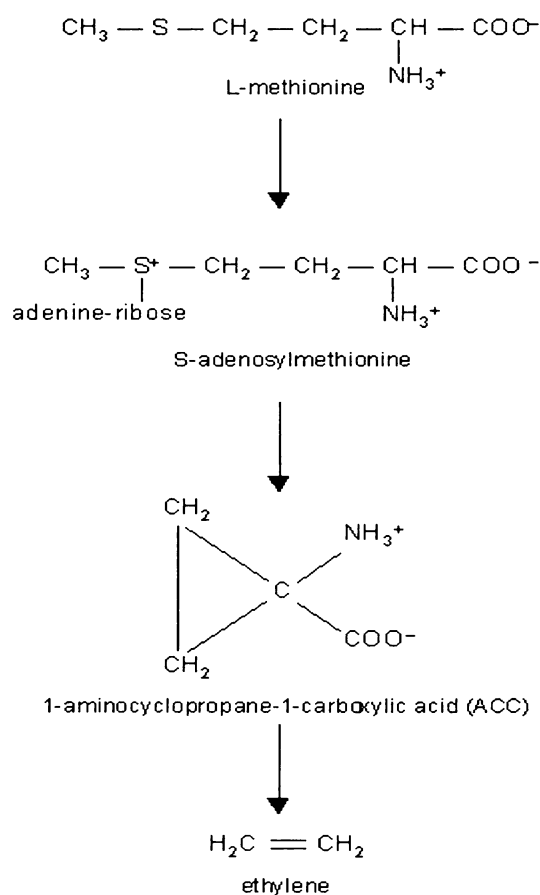
Při anaerobních podmínkách dochází také k redukci síranů na sulfan, který je pro rostliny méně dostupný, a v důsledku toho pak trpí nedostatkem **síry (S)** (Blair *et al.* 1979). V rostlinách se snižuje i obsah dalších živin jako je **bor (B)**, **zinek (Zn)**, **měď (Cu)**, jejichž nedostatek (hlavně B) může způsobit sterilitu květů (Somrith 1988; Kalidas 1992; Subedi

1992). Dále se uvolňují **železnaté (Fe^{2+}), manganaté (Mn^{2+}) a hlinité (Al^{3+}) ionty** ze svých oxidovanějších nerozpustných forem, a ty jsou ve vyšších koncentracích toxické (Ponnamperuma 1972; Probert a Keating 2000). Zvýšená hladina těchto látek byla zjištěna u pšenice (Trought a Drew 1980), bavlny (Lety *et al.* 1961), kukuřice (Lal a Taylor 1970) a některých dalších netolerantních rostlin (Hosner a Leaf 1962). Naproti tomu u ječmene nebyly pozorovány výrazné změny (Leyshon a Sheard 1974) a u avokáda byl dokonce zjištěn mírný pokles koncentrace těchto iontů v pletivech (Slowik *et al.* 1979). Názory na akumulaci **sodných iontů (Na^+)** během zaplavení jsou nejednotné. Obecně však dochází k jeho hromadění v pletivech u kukuřice (West a Taylor 1980), bavlníku (Lety *et al.* 1961), avokáda (Slowik *et al.* 1979) a pomerančovníku (Labanauskas *et al.* 1972).

Anaerobii je ovlivněna také koncentrace **vápenatých iontů (Ca^{2+})** v pletivech. Nadměrné zaplavení způsobuje mírný pokles hladiny Ca^{2+} (Shapiro *et al.* 1956; Hook *et al.* 1983; Cauto *et al.* 1983; Rathore *et al.* 1997). Významná je však také signalizační úloha Ca^{2+} během zaplavení. V buňkách se při anaerobii uvolňuje Ca^{2+} z mitochondrií aktivně (později asi i pasivně kvůli ztrátě membránového potenciálu) společně s dalšími molekulami jako je např. cytochrom *c*. Hladina uvolněného Ca^{2+} a cytochromu *c* zřejmě zprostředkovává signál o nízkém stavu O_2 v buňce a Ca^{2+} se dále účastní mobilizace iontů z vnitrobuněčných zásob (He *et al.* 1996; Chandler *et al.* 1998, 2000; Chandler a Schumaker 2000; Schumaker 2003). Změny koncentrace Ca^{2+} v cytozolu vedou také ke zvýšené syntéze ethylénu a následnému vzniku aerenchymu (He *et al.* 1996), předcházejí indukci alkohol dehydrogenasy (ADH) u kukuřice a *Arabidopsis thaliana* (Chung a Ferl 1999; Subbaiah *et al.* 1994) a navozují i změny jaderného Ca^{2+} (Subbaiah a Sachs 2003). Při nedostatku energie a sníženém pH mohou být aktivovány kalmodulin dependentní (na koncentraci Ca^{2+} závislé) enzymy (malátdehydrogenasa (MD), glutamát dekarboxylasa (GAD)), které spotřebovávají H^+ , čímž přispívají ke stabilizaci pH cytozolu a zabraňují deregulaci rostlinného metabolismu (viz výše) (Shelp *et al.* 1999; Subbaiah a Sachs 2003). Zvýšení hladiny Ca^{2+} v buňkách aktivuje GAD a syntézu α -aminobutyrové kyseliny (GABA) (Baum *et al.* 1993; Snedden *et al.* 1996). U kukuřice je GAD kódována třemi geny, z nichž jeden je indukovatelný anoxií v kořenech zatímco ostatní jsou reprimovány (Subbaiah a Sachs 2003). Zvýšení koncentrace cytozolického Ca^{2+} také předchází produkci H_2O_2 kalcium-dependentní NADPH oxidasou, která se zřejmě dále podílí na signalizaci při snížení tlaku O_2 (Keller *et al.* 1998; Sagi a Fluhr 2001).

2.2.2. Produkce a účinky fytohormonů při nedostatku kyslíku

Reakce na zatopení se účastní mnoho rostlinných hormonů, z nichž velmi významnou úlohu má *ethylén*. Ethylén obecně způsobuje inhibici dlouhivého růstu a stimuluje růst radiální, je také významným hormonem účastnícím se zrání plodů, senescence a opadu listů. Při hypoxii se ethylén hromadí převážně v kořenech, neboť zde je zamezeno jeho difúzi do okolí (Rijnders *et al.* 1997) a zvyšuje se také jeho syntéza (Obr.1) (Olson *et al.* 1995). Signálem pro zvýšení syntézy ethylénu je nízký parciální tlak O₂ uvnitř pletiv, který zvyšuje aktivitu syntasy 1-aminocyklopropan-1-karboxylové kyseliny (ACC-syntasy, syntetizuje prekurzor ethylenu ACC) a to hlavně v kořenech (Olson *et al.* 1995). Vzniklý ACC je transportován do prýtu, kde je při hypoxii (ne anoxii) umožněna jeho oxidace na ethylén ACC-oxidase (Obr.1) (Peng *et al.* 2001). Bylo zjištěno, že v hypoxickém prostředí také stoupá citlivost buněk k ethylénu (Rijnders *et al.* 1997). Ethylén interaguje s dalšími rostlinnými hormony a při akumulaci CO₂ a limitovaném obsahu O₂ vyvolává prodloužení prýtu, zakřivení listů, programovanou buněčnou smrt (PCD) a tvorbu adventivních kořenů (Overmyer *et al.* 2000; Liao a Lin 2003). Ethylen také iniciuje tvorbu rozkladných enzymů, jako jsou různé celulasy (He *et al.* 1994, 1996) a pro hypoxický stres typickou xyloglukan endotransglykosylasu (Xet1) (Saab a Sachs 1995, 1996), které se společně podílejí na degradaci buněčných stěn. Dochází tak k tvorbě intercelulár v parenchymu, vzniká aerenchym a to nejvíce v kortexu kořenů a stonku. Aerenchym vytváří strukturu propojených kanálů, kterými do kořenů proudí kyslík z nadzemních částí (Voesenek *et al.* 2003). Časná tvorba adventivního kořenového systému a aerenchymu jsou významnými znaky tolerantních genotypů kukuřice a pšenice (Huang *et al.* 1994; Boru 1996; Zaidi *et al.* 2002). Vznik aerenchymu provází i odpověď rostlin při nedostatku N a P (Subbaiah a Sachs 2003).

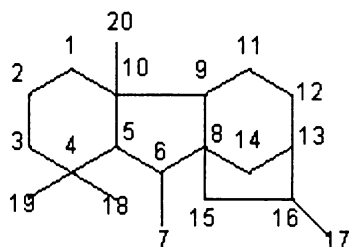


Obr.1. Biosyntéza ethylénu

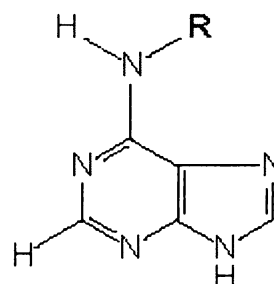
Dalším významným fytohormonem ovlivňujícím růst a vývoj rostlin během zaplavení je **kyselina abscisová** (ABA, Obr. 5). ABA patří mezi seskviterpeny a je syntetizována z karotenoidových prekurzorů v kořenech i listech. ABA obecně zpomaluje dlouhivý růst, stimuluje opad listů a senescenci, působí na svěrací buňky průduchů a způsobuje jejich zavírání a podílí se i na regulaci vodního režimu rostlin. Bylo zjištěno, že u některých rostlin koncentrace ABA během zaplavení stoupá (např. u rajčete a kukuřice), a to hlavně v kořenech, (Jackson 1985; Else *et al.* 1995), odkud je transportována do listů, kde způsobuje zavírání stomat (Hartung 1983; Hornberg a Weiler 1984). Také exogenní aplikace ABA zvyšuje toleranci kukuřice k zaplavení (Hwang a Van Toai 1991; Ellis *et al.* 1999). Ale naproti tomu bylo prokázáno, že u *Arabidopsis thaliana* se koncentrace ABA v hypoxických podmínkách nemění (de Bruxelles *et al.* 1996) a u rýže dokonce dochází k jejímu poklesu (Azuma *et al.* 1995).

Na komplexní reakci při zaplavení se podílejí i **cytokininy** (CK, Obr. 2). Hlavními účinky CK jsou stimulace buněčného dělení, regenerace orgánů, zpomalení senescence a zvýšení kapacity sinku. CK tedy působí v reakci na stres jako antagonist ABA.

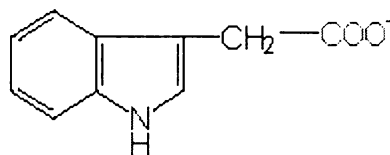
Obsah CK v pletivech se vlivem snížení tlaku O₂ při hypoxii na místě jejich syntézy (špičky kořenů) snižuje (Smith *et al.* 1990). Pokles hladiny CK uvnitř rostlinných pletiv je zřejmě způsoben jejich rozkladem na inaktivní produkty (adenin a jeho deriváty) enzymem cytokinin oxidasou/dehydrogenasou (CKX) (Hare *et al.* 1997). Detaily působení CK během stresových podmínek zatím nejsou známy. Nejednotné jsou i názory na roli **auxinu** a **kyseliny gibberelové** (GA, Obr. 3) během reakce na zaplavení (Nan *et al.* 2002; Peeters *et al.* 2002). Někteří autoři se domnívají, že rostlinné hormony při stresových podmínkách vzájemně interagují (Rijnders *et al.* 1997; Rademacher 2000; Voeselek *et al.* 2003; Cox *et al.* 2004). Je popsáno, že působení ABA je spojeno s jejím vlivem na další rostlinné hormony, hlavně GA a ethylén. ABA je antagonistou GA, tzn. zpomaluje dlouhivý růst (Rademacher, 2000). GA ale také zároveň interaguje s ethylénem a její přítomnost je nutná pro jeho následné účinky, například zvýšení citlivosti buněk k ethylénu (Rijnders *et al.* 1997). Při záplavovém stresu bylo také popsáno synergické působení kyseliny indolyl-3-octové (IAA, auxin, Obr. 4) s ethylénem a GA, které vyvolalo tvorbu adventivních kořenů, prodlužování řapíku a hyponastické zakřivení listů (Rijnders *et al.* 1997; Voeselek *et al.* 2003; Cox *et al.* 2004).



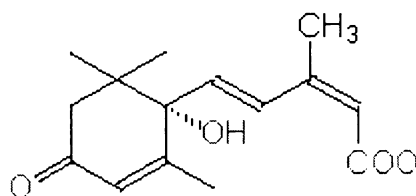
Obr. 2. Základní struktura CK



Obr. 3. Základní struktura GA



Obr. 4. Struktura IAA



Obr. 5. Struktura ABA

2.2.3. Ovlivnění rostlinného metabolismu

Při poklesu množství kyslíku v rostlinných pletivech pod 2 až 4% dochází k inhibici aerobních respiračních procesů. Nejprve je zpomalena až zastavena funkce **elektronového transportního řetězce** v mitochondriích a hromadící se NADH inhibuje činnost citrátového cyklu. Naproti tomu není ovlivněna glykolýza a její produkt, pyruvát, je pak dále zpracováván anaerobně **fermentací**. U rostlin je nejběžnější ethanolová, dále pak laktátová, malátová nebo alaninová fermentace, jejíž produkty mají autotoxický efekt. Převažující způsob fermentace je pravděpodobně závislý na pH cytosolu, neboť enzymy účastníci se různých typů fermentace mají rozdílná optima pH (Davies 1986; Drew 1997; Tadege *et al.* 1999; Geigenberger 2003; Greenway a Gibbs 2003). Fermentační procesy využívají přebytečný NADH, takže reakce může probíhat tak dlouho, dokud je k dispozici substrát pro glykolýzu. V důsledku přechodu na anaerobní cestu disimilace vzniká podstatně méně ATP (2 ATP) oproti aerobním procesům (36 ATP), čímž se značně urychluje vyčerpání zásob. Nejvýznamnější ethanolová fermentace je zřejmě upřednostňována také proto, že alkohol může volně difundovat z buněk do okolí, kdežto odstraňování jiných produktů fermentace je energeticky náročné (Roberts *et al.* 1984b). Ethanolového kvašení se účastní dva enzymy: pyruvátdekarboxylasa (PDC) a alkohol dehydrogenasa (ADH). PDC přetváří pyruvát na acetaldehyd, ze kterého následně vzniká činností ADH ethanol. Aktivita PDC je mnohokrát nižší, než aktivita ADH, což by mohlo znamenat, že limitujícím faktorem produkce ethanolu je PDC spíše než ADH (Waters *et al.* 1991; Su a Lin 1996). Samotný ethanol do jisté míry inhibuje ATP-syntasu (Andrews a Pomeroy 1989), čímž je zpomalen export H^- do stromatu chloroplastů, a tak přispívá k acidifikaci lumen tylakoidů (Sonoike 1998). Více toxický je však acetaldehyd (Perata a Alpi 1991; Kundu *et al.* 1993), jehož přestavbou acetaldehydoxidasou vznikají nebezpečné superoxydy (Fridovich 1989). Acetaldehyd může být také dále metabolizován na acetát a acetylCoA (Cossins 1978).

Bylo navrženo několik hypotéz, jak je u rostlin dosaženo tolerance k anaerobním způsobům disimilace a jejím produktům. **Krátkodobou toleranci** k stresu zaplavením popisuje hypotéza stavu pH navržená Daviesem (1980). Podle této hypotézy k hromadění ethanolu dochází častěji než k hromadění laktátu, protože laktát acidifikuje cytoplazmu podstatně více. Hromadění laktátu bylo zaznamenáno převážně u hypoxie sensitivních rostlin jako je pšenice, ječmen a kukuřice (Davies 1980; Roberts *et al.* 1984a; Menegus *et al.* 1989, 1991). Časnou reakcí na přemokření může být kromě produkce ethanolu a laktátu i syntéza alaninu. Laktát i alanin jsou však vytvářeny vždy zároveň s ethanolem. Alanin vzniká zřejmě jako obrana

proti nadměrnému hromadění NH_4^+ (Smith *et al.* 1988) a funguje také i jako zásobárna redukovaného dusíku (Menegus *et al.* 1984). Produkce laktátu může být jedním z prvních mechanismů účastnících se adaptace na hypoxii a může přispívat i k zvýšení dlouhodobé resistance (Hoffmann *et al.* 1986; Su a Lin 1996), protože laktát acidifikuje cytoplazmu a tím přispívá k aktivaci enzymů účastnících se fermentace s nižším optimem pH (ADH) (Su a Lin 1996). **Dlouhodobé tolerance** je dosaženo minimalizací produkce ethanolu a jeho přesměrováním ve prospěch produkce malátu na jehož syntéze se podílejí enzymy fosfoenolpyruvátkarboxylasa a malátdehydrogenasa. Naopak funkce NADP-malátového enzymu (NADP-ME) musí být potlačena, aby nedošlo k jeho dekarboxylaci (Crawford 1967; McManmon a Crawford 1971). Su a Lin (1996) však prokázali, že funkce NADP-ME během anaerobie potlačena není a malát je dekarboxilován na pyruvát, který se spíše než malát během zaplavení hromadí. Pyruvát pak může vstupovat do dalších metabolických drah za vzniku produktů, které méně snižují pH cytoplazmy (Roberts *et al.* 1992; Germain *et al.* 1997; Edwards *et al.* 1998). Dle jiné hypotézy se působením hypoxie hromadí spíše sukcinát, který může následně vstupovat do částečného cyklu trikarboxylových kyselin a tím se také podílet na regeneraci NAD^+ za vzniku ATP (Vanlerberghe *et al.* 1990). U tolerantních rostlin se pak při hypoxii pH snižuje ze 7,5 jen na přibližně 7,1 (Roberts *et al.* 1984a, b; Webster *et al.* 1991).

U tolerantních genotypů kukuřice se exponenciálně zvyšuje aktivita ADH, vrcholí 3.-4. den od počátku zaplavení a zůstává vysoce aktivní po dobu trvání stresových podmínek. Naproti tomu u citlivých genotypů stoupá aktivita ADH jen minimálně (Zaidi *et al.* 2003). Sachs (1993) popsal zvýšení ADH aktivity u kukuřice již po 90-ti minutách trvání anoxie, která po 5-ti hodinách dosahuje svého vrcholu. Nicméně ADH aktivita je také v pozitivní korelaci s mírou poškození rostliny a druhy s vyšší aktivitou ADH jsou všeobecně méně tolerantní vůči hypoxii/anoxii (Liao and Lin 1995).

Anaerobní způsob metabolismu se z rostlinných organel nejvíce odráží na **ultrastrukturu mitochondrií**, ve kterých během několika hodin anaerobie dochází k nevratným změnám (Vartapetain *et al.* 2003). Mitochondrie jsou za standardních podmínek oválné s několika krystami a elektrondenzní matrix (při pozorování elektronovým mikroskopem pohlcuje méně elektronů), zatímco při anaerobii mitochondrie bobtnají, počet kryst se snižuje a matrix se stává méně elektrondenzní (Vartapetain *et al.* 2003). Přesto není kapacita oxidační fosforylace během několika hodin anoxie (5-6 h) ještě výrazně omezena a po návratu do aerobních podmínek se ihned zvyšuje hladina ATP a obnovuje se poměr ATP/ADP (Andreev *et al.* 1991). Přestavby ultrastruktury se liší u tolerantních (rýže) a

citlivých (*Cucurbita pepo*) druhů rostlin (Vartapetain *et al.* 1978). Komplexní studium ultrastruktury a metabolismu kořenových pletiv kořenů však dokládají, že tolerance rostlin k anaerobii je spíše výsledkem jejich schopnosti přivádět kyslík k buňkám trpícím jeho nedostatkem, než rozdílným metabolismu buněk, či rozdíly v přestavbě mitochondrií (Vartapetain *et al.* 1970, 1974, 1978; Armstrong 1978, 1979; Smith a Ap Rees 1979; Davies 1980; Armstrong *et al.* 1994)

Ačkoliv zelené části rostliny nejsou vystaveny nedostatku kyslíku přímo, reagují na změnu přísunu kyslíku kořenovému systému. Hypoxie způsobená nadměrným zaplavením negativně ovlivňuje především **účinnost fotosyntézy** (Ahmed *et al.* 2002; Ashraf a Rehman 1999; Meyer 1987; Talbot 1987). Jednou z hlavních příčin poklesu účinnosti fotosyntézy je **snížení vodivosti průduchů**, což má za následek snížení difuze CO₂ z listů a změnu procesů s tím souvisejících (Jackson a Drew 1984; Zang a Davies 1987; Jackson 1991; Liao a Lin 1994; Zaidi *et al.* 2003). U netolerantních rostlin se výměna plynů dramaticky snižuje kvůli zavírání průduchů v důsledku zvyšování vodního potenciálu. Vodivost průduchů je tedy v korelaci s množstvím vyměněného CO₂ mezi vnitřním a vnějším prostředím pletiv (Smith a Ager 1988; Vu a Yelenovski 1991). Po uzavření stomat dochází k akumulaci CO₂ v pletivech, neboť při zaplavení stoupá respirace (Liao a Lin 1994) oproti fotosyntetickým procesům (Davies a Flore 1986a, 1986b).

Při záplavovém stresu také dochází ke **zpomalení transportu produktů fotosyntézy** (Saglio *et al.* 1985). U zaplavených rostlin se liší metabolismus kořene a prýtu, což souvisí s dostupností kyslíku k jednotlivým částem rostliny. V kořenech pak převažuje anaerobní způsob získávání energie, zatímco u zelených částí rostlin přetrvává aerobní disimilace. Přežití rostlin pak závisí na množství mobilizovatelného škrobu v asimilujících částech rostlin a jeho transportu do kořenů (Jackson a Drew 1984; Liao a Lin 2001), a to se může lišit i u jednotlivých genotypů. Např. u tolerantních genotypů kukuřice oproti genotypům citlivým dochází již při normoxii (parciální tlak kyslíku v prostředí umožňuje průběh všech aerobních procesů) ke zvýšené akumulaci škrobu ve stonku (Zaidi *et al.* 2002). Škrob může být přeměněn na různé rozpustné sacharidy, které mohou být transportovány do kořenů, kde jsou fermentovány. Avšak při zaplavení je u mnoha rostlinných druhů znemožněna mobilizace a transport škrobu. Jednou z hypotéz je, že sacharidy ve floemu interagují s dalšími látkami a to brání jejich následnému transportu (Saglio *et al.* 1985). Důsledkem je akumulace škrobu v chloroplastech listů a jeho nedostatek v kořenech (Wample a Davis 1983; Liao a Lin 1994). Ovšem i možnost fermentace transportovaných sacharidů se může lišit. Mezi jednotlivými

druhy totiž existují rozdíly v indukci α -amylasy, která štěpí škrob na glukosu, a tak ji zpřístupní pro procesy fermentace. Kořenová glukóza může být fermentována např. u rýže, kde je aktivita α -amylasy během anaerobie zvýšená (Guglielminetti *et al.* 1995), avšak např. u pšenice aktivována není, tudíž je mobilizace škrobu a možnost fermentace omezená (Perrata *et al.* 1992; Liao a Lin 2001).

Asimilační procesy jsou také ovlivněny **redukcí aktivity** některých **fotosyntetických enzymů**. Klíčovým enzymem podléhajícím změnám během hypoxie je ribulosa-bisfosfátcarboxylasa/oxidasa (RuBisCO) (Bradford 1982; Liao a Lin 1994). Se zvyšující se vnitřní koncentrací CO_2 (C_i) aktivita RubisCO obecně klesá (von Caemmerer a Edmondson 1986; Sage *et al.* 1988, 1990). Aktivita tohoto enzymu závisí na množství CO_2 na něm vázaného (karbamylace) (Miziorko a Lorimer 1983). Míra karbamylace RuBisCO je regulována C_i a světlem (Sage *et al.* 1990). Se zvýšením koncentrace C_i klesá množství využitelného ribulosa-1,5-bisfosfátu (RuBP) a naopak stoupá množství fosfoglycerátu (PGA) (Badger *et al.* 1984; von Caemmerer a Edmondson 1986; Sage *et al.* 1988). Pokles RuBP je zřejmě způsoben jeho zvýšenou spotřebou RubisCO, což dále vede k inaktivaci tohoto enzymu a porušení rovnováhy mezi spotřebou a regenerací RuPB (Sage *et al.* 1990; Liao a Lin 1994). Karbamylovaný/dekarbamylovaný (aktivní/neaktivní) stav RubisCO závisí na vzniku komplexu: $\text{RubisCO-CO}_2\text{-Mg}^{2+}$, jehož stabilita je závislá na pH (Lorimer *et al.* 1976; Bahr a Jensen 1978). Zvýšená produkce PGA ve stromatu chloroplastů v důsledku zvyšující se koncentrace CO_2 při zaplavení způsobí snížení pH, stabilizaci dekarbamylované formy RubisCO a snížení jeho aktivity (Lorimer *et al.* 1976).

Stres způsobený nadměrným zaplavením také vede ke snížení **obsahu fotosyntetických pigmentů** (převážně chlorofylu) a **zmenšení listové plochy**, což souvisí s aktivací procesů předcházejících senescenci (Sudakov a Petrushenko 1982; Dong *et al.* 1983; Dong a Yu 1984; Votrubová *et al.* 1990, 1992; Rathore *et al.* 1998). Při hypoxickém stresu klesá obsah chlorofylu *a* i *b* (Maslova a Popova 1993; Keiper *et al.* 1998; Ashraf a Rehman 1999; Zaidi *et al.* 2003) a při dlouhodobém trvání stresu dochází až k chlorózi listů (viditelná ztráta pigmentů) (Sparrow a Uren 1987; van Ginkel *et al.* 1992). V některých pracech je uvedeno, že poměr chlorofylů během anaerobie se nemění (Ashraf a Rehman 1999), ale v jiných je popsán opačný fenomén (Zaidi *et al.* 2003). U citlivých genotypů pšenice a ječmene dochází ke ztrátě pigmentů, následné chlorózi (van Ginkel *et al.* 1992; Zhou *et al.* 2004) a senescenci listů (Hamachi *et al.* 1989) dříve než u genotypů tolerantních. Ztráta pigmentů však může být chápána i jako adaptivní vlastnost omezující poškození PS 2 snížením možnosti fotoinhibice (Maslova a Popova 1993; Keiper *et al.* 1998).

K výraznému poškození fotosyntetického aparátu dochází vlivem **fotoinhibičních efektů**. Tyto efekty souvisejí se zvýšenou citlivostí stresovaných rostlin k účinkům slunečního záření (viz kap. 2.3.).

2.2.4. Trvalá přizpůsobení k nadměrnému obsahu vody v půdě

Mnoho rostlin je trvale velmi dobře adaptováno na nadměrné zaplavení. O tom svědčí i fakt, že jedny z největších hodnot produkce biomasy připadají právě na mokřady (rákosiny, rýžoviště). Základem úspěšné adaptace je zajištění přívodu kyslíku ke kořenům, což umožňuje bohatý systém intercelulár v kořenovém kortexu (u mokřadních rostlin tvoří až 60% celkového objemu pletiv stonků a kořenů) (Armstrong 1979; Armstrong *et al.* 1996; Jackson a Armstrong 1999; Soukup *et al.* 1999, 2002). Transport plynů zde probíhá nejen difúzí, ale i rychlým tzv. hromadným tokem v důsledku rozdílných tlaků vyvolaných kolísáním teploty nadzemní části rostlin. U mnoha rostlin adaptovaných na hypoxii se také vyskytuje silně lignifikovaná exodermis, která omezuje difúzi O₂ z kořenů do okolí (Morita a Abe 1999; Soukup *et al.* 2002). Dalšími změnami probíhajícími v kořenovém systému je tvorba nodálních kořenů (Rathore *et al.* 1996; Zaidi a Singh 2001). U nodálních kořenů je vyvinut aerenchym, který přivádí k rostlinným pletivům kyslík, živiny a vodu, když je funkce primárních kořenů porušena (Rathore *et al.* 1996). Kyslík transportovaný ke kořenům je využit nejen v procesech respirace, ale i k detoxifikaci rhizosféry, hlavně k oxidaci Mn²⁺ a Fe²⁺ na nerozpustné a méně škodlivé sloučeniny (Ponnamperuma 1984; Gambrel *et al.* 1991). Takto uvolněný kyslík z kořenů mohou využít i nitrifikující bakterie k přeměně NH⁴⁺ na NO³⁻, a tak ho zpřístupnit pro rostlinu (Blom *et al.* 1994). V aerenchymu dochází také k difúzi přebytečného CO₂, ethylenu a organických kyselin do okolní vody (Neue *et al.* 1990). Vysoce účinná adaptace mokřadních rostlin je i opačný geotropizmus kořenů a převažující tvorba kořenů povrchových (Justin a Armstrong 1987).

K trvalému přizpůsobení rostlin patří nejen dokonalé řízení rychlosti glykolýzy, ale i velmi účinné odstraňování toxických látek vzniklých fermentací (Crawford 1967; Neue *et al.* 1990). Někdy může převážet syntéza méně toxických produktů (alanin, malát, sukcinát) (Crawford 1967; Vanlerberghe *et al.* 1990; Su a Lin 1996).

Přirozené vegetace rostoucí na velmi vlhkém podkladu se vyznačují menší listovou plochou a změnou v zavírání stomat, což rostlinám dovoluje lépe odolávat vodnímu deficitu. Naproti tomu rostliny nepřizpůsobené těmto podmínkám mohou dosahovat nadměrných hodnot pokryvnosti listoví (LAI, velikost plochy listů vztažená na jednotku půdy)

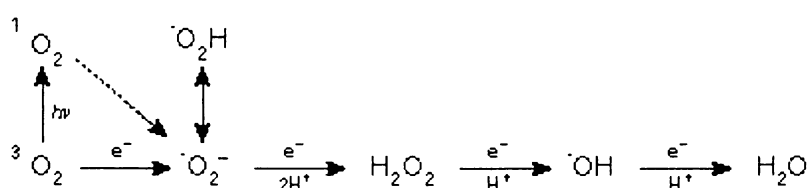
a může u nich přetrvávat velmi silný vodní deficit.

2.3. Fotooxidační stres

2.3.1. Vznik a působení aktivních forem kyslíku (ROS)

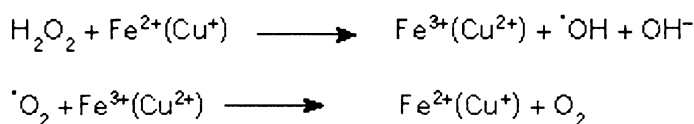
Při působení celé řady stresových faktorů (znečištění ovzduší, herbicidy, těžké kovy, vodní stres, teplotní stres, mechanické poškození pletiv, UV záření aj.), vznikají nebezpečné **aktivní formy kyslíku** v množstvích, které mohou poškozovat až zabíjet buňky v případě, že rostlina není schopna zabránit jejich silným oxidačním účinkům. Někteří autoři se přiklánějí k názoru, že při stresu zaplavením není poškození buněčných struktur fotooxidativním stresem natolik závažné (Ahmed *et al.* 2002), většina však přikládá negativním účinkům působení fotooxidačního stresu během zaplavení významnou úlohu (Kalashnikov 1994; Blokhina *et al.* 2001; Yordanova *et al.* 2003).

ROS vznikají přirozeně při mnoha biochemických redoxních reakcích při neúplné redukci O_2 , nebo oxidaci vody v řetězcích přenosu elektronů v mitochondriích či chloroplastech. Molekulární kyslík totiž slouží i jako alternativní příjemce přebytečné energie (Foyer *et al.*; 1994). Vytváří se tak především: 1O_2 (singletový kyslík), který dále reaguje za vzniku $OH\cdot$ (hydroxylový radikál), $O_2^{\cdot-}$ (superoxidový aniont) $O_2H\cdot$ (perhydroxylový radikál) a H_2O_2 (peroxid vodíku) (Obr. 6). Výsledkem je, že k primárnímu působení stresového faktoru se přidává i stres fotooxidační s následnými fotoinhibičními účinky.

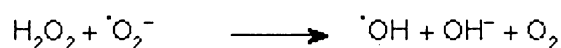


Obr. 6. Vznik ROS

K oxidativnímu stresu jsou nejnáchylnější fotosyntetizující buňky, které produkují i spotřebovávají kyslík. Nejnebezpečnější ROS pro buňku představuje $OH\cdot$, který vzniká z H_2O_2 **Fentonovou reakcí**:



nebo z H_2O_2 **Haber-Weissovou reakcí** (Navari-Izzo a Rasci 1999; Minkov *et al.* 1999):

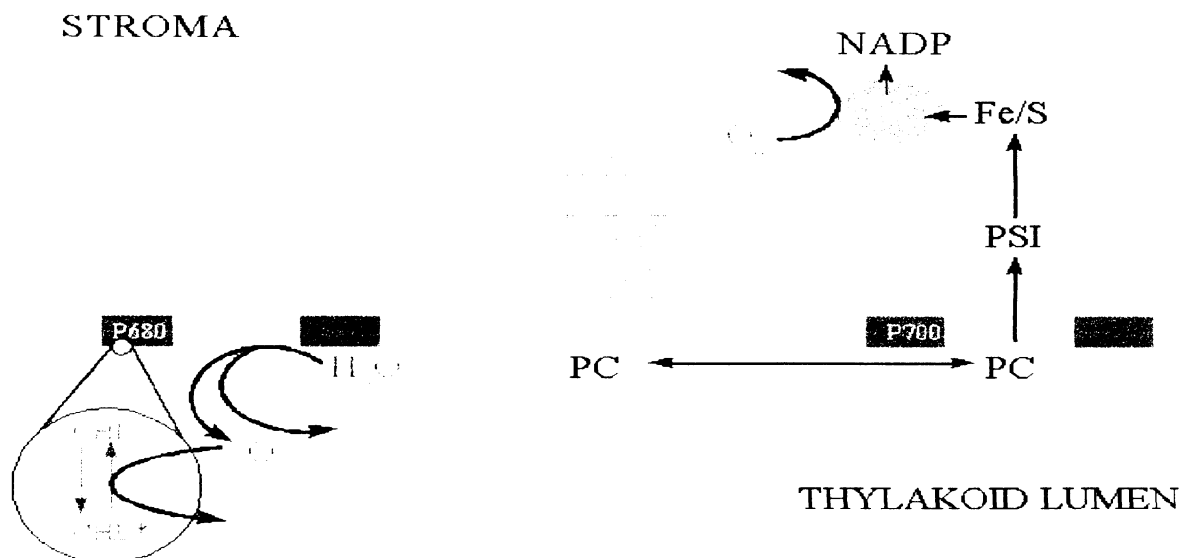


Nejvíce ROS však vzniká při tzv. neasimilačním toku elektronů přímou redukcí kyslíku v **PS 1** (Obr. 7), která je všeobecně upřednostňována, pokud není dostatek NADP (např. nedostačující oxidace NADPH v Calvinově cyklu) (Elstner 1991). Za těchto podmínek dochází k rekombinaci nábojů P700^+ s elektronovými akceptory v reakčním centru (RC) tohoto komplexu za vzniku tripletů $^3\text{P700}^+$, kde po reakci s O_2 vzniká $^1\text{O}_2$. Častější je ale produkce O_2^- v PS 1 při tzv. Mehlerově reakci. Ta probíhá při zvýšení redukčního stavu ferredoxinu a/nebo [Fe-S] center F_A , F_B , F_X v RC PS 1 které se následně oxidují za vzniku O_2^- (Sonoike 1998; Minkov *et al.* 1999).

Fotoredukce kyslíku je možná i v **PS 2** (Obr. 7), kde během Hillovy reakce může dojít k redukcí O_2 elektrony určenými k redukcí PS 2 (Elstner 1991; He *et al.* 1995; Boyer a Younis 1982; Dua *et al.* 1994). Snížení pH v lumen tylakoidů vyvolané inaktivací ATP-syntasy při anaerobii (viz výše) způsobuje uvolnění Ca^{2+} a Mn^{2+} z komplexu uvolňujícího kyslík (OEC) a pozastavení tvorby O_2 . Zároveň však inaktivace OEC vede k prodloužení životnosti P680^- a primárního donoru elektronů TyrZ^- , což jsou velmi silné oxidanty, které poškozují lipidy, fotosyntetické pigmenty a proteiny v blízkosti PS 2 (Wise 1995; Minkov *et al.* 1999).

Fotooxidativním stresem bývá nejvíce zasažen protein D_1 PS 2, který je poté degradován a poškozený PS 2 se přesouvá v tylakoidní membráně do nestěsnaných tylakoidů, kde je nově syntetizovaný D_1 ko-translačně umístěn do PS 2. Opravený PS 2 poté migruje zpět do stěsnaných tylakoidních membrán (Schnettger *et al.* 1994). Syntéza D_1 je limitujícím faktorem poškození PS 2 při fotoinhibici (Rintamäki *et al.* 1994) a představuje také jeho obranný mechanismus (Aro *et al.* 1993). Při vodním stresu byla zjištěna významnější degradace proteinu D_1 i D_2 a poškození celého PS 2 než PS 1 (Boyer a Younis 1982; Elstner 1991; Dua *et al.* 1994).

Ke vzniku ROS může docházet také přes aktivovaný chlorofyl (Obr. 7), který normálně přenáší energii na reakční centra PS. Ve stresových podmínkách však může přenést energii i na tripletní O_2 (Elstner 1991).



Obr. 7. Hlavní místa vzniku ROS v tylakoidní membráně 1) tripletní chlorofyl 2) Hillova reakce PS 2 3) předání elektronu z Ferredoxinu.

ROS vznikají i nepřímo při fotorespiraci. Fosfoglykolát vznikající v tomto procesu je transportován do peroxizomů, kde oxidací glykolátu vzniká H_2O_2 , který je za normálních podmínek odstraňován enzymem katalasou. Ve stresových podmínkách je však účinky záření katalasa degradována a unikající H_2O_2 může difundovat z peroxizomů do okolí a poškozovat tak další buněčné komponenty (Douce a Heldt 2000).

K tvorbě superoxidů a následně i H_2O_2 může docházet i v mitochondriích funkcí alternativní oxidasy (Rich a Bonner 1978) nebo při autooxidaci ubichinonu, zejména je-li transport elektronů běžnými cestami z nějakých důvodů zpomalen (Foyer *et al.* 1994).

Tvorba superoxidů byla prokázána i na membránách glyoxizomů, plazmatické membráně, endoplazmatickém retikulu a tonoplastu (Lindqvist *et al.* 1991; Foyer *et al.* 1994).

Kromě výše popsaných způsobů iniciuje tvorbu volných radikálů i zvýšený obsah SO_2 a O_3 v ovzduší, herbicidy, kovy (Zn, Cd, Cu) a přirozené toxiny (houbový cercatoxin) (Foyer *et al.* 1994).

Negativní působení ROS spočívá především v jejich silných oxidačních účincích. Jejich působením jsou poškozovány hlavně **lipidové struktury**, které podléhají peroxidaci. Zvláště náchylné jsou membránové lipidy s vysokým obsahem nenasycených mastných kyselin (Bradley and Minn 1992). Vzniklé lipidové hydroxyperoxy se mohou dále rozpadat na další produkty, z nichž některé mohou za katalýzy kovů produkovat ROS a míra oxidativního poškození se tak zvyšuje (Bradley and Minn 1992).

Poškození **proteinů** účinky ROS je způsobeno místně specifickými modifikacemi

v nich obsažených aminokyselin, jejich fragmentací, nežádoucími propojeními jednotlivých proteinů, změnami elektrického náboje a následnou zvýšenou citlivostí k proteolýze. K účinkům ROS jsou náchylné převážně aminokyseliny obsahující thiolové skupiny (Cys, Met). Při reakci ROS s Cys dochází propojení jednotlivých cysteinů disulfidickými můstky, při adici ROS na Met vznikají sulfoxidové deriváty metioninu a vzniklé produkty narušují strukturu a funkci proteinů (Farr and Kogama 1991). Např. rozpad chlorofylu, který je typickým důsledkem působení různých stresových faktorů, může být vyvolán degradací s ním asociovaných proteinů způsobenou fotooxidací (Sgherri *et al.* 1993).

ROS poškozují i **nukleové kyseliny** (NA). K porušení jsou zvláště náchylné dusíkové báze a sacharidová kostra NA. Působením ROS jsou degradovány báze (vzniká tak 8-hydroxyguanin, hydroxymethyl močovina, močovina, thymin glykol, otevírají se kruhy thyminu a adeninu), dochází ke jednovláknovým zlomům DNA a propojení DNA s proteiny (Bowler *et al.* 1992).

Aktivní formy kyslíku mají i funkci **signalizační**. Jedním z uvažovaných mechanismů přenosu signálu při nízkém tlaku kyslíku jsou právě ROS. Senzorem změny koncentrací ROS jsou pravděpodobně mitochondrie, které jsou extrémně citlivé k nedostatku O₂. Navíc jedním z míst vzniku ROS je právě dýchací řetězec. Význam ROS pro následnou signalizaci byla demonstrována na *Arabidopsis thaliana*, která v hypoxickém prostředí indukuje *Adhl* (alkohol dehydrogenasu) cestou signální dráhy zahrnující ROP GTPasu (**R**HO-like GTPase of plants), jejíž činnost je aktivována H₂O₂, který je pravděpodobně produkován NADPH-oxidaseou plazmatické membrány (Klok *et al.* 2002; Baxter-Burrell *et al.* 2002, 2003; Gu *et al.* 2004). Tak se ROS podílejí na následných změnách metabolismu a genové exprese.

Také chloroplasty mohou produkovat (viz výše), ale i likvidovat H₂O₂ a tím regulovat tepelnou disipaci při přebytku excitační energie, což je vlastně podstatou regulace transportu elektronů při fotosyntéze (Mehdy *et al.* 1996).

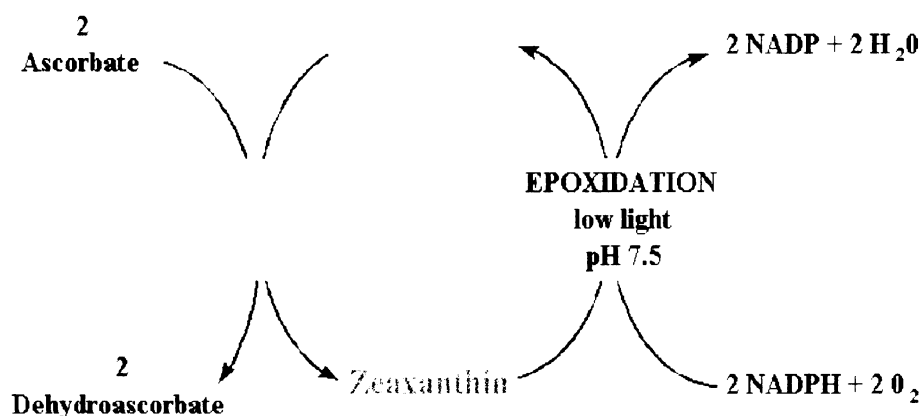
Regulovaná tvorba aktivních forem kyslíku přispívá ke zpevnění buněčné stěny a tím i k odolnosti vůči stresorům. H₂O₂ se podílí na tvorbě ligninu, vzniku pevných proteinových vazeb v buněčné stěně a zvýšení její nerozpustnosti (Gross 1980; Fry 1986; Mehdy *et al.* 1996; Hatfield *et al.* 1999). Mechanismus těchto procesů ještě není detailněji prozkoumán. ROS se ale zároveň mohou účastnit i degradace buněčných stěn. U buněk kukuřice a soji bylo prokázáno, že peroxidasami generovaný OH[•] se podílí na depolymerizaci polysacharidů buněčných stěn, která má za následek jejich rozvolňování (Chen a Schopfer 1999; Schweikert *et al.* 2000, 2002).

2.3.2. Mechanizmy potlačující negativní působení ROS

Na obranu proti ROS rostliny vyvinuly různé antioxidační systémy. Základní obranné mechanismy rostlin využívají látky různé povahy a podle toho je lze dělit na **neenzymatické** a **enzymatické**:

1) *Neenzymatické*:

Karotenoidy – Přímou deaktivují singletový kyslík a tím chrání pigment-proteinové komplexy před oxidací $^1\text{O}_2$. Samy přecházejí do tripletového excitovaného stavu, z něhož se snadno navracejí do základního stavu samovolným uvolněním tepelné energie (xantofylový cyklus) nebo reakcí s askorbátem. Xantofylový cyklus zahrnuje vzájemné přeměny zeaxantinu, anteraxantinu a violaxantinu (Obr. 8).

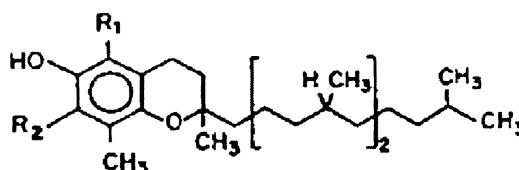


Obr. 8. Xantofylový cyklus: De-epoxidační enzym katalyzuje přeměnu violaxantinu na zeaxantin při vysoké hladině ozáření. Epoxidasa katalyzuje opačnou reakci při nízké hladině ozáření. Proto se zeaxantin hromadí při intenzitách záření přesahujících kapacitu fotosyntézy. Optimum pH de-epoxidasy je 5.1, kdežto pH optimum epoxidasy je 7.5. Redukovaný askorbát je donorem elektronů pro de-epoxidasu a NADPH poskytuje redukční ekvivalenty epoxidase. Oba enzymy tohoto cyklu jsou přítomné v lumen tylakoidu.

Při vysoké ozáření tvoří pigmenty xantofylového cyklu 30 – 50% všech karotenoidů (oproti přibližně 15% při nízké ozáření) (Wise 1995; Minkov *et al.* 1999). Karotenoidy mohou také reagovat s tripletovými chlorofyly a zeaxantin zřejmě funguje jako přímý akceptor energie ze singletových chlorofylů (Chow 1994; McKersie a Leshem 1994).

α-tokoferol (vitamin E, Obr. 9) – Je lipofilní, chrání membránové lipidy, deaktivuje

singletový kyslík. Redukovaný α -tokoferol vázaný v membráně je přednostně oxidován dříve, než může dojít k oxidačnímu poškození fotosyntetických pigmentů (McKersie a Leshem 1994; Wise 1995; Leipner et al. 1999)



Obr. 9. základní struktura α -tokoferolu

Askorbát (vitamín C) a redukovaný *glutathion (GSH)* – Askorbát reaguje s ROS přímo, ale i spolu s glutathionem zneškodňuje ROS v askorbát-glutathionovém cyklu (Obr. 10). Tento cyklus je hlavním antioxidačním mechanismem v plastidech. Askorbát se uplatňuje při deepoxidaci violaxantinu na zeaxantin v xantofylovém cyklu (Obr. 8) a jako sekundární antioxidant redukuje oxidovanou formu α -tokoferolu, čímž ho znovu aktivuje (McKersie a Leshem 1994; Noctor a Foyer 1998; Leipner *et al.* 1999). Glutathion je tripeptid (Glu-Cys-Gly), jehož antioxidační účinky umožňuje -SH skupina cysteinu (Rennenberg 1982). Oxidací se vytváří disulfidický můstek mezi cysteiny (GSSG). GSH je zdrojem redukčních ekvivalentů pro DHA, může deaktivovat ROS přímo a může také odstraňovat produkty peroxidace lipidů z membrán (Price *et al.* 1990). Změny koncentrace oxidovaného a redukovaného glutathionu GSH/GSSG odrážejí redoxní stav buňky, což je pravděpodobně signálem pro aktivaci obranných mechanismů (McKersie a Leshem 1994).

Dalšími antioxidanty jsou *fenoly*, *flavonoidy*, *polyaminy*, *cystein*, *metionin*, *cytochrom f a b₅₅₉*, *plastocyanin* a *prekurzory některých karotenoidů* (např. *lykopen*) (Wise 1995; Ortuno *et al.* 1997).

2) *Enzymatické:*

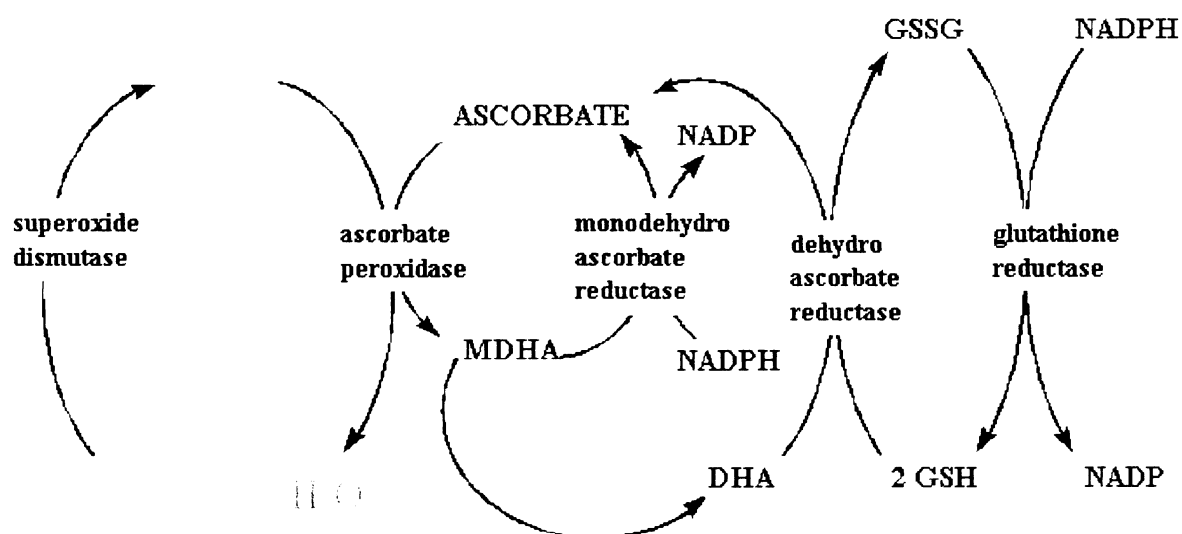
Superoxiddismutasa (SOD) – Přeměňuje superoxidové radikály na H_2O_2 . Existují 3 základní typy, lišící se přítomným kofaktorem: Cu/Zn-SOD – v cytozolu a chloroplastech, Mn-SOD v mitochondriích, Fe-SOD v chloroplastech (Wise 1995). U kukuřice byly identifikovány 4 izozymy kódované jadernými nealelickými geny: sod1, sod2, sod3 a sod4 (Baum and Scandalios 1982). Za stresových podmínek je indukována exprese různých izoform SOD s rozdílnou afinitou k substrátu (Foyer

et al. 1994; Hernandez *et al.* 1995, 1999; Fadzilla *et al.* 1997). Zdá se však, že při záplavovém stresu je SOD indukována pouze při dlouhodobém působení stresoru a to tím více, čím více je rostlina tolerantnější k zamokření (Monk *et al.* 1989).

Askorbátperoxidasa (AP; cytosolická a membránová) - Zneškodňuje H₂O₂ produkovaný SOD v chloroplastech za oxidace askorbátu na monodehydroaskorbát (MDHA) nebo přímo na dehydroaskorbát (DHA).

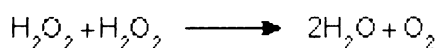
Dehydroaskorbátreduktasa (DHAR), *monodehydroaskorbát reduktasa* (MDHAR) a *glutathionreduktasa* (GR) – DHAR a MDHAR recyklují dehydroaskorbát (DHA) a monodehydroaskorbát (MDHA), který vzniká oxidací askorbátu. GR poskytuje H z NADPH pro redukci GSSG na GSH a pro následnou redukci DHA enzymem DHAR zpět na askorbát a brání tak jeho spontánní přeměně na tartarát a oxalát.

Vzájemné propojení činnosti těchto enzymů znázorňuje Halliwell-Asadův cyklus (Asada 1994) (Obr. 10):



Obr. 10. Superoxidové radikály jsou přeměněny na peroxid vodíku činností SOD. Vzniklý H₂O₂ je spotřebováván AP za vzniku H₂O a oxidaci askorbátu. Oxidovaný askorbát se regeneruje činností MDHAR, nebo DHAR reakcí s glutathionem, jehož redukovaná forma je obnovována přijmutím H z NADPH díky enzymu GR.

V peroxizomech, glyoxizomech a mitochondriích je H₂O₂ specificky deaktivován *katalasou* (CAT):



CAT je tetramerní, hem obsahující enzym. U kukuřice byly identifikovány 3 geny pro 3 izoformy CAT, které jsou umístěny na odlišných chromozomech a liší se svou regulací a expresí (Scandalias 1990). CAT je velmi citlivá ke světlu (zřejmě kvůli absorpci světla hemem) a při působení fotooxidačního stresu je degradována srovnatelnou rychlostí jako D1 z PS 2 (Hertwig *et al.* 1992).

Na zmírnění fotooxidativního stresu se mohou podílet i mechanismy obnovující NADPH (*transhydrogenasa*, *malát dehydrogenasa* atp.).

2.4. Posthypoxický/postanoxický stres

Po skončení působení stresových faktorů musejí rostliny zpětně adaptovat svůj metabolismus na standardní podmínky, což rovněž působí jako další forma stresu (VanToai a Bolles 1991; Albrecht a Wiedenroth 1994; Crawford a Braendle 1996; Beamelt *et al.* 1998). Reaeraci se musí přizpůsobit hlavně kořenový systém a přepnout z anaerobního metabolismu na metabolismus plně aerobní. Byla prokázána pozitivní korelace mezi posthypoxickým/postanoxickým stresem a snížením hladiny látek uplatňujících se při obraně proti ROS. ROS vznikají po návratu do normoxie oproti anoxii ve zvýšeném množství nejen v rostlinných pletivech (viz výše), ale také v okolí kořenů, které obsahuje vysoce redukované ionty kovů (hlavně Fe^{2-}), a ty přeměňují vzdušný kyslík na superoxid (Ponnamperuma 1972). Neregulovaná produkce ROS pak způsobuje peroxidativní poškození pletiv (Crawford a Braendle 1996; Beamelt *et al.* 1998). Např. u sóji bylo již po několika hodinách anoxie a následné reaeraci pozorováno snížení hladiny SOD mRNA i hladiny samotné SOD, což se projevilo větším fotooxidačním poškozením během postanoxických podmínek. S prodloužením trvání anoxie se však hladina SOD zvýšila i během anoxie a poškození pletiv kořenů bylo po reaeraci menší. Posthypoxické poškození po krátké době trvání anoxie eliminovala inkubace pletiv v askorbátu (VanToai a Bolles 1991). U pšenice již po 20 min reaerace stoupá hladina antioxidantu GSH, který se pravděpodobně účastní aklimace rostlin na normoxi (Albrecht a Wiedenroth 1994).

Další z pravděpodobných možností poškození rostlin posthypoxickým/postanoxickým stresem je zvýšená produkce ethanolu (Crawford a Braendle 1996; Beamelt *et al.* 1998), který se během stresu hromadí jednak přímo v kořenech, ale i v jejich okolí. Při reaeraci je ethanol metabolizován na toxický acetaldehyd (viz kap. 2.2.3.).

Studiu posthypoxického/postanoxického stresu je věnována pozornost až

v současné době a práce věnované tomuto typu stresu jsou prozatím spíše výjimečné.

2.5. Exprese genů a syntéza proteinů při nedostatku O₂

Změny metabolických procesů během stresových podmínek jsou spojeny se změnami produkce proteinů primárně **regulací genové exprese na úrovni transkripce**, jejímž důsledkem je potlačení syntézy RNA a proteinů účastnících se aerobního metabolismu. Vzniká nová RNA a následuje produkce anaerobií indukovaných proteinů (ANP), které zajišťují průběh anaerobního metabolismu (Ferl *et al.* 1980; Sachs *et al.* 1980; Rowland a Strommer 1986; Bailey-Serres *et al.* 1988; Dennis *et al.* 1989; Russell a Sachs 1989, 1992; Webster *et al.* 1991; de Vetten a Ferl 1995; Manjunath a Sachs 1997; Manjunath *et al.* 1999; Subbaiah a Sachs 2001). Pro zahájení syntézy ANP je charakteristická přítomnost elementu ARE indukovatelného anaerobií nebo jeho konsenzus sekvence v genech pro ANP (Liewellin *et al.* 1987; Walker *et al.* 1987; Dennis *et al.* 1988; Olive *et al.* 1991). U kukuřice se ARE vyskytuje v -140 až -90 oblasti promotoru genu *adh1* (Walker *et al.* 1987) a konsenzus ARE byl identifikován i v promotorech *adh1*, *adh2*, *sh1*, *adl* u *Arabidopsis thaliana*, hrachu a kukuřice (Liewellin *et al.* 1987; Walker *et al.* 1987; Dennis *et al.* 1988; Olive *et al.* 1991). Ke zvýšení transkripce genů s ARE motivem v regulační oblasti dochází po vazbě transkripčního faktoru (TF) třídy MYB, např. *AtMYB2* u *Arabidopsis thaliana* (Hoeren *et al.* 1998; Dolferus *et al.* 2003). Podobné TF byly nalezeny i u dalších druhů rostlin (Hoeren *et al.* 1998; Klok *et al.* 2002; Dolferus *et al.* 2003; Liu *et al.* 2005). Syntéza *AtMYB2* je při anaerobii zvýšená a jeho hladina je pravděpodobně regulována zvýšením stability mRNA tohoto TF (Hoeren *et al.* 1998; Dolferus *et al.* 2003). U *in vitro* kultur buněčných suspenzí kukuřice je *adh1* aktivován touto cestou již po 4 h hypoxických podmínek (Paul a Ferl 1991). U *Arabidopsis thaliana* je tento gen aktivován po 4 – 8 hodinách vystavení pletiv hypoxii (Chung a Ferl 1999; Dolferus *et al.* 1994).

Ke zvýšení hladiny ANP dochází také v důsledku efektivnější vazby mRNA anaerobií indukovaných genů na ribozomy, než je tomu u mRNA produkované v aerobiotických podmínkách. Při hypoxii se tedy rozrušují stávající polyzomy a následuje **upřednostnění translace** anaerobní mRNA (Fennoy a Bailey-Serres 1995; Branco-Price *et al.* 2005). Zvýšení afinity mRNA pro ANP k ribozomům a následné zvýšení její translace může být dosaženo reverzibilní fosforylací ribozomálních proteinů (Subbaiah a Sachs 2001).

K regulaci proteosyntézy při stresu zaplavením však dochází nejen na posttranskripční, ale i na **posttranslační úrovni**. Tyto zahrnují modifikace již existujících

proteinů, které mohou následně vést k změnám genové exprese, ale i k dlouhotrvajícím funkčním i fenotypovým projevům (Ferreira *et al.* 1993; Maurel *et al.* 1995; Stone *et al.* 1998; Fankhauser *et al.* 1999). K nejčastějším modifikacím proteinů patří fosforylace. Fosforylována je například anaerobií indukovaná syntasa sacharosy, což má pravděpodobně vliv na adaptaci k těmto podmínkám (Subbaiah a Sachs 2001). Syntasa sacharosy je u kukuřice kódovaná dvěma geny – *sh1* a *sus1*. *Sh1* je během hypoxie indukován na transkripční i translační úrovni (Springer *et al.* 1986), zatímco indukce *sus1* není tak intenzivní (Ricard *et al.* 1998). Fosforylovaný *Sh1* byl identifikován již po 2 h anoxie v kořenových špičkách kukuřice, ale během dlouhodobého působení anoxie dochází k jeho hypofosforylaci (Subbaiah a Sachs 2003). Syntasa sacharosy je funkčně spjata s glukansyntasou zakotvenou v plazmatické membráně (Armor *et al.* 1995). Míra fosforylace syntasy sachrosy podmiňuje vazbu glukansyntasy na cytoplazmatickou membránu, která se zřejmě v tomto stavu podílí na vzniku kalózy, která odpovídá za zpevnění buněčné stěny během hypoxie. Cytoplazmatická forma syntasy sachrosy štěpí sachrosu na hexosy, které jsou dále využity pro glykolysu (Subbaiah a Sachs 2001).

Již několik hodin po vystavení rostlin hypoxickým podmínkám představují ANP, jejichž syntéza je indukovaná sníženou koncentrací kyslíku, asi 3/4 celkového objemu proteosyntézy, ale při dlouhodobějším působení hypoxie již ani syntéza ANP nestačí k udržení základních metabolických funkcí a rostliny mohou začít odumírat (Sachs 1980; Subbaiah *et al.* 1999; Subbaiah a Sachs 2003). U druhů tolerantních k anaerobii je syntéza ANP daleko rychlejší. Je známo asi 20 ANP, z nichž mnohé představují enzymy nutné pro metabolismus sacharidů, glykolýzu a fermentační procesy (Subbaiah a Sachs 2003). U kukuřice bylo identifikováno několik genů indukovaných při anaerobii, které jsou roztroušené po celém genomu (Tab. 1).

Název proteinu	zkratka genu	umístění na chromozomu
<i>alkohol dehydrogenasa 1</i>	<i>adh1</i>	1L
<i>alkohol dehydrogenasa 2</i>	<i>adh2</i>	4S
<i>aldolasa 1</i>	<i>ald1</i>	8L
<i>enolasa 1</i>	<i>eno1</i>	9S
<i>enolasa 2</i>	<i>eno2</i>	1S
<i>glyceraldehyd-3-fosfát dehydrogenasa 1</i>	<i>gpc1</i>	4S
<i>glyceraldehyd-3-fosfát dehydrogenasa 2</i>	<i>gpc2</i>	6S
<i>glyceraldehyd-3-fosfát dehydrogenasa 3</i>	<i>gpc3</i>	4S

Název proteinu	zkratka genu	umístění na chromozomu
<i>glyceraldehyd-3-fosfát dehydrogenasa 4</i>	<i>gpc4</i>	5L
<i>fosfohexosa izomerasa 1</i>	<i>phi1</i>	1L
<i>pyruvát dekarboxylasa 1</i>	<i>pdcl</i>	8L
<i>pyruvát dekarboxylasa 2</i>	<i>pdc2</i>	8
<i>pyruvát dekarboxylasa 3</i>	<i>pdc3</i>	1S
<i>Shruken 1</i>	<i>sh1</i>	9S
<i>syntasa sacharosy 1</i>	<i>sus1</i>	9L
<i>xyloglukan endotransglykosylasa 1</i>	<i>xet1</i>	5S
No. 1032	<i>wus 11032</i>	1S
	<i>umc217</i>	

Tab. 1. Přehled ANP produkovaných v anaerobních podmínkách u kukuřice. Zkratky genů odpovídající danému proteinu a jeho umístění na chromozomu. L...dlouhé rameno chromozomu, S...krátké rameno chromozomu (Sachs et al. 1996).

