

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra botaniky a fyziologie rostlin



Vliv krátkodobého vodního deficitu na obsah prolinu a relativní výtok  
elektrolytu u juvenilních rostlin kukuřice (*Zea mays* L.)

Bakalářská práce

Autor práce: David Chlumský

Vedoucí práce: doc. Ing. František Hnilička Ph.D.

2015

## **Prohlášení**

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci na téma: Vliv krátkodobého vodního deficitu na obsah prolinu a relativní výtok elektrolytu u juvenilních rostlin kukuřice (*Zea mays* L.) vypracoval samostatně a použil jen pramenů, které cituji a uvádím v předložené bibliografii.

V Praze dne: 14. 4. 2015

## **Poděkování**

Chtěl bych poděkovat svému vedoucímu doc. Ing. Františku Hniličkovi Ph.D. za odborné vedení, pomoc při získávání údajů a za cenné rady při zpracování této bakalářské práce.

## Souhrn

Celosvětově je při pěstování rostlin jedním z největších problémů nedostatek vody. Reakce na vodní deficit se u různých druhů rostlin velmi liší. Mezi plodiny, které velmi citlivě reagují na nedostatek vody, patří i kukuřice setá (*Zea mays* L.), což byl hlavní důvod, proč byla pro tuto práci vybrána právě tato rostlina.

Vodní deficit způsobuje u rostlin mnoho nejen fyziologických změn. Příkladem vlivu sucha může být poškození buněčných membrán či produkce osmoticky aktivních látek, mezi které patří i aminokyselina prolin. Z toho vyplývají cíle této práce, a to stanovit míru poškození buněčných membrán na základě relativního výtoku elektrolytů a vyhodnotit obsah prolinu ve vztahu k působení vodního deficitu na vybrané genotypy kukuřice. K pokusu byly vybrány čtyři odrůdy kukuřice: Ambrosini, Ricardinio, Lars a LG 3252, které byly pěstovány v částečně řízených podmínkách skleníku KBFR FAPPZ. Rostliny byly vysety metodou postupného výsevu, poté pravidelně zavlažovány a ve fázi šesti pravých listů rozděleny do čtyř pokusných variant. První varianta byla kontrolní (KK), zavlažovaná po celou dobu pokusu. Další tři varianty byly stresované vodním deficitem, a to; (SK) 10 dnů stres a poté zavlažována; (SS) 10 dnů nezavlažována, 4 dny zálivka, opětovně 10 – ti denní navození vodního deficitu, 4 dny zálivka; (KS) 10 dnů zálivka a poté až do konce pokusu navozený stres. U těchto rostlin bylo následně provedeno 15 odběrů ve dvoudenních intervalech za účelem měření vybraných charakteristik.

Z měření vyplývá, že nejvyšší poškození buněčných membrán a nejvyšší zvýšení obsahu prolinu vlivem vodního deficitu bylo u obou charakteristik zjištěno u varianty SS, naopak nejnižší u varianty KK. Z výsledků je dále patrné, že nejvyšší poškození buněčných membrán vlivem vodního deficitu bylo u genotypu LG 3252, naopak odrůda Ambrosini byla v tomto směru nejvíce tolerantní. Zvýšením obsahu prolinu reagovaly vlivem vodního deficitu nejcitlivěji odrůdy Ricardinio a Lars. Nejnižší hodnoty obsahu této aminokyseliny byly zjištěny u odrůdy Ambrosini. Z těchto výsledků vyplývá, že genotyp má u juvenilních rostlin kukuřice seté během působení vodního deficitu významný vliv.

**Klíčová slova:** kukuřice, vodní deficit, genotyp, buněčné membrány, prolin

## Summary

A drought is worldwide one of the biggest problems during a crops cultivation. The response to the waterdeficit of various plant species is very different. Among the crops, which are very sensitive to a water deficiency includes maize(*ZeamaysL.*). That was the main reason why was this plant choosen for this work.

A water deficiency causes to plants many not only physiological changes. An example of the drought influence may be damage of cell membranes or production of osmolytes, which includes amino acid proline. This leads to the aims of this work: to determine the level of the damage of the cell membranes based on the elektrolyte leakage and to evaluate the content of the proline in relation to a waterdeficit on the selected maize genotypes. For this experiment were choosen four maize genotypes: Ambrosini, Ricardinio, Lars and LG 3252, which were cultivated in partially controlled conditions in the greenhouse KBFR FAPPZ. Plants were sown by the method of the gradual sowing, then regularly irrigated and in the six-leaf stage separated into four experimental variants. The first variant was controled (KK), irrigated during the whole experiment. Three other variants were stressed by a lack of water: (SK) 10 days stressed and then irrigated; (SS) unirrigated 10 days, 4 days irrigated, 10- days induction of a water deficit and 4 days irrigated again; (KS) 10 days irrigated and then until the end of the experiment induced stress. To these plants were subsequently made 15 withdrawals in two- days intervals for measurement of selected characteristics.

The measurements show that the maximum damage of the cell membranes and the highest increase of the proline due to a water deficit was in both characteristics found in the SS variant, while the lowest in the variant KK. The results also show that the highest damage of the cell membranes due to a water deficit was found in the genotype LG3252, on the contrary the variety Ambrosini was in this direction the most tolerant. The varieties Ricardinio and Lars responded the most sensitively by increased content of the proline due to a water deficit. The lowest value of the content of this amino acid were found in the variety Ambrosini. These results show, that the genotype of juvenil plants of maize has during a drought a significant influence.

**Keywords:** maize, drought, genotype, cell membranes, proline

## Obsah

1. Úvod.....	8
2. Literární přehled	
2.1 Botanická charakteristika kukuřice seté ( <i>Zea mays</i> L.)	
2.1.1 Popis a zařazení do botanického systému.....	9
2.1.2 Původ a předci kukuřice.....	10
2.2 Historie pěstování kukuřice.....	11
2.3 Nároky na prostředí.....	13
2.4 Pěstování kukuřice.....	14
2.5 Šlechtění kukuřice .....	15
2.6 Obecná charakteristika stresu.....	16
2.7 Vodní deficit.....	19
2.8 Vliv vodního deficitu na rostliny.....	20
2.9 Obranné reakce rostlin vůči suchu.....	23
3. Cíle .....	26
4. Hypotézy.....	26
5. Materiál a metody	
5.1 Pokusný materiál a jeho charakteristika .....	27
5.2 Založení pokusu.....	28
5.3 Působení vodního deficitu.....	28
5.4 Metody měření sledovaných charakteristik	
5.4.1. Stanovení relativního výtoku elektrolytů .....	30
5.4.2. Stanovení obsahu prolinu.....	30
6. Výsledky	
6.1 Relativní výtok elektrolytů.....	31
6.2 Obsah prolinu.....	36
7. Diskuze	
7.1 Relativní výtok elektrolytů.....	42
7.2 Obsah prolinu.....	43
8. Závěr.....	44
9. Seznam literatury.....	45
10. Přílohy.....	51

## Seznam obrázků a tabulek

Obr. 1 Teosinta.....	11
Obr. 2 <i>Tripsacum dactyloides</i> L. ....	11
Obr. 3 Nejvýznamnější světový pěstitele kukuřice dle FAO (2015).....	12
Obr. 4 Průběh stresové reakce.....	17
Obr. 5 Rozdělení stresových faktorů.....	18
Obr. 6 Klima ČR podle LDF .....	20
Obr. 7 Schéma poškození rostliny suchem.....	21
Obr. 8 Poškození kukuřice vlivem sucha.....	23
Tab. 1 Vývoj osevních ploch a výnosů silážní kukuřice a kukuřice sklízené na zeleno na území ČR od roku 2006.....	13

## 1. Úvod

Nedostatek vláhy je nejvíc limitujícím faktorem rostlinné produkce. Celosvětově způsobuje sucho obrovské škody na výnosech zemědělských plodin. Je to zapříčiněno tím, že téměř třetina zemského povrchu je aridní nebo semiaridní, což znamená, že výpar převažuje nad množstvím srážek. I na území ČR je vodním deficitem ohroženo několik desítek tisíc hektarů zemědělské půdy. Jedná se zejména o jižní Moravu, Polabí a Žatecko.

Vodní stres je patrně nejrozšířenějším abiotickým stresorem z globálního pohledu, nejedná se pouze o dlouhodobý nedostatek vody na daném území, ale i krátkodobý deficit vody (přísušek) či nerovnoměrně rozdělené srážky v rámci ontogenetického vývoje rostlin.

Z těchto důvodů se u rostlin vyvinuly různé strategie, které jim pomáhají období nedostatku vláhy přežít. Mezi tyto strategie patří i produkce osmoticky aktivních látek, jako jsou prolin, glycinebetain, rozpustné cukry, dehydriny a jiné látky. Na odolnost rostlin vůči suchu lze cíleně také šlechtit. Této problematice je v současnosti věnována velká pozornost.

Každý rostlinný druh reaguje na nedostatek vody odlišným způsobem. U některých rostlin můžeme sledovat vyšší odolnost vůči suchu, u jiných druhů naopak nižší míru tolerance vůči tomuto velmi častému stresovému faktoru. Mezi rostliny, které velmi citlivě reagují na vodní deficit, patří také kukuřice setá.

Jedná se o plodinu, která patří v celosvětovém měřítku mezi 4 nejvýznamnější plodiny a v rámci ČR se pěstuje na cca 200 000 ha. Nepěstuje se pouze jako krmivo pro hospodářská zvířata, ale je to i významná potravinářská plodina. Její využití je však také ve farmaceutickém průmyslu, při výrobě bioplastů a v poslední době se jedná o významnou energetickou plodinu pro výrobu bioplynu.

Z těchto důvodů se předložená bakalářská práce zabývá působením vodního deficitu na juvenilní rostliny kukuřice, konkrétně mírou odolnosti či citlivosti genotypů rostlin, která je sledována na základě tvorby aminokyseliny prolin a míry poškození membrán stanovující se na základě relativního výtoku elektrolytů.



## 2.1 Botanická charakteristika kukuřice seté (*Zea mays* L.)

### 2.1.1 Popis a zařazení do botanického systému

Dostál (1989) uvádí, že kukuřice je mohutná rostlina, která dorůstá délky 150-400 cm. V botanickém systému je kukuřice (*Zea mays* L.) zařazena jako jednoletá rostlina, jednodomá, různopohlavní, typu rostlin diklinických se samčími a samičimi květy, uspořádanými do oddělených květenství, a to laty a palice. Kukuřice je cizosprašná, patří do podtřídy jednoděložných (*Monocotyledoae*), řádu lipnicokvětých (*Poales*), čeledi lipnicovitých (*Poaceae*), skupiny kukuřicovitých (*Maydeae*). Většina skupin se dělí na nižší botanické jednotky podle barvy nebo tvaru zrna a podle barvy pluch na větenech palice (Zimolka et al., 2008).

V rámci druhu kukuřici setou dělíme podle Zimolky et al. (2008) na osm poddruhů. Mezi nejvýznamnější patří kukuřice tvrdá, koňský zub, pukancová a cukrová, dále existuje kukuřice polozubovitá, škrobnatá, vosková a plevnatá.

Podle Šuka et al. (1998) lze rozdělit kukuřici na:

- Kukuřici obecnou neboli tvrdou (*Zea mays* convar. *indurata* Sturt.), která má okrouhlé, tvrdé, lesklé zrno. Moučnatý endosperm je uzavřen sklovitým endospermem. Je rozšířená všude, kde se kukuřice pěstuje. Vyznačuje se raností, ale dává nižší výnos než kukuřice koňský zub.
- Kukuřici koňský zub (*Zea mays* convar. *indentata* Sturt.). Zrno má klínovitý tvar, boky jsou sklovité. Moučnatý endosperm střední části proniká až na vršek zrna. V době dozrávání zasychá více než sklovitý endosperm a vytváří tak na vrcholu charakteristickou jamku, takže zrno má tvar zubu. Je to nejdůležitější hospodářský poddruh kukuřice, většinou pozdější a výnosnější.
- Kukuřici pukancovou (*Zea mays* convar. *microsperma* Körn.). Zrno je velmi drobné, endosperm sklovitý a tvrdý. Většinou obsahuje hodně bílkovin a má velkou výživnou hodnotu. Používá se na výrobu pukanců, vloček a krup.
- Kukuřici cukrovou (*Zea mays* convar. *saccharata* Sturt.). Je charakteristická zvrásněným sklovitým endospermem, který je složen hlavně z vodorozpustných glycidů. Používá se jako zelenina na vaření a konzervování.
- Kukuřici polozubovitou (*Zea mas* convar. *aorista* Grebensc.) Tato kukuřice tvoří přechod mezi kukuřicí tvrdou a kukuřicí koňský zub, vznikla jejich křížením. Jamka na povrchu zrna je méně výrazná než u koňského zubu a endosperm je naopak sklovitější.

- Kukuřici škrobnatou (*Zea mays* convar. *amylacea* Sturt.) Uvedený poddruh se vyznačuje moučnatým endospermem zrna. Povrch zrna je matný. Má malý obsah bílkovin a vysoký obsah škrobu. Je vhodná pro škrobářenský a lihovarnický průmysl. Považuje se za nejstarší skupinu kulturní kukuřice.
- Kukuřici voskovou (*Zea mays* convar. *ceratina* Grebenc.) Tento poddruh se podobá kukuřici obecné, endosperm však není průhledný a povrch zrna je matný. Pěstuje se pro technické účely.
- Kukuřici plevnatou (*Zea mays* convar. *tunicata* Sturt.) Tato kukuřice má zrno uzavřené v plevách. Jedná se o primitivní kulturní formu, která nemá hospodářský význam.

### 2.1.2 Původ a předci kukuřice

Skutečný původ této rostliny zůstává obestřen tajemstvím a pro botaniky je skutečnou záhadou. Kukuřice je totiž rostlinou, u které se nepodařilo objevit planou formu (Strnadová et al., 2012). U kukuřice je tedy planá forma známá jen z předhistorických nálezů a zdá se být velmi málo pravděpodobné, že by dnes vůbec existovala (Schwanitz, 1969). Dlouho převládal názor, že vznikla z plané, dávno vyhynulé prakukuřice s rozpadavým větvenem a s obilkami uzavřenými v pluchách, která rostla na výše položených planinách Jižní a Střední Ameriky. Po zavedení této primitivní kukuřice do kultury se prokřížila ve Střední Americe s rostlinou *Tripsacum dactyloides* L. (obr. 1). Z tohoto křížení vznikla teosinta (*Euchlaena mexicana* Schrad.) Rostlina teosinty, je uvedena na obr. 2, se opět mnohokrát spontánně křížila s primitivní kukuřicí pěstovanou indiánskými obyvateli Střední Ameriky. Indiáni si pro další pěstování vybírali ty rostliny, které produkovaly největší palice a odolávaly drsnému klimatu. Z těchto rostlin se vlivem prostředí a výběrem dávných pěstitelů stala kukuřice, která dosáhla své dnešní podoby (Strnadová et al., 2012).



Obr. 1 Teosinta (The Perennial Agriculturalist, 2013) Obr. 2 *Tripsacum dactyloides* L.  
(wordpress.com, 2012)

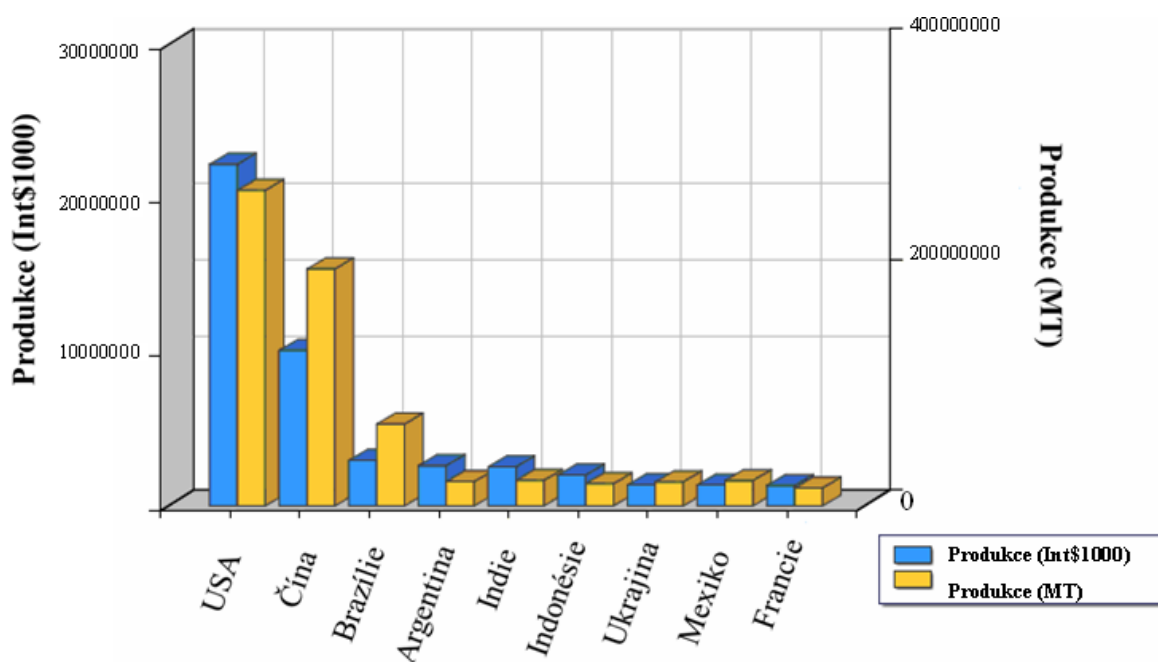
## 2.2 Historie a současnost pěstování kukuřice

Kukuřice je významnou plodinou s velice dlouhou, bohatou a zajímavou historií (Strnadová et al., 2012). Historie jejího pěstování spadá přibližně do období kolem roku 7000 př. n. l. (Bush et al. 1989). Podle těchto autorů se našly mikrofosílie s obsahem kukuřičného škrobu a pylu na kamenných nástrojích z oblasti centrálního Mexika. V hrobkách Severní, Střední a Jižní Ameriky se uchovaly i celé palice a zrna kukuřice. Aztékové a jiné kmeny dávaly přednost pěstování kukuřice před ostatní činností a vypěstovanou kukuřici používali k nejrozmanitějším účelům. Již tehdy měli speciální odrůdy pukancové nebo stolní ke konzumaci v mléčné zralosti. Kukuřice byla v té době pro indiánské kmeny posvátnou rostlinou (Šuk et al., 1998).

