

**Česká zemědělská univerzita v Praze**

**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů**

**Katedra botaniky a fyziologie rostlin**



**Fakulta agrobiologie,  
potravinových a přírodních zdrojů**

**Vliv vodního deficitu na vybrané charakteristiky révy  
vinné**

**Diplomová práce**

**Autor práce: Bc. Tereza Sýkorová**

**Obor studia: Zahradnictví**

**Vedoucí práce: PharmDr. Jan Kubeš, Ph.D.**

## **Čestné prohlášení**

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Vliv vodního deficitu na vybrané charakteristiky révy vinné" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce PharmDr. Jana Kubeše, Ph.D., s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 14. 04. 2022

---

## **Poděkování**

Ráda bych touto cestou poděkovala PharmDr. Janu Kubešovi, Ph.D. za jeho čas, podporu, cenné rady a odbornou pomoc při vedení mé diplomové práce. Děkuji také členům Katedry botaniky a fyziologie rostlin za možnost svou praktickou část zde tvořit. V poslední řadě patří mé díky také rodině a přátelům za trpělivost a podporu v průběhu psaní diplomové práce.

# Vliv vodního deficitu na vybrané charakteristiky révy vinné

## Souhrn

V předkládané diplomové práci byl sledován vodní deficit navozený snižující se závlivkou u třech odrůd révy vinné – 'Tramín červený', 'Ryzlink rýnský' a 'Rulandské modré' na vybrané fyziologické parametry a obsahové látky v listech. Rostliny pro experiment byly získány z památkové chráněné vinice Svate Kláry v Praze – Troji a pokus se uskutečnil na zakořeněném réví v částečně řízených podmínkách v pokusném skleníku od června do července roku 2021. Po aplikaci kontroly (120 ml vody) a tří stresových variant (90, 60 nebo 30 ml vody) bylo zjištěno, že vodní deficit průkazně ovlivnil některé ze sledovaných fyziologických parametrů, jako byla například rychlost transpirace. Ta, v závislosti na odrůdě, době odběru a množství závlivky měla vzrůstající, případně klesající charakter a na konci pokusu velmi prudce klesla u všech pokusných rostlin, kdy dosahovala hodnot 0,25-0,50 mmol H<sub>2</sub>O/m<sup>2</sup>.s. V námi redukované závlivce nebyly zjištěny průkazné rozdíly v rámci Fv/Fm, ale s omezeným množstvím vody se u všech odrůd maximální kvantový výtěžek PSII snižoval. V listech byl s klesající závlivkou pozorován i nárůst vodního sytostního deficitu, který na konci měření dosahoval v případě odrůdy 'Ryzlink rýnský' až 90 %. Současně byl sledován i vodní potenciál, který nabýval s omezeným přísunem vody více záporných hodnot, ale v případě 30ml závlivky nebyl na konci experimentu výrazný meziodrůdový rozdíl. Obsah celkových fenolických látek u všech variant s postupem času vzrůstal, nicméně byly pozorovány určité rozdíly mezi odrůdami u jednotlivých ošetření a dobách odběru. Rostoucí trend byl sledován také u stanovení celkových flavonoidů v listech, kdy sice v průběhu jejich množství pokleslo, ale u posledního odběru byl jejich obsah oproti kontrole vyšší, zvláště u stresovaných variant 'Ryzlinku rýnského' a 'Tramínu červeného'. Z hlediska pigmentů byl vysoký obsah celkového chlorofylu zjištěn zejména u odrůdy 'Rulandské modré' ve třetím týdnu pokusu (37 nmol/cm<sup>2</sup>), oproti ostatním odběrům, kde byl obsah výrazně nižší. Z experimentu vyplývá, že suchomilná réva vinná, která bývá pěstována v sušším prostředí, je poměrně odolná vůči vodnímu deficitu, nicméně je nutné, aby byly rostliny kontrolovány z hlediska fyziologických i chemických parametrů, aby vinice prosperovaly a tvořily plnohodnotné výnosy.

**Klíčová slova:** *Vitis vinifera* L., abiotický stres, vodní deficit, fyziologické parametry, adaptační mechanismy



# Influence of water deficit on selected characteristics of the grapevine

## Summary

The water deficit induced by decreasing irrigation in three grapevine varieties - 'Tramín červený', 'Ryzlink rýnský' and 'Rulandské modré' on selected physiological parameters and leaf contents was investigated in the present thesis. Plants were obtained from the monument-protected vineyard Svatá Klára in Prague – Troja for the experiment which was conducted on rooted vines under partially controlled conditions in the experimental greenhouse from June to July 2021. After application of the control (120 ml of water) and three stress variants (90, 60 or 30 ml of water), it was found that water deficit conclusively influenced some of the physiological parameters monitored, such as transpiration rate. Depending on the cultivar, time of sampling and amount of watering, it was increasing or decreasing and it decreased very sharply in all experimental plants at the end of the experiment, reaching values of 0,25– 0,50 mmol H<sub>2</sub>O/m<sup>2</sup>.s. There were no conclusive differences in Fv/Fm in our reduced watering treatments but the maximum quantum yield of PSII decreased with limited water in all cultivars. An increase in water saturation deficit was also observed with decreasing irrigation in leaves, reaching up to 90 % in the case of the cultivar 'R. rýnský' at the end of the measurements. At the same time, the water potential was also monitored, which became more negative with reduced water supply, but in the case of 30 ml watering there was no significant intervarietal difference at the end of the experiment. The total phenolic content of all the varieties increased with time, however, some differences were observed between varieties for different treatments and sampling times. An increasing trend was also observed in the determination of total flavonoids in the leaves, where, although their content decreased over time, at the last sampling their content was higher than in the control, especially in the stressed variants 'R.rýnský' and 'T. červený'. In terms of pigments a high content of total chlorophyll was found, particularly in the 'R. modré' variety in the third week of the experiment (37 nmol/cm<sup>2</sup>), compared with the other samples, where the content was significantly lower. The experiment shows that xerothermic vines, which tend to be grown in drier environments, are relatively resistant to water deficit, but it is necessary to control the plants in terms of physiological and chemical parameters for the vines to thrive and produce full yields.

**Keywords:** *Vitis vinifera* L., abiotic stress, water deficit, physiological parameters, adaptation mechanism

# Obsah

<b>1 Úvod .....</b>	<b>8</b>
<b>2 Vědecká hypotéza a cíle práce .....</b>	<b>9</b>
<b>3 Literární rešerše .....</b>	<b>10</b>
<b>3.1 Réva vinná .....</b>	<b>10</b>
3.1.1 Morfologie révy vinné .....	10
3.1.2 Pěstování révy vinné .....	13
<b>3.2 Charakteristika měřených parametrů .....</b>	<b>16</b>
<b>3.3 Abiotický stres .....</b>	<b>17</b>
3.3.1 Změny klimatu .....	18
3.3.2 Obecná charakteristika sucha .....	19
3.3.3 Stres vyvolaný vodním deficitem .....	20
3.3.4 Odolnost révy vinné k vodnímu deficitu .....	22
3.3.5 Stres vyvolaný přemokřením – hypoxie .....	24
<b>4 Metodika .....</b>	<b>26</b>
<b>4.1 Charakteristika pokusného materiálu .....</b>	<b>26</b>
4.1.1 'Tramín červený' .....	26
4.1.2 'Rulandské modré' .....	27
4.1.3 'Ryzlink rýnský' .....	27
<b>4.2 Založení pokusu a stresový faktor .....</b>	<b>27</b>
<b>4.3 Metody měření fyziologických charakteristik .....</b>	<b>28</b>
4.3.1 Rychlost výměny plynů .....	28
4.3.2 Fluorescence chlorofylu .....	30
4.3.3 Stanovení celkových fenolických látek .....	31
4.3.4 Stanovení celkových flavonoidů .....	32
4.3.5 Stanovení obsahu chlorofylů .....	32
4.3.6 Listový vodní potenciál .....	33
4.3.7 Vodní sytostní deficit .....	33
4.3.8 Zpracování výsledků .....	33
<b>5 Výsledky .....</b>	<b>34</b>
<b>5.1 Rychlost výměny plynů .....</b>	<b>34</b>
<b>5.2 Fluorescence chlorofylu .....</b>	<b>35</b>
<b>5.3 Stanovení obsahu celkových fenolických látek (TPC) .....</b>	<b>37</b>
<b>5.4 Stanovení celkových flavonoidů (TFC) .....</b>	<b>38</b>
<b>5.5 Stanovení pigmentů .....</b>	<b>40</b>
<b>5.6 Vodní potenciál listů .....</b>	<b>42</b>
<b>5.7 Vodní sytostní deficit .....</b>	<b>43</b>

<b>6</b>	<b>Diskuze .....</b>	<b>45</b>
6.1	Rychlost výměny plynů.....	46
6.2	Fluorescence chlorofylu .....	47
6.3	Stanovení obsahu celkových flavonoidů a fenolických látek.....	48
6.4	Stanovení obsahu chlorofylů .....	49
6.5	Listový vodní potenciál .....	50
6.6	Vodní sytostní deficit.....	51
<b>7</b>	<b>Závěr.....</b>	<b>52</b>
<b>8</b>	<b>Literatura.....</b>	<b>54</b>
<b>9</b>	<b>Seznam použitých zkratk, obrázků, tabulek a grafů .....</b>	<b>61</b>
<b>10</b>	<b>Samostatné přílohy .....</b>	<b>I</b>
10.1	Seznam použitých pomůcek, přístrojů a chemikálií .....	I
10.2	Obrazové přílohy.....	II

# 1 Úvod

V současné době, kdy se stále častěji hovoří o změnách klimatu a globálním oteplování je téma vodního deficitu stále více diskutováno. Změny klimatu nesou celou řadu problémů a změn, se kterými se potýkají různé sektory, jako je například zemědělství a s ním úzce spjatý potravinářský průmysl (Balti et al. 2020). V důsledku výkyvů počasí se také více projevují biotické a abiotické stresory, které ovlivňují pěstování rostlin. Jedním z těchto nežádoucích faktorů je právě vodní deficit, jelikož sucho dokáže způsobit enormní ztráty v produkci různých kulturních plodin (Bunting et al. 2021).

Během vývoje a růstu rostlin, které patří mezi sesilní organismy, na ně působí celá řada faktorů, které bývají označovány právě jako biotické a abiotické stresory (Hirayama & Shinozaki 2010). Jedná se o živočišné škůdce, houbová onemocnění, nebo působení vysokých teplot, nedostatek živin v půdě, vodní stres a další. Sucho je jedním z hlavních abiotických stresorů, který ovlivňuje celkové chování rostliny a její hospodaření s vodou. Při dlouhodobém stavu, kdy rostlina nemá dostatečný příjem vody, která má v přírodě velmi rychlý koloběh, mohou nastat nevratné změny vedoucí až k úhynu (Jenks et al. 2005).