Alkohol dehydrogenasa 1, 2 se účastní alkoholové fermentace. Při tomto typu fermentace je pyruvát vzniklý glykolýzou dekarboxylován pyruvátdekarboxylasou na acetaldehyd a ten je dále redukován *Adh 1, 2* na ethanol. Geny *adh 1, 2* vykazují 78% homologii, ale jsou lokalizovány na různých chromozomech a podléhají odlišnému způsobu regulace. Aktivace *adh1* při anaerobii zahrnuje i změnu struktury chromatinu (Paul a Ferl 1997). *Adh 1* je za normoxie exprimován v pylu a aleuronové vrstvě klíčících semen a indukován anaerobií v kořenech, zatímco *adh 2* je standardně exprimován v nodech stonku a jeho hladina se jen mírně zvyšuje při anaerobii (Freeling a Bennett 1985; Paul a Ferl 1991).

Aldolasa 1 je enzym glykolýzy, který štěpí fruktosa-1,6-bisfosfát (FBP) na glyceraldehydfosfát (GAP) a dihydroxyacetonfosfát. Při nízkém parciálním tlaku kyslíku se zvyšuje jeho hladina (Kelley a Tolan 1986; Sachs et al. 1996).

Enolasa 1, 2 je enzym glykolýzy dehydratující 2-fosfoglycerát na fosfoenolpyruvát. Při nedostatku kyslíku je jeho hladina v pletivech zvýšená (Sachs et al. 1996; Lal et al. 1998).

Glyceraldehyd-3-fosfát dehydrogenasa 1, 2, 3, 4 se účastní dehydrogenace GAP vznikajícího činností *Ald 1* za účasti NAD^+ za vzniku 1,3-bisfosfoglycerátu a $\text{NADH} + \text{H}^+$. Během zaplavení je u kukuřice nejvíce indukován gen *gpc4* (Köhler et al. 1995; Manjunath and Sachs 1997).

Fosfohexosa izomerasa 1 v druhé reakci glykolýzy izomeruje glukosa-6-fosfát na

fruktosa-6-fosfát. Při anaerobii se zvyšuje její hladina (Kelley a Freeling 1984; Sachs *et al.* 1996).

Pyruvát dekarboxylasa 1, 2, 3 se účastní alkoholové fermentace. Při tomto typu fermentace je pyruvát vzniklý glykolýzou dekarboxylován pyruvátdekarboxylasou na acetaldehyd. Během anaerobie se vyskytuje ve zvýšené hladině (Laszlo a St Lawrence 1983; Kelley 1989; Sachs *et al.* 1996).

Syntasa sacharosy 1 se účastní mobilizace sacharosy pro další biochemické procesy jako je biosyntéza kalosy nebo celulosy a syntéza i štěpení sacharosy (Ruan *et al.* 1997). Za normoxie je přítomna ve všech částech rostliny. Její hladina během anaerobie mírně stoupá (Springer *et al.* 1986; Martin *et al.* 1993; Sachs *et al.* 1996).

Xyloglukan endotransglykosylasa 1 působí degradaci buněčné stěny, její zvýšená hladina je typická při zaplavení (Sachs *et al.* 1996).

Shruken 1 je syntasa sacharosy, která je za normoxie exprimovaná převážně ve vyvíjejícím se endospermu. Za anoxie je indukován na transkripční i translační úrovni (Springer *et al.* 1986; Sachs *et al.* 1996).

No. 1032 je zatím blíže nepopsaný protein. Během zaplavení dochází k jeho indukci (Sachs *et al.* 1996).

2.6. Dědičnost tolerance k hypoxickému/anoxickému stresu

Z výše uvedeného přehledu vyplývá, že mnoho prací zabývajících se studiem vlivu nadměrného zaplavení rostlin je spíše zaměřeno na vzájemné porovnávání různých charakteristik u vybraných genotypů (popř. odrůd, linií, druhů) lišících se citlivostí k tomuto stresovému faktoru (např. Davies 1980; Hook *et al.* 1983; Menegus *et al.* 1989, 1991; Zaidi *et al.* 2002, 2003; Huang *et al.* 1994; Liao a Lin 1995; van Ginkel *et al.* 1992). Práce zabývající se studiem genetické podstaty odolnosti vůči hypoxii/anoxii jsou méně časté (Hamachi *et al.* 1989; Tesemma *et al.* 1991; Cao *et al.* 1992; Forster *et al.* 1992; Taeb *et al.* 1993; Cao *et al.* 1994, 1995; Boru 1996; Cai *et al.* 1996; Zhou *et al.* 2004).

Genetická analýza odolnosti vybraných parametrů u rostlin pod vlivem hypoxie byla publikována u pšenice (*Triticum aestivum L.*, *Triticum durum L.*) (Tesemma *et al.* 1991; Cao *et al.* 1992, 1994, 1995; Boru 1996).

Vysoce tolerantní genotyp pšenice byl křížen s dvěma citlivými genotypy u nichž

se projevila významná chloróza listů. Potomstvo F₁ generace vykazovalo stejnou toleranci k hypoxii, jaká byla pozorována u tolerantního rodiče. V F₂ generaci byl zjištěn štěpný poměr 3:1. Autoři dospěli k názoru, že v tomto případě je tolerance k hypoxii kontrolována jedním genem a projevuje se zde úplná dominance. To bylo potvrzeno i zpětnými kříženími F₁ generace s rodičovskými genotypy (Cao *et al.* 1992).

U ostatních studovaných znaků tolerance k hypoxii (počet fotosynteticky aktivních listů, výška rostliny, počet zrn v obilce a hmotnost 1000 zrn) je tolerance k hypoxii výsledkem spolupůsobení většího počtu genů s aditivními i neaditivními účinky (Cao *et al.* 1994, 1995). Boru (1996) uvádí, že tolerance pšenice k hypoxii pro tento znak je ovládána čtyřmi nezávislými geny. Studované genotypy pšenice nesly jeden společný gen pro toleranci (*wtl1*) a tři rozdílné geny. Tyto rozdílné geny patrně souvisejí s uplatněním různých mechanismů při odolávání hypoxickému stresu. Tolerance pak může být zlepšena vhodnou kombinací těchto genů do jednoho genotypu.

Z výsledků následně provedené detailní genetické analýzy byl pro daný znak odhadnutý koeficient dědivosti (71,5%), který ukazuje na vysoký podíl dědičné proměnlivosti na celkové proměnlivosti studovaného parametru. Byly rovněž navrženy účinné selekční postupy při šlechtění na vyšší toleranci vůči hypoxii. (Cai *et al.* 1996).

Pro zvýšení odolnosti k zaplavení je u pšenice možné využít i mezidruhového křížení s příbuznými druhy *Thinopyrum elongatum* L. nebo *Secale montanum* L. za vzniku amfidiploidů, kteří mohou vykazovat vyšší odolnost vůči hypoxii (Forster *et al.* 1992; Taeb *et al.* 1993). Amfidiploidi mohou být také použiti k následné produkci aneuploidů a nových substitučních, translokačních či rekombinantních linií využitelných pro následná křížení a šlechtění (Forster *et al.* 1992).

Podobné genetické analýzy byly provedeny také u **ječmene** (*Hordeum vulgare* L.) (Hamachi *et al.* 1989; Zhou *et al.* 2004).

U 8 linií ječmene a jejich F₁ a F₂ generací, byl studován vliv nadměrného zaplavení na počet odumřelých listů. V F₁ generaci byla zjištěna heteróze v daném znaku a potomstvo F₂ generace vykazovalo plynulou proměnlivost. Tyto výsledky dokládají, že dědičnost tohoto znaku je podmíněna polygeně (Hamachi *et al.* 1989).

Z dialelní analýzy šesti genotypů ječmene v hypoxických podmínkách lišících se v toleranci k tomuto stresoru (kritériem tolerance zde byla míra chlorózy listů) bylo zjištěno, že na geneticky podmíněné vnitrodruhové variabilitě se uplatňují převážně aditivní efekty, méně pak efekty dominance, a to bez alelických interakcí. Při křížení citlivých genotypů došlo

v F₂ generaci k intenzivní segregaci projevující se vysokou variabilitou v chloróze listů mezi jedinci, naproti tomu při křížení tolerantních genotypů se jedinci F₂ generace v míře chlorózy příliš nelišili. Tolerantní genotypy navíc vykazovaly vysoký podíl recesivních alel, kdežto podíl recesivních alel u citlivých genotypů byl nízký (Zhou *et al.* 2004).

2.7. Genetický stres

Odezva rostlin na stres zahrnuje velice komplikovaný soubor vzájemně provázaných mechanismů. V posledních letech se objevují velmi zajímavé skutečnosti o vlivu stresorů na strukturu a organizaci DNA. Bylo zjištěno, že organizmy reagují na abiotický stres na úrovni modifikace epigenetických mechanismů (tzn. ovlivňují aktivitu DNA beze změn základní nukleotidové struktury), následnou restrukturalizací genomu a případně i změnou fenotypu. Změny na těchto úrovních úzce souvisejí se změnami genové exprese nejen ve stresových podmínkách, ale i v různých fázích vývoje rostliny (Kalendar *et al.* 2000; Cullis 2005). Je popsáno několik mechanismů souvisejících s regulací aktivity DNA při působení stresových faktorů. Ke změnám aktivity DNA dochází v důsledku **chemických modifikací DNA**, nebo proteinových struktur s ní asociovaných, nejčastěji histonů. Struktura a aktivita DNA je udržována převážně mírou její methylace. U rostlin je methylován nejčastěji cytosin v sekvencích CNG (tzv. asymetrická methylace). Důsledkem methylace je potlačení aktivace transkripce. Hustě methylovaná DNA ve formě absolutního či konstitutivního heterochromatinu je součástí úseků, které jsou důležité jednak pro správnou segregaci chromozomů během dělení buněk a jednak také k deaktivaci repetitivních částí DNA, které mohou vést k nežádoucím homologním rekombinacím, nebo se mohou transpozicí přesouvat do jiných částí genomu a negativně ovlivnit expresi jiných genů. Poprvé byla pozitivní korelace mezi ztrátou methylace a aktivací transpozonů prokázána u kukuřice (Chandler *et al.* 1986), jejíž genom je tvořen z více než 50% sekvencemi podobnými transponovatelným elementům (Roy *et al.* 1999). Hypotézu o souvislosti mezi ztrátou methylace a aktivací transpozonů potvrdily i studie mutací genů pro DNA methylasy u *Arabidopsis thaliana* (Kato *et al.* 2003).

Kromě DNA jsou modifikovány také histony. Nejčastěji dochází k jejich methylaci, acetylaci, ubiquitinilaci a fosforylaci. Z hlediska deaktivace DNA je opět nejdůležitější **methylace histonů**, a to nejčastěji na lysinu podjednotek H3 a H4 (Jenuwein a Allis 2001). Methylace histonů patrně předchází a napomáhá methylaci DNA (Aargaard *et al.* 1999; Lachner *et al.* 2001; Grewal a Moazed 2003). Ztráta methylace histonů pak způsobí

ztrátu methylace DNA a aktivaci transpozonů (Gendrel *et al.* 2002; Johnson *et al.* 2002). Otázkou zůstává, zda je demethylace procesem pasivním, či zprostředkovaným demethylázami. Několik prací dokládá, že aktivní demethylace je nezbytná pro regulaci vývoje endospermu a gametofytu u *Arabidopsis thaliana* (Soppe *et al.* 2000; Kinoshita *et al.* 2004). Mechanismus demethylace a její regulace je však stále neznámý.

Dalším mechanismem vedoucím ke zvýšení počtu transpozic je porušení procesů spojených s inaktivací genů na úrovni **interferenční RNA** (RNAi) (Lindbo *et al.* 2001). RNAi je popisována jako abnormální RNA, která je schopna interagovat s jinými RNA a také s DNA (Wassernegger *et al.* 1994). RNAi se účastní posttranskripční regulace (Kidner a Martienssen 2003), pomáhá odstraňování invazivních nukleových kyselin a transgenů (Napoli *et al.* 1990; Lindbo *et al.* 1993) a reprimuje transpozony udržováním kondenzace heterochromatinu (Volpe *et al.* 2002; Schramke a Allshire 2003). Vychází se z předpokladu, že dvouvláknová RNA (dsRNA) slouží jako substrát pro enzym *Dicer*, jenž štěpí tuto dsRNA na fragmenty dlouhé 22-26 nukleotidů. Tyto fragmenty jsou amplifikovány RNA-dependentními RNA polymerasami a vznikají tak malé interferenční RNA (siRNA) a microRNA (miRNA). SiRNA interagují s DNA/RNA virů nebo transgenů a miRNA je zaměřena proti vlastním genům. Zároveň RNAi tvoří s dalšími proteiny deaktivující komplexy homologní DNA/RNA (Tijsterman *et al.* 2002; Grewal a Moazed 2003; Verdel *et al.* 2004). Pokud je cílem DNA, pak její deaktivace probíhá aktivováním histonových methyltransferas, které spouštějí kaskádu dalších dějů souvisejících s inaktivací chromatinu methylací (Grewal a Moazed 2003). RNAi má tedy funkci udržování heterochromatinu, a tím i kontrolu DNA repetitivních úseků (Volpe *et al.* 2002; Schramke a Allshire 2003; Pal-Bhadra *et al.* 2004; Verdel *et al.* 2004). To se děje díky stálé produkci sense a antisence RNAi, které interagují s homologními úseky DNA a tak je inaktivují (Volpe *et al.* 2002; Schramke a Allshire 2003). Tuto teorii podporují i výsledky studia mutací genů pro RNAi, které způsobují aktivaci transpozonů (Miura *et al.* 2001, 2004; Singer *et al.* 2001; Lippman *et al.* 2003).

Jedním ze stresorů vedoucím ke spuštění výše popsaných reakcí organismů je působení abiotického stresu. Některé takto vyvolané transpozice jsou místně specifické (Yamashita *et al.* 1999; Hashida *et al.* 2003; Cullis 2005). Aktivace transpozonů je tedy primárně závislá na methylaci DNA a množství methylované DNA je úměrné míře působení stresoru. Bylo zjištěno, že již snížení teploty pěstování z 25°C na 15°C u *Antirrhinum mayus* vyvolá 1000-krát vyšší míru transpozice *Tam3* elementu, který se za těchto podmínek specificky přemísťuje do genu ovlivňujícího barvu květů a vede tak k jejím změnám, které jsou však nestabilní v průběhu generací (Yamashita *et al.* 1999; Hashida *et al.* 2003).

Zvýšená aktivita transpozice při chladovém stresu byla popsána také u vojtěšky (*Medicago sativa*) (Ivashuta *et al.* 2002) a rýže (*Oryza sativa*) (Jiang *et al.* 2003), i když nebyla vždy způsobena vyšší methylací DNA (Ivashuta *et al.* 2002; Jiang *et al.* 2003). U lnu (*Linum usitatissimum*) vyvolalo snížení teploty zvýšení obsahu DNA o 15% přičemž tento rozdíl představovala převážně DNA různých rodin transponovatelných elementů. Vlivem transpozic došlo u všech rostlin k identickým přestavbám na mnoha místech DNA, které se projevíly změnou fenotypu. Takto vzniklé fenotypové vlastnosti se poté neměnily ani u potomstva těchto rostlin pěstovaného za optimálních podmínek (Cullis 2005). Autoři se domnívají, že by se mohlo jednat o mechanismus přispívající k adaptaci genomu na změnu přírodních podmínek.

Z výše uvedeného přehledu je tedy zřejmé, že stres vyvolává řadu specifických reakcí na různých úrovních rostliny. I přesto, že byla získána řada významných poznatků o vlivu stresových faktorů na molekulárně-biologické, biochemické, fyziologické, anatomické a morfologické charakteristiky různých druhů rostlin, zůstává ještě mnoho nezodpovězených otázek. Obzvláště výzkum exprese genů a jejich regulace v souvislosti se změnami DNA a fenotypu ve stresových podmínkách je teprve ve svých počátcích.

3. Materiál a metody

3.1. Pokusný materiál a způsob pěstování rostlin

Pokusný materiál zahrnoval dvě inbrední linie kukuřice (*Zea mays* L.) (2023, CE704), jejich křížence F₁ generace (2023×CE704, CE704×2023) a generaci F₂ pocházející z křížení (2023×2023)×(CE704×CE704), (CE704×CE704)×(2023×2023)). Semena rodičovských inbredních linií a hybridních F₁ genotypů pocházela ze šlechtitelské stanice CEZEA v Čejči u Hodonína, F₂ generaci jsme připravili v genetické zahradě Katedry genetiky a mikrobiologie Přírodovědecké fakulty UK, Albertov 8. Rodičovské linie byly vybrány na základě pokusů v předchozích letech, ve kterých tyto rodičovské linie vykazovaly odlišnou toleranci vůči abiotickým stresům.

Pokusy byly organizovány do dvou nezávislých sérií (I, II) a do dvou bloků (A, B) dle následujícího přehledu:

pokusná série I A, B		pokusná série II A, B	
výsev	9.3.-12.3. 2005	výsev	23.3.-26.3. 2005
přesazení	5.4.-8.4. 2005	přesazení	19.4.-22.4. 2005
začátek stresu	11.4.-14.4. 2005	začátek stresu	25.4.-28.4. 2005
pokus A	20.4.-23.4. 2005	pokus A	4.5.-7.5. 2005
pokus B	10.5.-13.5. 2005	pokus B	24.5.-27.5. 2005

Pokusné rostliny (60 od každé generace pro každý pokusný den) byly pěstovány ve skleníku nejprve v sadbovačích se zahradnickým substrátem. Po čtyřech týdnech od výsevu byly rostliny přesazeny do květináčů (o průměru a výšce 11x11cm). V 5. týdnu od výsevu jsem rostliny rozdělila do dvou skupin, z čehož jednu skupinu jsem přemístila do nádrží s vodou (voda dosahovala 2 cm pod okraje květináčů), druhou jsem ponechala jako kontrolní. V 6. týdnu jsem provedla první sérii pokusů (I A) ve čtyřech opakováních, tj. ve čtyřech po sobě následujících dnech. Bezprostředně po odběru asimilačního pletiva byl ukončen stres zaplavením, květináče s rostlinami jsem vyndala z nádrží s vodou a pěstovala je dále v optimálních podmínkách. V osmém týdnu následovala druhá série pokusů (I B) s oběma skupinami rostlin. Stejně jsem postupovala i u druhé série (II A, II B) kterou jsem vysévala o týden později. Obě série rostlin byly pěstovány v přibližně stejných podmínkách, aby bylo možné společné hodnocení a porovnání získaných výsledků.

Teplota ve sklenících se pohybovala v rozmezí 25-35 °C přes den a 15-20 °C přes noc, relativní vlhkost vzduchu se pohybovala v rozmezí 70 – 95% a rostliny nebyly uměle přisvětlovány. Kontrolní rostliny byly podle potřeby zalévány, u zaplavených se obsah vody

v nádržích neměnil.

Kromě dvou sérií pokusů prováděných na jaře 2004, bylo provedeno několik srovnávacích testovacích pokusů na podzim 2003 pro zvolení nejvhodnějších podmínek a stáří rostlin pro vystavení stresu.

3.2. Metody

3.2.1. Odběr asimilačního pletiva

Pro stanovení fotochemické aktivity izolovaných chloroplastů jsem použila vždy 10 listů od každého genotypu. Vzorke asimilačního pletiva pro sérii pokusů I A, II A (5. týdnů staré rostliny) jsem odebírala z plně vyvinutých převážně 4. listů, pro druhou sérii pokusů I B, II B (8. týdnů staré rostliny) jsem použila převážně 5. listy. Listy jsem odebírala vždy v 7 hodin ráno letního času. Chloroplasty jsem izolovala ze střední části listové čepele, ze které jsem odstranila střední žilku. Z těchto listů jsem vysekávala ještě terčiky (vždy 10 o průměru 16 mm) pro určení specifické hmotnosti listu a pro stanovení obsahu chlorofylu v listových pletivech.

3.2.2. Izolace chloroplastů

Odebrané vzorky listového pletiva každého genotypu (přibližně 2 g) jsem po nastříhání homogenizovala ve 40 ml izolačního roztoku v homogenizátoru Thurmix 302 (MPW, Polsko) po dobu 18 s. Homogenát jsem přefiltrovala přes 8 vrstev gázy a suspenzi centrifugovala v chlazené centrifuze K23 (VEB MLW Medizintechnik, Leipzig, Německo) po 10 min při 1000×g. Pelet jsem resuspendovala v 0,6-1,2 ml resuspendačního media a vzniklou suspenzi chloroplastů uchovávala v chladícím boxu (0 – 1°C) a temnu po celou dobu měření.

IZOLAČNÍ roztok

0,4 M sacharóza
0,002 M MgCl₂
0,05 M *tris*-HCl pufr
pH 7,0

RESUSPENDAČNÍ roztok

0,4 M sacharóza
0,006 M MgCl₂
0,05 M *tris*-HCl pufr
40% glycerol
pH 7,0

3.2.3. Stanovení obsahu chlorofylu v suspenzích izolovaných chloroplastů

Fotochemickou aktivitu chloroplastů jsem vyjadřovala v přepočtu na jednotku listové plochy, na jednotku suché hmotnosti listu na jednotku obsahu chlorofylu. Pro tyto výpočty bylo nezbytné v každé suspenzi chloroplastů stanovit obsah chlorofylu. Použila jsem metodu spektrofotometrického stanovení absorbance chlorofylu *a* a *b* v 80% roztoku acetonu. 50 μ l suspenze chloroplastů jsem extrahovala v 5 ml 80% roztoku acetonu a to ve dvou opakováních pro každý vzorek. Následovala centrifugace 10 min 1000 \times g pro odstranění zbytků buněk a supernatant byl použit pro stanovení absorbance při 645 nm (maximum absorbance chlorofylu *b*), 663 nm (maximum absorbance chlorofylu *a*) a 710 nm (vyjadřuje čírost acetonového extraktu). Hodnoty absorbance jsem použila pro výpočet koncentrace chlorofylu (*a+b*) v jednotlivých chloroplastových suspenzích dle Porra *et al.* (1989).

3.2.4. Stanovení fotochemické aktivity chloroplastů

Fotochemickou aktivitu izolovaných chloroplastů jsem posuzovala podle **AHR** a **PS 1**. Pro měření jsem využila polarografickou metodu, založenou na stanovení množství O₂ (kyslíková elektroda Clarkova typu, Theta 90° ČR) uvolněného (AHR) nebo spotřebovaného (PS 1) po přidání umělých akceptorů a donorů elektronů a po osvětlení suspenze izolovaných chloroplastů v reakčním mediu ve speciální komůrce za konstantních podmínek. Aparatura pro měření AHR a PS 1 byla zkonstruována v MBÚ ČSAV v Třeboni (Bartoš *et al.*, 1975).

3.2.4.1. Kalibrace měřících soustav pro AHR a PS 1

Měřící soustavy jsem vždy na začátku a konci pokusu kalibrovala na 0% a 20,99% obsah O₂ při zvolené citlivosti elektrody tak, že jsem komůrku naplnila destilovanou vodou a tu postupně probublala dusíkem nebo vzduchem. Pro výpočet aktivit fotosystémů jsem použila průměr obou hodnot, které se při optimálně seřízené soustavě a dobře zpolarizované elektrodě liší jen nepatrně.

3.2.4.2. Měření AHR

Do měřící komůrky jsem napipetovala 5 ml reakčního roztoku a 50 μ l chloroplastové

suspenze a tuto reakční směs probublala dusíkem, abych vytěsnila kyslík k zanedbatelné koncentraci. Bezprostředně poté jsem přidala akceptor elektronů (ferrikyanid draselný, konečná koncentrace v komůrce byla 7 mM), komůrku jsem uzavřela a vzorek ponechala 1 min ve tmě. Vzorek v komůrce jsem osvětlila (bílé světlo, 170 W.m⁻²) na 3 min. Pro výpočet konečné hodnoty produkce kyslíku jsem použila hodnoty získané ze 2. a 3. minuty osvětlení, vyjádřené počtem dílků odečtených ze záznamu zapisovače.

REAKČNÍ roztok:

0,4M sacharóza
0,002M MgCl₂
0,05M *tris*-HCl pufr
pH 7,0

3.2.4.3. Měření PS 1

Aktivitu PS 1 jsem měřila podobným způsobem jako AHR. Do komůrky jsem nejprve napipetovala 4,45 ml reakčního roztoku o složení:

REAKČNÍ roztok:

0,4M sacharóza
0,05M fosfátový pufr
pH 6,5

K reakčnímu roztoku jsem přidala následující látky, a to v daném pořadí:

Látka	Konečná koncentrace v komůrce
1. katalasa	malé množství
2. askorbát sodný	1mM
3. DCPIP	0,15mM
4. metylviologen	0,1mM
5. DCMU	0,01mM
6. NH ₄ Cl	0,5mM

DCPIP, redukovaný askorbátem sodným, slouží jako donor elektronů pro PS 1. Metylviologen (paraquat) představuje akceptor elektronů z PS 1, přičemž dochází k jeho oxidaci, částečně ale vznikají superoxidové radikály O₂^{*}, které reagují s vodou za vzniku H₂O₂. Kataláza imobilizuje vznikající H₂O₂ za vzniku H₂O a O₂ a tím brání poškození systému oxidací. DCMU inhibuje elektronový transport z PS 2 na PS 1. NH₄Cl brání následné fosforylaci.

Aktivitu PS 1 a AHR jsem měřila vždy nejméně ve dvou opakováních a pro statistickou analýzu použila průměrnou hodnotu všech měření, jenž charakterizuje aktivitu příslušného genotypu.

3.2.4.4. Výpočet aktivit AHR a PS 1

Hodnoty aktivity PS 1 a AHR jsem vyjadřovala jako množství O₂ vyprodukovaného (AHR) nebo spotřebovaného (PS 1) suspenzí izolovaných chloroplastů v expoziční komůrce v přepočtu na obsah celkového chlorofylu (chl), na jednotku suché hmotnosti listu (S) a na jednotku plochy listu (LP) podle následujících vzorců:

$$\text{FotA (chl)} = (0,258 \times a \times 10^6) / (b \times c \times 120) \text{ [mmol O}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ chl s}^{-1} \text{]}$$

$$\text{FotA (LP)} = \text{FotA (chl)} \times \text{Chl (a+b)} \text{ [}\mu\text{mol O}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1} \text{]}$$

$$\text{FotA(S)} = \text{FotA (LP)} / S \text{ [}\mu\text{mol O}_2 \text{ g}^{-1} \text{ s}^{-1} \text{]}$$

FotA fotochemická aktivita izolovaných mezofylových chloroplastů hodnocená jako aktivita AHR nebo aktivita PSI

0,258 konstanta rozpustnosti kyslíku při normálním tlaku a teplotě 25 °C [mol O₂ m⁻³]

a počet dílků odečtených na stupnici zapisovače během dvou minut měření při osvětlení suspenze chloroplastů

b počet dílků odečtených na stupnici zapisovače při kalibraci systému (použita vždy průměrná hodnota z počáteční a konečné kalibrace)

c koncentrace chl (a+b) v expoziční komůrce [g m⁻³]

Chl (a+b) ... obsah chlorofylů a+b [g m⁻²]

S specifická hmotnost listu [g m⁻²]

3.2.5. Stanovení RWC

Z každého genotypu jsem odebrala 4 plně vyvinuté listy (intaktní listy), které jsem ihned po odběru zvažila (čerstvá hmotnost). Poté jsem je nechala 5 hodin ve zkumavkách s vodou, aby došlo k jejich úplné saturaci, znovu je zvažila (nasycená hmotnost) a 24 h sušila při 80°C. Po vysušení jsem listy opět zvažila (suchá hmotnost). Pro výpočet RWC jsem použila vždy aritmetický průměr všech čtyř hodnot.

$$\text{RWC} = [(\text{čerstvá hm.} - \text{suchá hm.}) / (\text{nasycená hm.} - \text{suchá hm.})] \times 100 \text{ [%]}$$

3.2.6. Specifická hmotnost listu a obsah pigmentů

Ze střední části čepelí listů, které jsem odebírala pro stanovení fotochemické

aktivity izolovaných chloroplastů, jsem kruhovým razidlem vysekla 10 terčků o průměru 8 mm. 4 terčky jsem nechala vysušit v sušárně při 80°C a stanovila jejich hmotnost na torzních analytických mikrováhách Sartorius (Německo). Specifickou hmotnost listu jsem poté vyjádřila jako hmotnost sušiny na jednotku plochy listové čepele. Hodnota S pro každý genotyp představuje aritmetický průměr ze tří opakování.

$$S = \text{hm. terčků} / 201,06 \text{ [mg mm}^{-2}\text{]}$$

201,06..... celková plocha čtyř terčků o průměru 8 mm [mm²]

3.2.7. Obsah chlorofylu a celkových karotenoidů v listovém pletivu

Zbylých 6 terčků listového pletiva jsem extrahovala v 10 ml N,N-dimethylformamidu 7 dní v lednici. Každý druhý den jsem vzorky promíchala, aby se předešlo vzniku pigmentového gradientu ve zkumavce. Po týdnu jsem změřila absorbanci jednotlivých vzorků při 480 nm (maximum absorbance karotenoidů), 663 nm (maximum absorbance chlorofylu a), 645 nm (maximum absorbance chlorofylu b) a 710 nm (vyjadřuje čírost extraktu), (spektrofotometr Anthelie Advanced 2, Francie). Obsah fotosyntetických pigmentů jsem vyjádřila v přepočtu na jednotku listové plochy a na jednotku suché hmotnosti.

$$\text{Chl } a = 12 \times (A_{663} - A_{710}) - 3,11 \times (A_{646} - A_{710})$$

$$\text{Chl } b = 20,78 \times (A_{663} - A_{710}) - 4,88 \times (A_{646} - A_{710})$$

$$\text{Kar} = ([1000 \times (A_{480} - A_{710})] - 1,12 \times \text{Chl } a - 34,07 \times \text{Chl } b) / 245$$

A₆₆₃ hodnota absorbance při λ = 663 nm

A₆₄₆ hodnota absorbance při λ = 646 nm

A₇₁₀ hodnota absorbance při λ = 710 nm

A₄₈₀ hodnota absorbance při λ = 480 nm

Dále jsem z těchto hodnot vypočítala obsah celkového chlorofylu (Chl *a+b*), poměr chlorofylů *a* a *b* (Chl *a/b*) a poměr celkového chlorofylu a karotenoidů (Chl/Kar). I zde byl každý genotyp v každém pokusném dni a při daném způsobu pěstování zastoupen aritmetickým průměrem ze tří nezávislých vzorků.

3.2.8. Příprava anatomických preparátů a barvení

Pro studium anatomické struktury jsem odebrala čtvrté listy rostlin pěstovaných v optimálních i suboptimálních podmínkách. Jednalo se o rostliny pokusné série I A. Využila jsem metodiku přípravy preparátů a barvení dle Johansen (1940). Neporušené listy jsem před barvením několik týdnů skladovala ve fixačním roztoku (FAA).

FIXAČNÍ roztok (FAA):

ethanol	50% (v/v)
kyselina octová	5% (v/v)
formaldehyd	5% (v/v)
destilovaná voda	40% (v/v)

Fixované listy jsem rozdělila na bazální a středové segmenty, které jsem nejprve dehydratovala v odvodňovací buthanolové řadě (střídání roztoků se zvyšujícím se podílem buthanolu). Takto připravené vzorky jsem infiltrovala parafínem (střídání roztoků se zvyšujícím se podílem parafínu). Následovalo zalití těchto segmentů do parafínu v pozici umožňující jejich rozdělení na bločky obsahující požadovaný úsek listu. Bločky se zalitými listovými segmenty jsem řezala na automatickém rotačním mikrotomu (LEICA RM 2155, V 1.0, Německo) nastaveném na šířku řezů 7 μm . Jednotlivé řezy jsem umístila na podložní sklíčka potřená bílkem. Konečného rozprostření řezů jsem docílila částečným natavením vosku na horké desce. Takto připravené řezy jsem barvila safraninem s anilínovou modří dle následujících postupů:

3.2.8.1. Barvení safraninem s anilínovou modří

Nejprve jsem si připravila zásobní roztoky safraninu a anilínové modří:

Safranin

96% ethanol	100 ml
safranin O	3 g
octan sodný	4 g
formaldehyd 40%	8 ml
(před ředěno 50% ethanolem v poměru 1:1)	

Anilínová modř:

ethanol 100%	50 ml
anilínová modř	1 g
hřebíčkový olej	25 ml

Před barvením jsem nejprve z preparátů odstranila parafin opakovaným ponořením do čistého toluenu. Poté jsem objekty zavodnila v sestupné alkoholové řadě (střídání roztoků se snižujícím se obsahem ethanolu) a následovalo vlastní barvení:

1) safranin	2 h
2) 70% ethanol	krátce opláchnout
3) 70% ethanol	2 min
4) 96% ethanol	2 min
5) saturovaný roztok kyseliny pikrové v 96% ethanolu	krátce opláchnout
6) 96% ethanol + 2 kapky amoniaku	2 min
7) 100% ethanol	krátce opláchnout
8) anilínová modř	2 min
9) 100% ethanol	dokud ze sklíčka viditelně stéká anilínová modř
10) 100% ethanol	krátce opláchnout
11) 100% ethanol	krátce opláchnout

Pro následnou úpravu preparátů jsem použila uzavírací vzestupnou toluenovou řadu (střídání roztoků se zvyšujícím se obsahem toluenu). Takto nabarvené řezy jsem zalila do umělé pryskyřice - solakrylu (Synthesia, Kolín), uzavřela krycím sklíčkem a nechala oschnout. Vybrané objekty jsem při vyhovujícím zvětšení pod světelným mikroskopem nafotila digitálním fotoaparátem.

(Použité chemikálie byly od výrobce SIGMA - Aldrich.)

3.2.9. Měření morfologických parametrů

Pro analýzu růstu jsem během každého týdne měřila délku internodií a délku a počet plně vyvinutých listů u osmi náhodně vybraných rostlin od každého genotypu. Zároveň jsem zaznamenávala viditelné změny morfologie rostlin (např. žloutnutí listů, změna barvy stonku, tvorba adventivních kořenů) a případné rozdíly mezi genotypy.

3.2.10. Statistická analýza

Průměrné hodnoty měření jednotlivých parametrů všech genotypů v každém pokusném dni jsem použila jako výchozí údaje pro statistickou analýzu, jejímž cílem bylo a) zjistit, zda pěstování při nadměrném zamokření statisticky významně ovlivňuje hodnoty fyziologických a morfologických charakteristik listů kukuřice; b) stanovit, zda tento faktor

působí na všechny genotypy stejně, nebo zda se jednotlivé genotypy v reakci na nadměrné zamokření liší.

Pro statistické hodnocení jsem použila program CoStat (CoHort software, USA). Pomocí analýzy variance trojného třídění s interakcemi jsem určila, zda jsou v rámci každého pokusného bloku (A/B) statisticky průkazné rozdíly mezi genotypy (G), zda se liší hodnoty daných charakteristik pro kontrolní rostliny a pro rostliny pod vlivem hypoxie (P) a mezi pokusnou sérií I a II (S) a zda dochází k interakcím $G \times P$, $G \times S$, $P \times S$ a $G \times P \times S$. Dále jsem analýzou dvojného třídění s interakcemi zjistila, zda existují průkazné rozdíly mezi G, P a interakce v rámci jednotlivých sérií typu $G \times P$. Analýzou jednoduchého třídění jsem dále zjistila, jestli se liší hodnoty jednotlivých charakteristik v rámci jednotlivých bloků uvnitř sérií mezi genotypy a také jestli se uvnitř genotypů v každém bloku a sérii významně liší hodnoty charakteristik pro kontrolní rostliny a rostliny pod vlivem hypoxie.

Pro analýzu průkaznosti rozdílů mezi jednotlivými hodnocenými skupinami byl použit Tukeyho test mnohonásobného porovnání.

3.2.11. Genetická analýza

Pokusy byly strukturované tak, aby se dal statisticky hodnotit vliv maternálních efektů na odolnost kříženců F_1 a F_2 generací vůči hypoxickým podmínkám. Při kvantitativně genetické analýze jsem vycházela ze systému biparentálního křížení, tj. křížení dvou výchozích populací a jejich filiálních generací. Možnost odhadování genetických parametrů z biparentálního křížení závisí na složení souboru filiálních generací. Pokud je genetická analýza zaměřena na odhadování aditivity a dominance, je možné vycházet pouze ze dvou parentálních linií a jejich první filiální generace. Pro detekci maternálních efektů je nutné testovat i některé z F_2 generací (zde $(2023 \times 2023) \times (CE704 \times CE704)$, $(CE704 \times CE704) \times (2023 \times 2023)$). Vycházela jsem z genetického modelu založeného na analýze průměru generací (Mather a Jinks 1971).

Model podle Mathera a Jinkse (1971):

$$G = m + (\alpha_1 - \alpha_2)A + \delta_{12}D + (\alpha_1^M - \alpha_2^M)MA + \delta_{12}^MMD + (\gamma_1 - \gamma_2)c$$

G průměrná hodnota příslušného znaku u kterékoli generace zahrnuté do systému biparentálního křížení (tj. v tomto případě u rodičovských linií P_1 , P_2 , kříženců F_1 , F_1' a F_2 , F_2')



- m obecný průměr, genetické pozadí
A aditivní efekt, resp. součet všech aditivních genových účinků v lokusech, v nichž se P_1 a P_2 liší
D dominantní efekt, resp. součet všech dominantních genových účinků v lokusech, v nichž se P_1 a P_2 liší
MA jaderný maternální aditivní efekt
MD jaderný maternální dominantní efekt
 α_1 (α_2) ... podíl alel z první (P_1), resp. druhé (P_2) výchozí populace u dané generace
 δ_{12} pravděpodobnost, že v náhodně zvoleném lokusu u náhodně vybraného jedince dané generace pochází jedna alela z první výchozí populace, druhá alela z druhé výchozí populace
 α_1^M (α_2^M). podíl alel z první (P_1), resp. druhé (P_2) výchozí populace v mateřské populaci dané generace
 γ_1, γ_2 koeficient cytoplazmatického efektu
c cytoplazmatický efekt zdrojové populace

Každému z parametrů je předřazen daný koeficient:

Generace/efekt	m	A	D	MA	MD	c
P_1	1	1	0	1	0	1
P_2	1	-1	0	-1	0	-1
F_1	1	0	1	1	0	1
F_1'	1	0	1	-1	0	-1
F_2, F_2'	1	0	1/2	0	1	1

Výchozí data pro genetickou analýzu (opět zvlášť pro každou hybridní kombinaci) představovaly průměrné hodnoty příslušného znaku a střední chyby průměru u jednotlivých genotypů, vypočítané jako průměr přes všechny pokusné dny v rámci každé pokusné série a způsobu pěstování (tj. samostatné hodnocení kontroly, stresu či obnovy). K detekci genetických efektů (v mém případě zahrnovaly aditivitu, dominanci, maternální aditivní a maternální dominantní efekt) jsem použila počítačový program CBE1, který je součástí programového balíku CBE (Crossbreeding Effects, Version 4.0) (Wolf 1996). Program nejdříve na základě údajů o příbuznosti genotypů vypočítá koeficienty α a δ a poté metodou vážených nejmenších čtverců odhadne genetické parametry m, A, D, MA, MD a c. Odhadnuté hodnoty genetických parametrů se dosadí do výrazů pro průměrné hodnoty jednotlivých generací (viz výše) a na základě toho se vypočítají teoretické průměrné hodnoty generací (G). Tyto teoretické hodnoty se porovnávají se skutečně zjištěnými průměrnými hodnotami příslušného znaku u jednotlivých generací, čímž se určí, zda je daný model vhodné aplikovat na experimentálně zjištěná data. K tomuto srovnání slouží χ^2 test, který je rovněž součástí programu. Nejprve jsem takto testovala modely zahrnující pouze aditivitu a dominanci a poté i modely zahrnující maternální a cytoplazmatické efekty. Hypotézu uplatnění

cytoplazmatického efektu, však nebylo možné při takovéto organizaci pokusů ověřit χ^2 testem, neboť počet neznámých převyšoval množství sestavitelných rovnic. To znamená, že pokud analýza ukáže působení cytoplazmatický efektu, pak se tento pravděpodobně uplatňuje, ale variabilita v průběhu generací může být ovlivněna i dalšími genetickými efekty či genovými interakcemi.

Ukázka výstupu programu CBE1 (komentáře jsou uvedeny v závorkách):

Model: MATHER and JINKS (1971)

Parameter	Estimate	Stand. Dev.	Significance
(1) mean	14.7643	.4378323	**
(2) additive	-.8481933	.769722	ns
(3) dominance	-2.277974	.454507	**

(odhad parametrů, středních chyb a jejich statistická průkaznost)

chi² = 9.06* df = 3 (test adekvátnosti použitého modelu; χ^2 statistika)

Correlations between parameter estimates

	(2)	(3)
(1)	-0.04	-0.98
(2)		0.04

Generation Observed Mean Estimated Mean Deviation

23	12.189	13.9161	-1.727104
704	13.59	15.61249	-2.022491
23x704	12.902	12.48632	.4156771
704x23	12.462	12.48632	-2.432346E-02
F2 23x704	14.132	13.62531	.5066891
F2 704x23	14.02	13.62531	.3946896

(Porovnání empirických a geometrických hodnot znaku)

Matrix X

(incidenční matice)

	(1)	(2)	(3)
(1)	1.00000	1.00000	0.00000
(2)	1.00000	-1.00000	0.00000
(3)	1.00000	0.00000	1.00000
(4)	1.00000	0.00000	1.00000
(5)	1.00000	0.00000	0.50000
(6)	1.00000	0.00000	0.50000

Matrix X'X

	(1)	(2)	(3)
(1)	6.000000	0.000000	3.000000
(2)		2.000000	0.000000
(3)			2.500000

Covariance matrix for b

	(1)	(2)	(3)
(1)	1.92E-01	-1.51E-02	-1.96E-01
(2)		5.92E-01	1.54E-02
(3)			2.07E-01

Tímto výše uvedeným modelem tedy nelze vysvětlit variabilitu potomstva v F₁ a F₂ generacích (χ^2 statistika je průkazná), proto přidáme další proměnné k předchozímu použitému modelu (zkrácený výstup):

Model: MATHER and JINKS (1971)

Parameter	Estimate	Stand. Dev.	Significance
(1) mean	12.88965	.7713494	**
(2) additive	-.9203968	.8688948	ns
(3) dominance	-.207815	.8688973	ns
(4) add. mat.	.2199116	.4000044	ns
(5) dom. mat.	1.275161	.5078059	**

chi² = 0.04 ns df = 1

Zde je již χ^2 statistika neprůkazná, modelem tedy lze vysvětlit variabilitu v následných filiálních generacích, se statistickou průkazností: **... p<0,01; *... p<0,05; ns... p>0,05.

4. Výsledky

Ve své diplomové práci jsem hodnotila fyziologické (AHR a PS1, obsah a poměr chlorofylu *a*, *b* a karotenoidů, RWC a SpHm) (Obr. 1-12) a morfologické (délka listů, výška rostlin, hmotnost jednotlivých částí rostlin) (Obr. 13-23) charakteristiky u dvou inbredních linií kukuřice **2023** (P_1) a **CE704** (P_2), jejich recipročných F_1 kříženců a u F_2 populace, pěstovaných v optimálních a hypoxických podmínkách. Porovnávala jsem jednotlivé parametry i u kontrolních a stresovaných rostlin navrácených po sedmidenní periodě stresu do optimálních podmínek. Hlavním cílem bylo zjistit, jak se pod vlivem hypoxie mění dané charakteristiky, jaká je schopnost obnovy u různých genotypů a jaké genetické mechanismy se podílejí na jejich přenosu mezi generacemi s důrazem na detekci maternálních efektů.

4.1. Reakce rostlin na stresové podmínky pěstování a rozdíly mezi genotypy

4.1.1. Fyziologické charakteristiky

Získané výsledky jsem nejprve hodnotila **analýzou variance trojného třídění s interakcemi**, která umožnila postihnout všechny vlivy, uplatňující se na proměnlivosti jednotlivých znaků, tj. **vliv genotypu** (G), **způsobu pěstování** (P, kontrola/stres) a **pokusné série** (S) **v rámci bloku pokusů A** (rostliny v kontrolních a hypoxických podmínkách) **i B** (rostliny v kontrolních a posthypoxických podmínkách). Na základě těchto údajů jsem mohla následně zhodnotit a posoudit vliv **interakcí** jednotlivých faktorů GxP, GxS, PxS a GxPxS na případné změny daných znaků.

Tato analýza prokázala ve většině případů významné **rozdíly mezi způsoby pěstování a mezi sériemi** v obou pokusných blocích (Tab. 1, 2). **Odlišnosti mezi jednotlivými genotypy** jsem zjistila pouze u AHR (LP) a specifické hmotnosti listu v bloku A i B a v pokusném bloku B byl navíc průkazný rozdíl i u AHR (chl) (Tab. 1, 2). Z výsledků analýzy **v bloku pokusů A** (Tab. 1) dále vyplynulo, že interakce typu GxP, GxS a GxPxS nebyly průkazné, avšak **interakce typu PxS** (mezi způsobem pěstování a pokusnou sérií) byly ve většině případů významné. Podobné výsledky jsem získala i statistickým hodnocením výsledků v druhém **bloku (B)** (Tab. 2), kde interakce GxP, GxS a GxPxS byly stejně jako v bloku A neprůkazné, znovu však s výjimkou **interakcí PxS**, které byly téměř u poloviny

hodnocených znaků opět statisticky průkazné. Průkaznost interakcí PxS svědčila o rozdílném vlivu podmínek pěstování na charakteristiky v sérii I a II.

Analýza variance dvojného třídění s interakcemi mi dále umožnila provést detailnější rozbor výsledků než analýza trojného třídění, protože nezahrnuje vliv pokusných sérií jako zdroj proměnlivosti a lze tak a postihnout charakter změn v důsledku působení stresových podmínek samostatně v jednotlivých sériích. Z výsledků této analýzy bylo možné určit vliv dvou zdrojů proměnlivosti; **genotypů** (G) a **způsobu pěstování** (P, kontrola/stres) v jednotlivých **sériích I A, II A, I B, II B** a rovněž stanovit **interakce** faktorů typu GxP ve všech sériích pokusů.

Interakce typu GxP byly ve všech pokusných sériích neprůkazné (Tab. 3, 5, 7, 9) a na základě těchto výsledků jsem mohla provést i srovnávací analýzu rozdílů mezi jednotlivými genotypy a mezi způsoby pěstování, zahrnující ovšem oba zdroje proměnlivosti G a P.

Touto analýzou jsem zjistila, že **rozdíly hodnot fyziologických charakteristik mezi genotypy v sérii I A** (Tab. 3), byly statisticky neprůkazné ve všech případech. Naopak ve většině případů jsem zaznamenala statisticky průkazné **rozdíly mezi hodnotami těchto charakteristik u rostlin pěstovaných v kontrolních či stresových podmínkách v sérii I A** (Tab. 3). Pokud se hodnoty parametrů lišily (Tab. 4), pak byly tyto nižší u rostlin vystavených stresu s jedinou výjimkou AHR (chl).

Rozdíly hodnot fyziologických charakteristik mezi genotypy v sérii II A (Tab. 5) byly průkazné pro AHR (LP), AHR (S), PS1 (LP), chl *a* (S), chl *a/b*, SpHm a RWC. Následná analýza rozdílů mezi jednotlivými genotypy (Tab. 6) ukázala, že hodnoty AHR (LP, S) byly statisticky průkazně vyšší u genotypu P₁, ale pouze v porovnání s kříženci generace F₂ (F₂, F₂'). Linie P₁ (2023) dosáhla nejvyšších hodnot i u znaků PS1 (LP) a chl *a* (S), ale zde se již průkazně lišila pouze od genotypů F₂. V případě poměru chl *a/b* jsem zjistila podobné výsledky s tím rozdílem, že hodnoty linie P₁ se lišily pouze od P₂, ale všichni kříženci se nelišili ani mezi sebou ani od obou mateřských linií. I analýza hodnot SpHm prokázala podobné vztahy mezi genotypy, jako analýza hodnot chl *a/b*, s výjimkou F₂', který vykazoval průkazně vyšší hodnoty než než linie P₂. Pouze v případě RWC byly hodnoty P₁ nejnižší. Statisticky průkazně se lišily jen od druhého rodiče P₂ a všichni kříženci F generací se od hodnot obou rodičovských linií průkazně neodlišovali. Statistiky průkazné byly ve většině

případů hodnoty **rozdílů jednotlivých fyziologických charakteristik mezi kontrolními a zaplavenými rostlinami v sérii II A** (Tab. 5). Pokud se tyto hodnoty lišily (Tab. 6), pak byly s výjimkou AHR (LP, chl, S) a chl *a/b* nižší pro rostliny vystavené stresu.

Podobné výsledky přinesla statistická analýza pokusných sérií bloku B. Zde se průkazně lišily **hodnoty fyziologických charakteristik mezi genotypy v sérii I B** (Tab. 7) u chl *a/b*, SpHm a na hranici průkaznosti se pohybovaly i hodnoty AHR (chl). Následně provedené Tukeyho testy kontrastu (Tab. 8) prokázaly, že mateřská linie P₁ (2023) dosáhla nejvyšších hodnot pro AHR (chl) a chl *a/b*, které se však v případě AHR (chl) významně lišily pouze od hodnot F₂ a u chl *a/b* pouze od F₁'. Hodnoty ostatních genotypů se významně nelišily od hodnot průkazně nejvyšších ani nejnižších genotypů. Genotypové rozdíly jsem zaznamenala i při analýze hodnot SpHm, kde byla opět nejvyšší linie P₁, ale v tomto případě se průkazně lišila jak od genotypu P₂, tak i od F₂. Ostatní genotypy se nelišily ani mezi sebou, ani od P₁, P₂ a F₂. Průkazné **rozdíly** jsem u **jednotlivých fyziologických charakteristik** v této sérii zjistila mezi kontrolními rostlinami a rostlinami pěstovanými v posthypoxických podmínkách (Tab. 7). Pokud se hodnoty průkazně lišily (Tab. 8), pak byly tyto nižší pro rostliny vystavené stresu s výjimkou AHR (chl), chl *a/b* a RWC, kde byly hodnoty stresovaných rostlin vyšší.

Rozdíly hodnot fyziologických charakteristik mezi genotypy v sérii II B (Tab. 9) byly statisticky průkazné pro AHR (LP, S, chl), RWC a SpHm. Tukeyho testy kontrastu (Tab. 10) vykazaly podobné výsledky pro hodnoty AHR (LP, S, chl) a SpHm. V těchto případech dosáhla mateřská linie P₁ (2023) nejvyšších hodnot, které se však průkazně lišily pouze od linie P₂, a ostatní genotypy se nelišily ani od P₁ ani od P₂. Pro hodnoty AHR (chl) navíc platilo, že linie P₁ se významně lišila nejen od P₂, ale i od obou F₁ kříženců. Naopak v případě RWC jsem nejvyšší hodnoty zjistila u genotypu P₂, ty byly však významně vyšší pouze v porovnání s F₂'. Ostatní genotypy se průkazně nelišily od P₂ ani F₂'. **Rozdíly fyziologických charakteristik mezi kontrolními rostlinami a rostlinami navrácenými do původních podmínek v sérii II B** (Tab. 9) byly průkazné ve většině případů. Nižší hodnoty se nejčastěji vyskytovaly u rostlin vystavených posthypoxickému stresu s výjimkou AHR (chl) a chl *a/b*, kde tomu bylo naopak (Tab. 10).

Tab. 1. Výsledky *analýzy variance trojného třídění s interakcemi* pro hodnoty fyziologických charakteristik u rostlin pěstovaných v optimálních a hypoxických podmínkách (blok A). Uvedeny jsou hladiny významnosti (*p*) pro zdroje proměnlivosti G...(genotyp), (P)...způsob pěstování (hypoxie, kontrola), (S)...pokusná série, GxP, GxS, PxS, GxPxS...interakce jednotlivých faktorů.

Znak/Faktor	genotyp	pěstování	série	GxP	GxS	PxS	GxPxS
AHR (LP)	0,046	0,110	0,003	0,892	0,775	0,049	0,952
AHR (S)	0,095	0,001	0,003	0,912	0,801	0,012	0,914
AHR (chl)	0,329	0,000	0,037	0,803	0,888	0,389	0,986
PS1 (LP)	0,056	0,000	0,519	0,357	0,551	0,001	0,366
PS1(S)	0,452	0,000	0,699	0,374	0,066	0,000	0,332
PS1 (chl)	0,304	0,335	0,007	0,220	0,105	0,253	0,462
chl a (S)	0,044	0,000	0,001	0,807	0,451	0,000	0,493
chl a (LP)	0,192	0,000	0,006	0,678	0,367	0,000	0,493
chl b (S)	0,353	0,000	0,732	0,686	0,494	0,001	0,763
chl b (LP)	0,119	0,000	0,669	0,650	0,417	0,000	0,608
chl (LP)	0,071	0,000	0,005	0,774	0,445	0,000	0,531
chl (S)	0,183	0,000	0,020	0,665	0,366	0,000	0,503
kar (LP)	0,284	0,000	0,462	0,967	0,322	0,001	0,779
kar (S)	0,419	0,142	0,750	0,830	0,182	0,000	0,672
chl a/b	0,042	0,023	0,000	0,868	0,753	0,083	0,848
chl/kar	0,111	0,000	0,000	0,345	0,801	0,193	0,618
SpHm	0,060	0,000	0,910	0,808	0,343	0,020	0,684
RWC	0,082	0,927	0,001	0,999	0,890	0,579	0,945

Tab. 2. Výsledky *analýzy variance trojného třídění s interakcemi* pro hodnoty fyziologických charakteristik u rostlin pěstovaných v optimálních a posthypoxických podmínkách (blok B). Uvedeny jsou hladiny významnosti (*p*) pro zdroje proměnlivosti G...(genotyp), (P)...způsob pěstování (posthypoxie, kontrola), (S)...pokusná série, GxP, GxS, PxS, GxPxS...interakce jednotlivých faktorů.

Znak/Faktor	genotyp	pěstování	série	GxP	GxS	PxS	GxPxS
AHR (LP)	0,004	0,000	0,054	0,142	0,503	0,723	0,989
AHR (S)	0,106	0,000	0,001	0,198	0,245	0,786	0,984
AHR (chl)	0,001	0,000	0,206	0,171	0,268	0,209	0,810
PS1 (LP)	0,137	0,000	0,664	0,091	0,122	0,008	0,716
PS1(S)	0,897	0,000	0,208	0,352	0,087	0,003	0,536
PS1 (chl)	0,137	0,795	0,026	0,823	0,339	0,187	0,798
chl a (S)	0,710	0,000	0,153	0,236	0,514	0,086	0,924
chl a (LP)	0,684	0,000	0,002	0,599	0,273	0,028	0,748
chl b (S)	0,856	0,000	0,803	0,276	0,616	0,177	0,963
chl b (LP)	0,478	0,000	0,033	0,599	0,282	0,053	0,822
chl (LP)	0,755	0,000	0,235	0,226	0,519	0,096	0,933
chl (S)	0,610	0,000	0,003	0,582	0,257	0,028	0,754
kar (LP)	0,984	0,000	0,356	0,366	0,428	0,005	0,999
kar (S)	0,078	0,000	0,001	0,905	0,216	0,001	0,792
chl a/b	0,668	0,000	0,010	0,998	0,959	0,261	0,962
chl/kar	0,408	0,000	0,273	0,481	0,937	0,640	0,840
SpHm	0,000	0,141	0,000	0,240	0,593	0,032	0,741
RWC	0,220	0,145	0,371	0,651	0,376	0,011	0,928

Tab. 3. Výsledky *analýzy variance dvojného třídění s interakcemi* pro hodnoty fyziologických charakteristik u rostlin pěstovaných v *kontrolních a hypoxických podmínkách v pokusné sérii I A*. Uvedeny jsou hladiny významnosti (*p*) pro zdroje proměnlivosti *G*...(genotyp), (*P*)...způsob pěstování (hypoxie, kontrola), *GxP*...interakce faktorů.

Znak/Faktor	genotyp	pěstování	GxP
AHR (LP)	0,514	0,828	0,979
AHR (S)	0,704	0,623	0,936
AHR (chl)	0,773	0,001	0,982
PS1 (LP)	0,195	0,000	0,188
PS1(S)	0,425	0,000	0,143
PS1 (chl)	0,397	0,908	0,176
chl a (S)	0,341	0,000	0,696
chl a (LP)	0,693	0,000	0,524
chl b (S)	0,331	0,000	0,702
chl b (LP)	0,381	0,000	0,478
chl (LP)	0,314	0,000	0,672
chl (S)	0,620	0,000	0,493
kar (LP)	0,583	0,000	0,983
kar (S)	0,398	0,000	0,740
chl a/b	0,830	0,710	0,991
chl/kar	0,327	0,000	0,524
SpHm	0,570	0,001	0,689
RWC	0,552	0,724	0,996

Tab. 4. Výsledky *Tukeyho testů mnohonásobného porovnání* fyziologických charakteristik pro stanovení rozdílů mezi *genotypy* P_1 (2023), P_2 (CE704), F_1 (2023xCE704), F_1' (CE704x2023), F_2 ($F_1 \times F_1$), F_2' ($F_1' \times F_1'$) a mezi způsobem *pěstování* (kontrola, hypoxie) v pokusné sérii I A. Uvedeny jsou statisticky průkazné rozdíly ($a > b$, ale a ani b se neliší od ab).

Genotyp	P1	P2	F1	F1'	F2	F2'	Pěstování	kontrola	hypoxie
AHR (LP)	a	a	a	a	a	a	AHR (LP)	a	a
AHR (S)	a	a	a	a	a	a	AHR (S)	a	a
AHR (chl)	a	a	a	a	a	a	AHR (chl)	b	a
PS1 (LP)	a	a	a	a	a	a	PS1 (LP)	a	b
PS1(S)	a	a	a	a	a	a	PS1(S)	a	b
PS1 (chl)	a	a	a	a	a	a	PS1 (chl)	a	a
chl a (S)	a	a	a	a	a	a	chl a (S)	a	b
chl a (LP)	a	a	a	a	a	a	chl a (LP)	a	b
chl b (S)	a	a	a	a	a	a	chl b (S)	a	b
chl b (LP)	a	a	a	a	a	a	chl b (LP)	a	b
chl (LP)	a	a	a	a	a	a	chl (LP)	a	b
chl (S)	a	a	a	a	a	a	chl (S)	a	b
kar (LP)	a	a	a	a	a	a	kar (LP)	a	b
kar (S)	a	a	a	a	a	a	kar (S)	a	b
chl a/b	a	a	a	a	a	a	chl a/b	a	a
chl/kar	a	a	a	a	a	a	chl/kar	a	b
SpHm	a	a	a	a	a	a	SpHm	a	b
RWC	a	a	a	a	a	a	RWC	a	a

Tab. 5. Výsledky *analýzy variance dvojného třídění s interakcemi* pro hodnoty fyziologických charakteristik u rostlin pěstovaných v *kontrolních a hypoxických podmínkách v pokusné sérii II A*. Uvedeny jsou hladiny významnosti (*p*) pro zdroje proměnlivosti *G...*(genotyp), (*P*)...způsob pěstování (hypoxie, kontrola), *GxP...*interakce faktorů.

Znak/Faktor	genotyp	pěstování	GxP
AHR (LP)	0,014	0,001	0,627
AHR (S)	0,025	0,000	0,828
AHR (chl)	0,144	0,000	0,489
PS1 (LP)	0,019	0,000	0,801
PS1(S)	0,086	0,300	0,781
PS1 (chl)	0,062	0,099	0,770
chl a (S)	0,085	0,000	0,605
chl a (LP)	0,129	0,006	0,632
chl b (S)	0,525	0,000	0,742
chl b (LP)	0,176	0,000	0,742
chl (LP)	0,136	0,000	0,634
chl (S)	0,143	0,003	0,656
kar (LP)	0,121	0,002	0,681
kar (S)	0,229	0,053	0,759
chl a/b	0,024	0,003	0,573
chl/kar	0,382	0,000	0,391
SpHm	0,018	0,000	0,836
RWC	0,019	0,573	0,803

Tab. 6. Výsledky *Tukeyho testů mnohonásobného porovnání* fyziologických charakteristik pro stanovení rozdílů mezi *genotypy* P_1 (2023), P_2 (CE704), F_1 (2023xCE704), F_1' (CE704x2023), F_2 ($F_1 \times F_1$), F_2' ($F_1' \times F_1'$) a mezi způsobem *pěstování* (kontrola, hypoxie) v pokusné sérii II A. Uvedeny jsou statisticky průkazné rozdíly ($a > b$, ale a ani b se neliší od ab).

Genotyp	P1	P2	F1	F1'	F2	F2'	Pěstování	kontrola	hypoxie
AHR (LP)	a	ab	ab	ab	b	b	AHR (LP)	b	a
AHR (S)	a	ab	ab	ab	b	b	AHR (S)	b	a
AHR (chl)	a	a	a	a	a	a	AHR (chl)	a	b
PS1 (LP)	a	ab	ab	ab	b	ab	PS1 (LP)	a	a
PS1(S)	a	a	a	a	a	a	PS1(S)	a	a
PS1 (chl)	a	a	a	a	a	a	PS1 (chl)	a	b
chl a (S)	a	ab	ab	ab	b	ab	chl a (S)	a	b
chl a (LP)	a	a	a	a	a	a	chl a (LP)	a	b
chl b (S)	a	a	a	a	a	a	chl b (S)	a	b
chl b (LP)	a	a	a	a	a	a	chl b (LP)	a	b
chl (LP)	a	a	a	a	a	a	chl (LP)	a	b
chl (S)	a	a	a	a	a	a	chl (S)	a	b
kar (LP)	a	a	a	a	a	a	kar (LP)	a	b
kar (S)	a	a	a	a	a	a	kar (S)	a	a
chl a/b	a	b	ab	ab	ab	ab	chl a/b	b	a
chl/kar	a	a	a	a	a	a	chl/kar	a	b
SpHm	a	b	ab	ab	ab	a	SpHm	a	b
RWC	b	a	ab	ab	ab	ab	RWC	a	a

Tab. 7. Výsledky *analýzy variance dvojného třídění s interakcemi* pro hodnoty fyziologických charakteristik u rostlin pěstovaných v *kontrolních a posthypoxických podmínkách v pokusné sérii I B*. Uvedeny jsou hladiny významnosti (*p*) pro zdroje proměnlivosti *G...*(genotyp), (*P*)...způsob pěstování (posthypoxie, kontrola), *GxP...*interakce faktorů.