Podle těchto autorů jsou na rozdíl od ostatních známých obilnin původní domovinou kukuřice tropické a subtropické oblasti Jižní a Střední Ameriky. Je to prastará kulturní plodina, která byla již dávno v minulosti známa americkým indiánským kmenům, jako byli Aztékové, Mayové, Inkové. Do Evropy, přesněji do Španělska se kukuřice dostala v roce 1493 spolu s prvními zámořskými objevy Kryštofa Kolumba (Rebourg, 2002). Na Moravu a do Čech se přes Slovensko dostala z Maďarska v polovině 18. století (Syngenta. com, 2012).

Díky svému obsahu látek a širokému spektru využití patří kukuřice mezi čtyři nejdůležitější potraviny, hned vedle pšenice, rýže a brambor (Strnadová et al., 2012). Ve

srovnání s rýží a pšenicí je kukuřice produktivnější a poskytuje předpoklady pro další stupňování výnosů. V našich podmínkách využíváme její genetický potenciál pouze z 50 až 60 % (Šuk et al., 1998). Kukuřice se v současnosti pěstuje prakticky ve všech zemích světa. Nejvíce jí je vyprodukováno v USA, a to více než 60 % světové produkce. Mezi další významné pěstitele kukuřice patří Brazílie, Čína, Argentina, Indie, Indonésie a Mexiko (viz obr. 3). Hlavní evropské pěstitele kukuřice jsou Ukrajina a Francie (Wayne Smith et al., 2004).



Obr. 3 Nejvýznamnější světový pěstitele kukuřice dle FAO (2015)

Kukuřice je plodinou, která se pěstuje i přes její tropický původ v rozmanitých klimatických podmínkách, a to díky používání hybridního osiva (Vrzal et al., 1995).

U nás se pěstování kukuřice více rozšířilo až ve 20. století, zvláště se zaváděním již zmíněného hybridního osiva. Přitom dosud převažují dva užitkové směry: kukuřice na zrno a kukuřice silážní (Zimolka et al., 2008). Význam pěstování silážní kukuřice a kukuřice sklizené na zeleno v posledních letech velmi stoupá, zejména kvůli využívání kukuřice jako energetické plodiny, jak můžeme sledovat v tab. 1 (czso.cz, 2015).

Kromě těchto hlavních užitkových směrů se u nás rozvíjejí další, alternativní formy zpracování produkce kukuřice. Jedná se zvláště o využití zrna v potravinářském průmyslu na výrobu škrobu, izoglukózy, tuku, olejů, nových mlýnských a pekárenských produktů. Pro průmyslové zpracování slouží kukuřice jako surovina pro výrobu stavebních hmot, papíru a lepenky, lepidel, bioplastů. Dále v chemickém, kosmetickém a farmaceutickém průmyslu,

nejnověji pro výrobu obnovitelných zdrojů energie, jako jsou bioetanol, bioplyn a biomasa (Zimolka et al., 2008).

rok	osevní plocha (ha)	výnos (t/ha)
2006	190 600	32,66
2007	180 481	33,66
2008	179 777	34,66
2009	179 663	35,66
2010	181 939	36,66
2011	197 579	37,66
2012	214 876	38,66
2013	218 786	39,66

Tab. 1 Vývoj osevních ploch a výnosů silážní kukuřice a kukuřice sklizené na zeleno na území ČR od roku 2006 (czso.cz, 2015)

### 2.3 Nároky na prostředí

Kukuřice je rostlina teplomilná, patří mezi rostliny C<sub>4</sub>, které jsou schopny lépe odolávat vodnímu stresu a mají lepší využití vody než rostliny C<sub>3</sub> (Harsch et Deepti, 2005) a také mají rychlejší transport asimilátů z listů (Rowan, 2003).

K průběhu celého životního cyklu potřebuje od 1700 do 3120 °C teplotní sumy. U velmi raných hybridů kukuřice se teplotní suma snižuje a tím se rozšiřuje uplatnění i v chladnějších oblastech. Teplotní sumou rozumíme součet průměrných denních teplot za vegetační období. Kukuřice má značné nároky nejen na teplotu půdy a vzduchu, ale je citlivá i na kolísání teplot. Pozdní jarní mrazíky stejně jako rychlý pokles teplot na podzim způsobují zastavení růstu a odumírání rostlin. Za kritickou teplotu se považuje -1 až -2 °C po dobu déle než 3-4 hodiny (Šuk et al., 1998).

Skládanka (2006) uvádí, že při vlhkosti půdy 57 % je pro klíčení nutná teplota 30 °C, ale již při vlhkosti 75 % klíčí kukuřice již při teplotě 12 °C. Podle tohoto autora je minimální teplota klíčení kukuřice 6 °C. Optimální teplota pro první fáze růstu je 20 °C a pro rozvoj kořenového systému 24 °C. Nedosahují-li teploty během vegetace 16 °C, středně rané a pozdní hybridy často nezakvétají. Odnožovací schopnost je u kukuřice velmi slabá a u některých hybridů se vůbec nevyskytuje. Za 50-60 dnů po výsevu začíná období metání lat a mléčné zralosti. V této době vyžaduje kukuřice největší množství vláhy. Lata začíná kvést od středu a uvolňování pylu trvá 4-5 dní (za méně příznivých podmínek až 8 dní). Schopnost opylování blizny je až 25 dnů, ale životnost pylu je pouze několik dní. Doba opylování je závislá na teplotě a vlhkosti. Vyšší teploty a nižší vzdušná vlhkost urychlují

odumírání pylových zrn. Počátek kvetení palic bývá opožděn za latou o 1-5 dní. Konec kvetení laty a počátek kvetení palic se překrývá. Díky asimilačnímu aparátu je kukuřice schopna růst téměř až do plné zralosti (Skládanka, 2006).

Na tvorbu 1 kg sušiny spotřebuje přibližně 256 litrů vody. Šuk et al. (1998) uvádí, že podle půdních podmínek je kukuřice schopna čerpat vláhu až z hloubky 3 m, ale zpravidla z hloubky 1,5 m. Při vyšší hladině podzemní vody vytváří kukuřice převážnou část kořenového systému v povrchové vrstvě ornice.

Kukuřice má podle Skládanky (2006) nároky na určitou intenzitu osvětlení, ale také na délku osvětlení v dané vývojové fázi. Kratší světelný den urychluje kvetení, ale zmenšuje počet listů a výšku rostlin. Pro využití dopadajícího světla je důležité rozmístění rostlin v porostu (hustší porost znamená větší rostliny). Pozdní výsev se odráží na špatném nasazení palic.

#### **2.4 Pěstování kukuřice**

Co se týká zařazení v osevním postupu, není kukuřice plodinou, která by vyžadovala speciální předplodinu. Nejvhodnější předplodinou kukuřice je jetelovina či víceletá pícnina. Výbornou předplodinou je také animálně hnojená okopanina. Takové zařazení však bývá možné jen zřídka, protože jsme zpravidla nuceni zařadit ji mezi dvě obilniny jako zlepšující plodinu. Kukuřici je možno s úspěchem pěstovat i několik let po sobě (Vrzal et al., 1995).

V našich podmínkách dosud většinou převažují tradiční technologie zpracování půdy, přesněji technologie s orbou. Při pěstování kukuřice po obilninách předchází orbě podmítka. Ta se provádí v co nejkratší době po sklizni talířovými nebo radličkovými podmítači, podle podmínek do hloubky 6 až 12 cm. Po podmítce následuje orba, kterou jsou zpravidla do půdy zapravována organická i minerální hnojiva. Hloubka orby se pohybuje v rozmezí 20-25 cm. Jarní příprava půdy pro kukuřici musí zabezpečit rychlé prohřátí půdy, zajistit dostatek vzduchu pro klíčení osiva a současně šetřit půdní vodou. Hloubku jarní přípravy půdy je nutné volit podle hloubky setí. Příprava se zahajuje ihned, jakmile to půdní podmínky dovolí. Vhodná je dělená příprava, která v první fázi zajistí urovnání a nakypření povrchu půdy, ve druhé fázi pak přípravu seřového lůžka. Při minimalizačních technologiích převládají postupy s mělkým, případně středně hlubokým zpracováním půdy kypřením radličkovým nebo talířovým nářadím na podzim a mělkým kypřením před setím. K setí kukuřice jsou pak většinou používány speciální secí stroje, které umožňují podpovrchovou aplikaci minerálních hnojiv (Zimolka et al., 2008).

Setí kukuřice je podle Vrzala et al. (1995) velmi důležitou operací, protože porost kukuřice nemá např. na rozdíl od pšenice možnost eliminovat chyby setí. Seje se stroji na přesný výsev, a to pokud možno co nejkvalitnějšími. Teplota v hloubce setí by se měla pohybovat okolo 8 -10 °C. V praxi je to většinou druhá polovina dubna až začátek května. Vzdálenost řádků kukuřice by měla být v rozmezí 50-75 cm, hloubka setí 5-8 cm.

Kukuřice roste v počátečním vývinu velmi pomalu a to bývá příležitost pro rychlý růst plevelů. Kultivační opatření v počátečních fázích růstu musí směřovat jednoznačně k potlačení plevelů. Děje se tak cestou mechanickou i chemickou, a to zejména postemergentní aplikací herbicidů (Zimolka et al., 2008). Dalším zásadním opatřením je aplikace fungicidů a insekticidů. Mezi významné choroby patří například sněť kukuřičná, fusariózy či listové skvrnitosti. Významnými škůdci kukuřice jsou bzunka ječná, bázlivec kukuřičný a zavíječ kukuřičný (Kazda et al., 2010).

Šuk et al. (1998) uvádí, že kukuřice je vysoce produktivní plodina a pro dosažení optimálních výnosů je třeba se řídit jejími poměrně vysokými nároky na výživu. Odběrový normativ na 1 tunu zrna kukuřice je 24 kg dusíku, 5 kg fosforu, 25 kg draslíku, 5 kg vápníku a 5 kg hořčíku. Z mikroelementů má na rozdíl od jiných plodin velký význam zinek.

Termín sklizně kukuřice na zrno nastává až po dosažení fyziologické zralosti. To je, když obsah sušiny v zrně dosáhne 65-68 %, zrno je tvrdé, lesklé a na bázi má načervenalou skvrnu, která signalizuje konec ukládání živin. Protože má kukuřice ve fyziologické relativně vysoký obsah vody, je třeba zrno dosušit na 14 % vlhkost (Zimolka et al., 2008).

## 2.5 Šlechtění kukuřice

Kukuřice se stala jednou z modelových rostlin pro vědecký výzkum dědičnosti znaků a vlastností - genetiky, s čímž úzce souvisí šlechtění. Poměrně rychlý rozvoj forem kukuřice vedl od tvorby odrůd, volně opylovaných populací, přes meziodrůdové křížence až k současným hybridním formám (Poruba, 2015).

Tento vývoj s sebou nesl značný pokrok v nových šlechtitelských postupech a metodách. Jeho hnací silou byly poznatky o výnosových možnostech jednotlivých forem a snaha tohoto výnosového potenciálu využít v praxi. Selektce byla a zůstává jednou z hlavních metod ve šlechtitelské práci, avšak je stále více modifikována a zdokonalována (Poruba, 2015). Příkladem této metody selektce může být vývoj suchovzdorných odrůd. Podle Zhanga et al. (2011) je tolerance rostliny vůči suchu je velmi závislá na odrůdě. Tradičně se pro vyvíjení suchovzdorných odrůd používají právě metody selektce. Ačkoli je tento přístup efektivní, je velice náročný jak časově, tak na potřebu lidské práce. Proto jsou klasické

selekční postupy nahrazovány markery asistovanou selekcí (MAS), čímž dochází ke zvýšení efektivity selekčního procesu a eliminaci negativního vlivu vnějšího prostředí (Khan et al., 2013). Podle Poruby (2015) došlo přirozeným vývojem k současnému stavu, kdy šlechtitelé kukuřice využívají poznatky při tvorbě samoopylených linií, které následně kříží do hybridních kombinací s cílem sledování heterozního efektu – kombinační schopnosti. V současné době je věnována velká pozornost především na šlechtění hybridů kukuřice pro využití na siláž, s vysokým podílem palic v silážní hmotě a s dobrou odolností vůči chorobám a škůdcům.

Poruba (2015) dále uvádí, že tvorba nových samoopylených linií z geneticky známých původů spolu se znalostmi genetického založení důležitých vlastností a se znalostí jejich přenosu do hybridních kombinací je základním předpokladem úspěchu hybridního šlechtění. V české republice je v současnosti jediné pracoviště, jehož hlavní předmět podnikání je šlechtění kukuřice. Je to akciová společnost CEZEA se sídlem v Čejčce. Další možností šlechtění je využití genetických modifikací.

V České republice v současnosti podmínkám stanoveným zákonem o nakládání s geneticky modifikovanými organismy č.78/2004 Sb. vyhovuje pouze insekt rezistentní modifikace kukuřice MON 810 uvolněná pro pěstování rozhodnutí EK ze dne 22. 4. 1998. Jedná se o modifikaci vzniklou vnesením genů půdní bakterie *Bacillus thuringiensis* do genomu kukuřice.

Takto modifikovaná odrůda je toxická pro larvy zavíječe kukuřičného a některé příbuzné druhy živící se požerem na kukuřici. Tato genetická modifikace bývá označována buď zkráceným identifikačním označením „MON 810“ nebo zkratkou „Bt“ (*Bacillus thuringiensis*), na trhu se tyto hybridy většinou objevují s kódovým označením „YG“ za názvem hybridu (zkratka obchodní značky „Yield Guard“). Registrační zkoušky GM hybridů kukuřice (modifikace MON 810) probíhají v rámci běžných registračních pokusů (Povolný a Vacek, 2013).

Ve světě je tvorba GMO zaměřena i na vývoj suchovzdorných odrůd. První, komu se podařilo vytvořit GMO odrůda kukuřice odolná vůči suchu byla společnost Syngenta (Syngenta.com, 2015).

## 2.6 Obecná charakteristika stresu

Rostliny se vyznačují mimořádnou rozmanitostí ve schopnosti růst, vyvíjet se a přežít v širokém rozmezí vnějších podmínek. Každému rostlinnému druhu však vyhovuje užší

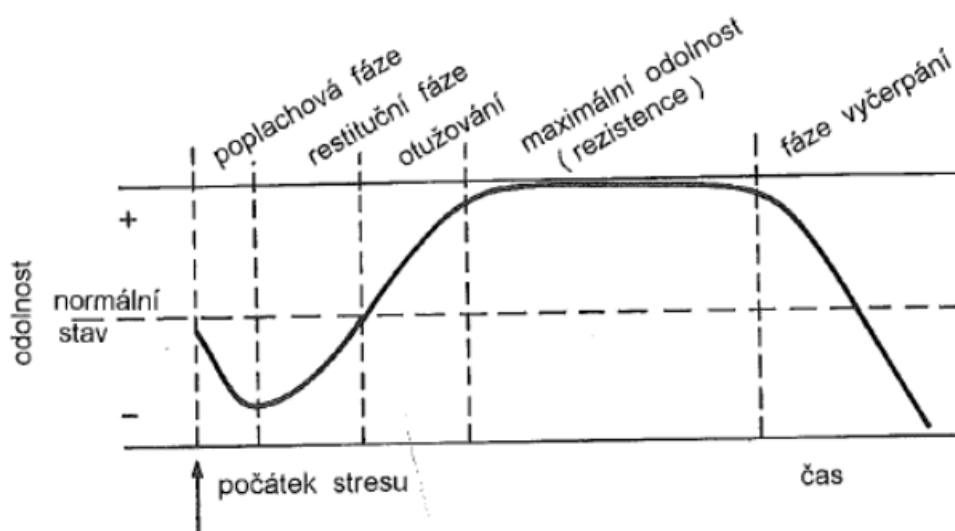


rozpětí vnějších podmínek. Faktory, které v určitém prostředí ovlivňují rostlinu negativně, označujeme jako stresové faktory (stresory) (Kůdela et al., 2013; Larcher, 1995).

Aby rostlina překonala určitý stresový faktor, musí mobilizovat své energetické zdroje a obranné nebo adaptivní či poplašné fyziologicko-biochemické reakce. Stav organismu, který se liší od normálu a nadměrně jej zatěžuje, se nazývá stres. Stresované rostliny mohou zpomalovat životní funkce, poškozovat jednotlivé orgány a v krajním případě vést i k uhynutí rostliny (Kůdela et al., 2013; Larcher, 1995).

Dalšími termíny souvisejícími se stresem rostlin jsou eustres a distres. Reakce rostlin na eustres je spíše pozitivní a je spojena s řadou žádoucích procesů. Jedná se tedy o varovné signály a hrozby pro rostlinu. Distres se u rostlin vyskytuje mnohem častěji než eustres a má vždy negativní dopad (Schulze et al., 2005).

Negativní vnější vlivy - stresory, působí na celou rostlinu, tj. na kořeny, nadzemní část i na vyvíjející se semena. Rostliny, respektive rostlinné druhy, jsou přizpůsobeny k vykonávání všech velmi důležitých životních funkcí za poměrně často značného kolísání faktorů vnějšího prostředí. Při působení stresorů může rostlina dosáhnout nového rovnovážného stavu na základě činnosti kompenzačních procesů. Skupina reakcí, které se spustí pod vlivem stresorů, se nazývá stresová reakce (Larcher, 1995), viz obr. 4.