Réva vinná je jednou z nejpěstovanějších ovocných plodin na světě, a přesto že je poměrně odolná vůči působení vodního deficitu, změny klimatu a nižší souhrn srážek ovlivňují její produkci. Na nežádoucí vlivy jsou citlivé zejména mladé rostliny, které nejsou plně vyvinuté, a jejich kořenový systém nesahá do takových hloubek, kde se stále nachází dostatečné množství vody (Pavloušek & Lampíř 2016). Rostliny si během evoluce dokázaly najít různé způsoby a mechanismy, jak biotickým i abiotickým faktorům odolávat. Pod působením abiotických stresů si rostliny akumulují osmoticky aktivní látky, nebo sekundární metabolity, které jim pomáhají k přežití (Blum 2016).

V této diplomové práci byla věnována pozornost vlivu vodního deficitu na mladé zakořeněné révy a fyziologické změny v listech, jelikož tyto orgány jsou prvním ukazatelem, který se mění pod vlivem nedostatku vody. Součástí práce je literární přehled věnovaný révě vinné a problematice jejího pěstování, dále také výzkum založen na uměle vytvořeném vodním deficitu u třech vybraných odrůd – 'Tramín červený', 'Ryzlink rýnský' a 'Rulandské modré'.

## 2 Vědecká hypotéza a cíle práce

Hlavním cílem této diplomové práce je experimentální studium vlivu vodního deficitu, navozeného snižující se zálivkou, na vybrané odrůdy révy vinné, zjištění jejich rozdílů a stanovení fyziologických a biochemických parametrů, které s abiotickým stresem souvisí. Dílčím cílem je představit révu vinnou z botanického hlediska a představit její nároky na pěstování.

Hypotézy:

Nulová hypotéza: Mezi jednotlivými odrůdami neexistují rozdíly ve sledovaných parametrech v závislosti na redukovaném množství zálivky.

Alternativní hypotéza: V rámci sledovaných odrůd mezi nimi existuje alespoň jeden staticky průkazný rozdíl v hodnocených vlastnostech v reakci na nastavené podmínky pěstování.

## 3 Literární rešerše

### 3.1 Réva vinná

Réva vinná (*Vitis vinifera* L.), dále také označovaná jako réva ušlechtilá či evropská, patří do botanické čeledi *Vitaceae* Juss. – révovité. Tato čeleď zahrnuje rozmanité poddruhy révy vinné, které přirozeně rostly jako liána, kterou je nutné zpevnit konstrukcí, vyvázat ke zdi či využít jiné formy opory. Dnešní ušlechtilé formy se již udržují v keřovité podobě (Keller 2015). Morfologické a fyziologické vlastnosti dnešní révy se utvářely pod vlivy různých stanovištních, klimatických nebo půdních podmínek. Z planého lesního druhu (*Vitis vinifera* L. subsp. *sylvestris*) byla postupem času a evolučních změn vytvořena kulturní forma (*Vitis vinifera* L. subsp. *sativa*), která v dnešní době zahrnuje nepřehledné množství odrůd pěstovaných po celém světě. Čeleď *Vitaceae* Juss. zahrnuje asi 60 různých druhů. Dle území je z hlediska pěstování réva rozšířena přes jižní Evropu, kolem Kaspického moře až po Himaláje. První výsadba révy vinné je dle botaniků lokalizována do horské oblasti v Arménii a Gruzii. Další důkazy o jejím pěstování pocházejí i z Blízkého východu, nebo egyptských fresek (Pudelska et al. 2014).

Jedná se o heliofyty, jelikož je pro její růst nutný dostatek slunečního záření. Světlo milnost napomohla révě se větvit a prodlužovat své letorosty. Révovité rostliny jsou také teplomilné a začínají rašit až při vyšších teplotách. U ušlechtilé révy se jedná o průměrné denní teploty okolo 10 °C. Původní monopodiální větvení letorostů se proto změnilo v kombinované – monopodiálně sympodiální. Původní větvení bránilo nepřetržitému růstu během vegetace, protože výhony byly zakončeny květenstvím. Nejčastějším způsobem rozmnožování *V. vinifera* je vegetativní, prostřednictvím roubování a to tak, že se roub ušlechtilé odrůdy roubuje na podnož, která ovlivňuje mohutnost kořenového systému, její rezistenci a odolnost vůči půdním a klimatickým podmínkám (Pavloušek & Lampíř 2016).

Vinná réva používá k přichycení úponky, které se krouží kolem konstrukce, plotu, nebo jiných vyšších rostlin, což révě stačí jako opora. Úponky se vyskytují v uzlech naproti listům a automaticky se začnou navíjet, když se dotknou jiného objektu (Venkitasamy et al. 2019).

#### 3.1.1 Morfologie révy vinné

Z hlediska morfologie lze rozdělit keř révy vinné na podzemní a nadzemní část. Podzemní část je tvořena kořenovým systémem, zatímco nadzemní zahrnuje dřevité části různého stáří, listy, výhony, květy a plody.

##### Kořeny

Kořenový systém, který se skládá z kořenového kmene, rosných kořenů, vedlejších kořenů a hlavních kořenů, slouží keři jako upevnění v půdě. Jako důsledek liánovitěho růstu prýtu je kořenový systém velmi rozsáhlý a prorůstá hluboko do spodních horizontů půdy. Dále také zajišťuje zprostředkování vody a minerálních látek z půdního profilu (Hellman 2003). V neposlední řadě slouží jako zásobárna živin a dochází zde k tvorbě rostlinných hormonů, jako jsou například cytokininy a auxiny stimulující buněčné dělení (Hellman 2003; Pavloušek 2011).

Základem kořenového systému je podnožový řízek, který představuje kořenový kmen, kde se postupem růstu tvoří kořeny rosné, vedlejší a hlavní. Pro rosné kořeny je typické, že vyrůstají těsně pod půdním povrchem. Mohou se objevit jak na roubu, tedy na ušlechtilé odrůdě, tak na podnoži. Jejich tvorba dominuje hlavně v prvních letech po výsadbě a je nutné je redukovat, jelikož mohou představovat riziko v průběhu růstu a vývoje keře, protože při jejich zmožnění na roubu, mohou tyto kořeny převzít funkci kořenů hlavních. Podnož zajišťuje odolnost vůči chorobám, škůdcům a celkové vyrovnaní se s nepříznivými půdními podmínkami (Pavloušek & Lampíř 2016).

Vedlejší kořeny tvoří hlavní hmotu KS a zajišťují příjem vody a živin z půdy. Prorůstají do hloubky kolem 30–60 cm do půdního profilu. Pro vedlejší kořeny je typické jejich větvení a tvorba kořenového vlášení, které se nejvíce podílí na příjmu živin.

### Rékové dřevo

Na keři révy vinné se nachází několik druhů dřeva. Jedná se o dřevo staré, dvouleté a jednoleté. Základ pěstitelského tvaru tvoří dřevo staré, které navazuje na kořenový systém ve formě kmínku a spojuje nadzemní a podzemní část keře. Dle způsobu, jakým je réva vedena a pěstována, může staré dřevo tvořit kordónová ramena. Slouží jako rezervoár zásobních látek, které se zde koncentrují v době vegetace. Borka na starém dřevě obsahuje mechanická pletiva a je pro ni typické vysychání a opad (Pavloušek & Lampíř 2016).

Na dřevo staré navazuje dvouleté a vytváří spojení mezi ním a jednoletým. Plodné jednoleté výhony vyrůstají z dvouletého dřeva. Jednoleté dřevo je charakteristické specifickou stavbou. Dřevo je složeno z nodů a internodií, jejichž délku ovlivňuje odrůda. Například pro 'Tramín červený' jsou typická krátká internodia. Délka internodií nadále ovlivňuje tvarování keřů. Ze zimních oček na jednoletém dřevě pak raší letorosty, které nesou květenství a následně hrozny (Pavloušek & Lampíř 2016).

### List

Listy hroznů se liší tvarem a velikostí v závislosti na druhu a kultivaru, proto jsou jedním z nejdůležitějších ampelografických znaků. Listy jsou často velké (8–1000 mm na šířku), někdy hluboce laločnaté (Venkitasamy et al. 2019). Jsou hlavním asimilačním orgánem obsahujícím chlorofyl. Listová čepel je laločnatá a na okrajích zoubkovaná. Dalším významným ampelografickým znakem je řapíkový výkrojek. Na základě tohoto výkrojku odborník dokáže rozeznat jednotlivé odrůdy.

Na keři se vyskytují také takzvané zálistky, kdy se jedná o výrůstky v paždí listů, které připomínají zmenšenou podobu hlavního letorostu. Mladé zálistky jsou významným zdrojem asimilátů během zrání hroznů. S koncem vegetace probíhá stárnutí listové plochy, změny barev listů díky hromadění karotenoidů. Jedná se o přirozený jev, který však může být zrychlen vysokými teplotami během vegetace (Pavloušek & Lampíř 2016).

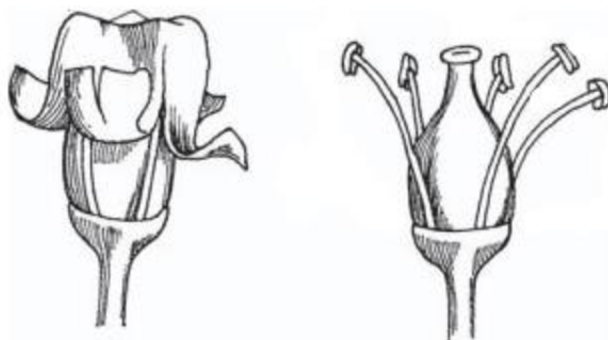
### Květenství

K tvorbě květů dochází během jara v závislosti na teplotách v rozmezí 40–80 dní po objevení pupenů. Kvetení podporují teploty okolo 15–20 °C a v každém květenství tvořícím orgánové primordium se mohou vyvinout tři až pět květních primordií v závislosti na odrůdě.

Primordium je pletivo vytvořené v nejranějším počátku vývoje a postupný vývoj květních orgánů je simultánní v každém květu květenství ve stejném primordiu (Lebom et al. 2008).

Na tvorbě květu se jako první podílí pět kališních lístků, poté se vyvine pět korunních lístků, pět tyčinek a pestík tvořený dvěma plodolisty. Kalich má prstencovitý tvar a slouží k ochraně vnitřních orgánů před výkyvy prostředí v raných fázích vývoje. Korunní lístky a tyčinky se vyvíjejí z původně běžných primordií (Lebom et al. 2008).