Znak/Faktor	genotyp	pěstování	GxP
AHR (LP)	0,166	0,000	0,599
AHR (S)	0,293	0,000	0,663
AHR (chl)	0,069	0,000	0,563
PS1 (LP)	0,222	0,000	0,450
PS1(S)	0,165	0,000	0,822
PS1 (chl)	0,438	0,154	0,823
chl a (S)	0,476	0,000	0,734
chl a (LP)	0,180	0,000	0,919
chl b (S)	0,739	0,000	0,677
chl b (LP)	0,199	0,000	0,887
chl (LP)	0,547	0,000	0,723
chl (S)	0,187	0,000	0,914
kar (LP)	0,717	0,000	0,633
kar (S)	0,054	0,000	0,890
chl a/b	0,025	0,000	0,905
chl/kar	0,601	0,000	0,760
SpHm	0,015	0,673	0,856
RWC	0,597	0,037	0,802

Tab. 8. Výsledky *Tukeyho testů mnohonásobného porovnání* fyziologických charakteristik pro stanovení rozdílů mezi *genotypy* P_1 (2023), P_2 (CE704), F_1 (2023xCE704), F_1' (CE704x2023), F_2 ($F_1 \times F_1$), F_2' ($F_1' \times F_1'$) a mezi *způsobem pěstování* (kontrola, posthypoxie) v *pokusné sérii I B*. Uvedeny jsou statisticky průkazné rozdíly (*a* > *b*, ale *a* ani *b* se neliší od *ab*).

Genotyp	P1	P2	F1	F1'	F2	F2'	Pěstování	kontrola	posthypoxie
AHR (LP)	a	a	a	a	a	a	AHR (LP)	a	b
AHR (S)	a	a	a	a	a	a	AHR (S)	a	b
AHR (chl)	a	ab	ab	ab	b	ab	AHR (chl)	b	a
PS1 (LP)	a	a	a	a	a	a	PS1 (LP)	a	b
PS1(S)	a	a	a	a	a	a	PS1(S)	a	b
PS1 (chl)	a	a	a	a	a	a	PS1 (chl)	a	a
chl a (S)	a	a	a	a	a	a	chl a (S)	a	b
chl a (LP)	a	a	a	a	a	a	chl a (LP)	a	b
chl b (S)	a	a	a	a	a	a	chl b (S)	a	b
chl b (LP)	a	a	a	a	a	a	chl b (LP)	a	b
chl (LP)	a	a	a	a	a	a	chl (LP)	a	b
chl (S)	a	a	a	a	a	a	chl (S)	a	b
kar (LP)	a	a	a	a	a	a	kar (LP)	a	b
kar (S)	a	a	a	a	a	a	kar (S)	a	b
chl a/b	a	ab	ab	b	ab	ab	chl a/b	b	a
chl/kar	a	a	a	a	a	a	chl/kar	a	a
SpHm	a	b	ab	ab	b	ab	SpHm	a	b
RWC	a	a	a	a	a	a	RWC	b	a

Tab. 9. Výsledky *analýzy variance dvojného třídění s interakcemi* pro hodnoty fyziologických charakteristik u rostlin pěstovaných v *kontrolních a posthypoxických podmínkách v pokusné sérii II B*. Uvedeny jsou hladiny významnosti (*p*) pro zdroje proměnlivosti *G...*(genotyp), (*P*)...způsob pěstování (posthypoxie, kontrola), *GxP...*interakce faktorů.

Znak/Faktor	genotyp	pěstování	GxP
AHR (LP)	0,022	0,000	0,380
AHR (S)	0,108	0,000	0,442
AHR (chl)	0,005	0,013	0,303
PS1 (LP)	0,108	0,000	0,221
PS1(S)	0,544	0,000	0,265
PS1 (chl)	0,174	0,526	0,803
chl a (S)	0,765	0,000	0,363
chl a (LP)	0,886	0,000	0,444
chl b (S)	0,738	0,000	0,518
chl b (LP)	0,727	0,000	0,507
chl (LP)	0,737	0,000	0,357
chl (S)	0,826	0,000	0,419
kar (LP)	0,736	0,000	0,807
kar (S)	0,295	0,000	0,818
chl a/b	0,990	0,009	0,999
chl/kar	0,721	0,000	0,584
SpHm	0,002	0,003	0,082
RWC	0,025	0,094	0,769

Tab. 10. Výsledky *Tukeyho testů mnohonásobného porovnání* fyziologických charakteristik pro stanovení rozdílů mezi *genotypy* P_1 (2023), P_2 (CE704), F_1 (2023xCE704), F_1' (CE704x2023), F_2 ($F_1 \times F_1$), F_2' ($F_1' \times F_1'$) a mezi způsobem *pěstování* (kontrola, posthypoxie) v *pokusné sérii II B*. Uvedeny jsou statisticky průkazné rozdíly ($a > b$, ale a ani b se neliší od ab).

Genotyp	P1	P2	F1	F1'	F2	F2'	Pěstování	kontrola	posthypoxie
AHR (LP)	a	b	ab	ab	ab	ab	AHR (LP)	a	b
AHR (S)	a	b	ab	ab	ab	ab	AHR (S)	a	b
AHR (chl)	a	b	b	b	ab	ab	AHR (chl)	b	a
PS1 (LP)	a	a	a	a	a	a	PS1 (LP)	a	b
PS1(S)	a	a	a	a	a	a	PS1(S)	a	b
PS1 (chl)	a	a	a	a	a	a	PS1 (chl)	a	a
chl a (S)	a	a	a	a	a	a	chl a (S)	a	b
chl a (LP)	a	a	a	a	a	a	chl a (LP)	a	b
chl b (S)	a	a	a	a	a	a	chl b (S)	a	b
chl b (LP)	a	a	a	a	a	a	chl b (LP)	a	b
chl (LP)	a	a	a	a	a	a	chl (LP)	a	b
chl (S)	a	a	a	a	a	a	chl (S)	a	b
kar (LP)	a	a	a	a	a	a	kar (LP)	a	b
kar (S)	a	a	a	a	a	a	kar (S)	a	b
chl a/b	a	a	a	a	a	a	chl a/b	b	a
chl/kar	a	a	a	a	a	a	chl/kar	a	b
SpHm	a	b	ab	ab	ab	ab	SpHm	a	b
RWC	ab	a	ab	ab	ab	b	RWC	a	a

Pro detailní hodnocení měřených charakteristik jsem použila **analýzu variance jednoduchého třídění**, která umožnila zhodnotit rozdíly se zahrnutím jediného zdroje proměnlivosti. Tímto způsobem mohla nejpřesněji posoudit **rozdíly mezi jednotlivými genotypy** v rámci každé série a způsobu pěstování a také **vliv podmínek pěstování** pro každý genotyp zvlášť v jednotlivých sériích.

Během zaplavení se hodnoty **aktivity Hillovy reakce (AHR) vyjádřené v přepočtu na jednotku listové plochy (LP)** (Obr. 1) u jednotlivých genotypů téměř neměnily, pouze v sérii II A jsem zjistila mírný nárůst hodnot AHR (LP) u zatopených rostlin, který byl ovšem u všech genotypů statisticky neprůkazný (Tab. 11-14, 19-22, 27-30, 35-38, 43-46, 51-54). Rozdíly nebyly patrné ani mezi jednotlivými genotypy u rostlin v hypoxických podmínkách, pouze u kontrolních rostlin série II A vykazovala mateřská linie CE704 mírně nižší hodnoty AHR (LP) než ostatní genotypy, tyto rozdíly však opět nebyly průkazné (Tab. 59-66). Posthypoxické podmínky již vedly k výraznějšímu snížení hodnot AHR (LP) oproti kontrole, a to bylo statisticky průkazné u genotypů F_1 (I, II B; Tab. 31-34), F_1' (I B; Tab. 39,40) a F_2 (II B; Tab. 49, 50). U obou sérií bloku B (posthypoxický stres) dosahovala mateřská linie 2023 (P_1) nejvyšších hodnot AHR (LP), ovšem statisticky průkazně se tato linie odlišovala od ostatních genotypů pouze v sérii II B s výjimkou generace F_2' , která se od 2023 ani od zbývajících genotypů průkazně nelišila (Tab. 73, 74). Mezi genotypy kontrolních rostlin se hodnoty AHR výrazně nelišily, kromě linie CE704 (P_2), která v sérii I B i II B vykazovala hodnoty nižší v porovnání s ostatními, tento rozdíl ovšem nebyl statisticky významný (Tab. 67-70).

Aktivita Hillovy reakce (AHR) vyjádřená v přepočtu na jednotku obsahu chlorofylu (chl) (Obr. 2) se v důsledku zaplavení zvýšila výrazněji než AHR (LP). Statisticky významně vyšší hodnoty AHR (chl) vlivem zaplavení jsem prokázala u genotypů P_1 (II A; Tab. 13, 14), P_2 (II A; Tab. 21, 22), F_1 (II A; Tab. 29, 30), F_1' (II A; Tab. 37, 38), F_2 (I A, II A; Tab. 43-46). Průkazné rozdíly mezi genotypy kontrolních či zaplavených rostlin se nevyskytovaly (Tab. 59-66). Během posthypoxického stresu (I B, II B) však nebyl patrný tak výrazný pokles hodnot stresovaných rostlin, jako v případě AHR (LP) a mnoho genotypů dosahovalo stále vyšších hodnot u posthypoxií stresovaných rostlin v porovnání s kontrolou. Statisticky průkazně vyšší hodnoty AHR (chl) jsem zjistila u genotypu P_1 (I B, II B; Tab. 15-18), P_2 (I B; Tab. 23, 24), F_2' (I B; Tab. 55, 56). Linie 2023 svými hodnotami AHR (chl) převýšila hodnoty ostatních genotypů rostlin jak v kontrolních, tak posthypoxických

podmínkách, ale tyto rozdíly byly průkazné pouze u rostlin v posthypoxických podmínkách série II B (Tab. 73, 74). Zde byly hodnoty AHR (chl) u linie 2023 (P_1) významě vyšší v porovnání s genotypy P_2 a F_1 , ovšem nelišily se již průkazně od F_1' , F_2 a F_2' .

Aktivita Hillovy reakce (AHR) vyjádřená v přepočtu na jednotku suché hmotnosti listu (S) (Obr. 3) během působení hypoxie oproti kontrole výrazněji stoupla pouze v sérii II A, kde byl tento nárůst statisticky průkazný v případě genotypu P_2 (Tab. 21, 22), F_1 (Tab. 29, 30), F_1' (Tab. 37, 38), F_2 (Tab. 45, 46), a zůstala téměř nezměněna v sérii I A. Rozdíly mezi genotypy nebyly statisticky průkazné (Tab. 59-66). V posthypoxických podmínkách (I B, II B) byly již hodnoty AHR (S) nižší ve srovnání s kontrolou podobně jako v případě AHR (LP). Statisticky průkazné snížení vykazoval genotyp F_1 (I B, II B; Tab. 31-34), F_1' (I B; Tab. 39, 40). Rozdíly mezi genotypy byly průkazné pouze v sérii II B u rostlin pod vlivem posthypoxického stresu, kde nejvyšších hodnot dosáhl genotyp P_1 (Tab. 73, 74), který se však významě lišil pouze od hodnot genotypů P_2 a F_1 . Hodnoty P_1 , P_2 a F_1 se pak statisticky významně nelišily od genotypů F_1' , F_2 a F_2' .

U aktivity fotosystému 1 (PS1) vyjádřené v přepočtu na jednotku listové plochy (LP) (Obr. 4) jsem pozorovala pokles hodnot již v důsledku hypoxie u všech genotypů. Výraznější pokles hodnot PS1 (LP) byl patrný u série I A, kde byl statisticky průkazný u genotypů P_2 (Tab. 19, 20), F_1 (Tab. 27, 28), F_1' (Tab. 35, 36), F_2' (Tab. 51, 52) v porovnání s II A, kde se průkazné rozdíly vyskytly jen v případě P_1 (Tab. 13, 14), F_2 (Tab. 45, 46). Rozdíly mezi jednotlivými genotypy v rámci kontrolních a zaplavených rostlin průkazné nebyly (Tab. 59-66). V porovnání s hypoxickými podmínkami, se hodnoty PS1 (LP) snížily vlivem posthypoxického stresu daleko více a tento pokles byl statisticky průkazný ve všech případech s výjimkou F_2' (II B; Tab. 57, 58). Rozdíly mezi genotypy rostlin bloku B opět nebyly statisticky průkazné (Tab. 67-74).

Při vyjádření hodnot **aktivity fotosystému 1 (PS1) v přepočtu na jednotku obsahu chlorofylu (chl)** (Obr. 5) jsem nepozorovala téměř žádné změny v důsledku hypoxie ani po obnově standardních podmínek, což dokládají i výsledky statistické analýzy (Tab. 11-54). Taktéž rozdíly mezi genotypy pro PS1 (chl) nebyly statisticky průkazné (Tab. 59-66).

Aktivita fotosystému 1 (PS1) vyjádřená v přepočtu na jednotku suché hmotnosti listu (S) (Obr. 6) odpovídala změnám PS1 (LP). Hodnoty PS1 (S) se během zaplavení opět snížily zvláště v sérii I A, což však statistická analýza prokázala pouze v případě genotypů F_1' (Tab. 35, 36) a F_2' (Tab. 51, 52), kdežto v sérii II A byly všechny

rozdíly neprůkazné (Tab. 13, 14, 21, 22, 29, 30, 37, 38, 45, 46, 53, 54). V podmínkách posthypoxického stresu u obou sérií (I B, II B) byl opět patrný výrazný pokles hodnot PS1 (S) stresovaných rostlin oproti kontrole než tomu bylo u rostlin během působení hypoxie. Tento pokles byl průkazný v případě genotypů P₁ (I B, II B; Tab. 15-18), P₂ (I B; Tab. 23, 24), F₁ (I B, II B; Tab. 31-34), F₁' (I B, II B; 39-42), F₂ (I B, II B; Tab. 47-50), F₂' (I B; Tab. 55, 56). Průkazné rozdíly mezi genotypy se nevyskytovaly ani u jedné série v obou pokusných blocích (Tab. 59-74).

Vzhledem k tomu, že hodnoty AHR a PS1 vyjádřené v přepočtu na jednotku obsahu chlorofylu odrážejí nejméně přesně skutečnou aktivitu fotosystémů *in vivo*, vyjádřila jsem je i procentuálně ve vztahu k hodnotám obsahu chlorofylu (LP), které jsem měla také k dispozici. Takto přepočtené hodnoty jsou pak vzájemně porovnatelné a lépe odrážejí aktuální stav obou fotosystémů. **Shrnutí těchto relativních hodnot** vyjadřuje Tab. 75 (AHR) a Tab. 76 (PS1). Záporné hodnoty v tabulce pro AHR představují reálné zvýšení průměrných hodnot rostlin pod vlivem hypoxie u všech genotypů v sérii II A a u genotypu 2023 a F₁' (CE704x2023) v sérii I A. Kladné hodnoty pak znamenají reálné snížení hodnot pro ostatní relativní hodnoty AHR a také pro všechny hodnoty PS 1.

Z výše uvedených výsledků analýzy rozdílů **AHR a PSI** v kontrolních a stresových podmínkách vyplývá, že hypoxický stres ovlivnil tyto fotosyntetické znaky méně než stres posthypoxický. Výrazněji se negativní efekty působení stresu projeví spíše na hodnotách PS1 v porovnání s AHR. Rozdíly mezi genotypy v těchto znacích se vyskytovaly pouze v sérii II B, a to u AHR, kde pro všechny typy přepočtů dosahovala shodně linie P₁ hodnot nejvyšších a ty byly ve všech třech případech AHR (LP, S, chl) průkazně nižší než genotypy P₂ a F₁ (Tab. 73, 74).

Všechny genotypy reagovaly na zaplavení také poklesem hodnot **obsahu chlorofylu (a+b) vyjádřenou v přepočtu na jednotku listové plochy (LP)** (Obr. 7), který se ještě zvýraznil v podmínkách obnovy. Statistická analýza nepotvrdila tento pokles pouze v případě P₂ (II B; Tab. 25, 26) a F₁' (II A; Tab. 35, 36) a i zde se hodnoty analýzy variance pohybovaly na hranici průkaznosti. Rozdíly mezi genotypy nebyly statisticky průkazné ani u jedné série v obou blocích pokusů (Tab. 59-74).

Poměr obsahu fotosyntetických pigmentů (chl a/b) (Obr. 8) se v důsledku působení hypoxie i posthypoxie zvýšil. Statistická analýza prokázala významné zvýšení

tohoto poměru během zaplavení u genotypu F_1 (II A; Tab. 29, 30) a v posthypoxických podmínkách u genotypů P_2 (I B; Tab. 23, 24) a F_1' (I B; Tab. 31, 32). Statisticky průkazné rozdíly mezi genotypy byly zjištěny pouze u kontrolní série I B (Tab. 67), ale Tukeyho test kontrastu již tyto odlišnosti nezachytil (Tab. 68).

Obsah karotenoidů vyjádřený v přepočtu na jednotku listové plochy (LP) (Obr. 9) se zvláště v sérii I A během působení záplavového stresu statisticky průkazně snížil u všech genotypů (Tab. 11, 12, 19, 20, 27, 28, 35, 36, 43, 44, 51, 52). Pokles nebyl tak výrazný v sérii II A a v této sérii nebyl statisticky průkazný u genotypů P_2 (Tab. 21, 22), F_1' (Tab. 37, 38) a F_2' (Tab. 53, 54). Naproti tomu vlivem posthypoxického stresu, byl pokles obsahu karotenoidů výrazný v obou sériích a průkazné rozdíly existovaly u všech genotypů s výjimkou genotypu P_2 (II B; Tab. 25, 26) a i zde se hodnota p pohybovala na hranici statistické průkaznosti (Tab. 25). Průkazné rozdíly mezi genotypy nebyly zjištěny ani u jediné ze sérií v obou blocích pokusů (Tab. 59-74).

Poměr celkového chlorofylu a karotenoidů (chl/kar) (Obr. 10) se v důsledku stresu výrazně snížil v obou blocích pokusů. Avšak snížení tohoto poměru v posthypoxických podmínkách je srovnatelné se snížením hodnot chl/kar během zaplavení. Statistická analýza doložila, že se hodnoty chl/kar významně lišily u většiny genotypů kromě genotypu P_1 (I B; Tab. 15, 16) a P_2 (II B; Tab. 25, 26). Rozdíly mezi genotypy ve všech sériích v obou blocích nebyly statisticky průkazné (Tab. 59-74).

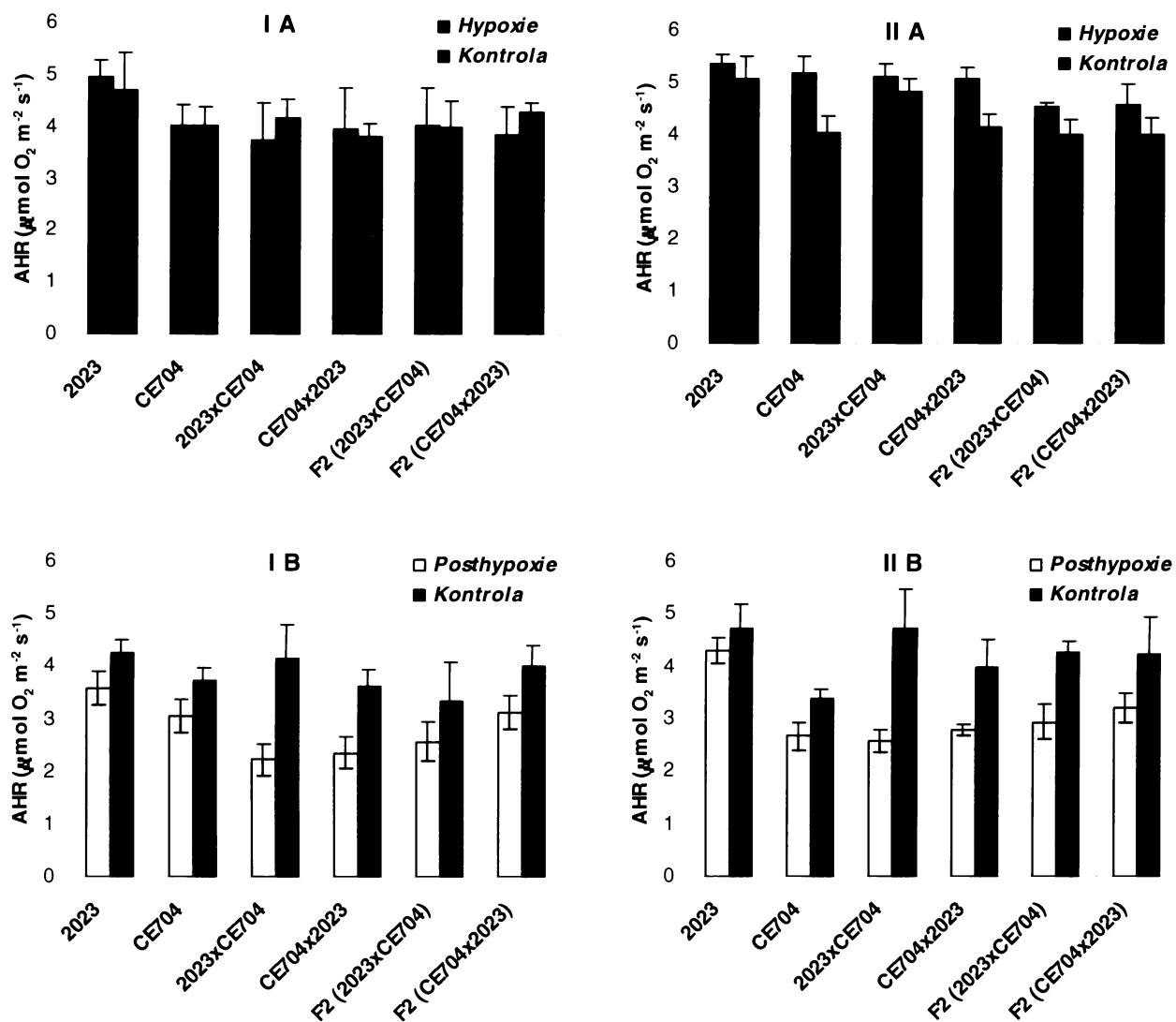
Relativní obsah vody (RWC) (Obr. 11) se během hypoxického stresu v porovnání s kontrolou statisticky významně nezměnil (Tab. 11-14, 19-22, 27-30, 35-38, 43-46, 51-54). V posthypoxických podmínkách jsem pozorovala u některých genotypů převážně v sérii I B mírné zvýšení RWC oproti kontrole, ale u žádného z genotypů se tyto hodnoty statisticky průkazně nelišily (Tab. 15-18, 23-26, 31-34, 39-42, 47-50, 55-58). Průkazné rozdíly mezi genotypy jsem nezjistila (Tab. 59-74), ačkoliv se zde objevovala tendence mateřské linie P_2 převyšovat hodnoty ostatních genotypů v obou sériích bloku A i B.

Specifická hmotnost sušiny vyjádřená v přepočtu na jednotku hmotnosti (SpHm) (Obr. 12) se snižovala stejně jak u zaplavených rostlin tak u rostlin pěstovaných v posthypoxických podmínkách v porovnání s kontrolními rostlinami. U rostlin v hypoxických podmínkách bylo toto snížení statisticky průkazné u genotypů P_1 (II A; Tab. 13, 14), F_1 (II A; Tab. 29, 30), F_1' (II A; Tab. 37, 38), F_2 (II A; Tab. 45, 46), F_2' (II A; Tab. 53, 54) a u rostlin v posthypoxických podmínkách u genotypů F_1 (I B; Tab. 31, 32), F_1' (II B; Tab. 41, 42), F_2 (II B; Tab. 49, 50), F_2' (II B; Tab. 57, 58). Rozdíly mezi genotypy byly

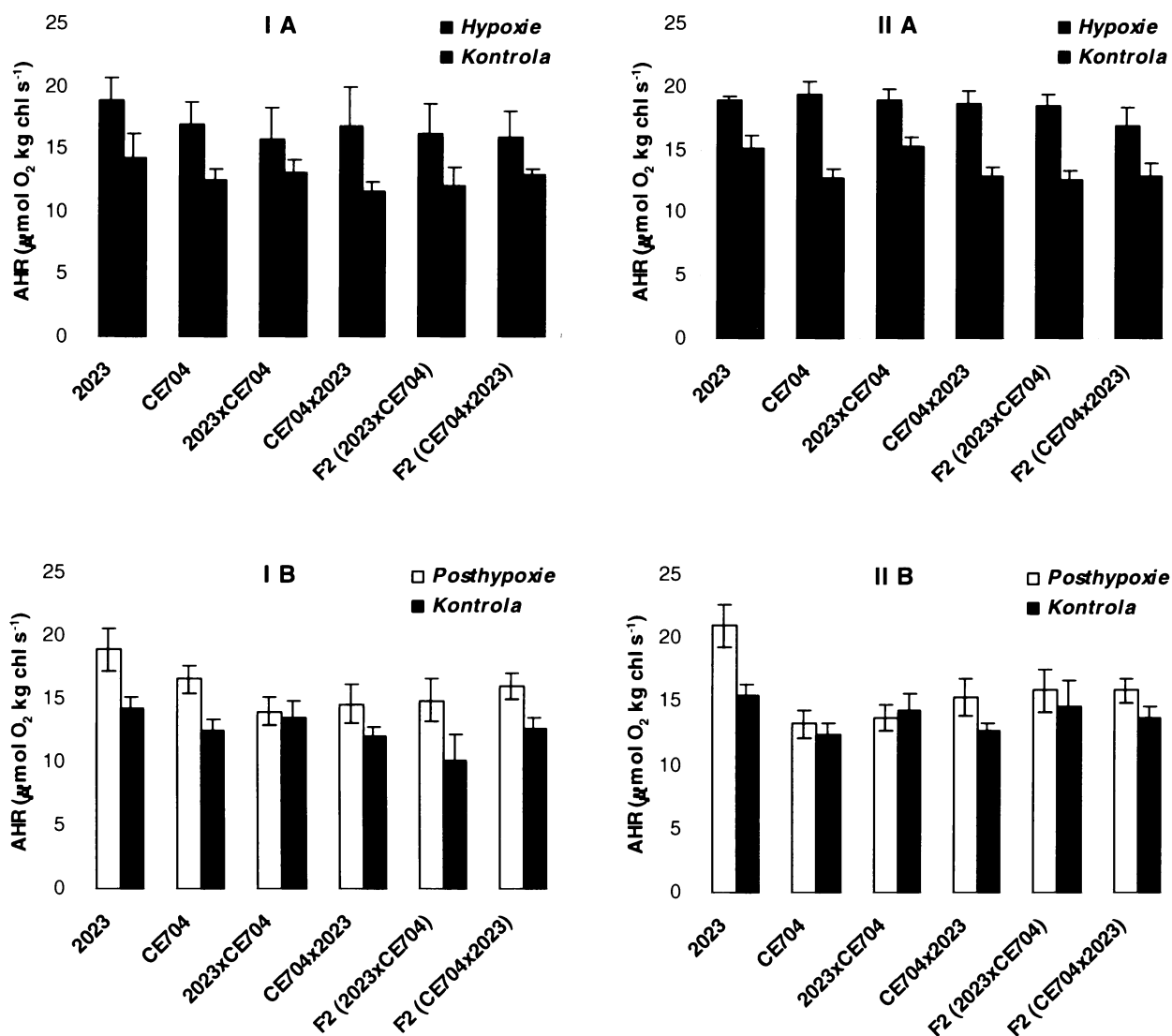
průkazné pouze u rostlin v posthypoxických podmínkách v sérii I B (Tab. 71, 72). Zde dosáhla statisticky významně nejvyšších hodnot linie P₁, která se průkazně lišila pouze od genotypů P₂, F₁ a F₂. Genotypy F₁' a F₂' se průkazně nelišily ani od P₁ a P₂, ani od F₁ a F₂. V sérii II B (Tab. 73, 74) statisticky průkazně nejvyšších hodnot dosáhla opět linie P₁ a zbylé genotypy se mezi sebou navzájem nelišily.

Ze statistického hodnocení obsahu fotosyntetických pigmentů v přepočtu na jednotku suché hmotnosti (S) vplynuly podobné výsledky jako z hodnocení těchto charakteristik vyjádřených v přepočtu na jednotku listové plochy (LP). Vzhledem k tomu, že přepočet na LP přesněji vystihuje reálnou situaci in vivo, nejsou tyto výsledky detailněji popsány. Hodnoty obsahu chlorofylu a a b vyjádřené v přepočtu na LP a S neuvádím; o jejich změnách v hypoxických/posthypoxických podmínkách vypovídají Obr. 7, 8, 10.

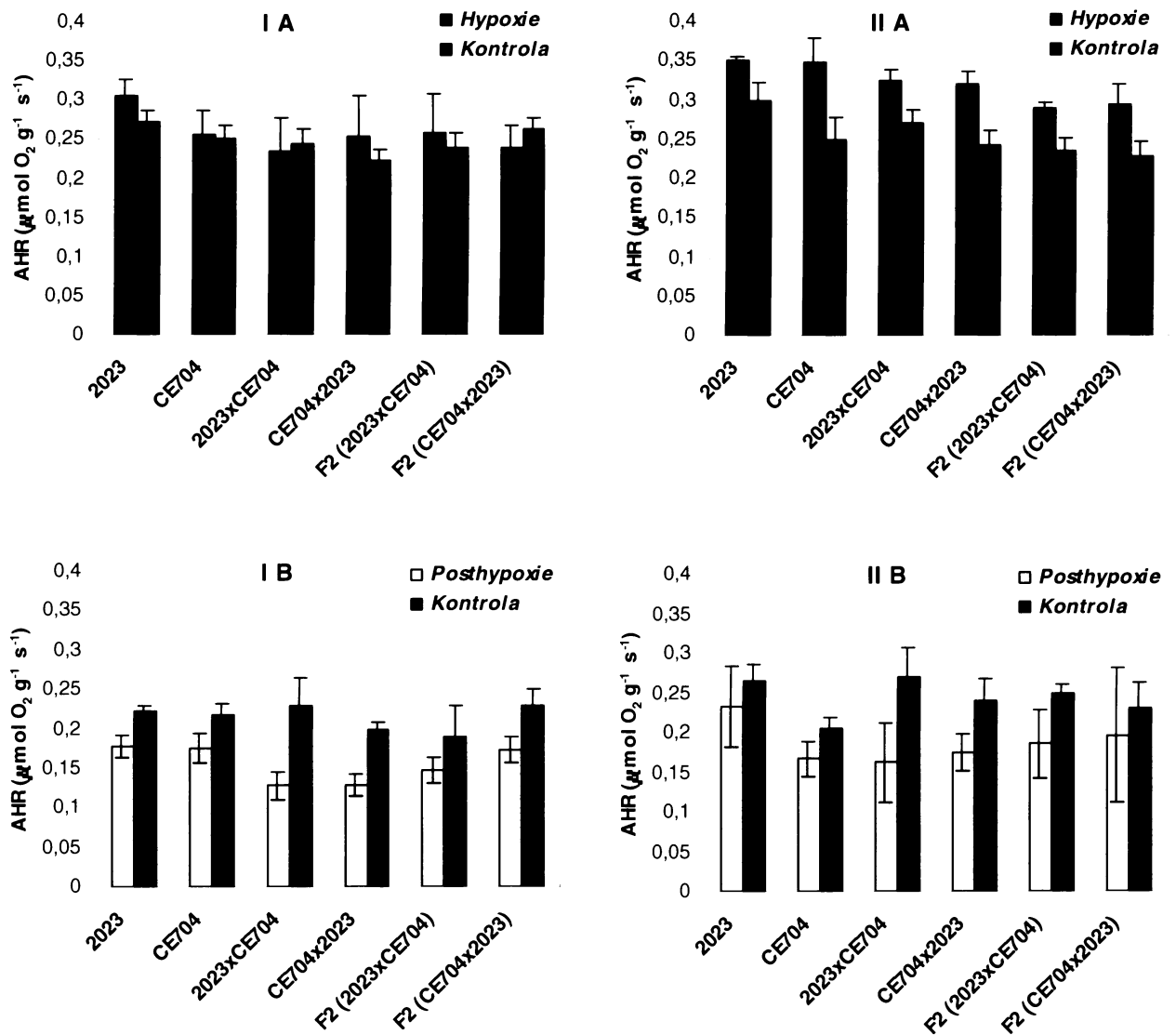
Obr.1. Aktivita fotosystému 2 (AHR) vyjádřená v přepočtu na jednotku listové plochy u rostlin pěstovaných v kontrolních, hypoxických (A) a posthypoxických (B) podmínkách ve dvou pokusných sériích (I, II). Uvedeny jsou průměrné hodnoty a jejich střední chyby průměru pro jednotlivé genotypy.



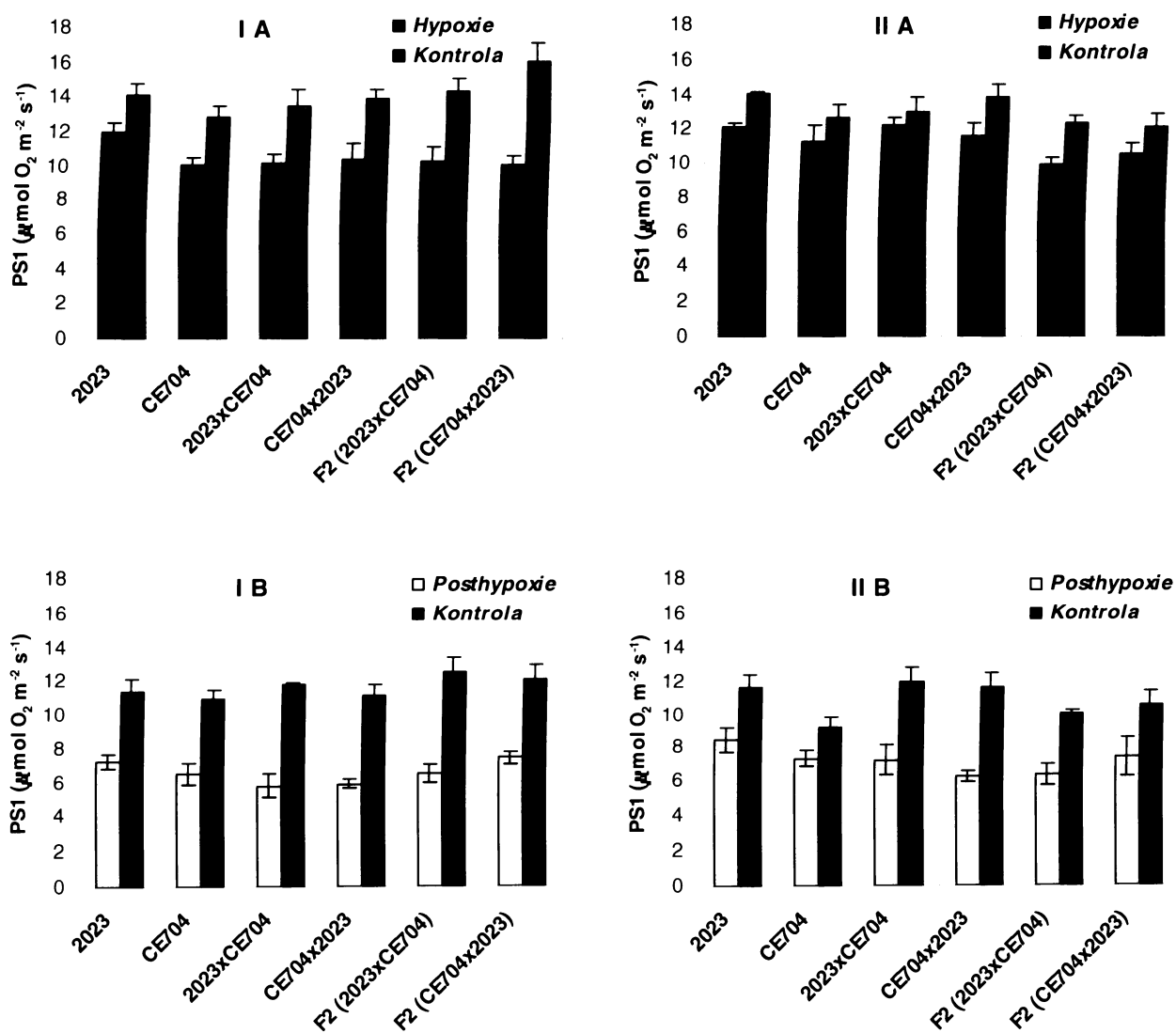
Obr. 2. Aktivita fotosystému 2 (AHR) vyjádřená v přepočtu na jednotku obsahu chlorofylu u rostlin pěstovaných v kontrolních, hypoxických (A) a posthypoxických (B) podmínkách ve dvou pokusných sériích (I, II). Uvedeny jsou průměrné hodnoty a jejich střední chyby průměru pro jednotlivé genotypy.



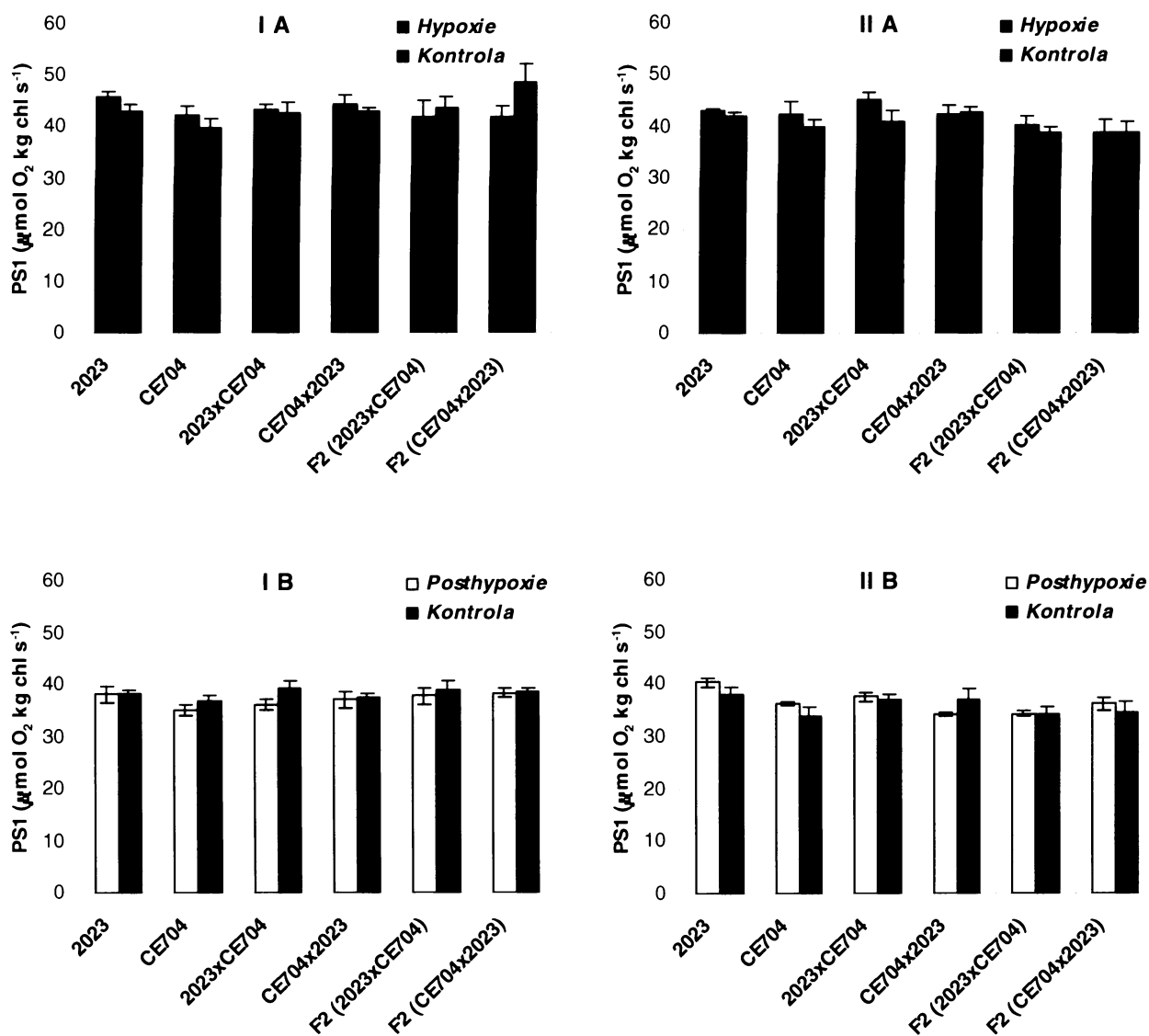
Obr. 3. Aktivita fotosystému 2 (AHR) vyjádřená v přepočtu na jednotku suché hmotnosti listové čepele u rostlin pěstovaných v kontrolních, hypoxických (A) a posthypoxických (B) podmínkách ve dvou pokusných sériích (I, II). Uvedeny jsou průměrné hodnoty a jejich střední chyby průměru pro jednotlivé genotypy.



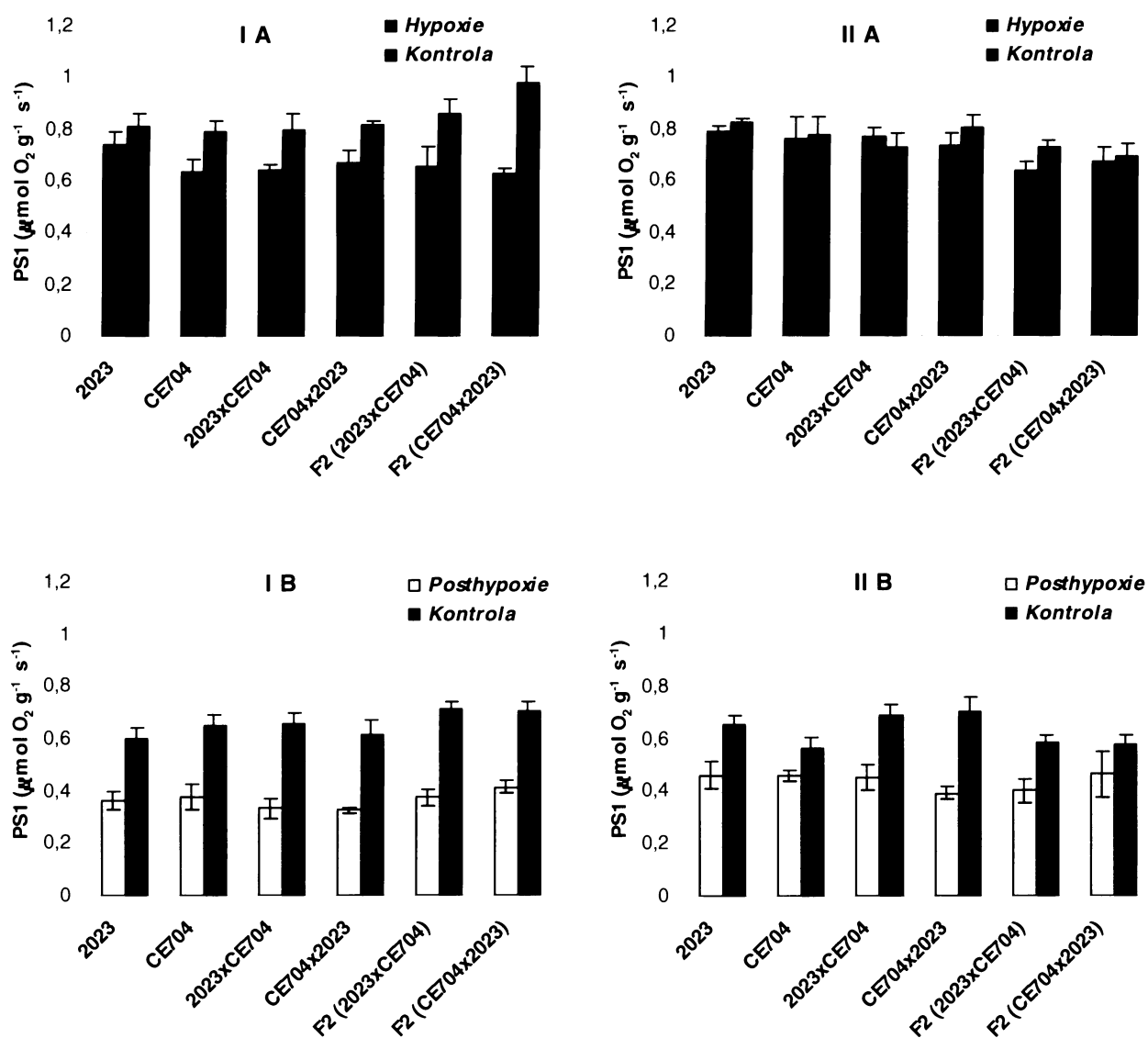
Obr.4. Aktivita fotosystému I (PSI) vyjádřená v přepočtu na jednotku listové plochy u rostlin pěstovaných v kontrolních, hypoxických (A) a posthypoxických (B) podmínkách ve dvou pokusných sériích (I, II). Uvedeny jsou průměrné hodnoty a jejich střední chyby průměru pro jednotlivé genotypy.



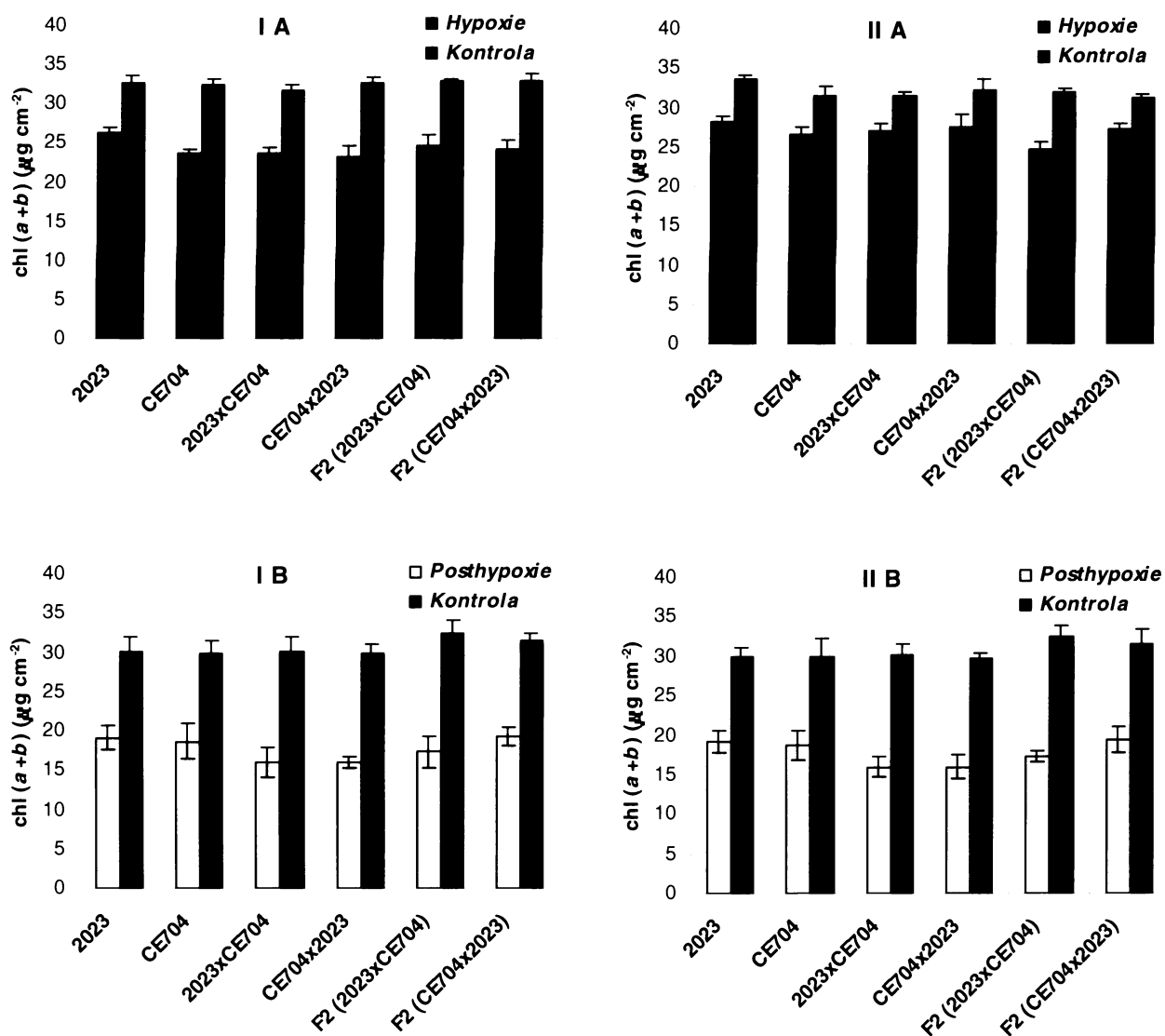
Obr. 5. Aktivita fotosystému 1 (PS1) vyjádřená v přepočtu na jednotku obsahu chlorofylu u rostlin pěstovaných v kontrolních, hypoxických (A) a posthypoxických (B) podmínkách ve dvou pokusných sériích (I, II). Uvedeny jsou průměrné hodnoty a jejich střední chyby průměru pro jednotlivé genotypy.



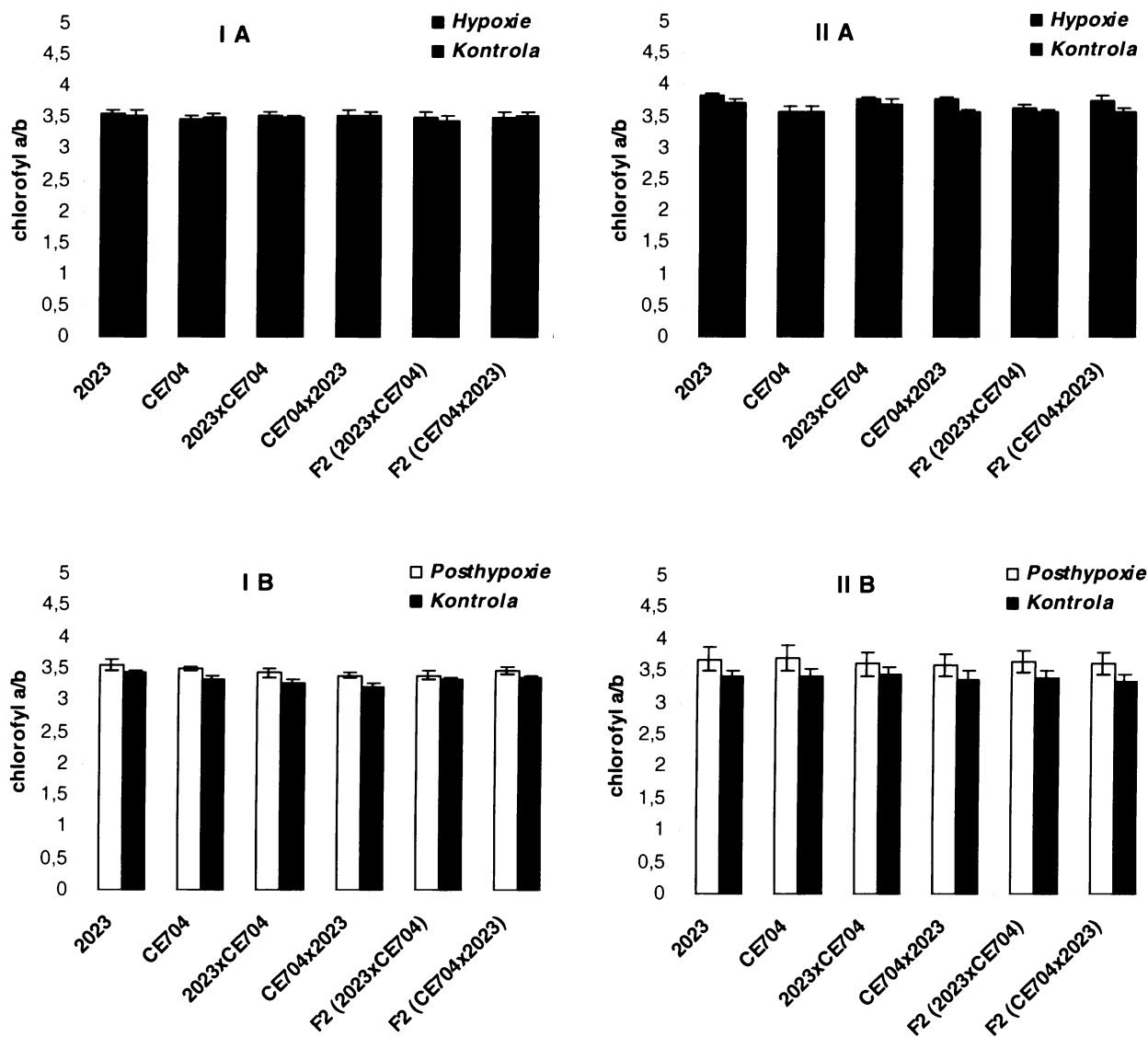
Obr. 6. Aktivita fotosystému I (PSI) vyjádřená v přepočtu na jednotku suché hmotnosti listové čepele u rostlin pěstovaných v kontrolních, hypoxických (A) a posthypoxických (B) podmínkách ve dvou pokusných sériích (I, II). Uvedeny jsou průměrné hodnoty a jejich střední chyby průměru pro jednotlivé genotypy.



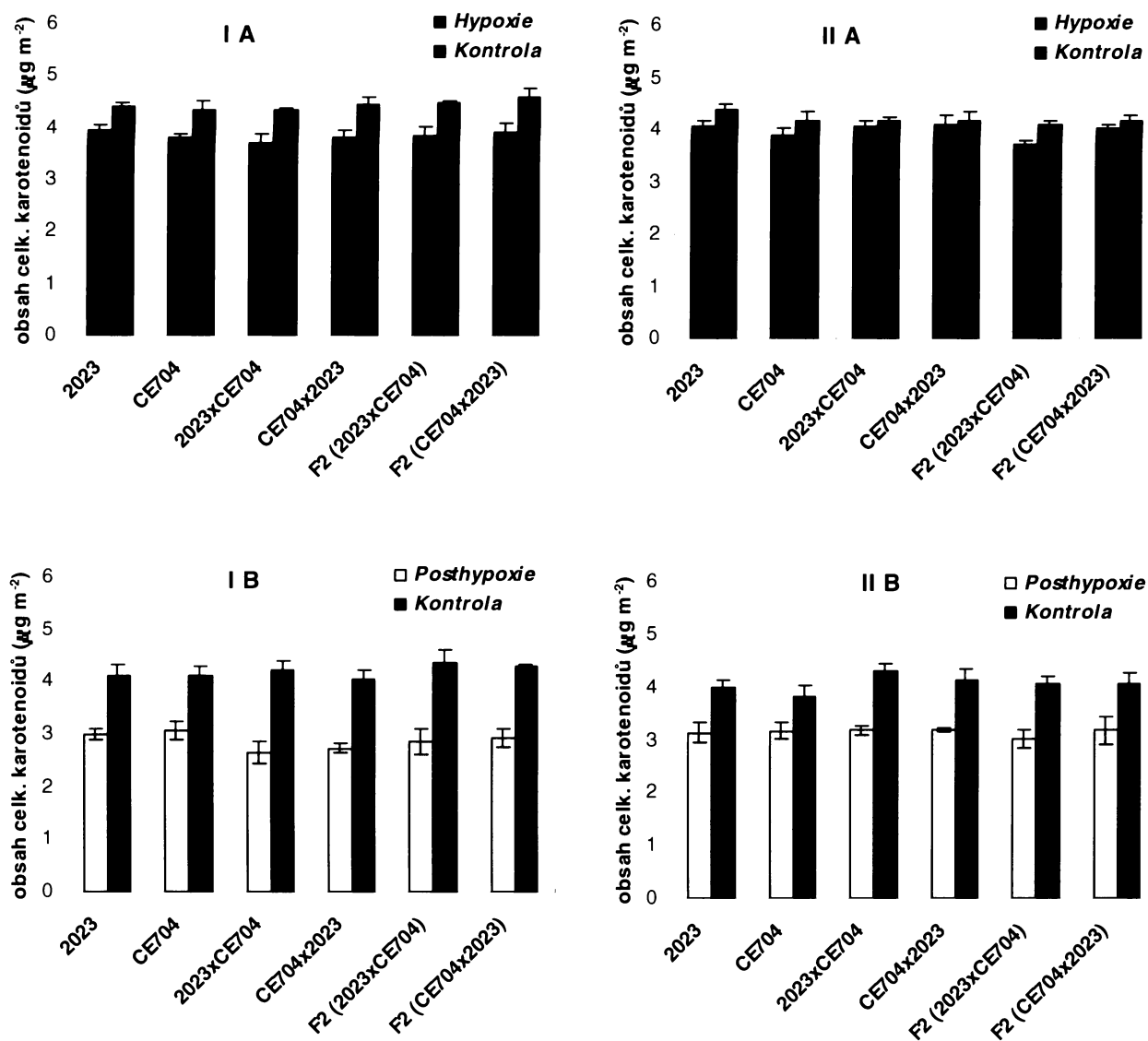
Obr. 7. Obsah chlorofylu *a+b* vyjádřený v přepočtu na jednotku listové plochy u rostlin pěstovaných v kontrolních, hypoxických (A) a posthypoxických (B) podmínkách ve dvou pokusných sériích (I, II). Uvedeny jsou průměrné hodnoty a jejich střední chyby průměru pro jednotlivé genotypy.



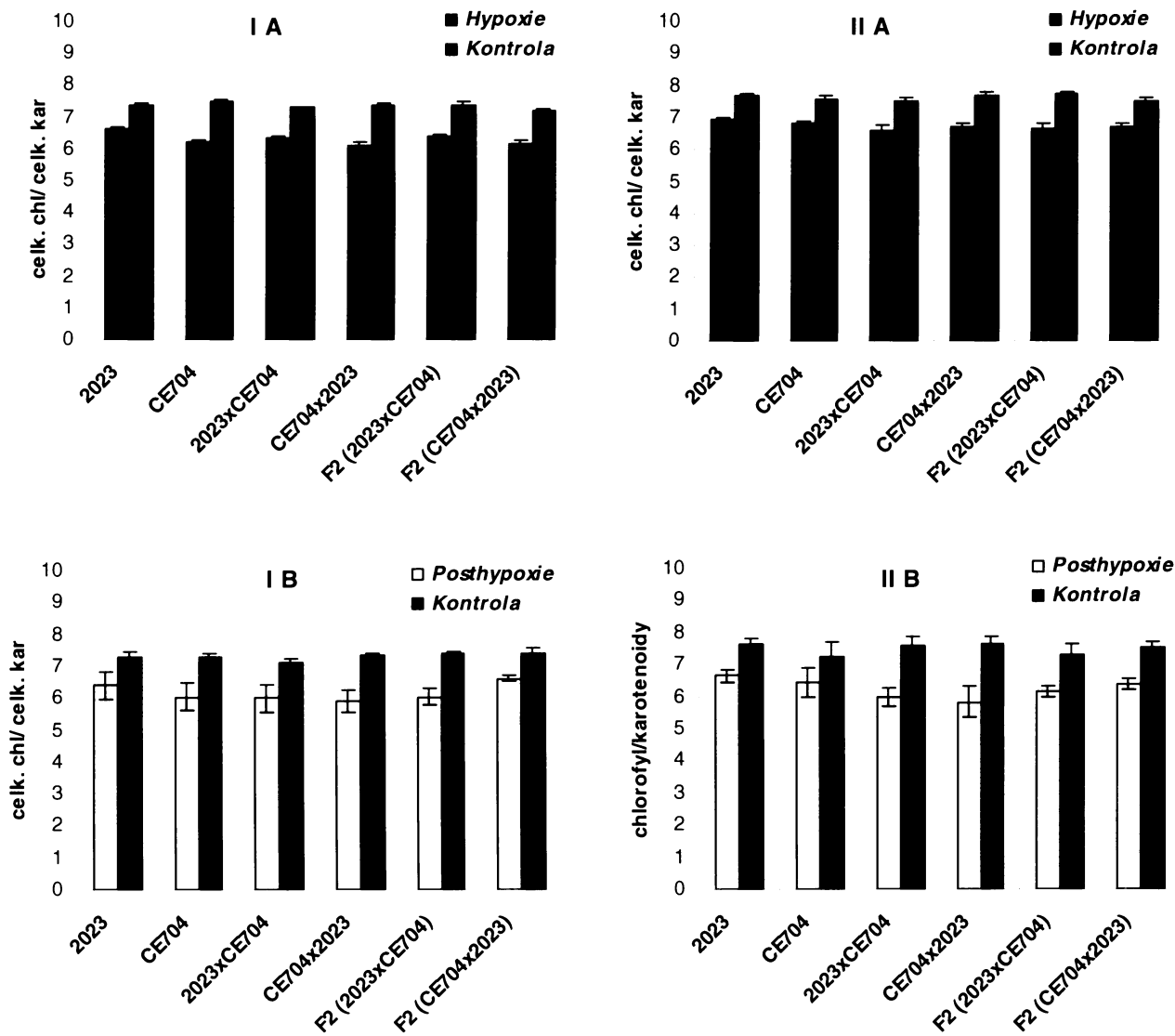
Obr. 8. Poměr chlorofylu a/b u rostlin pěstovaných v kontrolních, hypoxických (A) a posthypoxických (B) podmínkách ve dvou pokusných sériích (I, II). Uvedeny jsou průměrné hodnoty a jejich střední chyby průměru pro jednotlivé genotypy.