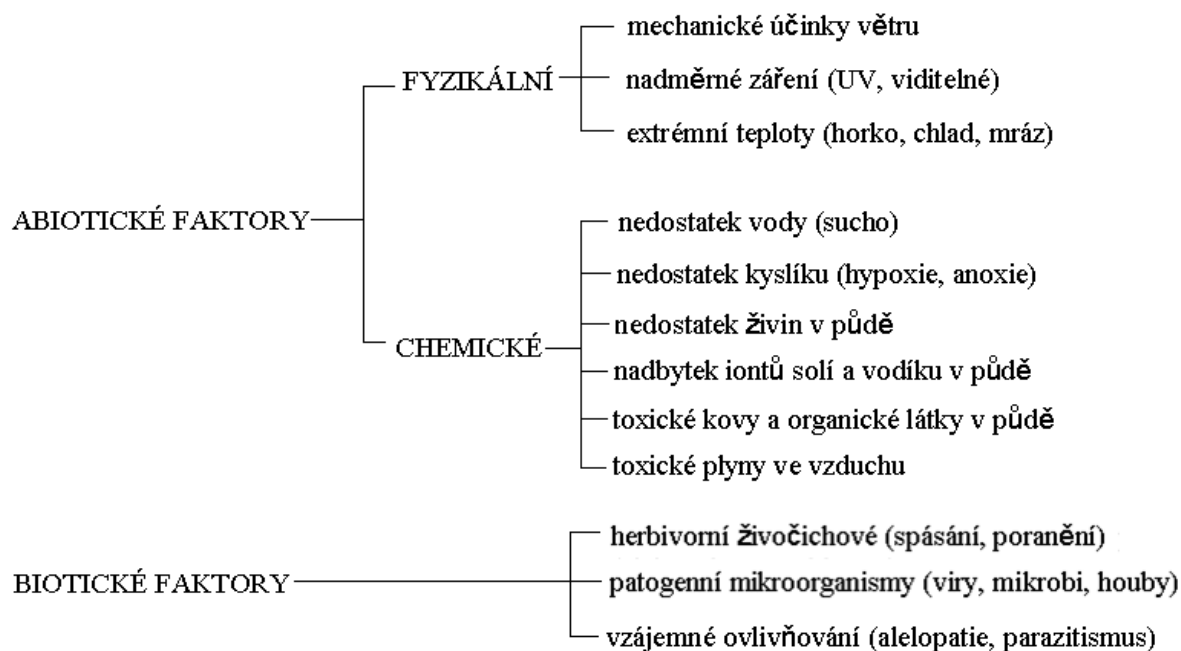
Obr. 4 Průběh stresové reakce (Larcher, 1995)

Stresovou reakci lze rozdělit do několika fází a její idealizovaný průběh podle Larchera (1995) můžeme sledovat na obr. 4. Bezprostředně po začátku působení stresového faktoru dochází k narušení buněčných struktur a funkcí (poplachová fáze). Pokud intenzita působení stresoru nepřekračuje letální úroveň, dochází záhy k mobilizaci kompenzačních mechanismů

(restituční fáze), které směřují ke zvýšení odolnosti rostliny vůči působícím faktorům (fáze rezistence). Ne vždy však toto zvýšení má trvalý charakter. Při dlouhodobém a intenzivním působení stresového faktoru může být vystřídáno dalším poklesem (Procházka et al., 1998).

Z hlediska obecně biologického působí stresor na různých úrovních rostliny a v různých časových dimenzích. Na úrovni organely a aktivity jejích enzymů se řádově jedná o změny ve zlomcích sekund, které stačí na podstatné ovlivnění funkcí organely. Na úrovni buňky či pletiva se jedná většinou o období hodiny až týdne, které je nezbytné na podchycení a zaměření reakce rostliny. Na úrovni individuální rostliny se konečný efekt měří většinou po delším časovém úseku, obvykle po životním cyklu nebo vegetačním období rostliny. Na úrovni celého rostlinného společenstva se jedná o mnohaletou záležitost a na úrovni ekosystému jsou většinou změny sledovatelné řádově i po stovkách let (Larcher, 1995; Bláha et al. 2003).

Stresory můžeme rozdělit podle původu na interní a externí. Interní stresory jsou odvozeny od mutací nebo abnormálního dělení buněk, které může vést k metabolickým změnám. Externí stresory můžeme dále rozdělit na faktory biotické a abiotické (Ahmad et Prasat, 2012). Jejich přehled je uveden na obr. 5.



Obr. 5 Rozdělení stresových faktorů (Procházka et al, 1998)

## 2.7 Vodní deficit

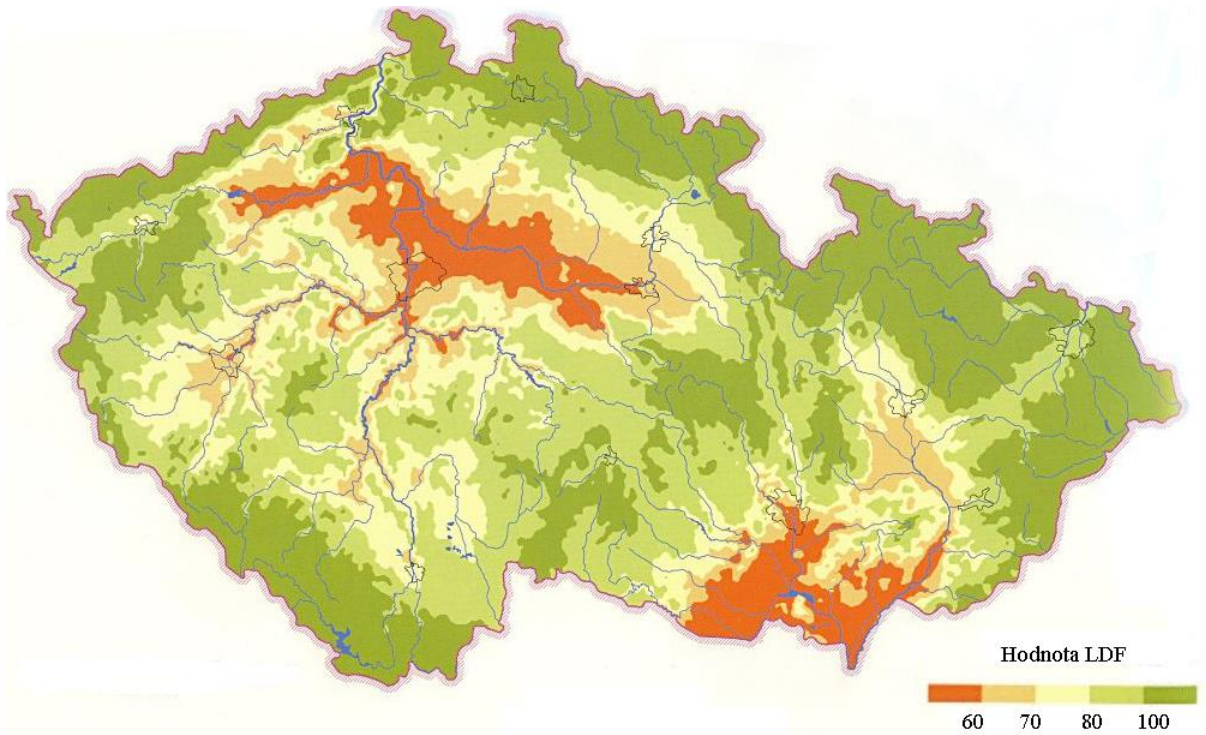
Sucho je obecné označení pro nedostatek vody v krajině. Je vyvoláno nedostatkem atmosférických srážek v důsledku výskytu suchých období a ovlivňováno mnoha dalšími faktory, včetně antropogenních. Definice sucha proto není jednoznačná a různí autoři k hodnocení jeho intenzity používají různé indexy sucha (slovník.cmes.cz, 2015).

Podle Kúdely et al. (2013) je sucho stav, kdy je dostupnost vody pro rostlinu menší než je potřeba pro udržení jejího vývoje a růstu. Podle Khana et al. (2013) je sucho celosvětově nejvíce limitující faktor rostlinné výroby. Téměř třetina zemského povrchu je aridní nebo semiaridní, což znamená, že výpar převažuje nad množstvím srážek. Rozsah škod způsobených suchem je v mírném podnebním pásu až  $2,5 \times$  vyšší než škody připisované na vrub působení nadbytku vody. I díky měnícímu se klimatu působí sucho po celém světě škody nejen na výnosech zemědělských plodin, ale i na ztráty na lidských životech. To je případ zejména některých rozvojových zemí, například na africkém kontinentu (Sheffield et Wood, 2011).

V podmínkách ČR je podle Výzkumného ústavu meliorací a ochrany půdy (2011) ohroženo vodním deficitem zhruba 45 tis. ha zemědělské půdy. Jedná se zejména o jižní Moravu, Polabí a Žatecko (Kúdela et al. 2013).

Další termíny, které souvisí s vodním deficitem je půdní sucho, agronomické sucho apod. Výsledný efekt této situace na rostliny nazýváme vodní stres (Hale et Orcutt, 1987). Definici půdního sucha uvádí např. Kúdela et al. (2013). Podle těchto autorů je v půdním profilu voda rozložena v několika vrstvách. V určité hloubce pod povrchem je půda zcela nasycena vodou, takže zejména v lehčích půdách vzniká souvislá hladina podzemní vody. Z této hladiny pak voda vzlíná půdními kapilárami do vyšších vrstev. Hlavním požadavkem je, aby obsah vody ve vegetačním profilu (ve vrstvách kde se nachází kořeny rostlin) byl v souladu s požadavky na dobrý vývoj rostliny. Rostlinám obecně vyhovuje takový poměr vody a vzduchu k zemi hmotě, při němž je z celkového objemu pórů vyplněno 60-80 % vodou a 20-40 % vzduchem. Klesne-li vlhkost půdy pod uvedené rozmezí, můžeme tento stav označit jako půdní sucho.

Jednou z charakteristik zabývající se touto problematikou je Langův dešťový faktor (viz obr. 6).

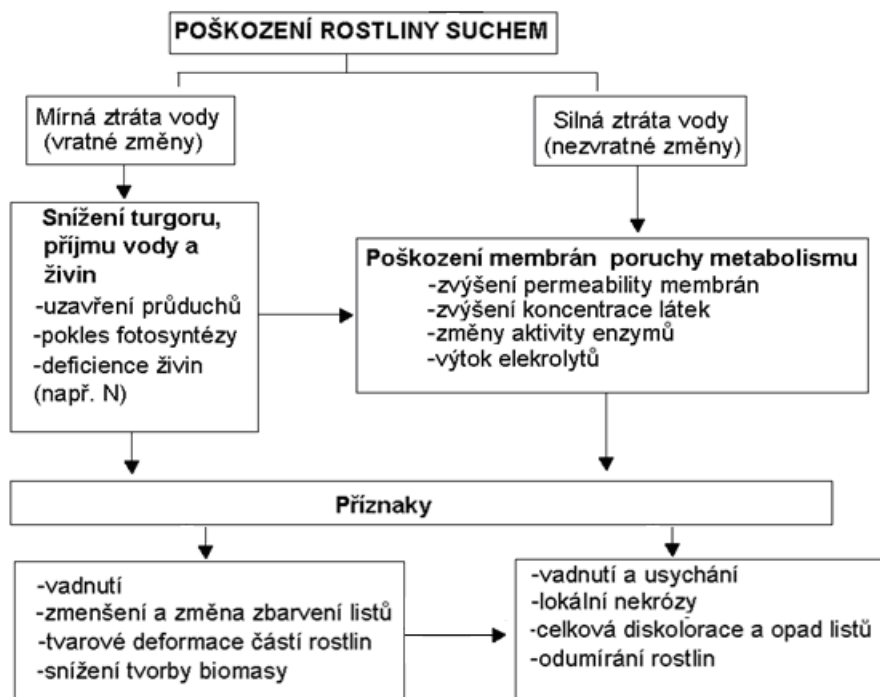


Obr. 6 Klima ČR podle LDF: výstředně aridní (< 10), aridní (10 - 40), semiaridní (40 - 50), semihumidní (50 - 60), humidní (60 - 160) a perhumidní (> 160) (Honsová, 2007)

Situaci, kdy je obsah vody v půdě tak nízký, že se rostlina z tohoto nedostatku vody již nemůže zotavit, nazýváme bod trvalého vadnutí. K tomuto stavu dochází, dojde-li k poklesu vodního potenciálu pod hranici  $-1,5$  MPa (Hale et Orcutt, 1987).

## 2.8 Vliv vodního deficitu na rostliny

Vodní deficit ovlivňuje nejenom příjem a výdej vody, ale také příjem živin, základní metabolické pochody rostlin, růst a vývoj rostlin. Poškození rostlin je uvedeno na obr. 7. Z něho vyplývá, že mírná ztráta vody má za následek vratné změny, jako je snížení turgoru, naopak silná ztráta vody způsobuje u rostlin poškození membrán, poruchy metabolismu, tedy změny nevratné.



Obr. 7 Schéma poškození rostliny suchem (Kůdela et al., 2013)

U běžných druhů rostlin hodnoty vodního potenciálu listů do  $-0,5$  MPa indukují působení mírného vodního stresu, od  $-0,5$  MPa do  $-1,5$  MPa stres středně velký. Při hodnotách pod  $-1,5$  MPa se jedná o stres velmi silný, při kterém již často klesá turgorový tlak v buňkách listů na nulu a listy začínají vadnout (Hale et Orcutt, 1987).

Nejcitlivější reakce na nedostatek vody bývá u dlouhivého růstu buněk postižených orgánů. K měřitelnému zpomalení růstu dochází již při velmi malé ztrátě vody. Tomu odpovídá pokles vodního potenciálu přibližně na hodnoty  $-0,1$  MPa až  $-0,2$  MPa. Při dalším poklesu těchto hodnot dochází k úplnému zastavení růstu. K zastavení růstu dochází dříve než ke zjevnému vadnutí listů. Při dalším poklesu vodního potenciálu buněk zhruba na hodnotu  $-0,2$  MPa až  $-0,8$  MPa dochází v buňkách až ke čtyřicetinasobnému zvýšení obsahu kyseliny abscisové (Hale et Orcutt, 1987).

Penka (1985) uvádí, že nedostatek vody je často doprovázen vysokými teplotami. Vysoké teploty ovlivňují rostliny a pozměňují jejich vodní provoz. Rychlost transpirace v těchto podmínkách převyšuje zpravidla příjem vody kořenovým systémem. Vzájemné vztahy ve vodním provozu jsou tak porušeny. Turgor buněk klesá, přičemž je zpomalená výměna látek a rostliny začínají hladovět. Pokles turgoru je vždy doprovázen dočasným vadnutím rostlin a při tom se snižuje fotosyntetická asimilace, jednak proto, že buňky

asimilačních pletiv nemají dostatek vody a jednak proto, že povadlé listy uzavírají průduchy, aby zabránily dalšímu výparu vody, a také zamezují přístup oxidu uhličitého a kyslíku.

Fotosyntetická asimilace pak převyšuje respiraci, která za nepřístupu kyslíku přechází v anaerobní respiraci. Nastává pokles obsahu volné vody s následnou dehydratací a později i koagulací plazmy. Rostliny zpomalují a zastavují růst, trvale vadnou a odumírají. Vadnutí můžeme rozdělit podle stupně vodního deficitu na dočasné a trvalé. K dočasnému vadnutí dochází, když schopnost kořenů přijímat vodu z půdy není ještě přerušena a když je vadnutí způsobeno převahou výdeje nad příjmem vody. Dočasné vadnutí je typické u některých rostlin za poledních hodin, jako například u lnu (Penka, 1985).

Mnohem více se na rostlině projevuje trvalé vadnutí, při němž sucho půdy dosahuje takového stupně, že se příjem vody kořeny úplně zastavuje. Rostlina se může z tohoto stavu zotavit, jakmile se zvýší obsah vody v půdě. Trvalé vadnutí však způsobuje snížení produkce, protože se porušují fyziologické procesy, fotosyntéza klesá, růst rostlin se zpomaluje nebo úplně zastavuje (Penka, 1985).

U kukuřice nedostatek vláhy způsobuje, že horní mladé listy se svinují nahoru a dovnitř a jeví se jako matné, což lze dobře sledovat na obr. 8. Na mladých rostlinách, které mají dostatek dusíku, se listy svinují a tmavnou, ale nežloutnou. Na starších rostlinách způsobuje sucho nedostatek dusíku, i když jej bylo do půdy aplikováno dostatečné množství. Zejména v podmínkách na rozhraní sucha se na starších rostlinách projevuje nedostatek dusíku v podobě silné zakrnělosti a nepravidelných hnědých nebo žlutohnědých skvrn odumřelého pletiva. Klíčící rostliny mohou odumřít zejména v sytkém hrubém set'ovém lůžku, kde obilky umístěné ve vlhké půdě klíčí v zóně obklopené suchou půdou. Suchý povrch půdy, plytký výsev a nedostatečný vývoj kořenového krčku má za následek špatnou vzcháživost nebo odumření klíčících rostlin (Kůdela et al., 2013).



Obr. 8 Poškození kukuřice vlivem sucha (Kúdela et al., 2013)

## 2.9 Obranné reakce rostlin vůči suchu

Obecně jsou mechanismy kategorizovány na ty, které vedou k vyhnutí se podmínkám sucha (avoidance) a na ty, které vedou k toleranci snížené dostupnosti vody (tolerance). Mechanismy tolerance mohou být rozděleny na ty, které se snaží udržet vysoký vodní potenciál, a na ty, které vedou k výraznému poklesu vodního potenciálu v pletivu. Žádné z těchto kategorií se vzájemně nevylučují, neboť většina individuálních mechanismů závisí na dalších mechanismech řešících nedostatky vody (Larcher, 1995).

Aby byly rostliny schopny přežít suchu, musí se suchu vyhnout nebo umět tolerovat dehydrataci buněk (Machado et Paulsen, 2001). Rostliny používají různé strategie pro zvládnutí sucha, jako je zrychlení růstu a kvetení ještě před nástupem období sucha nebo zlepšují efektivitu využití vody (WUE) zavíráním průduchů, zrychlují růst kořenů nebo mohou používat některé způsoby tolerance sucha, jako úpravu osmotického potenciálu či produkci antioxidantů (Khan et al., 2013).