Květenstvím révého keře je lata. Obvykle se na keři tvoří 1–3 květenství v uzlech naproti listům. Dle odrůd se mění celková velikost a délka hroznů. Pro stolní odrůdy je typická výrazná délka dosahující u některých odrůd až 30–40 cm. Hrozny moštových odrůd jsou často menší a kratší. Květy (Obrázek 1) a jejich tvorba jsou závislé na podmínkách prostředí, odrůdě a agrotechnických úpravách ve vinici (Pavloušek 2011).



Obrázek 1: Květ révy vinné (Hellman 2003)

### Pupeny a plody

Pupeny jsou složeny v hroznech a mají tedy více růstových bodů nebo meristémů. Plody hroznů jsou pravé bobule, malé, kulaté až podlouhlé a obsahující dvě až čtyři semena. Hroznová bobule (Obrázek 2) je orgán s velkým hospodářským významem. Jedná se o neklimakterický masitý plod, který se skládá ze semen a tří pletivových vrstev: exokarp, neboli slupka, mezokarp známý jako dužnina a endokarp, což je pletivo obklopující semena, která bývají nejčastěji dvě (Kuhn et al. 2013). Bobule jsou často naředlé díky jemnému povlaku vosku na slupce.

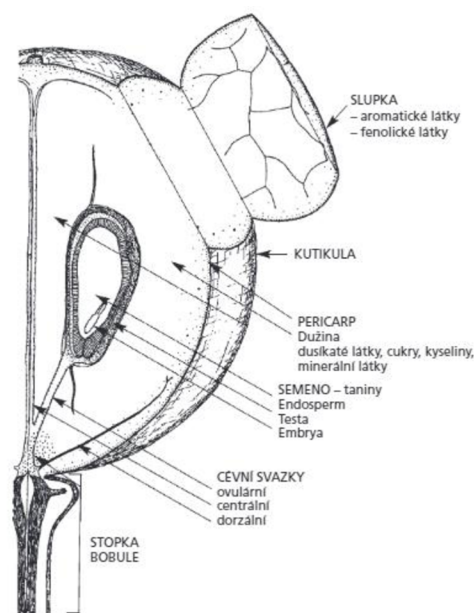
Hroznová bobule se kromě toho skládá z drobné stopky, kterou je spojena s třápinou. Nezralá bobule je sytě zelená díky přítomnosti chlorofylu a během procesu zrání se nahrazuje fenolickými barvivy, jako jsou flavonoidy a anthokyany. Podle poměru jednotlivých pigmentů jsou barvy zralých bobulí velmi rozmanité, od zelené, zelenožluté, žluté po červenou až tmavofialovou (Pavloušek 2011).

Zelené a žluté kultivary se nazývají bílé hrozny (Venkitasamy et al. 2019). Stolní hrozny mají ve srovnání s moštovými hrozny obvykle větší bobule a pevnější stavbu a jsou méně náchylné k otlaku a vadnutí během přepravy. Stolní hrozny tvoří volné trsy a mají silnější slupku, proto se s nimi lépe pracuje na cestě ke konzumentovi (Venkitasamy et al. 2019). Bobule vinné révy patří pravděpodobně mezi ovoce, které je svým složením nejcitlivější na okolní prostředí. Například hroznové bobule se mohou přizpůsobit světelnému záření zvýšením obsahu sekundárních metabolitů, jako jsou flavonoly a anthokyany.

Globální oteplování mění vývoj a fenologii révy vinné, což má za následek dřívější data sklizně a může ovlivnit vhodnost vinohradnictví v různých oblastech. Sezónní sucha a vysoké



teploty mohou významně ovlivnit výnos a konečné složení primárních a sekundárních metabolitů při sklizni (Kuhn et al. 2013).



Obrázek 2: Bobule révy vinné (Pavloušek 2011)

### 3.1.2 Pěstování révy vinné

Vinařství je široký pojem zahrnující pěstování, ochranu a sklizeň hroznů. Na druhé straně je enologie, věda zabývající se vínem a jeho výrobou, včetně kvašení hroznů, lisování, zrání a uskladnění. Vinice je plantáž révy vinné pěstované pro výrobu vína jako nápoje, pro pěstování stolních hroznů a výrobu nealkoholických hroznových moštů, nebo hrozinek (Pavloušek 2011).

Rostliny vinné révy vykazují pozoruhodnou dlouhověkost, prosperují až po několik staletí a stále jsou schopny produkovat plody. I přes velkou dlouhověkost révy je v dnešní době zvykem měnit výsadbu na vinici dvě až tři desetiletí po výsadbě. Obměna vinic je často zacílena na výsadbu nových kultivarů, které se postupem času lépe osvědčily, jsou odolné, nebo vykazují hodnoty, které se podobají aktuálním trendům. Rozhodnutí obměny vinice může také být dáno působením mnoha dalších faktorů, jako je klesající produkce hroznů, což vede k významným ztrátám a jejich ekonomické životaschopnosti. Vinice může zlikvidovat působení abiotických i biotických faktorů a špatné postupy hospodaření (Bou Nader et al. 2019).

Často však bývá, že některé z vlastností révy vinné se vyvíjejí pozitivním způsobem, jak stárnou. Touto vlastností je například vyšší tolerance vůči deficitu vody a zlepšená rovnováha mezi vegetativním a reprodukčním růstem. Dosud však bylo provedeno jen několik studií o možných účincích stáří na produktivitu révy a stav vody (Bou Nader et al. 2019).

Vinice vykazují jedny z nejvyšších ztrát půdy a vody z pěstovaných plodin. To je způsobeno nedostatečným krytím listů na keři během zimního období a hustá rostlinná pokrývka v létě, která neumožňuje přístup dešťových kapek k povrchu půdy a jejímu intenzivnímu využívání (Rodrigo-Comino et al. 2018). Z těchto důvodů často bývá půda holá a popraskaná působením vysoké míry vodní i větrné eroze, zejména v době výsadby mladých vinic, které nemají vyvinutý dostatečný listový kryt a rozvětvený kořenový systém. Jak réva roste, poskytuje vyšší úroveň pokryvu půdy a vyvinutější kořenový systém pro udržení půdy na místě,

což vede k výraznému zlepšení většinou svažitéch oblastí pěstování révy vinné (Rodrigo-Comino et al. 2018).

Citlivost révy na nedostatek vody závisí na řadě faktorů, které jsou vlastní vinici (charakter půdy, dostupné zásoby vody v půdě a mezoklima) a liší se podle genetických vlastností (odrůda hroznů, podnož), dále také dle agronomických faktorů, včetně pěstitelských technik (krycí plodina, spon výsadby, poměr listů a plodů) (Zufferey et al. 2018).

Z vinohradnického hlediska je nutno vnímat makroklima, mezoklima a mikroklima. Klimatické poměry vinařské oblasti se dají nazvat jako makroklima. Je formováno hlavně geografickými parametry, jako je nadmořská výška, lokace, nebo vzdálenost od vodních ploch. Mezoklima závisí zejména na topografických vlastnostech stanoviště. Mezi tyto vlastnosti se řadí sklon svahu a expozice, která se vztahuje na orientaci vůči světovým stranám. Rozsah podmínek mezoklimatu může být velmi rozmanitý, a proto je zásadní pro výběr stanoviště. Posledním typem je mikroklima, které je konkrétní pro danou vinici, nebo i jednotlivý keř. Mikroklimatické podmínky ovlivňuje zejména používaná technika ve vinici a jiné zásahy pěstitele (Pavloušek & Lampíř 2016).

Známé jsou také faktory, jako je svažitý terén, extrémní srážky či sucha, intenzivní zpracování půdy a použití herbicidů, které nepřejí zadržování vody v tomto systému. Před výsadbou vinné révy se půda urovnává a běžně se volí terasovité záhony, aby udržely rovný povrch a bylo možné vinici obdělávat a ošetřovat (Rodrigo-Comino et al. 2018).

Půdní podmínky, textura půdy, dostatek organických látek, nebo dobrá vodní jímavost tvoří kompaktní celek, jak by měla vhodná půda pro pěstování révy vypadat. Dostatek organické hmoty, humusu, je hlavním držitelem potřebných živin, které se pomalu uvolňují a révu vyživují. Růst kořenového systému by neměl být ničím omezen, proto je vhodná příprava půdního profilu do hloubky až jeden metr, například rigolování.

Hospodaření s vodou je dalším faktorem ovlivňujícím výnos a prosperitu vinice. Hospodaření závisí na velikosti pórů v půdě, kdy hrubé póry vedou půdou vzduch a přijímají vodu v době intenzivních srážek. Střední póry nabízí rostlině dostupnou vodu a v poslední řadě jsou póry jemné, ze kterých si rostlina vodu nezíská (Pavloušek & Lampíř 2016).

Výběr stanoviště pro pěstování révy vinné je klíčové pro založení prosperující vinice. V České republice je vhodné pěstovat révu v oblastech, kde budou zajištěny tyto parametry (Tabulka 1).

Tabulka 1: Přehled základních podmínek pro pěstování révy vinné (Pavloušek & Lampíř 2016)

minimální průměrná roční teplota	8,5–9,0 °C
průměrná teplota nejchladnějšího měsíce	-1,1 °C
průměrná teplota za vegetační období	11–16 °C
minimální úhrn srážek za vegetaci	300 mm
celkový úhrn srážek za vegetaci	500–600 mm
délka vegetačního období	17–90 dnů
délka slunečního svitu za vegetaci	1 100–1 600 hodin (1 700 hodin)

Réva vinná je, jak bylo zmíněno výše, teplomilná dřevina, proto se její pěstování nedoporučuje ve všech oblastech. Růst a vývoj révy vinné je závislý na teplotních poměrech oblasti. Optimální teplota pro růst se pohybuje okolo 25–30 °C. Vyšší teploty, které přesáhnou hranici 35 °C, působí již supresivně, kdy se růst zpomaluje. S teplotou a působením na růst rostlin je úzce spjata oslunění porostu. Sluneční záření působí na fotosyntézu, při které vznikají cukry. Významnou roli hraje oslunění při dozrávání plodů – bobulí, kde se tvoří aromatické a fenolové látky, dále se mění i obsah a složení organických kyselin (Pavloušek & Lampíř 2016).

V dnešní době se spíše dávkování minerálních hnojiv zmenšuje. Místo nich se volí organická hnojiva, která jsou často šetrnější vůči životnímu prostředí. Na základě půdních a listových analýz lze vyhodnotit, zda je třeba vybalancovat výživu. Veškeré živiny, které se z vinice dostanou řezem, sběrem plodů, nebo jinými způsoby, by se měly vrátit, aby mohlo dojít ke koloběhu živin ve vinici. Například listy, posklizňové zbytky, třapiny, nebo ostříhané výhony se zde nechávají a pro rychlejší návratnost živin se mulčují. Mladé výhony jsou pro tuto úpravu vhodné, naopak staré dřevo, které by mohlo být rezervoárem chorob a škůdců se z vinice odnáší.