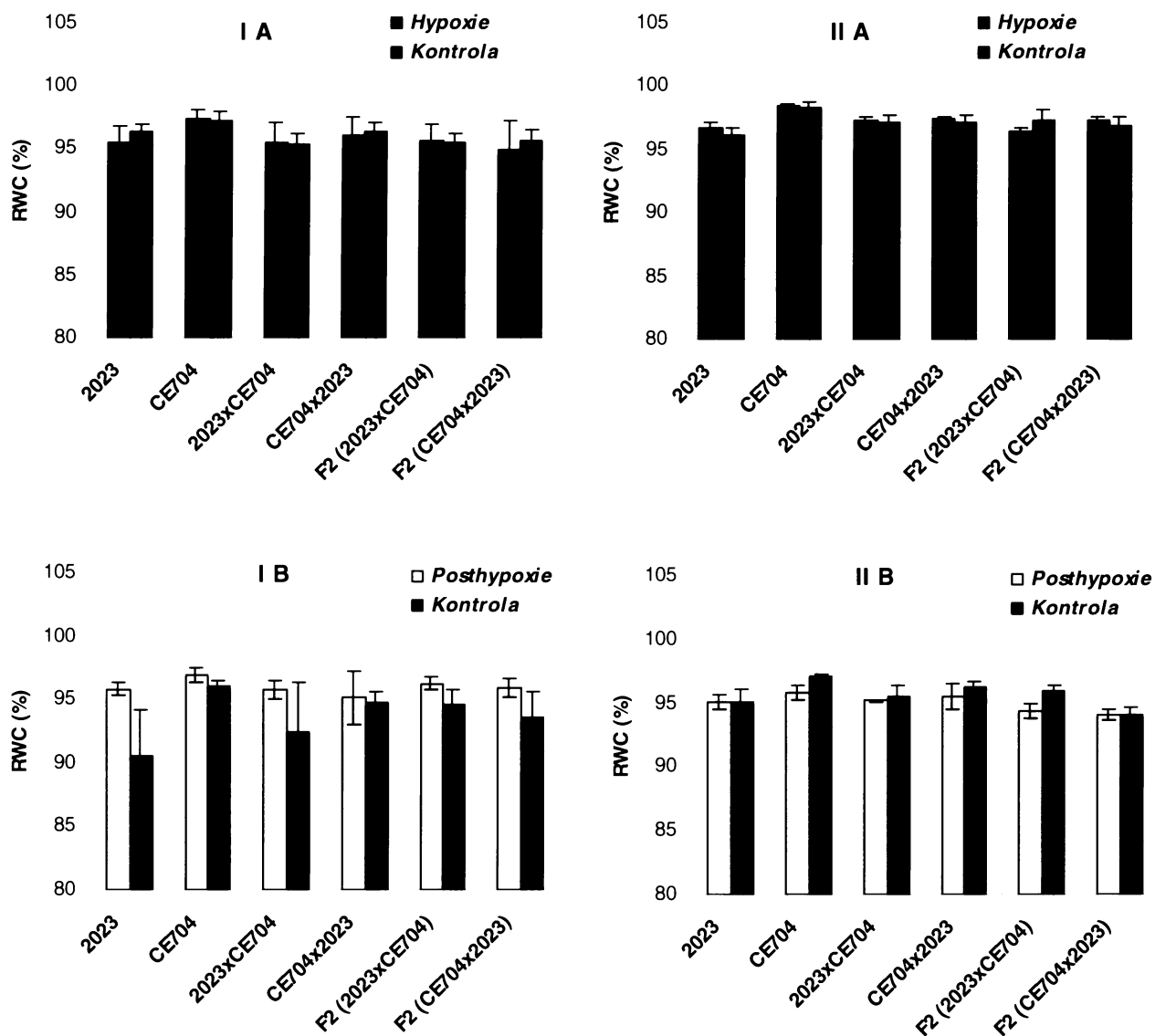
Obr. 9. Obsah celkových karotenoidů vyjádřený v přepočtu na jednotku listové plochy u rostlin pěstovaných v kontrolních, hypoxických (A) a posthypoxických (B) podmínkách ve dvou pokusných sériích (I, II). Uvedeny jsou průměrné hodnoty a jejich střední chyby průměru pro jednotlivé genotypy.



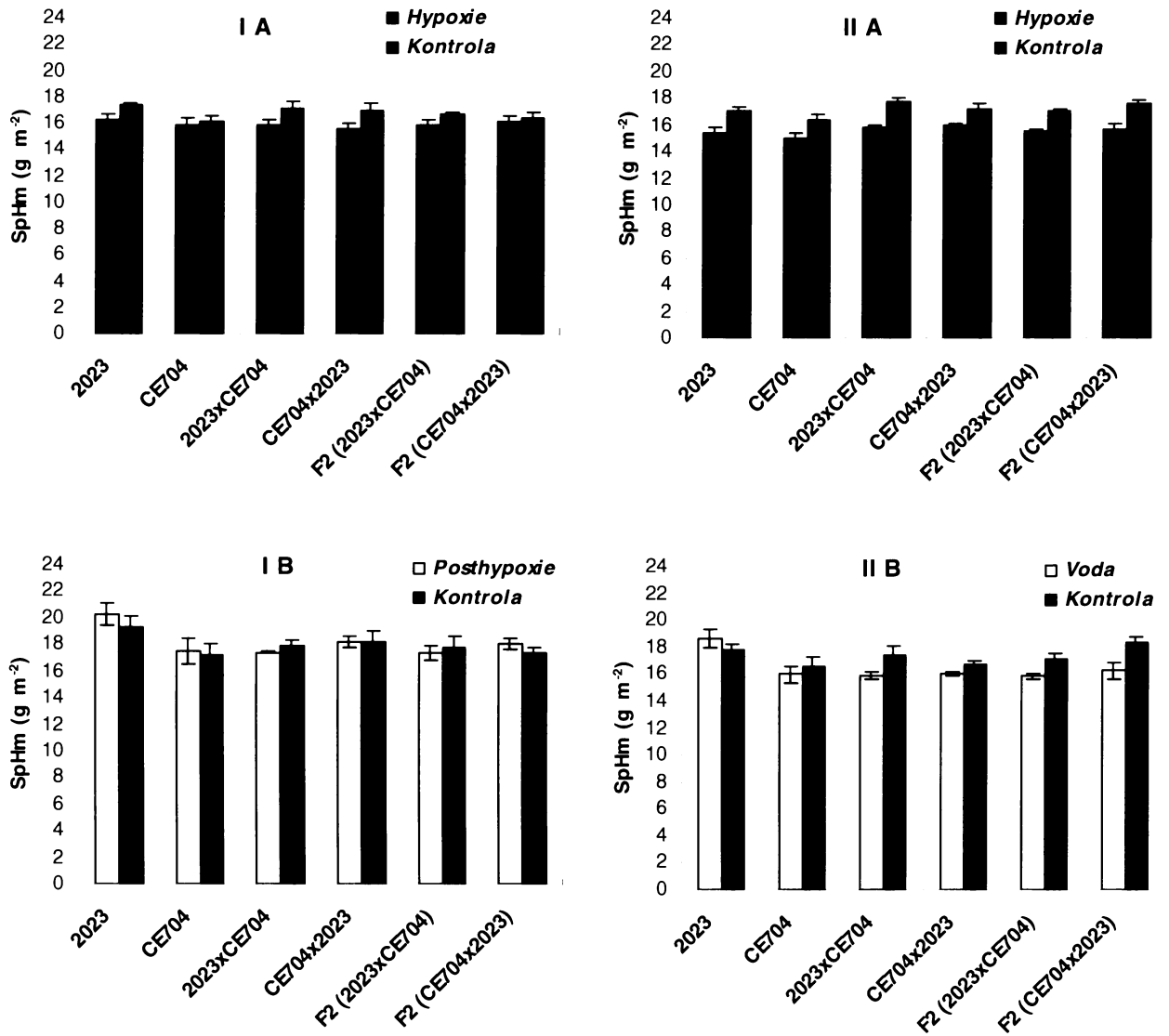
Obr. 10. Poměr celkového chlorofylu a celkových karotenoidů u rostlin pěstovaných v kontrolních, hypoxických (A) a posthypoxických (B) podmínkách ve dvou pokusných sériích (I, II). Uvedeny jsou průměrné hodnoty a jejich střední chyby průměru pro jednotlivé genotypy.



Obr. 11. **Relativní obsah vody (RWC) v listech** u rostlin pěstovaných v kontrolních, hypoxických (A) a posthypoxických (B) podmínkách ve dvou pokusných sériích (I, II). RWC je vyjádřen v procentech maximálního množství vody, které je list schopen přijmout. Uvedeny jsou průměrné hodnoty a jejich střední chyby průměru pro jednotlivé genotypy.



Obr. 12. *Specifická hmotnost listu (SpHm) u rostlin pěstovaných v kontrolních, hypoxických (A) a posthypoxických (B) podmínkách ve dvou pokusných sériích (I, II). Uvedeny jsou průměrné hodnoty a jejich střední chyby průměru pro jednotlivé genotypy.*



Tab. 11. Výsledky *analýzy variance jednoduchého třídění* pro hodnoty fyziologických charakteristik u rostlin genotypu 2023 (P_1) pokusné série I A. Uvedeny jsou hladiny významnosti (p) pro zdroj proměnlivosti P...(pěstování).

Tab. 11.

	pěstování
AHR (LP)	0,770
AHR (S)	0,498
AHR (chl)	0,124
PS1 (LP)	0,052
PS1(S)	0,303
PS1 (chl)	0,229
chl a (S)	0,003
chl a (LP)	0,063
chl b (S)	0,000
chl b (LP)	0,020
chl (LP)	0,002
chl (S)	0,050
kar (LP)	0,017
kar (S)	0,480
chl a/b	0,761
chl/kar	0,001
SpHm	0,069
RWC	0,539

Tab. 12. Výsledky *Tukeyho testů mnohonásobného porovnání* fyziologických charakteristik pro stanovení rozdílů mezi způsobem pěstování (kontrola, hypoxie) u rostlin genotypu 2023 (P_1) v pokusné sérii I A. Uvedeny jsou statisticky průkazné rozdíly ($a > b$).

Tab. 12.

Pěstování	kontrola	hypoxie
AHR (LP)	a	a
AHR (S)	a	a
AHR (chl)	a	a
PS1 (LP)	a	a
PS1(S)	a	a
PS1 (chl)	a	a
chl a (S)	a	b
chl a (LP)	a	a
chl b (S)	a	b
chl b (LP)	a	b
chl (LP)	a	b
chl (S)	a	b
kar (LP)	a	b
kar (S)	a	a
chl a/b	a	a
chl/kar	a	b
SpHm	a	a
RWC	a	a

Tab. 13. Výsledky *analýzy variance jednoduchého třídění* pro hodnoty fyziologických charakteristik u rostlin genotypu 2023 (P_1) pokusné série II A. Uvedeny jsou hladiny významnosti (p) pro zdroj proměnlivosti P...(pěstování).

Tab. 13.

	pěstování
AHR (LP)	0,559
AHR (S)	0,083
AHR (chl)	0,011
PS1 (LP)	0,000
PS1(S)	0,243
PS1 (chl)	0,324
chl a (S)	0,001
chl a (LP)	0,079
chl b (S)	0,000
chl b (LP)	0,010
chl (LP)	0,001
chl (S)	0,050
kar (LP)	0,046
kar (S)	0,333
chl a/b	0,219
chl/kar	0,000
SpHm	0,019
RWC	0,516

Tab. 14. Výsledky *Tukeyho testů mnohonásobného porovnání* fyziologických charakteristik pro stanovení rozdílů mezi způsobem pěstování (kontrola, hypoxie) u rostlin genotypu 2023 (P_1) v pokusné sérii II A. Uvedeny jsou statisticky průkazné rozdíly ($a > b$).

Tab. 14.

Pěstování	kontrola	hypoxie
AHR (LP)	a	a
AHR (S)	a	a
AHR (chl)	b	a
PS1 (LP)	a	b
PS1(S)	a	a
PS1 (chl)	a	a
chl a (S)	a	b
chl a (LP)	a	a
chl b (S)	a	b
chl b (LP)	a	b
chl (LP)	a	b
chl (S)	a	b
kar (LP)	a	b
kar (S)	a	a
chl a/b	a	a
chl/kar	a	b
SpHm	a	b
RWC	a	a

Tab. 15. Výsledky *analýzy variance jednoduchého třídění* pro hodnoty fyziologických charakteristik u rostlin genotypu 2023 (P_1) pokusné série I B. Uvedeny jsou hladiny významnosti (p) pro zdroj proměnlivosti P...(pěstování).

Tab. 16. Výsledky *Tukeyho testů mnohonásobného porovnání* fyziologických charakteristik pro stanovení rozdílů mezi způsobem pěstování (kontrola, posthypoxie) u rostlin genotypu 2023 (P_1) v pokusné sérii I B. Uvedeny jsou statisticky průkazné rozdíly ($a > b$).

Tab. 15.

Genotyp	pěstování
AHR (LP)	0,157
AHR (S)	0,061
AHR (chl)	0,047
PS1 (LP)	0,003
PS1 (S)	0,014
PS1 (chl)	0,998
chl a (S)	0,005
chl a (LP)	0,011
chl b (S)	0,005
chl b (LP)	0,014
chl (LP)	0,005
chl (S)	0,011
kar (LP)	0,003
kar (S)	0,006
chl a/b	0,214
chl/kar	0,093
SpHm	0,460
RWC	0,203

Tab. 16.

Pěstování	kontrola	posthypoxie
AHR (LP)	a	a
AHR (S)	a	a
AHR (chl)	b	a
PS1 (LP)	a	b
PS1 (S)	a	b
PS1 (chl)	a	a
chl a (S)	a	b
chl a (LP)	a	b
chl b (S)	a	b
chl b (LP)	a	b
chl (LP)	a	b
chl (S)	a	b
kar (LP)	a	b
kar (S)	a	b
chl a/b	a	a
chl/kar	a	a
SpHm	a	a
RWC	a	a

Tab. 17. Výsledky *analýzy variance jednoduchého třídění* pro hodnoty fyziologických charakteristik u rostlin genotypu 2023 (P_1) pokusné série II B. Uvedeny jsou hladiny významnosti (p) pro zdroj proměnlivosti P...(pěstování).

Tab. 18. Výsledky *Tukeyho testů mnohonásobného porovnání* fyziologických charakteristik pro stanovení rozdílů mezi způsobem pěstování (kontrola, posthypoxie) u rostlin genotypu 2023 (P_1) v pokusné sérii II B. Uvedeny jsou statisticky průkazné rozdíly ($a > b$).

Tab. 17.

Genotyp	pěstování
AHR (LP)	0,449
AHR (S)	0,300
AHR (chl)	0,045
PS1 (LP)	0,022
PS1 (S)	0,024
PS1 (chl)	0,332
chl a (S)	0,003
chl a (LP)	0,009
chl b (S)	0,001
chl b (LP)	0,002
chl (LP)	0,002
chl (S)	0,006
kar (LP)	0,011
kar (S)	0,030
chl a/b	0,231
chl/kar	0,005
SpHm	0,360
RWC	0,982

Tab. 18.

Pěstování	kontrola	posthypoxie
AHR (LP)	a	a
AHR (S)	a	a
AHR (chl)	b	a
PS1 (LP)	a	b
PS1 (S)	a	b
PS1 (chl)	a	a
chl a (S)	a	b
chl a (LP)	a	b
chl b (S)	a	b
chl b (LP)	a	b
chl (LP)	a	b
chl (S)	a	b
kar (LP)	a	b
kar (S)	a	b
chl a/b	a	a
chl/kar	a	b
SpHm	a	a
RWC	a	a

Tab. 19. Výsledky *analýzy variance jednoduchého třídění* pro hodnoty fyziologických charakteristik u rostlin genotypu **CE704 (P₂)** pokusné série **I A**. Uvedeny jsou hladiny významnosti (*p*) pro zdroj proměnlivosti P...(pěstování).

Tab. 20. Výsledky *Tukeyho testů mnohonásobného porovnání* fyziologických charakteristik pro stanovení rozdílů mezi způsobem pěstování (kontrola, hypoxie) u rostlin genotypu **CE704 (P₂)** v pokusné **sérii I A**. Uvedeny jsou statisticky průkazné rozdíly (*a > b*).

Tab. 19.

	pěstování
AHR (LP)	0,971
AHR (S)	0,841
AHR (chl)	0,064
PS1 (LP)	0,020
PS1(S)	0,051
PS1 (chl)	0,291
chl a (S)	0,000
chl a (LP)	0,001
chl b (S)	0,000
chl b (LP)	0,002
chl (LP)	0,000
chl (S)	0,001
kar (LP)	0,040
kar (S)	0,052
chl a/b	0,798
chl/kar	0,003
SpHm	0,610
RWC	0,890

Tab. 20.

Pěstování	kontrola	hypoxie
AHR (LP)	a	a
AHR (S)	a	a
AHR (chl)	a	a
PS1 (LP)	a	b
PS1(S)	a	a
PS1 (chl)	a	a
chl a (S)	a	b
chl a (LP)	a	b
chl b (S)	a	b
chl b (LP)	a	b
chl (LP)	a	b
chl (S)	a	b
kar (LP)	a	b
kar (S)	a	a
chl a/b	a	a
chl/kar	a	b
SpHm	a	a
RWC	a	a

Tab. 21. Výsledky *analýzy variance jednoduchého třídění* pro hodnoty fyziologických charakteristik u rostlin genotypu **CE704 (P₂)** pokusné série **II A**. Uvedeny jsou hladiny významnosti (*p*) pro zdroj proměnlivosti P...(pěstování).

Tab. 22. Výsledky *Tukeyho testů mnohonásobného porovnání* fyziologických charakteristik pro stanovení rozdílů mezi způsobem pěstování (kontrola, hypoxie) u rostlin genotypu **CE704 (P₂)** v pokusné **sérii II A**. Uvedeny jsou statisticky průkazné rozdíly (*a > b*).

Tab. 21.

	pěstování
AHR (LP)	0,058
AHR (S)	0,050
AHR (chl)	0,001
PS1 (LP)	0,323
PS1(S)	0,897
PS1 (chl)	0,418
chl a (S)	0,017
chl a (LP)	0,392
chl b (S)	0,001
chl b (LP)	0,273
chl (LP)	0,010
chl (S)	0,369
kar (LP)	0,253
kar (S)	0,785
chl a/b	0,983
chl/kar	0,001
SpHm	0,078
RWC	0,782

Tab. 22.

Pěstování	kontrola	hypoxie
AHR (LP)	a	a
AHR (S)	b	a
AHR (chl)	b	a
PS1 (LP)	a	a
PS1(S)	a	a
PS1 (chl)	a	a
chl a (S)	a	b
chl a (LP)	a	a
chl b (S)	a	b
chl b (LP)	a	a
chl (LP)	a	b
chl (S)	a	a
kar (LP)	a	a
kar (S)	a	a
chl a/b	a	a
chl/kar	a	b
SpHm	a	a
RWC	a	a

Tab. 23. Výsledky *analýzy variance jednoduchého třídění* pro hodnoty fyziologických charakteristik u rostlin genotypu **CE704 (P₂)** pokusné série **I B**. Uvedeny jsou hladiny významnosti (*p*) pro zdroj proměnlivosti P...(pěstování).

Tab. 24. Výsledky *Tukeyho testů mnohonásobného porovnání* fyziologických charakteristik pro stanovení rozdílů mezi způsobem pěstování (kontrola, posthypoxie) u rostlin genotypu **CE704 (P₂)** v pokusné sérii **I B**. Uvedeny jsou statisticky průkazné rozdíly (*a* > *b*).

Tab. 23.

CE704	pěstování
AHR (LP)	0,171
AHR (S)	0,101
AHR (chl)	0,028
PS1 (LP)	0,002
PS1(S)	0,013
PS1 (chl)	0,399
chl a (S)	0,006
chl a (LP)	0,018
chl b (S)	0,003
chl b (LP)	0,009
chl (LP)	0,005
chl (S)	0,015
kar (LP)	0,004
kar (S)	0,017
chl a/b	0,021
chl/kar	0,035
SpHm	0,809
RWC	0,250

Tab. 24.

Pěstování	kontrola	posthypoxie
AHR (LP)	a	a
AHR (S)	a	a
AHR (chl)	b	a
PS1 (LP)	a	b
PS1(S)	a	b
PS1 (chl)	a	a
chl a (S)	a	b
chl a (LP)	a	b
chl b (S)	a	b
chl b (LP)	a	b
chl (LP)	a	b
chl (S)	a	b
kar (LP)	a	b
kar (S)	a	b
chl a/b	a	b
chl/kar	a	b
SpHm	a	a
RWC	a	a

Tab. 25. Výsledky *analýzy variance jednoduchého třídění* pro hodnoty fyziologických charakteristik u rostlin genotypu **CE704 (P₂)** pokusné série **II B**. Uvedeny jsou hladiny významnosti (*p*) pro zdroj proměnlivosti P...(pěstování).

Tab. 26. Výsledky *Tukeyho testů mnohonásobného porovnání* fyziologických charakteristik pro stanovení rozdílů mezi způsobem pěstování (kontrola, posthypoxie) u rostlin genotypu **CE704 (P₂)** v pokusné sérii **II B**. Uvedeny jsou statisticky průkazné rozdíly (*a* > *b*).

Tab. 25.

II B CE704	pěstování
AHR (LP)	0,079
AHR (S)	0,073
AHR (chl)	0,593
PS1 (LP)	0,041
PS1(S)	0,075
PS1 (chl)	0,341
chl a (S)	0,072
chl a (LP)	0,079
chl b (S)	0,035
chl b (LP)	0,027
chl (LP)	0,057
chl (S)	0,057
kar (LP)	0,051
kar (S)	0,103
chl a/b	0,269
chl/kar	0,259
SpHm	0,573
RWC	0,075

Tab. 26.

Pěstování	kontrola	posthypoxie
AHR (LP)	a	a
AHR (S)	a	a
AHR (chl)	a	a
PS1 (LP)	a	b
PS1(S)	a	a
PS1 (chl)	a	a
chl a (S)	a	a
chl a (LP)	a	a
chl b (S)	a	b
chl b (LP)	a	b
chl (LP)	a	a
chl (S)	a	a
kar (LP)	a	a
kar (S)	a	a
chl a/b	a	a
chl/kar	a	a
SpHm	a	a
RWC	a	a

Tab. 27. Výsledky *analýzy variance jednoduchého třídění* pro hodnoty fyziologických charakteristik u rostlin genotypu 2023xCE704 (F_1) pokusné série I A. Uvedeny jsou hladiny významnosti (p) pro zdroj proměnlivosti P...(pěstování).

Tab. 27.

	pěstování
AHR (LP)	0,626
AHR (S)	0,847
AHR (chl)	0,376
PS1 (LP)	0,022
PS1(S)	0,075
PS1 (chl)	0,804
chl a (S)	0,000
chl a (LP)	0,004
chl b (S)	0,000
chl b (LP)	0,002
chl (LP)	0,000
chl (S)	0,004
kar (LP)	0,007
kar (S)	0,108
chl a/b	0,503
chl/kar	0,001
SpHm	0,106
RWC	0,939

Tab. 28.

Pěstování	kontrola	hypoxie
AHR (LP)	a	a
AHR (S)	a	a
AHR (chl)	a	a
PS1 (LP)	a	b
PS1(S)	a	a
PS1 (chl)	a	a
chl a (S)	a	b
chl a (LP)	a	b
chl b (S)	a	b
chl b (LP)	a	b
chl (LP)	a	b
chl (S)	a	b
kar (LP)	a	b
kar (S)	a	a
chl a/b	a	a
chl/kar	a	b
SpHm	a	a
RWC	a	a

Tab. 29. Výsledky *analýzy variance jednoduchého třídění* pro hodnoty fyziologických charakteristik u rostlin genotypu 2023xCE704 (F_1) pokusné série II A. Uvedeny jsou hladiny významnosti (p) pro zdroj proměnlivosti P...(pěstování).

Tab. 29.

	pěstování
AHR (LP)	0,417
AHR (S)	0,046
AHR (chl)	0,016
PS1 (LP)	0,448
PS1(S)	0,489
PS1 (chl)	0,118
chl a (S)	0,009
chl a (LP)	0,495
chl b (S)	0,009
chl b (LP)	0,285
chl (LP)	0,008
chl (S)	0,421
kar (LP)	0,378
kar (S)	0,012
chl a/b	0,295
chl/kar	0,001
SpHm	0,001
RWC	0,756

Tab. 30.

Pěstování	kontrola	hypoxie
AHR (LP)	a	a
AHR (S)	b	a
AHR (chl)	b	a
PS1 (LP)	a	a
PS1(S)	a	a
PS1 (chl)	a	a
chl a (S)	a	a
chl a (LP)	a	a
chl b (S)	a	b
chl b (LP)	a	a
chl (LP)	a	b
chl (S)	a	a
kar (LP)	b	a
kar (S)	a	a
chl a/b	a	a
chl/kar	a	b
SpHm	a	b
RWC	a	a

Tab. 30. Výsledky *Tukeyho testů mnohonásobného porovnání* fyziologických charakteristik pro stanovení rozdílů mezi způsobem pěstování (kontrola, hypoxie) u rostlin genotypu 2023xCE704 (F_1) v pokusné sérii II A. Uvedeny jsou statisticky průkazné rozdíly ($a > b$).

Tab. 31. Výsledky *analýzy variance jednoduchého třídění* pro hodnoty fyziologických charakteristik u rostlin genotypu 2023xCE704 (F_1) pokusné série I B. Uvedeny jsou hladiny významnosti (p) pro zdroj proměnlivosti P...(pěstování).

Tab. 32. Výsledky *Tukeyho testů mnohonásobného porovnání* fyziologických charakteristik pro stanovení rozdílů mezi způsobem pěstování (kontrola, posthypoxie) u rostlin genotypu 2023xCE704 (F_1) v pokusné sérii I B. Uvedeny jsou statisticky průkazné rozdíly ($a > b$).

Tab. 31.

F_1	pěstování
AHR (LP)	0,034
AHR (S)	0,039
AHR (chl)	0,789
PS1 (LP)	0,000
PS1(S)	0,000
PS1 (chl)	0,187
chl a (S)	0,002
chl a (LP)	0,003
chl b (S)	0,001
chl b (LP)	0,001
chl (LP)	0,002
chl (S)	0,002
kar (LP)	0,001
kar (S)	0,002
chl a/b	0,107
chl/kar	0,041
SpHm	0,261
RWC	0,421

Tab. 32.

Pěstování	kontrola	posthypoxie
AHR (LP)	a	b
AHR (S)	a	b
AHR (chl)	a	a
PS1 (LP)	a	b
PS1(S)	a	b
PS1 (chl)	a	a
chl a (S)	a	b
chl a (LP)	a	b
chl b (S)	a	b
chl b (LP)	a	b
chl (LP)	a	b
chl (S)	a	b
kar (LP)	a	b
kar (S)	a	b
chl a/b	a	a
chl/kar	a	b
SpHm	a	b
RWC	a	a

Tab. 33. Výsledky *analýzy variance jednoduchého třídění* pro hodnoty fyziologických charakteristik u rostlin genotypu 2023xCE704 (F_1) pokusné série II B. Uvedeny jsou hladiny významnosti (p) pro zdroj proměnlivosti P...(pěstování).

Tab. 34. Výsledky *Tukeyho testů mnohonásobného porovnání* fyziologických charakteristik pro stanovení rozdílů mezi způsobem pěstování (kontrola, posthypoxie) u rostlin genotypu 2023xCE704 (F_1) v pokusné sérii II B. Uvedeny jsou statisticky průkazné rozdíly ($a > b$).

Tab. 33.

F_1	pěstování
AHR (LP)	0,033
AHR (S)	0,029
AHR (chl)	0,781
PS1 (LP)	0,008
PS1(S)	0,010
PS1 (chl)	0,789
chl a (S)	0,001
chl a (LP)	0,001
chl b (S)	0,001
chl b (LP)	0,000
chl (LP)	0,000
chl (S)	0,000
kar (LP)	0,001
kar (S)	0,007
chl a/b	0,478
chl/kar	0,006
SpHm	0,076
RWC	0,696

Tab. 34.

Pěstování	kontrola	posthypoxie
AHR (LP)	a	b
AHR (S)	a	b
AHR (chl)	a	a
PS1 (LP)	a	b
PS1(S)	a	b
PS1 (chl)	a	a
chl a (S)	a	b
chl a (LP)	a	b
chl b (S)	a	b
chl b (LP)	a	b
chl (LP)	a	b
chl (S)	a	b
kar (LP)	a	b
kar (S)	a	b
chl a/b	a	a
chl/kar	a	b
SpHm	a	a
RWC	a	a

Tab. 35. Výsledky *analýzy variance jednoduchého třídění* pro hodnoty fyziologických charakteristik u rostlin genotypu **CE704x2023** (F_1') pokusné série **I A**. Uvedeny jsou hladiny významnosti (p) pro zdroj proměnlivosti P...(pěstování).

Tab. 36. Výsledky *Tukeyho testů mnohonásobného porovnání* fyziologických charakteristik pro stanovení rozdílů mezi způsobem pěstování (kontrola, hypoxie) u rostlin genotypu **CE704x2023** (F_1') v pokusné sérii **I A**. Uvedeny jsou statisticky průkazné rozdíly ($a > b$).

Tab. 35.

	pěstování
AHR (LP)	0,854
AHR (S)	0,555
AHR (chl)	0,161
PS1 (LP)	0,017
PS1(S)	0,036
PS1 (chl)	0,424
chl a (S)	0,001
chl a (LP)	0,002
chl b (S)	0,001
chl b (LP)	0,002
chl (LP)	0,001
chl (S)	0,002
kar (LP)	0,023
kar (S)	0,154
chl a/b	0,962
chl/kar	0,006
SpHm	0,061
RWC	0,850

Tab. 36.

Pěstování	kontrola	hypoxie
AHR (LP)	a	a
AHR (S)	a	a
AHR (chl)	a	a
PS1 (LP)	a	b
PS1(S)	a	b
PS1 (chl)	a	a
chl a (S)	a	b
chl a (LP)	a	b
chl b (S)	a	b
chl b (LP)	a	b
chl (LP)	a	b
chl (S)	a	b
kar (LP)	a	b
kar (S)	a	a
chl a/b	a	a
chl/kar	a	b
SpHm	a	a
RWC	a	a

Tab. 37. Výsledky *analýzy variance jednoduchého třídění* pro hodnoty fyziologických charakteristik u rostlin genotypu **CE704x2023** (F_1') pokusné série **II A**. Uvedeny jsou hladiny významnosti (p) pro zdroj proměnlivosti P...(pěstování).

Tab. 38. Výsledky *Tukeyho testů mnohonásobného porovnání* fyziologických charakteristik pro stanovení rozdílů mezi způsobem pěstování (kontrola, hypoxie) u rostlin genotypu **CE704x2023** (F_1') v pokusné sérii **II A**. Uvedeny jsou statisticky průkazné rozdíly ($a > b$).

Tab. 37.

	pěstování
AHR (LP)	0,029
AHR (S)	0,021
AHR (chl)	0,005
PS1 (LP)	0,080
PS1(S)	0,355
PS1 (chl)	0,914
chl a (S)	0,082
chl a (LP)	0,378
chl b (S)	0,024
chl b (LP)	0,174
chl (LP)	0,062
chl (S)	0,310
kar (LP)	0,706
kar (S)	0,486
chl a/b	0,034
chl/kar	0,001
SpHm	0,035
RWC	0,592

Tab. 38.

Pěstování	kontrola	hypoxie
AHR (LP)	b	a
AHR (S)	b	a
AHR (chl)	b	a
PS1 (LP)	a	a
PS1(S)	a	a
PS1 (chl)	a	a
chl a (S)	a	a
chl a (LP)	a	a
chl b (S)	a	b
chl b (LP)	a	a
chl (LP)	a	a
chl (S)	a	a
kar (LP)	a	a
kar (S)	a	a
chl a/b	b	a
chl/kar	a	b
SpHm	a	b
RWC	a	a

Tab. 39. Výsledky *analýzy variance jednoduchého třídění* pro hodnoty fyziologických charakteristik u rostlin genotypu *CE704x2023 (F₁)* pokusné série *I B*. Uvedeny jsou hladiny významnosti (*p*) pro zdroj proměnlivosti *P...*(pěstování).

Tab. 40. Výsledky *Tukeyho testů mnohonásobného porovnání* fyziologických charakteristik pro stanovení rozdílů mezi způsobem pěstování (kontrola, posthypoxie) u rostlin genotypu *CE704x2023 (F₁)* v pokusné sérii *I B*. Uvedeny jsou statisticky průkazné rozdíly (*a > b*).

Tab. 39.

IB F₁	pěstování
AHR (LP)	0.027
AHR (S)	0.006
AHR (chl)	0,178
PS1 (LP)	0.000
PS1(S)	0.000
PS1 (chl)	0,763
chl a (S)	0.000
chl a (LP)	0.000
chl b (S)	0.000
chl b (LP)	0.000
chl (LP)	0.000
chl (S)	0.000
kar (LP)	0.001
kar (S)	0.000
chl a/b	0.016
chl/kar	0.007
SpHm	0,982
RWC	0,896

Tab. 40.

Pěstování	kontrola	posthypoxie
AHR (LP)	a	b
AHR (S)	a	b
AHR (chl)	a	a
PS1 (LP)	a	b
PS1(S)	a	b
PS1 (chl)	a	a
chl a (S)	a	b
chl a (LP)	a	b
chl b (S)	a	b
chl b (LP)	a	b
chl (LP)	a	b
chl (S)	a	b
kar (LP)	a	b
kar (S)	a	b
chl a/b	b	a
chl/kar	a	b
SpHm	a	a
RWC	a	a

Tab. 41. Výsledky *analýzy variance jednoduchého třídění* pro hodnoty fyziologických charakteristik u rostlin genotypu *CE704x2023 (F₁)* pokusné série *II B*. Uvedeny jsou hladiny významnosti (*p*) pro zdroj proměnlivosti *P...*(pěstování).

Tab. 42. Výsledky *Tukeyho testů mnohonásobného porovnání* fyziologických charakteristik pro stanovení rozdílů mezi způsobem pěstování (kontrola, posthypoxie) u rostlin genotypu *CE704x2023 (F₁)* v pokusné sérii *II B*. Uvedeny jsou statisticky průkazné rozdíly (*a > b*).

Tab. 41.

IB F₁	pěstování
AHR (LP)	0,058
AHR (S)	0,076
AHR (chl)	0,196
PS1 (LP)	0.001
PS1(S)	0.003
PS1 (chl)	0,377
chl a (S)	0.000
chl a (LP)	0.002
chl b (S)	0.000
chl b (LP)	0.001
chl (LP)	0.000
chl (S)	0.001
kar (LP)	0.002
kar (S)	0.010
chl a/b	0,357
chl/kar	0.017
SpHm	0.034
RWC	0,563

Tab. 42.

Pěstování	kontrola	posthypoxie
AHR (LP)	a	a
AHR (S)	a	a
AHR (chl)	a	a
PS1 (LP)	a	b
PS1(S)	a	b
PS1 (chl)	a	a
chl a (S)	a	b
chl a (LP)	a	b
chl b (S)	a	b
chl b (LP)	a	b
chl (LP)	a	b
chl (S)	a	b
kar (LP)	a	b
kar (S)	a	b
chl a/b	a	a
chl/kar	a	b
SpHm	a	b
RWC	a	a

Tab. 43. Výsledky *analýzy variance jednoduchého třídění* pro hodnoty fyziologických charakteristik u rostlin generace $F_1 \times F_1$ (F_2) pokusné série I A. Uvedeny jsou hladiny významnosti (p) pro zdroj proměnlivosti P...(pěstování).

Tab. 44. Výsledky *Tukeyho testů mnohonásobného porovnání* fyziologických charakteristik pro stanovení rozdílů mezi způsobem pěstování (kontrola, hypoxie) u rostlin generace $F_1 \times F_1$ (F_2) v pokusné sérii I A. Uvedeny jsou statisticky průkazné rozdíly ($a > b$).

Tab. 43.

	pěstování
AHR (LP)	0,961
AHR (S)	0,781
AHR (chl)	0,208
PS1 (LP)	0,012
PS1(S)	0,062
PS1 (chl)	0,683
chl a (S)	0,002
chl a (LP)	0,027
chl b (S)	0,000
chl b (LP)	0,006
chl (LP)	0,001
chl (S)	0,019
kar (LP)	0,010
kar (S)	0,178
chl a/b	0,685
chl/kar	0,002
SpHm	0,148
RWC	0,935

Tab. 44.

Pěstování	kontrola	hypoxie
AHR (LP)	a	a
AHR (S)	a	a
AHR (chl)	a	b
PS1 (LP)	a	a
PS1(S)	a	a
PS1 (chl)	a	a
chl a (S)	a	b
chl a (LP)	a	b
chl b (S)	a	b
chl b (LP)	a	b
chl (LP)	a	b
chl (S)	a	b
kar (LP)	a	b
kar (S)	a	a
chl a/b	a	a
chl/kar	a	b
SpHm	a	a
RWC	a	a

Tab. 45. Výsledky *analýzy variance jednoduchého třídění* pro hodnoty fyziologických charakteristik u rostlin generace $F_1 \times F_1$ (F_2) pokusné série II A. Uvedeny jsou hladiny významnosti (p) pro zdroj proměnlivosti P...(pěstování).

Tab. 46. Výsledky *Tukeyho testů mnohonásobného porovnání* fyziologických charakteristik pro stanovení rozdílů mezi způsobem pěstování (kontrola, hypoxie) u rostlin generace $F_1 \times F_1$ (F_2) v pokusné sérii II A. Uvedeny jsou statisticky průkazné rozdíly ($a > b$).

Tab. 45.

	pěstování
AHR (LP)	0,131
AHR (S)	0,025
AHR (chl)	0,003
PS1 (LP)	0,006
PS1(S)	0,097
PS1 (chl)	0,428
chl a (S)	0,001
chl a (LP)	0,014
chl b (S)	0,002
chl b (LP)	0,020
chl (LP)	0,001
chl (S)	0,015
kar (LP)	0,005
kar (S)	0,682
chl a/b	0,343
chl/kar	0,001
SpHm	0,003
RWC	0,459

Tab. 46.

Pěstování	kontrola	hypoxie
AHR (LP)	a	a
AHR (S)	b	a
AHR (chl)	b	a
PS1 (LP)	a	b
PS1(S)	a	a
PS1 (chl)	a	a
chl a (S)	a	b
chl a (LP)	a	b
chl b (S)	a	b
chl b (LP)	a	b
chl (LP)	a	b
chl (S)	a	b
kar (LP)	a	b
kar (S)	a	a
chl a/b	a	a
chl/kar	a	b
SpHm	a	b
RWC	a	a

Tab. 47. Výsledky *analýzy variance jednoduchého třídění* pro hodnoty fyziologických charakteristik u rostlin generace $F_1 \times F_1$ (F_2) pokusné série I B. Uvedeny jsou hladiny významnosti (p) pro zdroj proměnlivosti P...(pěstování).

Tab. 48. Výsledky *Tukeyho testů mnohonásobného porovnání* fyziologických charakteristik pro stanovení rozdílů mezi způsobem pěstování (kontrola, posthypoxie) u rostlin generace $F_1 \times F_1$ (F_2) v pokusné sérii I B. Uvedeny jsou statisticky průkazné rozdíly ($a > b$).

Tab. 47.

$F_1 \times F_2$	pěstování
AHR (LP)	0,384
AHR (S)	0,352
AHR (chl)	0,125
PS1 (LP)	0,001
PS1(S)	0,000
PS1 (chl)	0,583
chl a (S)	0,001
chl a (LP)	0,001
chl b (S)	0,001
chl b (LP)	0,001
chl (LP)	0,001
chl (S)	0,001
kar (LP)	0,004
kar (S)	0,002
chl a/b	0,492
chl/kar	0,003
SpHm	0,723
RWC	0,237

Tab. 48.

Pěstování	kontrola	posthypoxie
AHR (LP)	a	a
AHR (S)	a	a
AHR (chl)	a	a
PS1 (LP)	a	b
PS1(S)	a	b
PS1 (chl)	a	a
chl a (S)	a	b
chl a (LP)	a	b
chl b (S)	a	b
chl b (LP)	a	b
chl (LP)	a	b
chl (S)	a	b
kar (LP)	a	b
kar (S)	a	b
chl a/b	a	a
chl/kar	a	b
SpHm	a	a
RWC	a	a

Tab. 49. Výsledky *analýzy variance jednoduchého třídění* pro hodnoty fyziologických charakteristik u rostlin generace $F_1 \times F_1$ (F_2) pokusné série II B. Uvedeny jsou hladiny významnosti (p) pro zdroj proměnlivosti P...(pěstování).

Tab. 50. Výsledky *Tukeyho testů mnohonásobného porovnání* fyziologických charakteristik pro stanovení rozdílů mezi způsobem pěstování (kontrola, posthypoxie) u rostlin generace $F_1 \times F_1$ (F_2) v pokusné sérii II B. Uvedeny jsou statisticky průkazné rozdíly ($a > b$).

Tab. 49.

$F_1 \times F_2$	pěstování
AHR (LP)	0,013
AHR (S)	0,056
AHR (chl)	0,402
PS1 (LP)	0,002
PS1(S)	0,009
PS1 (chl)	0,978
chl a (S)	0,001
chl a (LP)	0,005
chl b (S)	0,001
chl b (LP)	0,001
chl (LP)	0,001
chl (S)	0,003
kar (LP)	0,006
kar (S)	0,054
chl a/b	0,277
chl/kar	0,035
SpHm	0,036
RWC	0,070

Tab. 50.

Pěstování	kontrola	posthypoxie
AHR (LP)	a	b
AHR (S)	a	a
AHR (chl)	a	a
PS1 (LP)	a	b
PS1(S)	a	b
PS1 (chl)	a	a
chl a (S)	a	b
chl a (LP)	a	b
chl b (S)	a	b
chl b (LP)	a	b
chl (LP)	a	b
chl (S)	a	b
kar (LP)	a	b
kar (S)	a	a
chl a/b	a	a
chl/kar	a	b
SpHm	a	b
RWC	a	a

Tab. 51. Výsledky *analýzy variance jednoduchého třídění* pro hodnoty fyziologických charakteristik u rostlin generace $F_1 \times F_1'$ (F_2') pokusné série I A. Uvedeny jsou hladiny významnosti (p) pro zdroj proměnlivosti P...(pěstování).

Tab. 52. Výsledky *Tukeyho testů mnohonásobného porovnání* fyziologických charakteristik pro stanovení rozdílů mezi způsobem pěstování (kontrola, hypoxie) u rostlin generace $F_1 \times F_1'$ (F_2') v pokusné sérii I A. Uvedeny jsou statisticky průkazné rozdíly ($a > b$).

Tab. 51.

	pěstování
AHR (LP)	0,465
AHR (S)	0,465
AHR (chl)	0,211
PS1 (LP)	0,002
PS1(S)	0,002
PS1 (chl)	0,139
chl a (S)	0,001
chl a (LP)	0,000
chl b (S)	0,001
chl b (LP)	0,000
chl (LP)	0,001
chl (S)	0,000
kar (LP)	0,032
kar (S)	0,003
chl a/b	0,919
chl/kar	0,000
SpHm	0,684
RWC	0,789

Tab. 52.

Pěstování	kontrola	hypoxie
AHR (LP)	a	a
AHR (S)	a	a
AHR (chl)	a	a
PS1 (LP)	a	b
PS1(S)	a	b
PS1 (chl)	a	a
chl a (S)	a	b
chl a (LP)	a	b
chl b (S)	a	b
chl b (LP)	a	b
chl (LP)	a	b
chl (S)	a	b
kar (LP)	a	b
kar (S)	a	b
chl a/b	a	a
chl/kar	a	b
SpHm	a	a
RWC	a	a

Tab. 53. Výsledky *analýzy variance jednoduchého třídění* pro hodnoty fyziologických charakteristik u rostlin generace $F_1 \times F_1'$ (F_2') pokusné série II A. Uvedeny jsou hladiny významnosti (p) pro zdroj proměnlivosti P...(pěstování).

Tab. 54. Výsledky *Tukeyho testů mnohonásobného porovnání* fyziologických charakteristik pro stanovení rozdílů mezi způsobem pěstování (kontrola, hypoxie) u rostlin generace $F_1 \times F_1'$ (F_2') v pokusné sérii II A. Uvedeny jsou statisticky průkazné rozdíly ($a > b$).

Tab. 53.

	pěstování
AHR (LP)	0,284
AHR (S)	0,091
AHR (chl)	0,069
PS1 (LP)	0,153
PS1(S)	0,871
PS1 (chl)	0,933
chl a (S)	0,003
chl a (LP)	0,786
chl b (S)	0,006
chl b (LP)	0,370
chl (LP)	0,003
chl (S)	0,659
kar (LP)	0,340
kar (S)	0,149
chl a/b	0,093
chl/kar	0,003
SpHm	0,007
RWC	0,514

Tab. 54.

Pěstování	kontrola	hypoxie
AHR (LP)	a	a
AHR (S)	a	a
AHR (chl)	a	a
PS1 (LP)	a	a
PS1(S)	a	a
PS1 (chl)	a	a
chl a (S)	a	b
chl a (LP)	a	a
chl b (S)	a	b
chl b (LP)	a	a
chl (LP)	a	b
chl (S)	a	a
kar (LP)	a	a
kar (S)	a	a
chl a/b	a	a
chl/kar	a	b
SpHm	a	b
RWC	a	a

Tab. 55. Výsledky *analýzy variance jednoduchého třídění* pro hodnoty fyziologických charakteristik u rostlin generace $F_1 \times F_1'$ (F_2') pokusné série I B. Uvedeny jsou hladiny významnosti (p) pro zdroj proměnlivosti P...(pěstování).

Tab. 56. Výsledky *Tukeyho testů mnohonásobného porovnání* fyziologických charakteristik pro stanovení rozdílů mezi způsobem pěstování (kontrola, posthypoxie) u rostlin generace $F_1 \times F_1'$ (F_2') v pokusné sérii I B. Uvedeny jsou statisticky průkazné rozdíly ($a > b$).

Tab. 55.

F_2'	pěstování
AHR (LP)	0,137
AHR (S)	0,058
AHR (chl)	0,043
PS1 (LP)	0,001
PS1(S)	0,001
PS1 (chl)	0,951
chl a (S)	0,000
chl a (LP)	0,000
chl b (S)	0,000
chl b (LP)	0,000
chl (LP)	0,000
chl (S)	0,000
kar (LP)	0,000
kar (S)	0,000
chl a/b	0,150
chl/kar	0,013
SpHm	0,290
RWC	0,317

Tab. 56.

Pěstování	kontrola	posthypoxie
AHR (LP)	a	a
AHR (S)	a	a
AHR (chl)	b	a
PS1 (LP)	a	b
PS1(S)	a	b
PS1 (chl)	a	a
chl a (S)	a	b
chl a (LP)	a	b
chl b (S)	a	b
chl b (LP)	a	b
chl (LP)	a	b
chl (S)	a	b
kar (LP)	a	b
kar (S)	a	b
chl a/b	a	a
chl/kar	a	b
SpHm	a	a
RWC	a	a

Tab. 57. Výsledky *analýzy variance jednoduchého třídění* pro hodnoty fyziologických charakteristik u rostlin generace $F_1 \times F_1'$ (F_2') pokusné série II B. Uvedeny jsou hladiny významnosti (p) pro zdroj proměnlivosti P...(pěstování).

Tab. 58. Výsledky *Tukeyho testů mnohonásobného porovnání* fyziologických charakteristik pro stanovení rozdílů mezi způsobem pěstování (kontrola, posthypoxie) u rostlin generace $F_1 \times F_1'$ (F_2') v pokusné sérii II B. Uvedeny jsou statisticky průkazné rozdíly ($a > b$).

Tab. 57.

F_2'	pěstování
AHR (LP)	0,203
AHR (S)	0,406
AHR (chl)	0,287
PS1 (LP)	0,074
PS1(S)	0,280
PS1 (chl)	0,681
chl a (S)	0,010
chl a (LP)	0,059
chl b (S)	0,003
chl b (LP)	0,011
chl (LP)	0,007
chl (S)	0,038
kar (LP)	0,036
kar (S)	0,290
chl a/b	0,222
chl/kar	0,008
SpHm	0,028
RWC	0,992

Tab. 58.

Pěstování	kontrola	posthypoxie
AHR (LP)	a	a
AHR (S)	a	a
AHR (chl)	a	a
PS1 (LP)	a	a
PS1(S)	a	a
PS1 (chl)	a	a
chl a (S)	a	b
chl a (LP)	a	a
chl b (S)	a	b
chl b (LP)	a	b
chl (LP)	a	b
chl (S)	a	b
kar (LP)	a	b
kar (S)	a	a
chl a/b	a	a
chl/kar	a	b
SpHm	a	b
RWC	a	a

Tab. 59. Výsledky *analýzy variance jednoduchého třídění* pro hodnoty fyziologických charakteristik u rostlin pěstovaných v *kontrolních podmínkách v pokusné sérii I A*. Uvedeny jsou hladiny významnosti (*p*) pro zdroj proměnlivosti G...(genotyp).

Tab. 60. Výsledky *Tukeyho testů mnohonásobného porovnání* fyziologických charakteristik pro stanovení rozdílů mezi *genotypy* P₁ (2023), P₂ (CE704), F₁ (2023xCE704), F₁' (CE704x2023), F₂ (F₁xF₁), F₂' (F₁'x F₁') v *kontrolní sérii I A*. Uvedeny jsou statisticky průkazné rozdíly (*a* > *b*, ale *a* ani *b* se neliší od *ab*).

Tab. 59.

	genotyp
AHR (LP)	0,764
AHR (S)	0,813
AHR (chl)	0,724
PS1 (LP)	0,157
PS1(S)	0,131
PS1 (chl)	0,122
chl a (S)	0,868
chl a (LP)	0,309
chl b (S)	0,782
chl b (LP)	0,176
chl (LP)	0,843
chl (S)	0,240
kar (LP)	0,725
kar (S)	0,110
chl a/b	0,927
chl/kar	0,843
SpHm	0,281
RWC	0,484

Tab. 60.

genotyp	P1	P2	F1	F1'	F2	F2'
AHR (LP)	a	a	a	a	a	a
AHR (S)	a	a	a	a	a	a
AHR (chl)	a	a	a	a	a	a
PS1 (LP)	a	a	a	a	a	a
PS1(S)	a	a	a	a	a	a
PS1 (chl)	a	a	a	a	a	a
chl a (S)	a	a	a	a	a	a
chl a (LP)	a	a	a	a	a	a
chl b (S)	a	a	a	a	a	a
chl b (LP)	a	a	a	a	a	a
chl (LP)	a	a	a	a	a	a
chl (S)	a	a	a	a	a	a
kar (LP)	a	a	a	a	a	a
kar (S)	a	a	a	a	a	a
chl a/b	a	a	a	a	a	a
chl/kar	a	a	a	a	a	a
SpHm	a	a	a	a	a	a
RWC	a	a	a	a	a	a

Tab. 61. Výsledky *analýzy variance jednoduchého třídění* pro hodnoty fyziologických charakteristik u rostlin pěstovaných v *kontrolních podmínkách v pokusné sérii II A*. Uvedeny jsou hladiny významnosti (*p*) pro zdroj proměnlivosti *G...*(genotyp).

Tab. 62. Výsledky *Tukeyho testů mnohonásobného porovnání* fyziologických charakteristik pro stanovení rozdílů mezi *genotypy P₁ (2023), P₂ (CE704), F₁ (2023xCE704), F₁' (CE704x2023), F₂ (F₁xF₁), F₂' (F₁'x F₁')* v *kontrolní sérii II A*. Uvedeny jsou statisticky průkazné rozdíly (*a > b*, ale *a* ani *b* se neliší od *ab*).

Tab. 61.

	genotyp
AHR (LP)	0,097
AHR (S)	0,234
AHR (chl)	0,128
PS1 (LP)	0,246
PS1(S)	0,367
PS1 (chl)	0,353
chl a (S)	0,273
chl a (LP)	0,268
chl b (S)	0,499
chl b (LP)	0,209
chl (LP)	0,300
chl (S)	0,254
kar (LP)	0,598
kar (S)	0,476
chl a/b	0,350
chl/kar	0,262
SpHm	0,086
RWC	0,393

Tab. 62.

genotyp	P1	P2	F1	F1'	F2	F2'
AHR (LP)	a	a	a	a	a	a
AHR (S)	a	a	a	a	a	a
AHR (chl)	a	a	a	a	a	a
PS1 (LP)	a	a	a	a	a	a
PS1(S)	a	a	a	a	a	a
PS1 (chl)	a	a	a	a	a	a
chl a (S)	a	a	a	a	a	a
chl a (LP)	a	a	a	a	a	a
chl b (S)	a	a	a	a	a	a
chl b (LP)	a	a	a	a	a	a
chl (LP)	a	a	a	a	a	a
chl (S)	a	a	a	a	a	a
kar (LP)	a	a	a	a	a	a
kar (S)	a	a	a	a	a	a
chl a/b	a	a	a	a	a	a
chl/kar	a	a	a	a	a	a
SpHm	a	a	a	a	a	a
RWC	a	a	a	a	a	a

Tab. 63. Výsledky *analýzy variance jednoduchého třídění* pro hodnoty fyziologických charakteristik u rostlin pěstovaných v *hypoxických podmínkách v pokusné sérii I A*. Uvedeny jsou hladiny významnosti (*p*) pro zdroj proměnlivosti *G...*(genotyp).

Tab. 64. Výsledky *Tukeyho testů mnohonásobného porovnání* fyziologických charakteristik pro stanovení rozdílů mezi *genotypy P₁ (2023), P₂ (CE704), F₁ (2023xCE704), F₁' (CE704x2023), F₂ (F₁xF₁), F₂' (F₁'x F₁')* v *sérii I A u rostlin pod vlivem hypoxie*. Uvedeny jsou statisticky průkazné rozdíly (*a > b*, ale *a* ani *b* se neliší od *ab*).

Tab. 63.

	genotyp
AHR (LP)	0,767
AHR (S)	0,833
AHR (chl)	0,931
PS1 (LP)	0,346
PS1(S)	0,611
PS1 (chl)	0,714
chl a (S)	0,342
chl a (LP)	0,791
chl b (S)	0,327
chl b (LP)	0,760
chl (LP)	0,321
chl (S)	0,780
kar (LP)	0,869
kar (S)	0,963
chl a/b	0,928
chl/kar	0,223
SpHm	0,941
RWC	0,894

Tab. 64.

genotyp	P1	P2	F1	F1'	F2	F2'
AHR (LP)	a	a	a	a	a	a
AHR (S)	a	a	a	a	a	a
AHR (chl)	a	a	a	a	a	a
PS1 (LP)	a	a	a	a	a	a
PS1(S)	a	a	a	a	a	a
PS1 (chl)	a	a	a	a	a	a
chl a (S)	a	a	a	a	a	a
chl a (LP)	a	a	a	a	a	a
chl b (S)	a	a	a	a	a	a
chl b (LP)	a	a	a	a	a	a
chl (LP)	a	a	a	a	a	a
chl (S)	a	a	a	a	a	a
kar (LP)	a	a	a	a	a	a
kar (S)	a	a	a	a	a	a
chl a/b	a	a	a	a	a	a
chl/kar	a	a	a	a	a	a
SpHm	a	a	a	a	a	a
RWC	a	a	a	a	a	a

Tab. 65. Výsledky *analýzy variance jednoduchého třídění* pro hodnoty fyziologických charakteristik u rostlin pěstovaných v *hypoxických podmínkách v pokusné sérii II A*. Uvedeny jsou hladiny významnosti (*p*) pro zdroj proměnlivosti *G...*(genotyp).

Tab. 66. Výsledky *Tukeyho testů mnohonásobného porovnání* fyziologických charakteristik pro stanovení rozdílů mezi *genotypy P₁ (2023), P₂ (CE704), F₁ (2023xCE704), F₁' (CE704x2023), F₂ (F₁xF₁), F₂' (F₁'x F₁')* v *sérii II A u rostlin pod vlivem hypoxie*. Uvedeny jsou statisticky průkazné rozdíly (*a > b*, ale *a* ani *b* se neliší od *ab*).

Tab. 65.

	genotyp
AHR (LP)	0,182
AHR (S)	0,146
AHR (chl)	0,563
PS1 (LP)	0,102
PS1(S)	0,258
PS1 (chl)	0,209
chl a (S)	0,257
chl a (LP)	0,366
chl b (S)	0,688
chl b (LP)	0,551
chl (LP)	0,341
chl (S)	0,415
kar (LP)	0,175
kar (S)	0,428
chl a/b	0,535
chl/kar	0,489
SpHm	0,345
RWC	0,004

Tab. 66.

genotyp	P1	P2	F1	F1'	F2	F2'
AHR (LP)	a	a	a	a	a	a
AHR (S)	a	a	a	a	a	a
AHR (chl)	a	a	a	a	a	a
PS1 (LP)	a	a	a	a	a	a
PS1(S)	a	a	a	a	a	a
PS1 (chl)	a	a	a	a	a	a
chl a (S)	a	a	a	a	a	a
chl a (LP)	a	a	a	a	a	a
chl b (S)	a	a	a	a	a	a
chl b (LP)	a	a	a	a	a	a
chl (LP)	a	a	a	a	a	a
chl (S)	a	a	a	a	a	a
kar (LP)	a	a	a	a	a	a
kar (S)	a	a	a	a	a	a
chl a/b	a	a	a	a	a	a
chl/kar	a	a	a	a	a	a
SpHm	a	a	a	a	a	a
RWC	b	a	ab	ab	b	ab

Tab. 67. Výsledky *analýzy variance jednoduchého třídění* pro hodnoty fyziologických charakteristik u rostlin pěstovaných v *kontrolních podmínkách* v *pokusné sérii I B*. Uvedeny jsou hladiny významnosti (*p*) pro zdroj proměnlivosti G...(genotyp).

Tab. 68. Výsledky *Tukeyho testů mnohonásobného porovnání* fyziologických charakteristik pro stanovení rozdílů mezi *genotypy* P_1 (2023), P_2 (CE704), F_1 (2023xCE704), F_1' (CE704x2023), F_2 ($F_1 \times F_1$), F_2' ($F_1' \times F_1'$) v *kontrolní sérii I B*. Uvedeny jsou statisticky průkazné rozdíly (*a* > *b*, ale *a* ani *b* se neliší od *ab*).

Tab. 67.

	genotyp
AHR (LP)	0,747
AHR (S)	0,790
AHR (chl)	0,307
PS1 (LP)	0,513
PS1(S)	0,394
PS1 (chl)	0,831
chl a (S)	0,761
chl a (LP)	0,343
chl b (S)	0,713
chl b (LP)	0,238
chl (LP)	0,770
chl (S)	0,324
kar (LP)	0,804
kar (S)	0,165
chl a/b	0,044
chl/kar	0,699
SpHm	0,478
RWC	0,663

Tab. 68.

genotyp	P1	P2	F1	F1'	F2	F2'
AHR (LP)	a	a	a	a	a	a
AHR (S)	a	a	a	a	a	a
AHR (chl)	a	a	a	a	a	a
PS1 (LP)	a	a	a	a	a	a
PS1(S)	a	a	a	a	a	a
PS1 (chl)	a	a	a	a	a	a
chl a (S)	a	a	a	a	a	a
chl a (LP)	a	a	a	a	a	a
chl b (S)	a	a	a	a	a	a
chl b (LP)	a	a	a	a	a	a
chl (LP)	a	a	a	a	a	a
chl (S)	a	a	a	a	a	a
kar (LP)	a	a	a	a	a	a
kar (S)	a	a	a	a	a	a
chl a/b	a	a	a	a	a	a
chl/kar	a	a	a	a	a	a
SpHm	a	a	a	a	a	a
RWC	a	a	a	a	a	a

Tab. 69. Výsledky *analýzy variance jednoduchého třídění* pro hodnoty fyziologických charakteristik u rostlin pěstovaných v *kontrolních podmínkách v pokusné sérii II B*. Uvedeny jsou hladiny významnosti (*p*) pro zdroj proměnlivosti *G...*(genotyp).

Tab. 70. Výsledky *Tukeyho testů mnohonásobného porovnání* fyziologických charakteristik pro stanovení rozdílů mezi *genotypy P₁ (2023), P₂ (CE704), F₁ (2023xCE704), F₁' (CE704x2023), F₂ (F₁xF₁), F₂' (F₁'x F₁')* v *kontrolní sérii II B*. Uvedeny jsou statisticky průkazné rozdíly (*a > b*, ale *a* ani *b* se neliší od *ab*).

Tab. 69.

	genotyp
AHR (LP)	0,454
AHR (S)	0,535
AHR (chl)	0,519
PS1 (LP)	0,078
PS1(S)	0,111
PS1 (chl)	0,388
chl a (S)	0,354
chl a (LP)	0,386
chl b (S)	0,538
chl b (LP)	0,462
chl (LP)	0,365
chl (S)	0,363
kar (LP)	0,561
kar (S)	0,542
chl a/b	0,992
chl/kar	0,849
SpHm	0,144
RWC	0,093

Tab. 70.

genotyp	P1	P2	F1	F1'	F2	F2'
AHR (LP)	a	a	a	a	a	a
AHR (S)	a	a	a	a	a	a
AHR (chl)	a	a	a	a	a	a
PS1 (LP)	a	a	a	a	a	a
PS1(S)	a	a	a	a	a	a
PS1 (chl)	a	a	a	a	a	a
chl a (S)	a	a	a	a	a	a
chl a (LP)	a	a	a	a	a	a
chl b (S)	a	a	a	a	a	a
chl b (LP)	a	a	a	a	a	a
chl (LP)	a	a	a	a	a	a
chl (S)	a	a	a	a	a	a
kar (LP)	a	a	a	a	a	a
kar (S)	a	a	a	a	a	a
chl a/b	a	a	a	a	a	a
chl/kar	a	a	a	a	a	a
SpHm	a	a	a	a	a	a
RWC	a	a	a	a	a	a

Tab. 71. Výsledky **analýzy variance jednoduchého třídění** pro hodnoty fyziologických charakteristik u rostlin pěstovaných v **posthypoxických podmínkách v pokusné sérii I B**. Uvedeny jsou hladiny významnosti (*p*) pro zdroj proměnlivosti G...(genotyp).

Tab. 72. Výsledky **Tukeyho testů mnohonásobného porovnání** fyziologických charakteristik pro stanovení rozdílů mezi **genotypy** P₁ (2023), P₂ (CE704), F₁ (2023xCE704), F₁' (CE704x2023), F₂ (F₁xF₁), F₂' (F₁'x F₁') v **sérii I B u rostlin pod vlivem posthypoxie**. Uvedeny jsou statisticky průkazné rozdíly (**a > b**, ale **a** ani **b** se neliší od **ab**).