Penka (1985) uvádí, že k vyjádření vodního stavu rostlin se běžně používá relativní obsah vody (RWC). Je to obsah vody vyjádřený v procentech k obsahu vody v témže pletivu v plně turgescentním stavu. RWC je závislý na druhu rostliny a její růstové fázi, na dlouhodobých změnách indukovaných prostředím a také na krátkodobých změnách vodního provozu rostliny.

V humidních oblastech, kde nepršelo dny až týdny, zásoby půdní vody jsou vyčerpány a vodní bilance je stále více nepříznivá, rostliny postupně omezují spotřebu vody otevíráním

průduchů pouze na kratší časové úseky. Nejprve omezí transpiraci během hodin s nejvyšší teplotou a na konec otevírají průduchy pouze v ranních hodinách. Rostliny v suchých oblastech mají podle Larchera (1995) zpravidla delší kořenový systém, který jim umožňuje čerpat vláhu i z hlubších vrstev půdy nebo mají speciální pletiva, které jim umožňují zadržovat větší množství vody. Tyto rostliny tedy nejsou nuceni k drastickému omezení transpirace tak brzy, na rozdíl od rostlin z humidních oblastí. Tyto vlastnosti jsou typickými příklady adaptací rostlin v aridních oblastech. Příkladem těchto druhů může být podle Anděry (1997) Welwitschie podivná (*Welwitschia mirabilis* Hook.f.), nebo pachypodium (*Pachypodium* sp.) z Madagaskaru.

Jak bylo již zmíněno, rostliny vyvíjí různé způsoby adaptace vůči vodnímu deficitu i ostatním stresovým situacím. Tyto adaptace zahrnují vývojové i strukturní vlastnosti a patří mezi ně i biochemické vlastnosti jako syntéza a akumulace osmoticky aktivních látek (Shinozaki et Shinozaki, 1999; Hayat et al., 2012). Mezi převládající osmoticky aktivní látky patří podle těchto autorů prolin a glycinebetain, rozpustné cukry, dehydriny a jiné látky. Existují dva způsoby syntézy prolinu v rostlinách, a to z glutamátu a ornithinu. Za normálních podmínek je primárním zdrojem pro tvorbu prolinu ornithin, zatímco glutamát má přednost během stresových podmínek. Hlavní enzym, který katalyzuje tvorbu prolinu z glutamátu je pyrrolin – 5 - carboxylát reductáza (Shinozaki et Shinozaki, 1999).

Aminokyselina prolin hraje velmi významnou úlohu u rostlin vystavených stresovým podmínkám. Kromě funkce osmoticky aktivní látky má prolin tři hlavní role během stresu jako metalochelát, antioxidační molekula a signální molekula. Stresující prostředí vede v rostlinách k nadprodukci prolinu, což vede k toleranci stresu udržováním buněčného turgoru nebo osmotickou rovnováhu, stabilizaci membrán, a tím brání úniku elektrolytů, udržuje koncentraci reaktivních forem kyslíku (ROS) v normálním rozmezí, čímž se předchází oxidativnímu stresu rostliny. ROS jsou produkovány rostlinami jako vedlejší produkty aerobního metabolismu. Některé formy ROS jsou vysoce toxické a zvýšení jejich koncentrace může inaktivovat enzymy nebo poškodit důležité části buněk (Klaus et Heriber, 2004). Mezi nejčastější formy reaktivního kyslíku patří peroxid vodíku ( $H_2O_2$ ) (Quan et al, 2008).

Podle Procházky et al. (1998) se koncentrace prolinu často zvyšuje až stonásobně. Byla také zjištěna zvýšená tolerance stresu rostlin při dodávání prolinu z vnějšku, a to v nízkých koncentracích, naopak ve větších koncentracích může působit toxicky (Hayat et al., 2012)

Glycinebetain se hojně vyskytuje v souvislosti s reakcí na stres u mnoha druhů rostlin, jako jsou řepa či ječmen. Kromě své funkce jako osmoticky aktivní látka může také chránit buňky před vlivy okolního prostředí nepřímo, a to prostřednictvím svých účinků na enzymy,



membránovou integritu stabilizací struktury proteinů, chrání také cytoplasmu a chloroplasty, fotosyntetický aparát a slouží jako lapač kyslíkových radikálů. Nicméně u mnoha druhů kulturních rostlin je akumulace glycinebetainu nižší než je za potřebí pro zmírnění účinků dehydratace vlivem sucha. Kromě toho se glycinebetain v rostlinách normálně nerozkládá, takže může být snadno získáván jako vedlejší produkt při pěstování velkoobjemových plodin, jako je například cukrová řepa. Vnější aplikace glycinebetainu může být řešením plodin, které si ho nejsou schopny produkovat samy v dostatečném množství (Zhang et al., 2011).

Vodní stres u rostlin ovlivňuje také hormonální složení rostlin. Poznatky o významu jednotlivých fytohormonů při stresových reakcích jsou stále ještě nedokonalé. Jedná se především o kyselinu abscisovou (ABA) a etylén. Kromě stimulačních účinků (např. tvorba stresových proteinů) mají tyto fytohormony i výrazné inhibiční účinky na tvorbu některých enzymů (např. Rubisco), což vede zpomalení růstu a zrychlení stárnutí (Tanaka et al., 2005; Nilsen et Orcutt, 1996). Zvýšení koncentrace kyseliny abscisové má za následek již zmiňované zavírání průduchů (Nilsen et Orcutt, 1996). Polyamidy, jasmonáty a kyselina salicylová patří rovněž do skupiny látek fytohormonálního typu, jejichž koncentrace v průběhu stresové reakce roste a jejichž ochranný účinek byl již mnohokrát prokázán (Kang et al., 2012; Scott, 2008). Dalšími fytohormony, které mají u rostlin během vodního deficitu velký význam jsou brassinosteroidy. Tyto látky působí ve velmi nízkých koncentracích a ovlivňují velké množství životních procesů rostlin, například fotosyntézu. Mezi další významné funkce brassinosteroidů patří regulace růstu, podpora produkce etylénu, ovlivňují dělení buněk, kvetení, zraní plodů i klíčení semen (Honnerová et al., 2010).

### 3. Cíle

Vodní deficit je stresový faktor, který je v zemědělství celosvětově velmi významným problémem. Reakce různých druhů rostlin na nedostatek vody se velmi liší. Jednou z plodin, které velmi citlivě reaguje na vodní deficit je kukuřice setá (*Zea mays* L.).

Na základě těchto skutečností byly navrženy následující cíle práce:

1. stanovit míru poškození buněčných membrán na základě relativního výtoku elektrolytů v závislosti na působení vodního deficitu a použitém genotypu.
2. stanovit a vyhodnotit obsah prolinu ve vztahu k působení vodního deficitu na vybrané genotypy kukuřice.

### 4. Hypotézy

Na základě stanovených cílů práce byly navrženy následující hypotézy:

1. Existují genotypové rozdíly v reakci rostlin na vodní deficit?
2. Existují genotypové rozdíly v obsahu prolinu a relativního výtoku elektrolytů u vybraných odrůd kukuřice seté?

Kukuřice setá byla jako pokusná rostlina zvolena kvůli ideální morfologii vzhledem k měřeným charakteristikám, kvůli rychlému růstu a zejména vysokou citlivostí na vodní deficit.

## **5. Materiál a metody**

Byl sledován vliv vodního deficitu na čtyři vybrané genotypy kukuřice. U pokusných rostlin byl sledován obsah sekundárních metabolitů (prolinu) a relativní výtok elektrolytů.

### **5.1 Pokusný materiál a jeho charakteristika**

Sledované fyziologické charakteristiky byly hodnoceny u 4 genotypů kukuřice, a to Ambrosini, Ricardinio, Lars a LG 3252. Charakteristika jednotlivých odrůd dle eagri.cz (2015):

#### **Ambrosini**

Tato odrůda byla registrována v roce 2009. Je to tříliniový velmi raný hybrid s číslem ranosti 220. Jedná se o odrůdu určenou k výrobě siláže a pěstování ve výrobních oblastech řepařské, obilnářské a bramborářské. Rostliny jsou středně vysoké až vysoké, výnos celkové suché hmoty je vysoký, výnos celkové zelené hmoty středně vysoký až vysoký. Má vysoký obsah škrobu a dobrou stravitelnost.

#### **Ricardinio**

Odrůda Ricardinio je dvouliniový velmi raný hybrid. Číslo ranosti je cca 230. Určena pro pěstování na zrno v zemědělské výrobní oblasti řepařské. Rostliny vysoké až velmi vysoké, palice nasazeny středně vysoko až vysoko, počet řad zrn středně vysoký až vysoký, typ zrna mezityp. Výnos zrna vysoký. Registrována byla v roce 2010.

#### **Lars**

Lars je odrůda registrovaná od roku 2007 vhodná jak na siláž, LKS (směs hrubě pošrotovaných palic spolu s větveny a listeny), tak na zrno. Tento dvouliniový hybrid má číslo ranosti 220 u sklizně na siláž a 230 na zrno. V sortimentu raných silážních hybridů má nejvyšší stravitelnost organické hmoty.

#### **LG 3252**

Tato odrůda je tříliniový hybrid registrovaný od roku 2007. Jedná se o silážní odrůdu s číslem ranosti 260. Vyznačuje se dobrým podílem zrna v siláži stabilními výnosy, má vyvážený poměr škrobů a stravitelné vlákniny. Je určena do obilnářské výrobní oblasti.

## 5.2 Založení pokusu

Pokus byl založen v částečně řízených podmínkách skleníku KBFR FAPPZ. Teplota byla nastavena na 25 °C ve dne a 18 °C v noci, za přirozeného světelného režimu (10 hodin světa a 14 hod. tmy). Pokusné rostliny byly pěstovány v nádobách o velikosti 11 x 11 cm, ve směsi zahradnického substrátu a říčního písku. Poměr těchto složek činil 2:1. Zahradní substrát je jemný (maximálně 10 % částic nad 10 mm), udržující vzdušnost prostředí, neslévavý, nezasolený, pH ve vodném roztoku 5,5 – 6,5, bez plevelů a škůdců, obsahující 55 % spalitelných látek ve vysušeném vzorku, s podílem částic nad 25 mm max. 5 %. Obsah živin byl následující: N: 80120 mg l<sup>-1</sup>, P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>: 50 – 100 mg l<sup>-1</sup>, K<sub>2</sub>O: 100 – 150 mg l<sup>-1</sup>. Obsah rizikových prvků splňuje zákonem stanovené limity mg kg<sup>-1</sup> sušiny. Cd 1; Pb 100; Hg 1; As 10; Cr 100; Cu 100; Ni 50; Zn 200 (agrocs.cz, 2015). Rostliny byly vysévány metodou postupných výsevů, což znamená, že po dobu 15 dnů se vždy vysévá část potřebného rostlinného materiálu. Metoda postupného výsevu zajišťuje působení stresu u rostlin ve stejné vývojové fázi. Rostliny byly zavlažovány na úroveň 70 % VVK, což představuje cca 150 ml vody na nádobu a hodnotu vodivosti 857 mV. Založení pokusu je uvedeno v příloze/ I - III.

## 5.3. Působení vodního deficitu

Rostliny ve fázi 6. listů (BBCH ) byly rozděleny dle schématu pokusu do 4 skupin, vždy při zachování 5 opakování od každého genotypu a varianty pokusu. Schéma pokusu zahrnovalo 4 varianty: KK (viz obr. IV), SS, KS a SK, jak dokládá tab. 2. Rostliny kontrolní byly po celou dobu pokusu zavlažovány na 70 % VVK a obdobně byly zavlažovány rostliny stresované při obnovení zálivky (rehydratace). Vodní stres byl navozen metodou postupného, přirozeného vysychání substrátu.

varianta	Charakteristika
KK	zavlažována po celou dobu pokusu
SK	zavlažována po celou dobu pokusu
KS	10 dnů zálivka a poté až do konce pokusu navozený stres
SS	10 dnů nezavlažována, 4 dny zálivka, poté 10 dní stres, 4 dny zálivka

Tab. 2 Pokusné varianty

Změny obsahu vody v půdě u stresovaných a kontrolních rostlin byl sledován přístrojem AT Theta Kit (Delta - T Device, Velká Británie). Hodnoty obsahu vody v půdě byly přepočteny na základě změn vodivosti půdního substrátu, viz tab. 3. Odběr rostlin se uskutečnil vždy ve dvoudenních intervalech. Počet odběrů byl 15.

Den pokusu	Varianta			
	KK	KS	SK	SS
<b>0</b>	853	853	853	853
<b>2</b>	854	855	797	797
<b>4</b>	856	857	752	758
<b>6</b>	857	859	684	698
<b>8</b>	853	850	649	634
<b>10</b>	855	851	551	592
<b>12</b>	850	768	566	602
<b>14</b>	857	754	580	629
<b>16</b>	850	674	599	667
<b>18</b>	856	652	601	669
<b>20</b>	857	546	615	598
<b>22</b>	853	456	625	556
<b>24</b>	857	406	651	506
<b>26</b>	850	303	698	418
<b>28</b>	856	291	769	303

Tab. 3 Změny vodivosti půdy (mV) v závislosti na působení vodního deficitu

## 5.4 Metody měření sledovaných charakteristik

### 5.4.1. Stanovení relativního výtoku elektrolytů

Relativní výtok elektrolytů byl stanoven na základě metodiky dle Campose et al. (2003) a Allinne (2010). Z různých částí listové čepele mimo středního žebra vykrojíme pomocí korkovrtu 10 terčičků o průměru 1 cm (viz obr. V). Tyto terčičky důkladně propláchneme destilovanou vodou a vložíme do zkumavky s 10 ml destilované vody (viz obr. VI). Zkumavku umístíme na 24 hodin do lednice. Po 24 hodinách změříme konduktometricky elektrickou vodivost roztoku ve zkumavce (viz obr. VII), jedná se o hodnotu  $REL_1$ . Poté zkumavku se vzorkem povaříme 20 minut ve vodní lázni, tak aby bylo dosaženo maximálního poškození buněčné struktury. Po vyjmutí z horké vody a vyrovnání teplot opět změříme elektrickou vodivost ( $REL_2$ ). Míra poškození, tj. relativní výtok elektrolytů ( $REL_{\%}$ ), byla na základě změny vodivosti roztoku vyjádřena procentuálně jako poměr  $REL_1 : REL_2$ . Pro měření byl použit konduktometr GRYF 106 L3 (GRYF HB spol. s.r.o., ČR).

### 5.4.2. Stanovení obsahu prolinu

Stanovení obsahu prolinu v rostlinném materiálu byl stanovován na základě metodiky dle Batese et al. (1973). Navážíme 0,5 g listové čepele bez středního žebra a vložíme do třecí misky. Stejně množství vzorku navážíme do váženky (viz obr. VIII), kterou následně umístíme do sušárny. Tento vzorek sušíme z toho důvodu, protože obsah prolinu lze také přepočítávat na sušinu. Do třecí misky přidáme 1 ml 3 % kyseliny sulfosalicylové a pomocí tloučku rozetřeme na jemnou kaši, následně přidáme další 4 ml kyseliny sulfosalicylové a krátce promícháme. Vzorek přefiltrujeme do kádinky přes filtrační papír umístěný v nálevce (viz obr. IX). Z kádinky odpipetujeme 1 ml filtrátu, přidáme 1 ml ninhydrinu a 1 ml koncentrované kyseliny octové. Zkumavku se směsí umístíme na 10 minut na třepačku. Poté 30 minut vaříme ve vodní lázni a po začátku varu snížíme teplotu na 50-60 °C. Po vyjmutí z vodní lázně vzorek prudce zchladíme. Následně přidáme 3 ml toluenu a důkladně promícháme. Po 20 minutách nastane oddělení fází a nakonec změříme na spektrofotometru (viz obr. X) Helios  $\gamma$  (Thermo elektron corporation) absorbanci horní vrstvy vzorku při 520 nm. Jako blank používáme čistý toluen.

## 6. Výsledky

V práci je sledován vliv vodního deficitu na relativní výtok elektrolytů a obsah prolinu v listech juvenilních rostlin kukuřice u odrůd Ambrosini, Ricardinio, Lars a LG 3252. Schéma pokusu zahrnovalo 4 varianty: kontrolní (KK) zavlažovaná po celou dobu pokusu; stresovaná (SK) deset dnů stres a poté zavlažována; stresovaná (SS) 10 dnů nezavlažována, 4 dny zálivka, opětovně 10 – ti denní navození vodního deficitu, 4 dny zálivka; stresovaná (KS) 10 dnů zálivka a poté až do konce pokusu navozený stres.