Mulč zajistí přísun makroživin i mikroživin. Mezi hlavní makroprvky rostlin a organismů obecně, se řadí dusík, kyslík, uhlík, vodík, draslík (mrazuvzdornost, zrání), vápník (hospodaření s vodou, příjem živin) nebo síra, která je stavební složkou aminokyselin, vitamínů a u révy různých aromatických látek. Její vonné thioly ovlivňují chuť i vůni, zatímco jiné, těkavé sloučeniny síry, jako je například methanthiol, způsobují nepříjemné aroma. Mezi prvky důležité pro správný růst patří také fosfor ovlivňující plodnost a násadu hroznů a neposlední řadě také hořčík, jako stavební součást chlorofylu. Na kvetení, tvorbě chlorofylu a vývoji plodů se podílejí také mikroživiny. Mezi ty esenciální se řadí zejména železo, mangan, měď, bor (kvetení, nasazování bobulí), zinek (tvorba bílkovin) a molybden (enzymatické změny) (Pavloušek & Lampíř 2016).

Toto minerální složení charakterizuje kvalitu prostředí, ve kterém se vinná réva pěstuje. V důsledku toho jsou i produkty z vinné révy (tj. hrozny, šťáva, víno) ovlivněny složením půdy. Nejdůležitějšími vlastnostmi půdy, které ovlivňují minerální složení, je pH půdy. Příjem živin je závislý na odrůdě révy, nebo její podnoži.

Konvenční vinice jsou častěji obohacovány o minerální hnojiva, oproti menším plochám malopěstitelů a byly tak pozorovány významné rozdíly mezi vinicemi s odlišným způsobem obhospodařování (Likar et al. 2015). Postupy intenzivního zemědělství výrazně snižují biologickou diverzitu běžně se vyskytujících organismů na vinicích. Zejména rozlehlé vinice střední a jižní Evropy jsou intenzivně obhospodařovány, proto z nich mizí vzácné rostlinné i živočišné druhy. V posledních desetiletích došlo ve vinicích ke značnému omezení používání insekticidů. Pro kontrolu a ošetření se používá šetrnější integrovaná ochrana, která vychází ze signalizace a prognóz problému. V menší míře se část pěstitelů rozhodne k ekologické produkci. Postřiky herbicidů se také snížily, což vedlo k většímu vegetačnímu pokryvu na zemi, a tím ke zlepšení půdní soudržnosti a následně nedochází k erozi nebo vyplavování vody. Přítomnost přízemního vegetačního pokryvu, kterým bývá tráva, je splněno v integrovaných vinicích (Arlettaz et al. 2012).

## 3.2 Charakteristika měřených parametrů

### Transpirace

Pojem transpirace označuje vypařování vody z listů rostlin v podobě vodní páry. Jedná se o poměrně pasivní proces, při kterém se odpařuje téměř veškerá voda díky průduchům, ale některé rostliny mohou transpirovat i kutikulární vrstvou. V tomto případě se pak jedná o kutikulární transpiraci. Rychlost transpirace závisí na okolních podmínkách, ve kterých se rostlina nachází. Silně ji ovlivňuje okolní vzdušná vlhkost a také teplota (Kubota 2020).

Výměna plynů mezi rostlinou a atmosférou hraje klíčovou roli ve funkci a výkonnosti rostlin prostřednictvím příjmu oxidu uhličitého (CO<sub>2</sub>), který zajišťuje fotosyntetickou fixaci uhlíku a difúzi vodní páry transpirací. Ten je řízen požadavkem na vypařování, což je dramatický pokles tlaku par mezi rostlinnými pletivy a atmosférou (Maurel et al. 2016).

Transpirace hraje klíčovou roli při ochlazování listů a pohání xylémem zprostředkovaný hromadný tok živin z půdního profilu, a to až do nejvyšších částí rostliny. Výměna plynů je zprostředkována do značné míry průduchy. Jedná se o specializované póry diferencovány z epidermálních buněk na povrchu listů a stonků. Zbývající vnější povrch epidermis je pokryt z velké části kutikulou, která je nepropustná (Maurel et al. 2016). Akvaporiny jsou vnitřní regulující membránové proteiny přítomné v plazmatické membráně a většině vnitřních membrán rostlinných buněk. Zatímco většina akvaporinů funguje jako kanály pro usnadnění transmembránového přenosu vody, mohou také přenášet malé neutrální molekuly, jako jsou plyny (CO<sub>2</sub>, amoniak) nebo i reaktivní formy kyslíku (peroxid vodíku). Funkce akvaporinů hraje klíčovou roli v tak rozmanitých procesech, jako je příjem vody kořeny, hydraulika listů, klíčení semen a plových zrn a také expanzivní růst (Maurel et al. 2016).

### Fotosyntéza a fluorescence

Fotosyntéza je jedním z nejdůležitějších dějů na Zemi. Jedná se o složitý proces, kdy je absorbována sluneční energii a převáděna na energii organické chemické vazby. Světelná energie, absorbovaná fotosyntetickými pigmenty v chloroplastech, vyvolává několik konkurenčních procesů. Měřením kvantové účinnosti fotosyntézy, rozptýleného tepla, nebo fluorescenčních emisí (vyzáření) dokážeme zjistit relativní kvantitativní obrázek o fotosyntetické funkci rostlin v daném prostředí (Mishra 2018). V zelených listech je fotosynteticky aktivní záření absorbováno pomocnými pigmenty. Fotosynteticky aktivní pigmenty, u vyšších rostlin se jedná převážně o chlorofyly, jsou základními fotoreceptory účastnícími se fotosyntézy. O celkové fotosyntetické kapacitě pak vypovídá i samotný obsah chlorofylu ve fotosynteticky aktivních pletivech (Lichtenthaler & Rinderle 1988).

Fluorescence molekul chlorofylu je fyzikální jev, který je měřitelný v různých oblastech spektra. Většinou se při měření však používá vlnová délka o velikosti 690 nm. Měřením fluorescence chlorofylu lze tedy velmi přesně stanovit rychlost toku energie v membráně thylakoidu a jejího spotřebování při fixaci CO<sub>2</sub>. Fluorescence je druh luminiscence, kdy rostlinné barvivo sloužící jako fluorescenční látka, pohlcuje ultrafialové (UV) záření a jeho energii vyzařuje zpět v podobě viditelného světla (Mishra 2018). Molekula chlorofylu přijímá světelnou energii, která je buď absorbována a převedena do procesu fotosyntézy, nebo dochází k převedení energie na teplo či zpětnému vyzařování fotonu při vlnové délce přesahující 650 nm.

## Flavonoidy

Flavonoidy jsou skupinou sekundárních metabolitů široce distribuovaných v rostlinách, které představují velkou část rozpustných fenolických látek přítomných i v révě vinné. Stavba jejich molekuly vychází z fenylchromanu a s ohledem na strukturu se flavonoidy rozdělují na řadu podskupin. Mezi flavonoidy spadají látky jako jsou flavony, flavanoly, isoflavony, antokyany a další. Tyto sloučeniny zastupují různé fyziologické role a často se podílejí na ochraně rostliny před biotickým a abiotickým stresem. I když byly biosyntetické dráhy flavonoidů z velké části charakterizovány, mechanismy jejich transportu a akumulace v buněčné stěně a vakuole stále nejsou zcela pochopeny (Braidot et al. 2014). Zmíněné podskupiny flavonoidů mají různé vlastnosti a funkce, přičemž antokyany, které patří mezi nejrozšířenější pigmenty, poskytují červené až tmavě fialové zbarvení především květům a plodům, zejména u ovoce. Braidot et al. (2014) v jejich výzkumu prokázali, že při působení limitujících faktorů, kterými byly například exogenní faktory (vodní a teplotní stres, působení xenobiotik), došlo k poklesu biosyntézy flavonoidů.

## Fenolické látky

Rostlinné fenolické látky zahrnují širokou škálu sekundárních metabolitů, které jsou syntetizovány ze sacharidů. Fenolické sloučeniny jsou v rostlinné říši všudypřítomné a lze je nalézt ve všech druzích zeleniny a ovoce (Robards 2003). Dále také ve všech částech rostliny, ale jsou zde však rozděleny kvantitativně. Mezi jednotlivými pletivy a částmi je zastoupení fenolů odlišné (Robards 2003). Působením abiotických faktorů se jejich obsahy mění. Król et al. (2014) analyzovali zastoupení fenolických látek v listech a kořenech a potvrdili, že byl prokázán pokles vybraných prvků sekundárního metabolismu. Hladiny všech fenolových kyselin vzhledem k vodnímu stresu poklesly (Król et al. 2014).

### **3.3 Abiotický stres**

Rostliny jsou běžně vystaveny okolním podmínkám po dobu jejich života, protože žijí přisedlým způsobem na jednom místě, který jim neumožní pohyb za lepšími životními podmínkami, což je výrazný rozdíl mezi rostlinou a živočichem (Hirayama & Shinozaki 2010).

Pod pojmem stres se rozumí funkční stav každého živého organismu, který může být vyvolán působením mimořádných podmínek – stresorů. Stresor je takový činitel, který vyvolá u daného organismu stresovou reakci. Tato reakce aktivuje obranné mechanismy a dochází k různým změnám (Jenks et al. 2005). Abiotický stres vzniká vlivem přemíry či deficitu fyzikálních nebo chemických vlivů. Stres může být buď rychle působící, v rozmezí několika minut (například tepelný stres), nebo pomalu působící, který trvá dny až měsíce (nedostatek vody či minerálních látek).

Aktuálním problémem v rámci příslušných výzkumů je porozumění abiotickému stresu a jeho dopadu na rostliny. To úzce souvisí s rostlinnou produkcí, která je ovlivňována změnou klimatu, tedy i globálním oteplováním. Jeden z nejdůležitějších aspektů výzkumu stresu rostlin je způsob, jakým se rostlina do stresu dostane, jak na něj reaguje a prostřednictvím svých mechanismů je schopna mu odolávat a vyrovnat se s ním. Jedná se tedy o adaptivní vlastnosti dané rostliny (Blum 2016).

Zvýšená variabilita podnebí ohrožuje růst a výnosy mnoha pěstovaných plodin po celém světě, protože nevhodné klimatické podmínky působící na rostliny u nich vyvolávají stres (Li et al. 2020). Rostliny reagují na více složek abiotického stresu, které působí negativně na jejich růst. Mezi hlavní příčiny abiotického stresu se řadí tyto: extrémní teplota (chlad a teplo), vodní deficit, přemokření (povodeň), nedostatek živin či zasolení (S. Lisar et al. 2012). Dále také nadměrné množství těžkých kovů v půdě, nebo jiné látky, jako jsou například léčiva, která mohou být do půdy vyplavována (Hossain et al. 2021).