Tab. 71.

	genotyp
AHR (LP)	0,058
AHR (S)	0,126
AHR (chl)	0,184
PS1 (LP)	0,169
PS1(S)	0,457
PS1 (chl)	0,388
chl a (S)	0,479
chl a (LP)	0,618
chl b (S)	0,705
chl b (LP)	0,740
chl (LP)	0,531
chl (S)	0,650
kar (LP)	0,557
kar (S)	0,432
chl a/b	0,396
chl/kar	0,678
SpHm	0,030
RWC	0,884

Tab. 72.

genotyp	P1	P2	F1	F1'	F2	F2'
AHR (LP)	a	a	a	a	a	a
AHR (S)	a	a	a	a	a	a
AHR (chl)	a	a	a	a	a	a
PS1 (LP)	a	a	a	a	a	a
PS1(S)	a	a	a	a	a	a
PS1 (chl)	a	a	a	a	a	a
chl a (S)	a	a	a	a	a	a
chl a (LP)	a	a	a	a	a	a
chl b (S)	a	a	a	a	a	a
chl b (LP)	a	a	a	a	a	a
chl (LP)	a	a	a	a	a	a
chl (S)	a	a	a	a	a	a
kar (LP)	a	a	a	a	a	a
kar (S)	a	a	a	a	a	a
chl a/b	a	a	a	a	a	a
chl/kar	a	a	a	a	a	a
SpHm	a	ab	b	ab	b	ab
RWC	a	a	a	a	a	a

Tab. 73. Výsledky *analýzy variance jednoduchého třídění* pro hodnoty fyziologických charakteristik u rostlin pěstovaných v *posthypoxických podmínkách* v *pokusné sérii II B*. Uvedeny jsou hladiny významnosti (*p*) pro zdroj proměnlivosti *G...*(genotyp).

Tab. 74. Výsledky *Tukeyho testů mnohonásobného porovnání* fyziologických charakteristik pro stanovení rozdílů mezi *genotypy* P_1 (2023), P_2 (CE704), F_1 (2023xCE704), F_1' (CE704x2023), F_2 ($F_1 \times F_1$), F_2' ($F_1' \times F_1'$) v *sérii II B* u rostlin pod vlivem *posthypoxie*. Uvedeny jsou statisticky průkazné rozdíly (*a > b*, ale *a* ani *b* se neliší od *ab*).

Tab. 73.

	genotyp
AHR (LP)	0,001
AHR (S)	0,017
AHR (chl)	0,009
PS1 (LP)	0,380
PS1(S)	0,840
PS1 (chl)	0,436
chl a (S)	0,778
chl a (LP)	0,890
chl b (S)	0,821
chl b (LP)	0,862
chl (LP)	0,767
chl (S)	0,877
kar (LP)	0,976
kar (S)	0,511
chl a/b	0,997
chl/kar	0,502
SpHm	0,004
RWC	0,391

Tab. 74.

genotyp	P1	P2	F1	F1'	F2	F2'
AHR (LP)	a	b	b	b	b	ab
AHR (S)	a	b	b	ab	ab	ab
AHR (chl)	a	b	b	ab	ab	ab
PS1 (LP)	a	a	a	a	a	a
PS1(S)	a	a	a	a	a	a
PS1 (chl)	a	a	a	a	a	a
chl a (S)	a	a	a	a	a	a
chl a (LP)	a	a	a	a	a	a
chl b (S)	a	a	a	a	a	a
chl b (LP)	a	a	a	a	a	a
chl (LP)	a	a	a	a	a	a
chl (S)	a	a	a	a	a	a
kar (LP)	a	a	a	a	a	a
kar (S)	a	a	a	a	a	a
chl a/b	a	a	a	a	a	a
chl/kar	a	a	a	a	a	a
SpHm	a	b	b	b	b	b
RWC	a	a	a	a	a	a

Tab. 75. Vyjádření procentuálních rozdílů hodnot AHR (chl) ve vztahu k procentuálním rozdílům hodnot obsahů chlorofylu.. Záporné hodnoty v tabulce (vyznačeny červeně) odpovídají reálnému zvýšení průměru AHR ve stresových podmínkách oproti AHR kontroly pro jednotlivé genotypy v rámci sérií (I, II) a bloků (A, B). Kladné hodnoty v tabulce odpovídají reálnému snížení AHR ve stresových podmínkách oproti kontrole.

Genotyp	série I A	série II A	série I B	série II B
2023	-5,03	-4,58	11,54	5,41
CE704	0,3	-18,76	12,9	19,3
2023xCE704	8,68	-5,33	43,6	45,94
CE704x2023	-1,89	-16,06	29,31	23,76
F2 (2023xCE704)	0,04	-9,42	15,28	29,48
F2 (CE704x2023)	7,91	-10,9	17,21	20,05

Tab. 76. Vyjádření procentuálních rozdílů hodnot PSI (chl) ve vztahu k procentuálním rozdílům hodnot obsahů chlorofylu.. Kladné hodnoty v tabulce (vyznačeny černě) odpovídají reálnému snížení průměru PSI ve stresových podmínkách oproti PSI kontroly pro jednotlivé genotypy v rámci sérií (I, II) a bloků (A, B). Kladné hodnoty v tabulce odpovídají reálnému snížení PSI ve stresových podmínkách oproti kontrole.

Genotyp	série I A	série II A	série I B	série II B
2023	14,3	13,88	36,18	25,95
CE704	20,26	10,23	42,39	19,03
2023xCE704	24,09	4,98	55,92	39,43
CE704x2023	24,8	15,49	47,89	49,21
F2 (2023xCE704)	28,95	18,61	49,32	37,02
F2 (CE704x2023)	43,05	12,52	38,93	29,41

4.1.2. Morfologické charakteristiky

Analýzu variance trojného třídění s interakcemi jsem stejně jako v případě fyziologických znaků použila pro komplexní analýzu morfologických charakteristik rostlin, k posouzení vlivů *genotypu* (G), *způsobu pěstování* (P) a *série* (S) na proměnlivost měřených znaků a stanovení vzájemných *interakcí* těchto faktorů.

Tímto způsobem jsem prokázala, že *rozdíly* byly významné v mnoha případech nejen *mezi jednotlivými způsoby pěstování a oběma sériemi* (Tab. 77), ale také téměř pro všechny charakteristiky (s výjimkou poměru suché hmotnosti kořenů/celková hmotnost a poměru suché hmotnosti prýtu/celková hmotnost) u *genotypů* (Tab. 77). Tato analýza ukázala, že *interakce* GxP, GxS, PxS a GxPxS *v bloku pokusů B* byly v některých případech průkazné (Tab. 77), proto jsem stejně jako při analýze fyziologických charakteristik neprováděla mnohonásobná srovnání.

Přesnější představu o změnách mezi jednotlivými *genotypy* (G) a *způsobem pěstování* (P, kontrola/stres) *v sériích I B, II B* mi poskytly výsledky **analýzy variance dvojného třídění s interakcemi**, kterou jsem podobně jako při analýze fyziologických znaků použila pro posouzení vlivu jednotlivých faktorů proměnlivosti na měřené charakteristiky a stanovení *interakcí* faktorů *GxP*.

Interkace typu GxP byly neprůkazné v obou pokusných sériích bloku B (Tab. 78, 80) a bylo možné provést analýzy mnohonásobného srovnání. Tyto analýzy však opět zahrnovaly oba zdroje proměnlivosti G i P.

Hodnocením *morfologických charakteristik mezi genotypy v sérii I B* (Tab. 78) jsem zjistila průkazné rozdíly téměř ve všech případech s výjimkou poměrů kořeny/celková hmotnost a nadzemní část/celková hmotnost. Tukeyho testy dále upřesily, že nejnižších hodnot ve všech případech dosáhla mateřská linie P₂ (CE704) (Tab. 79). Pro délky všech listů a hmotnosti 6. listu vykazala linie P₂ průkazně nejnižší hodnoty v porovnání se všemi ostatními genotypy, které se mezi sebou dále nelišily. Podobné vztahy platily i pro hmotnost 4. a 5. listu, kde však byly ještě průkazné rozdíly i v rámci F generací; v obou případech byly hodnoty F₂' průkazně nižší než linie P₁ (v případě hmotnosti 4. listu i genotypu F₁') a ostatní genotypy sice dosáhly významně vyšších hodnot než P₂, ale od ostatních se již průkazně

nelišily. Testy kontrastu pro výšky v 8. týdnu a suché hmotnosti prýtu dále ukázaly, že v obou případech dosáhly nejvyšších hodnot genotypy F_1' a F_2' , které však byly průkazně odlišné pouze od linie P_2 a ostatní genotypy se od P_2 , F_1' a F_2' nelišily. Pro suchou hmotnost kořenů jsem zjistila obdobné závislosti, nejvyšších hodnot bylo u této charakteristiky dosaženo v případě genotypu F_1 , který se průkazně lišil pouze od P_2 , ale P_2 ani F_1 se průkazně nelišily od ostatních genotypů. Analýza variance dále potvrdila **rozdíly morfologických charakteristik mezi způsoby pěstování (kontrolní a stresované rostliny) v sérii I B** (Tab. 78), které byly průkazné ve více než polovině hodnocených charakteristik. Neodlišovaly se pouze výška v 8. týdnu, délka 4. listu, hm. kořenů, hm. 4. listu a hm. 5. listu (Tab. 78). Tukeyho testy kontrastu ukázaly, že pokud se dané fotosyntetické charakteristiky během stresových podmínek měnily, pak byly tyto hodnoty nižší u rostlin vystavených stresu zaplavením s výjimkou poměru kořeny/celková hmotnost, který byl nižší u kontrolních rostlin (Tab. 79).

Z analýzy **rozdílů hodnot morfologických charakteristik mezi genotypy v sérii II B** vplynuly podobné výsledky jako u série II A (Tab. 80, 81). Vyskytovaly se zde opět průkazné rozdíly ve všech případech s výjimkou poměrů kořeny/celková hmotnost a nadzemní část/celková hmotnost (Tab. 80). Tukeyho testy kontrastu však prokázaly více rozdílů mezi kříženci F generací než u série I B (Tab. 81). Hodnoty délek a suchých hmotností listů byly opakovaně průkazně nejnižší u linie P_2 a nejvyšší u linie P_1 (u délky 6. listu společně s F_1') od které se průkazně lišily i genotypy F_2' (u délky 4. listu společně s F_2). Zbývající genotypy se průkazně nelišily ani od P_1 , ani od F_2' . U hodnot hmotností 4. listu jsem prokázala stejné vztahy mezi genotypy, jako u jejich délek. Průkazně nejnižší hmotnosti 5. listu jsem zjistila opět u linie P_2 a nejvyšší u linie P_1 , všichni kříženci F generací se významně lišili od P_1 i P_2 . Linie P_2 dosáhla nejnižších hodnot i u hmotností 6. listu. Nízkých hodnot dosahovala také generace F_2' , která byla průkazně vyšší než P_2 a zároveň průkazně nižší než P_1 a F_1' . Hodnoty generace F_2 se průkazně nelišily od F_2' , ale ani od F_1 a F_1' . Tedy průkazně vyšší hodnoty od F_2 jsem zaznamenala jen u P_1 , který sice dosáhl nejvyšších hodnot, ale statisticky významně se nelišil od F_1' . Nejvyšší hodnoty suché hmotnosti kořenů jsem zjistila u F_1' , jenž se průkazně lišil od linie P_1 , která byla naopak nejnižší. Ostatní genotypy se průkazně nelišily mezi sebou ani od P_1 a F_1' . Nejnižší hodnoty suché hmotnosti prýtu vykázala linie P_2 , která byla průkazně nižší než F_1' a F_2' . Ostatní genotypy se od F_1' a F_2' ani mezi sebou navzájem významně nelišily. **Rozdíly morfologických charakteristik mezi kontrolními a stresovanými rostlinami**

série II B (Tab. 80) byly průkazné u více než poloviny morfologických parametrů (kromě výšky v 8. týdnu, délky 4. a 5. listu, hmotnosti kořenů a 5. listu). Následná analýza kontrastu ukázala, že průkazně nižší hodnoty vykazovaly stresované rostliny s výjimkou poměru kořeny/celková hmotnost (Tab. 81).

Tab. 77. Výsledky *analýzy variance trojného třídění s interakcemi* pro hodnoty morfologických charakteristik u rostlin pěstovaných v kontrolních a stresových podmínkách v pokusném **bloku B**. Uvedeny jsou hladiny významnosti (*p*) pro zdroje proměnlivosti G...(genotyp), (P)...způsob pěstování (stres, kontrola), (S)...pokusná série, GxP, GxS, PxS, GxPxS...interakce jednotlivých faktorů.

Znak/Faktor	genotyp	pěstování	série	GxP	GxS	PxS	GxPxS
výška v 8.týdnu	0,001	0,760	0,000	0,021	0,771	0,103	0,846
délka 4. listu	0,000	0,277	0,000	0,917	0,106	0,125	0,535
délka 5. listu	0,000	0,005	0,000	0,611	0,615	0,781	0,798
délka 6. listu	0,000	0,000	0,553	0,654	0,294	0,253	0,251
hm kořenu	0,001	0,270	0,027	0,303	0,150	0,631	0,536
hm nadzemní části	0,000	0,000	0,000	0,607	0,943	0,119	0,516
kořeny/celk. hm	0,257	0,000	0,007	0,806	0,042	0,055	0,864
nadz. část/celk. hm	0,200	0,000	0,007	0,806	0,042	0,055	0,864
hm 4. listu	0,000	0,296	0,000	0,539	0,068	0,013	0,235
hm 5. listu	0,000	0,477	0,000	0,574	0,515	0,140	0,017
hm 6. listu	0,000	0,000	0,075	0,197	0,740	0,665	0,411

Tab. 78. Výsledky *analýzy variance dvojného třídění s interakcemi* pro hodnoty morfologických charakteristik u rostlin pěstovaných v kontrolních a stresových podmínkách v *sérii I* pokusného bloku B. Uvedeny jsou hladiny významnosti (*p*) pro zdroje proměnlivosti G...(genotyp), (P)...způsob pěstování (stres, kontrola), GxP,...interakce faktorů.

Znak/Faktor	genotyp	pěstování	GxP
výška v 8.týdnu	0,018	0,271	0,297
délka 4. listu	0,000	0,115	0,662
délka 5. listu	0,000	0,039	0,783
délka 6. listu	0,000	0,000	0,655
hm kořenu	0,076	0,654	0,332
hm nadzemní části	0,003	0,050	0,408
kořeny/celk. hm	0,101	0,037	0,920
nadz. část/celk. hm	0,101	0,037	0,920
hm 4. listu	0,000	0,318	0,240
hm 5. listu	0,000	0,639	0,703
hm 6. listu	0,000	0,016	0,266

Tab. 79. Výsledky *Tukeyho testů mnohonásobného porovnání* morfologických charakteristik v *sérii I* pokusného bloku B pro stanovení rozdílů mezi *genotypy* P₁ (2023), P₂ (CE704), F₁ (2023xCE704), F₁' (CE704x2023), F₂ (F₁xF₁), F₂' (F₁'x F₁') a mezi způsobem *pěstování* (kontrola, stres). Uvedeny jsou statisticky průkazné rozdíly (*a* > *b*, ale *a* ani *b* se neliší od *ab*).

Genotyp	P1	P2	F1	F1'	F2	F2'
výška v 8.týdnu	ab	b	ab	a	ab	a
délka 4. listu	a	b	a	a	a	a
délka 5. listu	a	b	a	a	a	a
délka 6. listu	a	b	a	a	a	a
hm kořenu	ab	b	a	ab	ab	ab
hm nadzemní části	ab	b	ab	a	ab	a
kořeny/celk. hm	a	a	a	a	a	a
nadz. část/celk. hm	a	a	a	a	a	a
hm 4. listu	a	c	ab	a	ab	b
hm 5. listu	a	c	ab	ab	ab	b
hm 6. listu	a	b	a	a	a	a

Pěstování	kontrola	stres
výška v 8.týdnu	a	a
délka 4. listu	a	a
délka 5. listu	a	b
délka 6. listu	a	b
hm kořenu	a	a
hm nadzemní části	a	b
kořeny/celk. hm	b	a
nadz. část/celk. hm	a	b
hm 4. listu	a	a
hm 5. listu	a	a
hm 6. listu	a	b

Tab. 80. Výsledky *analýzy variance dvojného třídění s interakcemi* pro hodnoty morfologických charakteristik u rostlin pěstovaných v kontrolních a stresových podmínkách v *sérii II* pokusného bloku B. Uvedeny jsou hladiny významnosti (*p*) pro zdroje proměnlivosti G...(genotyp), (P)...způsob pěstování (stres, kontrola), GxP,...interakce faktorů.

Znak/Faktor	genotyp	pěstování	GxP
výška v 8.týdnu	0,049	0,226	0,129
délka 4. listu	0,000	0,678	0,880
délka 5. listu	0,000	0,059	0,612
délka 6. listu	0,000	0,000	0,254
hm kořenu	0,004	0,273	0,498
hm nadzemní části	0,003	0,001	0,672
kořeny/celk. hm	0,134	0,000	0,676
nadz. část/celk. hm	0,134	0,000	0,676
hm 4. listu	0,000	0,011	0,571
hm 5. listu	0,000	0,065	0,440
hm 6. listu	0,000	0,000	0,334

Tab. 81. Výsledky *Tukeyho testů mnohonásobného porovnání* morfologických charakteristik v *sérii II* pokusného bloku B pro stanovení rozdílů mezi **genotypy** P₁ (2023), P₂ (CE704), F₁ (2023xCE704), F₁' (CE704x2023), F₂ (F₁xF₁), F₂' (F₁'x F₁') a mezi způsobem **pěstování** (kontrola, stres). Uvedeny jsou statisticky průkazné rozdíly (**a** > **b**, ale **a** ani **b** se neliší od **ab**).

Genotyp	P1	P2	F1	F1'	F2	F2'
výška v 8.týdnu	a	a	a	a	a	a
délka 4. listu	a	c	ab	ab	b	b
délka 5. listu	a	c	ab	ab	ab	b
délka 6. listu	a	c	ab	a	ab	b
hm kořenu	b	ab	ab	a	ab	ab
hm nadzemní části	ab	b	ab	a	ab	a
kořeny/celk. hm	a	a	a	a	a	a
nadz. část/celk. hm	a	a	a	a	a	a
hm 4. listu	a	c	ab	ab	b	b
hm 5. listu	a	c	b	b	b	b
hm 6. listu	a	d	abc	ab	bc	c

Pěstování	kontrola	stres
výška v 8.týdnu	a	a
délka 4. listu	a	a
délka 5. listu	a	a
délka 6. listu	a	b
hm kořenu	a	a
hm nadzemní části	a	b
kořeny/celk. hm	b	a
nadz. část/celk. hm	a	b
hm 4. listu	a	b
hm 5. listu	a	a
hm 6. listu	a	b

Analýzou variance jednoduchého třídění jsem stejně jako v případě fyziologických znaků testovala *rozdíly mezi jednotlivými genotypy* v rámci každé série a způsobu pěstování a také *vliv podmínek pěstování* pro každý genotyp zvlášť v jednotlivých sériích.

Mírný pokles hodnot **suché hmotnosti prýtu** (Obr. 13) jsem v důsledku zaplavení pozorovala u většiny genotypů, s výjimkou genotypu F_1' (série I), kde hmotnost zaplavených rostlin mírně převyšovala hmotnost rostlin kontrolních. Tyto změny však byly ve všech případech statisticky neprůkazné (Tab. 82-105). Rodičovské linie (2023 a CE704) vykazovaly nižší hmotnost prýtu než kříženci F_1 a to u kontrolních i zaplavených rostlin. Kontrolní rostliny F_2 generace obou sérií dosahovaly rovněž vyšší průměrné hmotnosti prýtu než rodičovské linie, ovšem v hypoxických podmínkách již tyto hodnoty klesaly na úroveň mateřských genotypů (kromě F_2' , série II). V obou sériích byl patrný rozdíl mezi jednotlivými genotypy, statisticky průkazný byl však pouze v sérii I pod vlivem stresu (Tab. 110, 111). Nejnižších hodnot zde dosáhla mateřská linie CE704, která se průkazně lišila pouze od genotypu F_1' , který vykazoval hodnoty nejvyšší. Oba genotypy se průkazně nelišily od zbývajících genotypů.

Odlišné vztahy jsem zjistila u hodnot **suché hmotnosti kořenů** (Obr. 14). Hmotnost kořenů byla u mnoha genotypů vyšší u zaplavených rostlin než u kontrolních, což však bylo statisticky průkazné pouze v případě genotypu CE704 (série II; Tab. 88, 89). Nejvyšších hodnot dosahovali oba kříženci F_1 generace u zaplavených rostlin, což bylo patrné především v sérii II, kontrolní hodnoty F_1 kříženců byly také mírně vyšší než u ostatních genotypů kromě F_1 (CE704×2023) v sérii I. Tyto rozdíly však statisticky průkazné nebyly (Tab. 106-113).

Vztahy některých výše uvedených morfologických parametrů dokumentují hodnoty **poměrů suché hmotnosti prýtu a celkové suché hmotnosti rostliny** (Obr. 15) a **suché hmotnosti kořenů a celkové suché hmotnosti rostliny** (Obr. 16). Při znázornění poměru hmotnosti prýtu a celkové hmotnosti rostliny, byl nápadný pokles tohoto poměru u stresovaných rostlin oproti kontrole hlavně u série II. Průkazně však tento poměr klesl pouze u genotypů P_1 (série II, Tab. 84, 85), F_1 (série II, Tab. 92, 93), F_1' (série II, Tab. 96, 97). Neprojevily se zde rozdíly mezi genotypy v jednotlivých sériích (Tab. 106-113). Opačná situace než v předešlém případě nastala při hodnocení poměru hmotnosti kořenů a celkové hmotnosti. U všech genotypů v obou sériích došlo k mírnému zvýšení tohoto poměru během

zaplavení, statisticky průkazné však byly pouze rozdíly mezi kontrolními a stresovanými rostlinami u genotypů P_1 (série II, Tab. 84, 85), F_1 (série II, Tab. 92, 93), F_1' (série II, Tab. 96, 97). Průkazné rozdíly mezi genotypy se opět nevyskytly ani u jedné ze sérií (Tab. 106-113).

U stresovaných rostlin jsem pozorovala mírný pokles **hmotnosti 4. listu** (Obr. 17) u všech genotypů v sérii II a u inbredních linií P_1 a P_2 série I, ovšem opačný trend se projevil u všech kříženců této série. Průkazné však tyto rozdíly nebyly ani v jednom případě (Tab. 82-105). Naproti tomu průkazné byly rozdíly mezi genotypy v jednotlivých sériích (Tab. 106-113). V kontrolní sérii I (Tab. 106, 107) byla průkazně nižší v porovnání s ostatními genotypy mateřská linie P_2 . Genotypy F_2' pak dosáhly průkazně vyšších hodnot než linie P_2 a zároveň byly jejich hodnoty významně nižší než hodnoty linie P_1 . Zbylé genotypy F_1 , F_1' a F_2 se průkazně nelišily od P_1 ani F_2' . U kontrolní série II (Tab. 108, 109) vykazovala linie P_2 opět nejnížší hodnoty, které se však průkazně lišily nejen od linie P_1 , ale i od F_1 a F_2' , zatímco F_1' a F_2 se průkazně nelišily ani od P_2 , ani od P_1 , F_1 a F_2' . Podobné výsledky vyplynuly i z hodnocení stresovaných rostlin (Tab. 110-113), kde genotyp P_2 vykazoval opět statisticky průkazně nejnížší hodnoty. V sérii I (Tab. 110, 111) však linie P_2 dosáhla nejnížších hodnot společně s F_2 a jak P_2 tak F_2 se průkazně lišily od zbylých genotypů. V sérii II (Tab. 112, 113) byla linie P_2 také průkazně nejnížší, zároveň se však lišila od všech hodnot F generací, které byly ale také průkazně nižší v porovnání s linií P_1 .

Pro **hmotnost 5. listu** (Obr. 18) platily podobné vztahy mezi kontrolními a stresovanými rostlinami jako v případě hmotnosti 4. listu, ovšem zaznamenala jsem statisticky průkazné snížení hodnot u F_2' (série II; Tab. 104, 105). Analýzou rozdílů mezi genotypy (Tab. 106-113) jsem zjistila podobné vztahy jako pro hmotnost 4. listu. Pro hmotnosti 5. listů v kontrolní sérii I (Tab. 106, 107) platilo bez výjimky totéž jako pro hmotnosti 4. listů. V kontrolní sérii II (Tab. 108, 109) však dosahovala linie P_2 významně nižších hodnot ve srovnání se všemi zbývajícími genotypy, které se pak dále mezi sebou vzájemně nelišily. Pro hodnoty rostlin pod vlivem stresu v sérii I (Tab. 110, 111) platilo opět totéž co pro hmotnosti 4. listů. V sérii II (Tab. 112, 113) se však u stresovaných rostlin vyskytovaly i průkazné rozdíly mezi kříženci všech generací F. Nejnížší hmotnost listů opět vykazovala linie P_2 , jejíž hodnoty byly průkazně nižší v porovnání s ostatními genotypy kromě F_2' . Generace F_2' se nelišila od F_1' a F_2 , ale byla průkazně nižší než P_1 a F_1 . Genotypy F_1' a F_2 se průkazně nelišily od F_1 , ale byly významně nižší než P_1 , který se zároveň průkazně nelišil od F_1 .

Výraznější snížení hodnot **hmotnosti 6. listu** stresovaných rostlin bylo již

nápadné téměř ve všech případech (Obr. 19). Statisticky významné je toto snížení u genotypů P_1 (série I, II; Tab. 82-85) a F_2 (série II, Tab. 100, 101). Rozdíly mezi genotypy byly opět statisticky průkazné ve všech sériích v kontrolních i stresových podmínkách (Tab. 106-113). V kontrolní sérii I (Tab. 106, 107) byla opět jako v obou předešlých případech průkazně nejnižší linie P_2 a ostatní genotypy se od sebe nelišily. Analýzou kontrolní sérii II (Tab. 108, 109) jsem dosáhla obdobných výsledků, ale navíc se zde objevil významný rozdíl u genotypu F_2' , který byl průkazně nižší než P_1 a zároveň vyšší než P_2 . P_1 se od ostatních F generací statisticky průkazně nelišil. U rostlin pod vlivem stresu série I (Tab. 110, 111) jsem dosáhla shodných výsledků jako v případě hmotností 4. a 5. listů. V sérii II (Tab. 112, 113) pod vlivem stresu byla hmotnost 6. listů linie P_2 opět průkazně nejnižší, ale nelišila se významně od F_2' . S výjimkou P_2 se ostatní genotypy mezi sebou statisticky průkazně nelišily.

Délka 4. listu (Obr. 20) se vlivem zaplavení téměř neměnila, případně mírně stoupla (hlavně série I, F generace). Statisticky průkazné změny se však nevyskytovaly ani v jediné ze sérií (Tab. 82-105). Významné byly ovšem rozdíly mezi genotypy, které logicky sledovaly podobné trendy jako v případě hmotností listů (Tab. 106-113). V kontrolní sérii I (Tab. 106, 107) vykazovala nejnižší hodnoty linie P_2 , která byly statisticky průkazně nižší v porovnání s P_1 , F_1 a F_1' . Generace F_2 a F_2' se průkazně nelišily ani od P_2 ani od P_1 , F_1 a F_1' . U kontrolní série II (Tab. 108, 109) a u stresovaných rostlin série I (Tab. 110, 111) vykazovala linie P_2 opět statisticky průkazně nejnižší hodnoty v porovnání s ostatními genotypy, které se vzájemně nelišily. U rostlin pod vlivem stresu série II (Tab. 112, 113) se průkazně nejnižší hodnoty délky 4. listu vyskytovaly opět v případě linie P_2 , ovšem průkazně se lišila i generace F_2' , která vykazala vyšší hodnoty než P_2 , ale zároveň průkazně nižší hodnoty v porovnání s linií P_1 . Genotypy F_1 , F_1' a F_2 se pak průkazně nelišily ani od P_1 ani od F_2' .

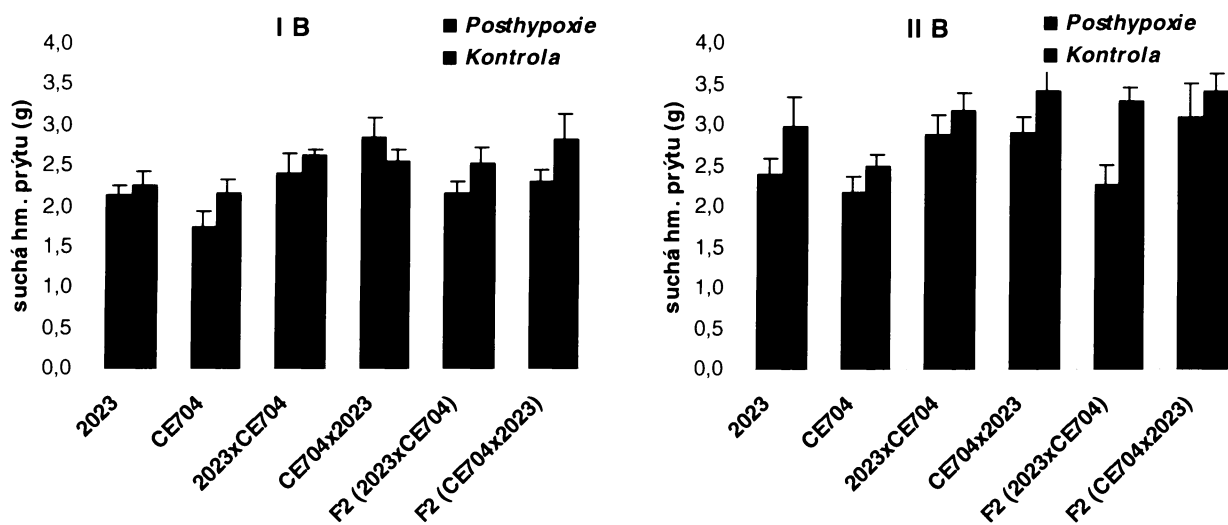
K podobným výsledkům jsem dospěla i statistickou analýzou hodnot **délky 5. listu** (Obr. 21), kde však byla i z grafů patrná tendence (ovšem statisticky neprůkazná, Tab. 82-105) k poklesu hodnot ve stresových podmínkách oproti kontrole. V kontrolní sérii I (Tab. 106, 107) a ve stresových podmínkách obou sérií (Tab. 110-113) vykazoval genotyp P_2 průkazně nejnižší hodnoty a ostatní genotypy se mezi sebou významně nelišily. Hodnocením kontrolní série II (Tab. 108, 109) jsem získala obdobné výsledky, ale zde se navíc objevil i průkazný rozdíl u F_2' , jehož hodnoty byly vyšší než u linie P_2 a zároveň nižší než u linie P_1 . Generace F_2' se pak od hodnot ostatních F generací průkazně nelišila.

U **délky 6. listu** (Obr. 22) byl již nápadný výrazný pokles u rostlin pod vlivem

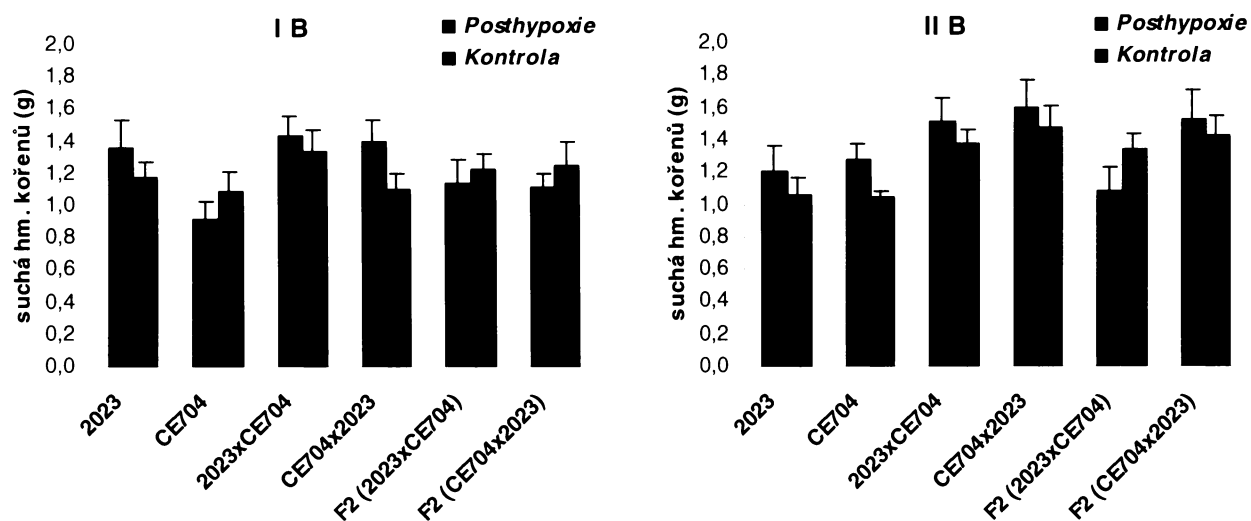
stresu u všech genotypů obou sérií. V porovnání s rozdílem hmotností těchto listů u kontrolních a stresovaných rostlin byl tento rozdíl také častěji statisticky průkazný; a to u P_1 (série I, II; Tab. 82-85), P_2 (série I; Tab. 86, 87), F_1 (série I, Tab. 90, 91), F_1' (série II; Tab. 96, 97) a F_2 (série I, II; Tab. 98-101). Opět jsem ve všech sériích zaznamenala průkazné rozdíly mezi genotypy a jako v předchozích případech jsem nejnižší hodnoty zjistila u rodičovské linie P_2 (Tab. 106-113). U kontrolní série I (Tab. 106, 107) se však P_2 statisticky průkazně lišil pouze od F_2 , který dosáhl nejvyšších hodnot. V kontrolní sérii II (Tab. 108, 109) se P_2 lišil již průkazně od všech genotypů. Nízké hodnoty jsem zjistila i u generace F_2' , průkazně se však lišily pouze od hodnot F_1' . Rozdíly mezi P_1 , F_1 , F_1' a F_2 nebyly statisticky průkazné. Při hodnocení genotypových rozdílů v sérii I pod vlivem stresu (Tab. 110, 111) jsem dospěla ke stejným výsledkům jako v případě délek 4. a 5. listů. Ani analýza série II pod vlivem stresu (Tab. 112, 113) se příliš nelišila od analýzy délky 5. listu. Jedinou změnu představovaly obě generace F_2 , které se statisticky průkazně nelišily ani od nejnižších hodnot genotypu P_2 , ani od nejvyšších hodnot linie P_1 a obou F_1 generací.

Z grafů znázorňujících **výšky rostlin v 8. týdnu** (Obr. 23) je patrné, že hodnoty celkové výšky se neměnily tak výrazně jako hmotnosti a délky listů. Nebyla zde nápadná žádná tendence ke zvyšování či snižování hodnot vlivem stresu. Statistická analýza prokázala významné zvýšení u stresovaných rostlin pouze u F_2' (série I; Tab. 102, 103). Rozdíly mezi genotypy byly průkazné u rostlin pod vlivem stresu v obou sériích (Tab. 110, 112), ale Tukeyho test kontrastu tyto rozdíly potvrdil pouze v případě série I (Tab. 111). Jako v předešlých případech zde dosáhla linie P_2 nejnižších hodnot, průkazně se však lišila jen od genotypů F_1' a F_2' . Generace F_2 se průkazně lišila pouze od F_1' .

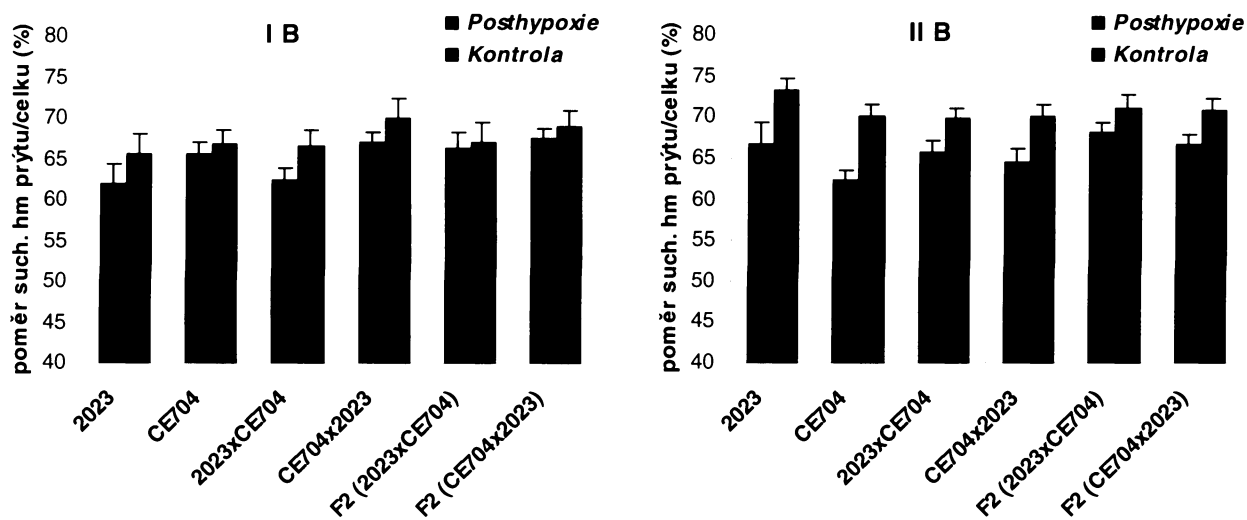
Obr. 13. Suchá hmotnost prýtu rostlin pěstovaných v kontrolních a stresových podmínkách (blok B) ve dvou po sobě následujících pokusných sériích (I, II). Uvedeny jsou průměrné hodnoty \pm střední chyby průměru.



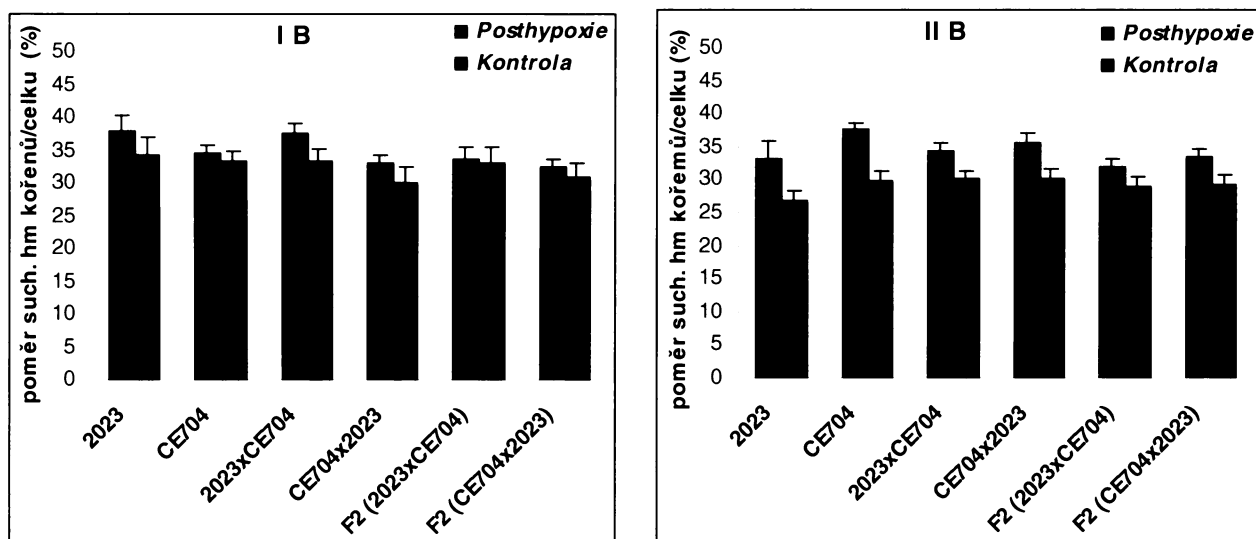
Obr. 14. Suchá hmotnost kořenů rostlin pěstovaných v kontrolních a stresových podmínkách (blok B) ve dvou po sobě následujících pokusných sériích (I, II). Uvedeny jsou průměrné hodnoty \pm střední chyby průměru.



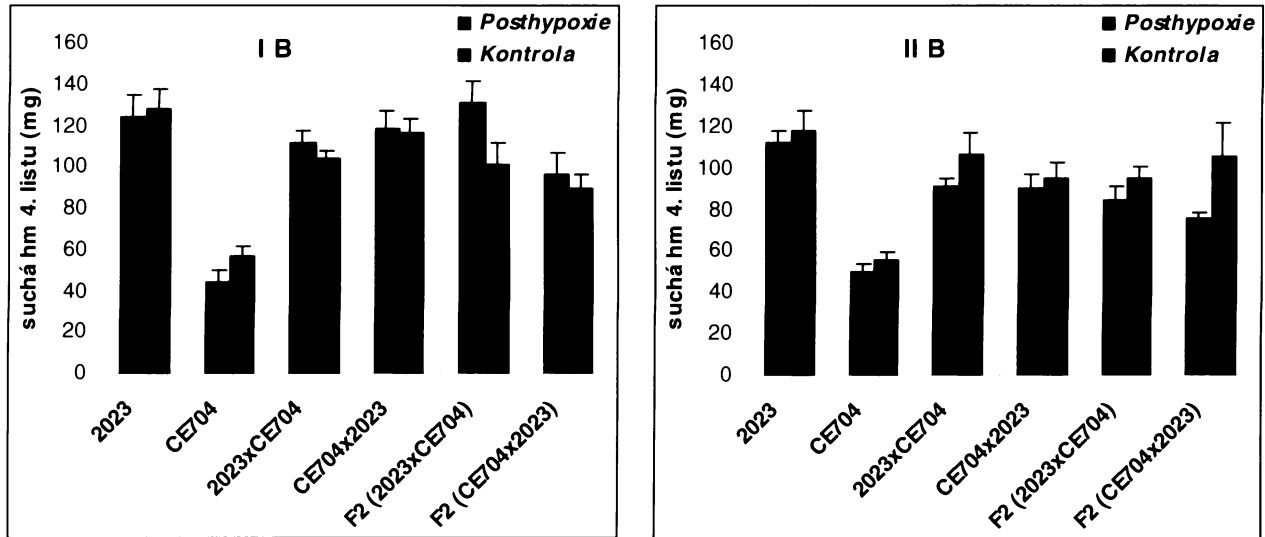
Obr. 15. Poměr suché hmotnosti prýtu a celku rostlin pěstovaných v kontrolních a stresových podmínkách (blok B) ve dvou po sobě následujících pokusných sériích (I, II). Uvedeny jsou průměrné hodnoty \pm střední chyby průměru.



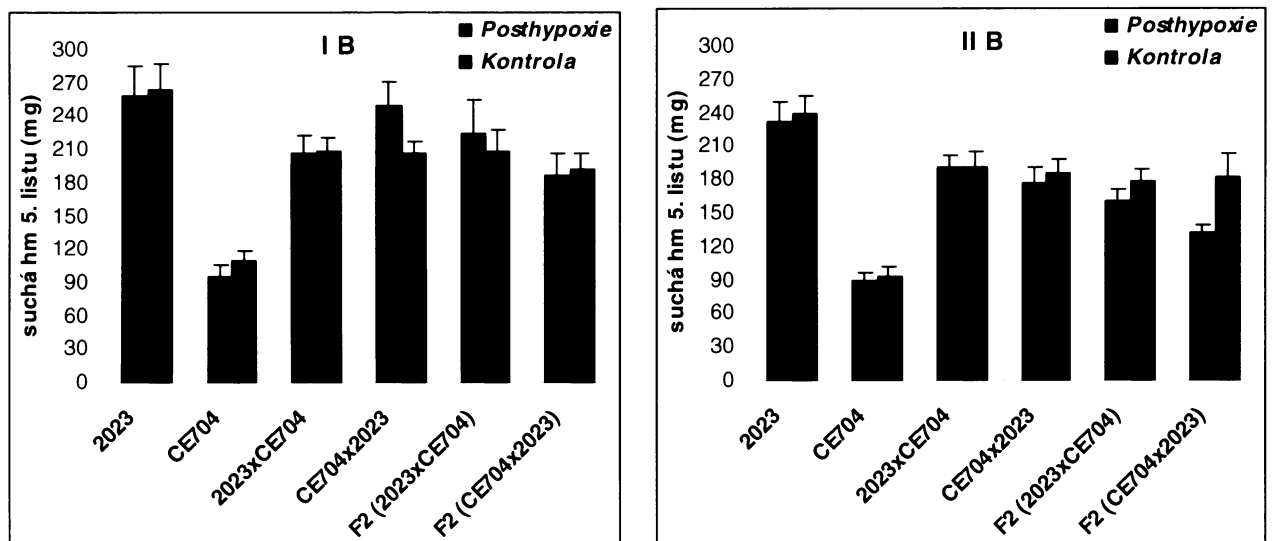
Obr. 16. Poměr suché hmotnosti kořenů a celku rostlin pěstovaných v kontrolních a stresových podmínkách (blok B) ve dvou po sobě následujících pokusných sériích (I, II). Uvedeny jsou průměrné hodnoty \pm střední chyby průměru.



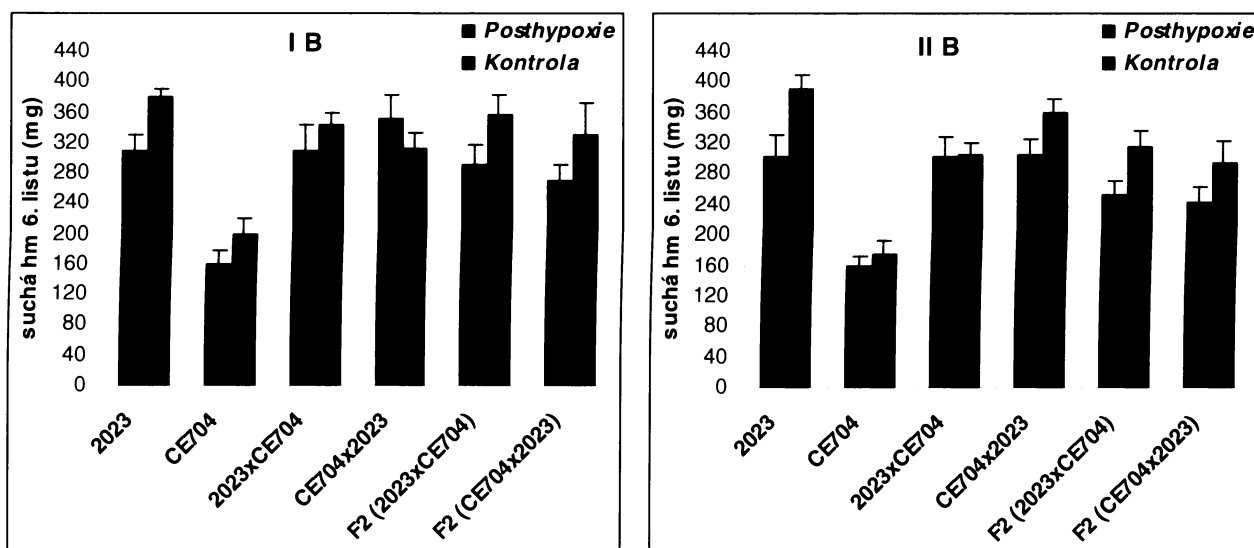
Obr. 17. Suchá hmotnost 4. listu. rostlin pěstovaných v kontrolních a stresových podmínkách (blok B) ve dvou po sobě následujících pokusných sériích (I, II). Uvedeny jsou průměrné hodnoty \pm střední chyby průměru.



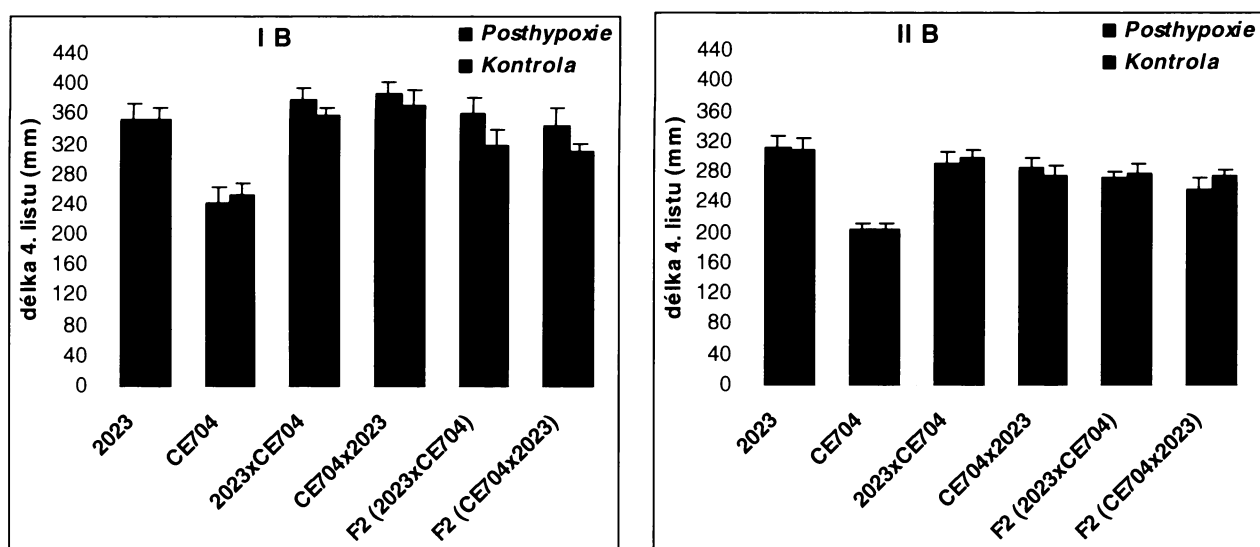
Obr. 18. Suchá hmotnost 5. listu. rostlin pěstovaných v kontrolních a stresových podmínkách (blok B) ve dvou po sobě následujících pokusných sériích (I, II). Uvedeny jsou průměrné hodnoty \pm střední chyby průměru.



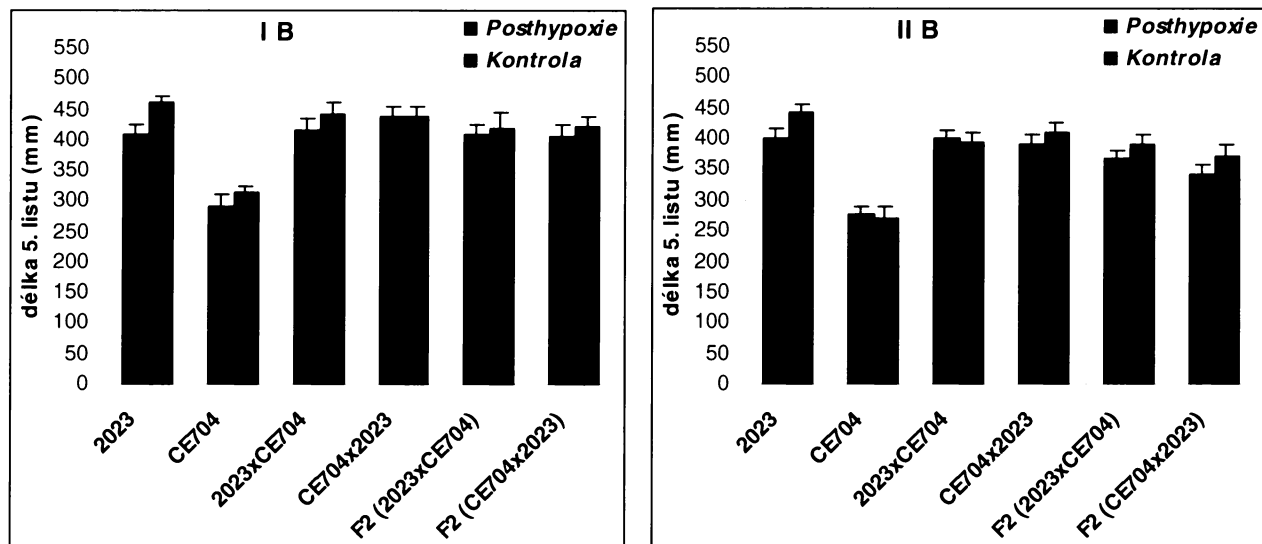
Obr. 19. Suchá hmotnost 6. listu. rostlin pěstovaných v kontrolních a stresových podmínkách (blok B) ve dvou po sobě následujících pokusných sériích (I, II). Uvedeny jsou průměrné hodnoty \pm střední chyby průměru.



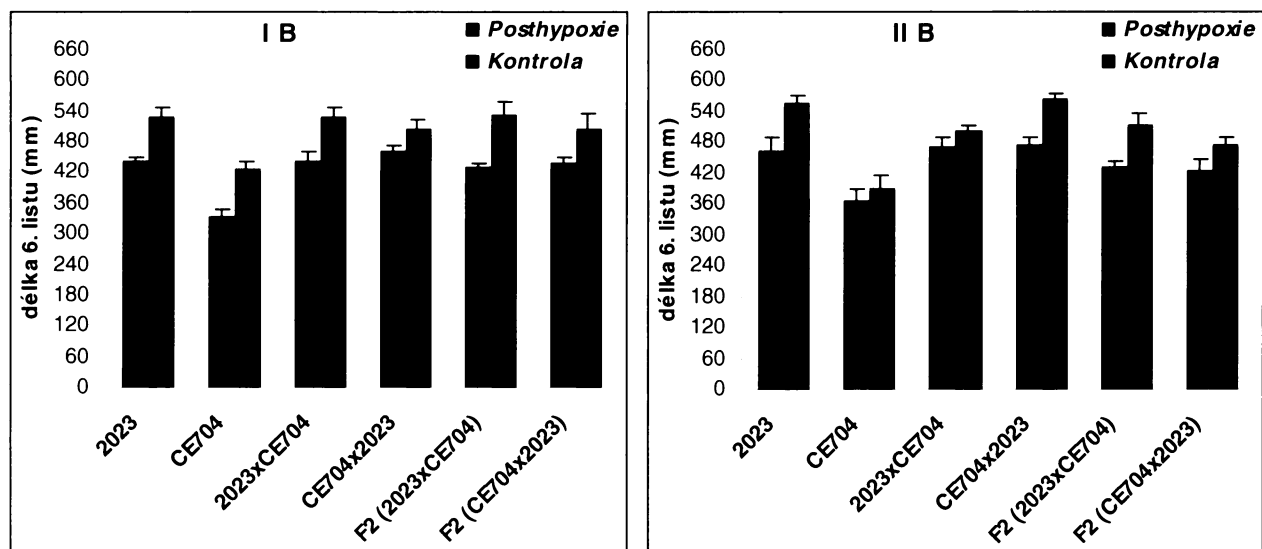
Obr. 20. Délka 4. listu. rostlin pěstovaných v kontrolních a stresových podmínkách (blok B) ve dvou po sobě následujících pokusných sériích (I, II). Uvedeny jsou průměrné hodnoty \pm střední chyby průměru.



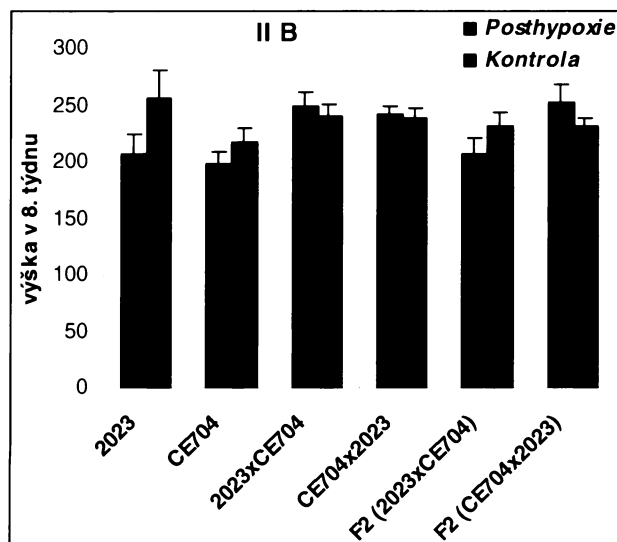
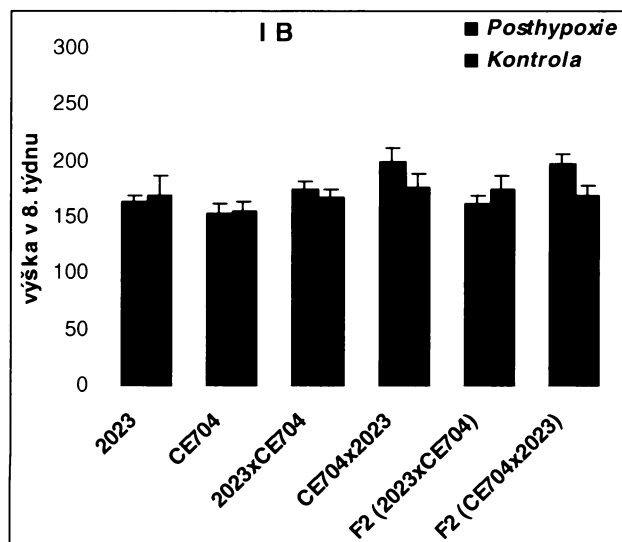
Obr. 21. **Délka 5. listu.** rostlin pěstovaných v kontrolních a stresových podmínkách (blok B) ve dvou po sobě následujících pokusných sériích (I, II). Uvedeny jsou průměrné hodnoty \pm střední chyby průměru.



Obr. 22. **Délka 6. listu.** rostlin pěstovaných v kontrolních a stresových podmínkách (blok B) ve dvou po sobě následujících pokusných sériích (I, II). Uvedeny jsou průměrné hodnoty \pm střední chyby průměru.



Obr. 23. Výška rostlin v 8. týdnu pěstovaných v kontrolních a stresových podmínkách (blok B) ve dvou po sobě následujících pokusných sériích (I, II). Uvedeny jsou průměrné hodnoty \pm střední chyby průměru.



Tab. 82. Výsledky *analýzy variance jednoduchého třídění* pro hodnoty morfologických charakteristik u rostlin genotypu 2023 (P_1) pokusné série I bloku B. Uvedeny jsou hladiny významnosti (p) pro zdroj proměnlivosti P...(pěstování).

Tab. 83. Výsledky *Tukeyho testů mnohonásobného porovnání* morfologických charakteristik pro stanovení rozdílů mezi způsobem pěstování (kontrola, stres) u rostlin genotypu 2023 (P_1) v pokusné sérii I bloku B. Uvedeny jsou statisticky průkazné rozdíly ($a > b$).

Tab. 82.

I P1	pěstování
výška v 8.týdnu	0,784
délka 4. listu	0,996
délka 5. listu	0,015
délka 6. listu	0,001
hm kořenu	0,353
hm nadzemní části	0,591
kořeny/celk. hm	0,308
nadz. část/celk. hm	0,308
hm 4. listu	0,788
hm 5. listu	0,897
hm 6. listu	0,027

Tab. 83.

Pěstování	kontrola	stres
výška v 8.týdnu	a	a
délka 4. listu	a	a
délka 5. listu	a	b
délka 6. listu	a	b
hm kořenu	a	a
hm nadzemní části	a	a
kořeny/celk. hm	a	a
nadz. část/celk. hm	a	a
hm 4. listu	a	a
hm 5. listu	a	a
hm 6. listu	a	b

Tab. 84. Výsledky *analýzy variance jednoduchého třídění* pro hodnoty morfologických charakteristik u rostlin genotypu 2023 (P_1) pokusné série II bloku B. Uvedeny jsou hladiny významnosti (p) pro zdroj proměnlivosti P...(pěstování).

Tab. 85. Výsledky *Tukeyho testů mnohonásobného porovnání* morfologických charakteristik pro stanovení rozdílů mezi způsobem pěstování (kontrola, stres) u rostlin genotypu 2023 (P_1) v pokusné sérii II bloku B. Uvedeny jsou statisticky průkazné rozdíly ($a > b$).

Tab. 84.

II P1	pěstování
výška v 8.týdnu	0,129
délka 4. listu	0,889
délka 5. listu	0,081
délka 6. listu	0,007
hm kořenu	0,454
hm nadzemní části	0,168
kořeny/celk. hm	0,044
nadz. část/celk. hm	0,044
hm 4. listu	0,584
hm 5. listu	0,798
hm 6. listu	0,019

Tab. 85.

Pěstování	kontrola	stres
výška v 8.týdnu	a	a
délka 4. listu	a	a
délka 5. listu	a	a
délka 6. listu	a	b
hm kořenu	a	a
hm nadzemní části	a	a
kořeny/celk. hm	b	a
nadz. část/celk. hm	a	b
hm 4. listu	a	a
hm 5. listu	a	a
hm 6. listu	a	b

Tab. 86. Výsledky *analýzy variance jednoduchého třídění* pro hodnoty morfologických charakteristik u rostlin genotypu **CE704 (P₂)** pokusné série **I bloku B**. Uvedeny jsou hladiny významnosti (*p*) pro zdroj proměnlivosti P...(pěstování).

I P₂	pěstování
výška v 8.týdnu	0,867
délka 4. listu	0,669
délka 5. listu	0,274
délka 6. listu	0,001
hm kořenu	0,299
hm nadzemní části	0,125
kořeny/celk. hm	0,588
nadz. část/celk. hm	0,588
hm 4. listu	0,136
hm 5. listu	0,290
hm 6. listu	0,186

Tab. 86.

Pěstování	kontrola	stres
výška v 8.týdnu	a	a
délka 4. listu	a	a
délka 5. listu	a	a
délka 6. listu	a	b
hm kořenu	a	a
hm nadzemní části	a	a
kořeny/celk. hm	a	a
nadz. část/celk. hm	a	a
hm 4. listu	a	a
hm 5. listu	a	a
hm 6. listu	a	a

Tab. 87.

Tab. 88. Výsledky *analýzy variance jednoduchého třídění* pro hodnoty morfologických charakteristik u rostlin genotypu **CE704 (P₂)** pokusné série **II bloku B**. Uvedeny jsou hladiny významnosti (*p*) pro zdroj proměnlivosti P...(pěstování).

II P₂	pěstování
výška v 8.týdnu	0,280
délka 4. listu	0,951
délka 5. listu	0,869
délka 6. listu	0,613
hm kořenu	0,039
hm nadzemní části	0,246
kořeny/celk. hm	0,001
nadz. část/celk. hm	0,001
hm 4. listu	0,285
hm 5. listu	0,820
hm 6. listu	0,553

Tab. 88.

Pěstování	kontrola	stres
výška v 8.týdnu	a	a
délka 4. listu	a	a
délka 5. listu	a	a
délka 6. listu	a	a
hm kořenu	b	a
hm nadzemní části	a	a
kořeny/celk. hm	b	a
nadz. část/celk. hm	a	b
hm 4. listu	a	a
hm 5. listu	a	a
hm 6. listu	a	a

Tab. 89.

Tab. 89. Výsledky *Tukeyho testů mnohonásobného porovnání* morfologických charakteristik pro stanovení rozdílů mezi způsobem pěstování (kontrola, stres) u rostlin genotypu **CE704 (P₂)** v pokusné **sérii II bloku B**. Uvedeny jsou statisticky průkazné rozdíly (**a > b**).