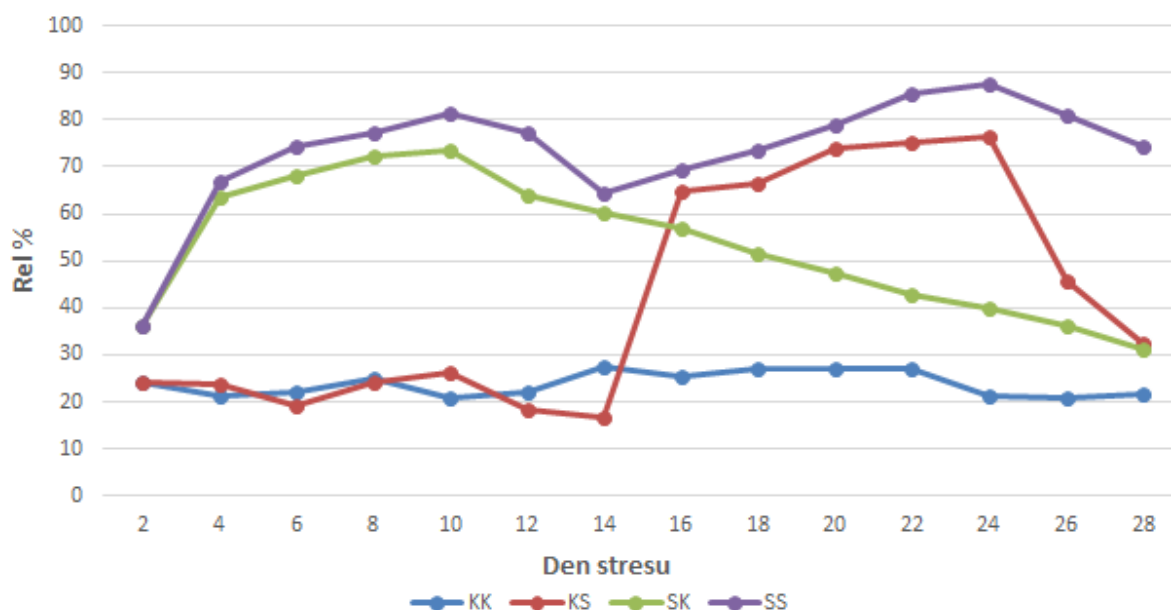
### 6.1 Relativní výtok elektrolytů

#### Odrůda Ambrosini

V grafu 1 je patrný vliv termínu odběru na relativní výtok elektrolytů v rámci pokusných variant u genotypu Ambrosini. Nejnižších hodnot dosahuje varianta KK (kontrola), jejíž hodnoty se pohybují v rozmezí od 20,67 % (10. den pokusu) do 27,06 % (20. den). Uvedené nízké poškození membrán a jejich víceméně shodná výše signalizuje, že se jedná o rostliny s minimální mírou poškození stresy. Naopak nejvyšší poškození buněčných membrán bylo stanoveno u varianty SS. U této varianty se hodnoty pohybovaly již od čtvrtého dne stresu nad hranicí 60 %, což naznačuje vysokou míru poškození. Nejnižší poškození bylo ve výši 36,20 % (2. den). U této varianty se po nastolení vodního deficitu míra poškození membrán zvýšila až na hodnotu 81,31 % (10. den). Na rehydrataci rostliny reagovaly snížením poškození membrán na hodnotu 64,38 % (14. den), ale toto snížení bylo vystřídáno opětovným zvýšením míry poškození vlivem stresu. Po opětovném navození stresu se relativní výtok elektrolytů pohyboval v intervalu hodnot od 69,24 % (16. den) do 87,41 % (24. den). Vlivem následné zálivky poklesla míra poškození na 74,22 % (28. den).

Z uvedeného grafu 1 je dále patrné, že u varianty KS jsou hodnoty poškození membrán v rámci první části pokusu relativně vyrovnané, v důsledku zálivky. Naměřené hodnoty se pohybují od 19,06 % (6. den) do 26,22 % (10. den). Po ukončení zálivky hodnoty poškození membrány se velmi rychle, průkazně zvýšily, až na hodnotu 76,24 % (24. den). Ke konci pokusu (26. a 28. den) nastalo opět snížení výtoku elektrolytu až na 32,25 %. U posledního pokusu (SK) byly rostliny kukuřice nejprve vystaveny působení vodního deficitu, které bylo vystřídáno rehydratací. Po navození stresu se míra poškození membrány postupně s prohlubujícím se stresem zvyšovala, neboť 2. den stresu byl Rel% ve výši 36,21 % a na jeho konci 73,38 %. Po obnovení zálivky dochází k postupnému snižování poškození buněk. Toto

snížení bylo téměř lineární a pohybovalo se v rozpětí hodnot od 31,20 % (28. den) do 63,83 % (12. den), jak vyplývá z grafu 1.



Graf 1 Relativní výtok elektrolytů (%) u odrůdy Ambrosini v závislosti na variantě pokusu a délce působení stresu

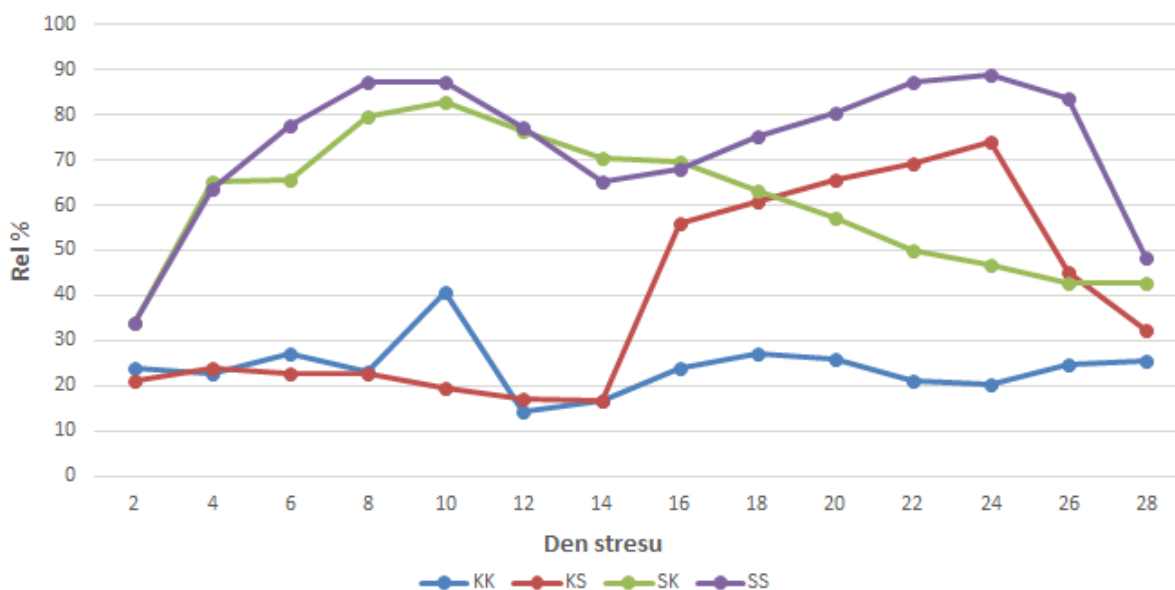
### Odrůda Ricardinio

V grafu 2 je patrný vliv termínu odběru a varianty na relativní výtok elektrolytů u juvenilních rostlin kukuřice odrůdy Ricardinio. Nejnižších hodnot, tedy nejnižšího stupně poškození buněčných membrán dosahuje u odrůdy Ricardinio kontrolní varianta KK. U této varianty byl jediný nárůst z hodnot okolo 20 % na 40,59 % naměřen 10. den. Nejvyšší poškození membrán bylo zaznamenáno u varianty SS. U této varianty se nejprve vlivem působení desetidenního stresu zvyšovaly hodnoty výtoku elektrolytů z 34,13 % (2. den) na hodnotu 87,20 % (10. den). Během působení rehydratace se hodnota Rel% snížila na úroveň 65,30 % (14. den). Po opětovném navození sucha byl relativní výtok elektrolytů v rozpětí hodnot od 68,04 % (16. den) do 88,99 % (24. den). Až poslední, tedy 28. den byla naměřena nižší hodnota, a to 48,49 %, což je známka obnovení závlahy během posledních dnů pokusu.

Varianta KS reagovala po navození stresu zvýšením z hodnoty 16,73 % (14. den) až na úroveň 73,8 % (24. den). Toto zvýšení souvisí s působením vodního deficitu. Ke konci stresu se hodnoty opět snížily na úroveň 32,2 % (28. den). Rostliny z varianty SK reagovaly velmi obdobně jako u odrůdy Ambrosini. Při působení vodního stresu byla míra poškození membrán ve výši od 34,13 % (2. den) a na konci jeho působení byla hodnota Rel% 82,72 %



(10. den). Po obnovení závlivky dochází k postupnému snížení poškození membrán z hodnoty 76,23 (12. den) až na hodnotu 42,72 % (28. den), jak dokládá graf 2.



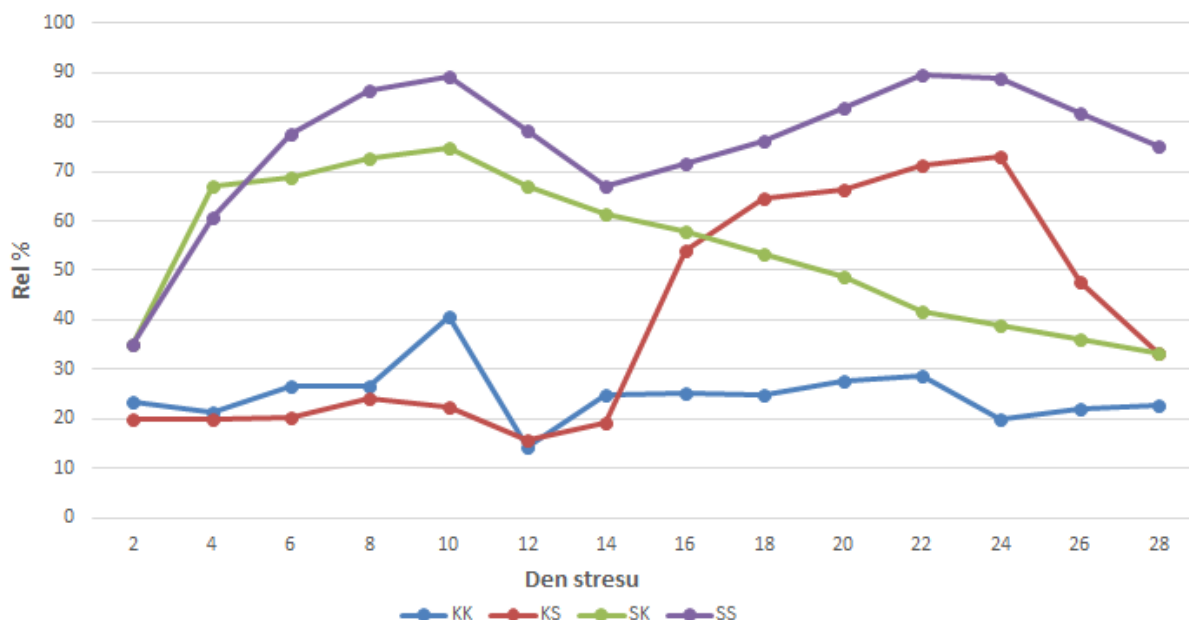
Graf 2 Relativní výtok elektrolytů (%) u odrůdy Ricardinio v závislosti na variantě pokusu a délce působení stresu

### Odrůda Lars

V grafu 3 lze sledovat vliv termínu odběru u genotypu Lars na relativní výtok elektrolytů v rámci pokusných variant. Nejnižší úroveň poškození vykazuje opět kontrolní varianta KK. U této varianty se hodnoty poškození membrán pohybovaly v rozpětí hodnot od 14,29 % (12. den) do 40,67 % (10. den). Naměřené hodnoty byly tedy kromě 10. dne relativně vyrovnané. Nejvyšší poškození buněčných membrán bylo zjištěno u varianty SS. Hodnoty u této varianty se pohybovaly v rozmezí od 35,03 % (2. den) až do 89,50 % (22. den). Při prvním působení desetidenního vodního deficitu byl Rel% v intervalu hodnot od 35,03 % (2. den) do 89,15 % (10. den). Po následné rehydrataci je možné zaznamenat snížení poškození membrán na úroveň 67,07 % (14. den). Při následném navození vodního deficitu se míra poškození zvýšila z této hodnoty až na hodnotu 89,49 % (22. den). Rehydratace opět snížila poškození membrány přibližně o 10 % v porovnání se stresem.

U varianty KS je možné pozorovat při závlaze relativně vyrovnané hodnoty, neboť na počátku závlahy byla hodnota Rel% ve výši 19,74 % (2. den) a na konci tohoto období byla 22,22 % (10. den). Po navození stresu dochází k nárůstu z hodnoty 15,78 % (12. den) až na hodnotu 73,10 % (24. den). Během posledních dvou dnů stresu bylo naměřeno opět snížení hodnot na 43,66 % (26. den) a 33,16 % (28. den). V případě varianty SK je možné nejprve

vlivem vodního deficitu pozorovat zvýšení hodnot poškození membrán z hodnoty 35,03 % (2. den) až na hodnotu 74,89 % (10. den). Po následné rehydrataci dochází k postupnému snížení výtoku elektrolytů z hodnoty 67,06 % (12. den) na hodnotu 33,11 % (28. den), viz graf 3.



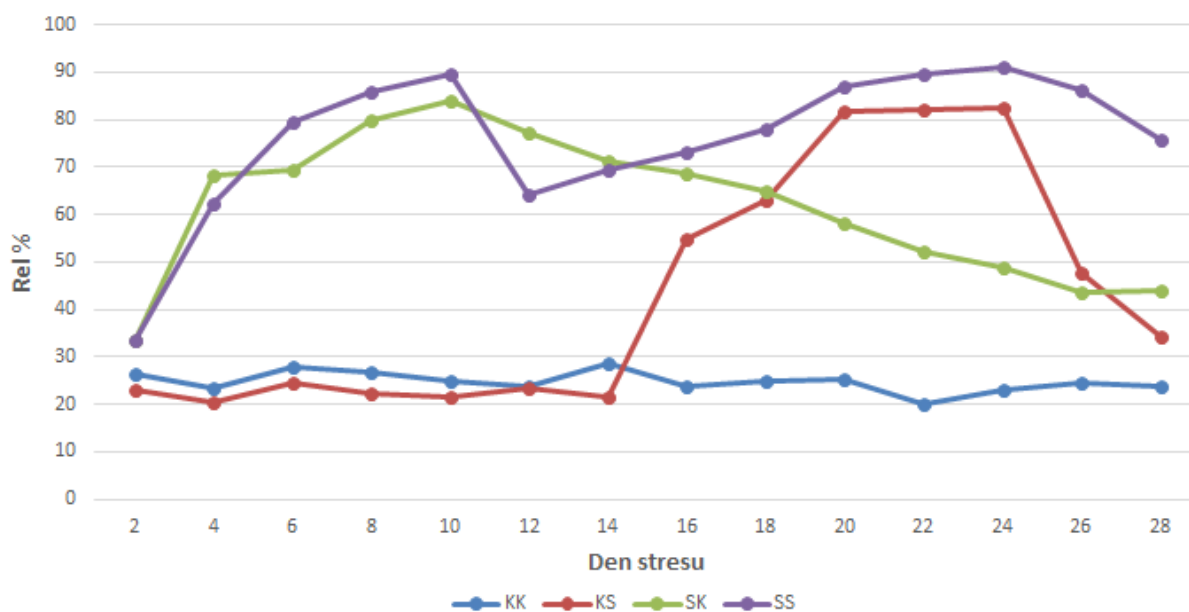
Graf 3 Relativní výtok elektrolytů (%) u odrůdy Lars v závislosti na variantě pokusu a délce působení stresu

### Odrůda LG 3252

Stejně jako předchozí grafy, tak i graf 4 charakterizuje vliv termínu odběru a varianty na relativní výtok elektrolytů u genotypu LG 3252. Nejnižší hodnoty vykazuje obdobně jako u předchozích odrůd varianta KK. Hodnoty jsou v rozmezí od 20,18 % (22. den) do 28,61 % (14. den). Nejvyšší míra poškození byla opět zjištěna u varianty SS. U rostlin z této varianty dochází nejprve vlivem působení vodního deficitu ke zvýšení poškození membrán z 33,47 % (2. den) na hodnotu 89,53 % (10. den). Rehydratace opět snížila výtok elektrolytu na hodnotu 64,07 % (12. den). Po opětovném navození stresu se hodnoty Rel% pohybují v rozpětí hodnot od 73,32 % (16. den) do 91,03 % (24. den). Díky následné závlisce se poškození membrán snížilo na 75,78 % (28. den).

Z grafu 4 je dále patrné, že u rostlin z varianty KS je nejprve hodnota relativního výtoku elektrolytů vyrovnaná, neboť naměřené hodnoty byly 20,43 % (4. den) až 24,58 % (6. den). Po navození vodního deficitu opět dochází ke zvýšení poškození membrán. V rámci vodního deficitu byla nejnižší hodnota zjištěna 14. den (21,70 %), naopak nejvyšší 24. den (82,35 %). Zcela opačný trend byl zjištěn u varianty SK, kdy nejprve dochází ke zvýšení míry poškození

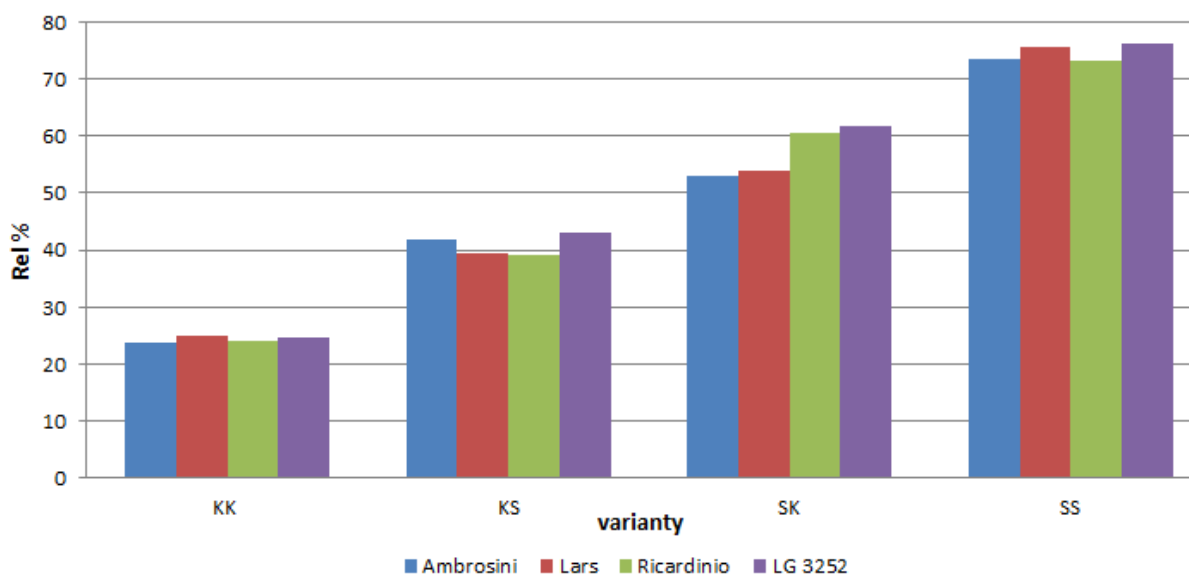
membrány z hodnoty 33,47 % (2. den) na hodnotu 83,91 % (10. den). Po rehydrataci dochází k obnovení stability membrán a tím i ke snížení výtoku elektrolytů. V této části varianty byla nejvyšší míra poškození zjištěna 12. den (77,22 %) a naopak nejnižší 28. den (43,81 %). Odrůda LG 3252 měla ve všech variantách nejvyšší hodnoty poškození buněčných membrán ze všech čtyř odrůd.