Pro shrnutí jsou zde představeny fyzikální a chemické významné stresory rostlin:

- nedostatek či nadbytek vody (vodní deficit, přemokření)
- nedostatek či nadbytek minerálních látek
- extrémní teploty (chlad, horko, mráz)
- zasolení půdy
- vysoká či nízká ozářenost
- znečištění ovzduší
- přítomnost xenobiotik

Abiotický stres má velký vliv na výnosy a může dojít až k 50% ztrátám díky působení stresorů. Tyto faktory působí na změny fyziologického, morfologického, molekulárního a biochemického charakteru (Hossain et al. 2021). Některé druhy rostlin se s abiotickým stresem dokázaly vyrovnat lépe, díky obranným mechanismům, toleranci nebo jejich morfologické stavbě. Jsou to například odolné kaktusy a sukulenty, jejichž stavba dokáže zadržet velké množství nedostatkové vody a také geneticky modifikované plodiny. Mezi druhy, které mají lepší schopnost vyrovnat se lépe s vodním deficitem, patří čirok, proso, nebo merlík čilský (Hossain et al. 2021). Vůči zasolení jsou odolné slanobytné rostliny, jako je například slanobýl – *Salsola soda* L.

Stresová signalizace reguluje proteiny kritické pro transport iontů, vody a pro přeprogramování metabolismu a genové exprese, aby se dosáhlo iontové a vodní homeostázy a buněčné stability za stresových podmínek. Pochopení stresové signalizace a reakcí zvyšuje naši schopnost zlepšit odolnost plodin vůči stresu, abychom dosáhli udržitelnosti zemědělství a potravinové bezpečnosti pro rostoucí světovou populaci (Zhu 2016).

### 3.3.1 Změny klimatu

Změna klimatu je dnes hlavním problémem životního prostředí, protože přináší kritické změny do ekosystémů. Přesto, že změna klimatu není novým jevem, klimatický systém se mění rychleji než v minulosti, především kvůli zvýšeným emisím skleníkových plynů do atmosféry. To vedlo k výraznému zvýšení teploty, změně srážek a k výskytu extrémních událostí, jako jsou extrémní sucha, a naopak přívalové deště způsobující povodně (Bunting et al. 2021). Zhoršující se podmínky mohou vést dále také k požárům, vlnám tsunami, dezertifikaci a jiným přírodním jevům (Liu et al. 2021). Tyto účinky se projevily v mnoha důležitých socioekonomických sektorech, jako je veřejné zdraví, vodní hospodářství a zemědělství.

Zemědělství silně závisí na počasí a klimatických podmínkách, aby podpořilo růst a vývoj plodin. Pro úspěšnou produkci by měly ve všech fázích životního cyklu plodin přetrvávat

příznivé klimatické podmínky (Bunting et al. 2021). Mnoho plodin je však ovlivněno jak průměrnými klimatickými podmínkami, tak výskytem extrémních povětrnostních jevů v klíčových fázích, což činí ze zemědělství vysoce zranitelné odvětví.

Velké a náhlé změny v klimatickém systému jako takové významně zhoršují schopnost klimatu podporovat zemědělskou produkci, a to může následně ohrozit globální potravinovou bezpečnost. Protože mnohé z dopadů změny klimatu na zemědělství jsou negativní, projekce dalšího oteplování klimatu (předpokládané zvýšení o 1,4 až 5,8 °C je možné do roku 2100, představují pro globální populaci vážné obavy (Bunting et al. 2021).

Se zhoršujícím se klimatem a stavem ekosystémů mohou mít nepříznivé podmínky negativní vliv na lidské zdraví a celkově na životní prostředí jak v regionálním, tak i v globálním měřítku (Balti et al. 2020).

### **3.3.2 Obecná charakteristika sucha**

Hydrologický systém je zcela propojen s klimatickým systémem, vzájemně se ovlivňují a mění během určitého časového intervalu. Přirozený pohyb krajinou, odtoky, přítoky, množství srážek, půdní zásoby vody a využívání vody lidmi ovlivňuje celý hydrologický řád. Pokud dojde ke snížení objemu vody v tomto koloběhu značněji, než je obvyklé, lze hovořit o pojmu sucho (Van Loon et al. 2016). Lze jej také definovat jako zápornou odchylku vodní bilance od klimatického normálu v určitém časovém intervalu v dané lokalitě. Dle dalších odborníků jsou sucha velmi těžko definovatelné jevy, které jsou zároveň jedny z nejškodlivějších a nejnebezpečnějších přírodních katastrof (Funk & Shukla 2020).

Sucho lze vyvolat přírodními meteorologickými příčinami či antropogenními vlivy, jako je například vysoký odběr vody. Lidská činnost na planetě neodmyslitelně ovlivňuje stav zásob vody. Déle trvající sucho může mít neblahé důsledky v zemědělství, využití vody v různých průmyslových odvětvích, na výrobu energie, zásobování pitnou vodou nebo nepříznivý dopad na celkový chod ekosystému. Z toho vyplývá, že příčinou sucha je deficit srážek spolu s působením okolních podmínek, jako je teplota související s množstvím slunečního záření, nízká relativní vzdušná vlhkost a v neposlední řadě také intenzita proudění vzduchu (Brázdil & Trnka 2015).

Sucho se obvykle dělí na několik druhů, základními druhy je meteorologické sucho (deficit srážek), sucho v půdní vlhkosti (pod normální vlhkostí v půdě) a hydrologické sucho (pod normální dostupnost povrchové vody). Hydrologické sucho bývá ovlivněno geologickým podkladem, vlastnostmi povodí v dané lokalitě a vegetačním pokryvem (Van Loon et al. 2016).

Dalším druhem sucha je sociálně-ekonomické, jelikož dle různých podmínek nedostatku vody je spojeno se systémy vodních zdrojů, které nemohou uspokojit potřeby společnosti na vodu a tím pak ovlivňují ekonomický rozvoj (Ding et al. 2021). Meteorologické sucho je definováno jako nedostatek srážek na daném území za určitou dobu. Tento druh sucha může provázet pokles povrchového odtoku nebo hladiny podzemní vody (Ding et al. 2021). Sucho v půdní vlhkosti se také označuje jako zemědělské sucho, které se týká dlouhodobě klesající vlhkosti v půdě. Tímto deficitem je následně negativně ovlivněna úroda. Pokud jde o ztráty v zemědělství, celkově se na suchu podílelo více než třiceti procenty celkových nákladů na všechny přírodní katastrofy na celém světě v letech 2005–2015 (Liu et al. 2021).



Množství vlhkosti v půdě závisí na několika faktorech, jež jsou ovlivňovány meteorologickým a hydrologickým suchem a také evapotranspirací (ET). ET je celkový výpar z povrchu zemského do atmosféry (Balti et al. 2020). Tento druh sucha je sledován a kontrolován dle několika indexů, které se zaměřují na kontrolu poměru srážek, teploty a také zohledňují další klimatické podmínky. V posledních letech frekvence výskytu sucha roste a tím dochází k řadě nových zkoumání a poznatků o něm. Detekce přírodních změn, dopady a mechanismy sucha způsobila po celém světě znepokojení (Liu et al. 2021). V mnoha částech světa se proto odborníci začali více zaměřovat na tuto problematiku. Jelikož jsme na vodě, jako zdroji života, závislí, je nutné, aby byla dále v naší krajině, a ekologické prostředí spolu s ekonomickým a sociálním rozvojem nadále fungovalo. Klesající množství vody v přírodě ovlivňuje hlavně zemědělskou produkci a klimatické změny jsou tak považovány jako velká výzva pro Zemi v příštích desetiletích (Balti et al. 2020).

Jeden z velmi důležitých faktorů, které sucho ovlivňuje, je sezónnost, která působí na jeho charakteristiky. Jelikož není jednoduché odhadnout příčiny sucha, fyzikální faktory a mechanismy formování různých jeho typů, je nutné studovat vztahy mezi klimatickými podmínkami v daných oblastech v závislosti na ročním období. Tímto sledováním lze odhadnout včasné varování před přicházejícím suchem v dané oblasti (Ding et al. 2021).

### 3.3.3 Stres vyvolaný vodním deficitem

Primárním problémem při stresu ze sucha je ztráta vody z rostlinných buněk, dehydrataci. Některé rostliny se mohou vyhnout vodnímu deficitu například prostřednictvím konstitutivně hlubokých kořenů. Pokud není rostlina schopna se vyhnout tomuto stresoru, nastává možná tolerance. Evoluce změnila rostliny, které byly po určitou dobu vystaveny stresu tak, že mohou přežít, ale z hlediska produkce se výrazně snižuje a zpomalí jejich produktivita (Blum 2016). Na druhou stranu, existuje řada rostlin, které jsou schopny sucho snášet (Jenks et al. 2005).

Tyto rostliny reagují a přizpůsobují se podmínkám sucha různými fyziologickými, biochemickými, anatomickými a morfologickými změnami, včetně změn v genové expresi. Reakce rostlin z fyziologického hlediska jsou poměrně komplexní. To vyplývá z mnoha působících faktorů, kterými daný exemplář disponuje. Jedná se zejména o rostlinný druh či odrůdu, dynamiku a dobu trvání stresu, zásobu vody a celkové podmínky lokality, kde rostlina roste. Je nutné také zohlednit, v jaké fenologické části se rostlina nachází, jelikož se hůř vyrovnávají se stresem rostliny mladší (S. Lisar et al. 2012).

Vodní deficit způsobuje významné narušení chodu rostliny a dokáže zpomalit vývojové a fyziologické reakce (Azri et al. 2020). Změny klimatu naznačují, že by sucho mohlo být vážným problémem již v budoucích několika letech. Vzhledem k vodnímu deficitu v různých oblastech světa je tak nutné šlechtit plodiny odolné vůči tomuto stresoru. V rámci vodního deficitu může dojít také k degradaci proteinů, což má za následek fatální poškození rostliny, nebo spuštění dalších nežádoucích reakcí. Rostliny reagují na nedostatek vody změnami v expresi bílkovin, jejich syntézou a akumulací. Právě proteiny mají v reakci na stres zásadní roli. Jedná se o ochranu nukleových kyselin, buněčných membrán, nebo ovlivňují transport vody v buňkách (Azri et al. 2020).

Nejběžnější reakce na stresy vyvolané okolními podmínkami v rostlinách zahrnují diferenciální transkripci mnoha genů (produkce genů reagujících na stres vedoucí k buněčným



metabolickým změnám), změny chování aktivity mnoha enzymů a dále nadprodukcí několika kompatibilních metabolitů, jako jsou cukry, polyaminy, aminokyseliny a organické kyseliny. Tyto specifické reakce na stres posloužily jako základ pro přípravu plodin vhodných pro pěstování v takových oblastech světa, kde nejsou podmínky přirozeně příznivé (Azri et al. 2020).