Tab. 90. Výsledky *analýzy variance jednoduchého třídění* pro hodnoty morfologických charakteristik u rostlin genotypu **2023xCE704** (F_1) pokusné **série I bloku B**. Uvedeny jsou hladiny významnosti (p) pro zdroj proměnlivosti $P...$ (pěstování).

Tab. 90.

$I F_1$	pěstování
výška v 8.týdnu	0,507
délka 4. listu	0,305
délka 5. listu	0,367
délka 6. listu	0,011
hm kořenu	0,593
hm nadzemní části	0,436
kořeny/celk. hm	0,082
nadz. část/celk. hm	0,082
hm 4. listu	0,273
hm 5. listu	0,896
hm 6. listu	0,449

Tab. 91.

Pěstování	kontrola	stres
výška v 8.týdnu	a	a
délka 4. listu	a	a
délka 5. listu	a	a
délka 6. listu	a	b
hm kořenu	a	a
hm nadzemní části	a	a
kořeny/celk. hm	a	a
nadz. část/celk. hm	a	a
hm 4. listu	a	a
hm 5. listu	a	a
hm 6. listu	a	a

Tab. 92. Výsledky *analýzy variance jednoduchého třídění* pro hodnoty morfologických charakteristik u rostlin genotypu **2023xCE704** (F_1) pokusné **série II bloku B**. Uvedeny jsou hladiny významnosti (p) pro zdroj proměnlivosti $P...$ (pěstování).

Tab. 92.

$II F_1$	pěstování
výška v 8.týdnu	0,620
délka 4. listu	0,711
délka 5. listu	0,770
délka 6. listu	0,184
hm kořenu	0,430
hm nadzemní části	0,370
kořeny/celk. hm	0,044
nadz. část/celk. hm	0,044
hm 4. listu	0,207
hm 5. listu	0,995
hm 6. listu	0,936

Tab. 93.

Pěstování	kontrola	stres
výška v 8.týdnu	a	a
délka 4. listu	a	a
délka 5. listu	a	a
délka 6. listu	a	a
hm kořenu	a	a
hm nadzemní části	a	a
kořeny/celk. hm	b	a
nadz. část/celk. hm	a	b
hm 4. listu	a	a
hm 5. listu	a	a
hm 6. listu	a	a

Tab. 93. Výsledky *Tukeyho testů mnohonásobného porovnání* morfologických charakteristik pro stanovení rozdílů mezi způsobem pěstování (kontrola, stres) u rostlin genotypu **2023xCE704** (F_1) v pokusné **sérii II bloku B**. Uvedeny jsou statisticky průkazné rozdíly ($a > b$).

Tab. 94. Výsledky *analýzy variance jednoduchého třídění* pro hodnoty morfologických charakteristik u rostlin genotypu **CE704x2023 (F₁')** pokusné série **I bloku B**. Uvedeny jsou hladiny významnosti (*p*) pro zdroj proměnlivosti P...(pěstování).

Tab. 95. Výsledky *Tukeyho testů mnohonásobného porovnání* morfologických charakteristik pro stanovení rozdílů mezi způsobem pěstování (kontrola, stres) u rostlin genotypu **CE704x2023 (F₁')** v pokusné sérii **I bloku B**. Uvedeny jsou statisticky průkazné rozdíly (*a > b*).

Tab. 94.

I F₁'	pěstování
výška v 8.týdnu	0,186
délka 4. listu	0,624
délka 5. listu	0,995
délka 6. listu	0,084
hm kořenu	0,093
hm nadzemní části	0,358
kořeny/celk. hm	0,286
nadz. část/celk. hm	0,286
hm 4. listu	0,897
hm 5. listu	0,091
hm 6. listu	0,297

Tab. 95.

Pěstování	kontrola	stres
výška v 8.týdnu	a	a
délka 4. listu	a	a
délka 5. listu	a	a
délka 6. listu	a	a
hm kořenu	a	a
hm nadzemní části	a	a
kořeny/celk. hm	a	a
nadz. část/celk. hm	a	a
hm 4. listu	a	a
hm 5. listu	a	a
hm 6. listu	a	a

Tab. 96. Výsledky *analýzy variance jednoduchého třídění* pro hodnoty morfologických charakteristik u rostlin genotypu **CE704x2023 (F₁')** pokusné série **II bloku B**. Uvedeny jsou hladiny významnosti (*p*) pro zdroj proměnlivosti P...(pěstování).

Tab. 97. Výsledky *Tukeyho testů mnohonásobného porovnání* morfologických charakteristik pro stanovení rozdílů mezi způsobem pěstování (kontrola, stres) u rostlin genotypu **CE704x2023 (F₁')** v pokusné sérii **II bloku B**. Uvedeny jsou statisticky průkazné rozdíly (*a > b*).

Tab. 96.

II F₁'	pěstování
výška v 8.týdnu	0,755
délka 4. listu	0,563
délka 5. listu	0,393
délka 6. listu	0,000
hm kořenu	0,552
hm nadzemní části	0,159
kořeny/celk. hm	0,032
nadz. část/celk. hm	0,032
hm 4. listu	0,662
hm 5. listu	0,612
hm 6. listu	0,066

Tab. 97.

Pěstování	kontrola	stres
výška v 8.týdnu	a	a
délka 4. listu	a	a
délka 5. listu	a	a
délka 6. listu	a	b
hm kořenu	a	a
hm nadzemní části	a	a
kořeny/celk. hm	b	a
nadz. část/celk. hm	a	b
hm 4. listu	a	a
hm 5. listu	a	a
hm 6. listu	a	a

Tab. 98. Výsledky *analýzy variance jednoduchého třídění* pro hodnoty morfologických charakteristik u rostlin generace $F_1 \times F_1$ (F_2) pokusné série I bloku B. Uvedeny jsou hladiny významnosti (p) pro zdroj proměnlivosti P...(pěstování).

Tab. 99. Výsledky *Tukeyho testů mnohonásobného porovnání* morfologických charakteristik pro stanovení rozdílů mezi způsobem pěstování (kontrola, stres) u rostlin generace $F_1 \times F_1$ (F_2) v pokusné sérii I bloku B. Uvedeny jsou statisticky průkazné rozdíly ($a > b$).

Tab. 98.

I F2	pěstování
výška v 8.týdnu	0,415
délka 4. listu	0,166
délka 5. listu	0,735
délka 6. listu	0,004
hm kořenu	0,645
hm nadzemní části	0,172
kořeny/celk. hm	0,836
nadz. část/celk. hm	0,836
hm 4. listu	0,066
hm 5. listu	0,655
hm 6. listu	0,116

Tab. 99.

Pěstování	kontrola	stres
výška v 8.týdnu	a	a
délka 4. listu	a	a
délka 5. listu	a	a
délka 6. listu	a	b
hm kořenu	a	a
hm nadzemní části	a	a
kořeny/celk. hm	a	a
nadz. část/celk. hm	a	a
hm 4. listu	a	a
hm 5. listu	a	a
hm 6. listu	a	a

Tab. 100. Výsledky *analýzy variance jednoduchého třídění* pro hodnoty morfologických charakteristik u rostlin generace $F_1 \times F_1$ (F_2) pokusné série II bloku B. Uvedeny jsou hladiny významnosti (p) pro zdroj proměnlivosti P...(pěstování).

Tab. 101. Výsledky *Tukeyho testů mnohonásobného porovnání* morfologických charakteristik pro stanovení rozdílů mezi způsobem pěstování (kontrola, stres) u rostlin generace $F_1 \times F_1$ (F_2) v pokusné sérii II bloku B. Uvedeny jsou statisticky průkazné rozdíly ($a > b$).

Tab. 100.

II F2	pěstování
výška v 8.týdnu	0,207
délka 4. listu	0,694
délka 5. listu	0,234
délka 6. listu	0,006
hm kořenu	0,160
hm nadzemní části	0,003
kořeny/celk. hm	0,151
nadz. část/celk. hm	0,151
hm 4. listu	0,278
hm 5. listu	0,272
hm 6. listu	0,048

Tab. 101.

Pěstování	kontrola	stres
výška v 8.týdnu	a	a
délka 4. listu	a	a
délka 5. listu	a	a
délka 6. listu	a	b
hm kořenu	a	a
hm nadzemní části	a	b
kořeny/celk. hm	a	a
nadz. část/celk. hm	a	a
hm 4. listu	a	a
hm 5. listu	a	a
hm 6. listu	a	b

Tab. 102. Výsledky *analýzy variance jednoduchého třídění* pro hodnoty morfologických charakteristik u rostlin generace $F_1 \times F_1'$ (F_2') pokusné série I bloku B. Uvedeny jsou hladiny významnosti (p) pro zdroj proměnlivosti P...(pěstování).

Tab. 102.

I F_2'	pěstování
výška v 8.týdnu	0,045
délka 4. listu	0,192
délka 5. listu	0,557
délka 6. listu	0,080
hm kořenu	0,456
hm nadzemní části	0,190
kořeny/celk. hm	0,570
nadz. část/celk. hm	0,570
hm 4. listu	0,635
hm 5. listu	0,824
hm 6. listu	0,197

Tab. 103.

Pěstování	kontrola	stres
výška v 8.týdnu	b	a
délka 4. listu	a	a
délka 5. listu	a	a
délka 6. listu	a	a
hm kořenu	a	a
hm nadzemní části	a	a
kořeny/celk. hm	a	a
nadz. část/celk. hm	a	a
hm 4. listu	a	a
hm 5. listu	a	a
hm 6. listu	a	a

Tab. 104. Výsledky *analýzy variance jednoduchého třídění* pro hodnoty morfologických charakteristik u rostlin generace $F_1 \times F_1'$ (F_2') pokusné série II bloku B. Uvedeny jsou hladiny významnosti (p) pro zdroj proměnlivosti P...(pěstování).

Tab. 104.

II F_2'	pěstování
výška v 8.týdnu	0,203
délka 4. listu	0,318
délka 5. listu	0,259
délka 6. listu	0,092
hm kořenu	0,664
hm nadzemní části	0,490
kořeny/celk. hm	0,060
nadz. část/celk. hm	0,060
hm 4. listu	0,097
hm 5. listu	0,048
hm 6. listu	0,147

Tab. 105.

Pěstování	kontrola	stres
výška v 8.týdnu	a	a
délka 4. listu	a	a
délka 5. listu	a	a
délka 6. listu	a	a
hm kořenu	a	a
hm nadzemní části	a	a
kořeny/celk. hm	a	a
nadz. část/celk. hm	a	a
hm 4. listu	a	a
hm 5. listu	a	b
hm 6. listu	a	a

Tab. 105. Výsledky *Tukeyho testů mnohonásobného porovnání* morfologických charakteristik pro stanovení rozdílů mezi způsobem pěstování (kontrola, stres) u rostlin generace $F_1 \times F_1'$ (F_2') v pokusné sérii II bloku B. Uvedeny jsou statisticky průkazné rozdíly ($a > b$).

Tab. 106. Výsledky *analýzy variance jednoduchého třídění* pro hodnoty morfologických charakteristik u rostlin pěstovaných v *kontrolních podmínkách v pokusné sérii I bloku B*. Uvedeny jsou hladiny významnosti (*p*) pro zdroj proměnlivosti *G...*(genotyp).

	genotyp
výška v 8.týdnu	0,884
délka 4. listu	0,000
délka 5. listu	0,000
délka 6. listu	0,019
hm kořenu	0,676
hm nadzemní části	0,235
kořeny/celk. hm	0,737
nadz. část/celk. hm	0,737
hm 4. listu	0,000
hm 5. listu	0,000
hm 6. listu	0,000

Tab. 107. Výsledky *Tukeyho testů mnohonásobného porovnání* morfologických charakteristik pro stanovení rozdílů mezi *genotypy* P_1 (2023), P_2 (CE704), F_1 (2023xCE704), F_1' (CE704x2023), F_2 ($F_1 \times F_1$), F_2' ($F_1' \times F_1'$) u *kontrolních rostlin v sérii I bloku B*. Uvedeny jsou statisticky průkazné rozdílly (*a* > *b*, ale *a* ani *b* se neliší od *ab*).

genotyp	P1	P2	F1	F1'	F2	F2'
výška v 8.týdnu	a	a	a	a	a	a
délka 4. listu	a	b	a	a	ab	ab
délka 5. listu	a	b	a	a	a	a
délka 6. listu	ab	b	ab	ab	a	ab
hm kořenu	a	a	a	a	a	a
hm nadzemní části	a	a	a	a	a	a
kořeny/celk. hm	a	a	a	a	a	a
nadz. část/celk. hm	a	a	a	a	a	a
hm 4. listu	a	c	ab	ab	ab	b
hm 5. listu	a	c	ab	ab	ab	b
hm 6. listu	a	b	a	a	a	a

Tab. 108. Výsledky *analýzy variance jednoduchého třídění* pro hodnoty morfologických charakteristik u rostlin pěstovaných v *kontrolních podmínkách v pokusné sérii II bloku B*. Uvedeny jsou hladiny významnosti (*p*) pro zdroj proměnlivosti *G...*(genotyp).

	genotyp
výška v 8.týdnu	0,539
délka 4. listu	0,000
délka 5. listu	0,000
délka 6. listu	0,000
hm kořenu	0,014
hm nadzemní části	0,070
kořeny/celk. hm	0,562
nadz. část/celk. hm	0,562
hm 4. listu	0,002
hm 5. listu	0,000
hm 6. listu	0,000

Tab. 109. Výsledky *Tukeyho testů mnohonásobného porovnání* morfologických charakteristik pro stanovení rozdílů mezi *genotypy* P_1 (2023), P_2 (CE704), F_1 (2023xCE704), F_1' (CE704x2023), F_2 ($F_1 \times F_1$), F_2' ($F_1' \times F_1'$) u *kontrolních rostlin* v *sérii II bloku B*. Uvedeny jsou statisticky průkazné rozdíly (*a* > *b*, ale *a* ani *b* se neliší od *ab*).

genotyp	P1	P2	F1	F1'	F2	F2'
výška v 8.týdnu	a	a	a	a	a	a
délka 4. listu	a	b	a	a	a	a
délka 5. listu	a	c	ab	ab	ab	b
délka 6. listu	ab	c	ab	a	ab	b
hm kořenu	a	a	a	a	a	a
hm nadzemní části	a	a	a	a	a	a
kořeny/celk. hm	a	a	a	a	a	a
nadz. část/celk. hm	a	a	a	a	a	a
hm 4. listu	a	b	a	ab	ab	a
hm 5. listu	a	b	a	a	a	a
hm 6. listu	a	c	ab	ab	ab	b

Tab. 110. Výsledky *analýzy variance jednoduchého třídění* pro hodnoty morfologických charakteristik u rostlin pěstovaných ve *stresových podmínkách v pokusné sérii I B*. Uvedeny jsou hladiny významnosti (*p*) pro zdroj proměnlivosti *G...*(genotyp).

	genotypy
výška v 8.týdnu	0,001
délka 4. listu	0,000
délka 5. listu	0,000
délka 6. listu	0,000
hm kořenu	0,051
hm nadzemní části	0,008
kořeny/celk. hm	0,092
nadz. část/celk. hm	0,092
hm 4. listu	0,000
hm 5. listu	0,000
hm 6. listu	0,000

Tab. 111. Výsledky *Tukeyho testů mnohonásobného porovnání* morfologických charakteristik pro stanovení rozdílů mezi *genotypy* P_1 (2023), P_2 (CE704), F_1 (2023xCE704), F_1' (CE704x2023), F_2 ($F_1 \times F_1$), F_2' ($F_1' \times F_1'$) v *sérii I B u stresovaných rostlin*. Uvedeny jsou statisticky průkazné rozdíly ($a > b$, ale a ani b se neliší od ab).

genotyp	P1	P2	F1	F1'	F2	F2'
výška v 8.týdnu	abc	c	abc	a	bc	ab
délka 4. listu	a	b	a	a	a	a
délka 5. listu	a	b	a	a	a	a
délka 6. listu	a	b	a	a	a	a
hm kořenu	a	a	a	a	a	a
hm nadzemní části	ab	b	ab	a	ab	ab
kořeny/celk. hm	a	a	a	a	a	a
nadz. část/celk. hm	a	a	a	a	a	a
hm 4. listu	a	b	a	a	b	a
hm 5. listu	a	b	a	a	b	a
hm 6. listu	a	b	a	a	b	a

Tab. 112. Výsledky *analýzy variance jednoduchého třídění* pro hodnoty morfologických charakteristik u rostlin pěstovaných ve *stresových podmínkách v pokusné sérii II B*. Uvedeny jsou hladiny významnosti (*p*) pro zdroj proměnlivosti *G...*(genotyp).

	genotypy
výška v 8.týdnu	0,011
délka 4. listu	0,000
délka 5. listu	0,000
délka 6. listu	0,003
hm kořenu	0,123
hm nadzemní části	0,062
kořeny/celk. hm	0,211
nadz. část/celk. hm	0,211
hm 4. listu	0,000
hm 5. listu	0,000
hm 6. listu	0,000

Tab. 113. Výsledky *Tukeyho testů mnohonásobného porovnání* morfologických charakteristik pro stanovení rozdílů mezi *genotypy* P_1 (2023), P_2 (CE704), F_1 (2023xCE704), F_1' (CE704x2023), F_2 ($F_1 \times F_1$), F_2' ($F_1' \times F_1'$) v *sérii II B u stresovaných rostlin*. Uvedeny jsou statisticky průkazné rozdíly ($a > b$, ale a ani b se neliší od ab).

genotyp	P1	P2	F1	F1'	F2	F2'
výška v 8.týdnu	a	a	a	a	a	a
délka 4. listu	a	c	ab	ab	ab	b
délka 5. listu	a	b	a	a	a	a
délka 6. listu	a	b	a	a	ab	ab
hm kořenu	a	a	a	a	a	a
hm nadzemní části	a	a	a	a	a	a
kořeny/celk. hm	a	a	a	a	a	a
nadz. část/celk. hm	a	a	a	a	a	a
hm 4. listu	a	c	b	b	b	b
hm 5. listu	a	d	ab	bc	bc	cd
hm 6. listu	a	b	a	a	a	ab

4.2. Genetická analýza fyziologických a morfologických charakteristik

Genetickou analýzou dialelního křížení zahrnující generace P_1 (2023), P_2 (CE704), F_1 (2023×CE704), F_1' (CE704×2023), F_2 (F_1 × F_1) a F_2' (F_1' × F_1') jsem stanovila, jaké genetické efekty kromě aditivity a dominance (aditivní maternální a dominantní maternální efekt) se nejpravděpodobněji uplatňují v dědičnosti daných fotosyntetických a morfologických znaků. U mého souboru se také dalo testovat, zdali se uplatňuje cytoplazmatický efekt, nebylo však již možné ověřit jestli tato hypotéza platí, neboť počet neznámých v rovnicích převyšoval množství sestavitelných rovnic při genetické analýze (viz. kap. 2.). To tedy znamená, že bylo možné zjistit, jestli se cytoplazmatický efekt uplatňuje, ale variabilita v průběhu generací mohla být ovlivněna zároveň i dalšími genetickými efekty či genovými interakcemi, které v mém případě nebylo již možné testovat.

Genetická analýza fyziologických charakteristik u kontrolních rostlin série I A a II A (Tab. 114) ukázala, že se na jejich dědičnosti podílejí převážně pozitivní aditivní genetické efekty (série II A) a pozitivní dominantní maternální efekty (série I A). Dominance byla průkazná pouze výjimečně, v případě AHR (S) se jednalo o negativní superdominanci a u SpHm o pozitivní superdominanci. Také ostatní efekty (aditivní maternální a cytoplazmatický) byly průkazné zcela výjimečně (AHR (S), chl *b* (S) a SpHm).

Z *genetické analýzy fyziologických charakteristik stresovaných rostlin série I A a II A* (Tab. 115) vyplynulo, že význam i stupeň projevu některých genetických efektů se v důsledku hypoxie mění. V dědičnosti se sice u menšího počtu znaků uplatňovala opět aditivita a v případě SpHm i pozitivní superdominance, ale pozitivní dominantní maternální efekty se v sérii I A neprojevily vůbec, zatímco naopak u II A byl často průkazný negativní dominantní maternální efekt. Dominance, aditivní maternální a cytoplazmatické efekty se vyskytly jen zřídka (AHR (chl), chl *a* (LP) kar (LP, S) a SpHm).

Genetická analýza fyziologických charakteristik kontrolních rostlin série I B a II B (Tab. 116) přinesla podobné výsledky jako analýza kontrolních rostlin série A. Na dědičnosti se opět v mnoha případech podílely pozitivní aditivní efekty (převážně pro hodnoty AHR a PSI (LP) série II B), pozitivní dominantní maternální efekty v sérii I B a také pozitivní superdominance (hlavně u hodnot pigmentů) v sérii II B. Aditivní maternální a cytoplazmatické efekty byly průkazné jen výjimečně (SpHm a RWC).

Genetická analýza fyziologických charakteristik u obnovy série I B a II B (Tab. 117) ukázala (podobně jako analýza kontrolních a hypoxií stresovaných rostlin v sérii A), že

u stresovaných rostlin série B také došlo ke změnám v genetické determinaci některých parametrů. Analýza ukázala, že se na dědičnosti podílel převážně efekt negativní superdominance a v menší míře pozitivní aditivní genetické efekty (I B i II B). Dominantní maternální efekt negativního charakteru se vyskytl jen u RWC .

V dědičnosti *morfologických charakteristik* (Tab. 118, 119) v kontrolních i stresových podmínkách jsem prokázala významné uplatnění pozitivní aditivity a pozitivní dominance všech typů. V kontrolních podmínkách byl vliv ostatních genetických efektů neprůkazný (Tab. 118). Ve stresových podmínkách byla téměř u všech parametrů opět průkazná aditivita, ale převažovala pozitivní superdominance. Spíše výjimečně se zde vyskytly i další genetické efekty (aditivní maternální, dominantní maternální a cytoplazmatické efekty u hodnot výšky v 8. týdnu, délky 6. listu, hmotnosti 4. a 5. listu) (Tab. 119).

4.3. Korelační analýza fyziologických a morfologických charakteristik

Korelační analýzou fyziologických a morfologických charakteristik jsem zjišťovala míru vzájemné závislosti studovaných charakteristik. Všechny pokusy jsem předem plánovala tak, aby bylo možné provést analýzu korelačních vztahů a tím získat co nejobjektivnější výsledky o vzájemné závislosti jednotlivých znaků s ohledem nebo bez ohledu na různé podmínky pěstování pokusných rostlin. Toto členění nám umožnilo získat buď obecné nebo specifické informace o spojitosti mezi studovanými parametry.

Hodnotu Pearsonova korelačního koeficientu jsem tedy stanovila pro vybrané studované znaky mezi sebou, a to jednak v rámci celého souboru pokusů, v rámci jednotlivých bloků (A, B), v rámci sérií (I A, II A, I B, II B) a také v rámci sérií a způsobů pěstování (I A, II A, I B, II B – v každé sérii zvláště pro kontrolu a stres/obnovu). Dále jsem provedla korelační analýzu mezi pokusnými bloky A a B v rámci každé série (tedy srovnání I A s I B a II A s II B) a analogicky jsem též stanovila míru korelace mezi pokusnými bloky A a B v rámci kontroly a stresu/obnovy (tedy kontrola A s kontrolou B a stres A s obnovou B). Také jsem stanovila míru korelace mezi kontrolními a stresovanými rostlinami v rámci každé série a zvláště pro oba bloky pokusů (tzn. např. korelace kontroly I A se stresem I A, korelace kontroly II A se stresem II A atp.).

Fotochemická aktivita izolovaných chloroplastů byla často průkazně korelována s množstvím fotosyntetických pigmentů. V případě AHR byla tato závislost negativního a v případě PS1 pozitivního charakteru (Tab. 120). Negativní korelace AHR zůstala vysoce průkazná i v případě rozdělení celkového souboru pokusů a stanovení míry závislosti zvláště v bloku pokusů A (kontrola/hypoxie; Tab. 121) a B (kontrola/posthypoxie; Tab. 124). V bloku B se tato závislost projevila daleko výrazněji u série I B. Ovšem pozitivní závislost PS1 s obsahem pigmentů při tomto rozdělení hodnot vymizela. V dalším kroku jsem rozdělila oba bloky pokusů (A/B) ještě podle sérií (Tab. 122, 123, 125, 126), ale poté se již výše zmíněné závislosti objevovaly velice zřídka. Nejednoznačné korelační vztahy jsem zjistila v případě korelací fotochemických aktivit s morfologickými charakteristikami hlavně v případě PS1 a délek a hmotností listů. Tyto vztahy byly patrné nejen při celkové analýze (Tab. 120), ale také při analýze v rámci bloku B (Tab. 124), kde se oproti celkovému srovnání navíc objevila i negativní závislost AHR s některými dalšími morfologickými znaky. Negativní závislost AHR i PS1 se SpHm se projevila jednak při celkové analýze (Tab. 120), ale hlavně pak v bloku A (Tab. 121), tato závislost měla však pozitivní charakter v některých případech

v bloku B u kontrolních rostlin (Tab. 125).

Statisticky vysoce průkazná pozitivní korelace byla podle očekávání velice často zjištěna mezi **obsahy** různých **fotosyntetických pigmentů** (chl *a*, chl *b*, kar) navzájem nejen při analýze celého souborů dat dohromady (Tab. 120), ale i zvláště v každém bloku i v rámci jednotlivých sérií (Tab. 121-126). Dále byla patrná vysoce průkazná pozitivní korelace mezi obsahy všech pigmentů a hmotnostmi nadzemní části, poměrem suché hmotnosti prýt/celková hmotnost a některými dalšími fyziologickými znaky (především délkou 6. listu) a zároveň negativní korelační vztah s poměrem suché hmotnosti kořen/celková hmotnost. Stejně vztahy také vyplynuly z výsledků korelační analýzy především v bloku B (Tab. 124). V bloku A (Tab. 121) se sice objevila pozitivní závislost mezi obsahy pigmentů a výškou rostlin (v 5. týdnu), ale při detailní analýze zvláště pro kontrolních a hypoxických podmínkách již nebyla prokázána (Tab. 122, 123). Naopak, v některých případech byla zjištěna negativní korelace hodnot, a to hlavně v bloku A u rostlin v hypoxických podmínkách (Tab. 123) a v bloku B u kontrolních rostlin (Tab. 125). Dále bylo zajímavé, že v bloku pokusů A se místy objevila pozitivní závislost obsahu pigmentů se SpHm (Tab. 121), kdežto v bloku B spíše negativní závislost mezi obsahem pigmentů a **RWC** (Tab. 124).

Specifická hmotnost sušiny (SpHm) byla kromě výše uvedeného při celkové analýze také negativně korelována s **RWC** a výškou rostlin, ovšem byla naopak v pozitivní korelaci s některými délkami a hmotnostmi listů (Tab. 120). Při rozdělení dat a hodnocení v rámci jednotlivých bloků a sérií (Tab. 121, 124) se však již jen zřídka vyskytly průkazné závislosti SpHm s morfologickými znaky, ale pokud ano, pak se jednalo o závislost pozitivní.

Celková analýza vzájemných vztahů mezi **morfologickými charakteristikami** prokázala četné pozitivní korelace (Tab. 120). Při hodnocení oddělených sérií (Tab. 127) se vzájemné vztahy ještě více zvýraznily. Zde se pak převážně objevily průkazné pozitivní korelace délky a hmotnosti listů s výškou rostlin v 2. - 8. týdnu jako v předchozím případě, ale dále byl ještě průkazný negativní typ závislosti mezi těmito parametry listů a výškou rostlin v 1. týdnu. Dle očekávání byly také vysoce průkazné korelace rozdílů výšky rostlin v 5. a 8. týdnu mezi kontrolními a stresovanými rostlinami v obou sériích (Tab. 132).

Korelační analýza fyziologických znaků mezi **pokusnými bloky A a B v rámci sérií I a II** odhalila téměř ve všech případech průkaznou pozitivní závislost (Tab. 128). Korelace byla neprůkazná jen mezi hodnotami AHR (A/B) v sérii II, PS1 (A/B) v sérii I, chl *a/b* (A/B) a SpHm (A/B) v obou sériích.

Odlišných výsledků jsem však dosáhla při korelační analýze fyziologických znaků mezi ***pokusnými bloky A a B v rámci kontrolních a stresovaných rostlin*** (Tab. 129). Zde byla průkazná pozitivní závislost pouze mezi hodnotami AHR a mezi PS1 u kontrolních rostlin. Při hodnocení vzájemných vztahů ostatních fyziologických znaků se jednalo také o pozitivní závislosti, ale pouze mezi rostlinami pod vlivem stresu. Hodnoty poměrů chl/kar a SpHm nevykázaly žádnou závislost znaků rostlin ve stresových ani kontrolních podmínkách.

Korelace mezi kontrolními a stresovanými rostlinami v rámci každé série a zvláště pro oba bloky pokusů byly téměř ve všech případech neprůkazné (Tab. 130, 131), a to v obou blocích pokusů. Pozitivní korelace se objevily pouze mezi SpHm (K/S; II A, I B) a mezi RWC (K/S; I A).

Tab. 120. Celková korelace hodnot fyziologických a morfologických znaku. Pokusné bloky (A, B), série (I, II) a podmínky pěstování (kontrola/stres) jsou uvážovány společně. Uvedeny jsou hodnoty Pearsonova koeficientu (r) a hladina jeho významnosti (p): *... p < 0,05; **... p < 0,01; ***... p < 0,001

Červené je vyznačena pozitivní a modré negativní korelace znaku, žlutá pole s N značí neprůkaznou korelaci a bílá pole nebyla hodnocena

charakteristiky	AHR (chl)	PS1 (chl)	chl a (S)	chl a (LP)	chl b (S)	chl b (LP)	kar (LP)	kar (S)	chl a/b	chl/kar	SpHm	RWC
AHR (chl)		N	-0,436*	-0,436**	-0,445**	-0,528***	-0,357*	N	0,578***	-0,507***	N	N
PS1 (chl)	N		0,437**	0,357*	0,373**	N	0,477***	0,571***	0,359*	N	-0,325*	N
chl a (S)	-0,436*	0,437**			0,912***			0,944***			N	N
chl a (LP)	-0,436**	0,357*				0,981***	0,833***				N	N
chl b (S)	-0,445**	0,373**	0,912***					0,907***			N	N
chl b (LP)	-0,528***	N		0,981***			0,944***				N	N
kar (LP)	-0,357*	0,477***		0,833***		0,944***					N	N
kar (S)	N	0,571***	0,944***		0,907***						0,486***	N
chl a/b	0,578***	0,359*										
chl/kar	-0,507***	N										
SpHm	N	-0,325*	N	N	N	N	N	0,486***				
RWC	N	N	N	N	N	N	N	N			-0,447***	
výška v 1 týdnu	N	N	N	N	N	N	N	N			N	
výška v 2 týdnu	N	N	-0,405*	N	N	N	N	N			N	
výška v 3 týdnu	N	N	N	N	N	N	N	N			N	
výška v 4 týdnu	N	N	N	N	N	N	N	N			N	
výška v 5 týdnu	N	N	0,494*	0,418*	N	N	N	N			N	
výška v 6 týdnu	N	N	N	N	N	N	N	N			-0,469*	
výška v 7 týdnu	N	N	N	N	N	N	N	N			-0,46*	
výška v 8 týdnu	N	N	N	N	N	N	N	N			-0,434*	
délka 4 listu	N	0,449*	N	N	N	N	N	N			N	
délka 5 listu	N	0,591**	N	N	N	N	N	N			0,5*	
délka 6 listu	N	N	0,57**	0,631***	0,592**	0,641***	0,624**	0,515*			N	
hm kořenu	N	N	N	N	N	N	N	N			N	
hm nadzemní části	N	N	0,472*	0,431*	0,464*	0,425*	0,42*	0,471*			N	
kořený/celk hm	N	N	-0,657***	-0,644***	-0,668***	-0,651***	-0,604***	-0,601**			N	
nadz část/celk hm	N	N	0,657***	0,644***	0,668***	0,651***	0,604***	0,601**			N	
hm 4 listu	N	N	N	N	N	N	N	N			N	
hm 5 listu	N	0,6**	N	N	N	N	N	N			0,664***	
hm 6 listu	N	0,49*	N	N	N	N	N	N			0,426*	

Tab. 120 - pokračování. Celková korelace hodnot fyziologických a morfologických znaků. Pokusné bloky (A, B), série (I, II) a podmínky pěstování (kontrola/stres) jsou uvazovány společně. Uvedeny jsou hodnoty Pearsonova koeficientu (r) a hladina jeho významnosti (p): *... p < 0,05; **... p < 0,01; ***... p < 0,001

Cerveně je vyznačena pozitivní a modře negativní korelace znaku, žlutá pole s N značí neprukaznou korelaci a bílá pole nebyla hodnocena

charakteristiky	výška v 1. týdnu	výška v 2. týdnu	výška v 3. týdnu	výška v 4. týdnu	výška v 5. týdnu	výška v 6. týdnu	výška v 7. týdnu	výška v 8. týdnu	výška v 8. týdnu	hm nadzemní části	hm kořenu	hm nadzemní části	kořeny / celk. hm	nadz část / celk. hm	hm 4. listu	hm 5. listu	hm 6. listu
AHR (chl)	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
PS1 (chl)	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
chl a (S)	N	N	N	N	0,494*	N	N	N	N	N	N	N	-0,657***	0,657***	N	N	N
chl a (LP)	N	N	N	N	0,418*	N	N	N	N	N	N	N	-0,644***	0,644***	N	N	N
chl b (S)	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	0,431*	0,431*	N	N	N
chl b (LP)	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	0,464*	0,464*	N	N	N
kar (LP)	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	0,425*	0,425*	N	N	N
kar (S)	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	0,604***	0,604***	N	N	N
chl a/b	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	0,471*	0,471*	N	N	N
chl/kar	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
SPHm	N	N	N	N	N	-0,469*	-0,46*	-0,434*	N	N	N	N	N	N	N	0,664***	0,426*
RWC	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
výška v 1. týdnu	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
výška v 2. týdnu	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
výška v 3. týdnu	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
výška v 4. týdnu	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
výška v 5. týdnu	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
výška v 6. týdnu	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
výška v 7. týdnu	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
výška v 8. týdnu	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
děška 4. listu	N	0,611**	0,658**	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
děška 5. listu	N	N	0,491*	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
děška 6. listu	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
hm kořenu	N	N	0,469*	0,59**	0,438*	0,82**	0,577**	0,496*	N	N	N	N	N	N	N	N	N
hm nadzemní části	N	N	N	0,547**	0,638**	0,694**	0,653**	0,766**	N	N	N	N	N	N	N	N	N
kořeny/celk. hm	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
nadz část/celk. hm	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
hm 4. listu	N	N	0,477**	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
hm 5. listu	N	N	0,429*	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
hm 6. listu	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	0,904***	0,904***

Tab. 124. Celková korelace hodnot fyziologických a morfologických znaků z pokusné série I B, II B. (Kontrola a posthypoxie uvažovány společně.)
 Uvedeny jsou hodnoty Pearsonova koeficientu (r) a jeho statistická průkaznost (p): *...p < 0,05; **...p < 0,01; ***...p < 0,001
 Červené je vyznačena pozitivní a modře negativní korelace znaků, žlutá pole s N značí neprůkaznou korelaci a bílá pole nebyla hodnocena

119

charakteristiky	AHR (chl)		PS1 (chl)		chi a (S)		chi a (LP)		chi b (S)		chi b (LP)		kar (LP)		kar (S)		SpHm		RWC			
	IB	IIB	IB	IIB	IB	IIB	IB	IIB	IB	IIB	IB	IIB	IB	IIB	IB	IIB	IB	IIB	IB	IIB		
AHR (chl)																						
PS1 (chl)																						
chi a (S)	-0,754**	N	N	N																		
chi a (LP)	-0,698*	N	N	N																		
chi b (S)	-0,777**	N	N	N	0,998***	0,997***																
chi b (LP)	-0,729**	N	N	N			0,997***	0,998***														
kar (LP)	-0,702*	N	N	N			0,997***	0,998***				0,995***	0,992***									
kar (S)	-0,778**	-0,676*	N	N	0,993***	0,954***			0,993***	0,953***												
chi arb	0,841***	N	N	N																		
chl/kar	-0,651*	N	N	N																		
SpHm	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	
RWC	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	
výška v 6 týdnu	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	
výška v 7 týdnu	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	
výška v 8 týdnu	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	
výška v 8 týdnu	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	
délka 5. listu	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	
délka 6. listu	-0,582*	N	N	N	0,804**	N	0,676*	0,584*	0,625*	N	0,688*	0,594*	0,658*	0,802*	N	N	N	N	N	N		
hm kořenu	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	
hm nadzemní části	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	
kořeny/celek hm	0,594*	N	N	N	N	0,619*	0,634*	0,649*	0,658*	N	0,698*	N	0,648*	N	N	N	N	N	N	N	N	
nadz část/celek hm	-0,594*	N	N	N	N	-0,767**	N	-0,813***	-0,595*	-0,79**	N	-0,826***	N	-0,793**	-0,583*	-0,658*	N	N	N	N		
hm 5. listu	N	N	N	N	N	0,767**	N	0,813***	0,595*	0,79**	N	0,826***	N	0,793**	0,583*	0,658*	N	N	N	N		
hm 6. listu	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	0,641*	0,612*

Tab. 128. Korelace hodnot fyziologických charakteristik rostlin pěstovaných v pokusných blocích A a B obou pokusných sérií (I, II) (kontrola a stres určovaný společně). Uvedeny jsou hodnoty Pearsonova koeficientu (r) a jeho statistická příkaznost (p): * p < 0,05; ** p < 0,01; *** p < 0,001. Fialové jsou vyznačeny korelace sérií I, žluté jsou vyznačeny korelace sérií II, pole s N značí neprůkaznou korelaci a bílá pole nejsou hodnocena

A/B blok pěstování	AHR (chl) A		PST (chl) A		chl a (S) A		chl b (LP) A		chl b (S) A		chl b (LP) A		kar (LP) A		kar (S) A		chl a/b A		chlKar A		SpHm A		RWCA		
	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	
AHR (chl) B	0,919***	N	N	0,586*																					
PST (chl) B																									
chl a (S) B					0,966***	0,591*																			
chl a (LP) B							0,983***	0,923***																	
chl b (S) B									0,976***	0,745**															
chl b (LP) B									0,99***	0,962***	0,973***	0,702*													
kar (S) B															0,895***	-0,585*									
chl a/b B																									
chlKar B																					0,933***	0,953***			
SpHm B																							N	N	
RWCA B																								N	0,586*

Tab. 129. Korelace hodnot fyziologických charakteristik kontrolních (K) a stresovaných (S) rostlin pěstovaných v pokusných blocích A a B. (Obě série (I, II) určovány společně). Pokusy provedeny na jaře roku 2004. Uvedeny jsou hodnoty Pearsonova koeficientu (r) a jeho statistická příkaznost (p): * p < 0,05; ** p < 0,01; *** p < 0,001. Zelené jsou vyznačeny korelace mezi kontrolními rostlinami, modré jsou vyznačeny korelace mezi stresovanými rostlinami, pole s N značí neprůkaznou korelaci a bílá pole nebyla hodnocena

A/B blok pěstování	AHR (chl) A		PST (chl) A		chl a (S) A		chl b (LP) A		chl b (S) A		chl b (LP) A		kar (LP) A		kar (S) A		chl a/b A		chlKar A		SpHm A		RWCA		
	K	S	K	S	K	S	K	S	K	S	K	S	K	S	K	S	K	S	K	S	K	S	K	S	
AHR (chl) B	0,726**	N																							
PST (chl) B			0,717**	N																					
chl a (S) B					N	0,737**																			
chl a (LP) B							0,743**																		
chl b (S) B								N	0,663*																
chl b (LP) B										N	0,755**														
kar (LP) B												N	0,719**												
kar (S) B														N	0,601*										
chl a/b B																									
chlKar B																									
SpHm B																								N	0,659*
RWCA B																								N	0,659*

Tab. 130. Korelace hodnot fyziologických charakteristik rostlin pěstovaných v kontrolních (K) a hypoxických (S) podmínkách pokusných sérií I A, II A. Uvedeny jsou hodnoty Pearsonova koeficientu (r) a jeho statistická průkaznost (p): ...p < 0,05; **...p < 0,01; ***...p < 0,001. Zeleně jsou vyznačeny korelace mezi kontrolou a stresem sérií I, modře jsou vyznačeny korelace mezi kontrolou a stresem sérií II, pole s N značí neprůkaznou korelaci a bílá pole nejsou hodnocena

K/S série	A-HR (chl) S		PS1 (chl) S		chl a (S) S		chl a (LP) S		chl b (S) S		chl b (LP) S		kar (S) S		Sphm S		RWC S	
	IA	IIA	IA	IIA	IA	IIA	IA	IIA	IA	IIA	IA	IIA	IA	IIA	IA	IIA	IA	IIA
AHR (chl) K	N	N																
PS1 (chl) K			N	N														
chl a (S) K					N	N												
chl a (LP) K							N	N										
chl b (S) K									N	N								
chl b (LP) K											N	N						
kar (LP) K													N	N				
chl a/b K														N	N			
chl/kar K																		0,842*
Sphm K															N	0,824*		
RWC K																		

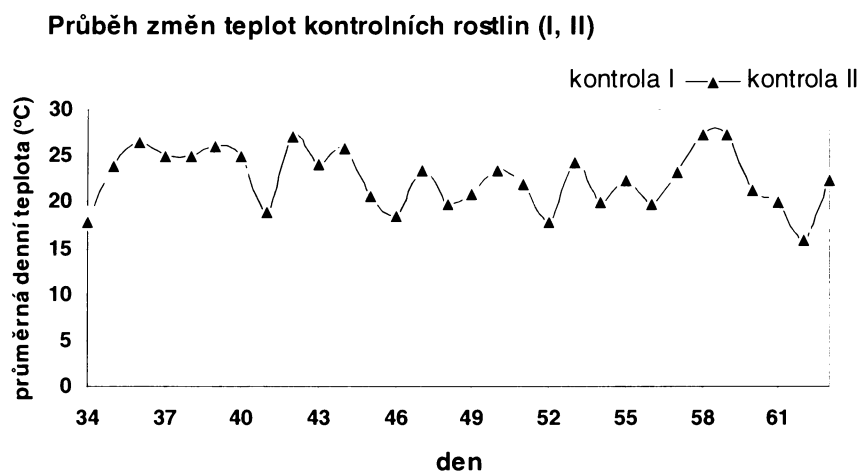
Tab. 131. Korelace hodnot fyziologických charakteristik rostlin pěstovaných v kontrolních (K) a posthypoxických (S) podmínkách pokusných sérií I B, II B. Uvedeny jsou hodnoty Pearsonova koeficientu (r) a jeho statistická průkaznost (p): ...p < 0,05; **...p < 0,01; ***...p < 0,001. Zeleně jsou vyznačeny korelace mezi kontrolou a stresem sérií I, modře jsou vyznačeny korelace mezi kontrolou a stresem sérií II, pole s N značí neprůkaznou korelaci a bílá pole nejsou hodnocena

K/S série	A-HR (chl) S		PS1 (chl) S		chl a (S) S		chl a (LP) S		chl b (S) S		chl b (LP) S		kar (S) S		Sphm S		RWC S	
	IB	IIB	IB	IIB	IB	IIB	IB	IIB	IB	IIB	IB	IIB	IB	IIB	IB	IIB	IB	IIB
AHR (chl) K	N	N																
PS1 (chl) K			N	N														
chl a (S) K					N	N												
chl a (LP) K							N	N										
chl b (S) K									N	N								
chl b (LP) K											N	N						
kar (LP) K													N	N				
chl a/b K														N	N			
chl/kar K																		0,852*
Sphm K																		
RWC K																		

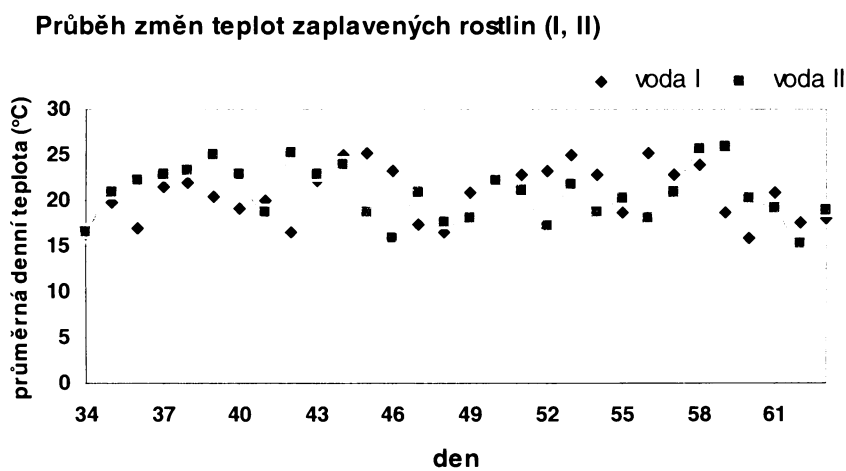
Tab. 132. Korelace hodnot rozdílu výšek v 5. a 8. týdnu kontrolních a stresovaných rostlin v sérii I a II. Pokusy provedeny na jaře roku 2004. Uvedeny jsou hodnoty Pearsonova koeficientu (r) a jeho statistická průkaznost (p): ...p < 0,05; **...p < 0,01; ***...p < 0,001

série	korelace rozdílu výšek rostlin v 5. a 8. týdnu
I	0,873*
II	0,831*

Obr. 24. Průběh změn průměrných denních teplot u kontrolních rostlin v sérii I a II. Teploty měřené 34. - 63. den od výsevu rostlin.



Obr. 25. Průběh změn průměrných denních teplot u stresovaných rostlin v sérii I a II. Teploty měřené 34. - 63. den od výsevu rostlin.

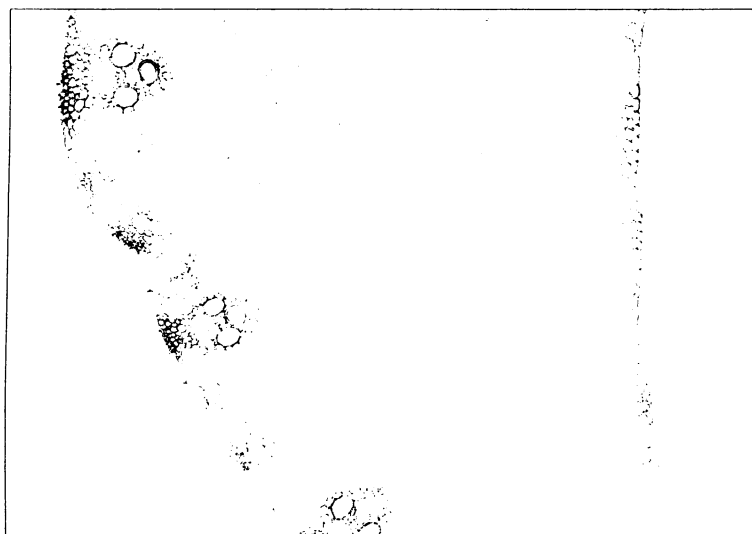


4.4. Změny anatomické struktury listů

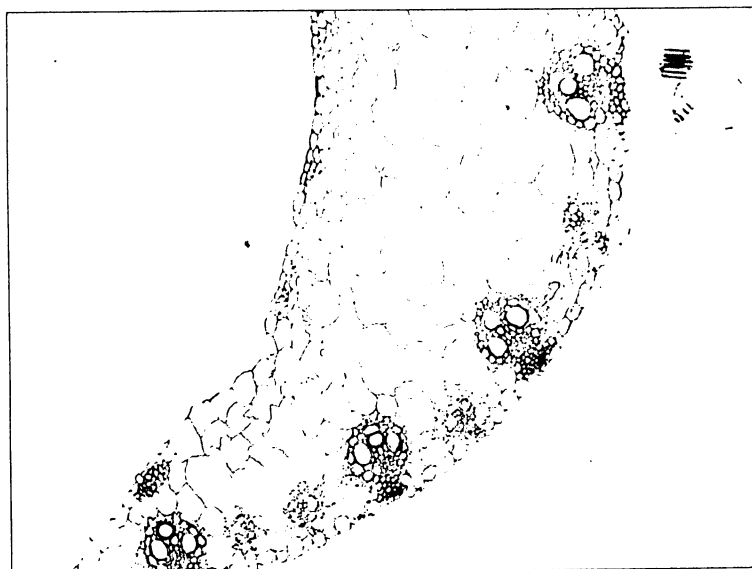
Zároveň s fyziologickými pokusy a měřením morfologických znaků jsem se snažila zdokumentovat i případné změny anatomických struktur listů při vystavení rostlin hypoxickým podmínkám. K tomuto účelu jsem vybrala 5. listy mateřské linie CE704 (P_2) a křížence F_1 (2023xCE704) kontrolních rostlin a rostlin po sedmi dnech záplavového stresu. Získané anatomické řezy jsem porovnávala při zvětšení 4x10 a 10x10. Ze získaných anatomických preparátů byly změny způsobené hypoxickými podmínkami patrné již při pouhém vizuálním porovnání snímků. Jednotlivé anatomické struktury jsou popsány na Obr. 34.

Z **řezů při zvětšení 4x10** (Obr. 30-33) je nejlépe pozorovatelné ztenčení listů na preparátech odebraných z bázi rostlin v hypoxických podmínkách. Tendence ke ztenčování listů během zaplavení je patrná i z **preparátů při zvětšení 10x10** (Obr. 26-29), kde je kromě tohoto u zaplavených rostlin ještě nápadná redukce opěrných buněčných struktur (snížená kutinizace povrchové vrstvy listu a snížená lignifikace a suberinizace vodivých elementů). Ovšem ani při jednom zvětšení jsem nepozorovala žádné rozdíly mezi mateřskou linií P_2 a F_1 křížencem.

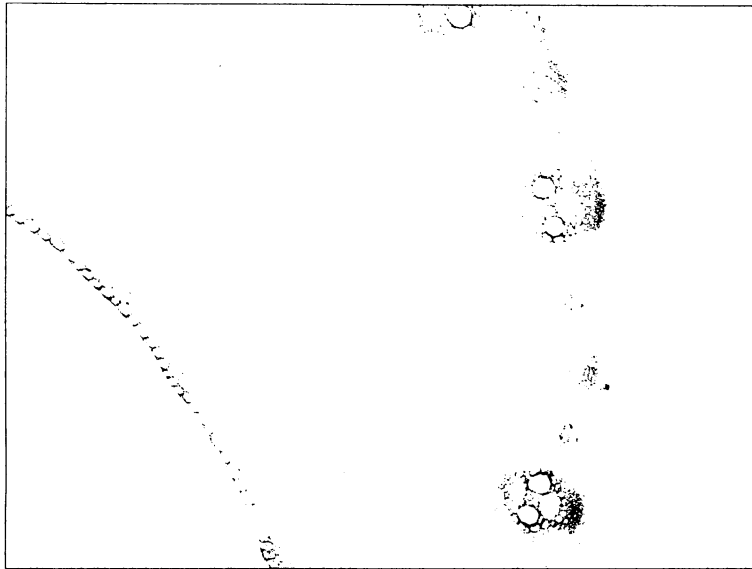
Obr. 26. Řez středovou částí báze čepele 5. listu kontrolního genotypu P_2 (CE704). Barveno anilinovou modří a safraninem. Zvětšení 10x10.



Obr. 27. Řez středovou částí báze čepele 5. listu genotypu P_2 (CE704) pod vlivem hypoxie. Barveno anilinovou modří a safraninem. Zvětšení 10x10.



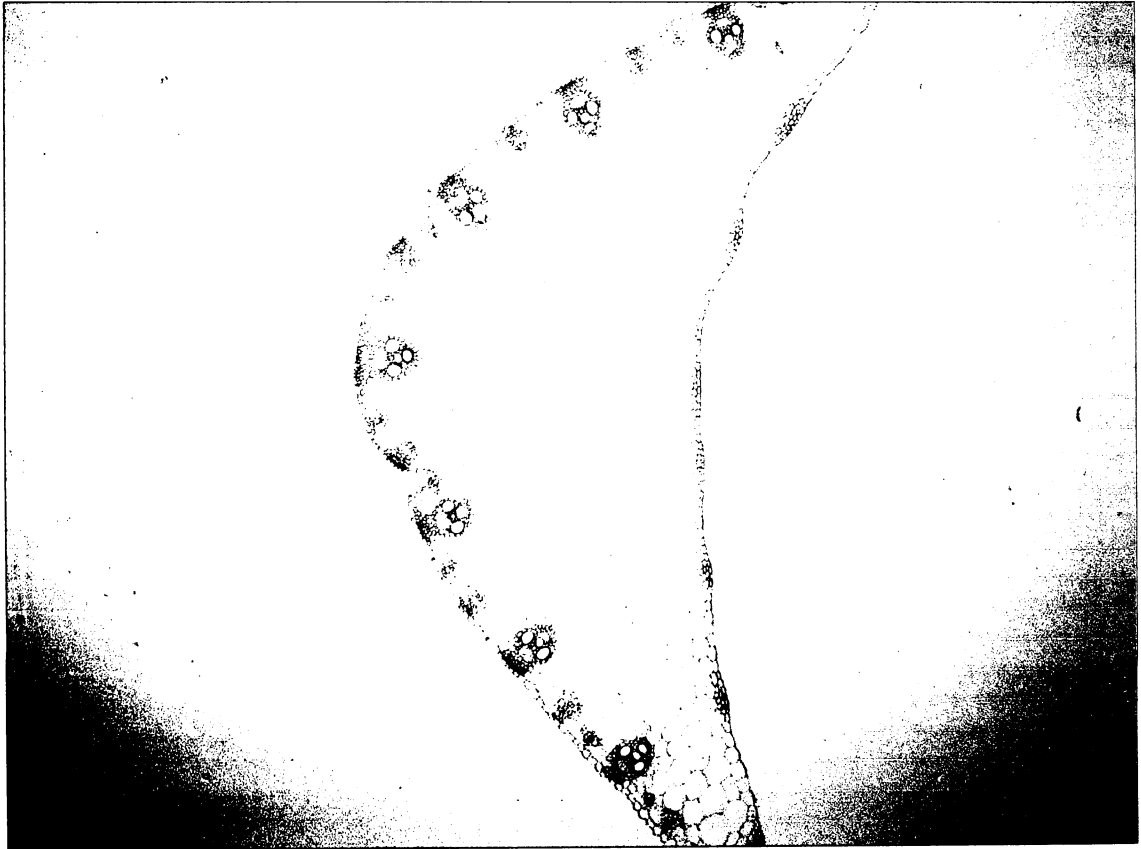
Obr. 28. Řez středovou částí báze čepele 5. listu kontrolního genotypu F_1 (2023xCE704). Barveno anilinovou modří a safraninem. Zvětšení 10x10.



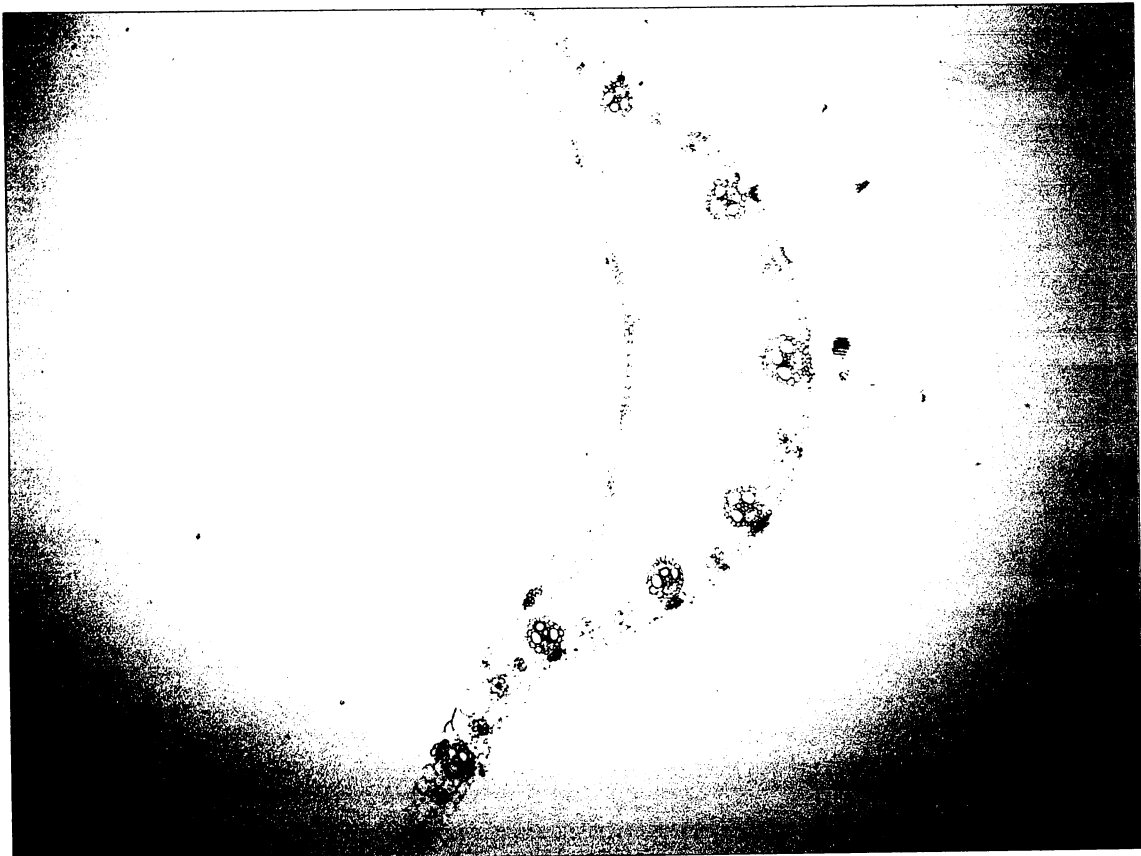
Obr. 29. Řez středovou částí báze čepele 5. listu genotypu F_1 (2023xCE704) pod vlivem hypoxie. Barveno anilinovou modří a safraninem. Zvětšení 10x10.



Obr. 30. Řez středovou částí báze čepele 5. listu kontrolního genotypu P_2 (CE704). Barveno anilinovou modří a safraninem. Zvětšení 4x10.



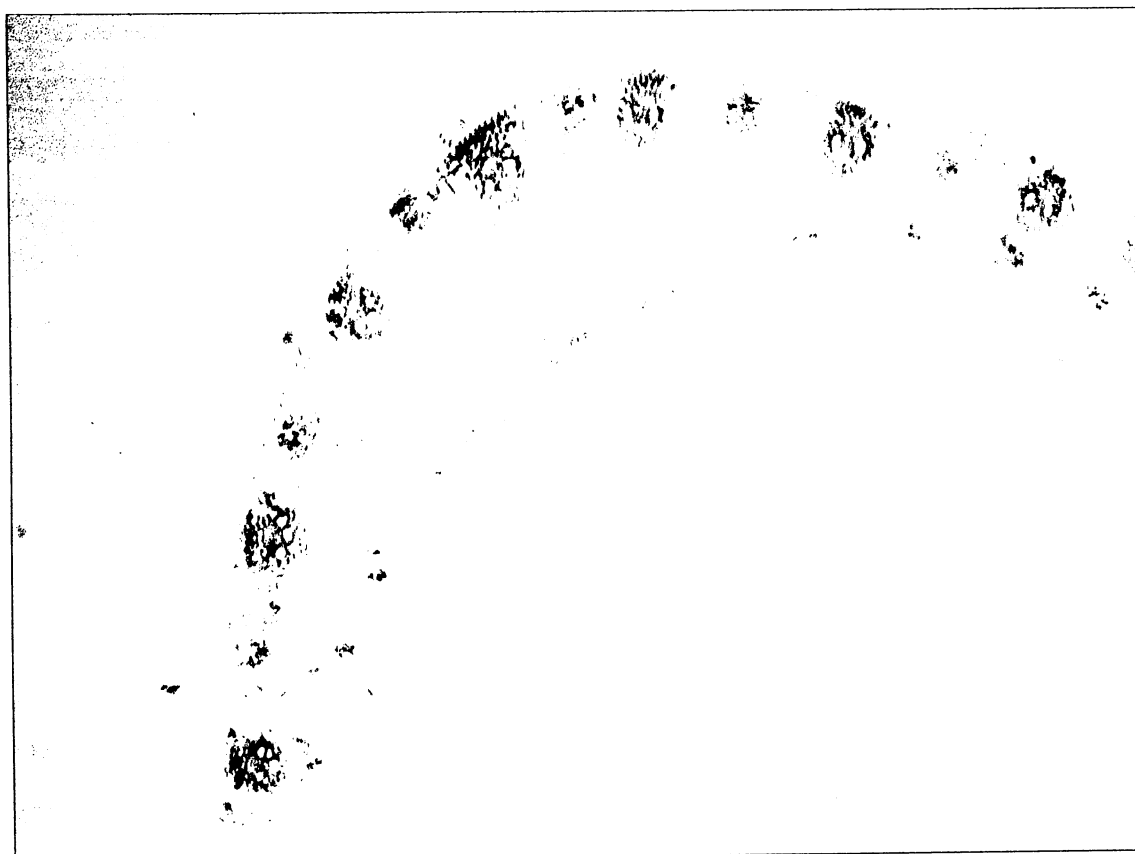
Obr. 31. Řez středovou částí báze čepele 5. listu pod vlivem hypoxie genotypu P_2 (CE704). Barveno anilinovou modří a safraninem. Zvětšení 4x10.