Graf 4 Relativní výtok elektrolytů (%) u odrůdy LG 3252 v závislosti na variantě pokusu a délce působení stresu

### Vliv varianty

Graf 5 charakterizuje vliv varianty v rámci sledovaných odrůd. Z uvedeného grafu vyplývá, že nejnižší poškození buněčných membrán bylo u kontrolní varianty KK. U této varianty se pohybovalo v rozpětí hodnot od 23,65 % (Ambrosini) do 24,92 % (Lars). Naopak nejvyšší míra poškození byla zjištěna u stresované varianty SS, kdy nejvyšší hodnota byla naměřena u odrůdy LG 3252, a to 76,08 % a naopak nejnižší u odrůdy Ricardinio (73,14 %). Z uvedených výsledků je dále patrné, že na vodní stres nejcitlivěji reagovala odrůda LG 3252 a naopak jako poměrně tolerantní se jeví odrůda Ambrosini.



Graf 5 Vliv varianty na relativní výtok elektrolytů v rámci odrůdy

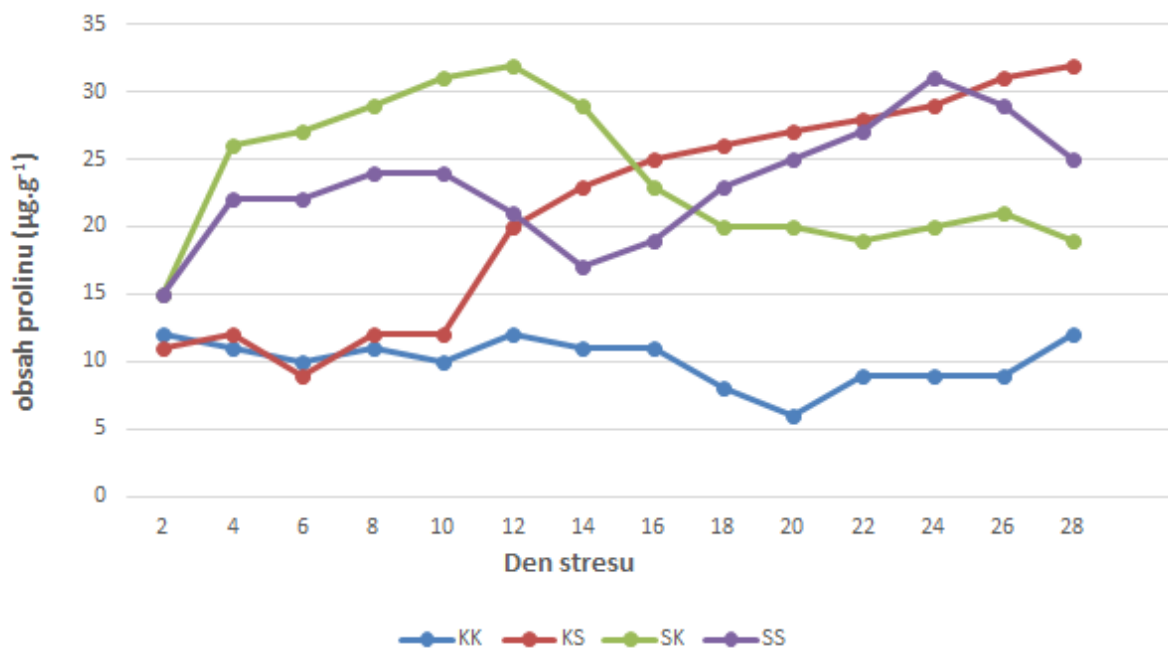
## 6.2 Obsah prolinu

### Odrůda Ambrosini

Graf 6 charakterizuje vliv termínu odběru a varianty pokusu na obsah prolinu u rostlin genotypu Ambrosini. Nejnižší hodnoty obsahu prolinu byly naměřeny u kontrolní varianty KK. U této varianty se obsah sledované aminokyseliny v  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  čerstvé hmoty pohyboval v rozmezí od 6 (20. den pokusu) do 12 (2., 12. a 28. den).

Naopak vysoký obsah prolinu byl zjištěn u stresované varianty SS. Zde byl 2. den pokusu naměřen obsah  $15 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  a do 10. dne se obsah prolinu zvýšil na  $24 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ . Vlivem působení čtyřdenní rehydratace klesla hodnota obsahu prolinu až na  $17 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  (24. den), tedy o  $7 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  v porovnání s koncem působení stresu. Po obnovení stresu se hodnoty obsahu sledované aminokyseliny pohybovaly v rozmezí od  $23 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  (18. den) do  $31 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  (24. den). Následná závlivka 28. den snížila obsahu prolinu na  $25 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ .

U varianty SK byly během vodního deficitu naměřeny hodnoty od  $15 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  (2. den) do  $32 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  (12. den). Rehydratace se projevila plynulým poklesem obsahu prolinu až na  $19 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  (28. den). U poslední varianty KS byly hodnoty během prvních 10ti dnů od  $11 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  (2. den) do  $12 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  (10. den). Po ukončení závlivky stoupl obsah aminokyseliny až na  $32 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  (28. den), jak je patrné z grafu 6.

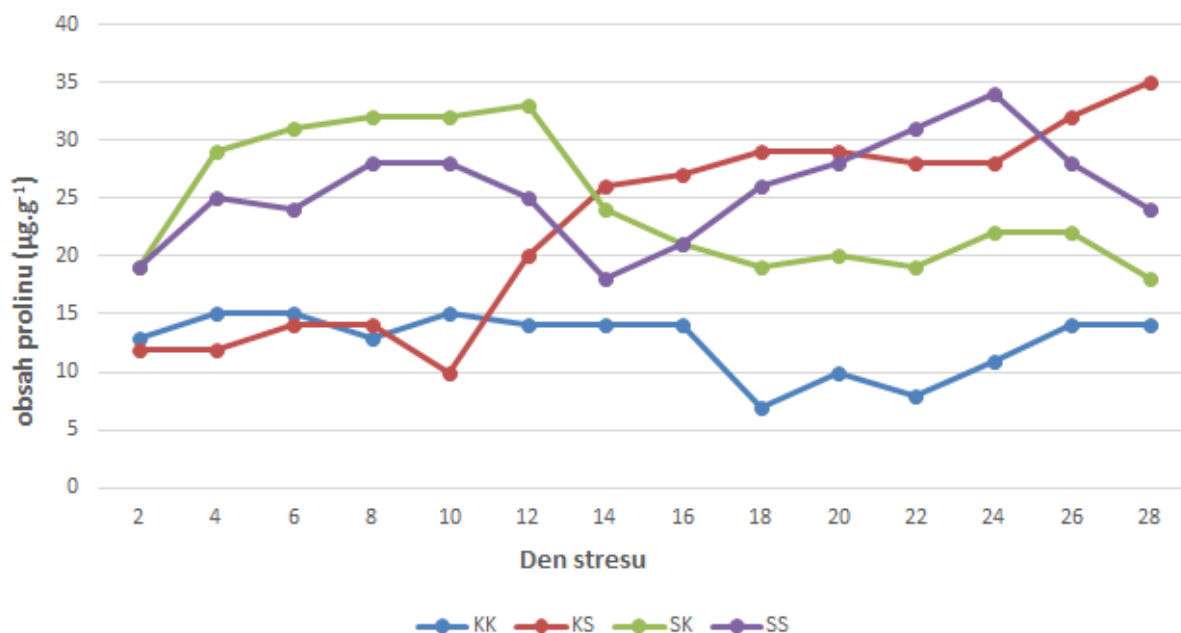


Graf 6 Obsah prolinu v ( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  čerstvé hmoty) u odrůdy Ambrosini v závislosti na variantě pokusu a délce působení stresu

### Odrůda Ricardinio

V grafu 7 můžeme sledovat vliv termínu odběru a varianty na obsah prolinu v listech juvenilních rostlin kukuřice genotypu Ricardinio. Nejnižší hodnoty obsahu prolinu vykazuje varianta KK. Obsah prolinu je v tomto případě poměrně vyrovnaný a pohybuje se v rozmezí od  $7 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  (18. den) do  $15 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  (4. a 6. den). Vysoké hodnoty obsahu prolinu byly zjištěny u varianty SS. Během prvních 10ti dnů stresu byl obsah v rozmezí od  $19 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  (2. den) do  $28 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  (10. den). Po čtyřdenní rehydrataci byla naměřena hodnota obsahu prolinu o 32,14 % nižší v porovnání s koncem působení stresu. Opětovné navození vodního deficitu způsobilo nárůst obsahu prolinu. Nejprve byl nárůst pozvolný, neboť druhý den po opětovném navození stresu byl obsah prolinu  $21 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ , ale na jeho konci již  $33 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ . Zálivka v posledních čtyřech dnech pokusu snížila hodnotu obsahu prolinu na  $23 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  (28. den).

U rehydratované varianty SK byly během stresu způsobeným suchem naměřeny hodnoty obsahu v rozmezí od  $17 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  (2. den) do  $33 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  (10. a 12. den). Po obnovení zálivky postupně obsah prolinu klesl na  $17 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  (28. den). U varianty KS byl sledován podobný průběh pokusu jako u odrůdy Ambrosini. Zpočátku se obsah prolinu pohyboval od  $10 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  (10. den) do  $14 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  (6. a 8. den) a po navození stresu se zvýšila koncentrace prolinu v čerstvé hmotě listů až na  $35 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  (28. den).

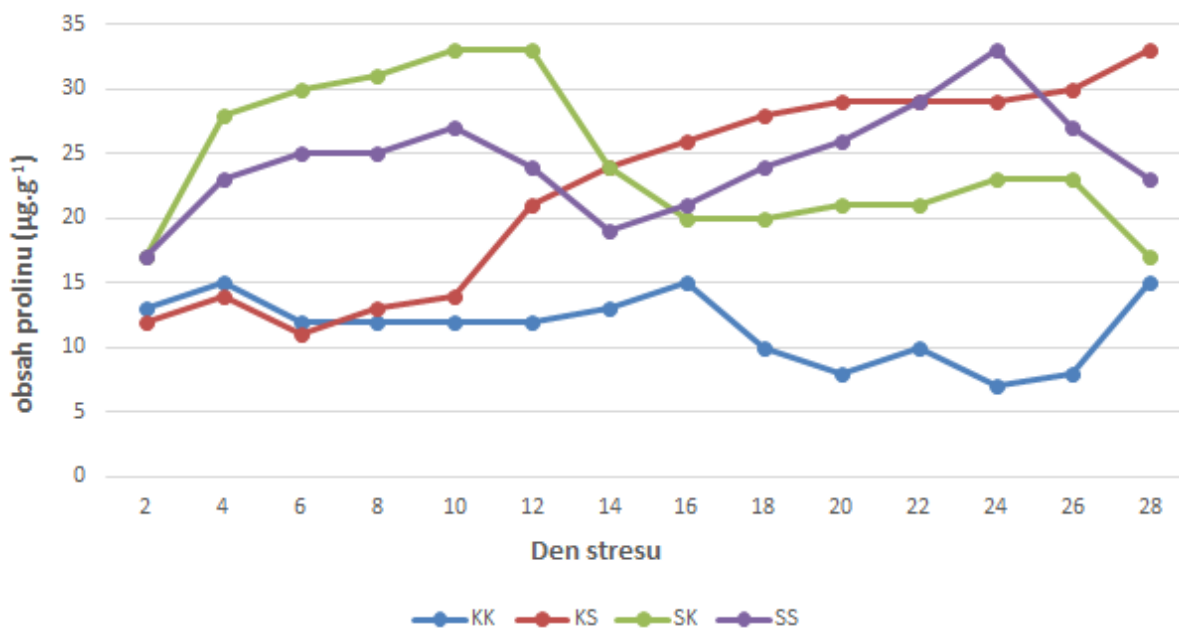


Graf 7 Obsah prolinu v ( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  čerstvé hmoty) u odrůdy Ricardinio v závislosti na variantě pokusu a délce působení stresu

### Odrůda Lars

Vliv termínu odběru a genotypu Lars na obsah prolinu v rámci pokusných variant charakterizuje graf 8. I u této odrůdy byly nejnižší hodnoty obsahu prolinu u varianty KK, a to od  $7 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  (24. den) do  $15 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  (16. den). Na rozdíl od kontrolní varianty byl vysoký obsah prolinu zjištěn u varianty SS. Během počátečního stresu byl obsah prolinu v rozmezí od  $17 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  (2. den) do  $27 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  (10. den). Čtrnáctý den se projevil pozitivní efekt závlivky, a proto obsah prolinu se snížil na hodnotu  $19 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ . Po obnovení stresu byly hodnoty obsahu prolinu v rozmezí od  $21 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  (16. den) do  $33 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  (24. den). Rehydratace poslední čtyři dny opět snížila obsah prolinu na  $23 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  (28. den).

Vysoké hodnoty obsahu prolinu byly také naměřeny u varianty SK. Prvotní stres se na rostlinách podepsal zvýšením obsahu prolinu ze  $17 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  (2. den) až na  $33 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  (10. den). Na rehydrataci zareagovaly rostliny poklesem hodnot obsahu, a to na  $17 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  (28. den). U varianty, která byla prvních 10 dnů zavlažována, a poté stresována vodním deficitem, tedy KS byl zpočátku obsah prolinu od  $11 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  (6. den) do  $14 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  (4. a 10. den). Po navození nedostatku vody vzrostl obsah aminokyseliny až na  $33 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  (28. den), jak vyplývá z grafu 8.



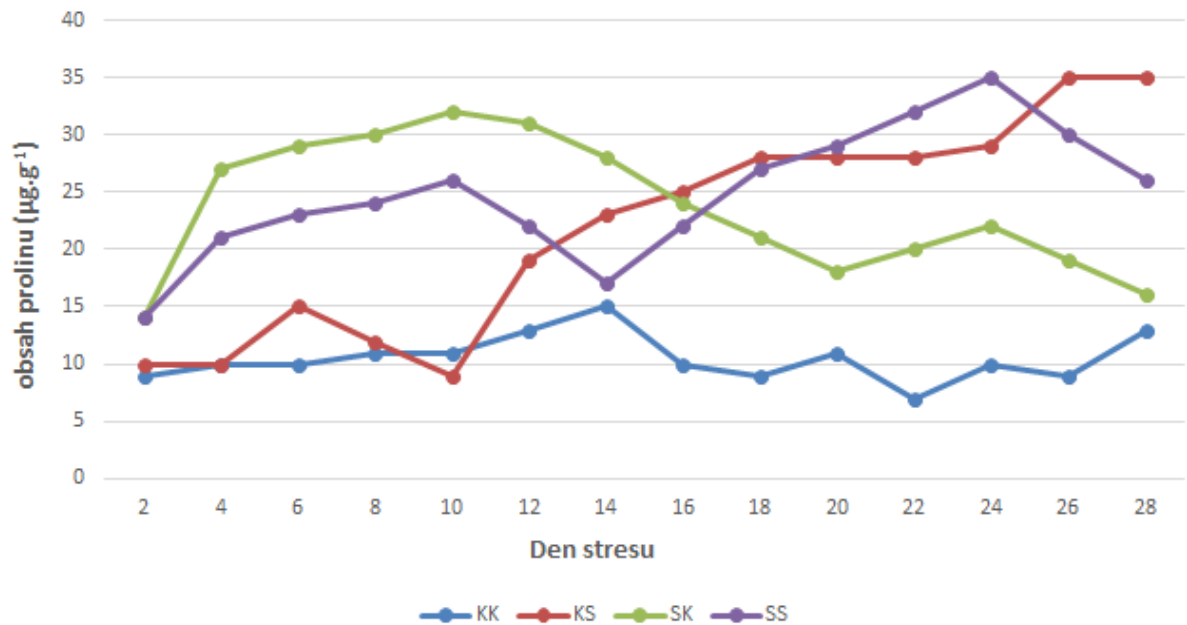
Graf 8 Obsah prolinu v ( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  čerstvé hmoty) u odrůdy Lars v závislosti na variantě pokusu a délce působení stresu

### Odrůda LG 3252

Graf 9 charakterizuje vliv termínu odběru a varianty pokusu na obsah prolinu v rámci genotypu LG 3252. Stejně jako u předchozích odrůd byly i u této odrůdy nejnižší hodnoty sledované aminokyseliny zjištěny u kontrolní varianty KK. Obsah prolinu se u této varianty pohyboval v rozmezí hodnot od  $7 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  (22. den) do  $15 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  (14. den). Vysoké hodnoty byly naměřeny opět u varianty SS, a to v rozmezí od  $14 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  (2. den) do  $26 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  (10. den). Tento nárůst obsahu byl způsoben navozením vodního deficitu. Po následné rehydrataci se obsah prolinu snížil na  $17 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  (14. den). Během opětovného nedostatku vody byly hodnoty obsahu prolinu od  $22 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  (16. den) do  $35 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  (24. den). Nárůst hodnot obsahu byl 26. den přerušen zálivkou a vlivem této skutečnosti byla 28. den naměřena hodnota obsahu aminokyseliny prolin  $26 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ .

U varianty SK dosáhl obsah prolinu také vysokých hodnot, tedy obdobně jako tomu bylo předchozích odrůd. Během prvních 10ti dnů stresu byl obsah prolinu v rozmezí hodnot od  $14 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  (2. den) do  $32 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  (10. den). Rehydratace snížila 12. den obsah prolinu na  $31 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  a až do konce pokusu obsah téměř lineárně klesal až na  $16 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  (28. den). U rostlin odrůdy LG 3252 rostoucích ve variantě KS by zaznamenán shodný trend změn obsahu prolinu v listech v závislosti na působení vodního deficitu, jako u předcházejících odrůd. Během zálivky se pohybovaly hodnoty obsahu prolinu v rozmezí od  $9 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  (10. den) až

15  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  (6. den) a po navození vodního stresu se opět postupně zvyšovaly až na 35  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  (26. a 28. den), jak je patrné z uvedeného grafu 9.

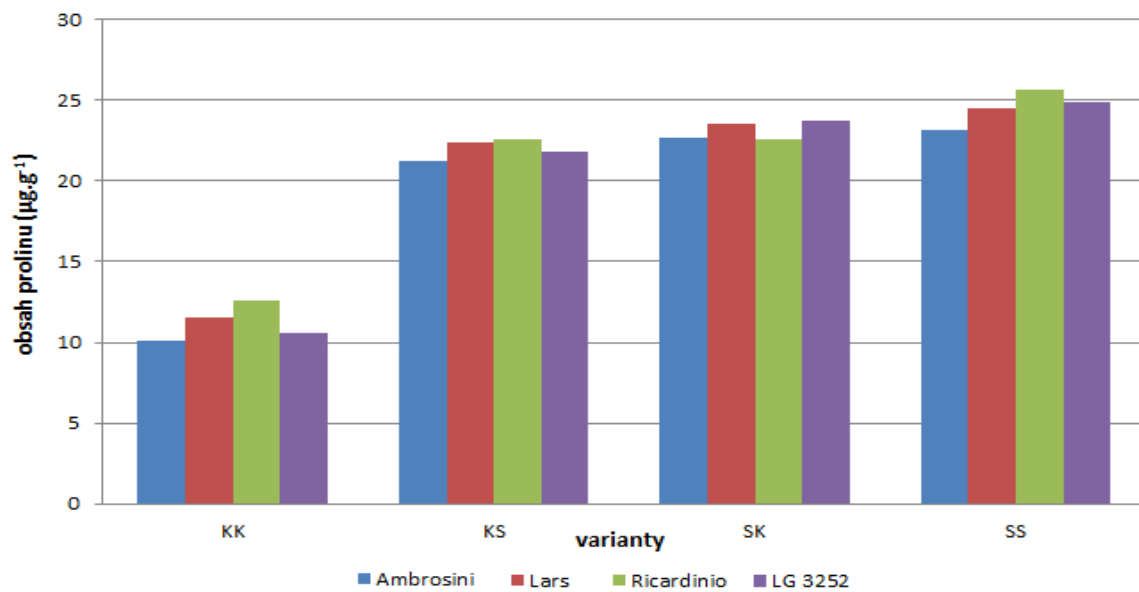


Graf 9 Obsah prolinu v ( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  čerstvé hmoty) u odrůdy LG 3252 v závislosti na variantě pokusu a délce působení stresu

### Vliv varianty

V grafu 10 je patrný vliv varianty v rámci sledovaných odrůd. Z tohoto grafu vyplývá, že nejnižší tvorba prolinu byla naměřena u kontrolní varianty KK. U této varianty se hodnoty obsahu pohybovaly v rozmezí od 10  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  (Ambrosini) do 13  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  (Ricardinio). Naopak nejvyšší tvorba prolinu byla zjištěna u varianty SS, kde byla nejvyšší hodnota naměřena u odrůdy Ricardinio, a to 29  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ , nejnižší u odrůdy Ambrosini (26  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ). Varianty KS a SK dosahovaly obdobně vysokých hodnot obsahu jako varianta SS. Z těchto výsledků je dále patrné, že v reakci na vodní deficit reagovala tvorbou prolinu nejcitlivěji odrůda Ricardinio a Lars, naopak nejnižších hodnot této aminokyseliny bylo naměřeno u odrůdy Ambrosini.





Graf 10 Vliv varianty na obsah prolinu v rámci odrůdy

## 7. Diskuze

### 7.1 Relativní výtok elektrolytů

Z výsledků pokusu vyplývá, že se zvyšujícím se vodním deficitem se zvyšuje u rostlin kukuřice i poškození buněčných membrán stanovených na základě relativního výtoku elektrolytů (Rel%), což je v souladu se závěry Valentoviče et al. (2006). Hodnoty relativního výtoku elektrolytů jsou u stresovaných rostlin v rozmezí od 39,05 % do 76,08 %, což jsou hodnoty až o 51,29 % vyšší s porovnáním s kontrolní variantou. Obdobná reakce byla zaznamenána také u rostlin slunečnice (*Helianthus annuus* L.) (Hewezi et al.; 2006), řepky (*Brassica napus* L. ssp. *napus*) (Zhou et Leul, 1998) po působení nízké teploty.

Dále je patrné, že rostliny velmi dobře reagují na obnovení závlivky, čímž se míra poškození membrán plynule snižuje. Tuto skutečnost potvrzuje i výzkum Bajji et al. (2001), který se zabýval podobnou problematikou u rostlin pšenice tvrdé (*Triticum durum* Desf.).

Nejvyšší hodnoty poškození byly u všech čtyř pokusných variant naměřeny u odrůdy LG 3252. Tato odrůda tedy reaguje na stres suchem velmi citlivě. U této odrůdy byla naměřena hodnota relativního výtoku elektrolytů i přes 90 %, což ukazuje na vysoký stupeň poškození buněčných membrán. Naopak nejnižší hodnoty byly ve většině případů naměřeny u odrůdy Ambrosini, která se tedy v tomto směru jeví vůči poškození suchem jako poměrně tolerantní. Je to důkaz toho, že na úrovni poškození buněčných membrán má při působení vodního deficitu velký vliv i genotyp rostliny, což je ve shodě se závěry Gnanasiri et al. (1990). Toto tvrzení podporuje i Moussa et al. (2008), jejichž výzkum se zabýval porovnáním vlivu sucha na dva genotypy kukuřice seté, konkrétně suchovzdorné odrůdy Giza 2 a odrůdy citlivé na stres suchem, Trihybrid 321. Genotypové rozdíly potvrzují také výsledky Hewezi et al. (2006) u slunečnice.

Z výsledků je dále patrné, že u juvenilních rostlin kukuřice trpících nedostatkem vody dochází i po obnovení závlivky (varianta SK) k vyššímu výtoku elektrolytů a tím vyšší úrovni poškození buněčných membrán, než u rostlin zavlažovaných a následně stresovaných vodním deficitem (varianta KS).

Na základě získaných výsledků je možné konstatovat v souladu s pracemi Hewezi et al. (2006) a Allinne et al. (2009), že relativní výtok elektrolytů je velmi vhodným ukazatelem pro stanovení přímého vlivu vodního deficitu na rostliny, především na fyzikální a chemické vlastnosti cytoplazmatické membrány a na její propustnost.

## 7.2 Obsah prolinu

Z výsledků vyplývá, že vodní deficit má u rostlin kukuřice významný vliv na tvorbu aminokyseliny prolin, která se ve zvýšené míře tvoří ve stresu, a proto se zvyšujícím se nedostatkem vody stoupá její obsah, což potvrzuje Hare et Cress (1997) i Voetberg et Sharp (1991). Uvedený trend změn obsahu prolinu po působení vodního deficitu potvrzují ve své práci u pšenice (*Triticum aestivum* L.) Gruszka Vendruscolo et al. (2007). Obdobnou reakci ve zvýšení koncentrace prolinu je možné zaznamenat také při působení nízkou teplotou (Jaijn et al., 2007) a působením toxických látek (Ben Ghnaya et al., 2007).

Podle Hareho et Cresse (1997) i Voetberga et Sharpa (1991) dále dochází k poklesu koncentrace prolinu po navození opětovném navození závlivky. Uvedený závěr byl potvrzen u všech variant s vodním deficitem.

V průběhu vodního deficitu se u stresovaných variant pohyboval obsah prolinu většinou v rozmezí mezi 20 až 35  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  čerstvé hmoty. U kontrolní varianty byl obsah této aminokyseliny až třikrát nižší (okolo 10  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ).

Z výsledků je průkazné, že existují genotypové rozdíly v obsahu prolinu, kdy nižší obsah prolinu byl zjištěn u odrůdy Ambrosini (19,28  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ) a naopak vyšší u odrůd Ricardinio (20,86  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ) a Lars (20,49  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ). Tyto závěry potvrzují např. Brini et al. (2007), kteří se zabývali studiem transgenních a nemodifikovaných pšenic. Tyto výsledky jsou také v souladu se závěry Mohammadkhaniho et Heidariho (2008), kteří uskutečnili výzkum zaměřený i na obsah prolinu během vodního deficitu u dvou různých odrůd kukuřice seté.

Na rozdíl od relativního výtoku elektrolytů nebyl vyzorován významnější rozdíl ve výši hodnot obsahu prolinu mezi variantou KS, tedy rostlinami, které byly nejprve pravidelně zavlažovány a poté stresovány nedostatkem vody a mezi variantou SK, rostlinami nejprve stresovanými a poté do konce pokusu zavlažovanými.

Aminokyselina prolin je v životě rostlin kvůli své úloze během vodního deficitu velmi důležitou látkou. Vzhledem k tomu, že ji lze podle Hayata et al. (2012) rostlinám dodávat z vnějšího prostředí může mít v budoucnosti velký význam při pěstování zemědělských plodin, a to zejména v oblastech trpících nedostatkem vody.

## 8. Závěr

Cílem této práce bylo zjistit, zda má vodní deficit vliv na relativní výtoku elektrolytů a obsah prolinu u čtyř různých genotypů kukuřice seté.

Z výsledků vyplývá:

1. U rostlin rostoucích v podmínkách vodního stresu dochází k průkaznému poškození membrán buněk a tím i k vyššímu výtoku elektrolytů.
2. Ze sledovaných variant dochází k nejvyššímu výtoku elektrolytů u varianty SS (72,32 %) a naopak k nejnižšímu u varianty KK (24,55 %).
3. Nejvyšší poškození buněčných membrán v rámci varianty SS bylo zjištěno u odrůdy LG 3252 (76,09 %) a naopak nejnižší poškození vykazují rostliny odrůdy Ambrosini (73,36 %).
4. Byla potvrzena hypotéza, že existují rozdíly v reakci jednotlivých genotypů na vodní stres. Jako poměrně tolerantní se jeví odrůda Ambrosini a naopak jako citlivý genotyp lze označit LG 3252.
5. U rostlin rostoucích v podmínkách vodního stresu dochází k průkaznému zvýšení obsahu aminokyseliny prolin.
6. Ze sledovaných variant dochází k nejvyšší tvorbě prolinu u varianty SS ( $24,54 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  čerstvé hmoty) a naopak k nejnižší u varianty KK ( $11,22 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ).
7. Nejvyšší obsah prolinu u varianty SS byl zjištěn u odrůd Ricardinio ( $25,64 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ) a naopak nejnižší u odrůdy Ambrosini. ( $23,14 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ).
8. Byla potvrzena hypotéza, že existují rozdíly v reakci jednotlivých genotypů na vodní stres. Jako poměrně tolerantní se jeví odrůda Ambrosini a naopak jako citlivé genotypy lze označit Ricardinio a Lars.
9. Byla potvrzena hypotéza o vlivu genotypu na obsah prolinu a relativního výtoku elektrolytů.

## 9. Seznam literatury

- Agrocs.cz. 2015 Substráty - Primaflora. [online]. [cit. 2015-03-26].  
Dostupné z: <<http://www.agrocs.cz/OLD/sk/zahradna-divizia/produkty/primaflora/>>.
- Ahmad, P., Prasat, M. N. V. 2012. Abiotic stress response in plants. Springer. New York. 473 p. ISBN: 9781461406334.
- Allinne, C., Maury, P., Sarrafi, A., Grieu, P. 2009. Genetic control of physiological traits associated to low temperature growth in sunflower under early sowing conditions. *Plant Science*. 177. 349-359.
- Allinne, C. Modélisation écophysiological et analyse génétique pour la recherche de génotypes de tournesol adapté aux basses températures causées par des semis précoces [on-line]. Institut National Polytechnique de Toulouse. 2010 [cit. 2015-03-20].  
Dostupné z: <<http://ethesis.inp-toulouse.fr/archive/00000998/>>.
- Anděra, M. 1997. Pouště a polopouště. Nakladatelství Slovart. Praha. 162 s. ISBN: 8072090062.
- Baji, M, Kinet, J. M., Lutts, S. 2001. The use of the electrolyte leakage method for accessing cell membrane stability as a water stress tolerance test in durum wheat. *Plant Growth Regulation*. 100. 1-10.
- Bates, L. S., Waldren, R. P., Teare, I. D., 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studied. *Plant and Soil*. 39 (1). 205-207.
- Ben Ghayay, A., Charles, G., Hourmant, A., Ben Harnida, J., Branchard, M. 2007. Morphological and physiological characteristics of rapeseed plants regenerated in vitro from thin cell layers in the presence of zinc. *Comptes Rendus Biologies*. 330 (10). 728-734.
- Bláha, R., Bocková, R., Hnilička, F., Hnilíčková, H., Holubec, V., Möllerová, J., Štolcová, J., Zieglerová, J. 2003. Rostlina a stres. Výzkumný ústav rostlinné výroby. Praha. 156 s. ISBN: 8086555321.
- Brini, F., Hanin, M., Lumbreras, V., Amara, I., Khoudi, H., Hassairi, A., Pages, M., Masmoudi, K. 2007. Overexpression of wheat dehydrin DHN-5 enhances tolerance to salt and osmotic stress in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Reports*. 26 (11). 2017-2026.
- Bush, M., B., Piperno, R., Colinvaux, P. 1898. A 6,000 year history of Amazonian maize cultivation. *Nature*. 340. 303-305.

- Campose, P. S., Quartin, V., Ramalho, J. C., Nunes, M. A. 2003. Electrolyte leakage and lipid degradation account for cold sensitivity in leaves of *Coffea* sp. plants. *Journal of Plant Physiology*. 160. 283-292.
- Český statistický úřad. [online]. [cit. 2015-03-08].  
Dostupné z: <[http://vdb.czso.cz/vdbvo/maklist.jsp?kapitola\\_id=11&expand=1](http://vdb.czso.cz/vdbvo/maklist.jsp?kapitola_id=11&expand=1)>.
- Dostál, J. 1989. *Nová květena ČSSR* 2. díl. Academia. Praha. 1548 s. ISBN: 80-200-0095-X.
- Eagri. cz. Databáze odrůd. [online]. [cit. 2015-03-26]. Dostupné z: <<http://eagri.cz/public/app/sok/odrudyNouQF.do>>.
- Faostat.org. [online]. [cit. 2015-03-08]. Dostupné z: <<http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>>.
- Gnanasiri, S. P., Hirohumi, S., Kounosuke, F., Shoitsu, O. 1990. Cell membrane stability and leaf water relations as affected by phosphorus nutrition under stress in maize. *Soil Science and Plants Nutrition*. 36 (4). 661-666.
- Gruzská Vendruscolo, E. C., Schuster, I., Pileggi, M., Scapim, C. A., Correa Molinari, H. B. Marur, C. J., Esteves Viera, L. G. 2007. Stress-induced synthesis of proline confers tolerance to water deficit in transgenic wheat. *Journal of Plant Physiology*. 164 (10). 1367-1376.
- Hare, P. D., Cress, W. A. 1997. Metabolic implications of stress – induced proline accumulation in plants. *Plant Growth Regulation*. 21. 79-102.
- Harsch, N., Deepti, G. 2005. Differential sensitivity of C3 and C4 plants to water deficit stress: Association with oxidative stress and antioxidants. *Environmental and Experimental Botany*. 58. 106-113.
- Hale, M. G., Orcutt, D. M. 1987. *The physiology of plants under stress*. John Wiley and Sons. New York. 206 p. ISBN: 0471889970.
- Hayat, S., Hayat, Q., Alyemeni, M. N., Wani, S. A., Pichtel, J., Ahmad, A. 2012. Role of proline under changing environments. *Plant Signaling and behavior*. 7 (11). 1-11.
- Hewezi, T., Leger, M., El Kayal, W., Gentzittel, L. 2006. Transcriptional profiling of sunflower plants growing under low temperatures reveals an extensive down-regulation of gene expression associated with chilling sensitivity. *Journal of Experimental Botany*. 57. 3109-3122.
- Honnerová, J., Rothová, O., Holá, D., Kočová, M., Kohout, L., Kvasnica, M. 2010. The Exogenous Application of Brassinosteroids to *Zea mays* L. Stressed by Long-Term Chilling Does Not Affect the Activities of Photosystem 1 or 2. *Journal of Plant Growth Regulation*. 29. 500-505.