Obecně platí, že rostliny jsou ovlivněny nízkou a střední úrovní abiotických stresů, ale při vyšší intenzitě stresu se začne tolerantní mechanismus rostlin rozpadat, což může nakonec vést k letálním následkům (Pandey et al. 2020). Tolerance ke stresu je schopnost rostliny překonat nepříznivé podmínky, ve kterých se nachází. Při zvýšení tolerance rostliny na působící stres hovoříme o aklimatizaci, která se projevuje postupným vystavením stresovým podmínkám. Aklimatizací na sucho rostlina odpovídá akumulací určitých nových metabolitů spojených se strukturálními schopnostmi zlepšit fungování rostlin při vodním deficitu. Hlavním aspektem reakce rostlin je udržování homeostázy (iontová rovnováha a osmotická úprava) (S. Lisar et al. 2012).

V posledním případě je možné definovat geneticky determinovanou hladinu tolerance získanou během selekce v průběhu mnoha generací, jako adaptaci. Strategie rostlin, jak se vyrovnat se suchem obvykle zahrnují kombinaci vyhýbání se stresu a toleranční strategie. Včasné reakce rostlin na stres ze sucha rostlině obvykle pomáhají nějakou dobu přežít. Divoké druhy rostlin častěji obsahují geny, které poskytují rezervoár genetické variability pro hledání nových ušlechtilých druhů, které budou odolnější vůči nedostatku vody. Divoké rostliny tedy umožnily získat odolné kultivary, které lze pěstovat i v méně příznivých podmínkách. Toto platí zároveň i v odolnosti vůči některým škůdcům a chorobám (Azri et al. 2020).

Při působení vodního deficitu jsou ovlivněny různé fyziologické i chemické parametry a rostlina na tento negativní vliv reaguje. Zde jsou uvedeny vybrané parametry, na které má nedostatek významný vliv (fotosyntéza, chlorofyl, stomata).

Fotosyntéza je proces, který je zvláště citlivý na působení vodního deficitu. Odolnost rostlin vůči nedostatečnému množství vody vede k metabolickým změnám spolu s funkčními a strukturálními změnami fotosyntetických orgánů. Fotosyntéza vyšších rostlin klesá se snížením relativního obsahu vody a potenciálu vody v listech (S. Lisar et al. 2012). Fotosyntéza je velmi silně inhibována a může nastat i její přerušení. K tomuto dojde při zvýšeném vodním deficitu a návazným poklesem růstu listové hmoty a současným sesycháním a stárnutím (Bhattacharjee & Saha 2014).

Dalším problémem, který nastává při vystavení rostliny vodnímu stresu, je pokles obsahu chlorofylu v listech. Fotosyntetické pigmenty jsou důležitou podmínkou fotosyntézy a naprosto nezbytnou součástí fotosystému I (PS I) a fotosystému II (PS II). Je dobře známo, že vodní stres inhibuje tvorbu chlorofylu ve čtyřech fázích jeho syntézy. Po sobě jdoucí fáze omezují tvorbu pigmentu. První fází je tvorba kyseliny 5-aminolevuliniové (ALA), dále kondenzace ALA na porfobilinogen a primární tetrapyrrol, který se dále přeměňuje na protochlorofylid. Následuje přeměna protochlorofylidu na chlorofylid, která je závislá na světle. Poslední fází je syntéza chlorofylů (a, b) a jejich zařazení do proteinových komplexů fotosyntetických orgánů. Ve většině případů jsou karotenoidy méně citlivé na vodní stres než chlorofyl, který byl již zkoumán u několika druhů zemědělských rostlin (S. Lisar et al. 2012).

Výrazná reakce rostliny při vodním deficitu je uzavření průduchů. Uzavírání stomat je ale spíše spojeno s obsahem půdní vlhkosti než s obsahem vody v listech. Je řízeno hlavně chemickými signály, které reguluje například kyselina abscisová (ABA) produkovaná v kořenech trpících dehydratací (S. Lisar et al. 2012). Kořeny rostlin, jež jsou vystavené deficitu vody, jsou schopny hůře absorbovat potřebné živiny. Stomatální omezení je mnohem závažnější ve chvíli, kdy je rostlina vystavena stresu (Bhattacharjee & Saha 2014).

V závislosti na druhu rostliny se průduchy mohou zcela uzavřít působením jak mírného, tak i silného stresu. Tolerantní druhy kontrolují otevírání průduchů, aby umožnily určitou fixaci uhlíku a zlepšení hospodaření s vodou. Zvýšená stomatální odolnost při stresu označuje účinnost druhu šetřit vodou (S. Lisar et al. 2012).

### 3.3.4 Odolnost révy vinné k vodnímu deficitu

*V. vinifera* L. je rostlinný druh s relativně vysokou odolností vůči stresu z nedostatku vody. Nicméně, nedostatek vody a její dostupnost je jedním z primárních stresorů omezující rozvoj vinařského průmyslu. Ju et al. (2018) uvedli, že nedostatek vody snížil výnos a kvalitu u plodů révy vinné. Kombinovaný účinek sucha, vysoké teploty vzduchu a velkého výparu omezuje nejen vývoj bobulí, ale i celkový vývoj. Je proto důležité plně porozumět účinkům vodního deficitu na vinnou révu, a to především z ekonomického hlediska, protože značně snižuje výnos. Rostliny vinné révy vyvinuly mnoho mechanismů, jak se přizpůsobit stresu z nedostatku vody (Ju et al. 2018).

V kontextu klimatických změn se musí vinice přizpůsobit novým podmínkám, například je vhodné vybírat podnože odolné vůči suchu (Grossi et al. 2016). Dramatické snížení asimilace uhlíku rostlinami může nastat v důsledku prudkého poklesu fotosyntézy při vysokých teplotách listů v kombinaci s deficitem vody a v důsledku částečné ztráty listové plochy. Použití zavlažování v těchto drsných prostředích vzniká jako řešení, jak se vyhnout nadměrné teplotě koruny a zachovat kvalitu při produkci ovoce a vína (Conde et al. 2015). V extrémnějších případech je pak třeba zaručit samotné přežití rostlin. Nicméně zavlažování vinné révy je předmětem značných diskusí, protože malé doplňky vody mohou zvýšit výnos a zachovat, či dokonce zlepšit kvalitu bobulí. Mohou však také podporovat nadměrný vegetativní růst s negativním dopadem na barvu bobulí, vůni a cukernatost, nebo na obsah kyselin. Tyto případné změny obsahových látek také nevyhovují procesům při výrobě vína. Nežádoucím faktorem nevyvážené závlaky je dále rozvoj nemocí v důsledku zvýšeného množství vzdušné vlhkosti (Pellegrino et al. 2005). S větší vlhkostí v keři se daří například plísni šedé, révové, padlí révovému, nebo bílé hnilobě, které mohou být pro porost velmi závažné (Conde et al. 2015).

V jednom extrému vede neomezené zásobování k bujnému vegetativnímu růstu na úkor reprodukčních propadů. Nadměrné zavlažování má negativní účinek na iniciaci pupat a dozrávání plodů. U druhého extrému je známé, že nedostatek vody snižuje listovou plochu, a tím klesající zachycované světlo, které se zase kombinuje s uzavřením průduchů. Dochází k omezení fotosyntézy a produkci asimilátů (Pellegrino et al. 2005).

Zmenšená listová plocha má také za následek nadměrný plod, který není dostatečně krytý a je vystaven slunečnímu záření s nežádoucími účinky na pozdější jakost vína. Celkově platí, že mírný deficit vody je prospěšný pro produktivitu vinic, ale je potřeba sledovat stav vody

pomocí citlivých indikátorů vodního deficitu během růstu a ve sklizňové sezóně. Indikátory mohou být například viditelné změny na rostlině, nebo také měření fyziologických parametrů pomocí techniky.

Vodní stres je stále častější a významnější problém ve světových vinařských oblastech. Tato situace vyžaduje zvláštní pozornost, protože kromě přímých dopadů na management vinařského průmyslu by zvýšení spotřeby vody pro vinařství mohlo vést k potenciálnímu snížení sladké vody v přírodě, což by mělo neblahý dopad na životní prostředí (Grossi et al. 2016).

Existuje řada způsobů, jak se vyrovnat se suchem. První způsob, jak zlepšit hospodaření s vodou, je se zaměřit na agrotechnické postupy při založení vinice a při jejím obdělávání. Běžné zavlažování brázdy by mělo být nahrazeno vhodnější kapkovou závlahou, která zavlažuje přímo každý jeden keř ve spodní oblasti (Grossi et al. 2016). Další možností je dbát na hospodaření s půdou s cílem snížit ET půdy, například použitím krycí plodiny, která zamezí výparu, erozi, či působí jako přírodní insekticid. Vhodný insekticidní účinek mají například aromatické byliny snášející sucho a přímé slunce (*Lavandula angustifolia* Mill.). Méně náročné rostliny na vodu pak omezí vodní konkurenci mezi krycími plodinami a révou. Dle výzkumů jsou rostliny schopny se aktivně přizpůsobit změněným podmínkám, kdy je příjem vody snížen, nebo zvýšen. Nicméně dlouhodobé snížení, či přemokření bude snášet rostlina hůře (Conde et al. 2015).

Pokud jsou keře vystaveny záměrně vodnímu deficitu, jedná se o metodu regulovaného zavlažování. Tento postup je využit na některých vinicích, například ve Španělsku, v určitém období růstu nebo vyžívání hroznů. Obvykle označuje jakékoli závlahové strategie, které udržují rostliny na určitém stupni deficitu vody (Santesteban et al. 2011). Cílem je kontrola reprodukčního a vegetativního růstu, vývoje, výhodnější využití vodních zdrojů a nepřímé zlepšení vyžívání. Bylo zjištěno, že při regulaci závlahy je sklizeň kvalitnější, bobule mají daleko větší množství cukrů a výraznější barevné tóny. Po určité době regulovaného vodního deficitu se opět začíná zavlažovat, aby se zachovala aktivita listů a zejména, aby se podpořila syntéza cukru a jejich translokace do bobulí. Závlaha by měla být nadále kontrolována, aby nedošlo k rychlému šoku a nebyl u rostlin navozen stres (Santesteban et al. 2011).

Během svého růstového cyklu jsou rostliny často vystaveny různým biotickým vlivům a současně působí i abiotické stresy. V terénu se často vyskytují různé stresové faktory současně, což vede k novému stavu stresu – tzv. kombinovanému stresu. Pokud se stresy potkají, vinice může být zcela zlikvidována (Ju et al. 2021). Specializované plodiny víceletých stromů a keřů jsou často postiženy, a to tím, že se postupně snižuje kvalita a zdraví rostlin, což je obecně definováno jako pokles úrody (Manici et al. 2017).