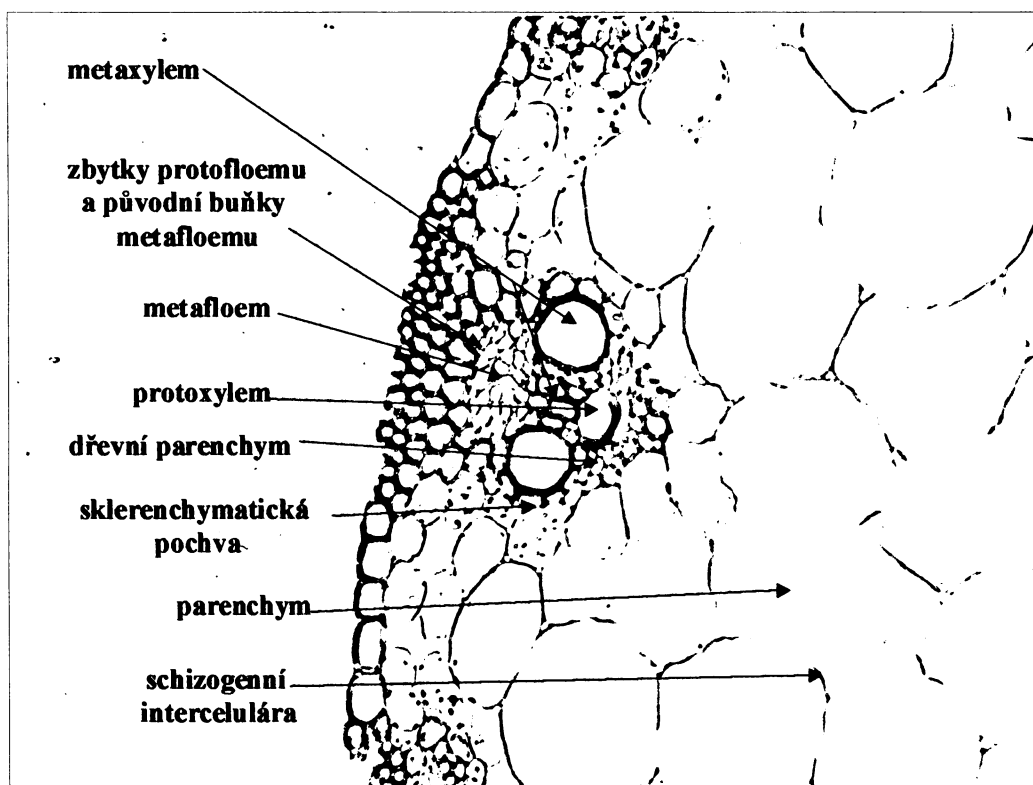
Obr. 32. Řez středovou částí báze čepele 5. listu kontrolního genotypu F_1 (2023xCE704). Barveno anilinovou modří a safraninem. Zvětšení 4x10.



Obr. 33. Řez středovou částí báze čepele 5. listu pod vlivem hypoxie genotypu F_1 (2023xCE704). Barveno anilinovou modří a safraninem. Zvětšení 4x10.



Obr. 34. **Popis anatomických struktur** části 5. listu odebraného z kontrolní rostliny. Barveno anilinovou modří a safraninem. Zvětšení 20x10.



5. Diskuze

Fyziologické charakteristiky jsou znaky komplexní povahy, na jejichž vnitrodruhové proměnlivosti se podílí složka dědičná i nedědičná. Genetické mechanismy podmiňující vnitrodruhovou proměnlivost v komplexních i dílčích fyziologických, morfologických a anatomických charakteristikách byly studovány u různých druhů rostlin. Kvantitativní genetická analýza těchto charakteristik u kukuřice většinou potvrdila významnou roli jaderných genetických efektů, a to zejména **aditivních** a **dominantních efektů** různého stupně (např. Kočová 1992; Albergoni *et al.* 1983; Hamachi *et al.* 1989; Cao *et al.* 1992, 1994, 1995; Körnerová 1995; Krebs 1995; Krebs *et al.* 1996; Boru 1996; Cai *et al.* 1996; Holá 1999; Zhou *et al.* 2004). Na genetické determinaci těchto znaků se však mohou podílet i nealelické interakce typu epistáze a někdy se mohou výrazně uplatňovat i **maternální efekty** různého typu podmíněné jaderným genomem (Mehta *et al.* 1992; Krebs 1995; Krebs *et al.* 1996; Holá 1999). Významnou úlohu v dědičnosti fotosyntetických charakteristik zřejmě hrají i **cytoplazmatické efekty**, tzn. efekty podmíněné mimojadernou DNA (především plastidovou DNA), jejichž role ve vnitrodruhové proměnlivosti není doposud uspokojivě objasněna. Podíl a význam jednotlivých genetických efektů se může měnit vlivem stresových podmínek. Práce zabývající se změnami genetické determinace různých parametrů v důsledku zaplavení nejsou příliš časté (**Hamachi *et al.* 1989; Tesemma *et al.* 1991; Cao *et al.* 1992, 1994, 1995; Forster *et al.* 1992; Taeb *et al.* 1993; Cai *et al.* 1996; Boru 1996; Zhou *et al.* 2004**).

Hlavním cílem mé práce byla analýza změn genetických efektů uplatňujících se v dědičnosti různých fyziologických a morfologických charakteristik u rostlin vystavených hypoxickým podmínkám se zvláštním důrazem na detekci a vliv maternálních efektů. Dále jsem studovala i změny genetických efektů poté, co u rostlin stresovaných hypoxií došlo k navrácení do standardních podmínek.

Většina studií zabývajících se vnitrodruhovou variabilitou je zaměřena převážně na srovnávání nepříbuzných genotypů (variet, linií, druhů) rostlin tolerantních a citlivých ke stresu zaplavením (např. Davies 1980; Hook *et al.* 1983; Menegus *et al.* 1989, 1991; van Ginkel *et al.* 1992; Huang *et al.* 1994; Liao a Lin 1995; Zaidi *et al.* 2002, 2003). Většinou byly zjištěny významné rozdíly mezi citlivými a odolnými variantami, a to převážně mezi takovými, které pocházejí z rozdílných biotopů.

Ve své diplomové práci jsem se zaměřila především na studium změn vybraných



fyziologických charakteristik a jejich genetické determinace během působení stresu nadměrným zamokřením. Pokusy byly organizovány tak, aby umožnily detekci maternálních efektů, jejichž role v determinaci fotosyntetických znaků je významná a nebyla dosud uspokojivě vysvětlena. Pro srovnání jsem kromě vybraných fotosyntetických parametrů hodnotila ještě některé další fyziologické a morfologické, případně anatomické znaky. Pro všechny pokusy jsem použila linie 2023 (P₁) a CE704 (P₂), již dříve klasifikované jako možný zdroj maternálních efektů projevujících se ve filiálních generacích (Holá 1999), a jejich F₁ a F₂ reciproké křížence.

5.1. Statistická analýza

5.1.1. Statistická analýza fyziologických znaků

Fotosyntetické procesy jsou závažně ovlivněny působením různých abiotických stresorů. Velice citlivý je **PS 2** díky zvýšené degradaci proteinu D1, který je vysoce senzitivní k fotooxidaci (Boyer a Younis 1982; Elstner 1991; Dua *et al.* 1994; He *et al.* 1995). AHR, kterou lze charakterizovat jako fotosyntetické uvolňování kyslíku za současné redukce umělého akceptoru elektronů, je zde ukazatelem míry aktivity PS 2, neboť proteiny komplexu vyvíjejícího kyslík (oxygen evolving complex, OEC) i Mn cluster jsou chemicky přímo nebo zprostředkovaně vázány s proteinem D1, který je většinou nejvíce poškozen během působení stresu. Ze srovnávacích měření AHR, které jsem prováděla ve dvou sériích u rostlin pěstovaných v kontrolních a hypoxických podmínkách však vyplývá, že hodnoty AHR se vlivem sedmidenního zaplavení neměnily AHR (LP), AHR (S) v sérii I A, či se dokonce statisticky významně zvýšily u AHR (LP), AHR (S) v sérii II A a AHR (chl) v obou sériích I A i II A. To by tedy mohlo znamenat, že krátkodobý hypoxický stres nemá výrazný negativní vliv na AHR, nebo také, že působení fotoinhibičního efektu v důsledku stresu zaplavením přinejmenším v krátkém časovém intervalu není tak intenzivní, jako u ostatních typů stresu (Ahmed *et al.* 2002) (výrazné účinky fotoinhibice jsou dokumentovány hlavně při působení sucha, nebo nadměrné salinity (např.: Foyer *et al.* 1994; Hernandez *et al.* 1993, 1995, 1999; Finch a Burdon 1997)). Z výsledků bylo patrné, že absolutní hodnoty fotochemické aktivity izolovaných chloroplastů závisí na způsobu přepočtu (tzn. AHR (LP/S/chl)). Domnívám se, že přepočet AHR (LP, S) je vhodnější pro porovnání vnitrodruhových rozdílů fotosyntetických charakteristik než AHR (chl), protože lépe odpovídá situaci *in vivo*. To je ve shodě i s některými publikovanými údaji (Khramova *et al.* 1988; Krebs *et al.* 1996). Ovšem

i v případě AHR (LP), může jít o zkreslení výsledných hodnot změnou tloušťky listů a v případě AHR (S), je zase nutné brát v potaz možný vliv změn RWC, které se může působením stresu měnit. Přesto je pro vyjádření PS 2 (měřená jako AHR) často používán přepočít na jednotku obsahu chlorofylu v listu. Hodnoty AHR (chl) přímo závisí na množství fotosyntetických pigmentů v listu. Je-li toto množství v důsledku stresu výrazně sníženo, projeví se to zvýšením absolutních hodnot AHR. Této závislosti se dá využít k provedení relativních výpočtů možných pouze v případě AHR (chl), které vyjadřují, zda se průměrné hodnoty AHR vlivem zaplavení fakticky snižují či zvyšují (Tab. 75). Z těchto přepočtů, které však nelze podrobit statistické analýze, bylo patrné, že během zaplavení rostlin (I A a II A) se průměrné hodnoty AHR ve většině případů zvýšily (převážně u II A), případně se od kontrolních hodnot příliš nelišily. Hypoxický stres tedy negativně ovlivňuje AHR méně, než je tomu při působení jiných stresových faktorů. Z hodnot AHR (chl) dále vyplývá, že faktorem ovlivňujícím AHR u kukuřice během 7 denního zaplavení zřejmě není snížené množství chlorofylu. Naopak je možné, že snížení obsahu chlorofylu zároveň omezuje poškození PS 2 fotoinhibicí, což je v souladu s výsledky publikovanými jinými autory (Maslova a Popova 1993; Keiper *et al.* 1998). Z výše uvedených výsledků lze také usuzovat, že během hypoxie není ovlivněno množství funkčních komplexů PS 2. Autoři popisující výrazné snížení účinnosti PS 2 během hypoxie (Smethurst 2003; Yordanova *et al.* 2003) pracovali většinou s rostlinnými druhy citlivějšími k nedostatku O₂, než je kukuřice, případně aktivitu PS 2 hodnotili na základě analýzy účinnosti celého fotosystému (Smethurst 2003; Ahmed *et al.* 2002).

Zajímavé výsledky jsem zjistila při srovnání účinků hypoxie s posthypoxickým působením stresu na AHR. Zde bylo již v obou případech patrné výrazné snížení hodnot AHR (LP, S) oproti hodnotám kontrolních rostlin potvrzené statistickou analýzou. V případě AHR (chl) byly hodnoty posthypoxicky stresovaných rostlin (obnovy) opět vyšší ve srovnání s kontrolou, ovšem tento rozdíl byl již ve většině případů menší, než byl rozdíl mezi hodnotami kontrolních a zaplavených rostlin. Relativní procentické přepočty k obsahu chlorofylu dokládají taktéž snížení AHR. Posthypoxický stres pravděpodobně ovlivňuje AHR daleko více, než je tomu u rostlin vystavených přímému působení tohoto stresoru. To je v souladu s výsledky uváděnými v literatuře (VanToai a Bolles 1991; Crawford a Braendle 1996; Beamelt *et al.* 1998). Během posthypoxického stresu se tedy zřejmě více negativně projevuje působení fotooxidačního stresu, kdy se celá rostlina vyrovnává se změnami navozenými hypoxií.

PS 1 je často popisován jako méně citlivý k účinkům různých abiotických stresů než PS 2 včetně účinků hypoxie (Boyer a Younis 1982; Elstner 1991; He *et al.* 1995; Dua *et al.* 1994). Výsledky mé práce však svědčí o srovnatelné, případně nižší aktivitě PS 1 ve srovnání s AHR. Výsledky, které jsem získala při měření aktivity PS 1 u kukuřice vystavené hypoxickému nebo posthypoxickému stresu opakovaně ukázaly, že aktivita se buď významně nemění, nebo klesá ve srovnání s kontrolními rostlinami. Relativní přepočty PS 1 (chl) ukázaly, že fakticky se hodnoty PS 1 oproti kontrole snížily v obou sériích. Díky těmto výpočtům lze také porovnávat hodnoty PS 1 a AHR, ze kterých vyplývá, že aktivita PS 1 se vlivem záplavového stresu snižuje daleko více, než AHR. Bereme-li v úvahu výše zmíněné skutečnosti, pak je zřejmé, že nezávislá aktivita komplexu PS 1 je hypoxickým stresem negativně ovlivněna více než nezávislá aktivita komplexu PS 2.

Množství fotosyntetických pigmentů (chl *a*, *b*) během hypoxie i posthypoxických podmínek statisticky průkazně kleslo ve všech sériích, což je v souladu s údaji publikovanými v literatuře (Maslova a Popova 1993; Keiper *et al.* 1998; Ashraf a Rehman 1999; Smethrust a Shabala 2003; Zaidi *et al.* 2003). Toto snížení bylo výraznější v bloku pokusů I B a II B (tedy vlivem posthypoxických podmínek). Poměr chl *a/b* v hypoxických podmínkách v sérii I A se statisticky významně nesnížil (podobně Ashraf a Rehman 1999), ovšem poměr chl *a/b* byl již průkazně vyšší v sérii II A (podobně Zaidi *et al.* 2003). U bloku pokusů B v posthypoxických podmínkách byl již statisticky průkazný rozdíl v I B i II B a poměr chl *a/b* byl vyšší. To bylo v důsledku výraznějšího snižování obsahu chl *b* oproti chl *a*. Tyto výsledky opět potvrzují hypotézu, že působení stresu je větší během posthypoxických podmínek (VanToai a Bolles 1991; Crawford a Braendle 1996; Beamelt *et al.* 1998). V tomto případě by pro vysvětlení takovýchto rozdílů mohlo být stěžejní srovnání se změnami poměrů chlorofylů při ostatních typech stresu. Např. při stresu suchem nebo nadměrné salinitě bylo opakovaně potvrzeno významné snížení obsahu chlorofylů, ale zvýšení poměru chl *a/b* kvůli snížení obsahu chl *b*. V obou případech jsou tyto změny přičítány působení silného fotooxidačního stresu. Toto bylo prokázáno na základě údajů o zvýšené aktivaci enzymů zneškodňujících ROS během těchto typů stresu. Je zajímavé, že u takovýchto typů stresu se vždy snižuje obsah chl *b* více než obsah chl *a*. Je tedy možné, že míra degradace (nebo snížení syntézy) chl *b* a poměr chl *a/b* může být ukazatelem míry působení fotooxidačního stresu. Je-li tomu tak, pak by mé výsledky byly v souladu se studiemi, které dokumentují menší poškození rostlin fotoinhibicí při hypoxii (Ahmed *et al.* 2002), na základě výzkumu enzymů zneškodňujících ROS a výsledky prací, které vysvětlují větší poškození rostlinných funkcí během působení posthypoxického stresu

v porovnání s přímým působením stresu v důsledku fotooxidace (VanToai a Bolles 1991; Crawford a Braendle 1996; Beamelt *et al.* 1998). Z uvedeného by pak vyplývalo, že zvyšování poměru chl *a/b* je možná nějakým způsobem provázáno i s aktivací enzymů zneškodňujících ROS. Na základě těchto úvah pak můžeme vysvětlit i mnoho nesrovnalostí v literatuře, kdy je v některých studiích popisován nezměněný poměr chl *a/b* během působení hypoxie (Ashraf a Rehman 1999), jinde se tento poměr zvyšuje (Zaidi *et al.* 2003). Záleží tedy pravděpodobně na délce trvání stresu a dalším působení ostatních faktorů (teplota, ozáření) zároveň s hypoxií. Zdá se, že vlivem hypoxie dochází k menšímu poškození rostlinných funkcí vlivem fotooxidace, tedy nižší produkci ROS a proto není v časných fázích trvání stresu aktivován komplex enzymů Halliwell-Asadova cyklu zneškodňujících ROS (VanToai a Bolles 1991). V tomto případě se zřejmě poměr chl *a/b* nemění (Ashraf a Rehman 1999). Při dlouhodobějším působení hypoxie se již fotooxidační efekty zesilují (VanToai a Bolles 1991), enzymy jsou aktivovány a poměr chl *a/b* se pak pravděpodobně zvyšuje (Zaidi *et al.* 2003).

Množství jednotlivých chlorofylů a míru jejich degradace (syntézy) během stresu je však nutné uvažovat spolu s množstvím pigment-proteinových světlosběrných komplexů (Holá 1999). Zatímco chlorofyl *a* je vázán jak na reakční centra, tak i na vnitřní a vnější světlosběrné antény obou fotosystémů, chlorofyl *b* se vyskytuje pouze v pigment-proteinových komplexech vnějších světlosběrných antén. Nabízí se tedy dvojí vysvětlení. Jelikož je patrný pokles obsahu obou chlorofylů, může se snižovat jak množství reakčních center, tak i množství světlosběrných antén a tyto pak ve větším množství, neboť obsah chl *b* se snižuje více. Výše uvedené hypotézy odvíjející se z úvah o rozdílech v přepočtech aktivit PS a jejich možných vysvětleních svědčí spíše pro možnost, že poklesem obsahu chlorofylů je více ovlivněno množství anténních světlosběrných komplexů, než množství samotných reakčních center. Toto je patrné hlavně v případě AHR, méně pak pro aktivitu PS 1 (diskutováno výše). To by ale opět nasvědčovalo platnosti teorie o omezení poškození PS fotoinhibicí snížením obsahu chlorofylů (Keiper *et al.* 1998; Maslova a Popova 1993), v důsledku snížení množství pigment-proteinových komplexů vnějších světlosběrných antén. Tímto způsobem by mohl být lépe chráněn PS 2, který je více náchylný k fotooxidaci v porovnání s PS 1 (podobně Boyer a Younis 1982; Elstner 1991; Dua *et al.* 1994; He *et al.* 1995).

Množství karotenoidů během působení stresových faktorů statisticky průkazně klesalo v obou blocích i všech pokusných sériích. Podobné výsledky uvádějí i Nemat Alla *et al.* (2001). Tento pokles je výraznější během působení posthypoxického stresu, což by tedy opět mohlo potvrzovat teorii, že posthypoxické podmínky poškozují rostliny daleko více, než

samotná hypoxie.

V důsledku stresu však klesá i *poměr chl/kar*, což je dáno výraznějším snižováním obsahu chlorofylu oproti obsahu karotenoidů.

SpHm se ve všech pokusných sériích a blocích statisticky průkazně snížila jak v důsledku působení hypoxických, tak i posthypoxických podmínek. Nabízí se odůvodnění tohoto jevu ve spojení se zvýšením obsahu vody v pletivech během stresu vyjádřené zvyšováním veličiny *RWC* (čemuž nasvědčují hlavně výsledky korelační analýzy). Ovšem statisticky průkazné zvýšení *RWC* jsem zaznamenala pouze v případě série I B (v sérii II B byla hodnota $p = 0,094$, tedy mírně přesahující stanovenou mez významnosti 0,05) a v sériích I A a II A byla hodnota p již výrazně vyšší než 0,05 ($p_{(I A)} = 0,724$ a $p_{(II A)} = 0,573$) (Tab. 3, 5, 7, 9). (*RWC* se tedy během hypoxie většinou nezvyšuje, což je v souladu s údaji v literatuře (Onwugbuta-Enyi a George 2000; Onwugbuta-Enyi 2004). Přesto však je možné, že snížení *SpHm* v sérii B může souviset (mimo jiné) s vyšším obsahem vody v pletivech na jednotku plochy.

Pro vysvětlení snížení *SpHm* v sériích I A a II A bylo užitečné srovnání se změnami anatomické struktury kontrolních rostlin s rostlinami vystavenými hypoxii. Z mých pokusů jednoznačně vyplynulo, že ve stresu dochází ke snížení lignifikace, suberinizace a kutinizace opěrných buněčných struktur, což je ve shodě i s údaji v literatuře (Parolin 2002). Je patrné i snížení tloušťky listů, které je také nepochybně jednou z příčin snížení *SpHm* během působení hypoxie.

5.1.2. Statistická analýza morfologických znaků

Statistická analýza *délky listů* (délka 4., 5., 6. listu) ukázala, že ve většině případů byly 5. a 6. listy rostlin v hypoxických podmínkách kratší v porovnání s kontrolou. Délky 4. listů se statisticky průkazně nelišily. Z těchto srovnání vyplývá, že zaplavení má negativní účinky na růst a vývoj listů. Délka 4. listů se v důsledku stresu významně neměnila, protože v době vystavení rostlin hypoxickým podmínkám byly již 4. listy plně vyvinuty, zatímco 5. a 6. list se ještě vyvíjely.

S délkou listů souvisí i jejich *hmotnost* (hmotnost 4., 5., 6. listu), která vlivem stresu klesala, a to tím více, čím byl list během působení stresu mladší.

Výška rostlin v 8. týdnu růstu se vlivem zaplavení statisticky významně neměnila.

Hmotnost kořenů se vlivem zaplavení v obou sériích neměnila, ovšem poklesla

hmotnost prýtu oproti kontrole, a tak logicky stoupl i poměr hmotnosti kořenu/celková hmotnost a naopak klesl poměr hmotnosti prýtu/hmotnosti celku. Toto zjištění není zcela v souladu s dostupnou literaturou, kde se často objevují údaje popisující zpomalení či zastavení růstu kořenů vlivem zaplavení (Kennedy *et al.* 1992; Huang *et al.* 1997; McDonald *et al.* 2001). V těchto pracech bylo však použito jiných rostlinných druhů a trvání hypoxie bylo delší.

5.1.3. Rozdíly mezi genotypy

Statistická analýza jednotlivých charakteristik umožnila zhodnotit a posoudit také rozdíly mezi genotypy/generacemi v závislosti na způsobu pěstování pokusných rostlin. Celkově lze shrnout, že ve většině případů byly rozdíly mezi genotypy buď tak malé, že byly statisticky neprůkazné nebo byla důvodem neprůkaznosti rozdílů mezi genotypy vysoká variabilita měřených parametrů. V bloku A sérii II u rostlin pod vlivem hypoxie byly průkazné rozdíly mezi genotypy pro RWC (Tab. 19., 20.). Nejvyšší hodnoty RWC zde dosáhl genotyp P_2 a nejnižší hodnoty P_1 a F_2 . V bloku B byly již rozdíly mezi genotypy patrnější, i když opět jen ve skupinách zahrnujících rostliny po působení stresu. V sérii I i II B rostlin pod vlivem posthypoxického stresu byl průkazný rozdíl mezi hodnotami SpHm. V sérii I B vykazovali nejnižší hodnoty kříženci F_1 a F_2 a ostatní se od sebe průkazně nelišily. V sérii II B vykázal nejvyšší hodnoty genotyp P_1 a ostatní genotypy se pak mezi sebou opět průkazně nelišily. V sérii II B byly zjištěny průkazné rozdíly mezi genotypy také pro AHR (chl, LP, S), přičemž nejvyšších hodnot dosahovala ve všech případech opět linie P_1 . Při statistických analýzách hodnotících případné genotypové rozdíly pro kontrolu a stres dohromady se sice vnáší jistá nepřesnost daná statisticky významnými rozdíly mezi sériemi, přičemž hodnoty v rámci sérií nejsou ani vzájemně lineárně závislé, ale je zde možné vysledovat určitou tendenci genotypů dosahovat vyšších či nižších hodnot v porovnání s ostatními. I přes uvedené komplikace odpovídají výsledky společné analýzy většinou výsledkům získaným samostatným hodnocením jednotlivých sérií. Při analýze série II A se navíc vyskytly i rozdíly mezi genotypy ve znaku PS 1 (LP) a chl *a* (S). Pro tyto znaky bylo nejvyšších hodnot dosaženo u genotypu P_1 a nejnižších u F_2 , ostatní genotypy se významně nelišily od P_1 ani F_2 .

Při analýze morfologických charakteristik jsem zjistila daleko více průkazných rozdílů mezi genotypy než při hodnocení fyziologických znaků. Jednotlivé genotypy se mezi sebou průkazně lišily téměř ve všech sledovaných znacích, pouze poměry suchá hmotnost

kořenů/celková suchá hmotnost a suchá hmotnost prýtu/celková suchá hmotnost se neměnily. Genotyp P₂ dosahoval nejnižších hodnot ve všech případech, kdy jsem prokázala odlišnosti mezi genotypy. Celkově lze shrnout, že hodnoty morfologických znaků kříženců obou F generací se spíše podobaly mateřské linii P₁.

Statistickou analýzou v rámci jednotlivých genotypů a porovnáním, zda a jak se liší hodnoty znaků kontrolních a stresovaných rostlin pro daný genotyp, jsem zjistila, že po reaeraci se u všech genotypů zvýrazňují rozdíly mezi fyziologickými znaky více než při působení hypoxie. To opět potvrzuje hypotézu, že rostliny jsou daleko více ovlivněny posthypoxickým stresem než samotnou hypoxií (VanToai a Bolles 1991; Crawford a Braendle 1996; Beamelt *et al.* 1998). Nejméně rozdílů mezi rostlinami kontrolními a stresovanými v obou sériích se vyskytovalo u genotypu P₂. Rostliny tohoto genotypu byly menší v porovnání s ostatními genotypy (nerostly a nevyvíjely se tak rychle), což potvrdila analýza morfologických parametrů, ale právě tato vlastnost může být výhodou při odolávání hypoxickému stresu. Skutečnost, že genotyp P₂ dosahoval nejnižších hodnot ve fotochemické aktivitě izolovaných chloroplastů (AHR, PS 1), která je uvažována jako jedno z možných selekčních kritérií při šlechtění na vysoké hospodářské výnosy ve standardních podmínkách (Holá 1994), nevylučuje že ho zde uvádím jako potenciálně nejtolerantnější genotyp. Spojitost je nutné hledat se změnami fyziologických vlastností během ontogeneze rostlin. Během ontogeneze totiž narůstá nejen obsah chlorofylu (potvrzeno také korelační analýzou) (Krebs 1995; Krebs *et al.* 1996; Thompson *et al.* 1996) ale i obsah pigment-proteinových komplexů tylakoidních membrán (Gins *et al.* 1989) spojený se zvyšující se účinností primárních fotochemických procesů (Kočová 1992a, b; Holá 1994, 1999). Je tedy možné, že genotyp P₂ prochází pomalejší ontogenezí a proto vykazuje i nižší hodnoty aktivit fotosyntetických procesů, ale změny vyvolané působením hypoxie a následné reaerace se na něm projeví v menším rozsahu než u rychleji rostoucích a vyvíjejících se genotypů. Předchozí analýza obsahu pigment-proteinových komplexů taktéž potvrdila nižší obsah těchto komplexů v tylakoidních membránách právě u genotypu P₂ (CE704) ve srovnání s P₁ (2023) a jejich kříženci (Holá 1999). I v dostupné literatuře je uváděno, že genotypy s nižším hospodářským výnosem často ve spojitosti s nižšími růstovými parametry jsou mnohdy tolerantnější ke stresovým faktorům, ale jsou kvůli nízkým výnosům za standardních podmínek vyřazovány z šlechtitelských programů, ačkoliv v hypoxických podmínkách mohou dosahovat vyšších výnosů než genotypy s jinak vysokými výnosy za standardních podmínek pod vlivem hypoxie

(Collaku a Harrison 2002). Odolnost rodičovské linie CE704 (P_2) může dále souviset s větším zastoupením recesivních alel pro většinu fotosyntetických parametrů (Holá 1999), které se uplatňují při reakci na hypoxické podmínky (Zhou *et al.* 2004).

5.3. Genetická analýza

5.3.1. Genetická analýza jednotlivých znaků

V pracích zabývajících se dědičnou determinací **AHR** je většinou popisován výrazný vliv aditivity (Kočová 1992b; Holá 1994; Holá 1999), dominance různého stupně společně s nealelickými interakcemi (Kočová 1992a; Körnerová 1995). Mohou se vyskytovat i reciproké rozdíly mezi kříženci (Krasichkova *et al.* 1989; Synková *et al.* 1997) a k jejich zvýraznění může docházet v průběhu ontogeneze (Holá 1999).

Genetická analýza AHR kontrolních rostlin I A potvrdila uplatnění negativního dominantního efektu (AHR (S)) a v sérii II A jsem prokázala uplatnění pozitivního aditivního efektu (AHR (chl)). Vlivem stresových podmínek se měnila genetická determinace AHR v sérii I A z negativního dominantního efektu v neprůkaznost jakéhokoliv mnou stanovovaného efektu a v sérii II A z pozitivního aditivního efektu na záporný supedominantní maternální efekt AHR (S, LP) a pozitivní aditivní maternální efekt (AHR (chl)). V této souvislosti je však nutné brát v úvahu že neprůkaznost některých genetických efektů v obou sériích mohla být způsobena vysokou variabilitou hodnot měřených parametrů. Ze získaných výsledků je však patrné že projev genetických efektů se ve stresových podmínkách mění což je v souladu s předchozími studiemi (Kočová 1992a; Körnerová 1995). Přes veškerou snahu udržet obě pokusné série v co nejpodobnějších podmínkách totiž docházelo během pěstování rostlin k teplotním výkyvům, a to u každé série v mírně odlišném rozmezí teplot a s jinou frekvencí výkyvů (Obr. 24, 25). Ke změnám teploty je kukuřice, pocházející původně z tropických až subtropických podmínek, značně citlivá, což se může projevit snížením intenzity fotosyntézy, syntézy fotosyntetických pigmentů a především snížením účinnosti fotochemických reakcí, až i k potlačení vnitrodruhové variability ve fotosyntetických znacích (Csapó *et al.* 1991). U kontrolních rostlin série I B byly účinky daných genetických efektů neprůkazné, ale u II B kontrolních rostlin jsem prokázala vliv pozitivního aditivního efektu v AHR (LP, S, chl). Efekt aditivity byl průkazný také v sérii II B u rostlin pod vlivem posthypoxického stresu, a to společně s negativním převážně superdominantním efektem v obou sériích I B i II B. Jakýkoliv vliv maternálních efektů

v dědičnosti AHR v posthypoxických podmínkách však průkazný nebyl. Je zajímavé, že pokud docházelo vlivem stresu ke snižování hodnot AHR působením hypoxických nebo posthypoxických podmínek, pak to bylo náslekiem negativního dominantního (blok B) nebo negativního dominantního maternálního efektu (blok A).

Genetická analýza ukázala, že v dědičnosti aktivity *PS 1* se u kontrolních rostlin uplatňoval pozitivní dominantní maternální efekt (série I A) a pozitivní efekt aditivity (série II A). Ve stresových podmínkách tomu bylo opačně. Superdominantní maternální efekt, ale negativního charakteru, byl průkazný v sérii II A a pozitivní aditivita byla průkazná pouze u PS 1 (LP) série I A. V druhém bloku pokusů B ukázala genetická analýza kontrolních rostlin opět vliv pozitivního aditivního efektu pro PS 1 (LP) v sérii II B a superdominantního maternálního efektu u PS 1 (S) v obou sériích I B i II B. U rostlin v posthypoxických podmínkách jsem ale prokázala jen negativní vliv superdominance u PS (S, LP). Během hypoxie byl v případě AHR i PS 1 průkazný negativní dominantní maternální efekt, který se v posthypoxických podmínkách změnil v negativní dominanci. To by tedy mohlo znamenat, že ve stresových podmínkách dochází ke zvýraznění negativních efektů.

V dědičnosti *obsahu chlorofylu* byl již dříve prokázán vliv převážně aditivních efektů (Hobbs 1988; Hirao *et al.* 1995; Holá 1999) a efektů dominance (Waly a Johnston 1974) s možným vlivem maternálních efektů (Krasichkova *et al.* 1989) i nealelických interakcí typu epistáze (Mehta *et al.* 1992)

U mého souboru potvrdila genetická analýza obsahu chl *a*, *b* převahu pozitivního aditivního efektu v kontrolní sérii II A a vliv pozitivního dominantního maternálního efektu v kontrolní sérii I A. Naopak při analýze zaplavených rostlin vymizel vliv dominantního maternálního efektu v obou sériích I A a II A a pokud byl některý z mnou určovaných genetických efektů průkazný, jednalo se již pouze o pozitivní aditivitu. Analýza kontrolní série I B potvrdila uplatnění pozitivního dominantního maternálního efektu, zatímco u kontrolní série II B byl prokázán pouze efekt pozitivní superdominance. Zajímavé bylo potom porovnání s rostlinami pod vlivem posthypoxického stresu. Zde došlo opět jako v bloku A k vymizení dominantního maternálního efektu a průkazný byl pouze negativní superdominantní efekt, a to pouze u série I B. Z uvedeného lze usuzovat, že efekty uplatňující se v dědičnosti obsahu chl *a* a *b* se mění nejen s působením stresových podmínek, ale také s vývojovým stadiem rostlin (uplatnění dominance v bloku B) a to je v souladu s dříve publikovanými údaji: Albergoni *et al.* (1983), Holá (1999).

V dědičnosti **obsahu karotenoidů** se podobně jako v dědičnosti obsahu chl *a*, *b* uplatňují za optimálních podmínek pěstování především efekty aditivity (Synková *et al.* 1997) spolu s dominantními efekty (Mehta *et al.* 1992; Krebs 1995; Synková *et al.* 1997) a vyjimečně jsou diskutovány i efekty reciprokého křížení (Synková *et al.* 1997). Míra projevu těchto efektů se může měnit během ontogeneze (Holá 1999).

Genetická analýza karotenoidů provedená u kontrolních a posthypoxií stresovaných rostlin potvrdila významný vliv aditivity a dominance. Tyto efekty jsem však neprokázala u rostlin stresovaných hypoxií. Oproti efektům uplatňujícím se v dědičnosti chlorofylu během zaplavení (převážně aditivita) se lišily výsledky analýzy série II A pod vlivem hypoxie, která prokázala uplatnění negativního dominantního maternálního efektu společně s cytoplazmatickým efektem. Dále bylo z výsledků patrné, že snížení obsahu karotenoidů u II A nebylo tak výrazné v porovnání s I A. To by potvrdilo mou pracovní hypotézu o uplatnění dominantního maternálního efektu vzhledem k míře působícího stresu; Pokud stresor nepůsobí závažné změny daného znaku, pak se dominantní maternální efekt může ještě projevit alespoň ve své negativní formě.

Z genetické analýzy **SpHm** vyplynulo, že se v její dědičnosti v kontrolní sérii A i B uplatňovalo mnoho genetických efektů. V sérii I A byl průkazný vliv pozitivního aditivního, dominantního a aditivního maternálního efektu a negativního cytoplazmatického efektu. Je však možné, že se na dědičnosti podílely i další efekty, neboť tuto hypotézu nešlo testovat χ^2 testem, což platí pro všechny analýzy, kdy byl zjištěn cytoplazmatický efekt (organizace pokusů totiž dovoľovala testovat hypotézu uplatnění cytoplazmatického efektu, nebylo však již možné ověřit její platnost, neboť počet neznámých převyšoval množství sestavitelných rovnic při genetické analýze (viz kap. 2. a 3.)). To znamená, že se pravděpodobně uplatňoval cytoplazmatický efekt, ale variabilita v průběhu generací mohla být ovlivněna i dalšími genetickými efekty či genovými interakcemi. V hypoxických podmínkách jsem prokázala pouze pozitivní superdominanci v sérii II A, v posthypoxických podmínkách jsem v obou sériích I B i II B prokázala vliv pozitivního aditivního efektu a v sérii II B navíc negativní dominanci; Tedy během stresu byl potlačen jak vliv jaderných maternálních efektů, tak i cytoplazmatických efektů.

Z hlediska genetické analýzy **RWC** v rámci bloku pokusů A jsem u kontrolních rostlin i u rostlin pod vlivem hypoxie prokázala vliv aditivního efektu v sérii II A, jediným rozdílem byl výskyt pozitivního aditivního efektu u kontrolních a negativního aditivního efektu

u stresovaných rostlin. Naproti tomu v bloku pokusů B jsem prokázala vliv negativního aditivního efektu v sérii I B a negativního aditivního maternálního efektu společně s pozitivním cytoplazmatickým efektem v sérii II B, zatímco u rostlin pod vlivem posthypoxického stresu jsem prokázala pouze vliv negativního aditivního maternálního efektu. Pokud vezmeme v úvahu statistickou analýzu, zjistíme, že na RWC měl větší vliv posthypoxický stres, ale i v těchto podmínkách docházelo jen k mírným změnám. Pak bychom i k vysvětlení výskytu dominantního maternálního efektu mohli použít uvedenou pracovní hypotézu. Z výsledků genetické analýzy vyplývá, že pravděpodobně dochází ke změnám efektů uplatňujících se v dědičnosti RWC i během vývoje rostliny.

Genetická analýza morfologických parametrů odhalila, že na jejich genetické determinaci se podílejí převážně pozitivní aditivní a dominantní efekty různého stupně v obou sériích (I, II) s jedinou výjimkou u délky 6. listu, kde se na determinaci podílel i negativní aditivní maternální efekt. Tyto efekty **nepodléhají** výrazným změnám při působení záplavového stresu. Jedinou změnou genetické determinace během působení stresoru je spolupůsobení pozitivních cytoplazmatických efektů a aditivního maternálního efektu v sérii I (pouze pro hm 4. listu) a negativního dominantního maternálního efektu v sérii II zároveň s aditivitou a dominancí v determinaci hmotnosti 4. a 5. listu.

5.3.2. Souhrné hodnocení výsledků genetické analýzy

Z výše uvedených analýz je zřejmé, že stres významně ovlivňuje projev genetických efektů. Z tabulek výsledků genetické analýzy, je patrné vymizení dominantního maternálního efektu a převaha dominance vlivem působení posthypoxického stresu. V tabulce genetické analýzy znaků pod vlivem hypoxie se dominantní maternální efekt objevuje jen u AHR a PS 1, zatímco v obou tabulkách pro kontrolu se střídavě objevuje dominantní maternální efekt u většiny znaků (kromě AHR, možné příčiny diskutovány výše). Vezmeme-li dále v úvahu sílu působícího stresu, nejvíce se negativní účinky stresu projevují na znacích ovlivněných posthypoxickým stresem, dále na znacích pod vlivem hypoxie a na kontrolních rostlinách se neprojevují vůbec. S jistou pravděpodobností by tedy mohla platit hypotéza, že míra projevu dominantního maternálního efektu je závislá na míře působení stresu. Tedy pokud stres nepůsobí, může se dominantní maternální efekt projevit v "plném rozsahu", a to pozitivní dominantní maternální efekt. Působí-li mírný stres, který hodnotu daného znaku dramaticky

neovlivňuje, dominantní maternální efekt se ještě projevuje, ale ve své negativní podobě (v mém případě znaky AHR a PS 1 pod vlivem hypoxie, u pigmentů se již dominantní maternální efekt víceméně neprojevuje, neboť jejich množství výrazně klesá již při působení hypoxie (tj. i hypoxický stres tyto znaky velmi negativně ovlivňuje), kdežto AHR a PS 1 nejsou tolik ovlivněny působením hypoxie)). Konečně působí-li na rostlinu velmi silný stres (v tomto případě posthypoxický stres), který má za následek velké snížení hodnot daných znaků, neprojevuje se již dominantní maternální efekt vůbec a jeho místo zaujme negativní dominance (srovnáním se statistickou analýzou zjistíme, že posthypoxickým stresem se měřené znaky snižují nejvíce). To by tedy mohlo znamenat, že projev dominantního maternálního efektu je jakousi "výhodou" pro rostliny ve standardních podmínkách, ale při působení silného stresu se vliv tohoto efektu vytrácí. Tuto hypotézu je však nutné prověřit mnoha dalšími podobně organizovanými pokusy tohoto typu. V úvahu pak berme i hypotézy zmiňované výše u genetické analýzy jednotlivých znaků. Lze usuzovat, že působení stresu se nejprve odrazí na obsahu fotosyntetických pigmentů (chl *a*, *b*, kar), poté teprve na aktivitách PS 1 a PS 2 a to je následováno změnami morfologie.

K objasnění změn genetických efektů během stresových podmínek lze uvažovat i uplatnění tzv. genetického stresu. Abiotický stres vyvolává v organismech (rostliny nevyjímaje) nejen změny na úrovni regulace DNA, ale také změny struktury DNA, které se dokonce v některých případech mohou přenášet na další generace (Yamashita *et al.* 1999; Hashida *et al.* 2003; Cullis 2004) a tak je možné, že na změnách genetických efektů se může částečně podílet i tento typ stresu.

5.4. Korelační analýza

5.4.1. Korelační analýza mezi jednotlivými znaky

Korelační analýza **AHR** (LP, S, chl) ukázala, že AHR je celkově i zvláště v jednotlivých sériích negativně korelována s množstvím pigmentů (chl *a*, chl *b*, kar), což pravděpodobně znamená, že přes snižování hladiny pigmentů v průběhu stresu je možný nárůst AHR a to také potvrzuje hypotézu o snížení možnosti fotoinhibice snížením obsahu fotosyntetických pigmentů (diskutováno výše). Dalším zajímavým výsledkem korelační analýzy je ve všech případech neprůkazná korelace AHR s **PS 1**. Tento jev lze vysvětlit způsobem měření těchto charakteristik. *In vivo* je totiž činnost obou fotosystémů propojena, ovšem při mém způsobu měření AHR i PS 1 je použito umělých donorů a akceptorů elektronů

(viz kap. 2.) a tok elektronů fotosystémy je pak oddělený. Při vzájemném porovnávání aktivit obou fotosystémů je nutné brát tuto skutečnost v úvahu. Nicméně z těchto výsledků lze naopak zjistit, jaká je potenciální nejvyšší aktivita obou fotosystémů v daných podmínkách, a to nezávisle na sobě. Jak je již výše uvedeno, AHR během hypoxie inklinuje ke zvyšování a do jisté míry klesá až během návratu do normoxických podmínek, zato aktivita PS 1 má tendenci klesat a to více při působení posthypoxického stresu. To by ale znamenalo, že omezujícím faktorem během zaplavení je spíše PS 1 (kdyby totiž hodnoty aktivity PS 1 také rostly, teoreticky by mohl být i celkový tok oběma fotosystémy vyšší, to však z mých měření přesně stanovit nelze). Během působení posthypoxického stresu klesá již aktivita AHR, jakož i PS 1 a obě charakteristiky tak mají za následek omezení toku elektronů celým elektrontransportním řetězcem. Nicméně výsledky tohoto typu by mohly také znamenat, že komponentou omezující funkci elektrotransportního řetězce během působení hypoxie je PS 1. A také, že PS 2 má "vyšší výkonostní potenciál" a pokud je plně funkční (tj. za standardních podmínek), je omezován aktivitou PS 1 dokud není poškozena funkce PS 2 natolik, že se stane omezujícím faktorem toku elektronů PS 2 (tedy hlavně poškozením fotooxidací ve stresových podmínkách).

Další výsledky celkové korelační analýzy ukazují významnou pozitivní závislost aktivity PS 1 s obsahy fotosyntetických pigmentů (chl *a*, *b*, kar), tedy opačně než je tomu u AHR. Funkce PS 1 je tedy zřejmě daleko více ovlivněna množstvím chlorofylu a karotenoidů.

Korelační analýza obsahu *fotosyntetických pigmentů* potvrdila pozitivní závislosti mezi obsahy jednotlivých pigmentů, což je ve shodě s literaturou (Housková 1997; Holá 1999) a pozitivní závislost mezi obsahy těchto pigmentů a morfologickými charakteristikami. Opakovaně zjištěná statisticky průkazná negativní korelace obsahu pigmentů s poměrem hmotnost kořenů/celková hmotnost rostliny a průkazná pozitivní korelace s hmotností nadzemní části (popř. poměrem hmotnost nadzemní části/celková hmotnost rostliny) ukazuje na to, že se zvětšuje hmotnost nadzemní části rostlin při zachování hmotnosti kořenů a zároveň je obsah pigmentů přepočtený na jednotku LP nebo S vyšší, což zřejmě souvisí s ontogenetickým vývojem rostlin. Během ontogeneze totiž obsah pigmentů (LP, S) postupně roste (Krebs 1995; Krebs *et al.* 1996; Thompson *et al.* 1996; Holá 1999). Analyzované genotypy se liší i v rychlosti růstu a vývoje (pomalejší je zde u P₂), proto tedy zřejmě menší rostliny (pravděpodobně v nižším stádiu vývoje) obsahují méně pigmentů (LP, S).

Celková korelační analýza a také korelační analýza kontrolní II B série prokázala negativní závislost *SpHm* s *RWC*. S jistou mírou pravděpodobnosti se tedy zvyšující se *RWC* uplatňuje na snižování *SpHm* nejen v průběhu stresu. Z celkové korelační analýzy je také patrná negativní korelace *SpHm* s výškou rostlin v 6., 7. a 8. týdnu.

5.4.2. Korelační analýza mezi bloky a sériemi

Z korelací mezi bloky A a B (tedy mezi hodnotami získanými v 5. a 8. týdnu měření) zvláště pro obě série pokusů je patrná ve většině případů vysoce průkazná pozitivní závislost, což svědčí o stejné míře změn v bloku pokusů A i B v rámci série I a II. Závislost není průkazná pouze mezi AHR série II, PS 1 série I, chl *a/b* a *SpHm* obou sérií.

Naproti tomu korelace v rámci kontrolních a stresovaných rostlin mezi bloky A a B jsou ve většině případů neprůkazné (PS 1 a AHR stresovaných rostlin, dále u obsahů fotosyntetických pigmentů u kontrolních rostlin a *RWC* a *SpHm* kontrolních i stresovaných rostlin). To znamená, že změny v bloku A neodpovídají změnám v bloku B. To může být způsobeno existencí rozdílů ve změnách jednotlivých hodnot znaku během růstu, tedy jinak v bloku A a jinak v bloku B (např. obsah pigmentů v kontrole A bloku neodpovídá obsahu pigmentů v kontrole B bloku). Pro tuto hypotézu svědčí i výsledky statistické analýzy, kde v mnohých případech existují průkazné interakce typu P×S, což znamená, že způsob pěstování ovlivnil jinak sérii I a jinak sérii II. Interakce tohoto typu při zkoumání vnitrodruhové variability jsou popsány i v literatuře (Hobbs 1988). Kromě toho je nutné brát v úvahu, že neprůkaznost daných korelací může být způsobena i příliš vysokou variabilitou hodnot znaků v rámci jednotlivých sérií daného bloku a pro daný způsob pěstování.

Korelační analýza mezi kontrolními a stresovanými rostlinami v rámci jednotlivých bloků a sérií ukazuje jistou závislost pouze mezi hodnotami *SpHm* rostlin série II A, *RWC* v sérii I A a hodnotami *SpHm* rostlin I B. To znamená, že změny ostatních hodnot znaků kontrolních rostlin neodpovídají změnám hodnot těchto znaků rostlin stresovaných (až na výše zmíněné výjimky). Tedy hodnoty kontroly se mění podle jiných zákonitostí než hodnoty rostlin pod vlivem stresu (kromě *RWC* a *SpHm*). S tímto souvisejí i výsledky genetické analýzy, kde jsou patrné výrazné změny v uplatnění genetických efektů.

5.6. Hodnocení anatomických charakteristik

Výsledky, které jsem získala studiem anatomických řezů listů kontrolních a stresovaných rostlin jsou pouze orientační. Cílem bylo posoudit případné změny anatomie listů a porovnat je se změnami ostatních analyzovaných parametrů. Nepředpokládala jsem, že by krátké působení hypoxie mohlo vést k výrazným změnám anatomické struktury listů. Nicméně určité změny byly patrné a podařilo se je dokumentovat, ovšem žádné kvantitativní ani statistické hodnocení nebylo provedeno.

Z anatomických řezů byly změny struktur listů vyvolané vystavením rostlin hypoxickým podmínkám nejvýraznější na řezech báze 5. listů, neboť báze těchto listů se zřejmě ještě intenzivně vyvíjela během zaplavení rostlin. Při porovnání řezů bylo u stresovaných rostlin na první pohled patrné ztenčení vrstev buněčných stěn, což se projevilo nižším obsahem safraninu vázaného převážně v krycích pletivech a buňkách cévních svazků, který má specifickou afinitu právě k látkám nejvíce obsaženým v těchto strukturách (převážně lignin, ale i suberin a kutin). K podobným závěrům dospěl i Parolin (2002). Při podrobnějším zkoumání si můžeme všimnout i ztenčení průměru báze listu během hypoxie a také možného snížení RWC. Na snížení RWC můžeme usuzovat z porovnání smrštění buněk během fixace. Buňky pletiv pod vlivem hypoxie jsou totiž více deformované fixáží, než je tomu u kontrolních rostlin. Takovéto deformace mohou souviset buď s nízkými hodnotami RWC v pletivech a ochabnutím turgoru buněk (Campebell a Drew 1983) nebo ztenčením opory buněk (Kawase 1979).

Rozdíly mezi genotypy nejsou patrné. K prokázání genotypových rozdílů anatomických struktur, pokud existují, by bylo třeba provést větší množství takovýchto pokusů s metrickým srovnáním.

6. Souhrn

1. Provedla jsem analýzu vybraných fyziologických a morfologických znaků inbredních genotypů 2023, CE704 a jejich recipročných kříženců F_1 a F_2 generace při působení hypoxického stresu a po návratu do standardních podmínek. Hodnocena byla aktivita Hillovy reakce a aktivita fotosystému 1 v suspenzi izolovaných mezofylových chloroplastů, obsah chlorofylu *a* a *b*, obsah karotenoidů, vzájemné poměry fotosyntetických pigmentů, RWC, specifická hmotnost sušiny a dále hmotnostní a délkové parametry vyvíjejících se rostlin a některé jejich poměry.
2. Z provedených srovnávacích analýz vyplynulo, že rostliny jsou více negativně ovlivněny reaerací po jejich návratu do standardních podmínek (tedy vlivem působení posthypoxického stresu) ve srovnání se změnami daných znaků během samotného zaplavení. Pokles obsahu fotosyntetických pigmentů vlivem hypoxie i posthypoxie je zřejmě adaptací na zvýšené riziko fotooxidačního stresu. Samostatná funkce AHR byla ovlivněna záplavovým stresem méně než aktivita PS1.
3. Jednotlivé genotypy se mezi sebou ve fyziologických znacích výrazně nelišily a pokud byly některé odlišnosti průkazné, pak se jednalo většinou o rostliny ve stresových podmínkách (hypoxický/posthypoxický stres), kde nejnižších hodnot dosáhl genotyp CE704. Hodnoty znaků F_1 generace se většinou průkazně nelišily od mateřského genotypu 2023 a hodnoty znaku F_2 generace byly buď na stejné úrovni s hodnotami F_1 nebo mírně nižší. U hodnot RWC svědčily výsledky o opaku, tedy nejvyšší RWC byl většinou zaznamenán u linie CE704. Analýza morfologických znaků ukázala daleko více průkazných odlišností mezi genotypy než v případě analýzy fyziologických znaků. Mateřská linie CE704 většinou dosáhla opět minimálních hodnot oproti ostatním genotypům, což společně s výsledky analýzy fyziologických znaků svědčí o pomalejším růstu a vývoji rostlin této linie. Linie CE704 však zároveň během hypoxie i po reaeraci vykazovala nejméně průkazných změn hodnocených znaků vlivem stresu, proto ji lze považovat za potenciálně nejtolerantnější genotyp. Generace F_1 a F_2 v některých případech přesáhly hodnoty nejen linie P_2 ale i P_1 .
4. Genetickou analýzou fyziologických znaků rostlin v kontrolních, hypoxických a posthypoxických podmínkách jsem prokázala vliv aditivních a dominantních efektů, které se společně s dominantními maternálními efekty převážně podílely na dědičné determinaci většiny studovaných znaků. Průkaznost dominantních maternálních efektů klesala se stupňující se silou stresu. Aditivní maternální a cytoplazmatické efekty byly průkazné jen výjimečně. Při genetické analýze morfologických znaků se projevila převaha aditivních a

dominantních efektů a maternální efekty byly průkazné jen výjimečně.

5. Výsledky korelačních závislostí odhalily, že vlivem působení stresového faktoru, ale také během růstu a vývoje rostlin se měnily závislosti mezi jednotlivými znaky. Bylo také možné usuzovat na vyšší citlivost PS1 ke snižování obsahu fotosyntetických pigmentů v porovnání s PS2. Vyšlo také najevo, že při užitém způsobu měření neexistoval průkazný vztah mezi hodnotami AHR a PS1.

7. Seznam citované literatury

- Aargaard, L., Laible, G., Selenko, P., Schmid, M., Dorn, R Schotta, G., Kuhfittig, S., Wolf, A., Singh, P. B. (1999): Functional mammalian homologues of the *Drosophila* PEV-modifier Su(var)3-9 encode centromere-associated proteins which complex with the heterochromatin component M31. *EMBO J.* 18: 1923-1938.
- Ahmed, S., Nawata, E., Hosokawa, Domae, Y., Sakuratani, T. (2002): Alterations in photosynthesis and some antioxidant enzymatic activities of mungbean subjected to waterlogging. *Plant Sci.* 163: 117-123.
- Albergoni, F., Basso, B., Pe, E., Ottaviano, E. (1983): Photosynthetic rate in maize. Inheritance and correlation with morphological traits. *Maydica* 28: 439-448.
- Albrecht, G., Wiedenroth, E. M. (1994): Protection against activated oxygen following reaeration of hypoxically pretreated wheat roots. The response of the glutathione system. *J. Exp. Bot.* 45: 449-455.
- Andreev, V. Y., Generozova, I. P., Vartapetain, B. B. (1991): Energy status and mitochondrial ultrastructure of excised pea root at anoxia and postanoxia. *Plant Physiol. Biochem.* 29: 171-176.
- Andrews C. J., Pomeroy M.K. (1989): Metabolic acclimation to hypoxia in winter cereals: low temperature flooding increases adenylates and survival in ice encasement. *Plant Physiol.* 91: 1063-1068.
- Armor, Y., Aigler, C., Johnson, S., Wainscott, M., Delmer, D. P. (1995): A membrane-associated form of sucrose synthase and its potential role in synthesis of cellulose and callose in plants. *Proc. Natl. Acad. USA* 92: 9353-9357.
- Armstrong, J., Armstrong, W., Beckett, P. M., Halder, J. E., Lythe, S., Holt, R., Sinclair, A. (1996): Pathways of aeration and the mechanisms and beneficial effects of humidity- and Venturi- induced convections in *Phragmites australis* (Cav.). *Trin. Exp. Steud. Aquat. Bot.* 54: 177-197.
- Armstrong, W. (1978): Root aeration in the wetland condition. In: Hook, D. D., Crawford, R. M. M. (eds.): *Plant Life in Anaerobic Environments*. Ann. Arbour. Science, 269-279.
- Armstrong, W. (1979): Advances in higher plants. In: Woolhouse, H. W. (ed.): *Advances in Botanical Research*. Vol. 7. Academic press, London, 225-332.
- Armstrong, W., Brändle, R., Jackson, M. B. (1994): Mechanisms of flood tolerance in plants. *Acta Bot. Neederl.* 43: 307-358.
- Aro, E. M., Virgin, I., Anderson, B. (1993): Photoinhibition of photosystem II. Inactivation protein damage and turnover. *Biochem. Biophys. Acta* 1143: 113-134.
- Asada, K. (1994): Production and action of active oxygen in photosynthetic tissues. In: Foyer, C. H., Mullineaux, P. M. (eds.): *Causes of Photooxidative Stress in Plants and Amelioration of Defence System*. CRC Press. Boca Raton, 77-104.
- Ashraf, M., Rehman, H. (1999): Interactive effects of nitrate and long-term waterlogging on growth, water relations, and gaseous exchange properties of maize (*Zea mays* L.). *Plant Sci.* 144: 35-43.
- Azuma, T., Hirano, T., Deki, Y., Uchida, N., Yasuda, T., Yamaguchi, T. (1995): Involvement of the decrease in levels of abscisic acid in the internodal elongation of submerged floating rice. *J. Plant Physiol.* 146: 323-328.
- Badger, M. R., Sharkey, T. D., von Caemmerer, S. (1984): The relationship between steady-state gas exchange of bean leaves and the levels of carbon-reduction-cycle intermediates. *Planta* 160: 305-313.
- Bahr, J. T., Jensen, R. G. (1978): Activation of ribulose biphosphate carboxylase in intact chloroplast by CO₂ and light. *Arch. Biochem. Biophys.* 185: 39-48.
- Bailey-Serres, J., Kloeckener-Gruissem, B., Freeling, M. (1988): Genetic and molecular approaches to the study of the anaerobic response and tissue specific gene expression in maize. *Plant Cell Environ.* 11: 351-357.
- Baum, G., Chen, Y., Arazi, T., Takatsuji, H., Fromm, H. (1993): A plant glutamate-decarboxylase containing a calmodulin binding domain. Cloning, sequence, and functional analysis. *J. Biol. Chem.* 268: 19610-19617.
- Baum, J. A., Scandalios, J. G. (1982): Multiple genes controlling superoxide dismutase expression in maize. *J. Hered.* 73: 95-100.
- Baxter-Burrell, A., Chang, R., Springer, P. S., Bailey-Serres, J. (2003): Gene and enhancer trap

- transposable elements reveal oxygen deprivation-regulated genes and their complex patterns of expression in Arabidopsis. *Ann. Bot.* 91: 129-141.
- Baxter-Burrell, J., Yang, Z., Springer, P. S., Bailey-Serres, J. (2002): ROPGAP4-dependent Rop GTPase rheostat controls of Arabidopsis oxygen deprivation tolerance. *Science* 296: 2026-2028.
- Beamelt, S., Keetman, U., Albrecht, G. (1998): Re-aeration following hypoxia or anoxia leads to activation of the antioxidative defence system in roots of wheat seedlings. *Plant. Physiol.* 116: 651-658.
- Blair, G. J., Mamaril, C. P., Umer, P., Momuat, A. E. O., Momuat, E. (1979): Sulphur nutrition of rice. 1. A Survey of Soils of South Sulawesi. *Indonesia Agron. J.* 71: 473-476.
- Blokhina, O. B., Chirkova, T. V., Fagestedt, K. V. (2001): Anoxic stress leads to hydrogen peroxide formation in plant cells. *J. Exp. Bot.* 52: 1-12.
- Blom C. W. P. M., Voesenek, L. A. C. J., Banga, M., Engelaar, W. M. H. G., Rijnders, J. H. G. M., Van de Steeg, H. M., Visser, E. W. J. (1994): Physiological ecology of riverside species: adaptive responses of plants to submergence. *Ann. Bot.* 74: 253-263.
- Boru, G. (1996): Expression and inheritance of tolerance to waterlogging stresses in wheat (*Triticum aestivum* L.). PhD. Thesis, Oregon State University, 88.
- Bowler, C. and Van Montague, M., Inzé, D. (1992): Superoxide dismutase and stress tolerance. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 43: 83-116.
- Boyer, J.S., Younis, H.M. (1982): Molecular aspects of photosynthesis at low leaf water potentials. In: Marcelle, R., Clijsters, H., Van Poucke M. (eds.): Advances in Agricultural Biology. Proceedings of a conference held at the „Limburgs Universitair Centrum“ Diepenbeek, Belgium, 22 – 27 August 1982.
- Bradford, K. J. (1982): Regulation of shoot response to root stress by ethylene, abscisic acid and cytokinins. In: Wareing, P. F. (ed.): Plant Growth Substances. Academic press, New York and London., 566-608.
- Bradley, D. E., Min. D. B. (1992): Singlet oxygen oxidation of foods. *Cat. Rev. Food Sci. Nutri.* 31: 211-236.
- Branco-Price, C., Kawaguchi, R., Ferreira, R., Bailey-Serres, J. (2005): Genome-wide analyses of transcript abundance and translation in Arabidopsis seedlings subjected to oxygen deprivation. *Ann. Bot.* 96: 647-660.
- Cai, S., Cao, Y., Feng, X. (1996): Studies on the variability and combining ability of waterlogging tolerance in common wheat. *Jiangsu J. Agr. Sci.* 12(3): 1-5.
- Campebell, R. B., Drew, M. C. (1983): Electron microscopy of gas space (aerenchyma) formation in adventitious roots of *Zea mays* L. subjected to oxygen shortage. *Planta* 157: 350-357.
- Cao Y., Cai, S. B., Zhu, W., Xiong, E., Fang, X. U. (1994): Combining ability analysis of waterlogging tolerance and main agronomic traits in wheat. *Sci. Agri. Sinica* 27(6): 40-55.
- Cao Y., Cai, S. B., Zhu, W., Xiong, E., Fang, X. U. (1995): Studies on genetic features of waterlogging tolerance in wheat. *Jiangshu Acad. Agri. Sci.* 11(2): 11-15.
- Cao, Y., Cai, S. B., Zhu, W., Fang, X. U. (1992): Genetic evaluation of waterlogging tolerance in wheat variety Nonglin 46. Report of the Jiangshu Academy of Agricultural Sciences. *Crop Genet. Resources* 2: 25-26.
- Cauto, W., Sanzonowics, C., Leite, G. G. (1983): Effects of excess water in an oxisol on NH₄, NO₃, Fe and Mn availability and nutrient uptake of two tropical forage species. *Plant Soil* 73: 159-164.
- Close, T. J., (1997): Dehydrins: A commonality in the response of plants to dehydration and low temperature. *Physiol. Plantarum* 100: 291 - 296.
- Collaku, A., Harrison, S. A. (2002): Losses in wheat due to waterlogging. *Crop Sci.* 42(2): 444-450.
- Cossins, E. A. (1978): Ethanol metabolism in plants. In: Hook, D. D., Crawford, R. M. M. (eds.): Plant Life in Anaerobic Environments. Ann. Arbor. Science, Michigan, 169-202.
- Cox, M. C., Benschop, J. J., Vreebung, R. A., Wagemaker, C. A., Moritz, T., Peeters, A. J., Voesenek, L. A. (2004): The roles of ethylene, auxin, abscisic acid, and gibberellin in the hyponastic growth of submerged *Rumex palustris* petioles. *Plant Physiol.* 136: 2948-2960.
- Crawford, R. M. M. (1967): Alcohol dehydrogenase activity in relation to flooding of roots. *J. Exp. Bot.* 18: 454-464.
- Crawford, R. M. M., Braendle, R. (1996): Oxygen deprivation stress in a changing environment. *J. Exp. Bot.* 47: 145-149.
- Csapó, B., Kovács, J., Páldi, E., Szigeti, Z. (1991): Fluorescence induction characteristics of maize inbred lines after long-term chilling treatment during the early phase of development. *Photosynthetica* 25: 575-582
- Cullis, C. A. (2005): Mechanisms and control of rapid genomic changes in flax. *Ann. Bot.* 95(1):201-206.