- Honsová, D. Langův dešťový faktor [online]. 2007. [cit. 2015-03-10]. Dostupné z: <<http://www.priroda.cz/clanky.php?detail=910>>.
- Jajin, R., Shivastava, A. K., Solomon, S., Yadav, R. L. 2007. Low temperature stress-induced biochemical changes affect stubble bud sprouting in sugarcane (*Saccharum* spp. hybrid). *Plant Growth Regulation*. 53 (1). 17-23.
- Kang, G., Li, G., Xu, W., Peng, X., Han, Q. Zhu, Y., Guo, T. 2012. Proteomics reveals the effects of salicylic acid on growth and tolerance to subsequent drought stress in wheat. *Journal of proteome research*. 11. 6066-6079.
- Kazda, J., Mikulka, J., Prokinová, E. 2010. Encyklopedie ochrany rostlin. Profi Press. Praha. 400 s. ISBN: 9788086726342.
- Khan, M. A., Iqbal, M., Akram, M., Ahmad, M., Hassan, M. W., Jamil, M. 2013. Recent advances in molecular tool development for drought tolerance breeding in cereal crops. *Zemdirbyste-Ariculture*. 100 (3). 325-334.
- Klaus, A., Heriber, H. 2004. Reactive oxygen species: Metabolism, Oxidative stress, and Signal Transduction. *Anula Review of Plant Biology*. 55. 373-399.
- Kúdela, V., Ackermann, P., Prášil, I. T., Rod, J., Veverka, K. 2013. Abiotikózy rostlin: poruchy, poškození a poranění. Academia. Praha. 566 s. ISBN: 9788020022622.
- Larcher, W. 1995. *Physiological Plant Ecology*. Springer. New York. 506 p. ISBN: 35405811623.
- Machado, S., Paulsen, G. M. 2001. Combined effects of drought and high temperature on water relations of wheat and sorghum. *Plant and soil*. 233. 179-187.
- Meteorologický slovník výkladový a terminologický. 2015. [online]. [cit. 2015-03-26]. Dostupné z: <<http://slovník.cmes.cz/>>.
- Mohammadkhani, N., Heidari, R. 2008. Drought - induced Accumulation of Soluble Sugars and Proline in Two Maize Varieties. *World Applied Sciences Journal*. 3(3). 448-453.
- Moussa, H. R., Abdel- Aziz, S. M. 2008. Comparative response of drought tolerance and drought sensitive maize genotypes to water stress. *Australian Journal of Crops Science* 1(1). 31-36.
- Nilsen, T. E., Orcutt, D. M. 1996. *Physiology of plants under stress (abiotic factors)*. New York-Chichester- Brisbane-Toronto-Singapore-Weinheim. 689 p. ISBN: 0471035126.
- Penka, J. 1985. *Transpirace a spotřeba vody rostlinami*. Academia. Praha. 250 s. ISBN: 9780123485304.
- Poruba, J. 2015. Šlechtění kukuřice v České republice [online]. [cit. 2014-04-11]. Dostupné z: <<http://uroda.cz/slechteni-kukurice-v-ceske-republice/>>.

- Povolný, M., Vacek, E. 2013. Přehled odrůd 2013 kukuřice. Ústřední a kontrolní ústav zemědělský. Brno. 88 s. ISBN: 9788074010798.
- Procházka, S. (eds.). 1998. Fyziologie rostlin. Academia. Praha. 484 s. ISBN: 8020005862.
- Quan, L., Zhang, B., Shi, W., Li, H. 2008. Hydrogene Peroxide in Plants: a Versatile Molecule of the Reactive Oxygen Species Network. *Journal of Integrative Plant Biology*. 50 (1). 2-18.
- Rebourg, C., Chastanet, M., Gouesnard, B., Welcker, C., Dubreuil, P., Charcosset, A. 2002. Maize introduction into Europe: the history reviewed in the light of molecular data. *Theoretical and Applied Genetics* 106. 895-903.
- Rowan, F. S. 2003. The evolution of C4 photosynthesis. *New Phytologist*. 161. 341-370.
- Scott, P. 2008. *Physiology and behaviour*. John Wiley and Sons, Inc. New York. 305 p. ISBN: 9780470850244.
- Skládanka, J. Kukuřice setá [online]. Ústav výživy zvířat a pícninářství MZLU v Brně. 2006 [cit. 2014-04-11]. Dostupné z: <[http://web2.mendelu.cz/af\\_222\\_multitext/picniny/sklady.php?odkaz=kukurice.html](http://web2.mendelu.cz/af_222_multitext/picniny/sklady.php?odkaz=kukurice.html)>.
- Sheffield, J., Wood, E. F. Drought: past problems and future scenarios. 2011. Taylor & Francis. New York. 210 p. ISBN: 9781849710824.
- Shinozaki, K., Yamaguchi- Shinozaki, K. 1999. Molecular response to cold, drought, heat and salt in higher plants. R. G. Landes company. Austin. 170 p. ISBN: 1597342238.
- Schulze, E., Beck, E., Müller- Hohenstein, K. 2005. *Plant Ecology*. Springer-Verlag Berlin. Heidelberg. 702 p. ISBN: 354020833X.
- Schwanitz, F. 1969. Vývoj kulturních rostlin. Státní zemědělské nakladatelství. Praha. 544 s.
- Strnadová, D., Urban, J., Steinová, Š., Slaba, Martin., Růžičková, V., Novák, P., Kubásková, L., Janusová, L., Ivanega, J. 2012. Z historie zemědělství. Národní zemědělské muzeum. Praha. 147 s. ISBN: 9788086874401.
- Syngenta. com. Corn. [online]. [cit. 2015-03-08]. Dostupné z: <<http://www.syngenta.com/global/corporate/en/products-and-innovation/key-crops/Pages/corn.aspx>>.
- Syngenta.com.2012. Kukuřice - plodinový katalog. [online]. [cit. 2015-03-26]. Dostupné z: <[http://www3.syngenta.com/country/cz/cz/syngenta/ke-stazeni/informacni-prospekty/Documents/CZ\\_kukurica\\_final.pdf](http://www3.syngenta.com/country/cz/cz/syngenta/ke-stazeni/informacni-prospekty/Documents/CZ_kukurica_final.pdf)>.
- Šuk, J., Balík, J., Jakobe, P., Jambor, V., Kohout, V., Loučka, R., Táborský, V., Vrzal, J. 1998. Kukuřice. VP AGRO spol. s.r.o. Kněževés. 131 s. ISBN: 8086153991.



- Tanaka, Y., Sano, T., Tamaoki, M., Nakajima, N., Kondo, N., Hasezawa, S. 2005. Ethylene inhibits abscisic acid - induced stomatal closure in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*. 138. 2337-2343.
- The Perennial Agriculturalist. [online]. [cit. 2015-03-08].  
Dostupné z: <<http://gardenengineer.blogspot.cz/2013/09/more-teosinte-ears-and-few-more-seeds.html>>.
- Valentovič, P., Luxová, M., Kolárovič, L., Gašparíková, O. 2006. Effect of osmotic stress on compatible solutes content, membrane stability and water relations in two maize cultivars. *Plant, Soil and Environment*. 52 (4). 186-191.
- Voetberg, G. S., Sharp, R. E. 1991. Growth of Maize Primary Root at Low Water Potentials – Role of Increased Proline Deposition in Osmotic Adjustments. *Plant Physiology*. 96. 1125-1130.
- Vrzal, J., Štráfeda, J., Novák, D., Kohout, V. 1995. *Základy pěstování kukuřice a jednoletých píceňin*. Institut výchovy a vzdělání Mze ČR. Praha. 32 s. ISBN: 8071050970.
- Výzkumný ústav meliorací a ochrany půdy. 2011. [online]. [cit. 2015-03-26].  
Dostupné z: <<http://www.vumop.cz/>>.
- Wayne Smith, C., Betrán, J., Runge, E. C. A. 2004. *Corn- origin, history, technology, and production*. John Wiley and Sons. Hoboken, New Jersey. 949 p. ISBN: 0471411841.
- Wordpress.com. [online]. [cit. 2015-03-08].  
Dostupné z: <<https://davisla3.files.wordpress.com/2012/10/tripsacum-dactyloides.jpg>>.
- Zimolka, J. (eds). 2008. *Kukuřice- hlavní a alternativní užitkové směry*. Profi Press. Praha. 200 s. ISBN: 9788086726311.
- Zhang, L. X., Gao, M., Li, S., Liang, Z. 2011. Modulation of plant growth, water status and antioxidative systems of two maize cultivars induced by exogenous glycinebetaine under long term mild drought stress. *Pakistan Journal of Botany*. 43 (3). 1587-1594.
- Zhou, W., Leul, M. 1998. Uniconazole - induced alleviation of freezing injury in relation to changes in hormonal balance, enzyme activities and lipid peroxidation in winter rape. *Plant Growth Regulation*. 26. 41-47.

## Seznam příloh

- Obr. I Založení pokusu metodou postupných výsevů
- Obr. II Rostliny kukuřice ve fázi 10-13 BBCH
- Obr. III Rostliny kukuřice ve fázi 16 BBCH (zahájení pokusu)
- Obr. IV Založení pokusu- rostliny z kontrolní varianty (KK)
- Obr. V Příprava terčků pomocí korkovrtu
- Obr. VI Zkumavky s terčíky před měřením  $REL_1$
- Obr. VII Měření vodivosti pomocí konduktometru
- Obr. VIII Navážené vzorky pro stanovení obsahu prolinu
- Obr. IX Příprava filtrátu
- Obr. X Spektrometr Helios  $\gamma$

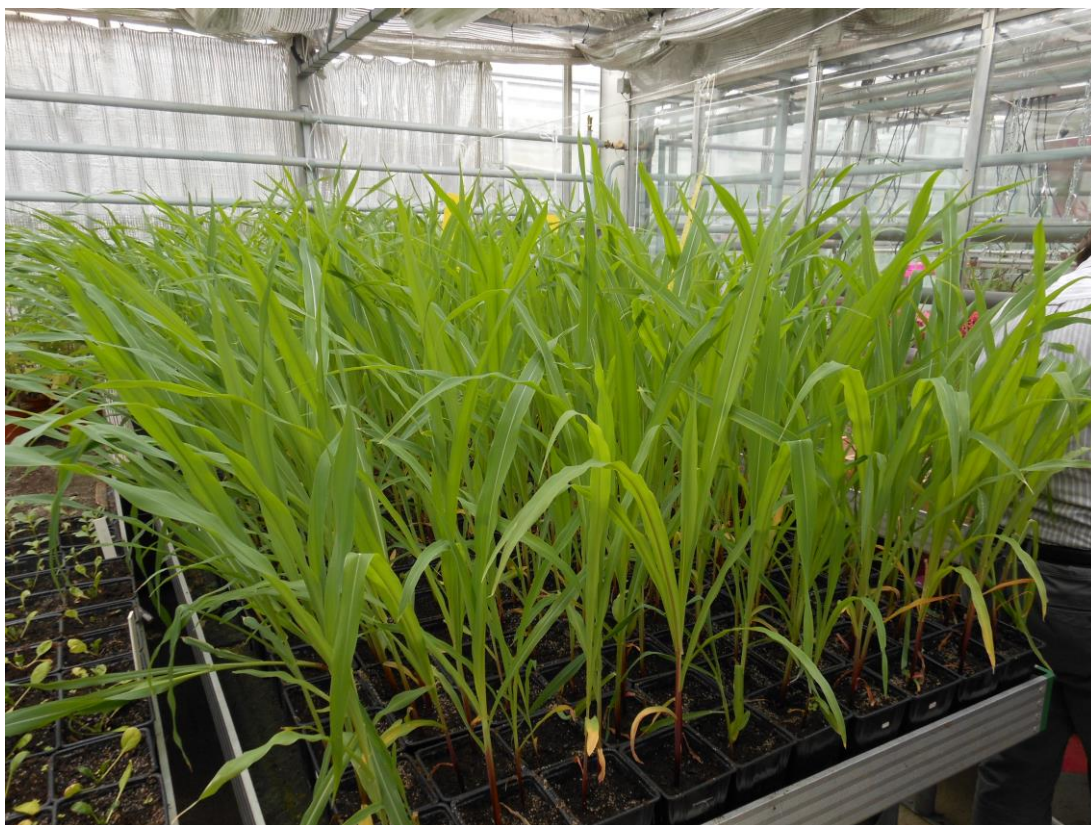
## 10. Přílohy



Obr. I Založení pokusu metodou postupných výsevů (foto autor)



Obr. II Rostliny kukuřice ve fázi 10-13 BBCH (foto autor)



Obr. III Rostliny kukuřice ve fázi 16 BBCH (zahájení pokusu) (foto autor)



Obr. IV Založení pokusu- rostliny z kontrolní varianty (KK) (foto autor)



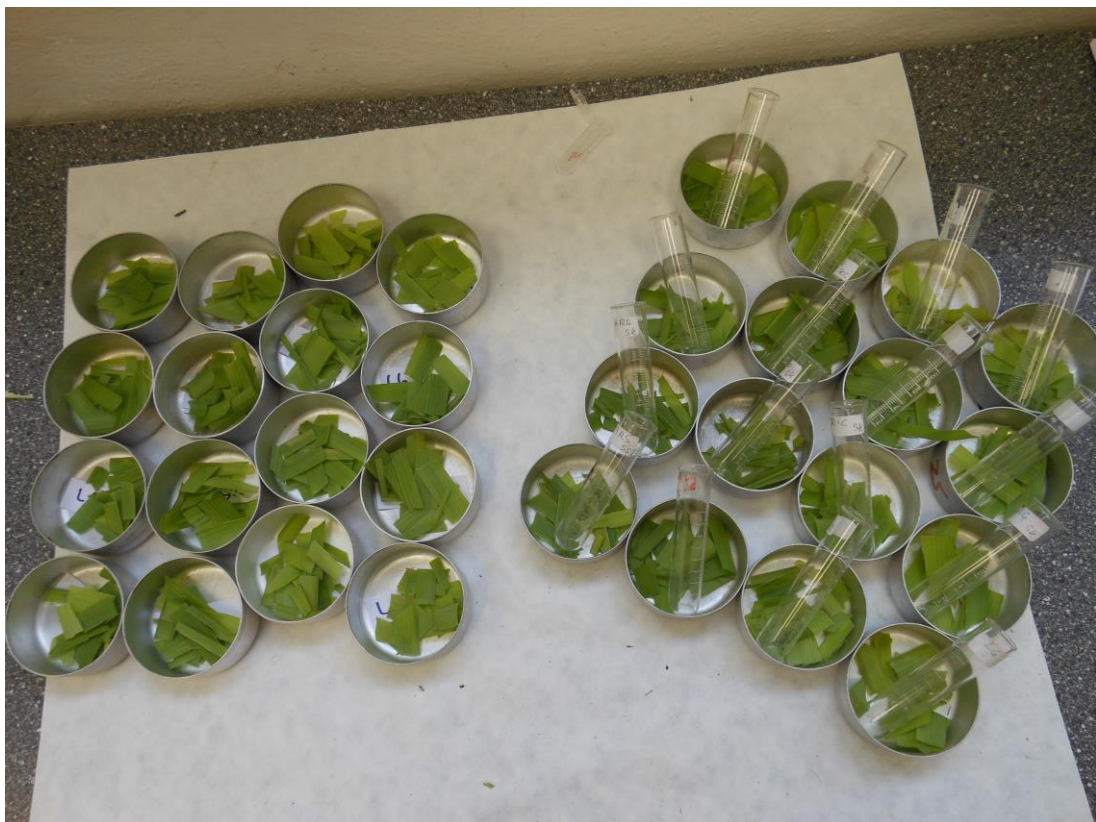
Obr. V Příprava terčičků pomocí korkovrtu (foto autor)



Obr. VI Zkumavky s terčičky před měřením  $REL_1$  (foto autor)



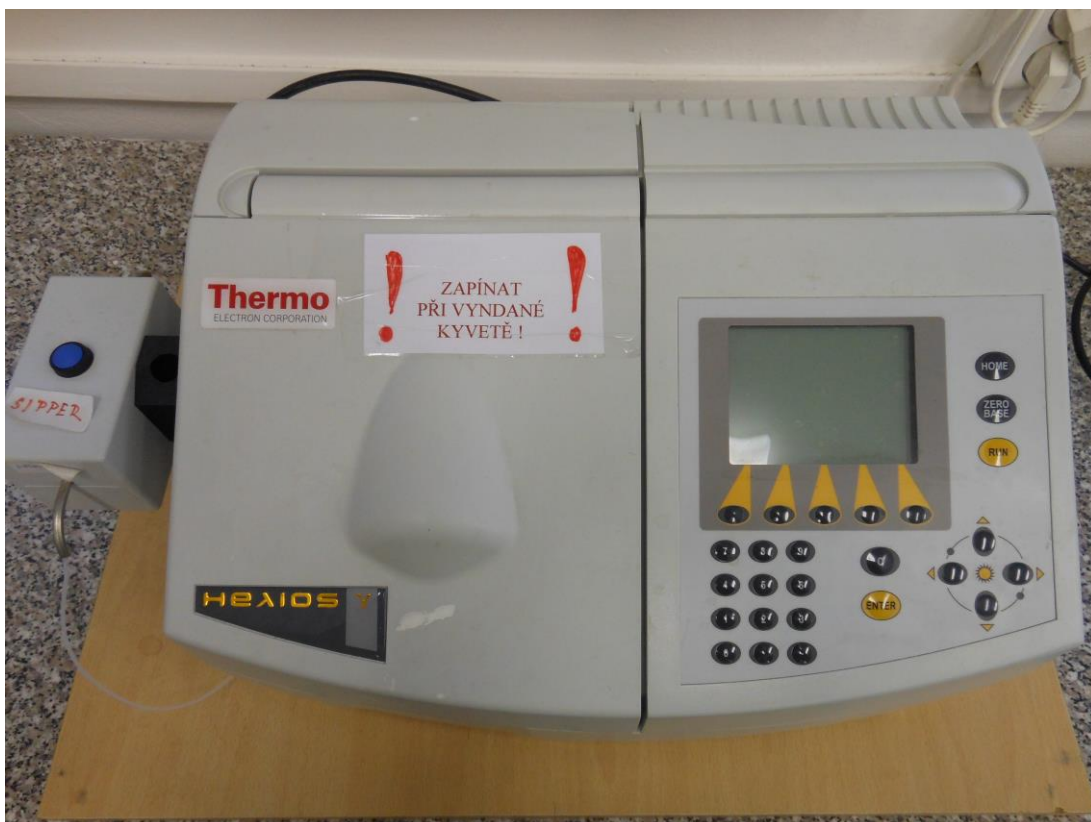
Obr. VII Měření vodivosti pomocí konduktometru (foto autor)



Obr. VIII Navážené vzorky pro stanovení obsahu prolinu (foto autor)



Obr. IX Příprava filtrátu (foto autor)



Obr. X Spektrometr Helios  $\gamma$  (foto autor)