Jedním z nejreprezentativnějších případů ekonomických škod na celém světě je úpadek vinic spojený se syndromem nazývaným Esca, což představuje chorobu s názvem chřadnutí a odumírání révy, která je způsobená polyfágními patogeny způsobující hniloby. Toto onemocnění vykazuje progresivní trend za posledních pár let. Syndrom dosáhl dramatických rozměrů v hlavních zemích produkujících vinnou révu, zejména ve Francii a Itálii. Pokud jde o projev onemocnění, jsou rozhodující stanovištní podmínky, resp. stresové situace. Byl prokázán zvýšený výskyt tohoto onemocnění ve vinicích na extrémně suchých stanovištích s nedostatečnou výživou. Příznaky napadení na listech a hroznech se projeví

ažněkolik let po infekci. K hynutí napadených keřů dochází zpravidla v období teplých suchých letních period, kdy se kriticky projeví destrukce vodivých svazků xylému (Manici et al. 2017).

### 3.3.5 Stres vyvolaný přemokřením – hypoxie

Plastičnost rostlin, tedy jejich schopnost přizpůsobit se ve vývojových fázích nepříznivým podmínkám, jim umožňuje vyrůst i v prostředí charakterizovaném extrémními výkyvy. Přemokření, oproti suchu, způsobuje omezení přístupu kyslíku do rostlinných tkání, hypoxii. Úplná nepřítomnost kyslíku se nazývá anoxie. Tento stav může nastat při přemokření půdy, špatnými vlastnostmi struktury, nebo jejím utužením. Zápavy indukují mnoho nežádoucích změn v půdním profilu, kdy se jedná se o změny hladiny pH, kyslíku a také redoxního potenciálu (Muhammad Arslan Ashraf 2012).

Rostliny k životu nezbytně potřebují molekulární kyslík, který je v atmosféře běžně zastoupen z 21 %. Stav, kdy rostlina má standardní množství kyslíku k dispozici, se nazývá normoxie. Rostliny jsou schopny překonat přechodnou hypoxii, když se pak vrátí ke standardu (León et al. 2021). Nežádoucí poškození se může lišit v závislosti na době zamokření a také na části rostliny, která je ve vodě ponořená. Výrazně citlivé na nedostatek kyslíku jsou zejména mladé rostliny, nebo rostliny v době kvetení (Xie et al. 2021).

Živé organismy jsou někdy vystaveny podmínkám nízké dostupnosti  $O_2$ , které nebrání přežití, ale mění jejich přirozený růst. Když jsou rostliny v nadměrně vlhkém prostředí, jako jsou zaplavené půdy, kde přebytečná voda obklopuje kořeny, semena, nebo výhonky, vážně brání difúzi kyslíku a dochází k narušení výměny plynů.

Vzhledem k sesilnému charakteru rostlin, které jsou svými kořeny pevně ukotveny v zemi, vyvinuly se strategie umožňující přežití v podmínkách pod vodou v zaplavených zemích po vydatných deštích (Xie et al. 2021). Na základě stresu, který je trvalejší hypoxií vyvolán, se rostliny brání prostřednictvím dvou alternativních strategií (León et al. 2021).

Za podmáčených podmínek rostliny vykazují několik reakcí, včetně omezené vodivosti průduchů, čisté rychlosti asimilace  $CO_2$  a hydraulické vodivosti kořene. Dále také rostliny pěstované v podmáčených podmínkách často čelí oxidačnímu poškození způsobenému tvorbou reaktivních forem kyslíku (ROS). Ty ovlivňují integritu membrán a způsobují poškození účinnosti fotosystému II, čímž způsobují značné snížení rychlosti fotosyntézy (Muhammad Arslan Ashraf 2012). Je také známo, že zamokření vyvolává nepříznivé účinky u řady fyziologických a biochemických procesů rostlin tím, že vytváří nedostatek základních živin, jako je dusík, hořčík, draslík, vápník (Muhammad Arslan Ashraf 2012).

Mokřadní rostliny tolerují delší a silnější hypoxické podmínky než suchozemské rostliny. Prostřednictvím kombinace únikových strategií, které podporují růst určitých orgánů k dosažení normoxického stavu a klidových strategií, zpomalují růst a šetří metabolické zdroje. Obě strategie se liší z hlediska zapojení fytohormonové signalizace i využití zdroje dusíku a určují míru tolerance k hypoxii u mokřadních rostlin.

Na druhou stranu, většina suchozemských rostlin může přežít při krátkodobém stresu z hypoxie, ale nemůže přežít dlouhodobý nedostatek  $O_2$  a těžké anaerobní podmínky. Podmínky při zaplavení podstatně brání správnému vývoji a růstu rostlin. Při dlouhodobém nedostatku kyslíku rostliny vykazují metabolický přechod z aerobního dýchání na anaerobní fermentaci (Muhammad Arslan Ashraf 2012).

Často se jedná o přechodnou hypoxii, dokud voda neopadne a neobjeví se normoxie. Při nedostatku kyslíku se u rostlin dramaticky snižuje produkce ATP, tím se pak mění metabolické a vývojové procesy. Odolnost vůči nedostatku kyslíku závisí na typu rostlinné buňky, dále také na genotypu a samozřejmě na vnějších podmínkách. Mezi tyto vnější podmínky patří například trvání zamokření, úroveň osvětlení a okolní teplota (Fukao & Bailey-Serres 2004).

Přebytečná voda také způsobuje zaplavení buněčného apoplastu, který zůstává i po opadnutí vody, což způsobuje tzv. hyperhydricitu, charakterizovanou několika morfologickými abnormalitami spojenými s vážným narušením výměny plynů. Hyperhydricita, neboli vitrifikace, vyjadřuje abnormality růstu *in vitro*. Rostliny jsou křehké a mají skelnatý syndrom výhonů (Fukao & Bailey-Serres 2004).

Nedostatek molekulárního kyslíku také může dramaticky snížit produktivitu plodin (Fukao & Bailey-Serres 2004) a tím způsobí výnosové ztráty, které jsou spojeny s horší dostupností dusíku v přemokřené půdě. Kromě tohoto abiotického faktoru může snadněji dojít k působení faktorů biotických, protože se v takových podmínkách velmi dobře množí rostlinné patogeny způsobující různé choroby (León et al. 2021). Jelikož rostliny vystavené přemokření trpí značnými výnosovými ztrátami, je tento problém hlavní překážkou udržitelného zemědělství (Muhammad Arslan Ashraf 2012).

Některé rostliny běžně zažívají hypoxické stavy během jejich vývoje mimo stresové podmínky. Jak již bylo zmíněno, dlouhodobá hypoxie nemá pozitivní vliv na vývoj rostliny. Nicméně nízká hladina kyslíku se ukázala jako důležitý vývojový faktor, který je nezbytný například pro meiózu a klíčení semen (León et al. 2021).

## 4 Metodika

V této kapitole je představena příprava a vypěstování rostlinného materiálu a následně použité metody a stanovení. Veškerá stanovení a pokusy s rostlinami, které jsou v této diplomové práci využity, vychází z již používaných analýz. Výzkum spočívá ve sledování a hodnocení fyziologických změn v rostlinách révy vinné, které jsou vystaveny umělému vodnímu stresu. Dle Klíče ke květeně ČR (Slavík & Štěpánková 2011) byly ověřeny odborné názvy rostlin. Seznam použitých pomůcek, přístrojů a chemikálií je součástí Přílohy 10.1, také fotografie pořízené během pokusu jsou v Obrazové příloze 10.2.

### 4.1 Charakteristika pokusného materiálu

Pro tento pokus byly vybrány tři známé moštové odrůdy révy vinné. Moštové odrůdy jsou vhodné zejména pro výrobu hroznového moštu, burčáku a samozřejmě vína. Jsou charakteristické menší velikostí hroznů a bobulí, které jsou ale velmi šťavnaté. Nemívají pevnou dužninu, která by komplikovala lisování a zároveň by způsobila menší výlisnost, tedy objem moštu získaný při lisování hroznů.

Výchozím rostlinným materiálem bylo odřezané réví z památkové chráněné vinice Svate Kláry v Praze – Troji. Tato vinice pochází již ze 13. století a spolu s dalšími pražskými vinicemi připomíná slávu tehdejšího vinařství. Od roku 1995 je vinice součástí pražské botanické zahrady, zpřístupněná od roku 2004 návštěvníkům.

#### 4.1.1 'Tramín červený'

##### Původ

Místo původu odrůdy 'Tramín červený' (TČ) není zcela známo, zřejmě pochází z Rakouska nebo jižního Tyrolska. Z genetického hlediska se velmi podobá volně rostoucí lesní révě, z níž nejspíše vznikl nahodilým křížením. Běžně se pěstuje i v jiných zemích, kde má svůj místní název. Například v Německu jej nalezneme hned pod několika názvy, např.: 'Traminer' či 'Roter Traminer', na Balkáně 'Traminac crveni', nebo na území Maďarska 'Piros Tramini'. Dříve se předpokládalo, že jsou výrazné rozdíly mezi 'Tramínem kořeným' a 'Tramínem červeným', ale dnes už tomu tak není (Pavloušek 2011; Přehled odrůd révy vinné, 2020).

##### Ampelografická charakteristika a jiné znaky odrůdy

TČ je bujně rostoucí odrůda náročná na půdu a stanoviště, ale dobře odolná vůči mrazům. Její odolnost vůči chorobám je uspokojivá. Půda, na které je pěstovaná by měla být živná, hluboká a snadno zahřevná (Přehled odrůd révy vinné, 2020).

Jedná se o odrůdu s nízkými výnosy, což souvisí s velikostí hroznů a bobulí. Hrozny jsou krátké, malé a široce křídlaté. Bobule jsou malé a pevná slupka má silně růžovou barvu, až do červena. Vyskytují se mutace se zelenožlutou, nebo zlatožlutou, což bývá atraktivní při výrobě bílých vín, které díky tomu mají intenzivní barvu a aroma. Listy jsou malé, téměř kulaté, na rubu ochlupené a na jejich bocích se objevují výkroje. Hrozny jsou odolné proti plísni šedé, což umožňuje ponechat hrozny dlouho na keřích a dosáhnout vysoké cukernatosti (Pavloušek 2011).

#### 4.1.2 'Rulandské modré'

##### Původ

'Rulandské modré' (RM) je odrůda pocházející z Francie. Podobně jako 'Chardonnay' je i tato burgundská odrůda velmi rozšířena po celém světě. Nese téměř všude původní francouzský název 'Pinot noir', v Itálii 'Pinot nero'. U nás se původně nazývalo 'Roucí modré'. Jedná se o středně ranou až pozdní modrou moštovou odrůdu. V genotypu odrůdy jsou zakódovány rodiče samovolně v přírodě vzniklé odrůdy z křížení 'Mlynářka' ('Pinot meunier') s odrůdou 'Tramín' (Pavloušek 2011).