- Davies, D. D. (1980): Anaerobic metabolism and the production of organic acids. *In*: Davies, D. D. (ed.): The Biochemistry of Plants, vol. 2. New York, London, Academic Press: 581-611.
- Davies, D. D., Kenworthy, P., Mocquot, B., Roberts, K. (1986): The metabolism of pea roots under hypoxia. *Curr. Top. Plant Biochem. Physiol.* 4: 141-155.
- Davies, F. S., Flore, J. A. (1986a): Short-term flooding effects on gas exchange and quantum yield of rabbiteye blueberry (*Vaccinium ashei* Reade). *Plant Physiol.* 81: 289-292.
- Davies, F. S., Flore, J. A. (1986b): Gas exchange and flooding stress of highbush and rabbiteye blueberries. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 111: 565-571.
- de Bruxelles, G.L., Peacock, W.J., Dennis, E.S., Dolferus, R. (1996): Abscisic acid induces the alcohol dehydrogenase gene in Arabidopsis. *Plant Physiol.* 111: 381-391.
- de Vetten, N. C., Ferl, R. J. (1995): Charakterisation of a maize G-box binding factor that is induced by hypoxia. *Plant J.* 7: 589-601.
- Dennis, E. S., Gerach, W. L., Walker, J. C., Lavin, M., Peacock, W. J. (1988): Anaerobic regulated aldolase gene of maize: a chimaeric origin? *J. Mol. Biol.* 202: 759-767.
- Dennis, E. S., Walker, J. C., Liewellyn, D. J., Ellis, J. G., Singh, K., Tokuhisa, J. G., Wolstenholme, D. R., Peacock, W. J. (1989): The response to anaerobic stress: transcriptional regulation of genes for anaerobically induced proteins. *In*: Cherry, J. H. (ed.): Environmental Stress in Plants. New York: Springer, 231-245.
- Dewit, A. C., Francis, C. M. (1972): The effect of waterlogging on the mineral nutrient content in *Trifolium subterraneum*. *Aust. J. Exp. Agr., Anim. Husb.* 12: 614-617.
- Dolferus, R., Klok, E. J., Delessert, C., Wilson, S., Ismond, K. P., Good, A. G., Peacock, W. J., Dennis, E. S. (2003): Enhancing the anaerobic response. *Ann. Bot.* 74: 301-308.
- Dong, J. G., Yu, S. W. (1984): Effects of cytokinin on senescence and ethylene production in waterlogged wheat plants. *Acta Phytophysiol. Sinica* 10: 55-62.
- Dong, J. G., Yu, Z. W., Yu, S. W. (1983): Effects of increased ethylene production during different periods on the resistance of wheat plants to waterlogging. *Acta Phytophysiol. Sinica* 9: 383-389.
- Dordas, C., Rivoal, J., Hill, R. D. (2003): Plant haemoglobins, nitric oxide and hypoxic stress. *Ann. Bot.* 91: 173-178.
- Douce, R., Heldt, H. W. (2000): Photorespiration. *In*: Leegood, R. C., Sharkez, T. D., von Craemmerer, S. (eds.) Photosynthesis: Physiology and Metabolism. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht-Boston-London, 115-136.
- Drew, M. C. (1997): Oxygen deficiency and root metabolism: injury and acclimation under hypoxia and anoxia. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 48: 223-250.
- Drew, M. C., Lynch, J. M. (1986): Soil anaerobiosis, microorganisms and root function. *Annu. Rev. Phytopatol.* 18: 37-42.
- Drew, M. C., Sisworo, E. J. (1997): The development of waterlogging damage in young barley plants in relation to plant nutrient status and changes in soil properties. *New Phytol.* 82: 301-314.
- Dua, A., Talwar, G., Singal, H. R., Singh, R. (1994): CO₂ exchange, primary photochemical reactions and enzymes of photosynthetic carbon reduction cycle in Brassica pods during water stress and recovery. *Photosynthetica* 30 (2): 261 - 268.
- Dubey, R.S. (1999): Protein synthesis in plants under stressful conditions. *In*: Pessarakli, M. (ed.) Handbook of Plant and Crop Stress. Marcel Dekker, Inc., New York-Basel, 365-397.
- Edwards, S., Nguyen B-T., Roberts J. K. M. (1998): Contribution of malic enzyme, pyruvate kinase, phosphoenolpyruvate carboxylase, and the Crebs cycle to respiration and biosynthesis and to intracellular pH regulation during hypoxia in maize root tips observed by nuclear magnetic resonance imaging and gas chromatography-mass spectrometry. *Plant Physiol.* 116: 1073-1081.
- Ellis, M. H., Dennis, E. S., Peacock, W. J. (1999): Arabidopsis roots and shoots have different mechanisms for hypoxic stress tolerance. *Plant Physiol.* 119: 57-64.
- Else, M. A., Davies, W. J., Manole, M., Jackson, M. B. (1995): A negative hydraulic message from oxygen-deficient roots of tomato plants? Influence of soil flooding on leaf water potential, leaf expansion, and synchrony between stomatal conductance and root hydraulic conductivity. *Plant Physiol.* 109: 1017-1024.
- Elstner, E. F. (1991): Mechanisms of oxygen activation in different compartments of plant cells *In*: Pell, E. J. and Steffen, K. L. (eds.): Active Oxygen/oxidative Stress and Plant Metabolism. American Soc. Plant Physiol. Rockville, M.D., 13-25.
- Fadzilla, N. M., Finch, R. P., Burdon, R. H. (1997): Salinity, oxidative stress and antioxidant responses in shoot cultures of rice. *J. Exp. Bot.* 48: 325-331.
- Fankhauser, C., Yeh, K-C., Lagarias, J. C., Zhang, H., Elic, T. D., Chory, J. (1999): PKS1, a substrate

- phosphorylated by phytochrome that modulated light signaling in *Arabidopsis*. *Science* 284: 1539-1541.
- Farr, S. B., Kogoma, T. (1991): Oxidative stress responses in *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium*. *Microbiol. Rev.* 55: 561-585.
- Fennoy, S. L., Bailey-Serres, J. (1995): Post-transcriptional regulation of gene expression in oxygen-deprived roots of maize. *Plant J.* 7: 287-295.
- Ferl, R. J., Brennan, M., Schwartz, D. (1980): *In vitro* translation of maize ADH: evidence for the anaerobic induction of mRNA. *Mol. Gen. Genet.* 18: 681-691.
- Ferreira, P. C., Hemerly, A. S., van Montagu, M. (1993): A protein phosphatase 1 from *Arabidopsis thaliana* restores temperature sensitivity of a *Schizosacharomyces pombe* cdc25th/wee1- double mutant. *Plant J.* 4: 81-87.
- Forster, B. P., Taeb, M., Koebner, R. M. D., Barua, U. M., Chalmers, K. J. (1992): Genetic approaches to waterlogging an salt stress in the Triticeae: *In: Kuo, C. G.(eds.): Adaptation of Food Crops to Temperature and Water Stress AVRDC, Taiwan, 68-77.*
- Foyer, Ch.H., Leandais, M., Kunert, K.J. (1994): Photooxidative stress in plants. *Physiol. Plantarum* 92: 696 – 717.
- Freeling, M., Bennett, D. C. (1985): Maize *Adh1*. *Annu. Rev. Genet.* 19: 297-323.
- Fridovich, I. (1989): Oxygen radicals from acetaldehyde. *Free Radical Biol. Med.* 7: 557-558.
- Fry, S. C. (1986): Crosslinking of matrix polymers in the growing cell wall polysaccharides by ascorbate-induced hydroxyl radicals. *Biochem. J.*: 332, 507-515.
- Gambrell, R. P., Delaune, R. D., Patric, W. H. Jr. (1991): Redox processes in soils following oxygen depletion. *In: Jackson, M. D., Davies, D. D., Lambert, H. (eds.): Plant Life Under Oxygen Deprivation. SPB Academic, The Hague, The Netherlands, 101-107.*
- Geigenberger, P. (2003): Responce of plant metabolism to too little oxygen. *Curr. Opin. Plant Biol.* 6: 247-256.
- Gendrel, A. V., Lippman, Z., Yordan, C., Colot, V., Martienssen, R. A. (2002): Dependence of heterochromatinic histone H3 methylation patterns on the *Arabidopsis* gene DDM1. *Science* 297: 1871-1873.
- Germain, V., Raymond, P., Ricard, B. (1997) Differential expression of two tomato lactat dehydrogenase genes in response to O₂ deficit. *Plant Molecular Biology* 35: 711 - 721.
- Gibbs, J., Greenway, H. (2003): Mechanism of anoxia tolerance in plants. I. Growth, survival and anaerobic catabolism. *Funct. Plant Biol.* 30: 1-37.
- Gins, V. K., Shevyakova, A. V., Gambarova, N. G., Mukhin, E. N. (1989): NADPH formation as dependent on the age of leaves and plants of wheat of different productivity. *Fiziol. Biokhim.Kul't. Rast.* 21: 247-251.
- Greenway, H., Gibbs, J. (2003): Mechanism of anoxia tolerance in plants. II. Energy requirements for maintainance and energy consuming processes. *Funct. Plant Biol.* 30: 999-1036.
- Grewal, S. I, Moazed, D. (2003): Heterochromatin and epigenetic control of gene expression. *Science* 301: 798-802.
- Gu, Y., Wang, Z., Yang, Z. (2004): RAC GTPase: an old next master regulator for plant signaling. *Current Opinion in Plant Biol.* 67: 527-536.
- Guglielminetti, L., Perata, P., Alpi, A. (1995): Effects of anoxia on carbohydrate metabolism in rice seedlings. *Plant Physiol.* 116: 735-741.
- Hamachi, Y., Furusho, Yoshida, M. A. (1989): Heritability of wet tolerance in barley. *Jap. J. Breeding* 39 (2): 195-202.
- Hammond, L. C., Allaway, W. H., Loomis, W. E. (1955): Effects of oxygen and carbon dioxide levels upon absorbtion of potassium by plants. *Plant Physiol.* 30: 155-162.
- Hare, P. D., Cress, W. A., van Staden, J. (1997): The involvement of cytokinins in plant responses to environmental stress. *Plant Growth Regul.* 23: 79-103.
- Hartung, W. (1983): The site of action of abscisic acid at the guard cell plasmalemma of *Valerianella locusta*. *Plant Cell Environ* 6: 427-428
- Hashida, S. N., Kitamura, K., Mikami, T., Kishima, Y. (2003): Temperature shift coordiantely changes the activity and the methylation state of transposon *Tam3* of *Antirrhinum majus*. *Plant Physiol.* 132: 1207-1216.
- Hatfield, R. D., Ralph, J., Grabber, J. H. (1999): Cell wall cross-linking by ferulates and diferulates in grasses. *J. Sci. Food Agri.* 79: 403-407.
- He, C. J., Morgan, P. W., Drew, M. C. (1994): Induction of enzymes associated with lysigenous aerenchyma formation in roots of *Zea mays* during hypoxia or nitrogen starvation. *Plant Physiol.* 3:

- He, C. J., Morgan, P. W., Drew, M. C. (1996): Transduction of an ethylene signal is required for cell death and lysis in the root cortex of maize during aerenchyma formation induced by hypoxia. *Plant Physiol.* 112: 463-472.
- He, J.X., Wang, J., Liang, G.H. (1995): Effects of water stress on photochemical function and protein metabolism of photosystem II in wheat leaves. *Physiol. Plantarum* 93: 771-777.
- Hernandez, J. A., Campillo, A., Jimenez, A., Aarcon, J. J., Sevilla, F. (1999): Response of antioxidant systems and leaf water relations to NaCl stress in pea leaves. *New Physiol.* 141: 241-251.
- Hernandez, J. A., Olmos, E., Corpas, F. J., Sevilla, F., Del Rio, L. A. (1995): Salt-induced oxidative stress on chloroplasts of pea plants. *Plant Sci.* 105: 151-167.
- Hertwig, B., Steb, P., Feierabend, J. (1992): Light dependence of catalase synthesis and degradation in leaves and the influence of interfering stress conditions. *Plant Physiol.* 100: 1547-1553.
- Hirao, K., Kubota, F., Agata, W. (1995): Evaluation of the heterosis on leaf photosynthesis of remote-cross F1 rice (*Oryza sativa* L.). *J. Agron. Crop Sci.* 175: 256-270.
- Hobbs, S. L. A. (1988): Genetic variability in photosynthesis and other leaf characters in Brassica. *Photosynthetica* 22: 388-393.
- Hoeren, F., Dolferus, R., Wu, Y., Peacock, W. J., Dennis, E. S. (1998): Evidence for a role of *AtMYB* in the induction of Arabidopsis alcohol dehydrogenase (ADH1) gene by low oxygen. *Genetics* 149: 479-490.
- Hoffmann, N. E., Bent, A. F., Hanson, A. D. (1986): Induction of lactate dehydrogenase by oxygen deficit in barley root tissue. *Plant Physiol.* 82: 658-653.
- Holá, D. (1999): Geneticky podmíněné rozdíly v obsahu a aktivitě některých složek thylakoidních membrán u inbrední kukuřice (*Zea mays* L.). Doktorská práce, PŘF UK, Praha.
- Holá, D. (1994): Dědičnost fotochemické aktivity chloroplastů rajčete (*Lycopersion esculentum* Mill.). Dipl. práce PŘF. UK, Praha.
- Hook, D. D., Debell, D. S., Mckee, W. H. Jr., Askew, J. L. (1983): Responses of loblolly pine (Mezophyte) and swamp tupelo (Hydrophyte) seedlings to soil flooding and phosphorus. *Plant Soil* 71: 383-389.
- Hornberg, C., Weiler, E. W. (1984): High affinity binding sites for abscisic acid at the plasmalemma of *Vicia faba* guard cells. *Nature* 310: 321-324.
- Hosner, J. F., Leaf, A. L. (1962): The effect of soil saturation upon the dry weights, ash content and nutrient absorption of various bottom land species. *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.* 26: 101-105.
- Housková, J. (1997): Korelace mezi fotosyntetickými charakteristikami listů kukuřice (*Zea mays* L.). Dipl. práce PŘF UK, Praha.
- Huang, B. R., Johnson, J. W., Nesmith, D. C. (1994): Root and shoot growth of wheat genotypes in response to hypoxia and subsequent resumption of aeration. *Crop Sci.* 34: 1538-1544.
- Hwang, S-Y., VanToai, T. T. (1991): Abscisic acid induces anaerobiosis tolerance in corn. *Plant Physiol.* 97: 593-597.
- Chandler, N. S., Schumaker, P. T. (2000): Cellular oxygen sensing by mitochondria: old questions, new insight. *J. Appl. Physiol.* 88: 1880-1889.
- Chandler, N. S., McClintock, D. S., Feliciano, C. E., Wood, T. M., Melendez, J. A., Rodriguez, A. M., Schumacker, P. T. (2000): Reactive oxygen species generated at mitochondrial complex III stabilize hypoxia-inducible factor-1 α during hypoxia. *J. Biol. Chem.* 275: 25130-25138.
- Chandler, N. S., Maltepe, E., Goldwasser, E., Mathieu, C. E., Simon, M. C., Schumacker, P. T. (1998): Mitochondrial reactive oxygen species triggers hypoxia-induced transcription. *Proceedings of the Natl. Acad. Sci. USA* 95: 11715-11720.
- Chandler, V., Rivin, C., Walbot, V. (1986): Stable non-mutator stocks of maize have sequences homologous to the *Mu1* transposable element. *Genetics* 114: 1007-1021.
- Chen, S., Schopfer, P. (1999): Hydroxyl radical production in physiological reactions - a novel function of peroxidase. *Eur. J. Biochem.* 260: 726-735.
- Chen, X. M., Begonia, G. B., Alm, D. H., Hesketh, J. D. (1993): Responses of soya bean leaf photosynthesis to CO₂ and drought. *Photosynthetica* (29) 3: 447-454.
- Chow, W. S. (1994): Photoprotection and photoinhibitory damage. *Adv. Mol. Cell Biol.* 10: 151-196.
- Chung, H. J., Ferl, R. J. (1999): Arabidopsis alcohol dehydrogenase expression in both shoots and roots is conditioned by root growth environment. *Plant Physiol.* 121: 429-436.
- Igamberdiev, A. U., Hill, R. D. (2004): Nitrate, NO and haemoglobin in plant adaptation to hypoxia: an alternative to classic fermentation pathways. *J. Exp. Bot.* 55: 2473-2482.
- Ivashuta, S., Naumkina, M., Gau, M., Uchiama, K., Isobe, S., Mizukami, Y., Shimamoto, Y. (2002):

- Genotype-dependent transcription activation of novel repetitive elements during cold acclimation of alfalfa (*Medicago sativa*). *Plant J.* 31: 615-627.
- Jackson, M. B. (1979): Rapid injury to pea soil waterlogging. *J. Sci. Food Agri.* 30: 143-147.
- Jackson, M. B. (1985): Ethylene and the responses of plants to soil waterlogging and submergence. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 36: 145-174.
- Jackson, M. B. (1991): Ethylene in root growth and development. In: Matoo, A. K., Suttle, J. C. (eds.): *The Plant Hormone Ethylene*. Boca Raton: CRC Press, 160-181.
- Jackson, M. B., Armstrong, W. (1999): Formation of aerenchyma and the processes of plant ventilation in relation to soil flooding and submergence. *Plant Biol.* 1: 274-278.
- Jackson, M. B., Drew, M. C. (1984): Effects of flooding on growth and metabolism of herbaceous plants. In: Kozłowski, T. T. (ed.): *Flooding and Plant Growth*. Academic Press, New York, 47-128.
- Jenuwein, T., Allis, C. D. (2001): Translating the histone code. *Science* 293: 1074-1080.
- Jiang, N., Bao, Z., Zhang, X., Hirochika, H., Eddy, S. R., McCouch, S. R., Wessler, S. R. (2003): An active DNA transposon family in rice. *Nature* 421: 163-167.
- Johansen, D. A. (1940): *Plant microtechnique*. New York, USA: McGraw-Hill Book Co.
- Johnson, L., Cao, X., Jacobsen, S. (2002): Interplay between two epigenetic marks. DNA methylation and histone H3 lysine 9 methylation. *Curr. Biol.* 12: 1360-1367.
- Jones, H. E., Etherington, J. R. (1970): Comparative studies of growth and distribution in relation to waterlogging. 1. The survival of *Erica carnea* L. and *E. tetralix* L. and its apparent relationship in iron and manganese uptake in waterlogged soil. *J. Ecol.* 58: 487-493.
- Justin, S. H. F. W., Armstrong, W. (1987): The anatomical characterization of roots and plant response to soil flooding. *New Phytol.* 106: 465-495.
- Kaiser, W.M. (1982): Photosynthetic activity and osmotic volumes isolated intact chloroplasts and cells in leaf tissue from various plants under osmotic stress. In: Marcelle, R., Clijsters, H., Van Poucke, M. (eds.): *Advances in Agricultural Biology. Proceedings of conference held at the „Limburgs Universitair Centrum“ Diepenbeek, Belgium, 22 – 27 August*.
- Kalashnikov, J. E., Balakhinina, T. I., Zakrzhevski, D. A. (1994): Effects of soil hypoxia on activation of oxygen and the system of protection from oxidative destruction on roots and leaves of *Hordeum vulgare*. *Fiziol. Rast.* 41: 583-588.
- Kalendar, R., Tanskanen, J., Immonen, S., Nevo, E., Schulman, A. H. (2000): Genome evolution of wild barley (*Hordeum spontaneum*) by *BARE-1* retrotransposon dynamics in response to sharp microclimatic divergence. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97: 6603-6607.
- Kalidas, S. (1992): Wheat sterility in Nepal: A review. In: Mann, C. E., Rerkasem, B. (eds.): *Boron Deficiency in Wheat*. Wheat Special Report No. 11. Mexico, D. F., CIMMYT, 57-64.
- Karim, A. Q. M. B., Alam, S. M. (1967): Use of radioisotopes in the study of interaction between iron and manganese and their effects on the uptake of phosphorus by rice plants. *Pak. J. Soil Sci.* 3(1): 45-50.
- Kato, M., Miura, A., Bender, J., Jacobsen, S. E., Kakutani, T. (2003): Role of GC and non-GC methylation on immobilization of transposons in *Arabidopsis*. *Curr. Biol.* 13: 421-426.
- Kawase, M. (1979): Role of cellulase in aerenchyma development in sunflower. *Ann. J. Bot.* 66(2): 183-190.
- Keiper, F. J., Chen, D. M., De Filippis, L. F. (1998): Respiratory, photosynthetic and ultrastructural changes accompanying salt adaptation in culture of *Eucalyptus microcorys*. *J. Plant Physiol.* 152: 564-573.
- Keller, T., Damude, H. G., Werner, D., Doerner, P., Dixon, R. A., Lamb, C. (1998): A plant homolog of the neutrophil NADPH oxidase gp91phox subunit gene encodes a plasma membrane protein with Ca²⁺ binding motifs. *Plant Cell* 10: 255-266.
- Kelley, P. M. (1989): Maize pyruvate decarboxylase mRNA is induced anaerobically. *Plant. Mol. Biol.* 13: 213-222.
- Kelley, P. M., Freeling, M. (1984): Anaerobic expression of maize glucose phosphate isomerase I. *J. Biol. Chem.* 259: 14180-14183.
- Kelley, P. M., Tolan, D. R. (1986): The complete amino acid sequence for the anaerobically induced aldolase from maize derived from cDNA clones. *Plant Physiol.* 82: 1076-1080.
- Kennedy, R. A., Rumpho, M. E., Fox, T. C. (1992): Anaerobic metabolism in plants. *Plant Physiol.* 100: 1-6.
- Khramova, G. A., Nizovskaya, N. V., Krendeleva, T. E., Pashchenko, V. Z. (1988): On a relationship between the components of energy-transforming mechanism in chloroplast membranes of durum wheat varieties. *Fiziol. Rast.* 35: 1058-1063.
- Kidner, C. A., Martienssen, R. A. (2003): Macro effects of microRNAs in plants. *Trends Genet.* 19: 13-16.

- Kinoshita, T., Miura, A., Choi, Y., Kinoshita, Y., Cao, X., Jacobsen, S. E., Fischer, R. L., Kakutani, T. (2004): One-way control of FWA imprinting in Arabidopsis endosperm by DNA methylation in the ends of the element. *Plant Mol. Biol.* 47: 475-490.
- Klok, E. J., Wilson, I. W., Wilson, D., Chapman, S. C., Ewing, R. M., Somerville, S. C., Peacock, W. J., Dolferus, R., Dennis, E. S. (2002): Expression profile analysis of the low-oxygen response in Arabidopsis root culture. *Plant Cell* 14: 2481-2494.
- Kočová, M. (1992a): Fotochemická aktivita izolovaných chloroplastů kukuřice (*Zea mays* L.) s ohledem na projev heteróze a komplementace. *Genet. Šlecht.* 28: 37-51.
- Kočová, M. (1992b): Fotochemická aktivita chloroplastů různých genotypů cukrovky (*Beta vulgaris* L.). *Genet. Šlecht.* 28: 285-300.
- Köhler, U., Liaud, M. F., Mendel, R. R., Cerff, R., Hehl, R. (1995): The maize GapC4 promoter confers anaerobic reporter gene expression and shows homology to the maize anthocyanin regulatory locus C1. *Plant Mol. Biol.* 29 (6): 1293-1298.
- Körnerová, M. (1995): Komplementace chloroplastů kukuřice in vitro a simulace heterózního efektu. Dipl. práce, PšF UK, Praha.
- Krasichkova, G. V., Asoeva, L. M., Giller, Y. E. (1989): Study on the activity of photosynthetic apparatus in breeding cotton forms differing in productivity. *Fiziol. Biokhim. Kul't. Rast.* 21: 124-129.
- Krebs, D. (1995): Geneticky podmíněné rozdíly ve fluorescenčních charakteristikách listů kukuřice (*Zea Mays* L.). Dipl. práce, PšF UK, Praha.
- Krebs, D., Synková, H., Avratošuková, N., Kočová, M., Šesták, Z. (1996): Chlorophyll fluorescence measurements for genetic analysis of photosynthesis and productivity in corn. *Theor. Appl. Genet.* 84: 242-255.
- Kundu, R. A., Banerji, C., Mandal, B. K., Mallik, S. (1993): Amount of volatile aldehydes released by rice plants after submergence. *IRRI* 18: 19-20.
- Labanauskas, C. K., Stolzy, L. H., Handy, M. F. (1972): Concentrations and total amount of nutrients in citrus seedlings (*Citrus sinensis* "Osbecki") and in soil as influenced by different soil oxygen treatment. *Proc. Soil. Sci. Soc. Amer.* 36: 454-457.
- Labanauskas, C. K., Stolzy, L. H., Luxmore, R. J. (1975): Soil temperature and soil aeration effects on concentrations and total amounts of nutrients in Yecora, wheat grain. *Soil. Sci.* 120: 450-456.
- Lachner, M., O'Carroll, D., Rea, S., Mechtler, K., Jenuwein, T. (2001): Methylation of histone H3 lysine 9 creates a binding site for HP1 proteins. *Nature* 410: 116-120.
- Lal, A., Ku, M.B.S., Edwards, G.E. (1996): Analysis of inhibition of photosynthesis due to water stress in the C₃ species *Hordeum vulgare* and *Vicia faba* : Electron transport, CO₂ fixation and carboxylation capacity. *Photosynth. Res.* 49: 57 – 69
- Lal, R., Taylor, G. S. (1970): Drainage and nutrient effects in a field lysimeter study. I. Corn yield and soil conditions, *Soil Sci. Soc. 72 Amer. Proc.* 33: 937-941.
- Lal, S. K., Lee, C., Sachs, M. M. (1998): Differential regulation of enolase during anaerobiosis in maize. *Plant Physiol.* 118: 1285-1293.
- Laszlo, A., St Lawrence, P. (1983): Parallel induction and synthesis of PCD a ADH in anoxic maize roots. *Mol. Gen. Genet.* 192: 110-117.
- Lawlor, D. W. (2002): Limitation to photosynthesis in water-stressed leaves: Stomata vs. metabolism and the role of ATP. *Ann. Bot.* 89: 871-885.
- Lawlor, D. W., Cornic, G. (2002): Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants. *Plant Cell Environ.* 25: 275-294.
- Lawlor, D.W. (1982): Integration of biochemical processes in the physiology of water stressed plants. In: Marcelle, R., Clijsters, H., Van Poucke M. (eds.): Advances in Agricultural Biology. Proceedings of a conference held at the „Limburgs Universitair Centrum“ Diepenbeek, Belgium, 22 – 27 August.
- Leipner, J., Fracheboud, Y., Stamp, P. (1999): Effects of growing season on the photosynthetic apparatus and leaf antioxidative defenses in two maize genotypes of different chilling tolerance. *Environ. Exp. Bot.* 42: 129-139.
- Lety, J., Lunt, O. R. Stolzy, L. H., Szuskiewicz, T. E. (1961): Plant growth, water use and nutritional response to rhizosphere differentials of oxygen concentration. *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.* 25: 183.
- Leyshon, A. J. , Sherad, R. W. (1974): Influence of short-term flooding on the growth and plant nutrient composition of barley. *Can. J. Soil Sci.* 54: 463-467.
- Liao, C. T., Lin C. H. (1994): Effects of flooding stress on photosynthetic activities of *Momordica charantia*. *Plant Physiol. Biochem.* 32: 1-5.
- Liao, C. T., Lin C. H. (1995): Effects of flood stress on morphology and anaerobic metabolism of *Momordica charantia*. *Environ. Exp. Bot.* 35: 105-113.

- Liao, Ch., Lin, Ch. (2001): Physiological adaptations of crop plants to flooding stress. *Proc. Natl. Sci. Counc. ROC (B)* Vol. 25, No 3, 148 – 157.
- Liewellin, D. J., Finnegan, E. J., Ellis, J. G., Dennis, E. S., Peacock, W. J. (1987): Structure and expression of an alcohol dehydrogenase 1 gene from *Pisum sativum* (cv. Greenfeast). *J. Mol. Biol.* 195: 115-123.
- Lindbo, J. A., Fitzmaurice, W. P., della-Cioppa, G. (2001): Virus-mediated reprogramming of gene expression in plants. *Curr. Opin. Plant Biol.* 4: 181-185.
- Lindbo, J. A., Silva-Rosales, L., Proebsting, W. M., Dougherty, W. G. (1993): Induction of a highly specific antiviral state in transgenic plants: implications for regulation of gene expression and virus resistance. *Plant Cell* 5: 1749-1759.
- Lindqvist, Y., Branden, C. L., Mathews, F. S., Lederer, F. (1991): Spinach glycolate oxidase and yeast flavocytochrome b₂ are structurally homologous and evolutionarily related enzymes with distinctly different function and flavin mononucleotide binding. *J. Biol. Chem.* 266:3198-3207.
- Lippman, Z., May, B., Yordan, C., Singer, T., Martienssen, R. (2003): Distinct mechanisms determine transposon inheritance and methylation via small interfering RNA and histone modification. *PLoS Biol.* 1: E67.
- Lorimer, G. H., Badger, M. R., Andrews, T. J. (1976): The activation of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase by carbon dioxide and magnesium ion. Equilibria, kinetics, a suggested mechanism and physiological implication. *Biochemia* 15: 529-536.
- Manjunath, S., Sachs, M. M. (1997): Molecular characterization and promoter analysis of the maize cytosolic glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase gene family and its expression during anoxia. *Plant Mol. Biol.* 33: 97-112.
- Manjunath, S., Williams, A. J., Bailey-Serres, J. (1999): Oxygen deprivation stimulates Ca²⁺ - mediated phosphorylation of mRNA cap-binding protein *eIF4E* in maize roots. *Plant J.* 19: 21-30.
- Martin, T., Formmer, W. B., Solanoubat, M., Willimitzer, L. (1993): Expression of an Arabidopsis sucrose synthase gene indicates a role in metabolization of sucrose both during phloem loading and in sink organs. *Plant J.* 4: 367-377.
- Maslova, T. G., Popova, I. A (1993): Adaptive properties of the plant pigment systems. *Photosynthetica* 29: 159-203.
- Mather, K., Jinks, J. L. (1971): Biometrical Genetics, 2nd ed. Chapman and Hall LTD., London.
- Maurel, C., Kado, R. T., Guern, J., Chrispeels, M. J. (1995): Phosphorylation regulates the water channel activity of the sood-specific aquaporin α -tip. *EMBO J.* 14: 3028-3035.
- McDonald, M. P., Galwey, N. W., Colmer, T. D. (2001): Waterlogging tolerance in the tribe *Triticaceae*: The adventitious roots of *Critesion maritimum* have a relatively high porosity and a barrier to radial oxygen loss. *Plant Cell Environ.* 24: 585-596.
- McKersie, B. D., Leshem, Y. Y. (1994): Oxidative stress. In: McKersie, B. D., Leshem, Y. Y. (eds.): Stress and Stress Coping in Cultivated plants. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht-Boston-London, 15-54.
- McMannon, M., Crawford, R. M. M. (1971): A metabolic theory of flooding tolerance. The significance of enzyme distribution and behaviour. *New Phytol.* 70: 299-306.
- Mehdy, M. C., Sharma, Y. K., Kanagasabapathi, S., Bays, N. W. (1996): The role of activated oxygen species in plant disease resistance. *Physiol. Plantarum* 98: 365-374.
- Mehta, H., Sarkar, K. R., Sharma, S. K. (1992): Genetic analysis of photosynthesis and productivity in corn. *Theor. Appl. Genet.* 84: 242-255.
- Menegus, F., Bambilla, I., Bertani, A., (1984): Nutrient translocation pattern and accumulation of free amino acids in rice coleoptile elongation under anoxia. *Physiol. Plantarum* 61: 203 - 208.
- Menegus, F., Cattaruzza, L., Cherzi, A., Fronza, G. (1989): Differences in the anaerobic lactate-succinate production and in the changes of cell sap pH for plants with high and low resistance to anoxia. *Plant Physiol.* 90: 29-32.
- Menegus, F., Cattaruzza, L., Mattana, M., Beffagna, N., Raff, E. (1991): Response to anoxia in rice and wheat seedlings. Changes in the pH of intracellular compartments, glucose-6-phosphate level, and metabolic rate. *Plant Physiol.* 95: 760-767.
- Meyer, W. S., Arrs, H. D., Moiser, A. R., Schaefer, N. L. (1987): Response of maize to three short-term periods of waterlogging at high and low nitrogen levels on undisturbed and repacked soil. *Irrig. Sci.* 8: 257-272.
- Minkov, I. N., Jahoubjan, G. T., Denev, I. D., Toneva, V.T. (1999): Photooxidative stress in higher plants. In: Pessarakli M. (ed.): Handbook of Plant and Crop Stress. Marcel Dekker, Inc., New York-Basel, 499-562.

- Miura, A., Kato, M., Watanabe, K., Kawabe, A., Kotani, H., Kakutani, T. (2004): Genomic localization of endogenous mobile CACTA family transposons in natural variants of *Arabidopsis thaliana*. *Mol. Genet. Genom.* 195: 367-369.
- Miura, A., Yonebayashi, S., Watanabe, K., Toyama, T., Shimada, H., Kakutani, T. (2001): Mobilization of transposons by a mutation abolishing full DNA methylation in *Arabidopsis*. *Nature* 411: 212-214.
- Miziorko, H. M., Lorimer, G. H. (1983): Ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase-oxygenase. *Annu. Rev. Biochem.* 52: 507-535.
- Monk, L. S., Fagerstedt, K. V., Crawford, R. M. M. (1989): Oxygen toxicity and superoxide dismutase as an anti-oxidant in physiological stress. *Physiol. Plantarum* 76: 456-459.
- Morita, S., Abe, J. (1999): Perspective of root research. *Jap. J. Crop Sci.* 68 :453-462.
- Nan, R., Carman, J. G., Salisbury, F. B. (2002): Water stress, CO₂ and photoperiod influence hormone levels in wheat. *J. Plant Physiol.* 159: 307-312.
- Napoli, C., Lemieux, C., Jorgensen, R. (1990): Introduction of a chimeric chalcone syntase gene into petunia results in reversible co-suppression of homologous genes in trans. *Plant Cell* 2: 279-289.
- Navarri-Izzo, F., Rasci, N. (1999): Plant response to water-deficit conditions. In: Perssarakli, M. (eds.): *Handbook of Plant and Crop Stress*. Marcel Dekker, Inc., New York-Basel, 231-270.
- Nemat Alla, M. M., Younis, M. M., El-shihaby, O. A., El-bastawisy, Z. M. (2001): Effect of kinetin on Photosynthetic activity and carbohydrate content in waterlogged or seawater treated *Vigna sinensis* and *Zea mays*. *J. Biol. Sci.* 1 (10): 918-924.
- Neue, H. U., Becker-Heidmann, P., Scharpenseel, H. W. (1990): Organic matter dynamics, soil properties, and cultural practices in rice lands and their relationship to methane production. In: Buouwman, A. F. (eds.): *Soils and Greenhouse Effect*. Chichester: John Wiley and Sons, 457-466.
- Noctor, G., Foyer, C. H. (1998): Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 49: 249-279.
- Olive, M. R., Peacock, W. J., Dennis, E. S. (1991): The anaerobic responsive element contains two GC-rich sequences essential for binding a nuclear protein and hypoxic activation of the maize *Adh 1* promoter. *Nucl. Acids Res.* 19: 7053-7060.
- Olson, D. C., Oetiker, J. H., Yang, S. F. (1995): Analysis of LE-ACS3, a 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid synthase gene expressed during flooding in the roots of tomato plants. *J. Biol. Chem.* 270: 14056-14061.
- Onwugbuta-Enyi, J. A. (2004): Water balance and proximate composition in cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walps) seedlings exposed to drought and flooding stress. *J. Appl. Sci. Environ. Manage.* 8: 55-57.
- Onwugbuta-Enyi, J. A., George T.S. (2000): Water balance and growth in flooded *Zea mays* L. seedlings. *J. Pedag. Dev.* 7: Nos. I. and II.
- Ortuno, A., Reynaldo, I., Fuster, M. D., Botia, J., Puig, D. G., Sabater, F., Lindon, A. G., Porrás, I., Del Rio, J. A. (1997): Citrus cultivars with high flavonoid contents in the fruits. *Sci. Hort.* 68: 231- 236.
- Overmyer, K., Tuominen, H., Kettunen, R., Betz, C., Langebartels, C., Sandermann, H. Jr., Kangasjarvi, J. (2000): Ozone-sensitive *Arabidopsis rcd1* mutant reveals opposite roles for ethylene and jasmonate signaling pathways in regulation superoxide-dependent cell death. *Plant Cell* 12: 1849-1862.
- Pal-Bhadra, M., Leibovitch, B. A., Gandhi, S. G., Rao, M., Bhandra, U., Bichler, J. A., Elgin, S. C. (2004): Heterochromatic silencing and HP1 localization in *Drosophila* are dependent on the RNAi machinery. *Science* 303: 669-672.
- Parolin, P. (2002): Seasonal changes of specific leaf mass and leaf size in trees of Amazonian floodplains: *Phytonomia* 42: 169-186.
- Paul, A-L., Ferl, R. J. (1997): The hypoxic response of three alcohol dehydrogenase genes: *In vivo* and *in vitro* footprinting of DNA/protein interactions describes multiple signalling connections. *Ann. Bot.* 79: 33-37.
- Paul, A. L., Ferl, R. J. (1991): *In vivo* footprinting reveals unique cis-elements and different modes of hypoxia induction in maize *Adh 1* and *Adh 2*. *Plant Cell* 3: 159-168.
- Peeters, A. J., Cox, M. C., Benschop, J. J., Vreeburg, R. A., Bou, J., Voesenek, L. A. (2002): Submergence research using *Rumex palustris* as a model; looking back and going forward. *J. Exp. Bot.* 53: 391-398.
- Peng, H. P., Chan, C. S., Shih, M. C., Yang, S. F. (2001): Signaling events in the hypoxic induction of alcohol dehydrogenase gene in *Arabidopsis*. *Plant. Physiol.* 126: 742-749.
- Perata, P., Alpi, A. (1991): Ethanol-induces injuries to carrot cells: the role of acetaldehyde. *Plant Physiol.* 95: 748-752.
- Perata, P., Pozueta-Romero, J., Akazawa, T., Yamaguchi, J. (1992): Effects of anoxia on starch breakdown

- in rice and wheat seeds. *Planta* 188: 611-618.
- Pezeshki, S. R. (2001): Wetland plant responses to soil flooding. *Environ. Exp. Bot.* 46: 299-312.
- Ponnamperuma, F. N. (1972): The chemistry of submerged soils. *Adv. Agron.* 59: 24-29.
- Ponnamperuma, F. N. (1984): Effects of flooding on soils. In: Kozlowski, T. T. (eds.): *Flooding and Plant Growth*. Academic Press, Orlando, 9-45.
- Price, A., Lucas, P. W., Lea, P. J. (1990): Age dependent damage and glutathione metabolism in ozone fumigated barley: a leaf section approach. *J. Exp. Bot.* 41: 1309-1317.
- Probert, M. E., Keating, B. A. (2000): What soil constraints should be included in crop and forest models. *Agric. Ecosys. Environ.* 82: 273-281.
- Pugnaire, F. I., Serrano, L., Pardos, J. (1999): Constraints by water stress on plant growth. In: Pessaraki, M. (eds.): *Handbook of Plant and Crop Stress*. Marcel Dekker, Inc., New York-Basel, 271-283.
- Rademacher, W. (2000): Growth retardants: effects on gibberellin biosynthesis and other metabolic pathways. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 51: 501-531.
- Rathore, T. R., Warsi, M. Z. K., Lothrop, J. E., Singh, N. N. (1996): Production of maize under excess soil moisture (waterlogging) conditions. 1st Asian Regional maize Workshop, 10-12 Feb 1996, P. A. U., Ludhiana, 56-63.
- Rathore, T. R., Warsi, M. Z. K., Singh, N. N., Vasal, S. K. (1998): Production of Maize under excess soil moisture (Waterlogging) conditions. 7th Asian Regional Maize Workshop PACARD, Laos Banos, Philipines, Feb 23-27, 23.
- Rathore, T. R., Warsi, M. Z. K., Zaidi, P. H., Singh, N. N. (1997): Waterlogging problem for maize production in Asian region. *TAMNET News Lett.* 4: 13-14.
- Reggiani, R., Cantu, C. A., Brambilla, I., Bertani, A. (1988): Accumulation and interconversion of amino acids in rice roots under anoxia. *Plant Cell Physiol.* 29: 981-987.
- Ricard, B., VanToai, T., Chourey, P., Saglio, P. (1998): Evidence for the critical role of sucrose synthase for anoxic tolerance of maize roots using a double mutant. *Plant Physiol.* 116: 1323-1331.
- Rich, P. R., Bonner, W. D. (1978): The sites of superoxide anion generation in higher plant mitochondria. *Arch. Biochem. Biophys.* 188(1): 206-213.
- Richter, H., Wagner, S. B. (1982): Water stress resistance of photosynthesis: some aspects of osmotic relations. In: Marcelle, R., Clijsters, H., Van Poucke M. (eds.): *Advances in Agricultural Biology. Proceedings of a conference held at the „Limburgs Universitair Centrum“ Diepenbeek, Belgium, 22 – 27 August.*
- Rijnders, J. K., Yang, Y.-Y., Takahashi, N., Barendse, G. W., Blom, C. W., Voeselek, L. A. (1997): Ethylene enhances gibberellin levels and petiole sensitivity in flooding tolerant *Rumex* in contrast to intolerant species. *Planta* 203: 20-23.
- Rintamäki, E., Salo, R., Aro, E.-M. (1994): Rapid turnover of the D1 reaction-centre protein of photosystem II as a protection mechanism against photoinhibition in a moss, *Ceratodon purpureus* (Hedw.) *Brid. Planta* 193: 520-529.
- Roberts, J. K. M., Hooks, M. A., Miaullis, A. P., Edwards, S., Webster, C. (1992): Contribution of malate and amino acid metabolism to cytoplasmic pH regulation in hypoxic maize root tips studied using nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Plant Physiol.* 98: 480-487.
- Roberts, J. K. M., Callis, J., Jardetzky, O., Wabolt, V., Freeling, M. (1984a): Cytoplasmic acidosis as a determinant of flooding intolerance in plants. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 81: 6029-6033.
- Roberts, J. K. M., Callis, J., Wemmer, D., Wabolt, V., Jardetzky, O. (1984b): Mechanism of cytoplasmic pH regulation in hypoxic maize root tips and its role in survival under anoxia. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 81: 3368-3372.
- Rockel, P., Strube, F., Rockel, A., Wildt, J., Kaiser, W. M. (2002): Regulation of nitric oxide (NO) production by plant nitrate reductase *in vivo* and *in vitro*. *J. Exp. Bot.* 53: 103-110.
- Rowland, L. J., Strommer, J. N. (1986): Anaerobic treatment of maize roots affects transcription of *Adh* and transcripts stability. *Mol. Cell Biol.* 6: 3368-3372.
- Roy, A. M., Carroll, M. L., Kass, D. H., Nguyen, S. V., Salem, A.-H., Batzer, M. A., Deininger, P. L. (1999) Recently integrated human Alu repeats: Finding needles in the haystack. *Genetica* 107: 149-161.
- Ruan, Y. L., Chourey, P. S., Delmer, D. P., Perez-Grau, L. (1997): The differential expression of sucrose synthase in relation to diverse patterns of carbon partitioning in developing cotton seed. *Plant Physiol.* 115: 375-385.
- Russell, D. A., Sachs, M. M. (1989): Differential expression and sequences analysis of maize glyceraldehyd-3-phosphate dehydrogenase gene family. *Plant Cell* 1: 793-803.
- Russell, D. A., Sachs, M. M. (1992): Protein synthesis in maize during anaerobic and heat stress. *Plant*

- Physiol.* 99: 615-620.
- Saab, I. N., Sachs, M. M. (1995): Complete cDNA and genomic sequence encoding a flooding-responsive gene from maize (*Zea mays* L.) homologous to xyloglucan endotransglycosylase. *Plant Physiol.* 108: 439-440.
- Saab, I. N., Sachs, M. M. (1996): A flooding-induced xyloglucan endotransglycosylase homolog in maize is responsive to ethylene and associated with aerenchyma. *Plant Physiol.* 112: 385-391.
- Sage, R. F., Sharkey, T. D., Seemann, J. R. (1988): The in vivo response of the ribulose-1,5-bisphosphate carboxalase activation state and the pool sizes of photosynthetic metabolites to elevated CO₂ in *Phaseolus vulgaris*. *Planta* 174: 407-416.
- Sage, R. F., Sharkey, T. D., Seemann, J. R. (1990): Regulation of ribulose-1,5-bisphosphate carboxalase activity in responses light intensity and CO₂ in the C₃ annuals *Chenopodium album* L. and *Phaseolus vulgaris*. *Plant Physiol.* 94: 1735-1742.
- Sagi, M., Fluhr, R. (2001): Superoxide production by plant homologues of the gp91phox NADPH oxidase. Modulation of activity by calcium and by tobacco mosaic virus infection. *Plant Physiol.* 126: 1281-1290.
- Saglio, P. H. (1985): Effects of path or sink anoxia on sugar translocation in roots of maize seedlings. *Plant Physiol.* 77: 285-290.
- Sachs, M. M. (1993): Molecular basis of metabolic adaptation to anoxia in maize and its possible utility for improving tolerance of crops to soil waterlogging. In: Jackson, M. B., Black, C. R. (eds.): *Interacting Stresses on Plants in a Changing Environment NATO ASI Series, vols. Vol-I 16.* Springer, Berlin, 375-393.
- Sachs, M. M., Freeling, M., Okimoto, R. (1980): The anaerobic proteins of maize. *Cell* 20: 761-767.
- Sachs, M. M., Subbaiah, C. C., Saab, I. N. (1996): Anaerobic gene expression and flooding tolerance in maize. *J. Exp. Bot.* 47: 1-15.
- Santakumari, M., Berkowitz, G. A. (1991): Chloroplast volume: cell water potential relationships and acclimation of photosynthesis to leaf water deficit. *Photosynth. Res.* 28: 9-20.
- Scandalias, J.G. (1990): Response of plant antioxidant defense genes to environmental stress. *Adv. Genet.* 28: 1-41.
- Sgherri, Ch. L. M., Pinzino, C., Navari-Izzo, F. (1993): Chemical changes and O₂⁻ production in thylakoid membranes under water stress. *Physiol. Plantarum* 87: 211 – 216.
- Shapiro, R. E., Taylor, G. S., Volk, G. W. (1956): Soil oxygen content and oxygen uptake by corn. *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.* 20: 193-197.
- Shelp, B. J., Bown, A. W., McLead, M. D. (1999): Metabolism and functions of gamma-aminobutyric acid. *Trends Plant. Sci.* 4: 446-451.
- Schnettger, B., Critchley, C., Santore, U. J., Graf, M., Krause, G. H. (1994): Relationship between photoinhibition of photosynthesis, D1 protein turnover and chloroplast structure: effects of protein synthesis inhibitors. *Plant Cell Environ.* 17: 55-64.
- Schramke, V., Allshire, R. (2003): Hairpin RNAs and retrotransposon LTRs effect RNAi and chromatin-based gene silencing. *Science* 301: 1069-1074.
- Schumaker, P. T. (2003): Current paradigms in cellular oxygen sensing. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2543: 57-71.
- Schweikert, C., Liskay, A., Schopfer, P. (2000): Scission of polysaccharides by peroxidase-generated hydroxyl radicals. *Phytochemistry* 53: 556-570.
- Schweikert, C., Liskay, A., Schopfer, P. (2002): Polysaccharide degradation by Fenton reaction or peroxidase-generated hydroxyl radicals in isolated plant cell walls. *Phytochemistry* 61: 31-35.
- Singer, T., Yordan, C., Martienssen, R. A. (2001): Robertson's Mutator transposons in *A. thaliana* are regulated by the chromatin-remodeling gene Decrease in DNA Methylation (DDM1). *Gene. Dev.* 15: 591-602.
- Singh, R., Ghildyal, B. P. (1980): Soil submergence effects on nutrient uptake, growth, and yield of five corn cultivars. *Agron. J.* 72: 737-741.
- Slowik, K., Labanauskas, C. K., Stolzy, L. H., Zentmyer, G. A. (1979): Influences of roots stocks, soil oxygen, and soil moisture on the uptake and translocation in young avocado plants. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 104: 172-175.
- Smerhurst, C. F., Shabala, S. (2003): Screening methods for waterlogging tolerance in lucerne: comparative analysis of waterlogging effects on chlorophyll fluorescence, photosynthesis, biomass and chlorophyll content. *Funct. Plant Biol.* 30 (3): 335-343.
- Smith, A. M., Ager, P. L. (1988): Effects of soil flooding on leaf gas exchange of seedling pecan trees. *Hort. Sci.* 23: 370-372.
- Smith, A. M., Ap Rees, T. (1979): Pathways of carbohydrate fermentation in the roots of marsh plants.

Planta 146: 237-334.

- Smith, I. K., Vierheller, T. L., Thorne, C. A. (1988): Assay of glutathione reductase in crude tissue homogenates using 5,5'-dithiobis (2-benzoic) acid. *Ann. Biochem.* 175: 408-413.
- Smith, O. S., Smith J. S. C., Bowen, S. L., Tenborg, R. A., Wall, S. J. (1990): Similarities among a group of elite maize inbreds as measured by pedigree, F1 yield, grain yield, heterosis, and RFLPs. *Theor. Appl. Genet.* 80: 833-840.
- Smith, R.D., Pregnal, A. M., Alberte, R.S. (1988): Effects of anaerobiosis on root metabolism of *Zostera marina* (eelgrass): implication for survival in reducing sediments. *Mar. Biol.* 98: 131 - 141
- Snedden, W. A., Arazi, T., Fromm, H., Shelp, B. J. (1996): Calcium/calmodulin regulation of soybean glutamate decarboxylase. *Plant Physiol.* 108: 543-549.
- Somrith, B. (1988): Problems associated with soil management issues in rice-wheat rotation areas. In: Klatt, A. R. (ed.): Wheat Production Constraints in Tropical Environments. Proceedings of the international conference. Mexico, D. F.: CIMMYT, 63-70.
- Sonoike, K. (1998): Various aspects of inhibition of photosynthesis under light/chilling stress: "Photoinhibition at chilling temperatures" versus "Chilling damage in the light". *J. Plant. Res.* 111: 121-129.
- Soppe, W. J., Jacobsen, S. E., Alonso-Blanco, C., Jackson, J. P., Kakutani, T., Koornneef, M., Peeters, A. J. (2000): The late flowering phenotype of *fwa* mutants is caused by gain-of-function epigenetic alleles of a homeodomain gene. *Mol. Cell Biol.* 6: 791-802.
- Soukup, A., Votrubová, O., Čížková, H. (1999): Internal segmentation of rhizomes of *Pragmites australis*: protection of the internal aeration system against being flooded. *New Phytol.* 145: 71-75.
- Soukup, A., Votrubová, O., Čížková, H. (2002): Development of anatomical structure of roots of *Pragmites australis*. *New Phytol.* 153: 277-287.
- Sparrow, L. A., Uren, N. C. (1987): The role of manganese toxicity in crop yellowing on seasonally waterlogged and strongly acidic soils in north-eastern Victoria. *Aust. J. Exp. Agric.* 27: 303-307.
- Springer, B., Werr, W., Starlinger, P., Bennett, C. D., Zokolica, M., Freeling, M. (1986): The shrunken gene on chromosome 9 of *Zea mays* L. is expressed in various plant tissues and encodes an anaerobic protein. *Mol. Gen. Genet.* 205: 461-468.
- Stöhr, C., Stube, C., Marx, G., Ullrich, W. R., Rockel, P. (2001): A plasmamembrane bound enzyme of tobacco roots catalyses the formation of nitric oxide from nitrite. *Planta* 212: 835-841.
- Stone, J. M., Trotochaud, A. E., Walker, J. C., Clark, S. E. (1998): Control of meristem development by CLAVATA1 receptor kinase and kinase-associated protein phosphatase interactions. *Plant Physiol.* 117: 1217-1235.
- Su, P. H., Lin, C. H. (1996): Metabolic responses of luffa roots to long term flooding. *J. Plant Physiol.* 148: 735-740.
- Subbaiah, C. C., Sachs, M. M. (2001): Altered patterns of sucrose synthase phosphorylation and localization precede callose induction and root tip death in anoxic maize seedlings. *Plant Physiol.* 125: 585-594.
- Subbaiah, C. C., Sachs, M. M. (2003): Molecular and cellular adaptations of maize to flooding stress. *Ann. Bot.* 91:119-127.
- Subbaiah, C. C., Bush, D. S., Sachs, M. M. (1994): Elevation of cytosolic calcium precedes anoxia gene expression in maize suspension-cultured cells. *Plant Cell* 6: 1747-1762.
- Subbaiah, Ch. C., Sachs, M. M. (2003): Molecular and cellular adaptations of maize to flooding stress. *Ann. Bot.* 90: 119-127.
- Subedi, K. (1992): Wheat sterility in Nepal: In: Mann, C. E., Rerkasem, B. (eds.): Boron Deficiency in Wheat. Mexico, D. F., CIMMYT, 57-64.
- Sudakov, A. V., Petrushenko, S. E. (1982): The influence of soil hardening on the root system growth and shoot mass accumulation in maize. *Nauchno-tekh. Bull. agron. Fiz.* 47: 10-15.
- Synková, H., Wilhelmová, N., Holá, D., Heisel, D., Šesták, Z. (1997): Comparison of chlorophyll fluorescence kinetics and photochemical activities of isolated chloroplasts in genetic analysis of *Lycopersicon esculentum* Mill. hybrids. *Photosynthetica* 34: 427-438.
- Tadege, M., Brandle, R., Kuhlemeier, C. (1999): Anoxia tolerance in tobacco roots: effects of overexpression of pyruvate decarboxylase. *Plant J.* 14: 327-335.
- Taeb, M., Koebner, R. M. D., Forster, B. P. (1993): Genetic variation for waterlogging tolerance in *Triticum* and the chromosomal location of genes conferring waterlogging tolerance in *Thinopyrum elongatum*. *Genome* 36: 825-830.
- Talbot, R. J., Etherington, J. R., Bryant, J. A. (1987): Comparative studies of plant growth and distribution in relation to waterlogging. XII. Growth, photosynthetic capacity and metal ion uptake in *Salix*

- caprea* and *S. cinerea* ssp. *Oleifolia*. *New Phytol.* 105: 563-574.
- Tessema, T., Belay, G. A Mikitu, D. (1991): Evaluation of durum wheat genotypes for naturally waterlogged highland vertisols of Ethiopia. *In: Tanner, D. G., Mwangi, W. (eds.): The Seventh Wheat Workshop for Eastern, Central and Southern Africa.* Nakuru, Kenya, Sept. 16-19, 96-102.
- Thompson, J. A., Schweitzer, L. E., Nelson, R. L. (1996): Association of specific leaf weight, an estimate of chlorofyll, and chlorophyll concentration with apparent photosynthesis in soybean. *Photosynth. Res.* 49: 1-10.
- Tijsterman, M., Ketting, R. F., Plasterk, R. H. (2002): The genetics of RNA targeting and DNA methylation in RNA silencing requires transcription of the target gene and a putative RNA-dependent RNA polymerase. *Plant Cell* 14: 857-867.
- Trought, M. C. T., Drew, M. C. (1980): The development of waterlogging damage in wheat seedlings (*Triticum aestivum* L.). I. Shoot and root growth in relation to changes in concentration of dissolved gases and solutes in the soil solutions. *Plant Soil* 54: 77-94.
- van Ginkel, M., Rajaram, S. A Thijssen, M. (1992): Waterlogging in wheat: Germplasm evaluation and methosology development. *In: Tanner, D. G. , Mwangi, W. (eds.): The Seventh Wheat Workshop for Eastern, Central and Southern Africa.* Nakuru, Kenya, Sep. 16-19, 115-124.
- Vanlerberghe, C. C., Feil, R., Turpin, D. H. (1990): Anaerobic metabolism in the N-limited green alga *Selenastrum minutum*. I. Regulation of carbon metabolism and succinate as a fermentation product. *Plant Physiol.* 94: 1116-1123.
- VanToai, T. T., Bolles, C. S. (1991): Postanoxic injury in soybean (*Glycine max*) seedlings. *Plant Physiol.* 97: 588-592.
- Vartapetain, B. B., Andreeva, I. N., Senerezova, I. P., Polyakova, L. I., Maslova, I. P., Dolgikh, Y. I., Stepanova, A. Y (2003): Functional electron microscopy in studies of plant response and adaptation to anaerobic stress. *Ann. Bot.* 91. 155-172.
- Vartapetain, B. B. (1978): Introduction - life without oxygen: *In: Hook, D. D., Crawford, R. M. M. (eds.): Plant Life in Anaerobic Environments.* Ann. Arbor. Science, 1-12.
- Vartapetain, B. B., Agapova, L. P., Averianov, A. A., Vselovsky, V. A. (1974): New approach to study of oxygen transport in plants using chemiluminiscent method. *Nature* 249: 269.
- Vartapetain, B. B., Andreeva, I., Maslova, I. P., Davtain, N. G. (1970): The oxygen and ultrastructure of root cells. *Agrochimica* 15: 1-19.
- Verdel, A., Jia, S., Gerber, S., Sugiyama, T., Gygi, S., Grewal, S. I., Mozaed, D. (2004): RNAi-mediated targeting of heterochromatin by the RITS complex. *Science* 303: 672-676.
- Voesenek, L. A., Benschop, J. J., Bou, J, Cox, M. C., Groeneveld H. W., Millenaar, F. F., Vreebung, R. A., Peeters, A. J. (2003): Interactions between plant hormones regulate submergence-induced shoot elongation in the flooding-tolerant dicot *Rumex palustris*. *Ann. Bot.* 91: 205-211.
- Volpe, T. A., Kidner, C., Hall, I. M., Teng, G., Grewal, S. I., Martienssen, R. A. (2002): Regulation of heterochromatic silencing and histone H3 lysine-9 methylation by RNAi. *Science* 279: 1833-1837.
- von Caemmerer, S., Edmondson, D. L. (1986): The relationship between steady-state gas exchange, in vivo RuP2 carboxylase activity and some carbon reduction cycle intermediates in *Raphanus sarivus*. *Aust. J. Plant Physiol.* 13: 669-688.
- Votrubová, O., Hlavatá, Z., Kozák, J., Sladká, K., Votrubová, M. (1990): The influence of hypoxia on maize growth and morphology during early ontogenetic phases. *In: Fyziologické Aspekty Výživy Rostlin.* Agricultural University, Brno, 75-79.
- Votrubová, O., Kadeřábek, J., Albrechtová, J. (1992): Distribution of stomata on the second leaf of *Zea mays* following root hypoxia. *Biol. Plant.* 34 (1-2): 115-119.
- Vu, C. V., Yelenovskí, G. (1991): Photosynthetic responses of citrus trees to soil flooding. *Physiol. Plantarum* 81: 7-19.
- Walker, J. C., Howard, E.A., Dennis, E. S., Peacock, W. J. (1987): DNA sequences required for anaerobic expression of the maize alcohol dehydrogenase-1 gene. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 84: 6624-6628.
- Waly, E. A., Johnston, T. D. (1974): Genetical investigation into photosynthetic rate in *Brassica*. 2. A diallel cross of inbred lines of marrow-stem kale (*B. oleracea* L. var. *acephala* DC.). *Euphytica* 23: 563-568.
- Wample, R. L., Davis, R. W. (1983): Effects of flooding on starch accumulation in chloroplasts of sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Plant Physiol.* 73: 195-198.
- Wassernegger, M., Heimes, S., Riedel, L., Sanger, H. L. (1994): RNA-directed de novo methylation of genomic sequences in plants. *Cell* 76: 567-576.
- Watanabe, I., Manguiat, I., Masarifia, G. B. (1996): Nitrogen mineralization in tropical wetland rice soils. II. Application of exponential methods. *Soil. Sci. Plant Nutr.* 42: 239.

- Waters, I., Morrel, S., Greenway, H., Colmer, T. D. (1991): Effects of anoxia on wheat seedlings. II. Effects of O₂ supply prior to anoxia on tolerance to anoxia, alcoholic fermentation and sugars. *J. Exp. Bot.* 42, 1437-1447.
- Webster, C., Kim, C-Y., Roberts, J. K. M. (1991): Elongation and termination reactions of proteins synthesis on maize root tip polyribosomes studies in a homolobous cell-free system. *Plant Physiol.* 96: 418-425.
- West, D. W., Taylor, J. A. (1980): The Response of *Phaseolus vulgaris* L. to root zone anaerobiosis, waterlogging and high sodium chloride. *Ann. Bot. (Lond)* 46: 51-56.
- Wise, R. R. (1995): Chilling-enhanced photooxidation: The production, action and study of reactive oxygen species produced during chilling in the light. *Photosynth. Res.* 45: 79-97.
- Wolf, J. (1996): User's Manual for the Software Package CBE, Version 4.0. (An universal program for estimating crossbreeding effects). VÚŽV Praha, Uhřetěves.
- Yamashita, S., Takano-Shimizu, T., Kitamura, K., Mikami, T., Kishima, Y. (1999): Resistance to gap repair of the transposons Tam3 in *Antirrhinum majus*: a role of the end regions. *Genetics* 153: 1899-1908.
- Yordanova, R. Y., Christov, N. K., Popova, L. P. (2003): Antioxidative enzymes in barley plants subjected to soil flooding. *Environ. Exp. Bot.* 51: 93-101.
- Zaidi, P. H., Singh, N. N. (2001): Effects of waterlogging on growth, biochemical composition and reproduction on maize. *J. Plant Biol.* 28: 61-70.
- Zaidi, P. H., Rafique, S., Singh, N. N. (2003): Response of maize (*Zea mays* L.) genotypes to excess soil moisture stress: morpho-physiological effects and basis of tolerance. *Eur. J. Agron.* 19: 383-399.
- Zaidi, P. H., Rafique, S., Singh, N. N., Srinivasan, G. (2002): Excess moisture tolerance in maize - progress and challenges. Proceeding- 8th Asian Regional Maize Workshop, 5-9 August, Bangkok, Thailand, 26-48.
- Zang, J., Davies, W. J. (1987): ABA in roots and leaves of flooded pea plants. *J. Exp. Bot.* 38: 649-659.
- Zhou, M. X., Hongbin, L., Mendham, N., Salter, S. (2004): Inheritance of waterlogging tolerance of barley (*Hordeum vulgare* L.). Proceedings of the 4th International Crop Science Congress Brisbane, Australia, 26 Sep-1 Oct.