##### Ampelografická charakteristika a jiné znaky odrůdy

Tato odrůda je středně náchylná k napadení plísní šedou a dobře odolná vůči padlí. Výnosově se tato odrůda řadí mezi ty s nízkou až střední výnosovou hodnotou. Cukernatost vylišaného moštu je velmi vysoká (Pavloušek 2011). List dorůstá střední velikosti pětiúhelníkového tvaru a profil čepele se podobá písmenu V. Hrozen je poměrně malý, ale hustý, plný malých bobulí. Barva slupky je velmi tmavá, ale přítomnost anthokyanů v dužnině není tak výrazná (Přehled odrůd révy vinné, 2020). Vína vyrobená z této odrůdy mají mnoho podob dle místa a způsobu výroby. Vína se hodí pro dlouhodobé skladování, výrobu šumivých vín, nebo jako svěží víno pro vypití v horizontu jednoho až dvou let, kdy si zachovává ovocné tóny.

#### 4.1.3 'Ryzlink rýnský'

##### Původ

'Ryzlink rýnský' (RR) je stará tradiční německá odrůda, která je známá a registrovaná v mnoha zemích EU. Tradičně se pěstuje v severněji položených vinařských oblastech a v Německu okolo řeky Rýn a jeho přítoků. Tato odrůda vychází ze samovolného křížení mezi TČ a divokými druhy révy v oblasti Rýna.

##### Ampelografická charakteristika a jiné znaky odrůdy

Jedná se odrůdu později rašící, tím pádem i později dozrává. Vůči jarním i zimním mrazům je dobře odolná. RR je poměrně odolný vůči houbovým chorobám, ale při velké vzdušné vlhkosti podléhá plísní šedé. Virovým onemocněním již nedokáže tolik odolat a tuto odrůdu také vyhledávají hmyzí škůdci, jako jsou obaleči. Z morfologického hlediska je RR charakteristický pětialočnatým velkým listem s nápadně červeným řapíkem. Dospělý list je na rubu plstnatý. Kuželovité hrozny jsou malé až střední velikosti a plody se vyznačují malou velikostí a žlutozelenou barvou, jejichž dužnina je poměrně řídká. Jeho vína vynikají ovocnými tóny, které jsou ovlivněny půdním typem a podnebím, při kterém dozrávají (Pavloušek 2011).

## 4.2 Založení pokusu a stresový faktor

Pokus byl založen z důvodu sledování změn fyziologických parametrů u révy vinné, ovlivněných uměle navozenou snižující se závlahou, kterou byl vyvolán abiotický stres.

V rámci nádobových pokusů byly připraveny 4 varianty s různým režimem závlahy. Pokus probíhal v částečně řízených podmínkách v experimentálním a pokusném skleníku ČZU

FAPPZ Katedry botaniky a fyziologie rostlin. Světelné i tepelné podmínky byly v těchto prostorách částečně ovlivněny, například automatickým cloněním střešní části skleníku. Do pokusu a následných analýz byly zařazeny výše uvedené moštové odrůdy révy vinné, které byly vystaveny snižujícím se množstvím zálivky, jež byla prováděna každé tři dny. Pro experiment byly pěstovány pravokořenné sazenice révy vinné (zakořeněné réví). Z réví byly připraveny řízky o dvou pupenech, které byly následně vysazeny do plastových nádob o velikosti 9×9×10 cm s celkovým objemem nádoby byl 0,52 l. Výsadba byla provedena pouze do čistého homogenního substrátu, perlitu, od výrobce Gramoflor. Zrnitostní frakce inertního substrátu byla 2–6 mm.

Řízky byly vysazeny dne 06. 05. 2021 a od dne odběru do doby sázení byly uloženy v chladicím boxu při teplotě okolo 5 °C. Od každé varianty bylo připraveno 24 sazenic, celkem tedy přibližně 288 rostlin zahrnuté ve třech odrůdách a 4 režimech závlahy. Projev abiotického stresu byl sledován na designu pokusu, který zahrnoval kontrolní variantu a tři stresové varianty (Tabulka 2).

Tabulka 2: Přehled pokusných variant s uvedeným množstvím zálivky

<b>varianta</b>	<b>množství zálivky (ml)</b>
kontrolní varianta (K)	120
stres 1 (S1)	90
stres 2 (S2)	60
stres 3 (S3)	30

Celý pokus trval od začátku června do začátku července, v časovém rozmezí od 8. 6. 2021 do 7. 7. 2021. Během tohoto období bylo provedeno celkem pět odběrů listové hmoty u jednotlivých odrůd ze všech variant pro další analýzy a stanovení. Kontrolní varianta byla měřena a odebírána nejméně ve třech opakováních, v případě stresovaných variant bylo hodnoceno nejméně pět zástupců. Odběr probíhal ve skleníku a laboratoři FAPPZ Katedry botaniky a fyziologie rostlin. Byly zpracovány čepele narostlých listů bez známek výrazného poškození či zaschnutí. Vždy byly připraveny balíčky naváženého materiálu s příslušným popiskem a tyto byly ihned zmrazeny v tekutém dusíku pro zachování čerstvosti a vitality listové hmoty. Vzorky byly následně uloženy při -80 °C do doby provedení analýzy vzorků.

Mezi měřené charakteristiky byly zahrnuty transpirace, vodní potenciál, vodní sytostní deficit, fluorescence, fotosyntéza, obsah celkových chlorofylů a karotenoidů. Dále bylo také stanoveno množství celkových fenolických látek a flavonoidů.

### 4.3 Metody měření fyziologických charakteristik

#### 4.3.1 Rychlost výměny plynů

Fotosyntéza a transpirace byla měřena pomocí nedestruktivní metody s přístrojem LCpro+. Přístroj LCpro+ je infračervený analyzátor plynů, který slouží pro stanovení rychlosti výměny plynů mezi intaktním listem a okolím. Rychlost výměny plynů je stanovena na základě gazometrické metody otevřeného systému. Přístroj je navržen pro měření rychlosti fotosyntézy,



transpirace a stomatální vodivosti. Dále dokáže změřit i obsah CO<sub>2</sub> v mezofylových buňkách, nebo ozářenost.

Jedná se o přenosné zařízení, proto se využívá v laboratorních, tak polních podmínkách. Měření probíhalo v ranních až dopoledních hodinách, kdy je vyšší intenzita světla, aby se zabránilo fotoinhibici (poškození rostlin nadměrným působením světelného záření) (Asanica et al. 2015). Pokusné rostliny byly měřeny v experimentálním skleníku. Byly měřeny vždy dva listy z každé rostliny. U kontrolní varianty byly měřeny 3 rostliny, u jednotlivých stupňů stresu pět rostlin. Měření jednoho listu trvalo 10 minut a hodnoty byly automaticky ukládány v intervalu jedné minuty, tím bylo získáno 10 hodnot z jednoho měřeného listu. Po naměření byla listová hmota sklizena a zpracována pro další analýzy v laboratorním prostředí.

Přístroj LCpro + je navržen tak, aby dokázal měřit jednotlivé charakteristiky a generoval automatické odezvy na světlo. Pro zachování kvality je možnost využít několika nastavných hlavic, aby rovnoměrně kopírovala měřený list, který se dle druhu rostlin liší velikostí i povrchem. V měřící hlavici s listovou komorou je možnost nastavení fotosynteticky aktivní radiace (PAR) v rozsahu 0–2000  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  a možností regulovat teplotu  $\pm 14$  °C od teploty okolí. Rozsah měření CO<sub>2</sub> je 0–3000  $\mu\text{mol}$ , pro H<sub>2</sub>O 0–75 mmol.

Analyzované plyny vystupující z komůrky a retenční plyny vstupující do komůrky jsou střídány s nulovým plynem, který trvá cca 16–20 sekund, během měřicího cyklu. Rychlost transpirace a fotosyntézy se vypočítá z průtoku a změny koncentrace plynů mezi výstupem a vstupem z komory. Experimentální naměřená data se zobrazují v reálném čase na grafickém displeji, kterým je přístroj vybaven (ADC BioScientific 2013; Medrano et al. 2015). Rychlost transpirace (E) byla stanovena dle vzorce:

$$E = u_s \Delta W \text{ [mmol H}_2\text{O.m}^{-2}.\text{s}^{-1}\text{]},$$

$\Delta W$  – rozdíl koncentrací vodní páry [ $\text{mol.mol}^{-1}$ ]  
 $u_s$  – průtok vzduchu na  $\text{m}^2$  listové plochy [ $\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ]



Obrázek 3: Měření pomocí přístroje LCpro + (zdroj: autor práce)

U rostlin byly fyziologické charakteristiky měřeny (Obrázek 3) při hustotě ozáření  $650 \text{ mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  a při teplotě  $25 \text{ }^\circ\text{C}$ . Měření probíhalo na základě metodických pokusů Holé et al. (2010).

### 4.3.2 Fluorescence chlorofylu

Fluorescence chlorofylu je jev, který je vyvolán absorpcí energie dopadajícího záření molekulami chlorofylu a rostlin a následnou emisí části této energie zpět do okolí rostliny v podobě záření o poněkud větší vlnové délce, avšak stále ještě ve viditelné oblasti spektra.

Je měřitelná v různých oblastech spektra, avšak většina měřících metod používá fluorescenci chlorofylu při vlnové délce  $690 \text{ nm}$ . Celkové množství fluorescence chlorofylu je velmi malé, odpovídá pouze 1 nebo 2 % celkového absorbovaného světla (Maxwell & Johnson 2000). Byla zjišťována fluorescence chlorofylu a potenciální fotochemická efektivita elektronového transportu ve fotosystému II ( $F_v/F_m$ ). Za příznivých fyziologických podmínek se hlavní část světla absorbovaného zelenými listy využívá při fotosyntetických světelných reakcích a souvisejících reakcích přenosu elektronů za vzniku ATP a NADPH, které jsou nutné k asimilaci  $\text{CO}_2$  v cyklu redukce uhlíku (Buschmann 2007).

Světelná energie absorbovaná molekulami chlorofylu v listu je využita ve více případech. Může být použita k pohonu fotosyntézy (fotochemie), přebytečná energie může být rozptýlena jako teplo nebo může být re-emitována jako světlo – fluorescence chlorofylu. Tyto tři procesy se vyskytují v konkurenci, takže jakékoliv zvýšení účinnosti jednoho povede ke snížení výtěžku ostatních dvou. Měřením výtěžku fluorescence chlorofylu lze tedy získat informace o změnách účinnosti fotochemie a rozptylu tepla (Maxwell & Johnson 2000).

Přenosný systém OS5p+ zahrnuje nejnovější pokroky v měření proměnné fluorescence chlorofylu. OS5p+ dokáže měřit většinu typů stresu rostlin a nabízí širší rozsah aktuálních měřících protokolů a automatizace. Tento přístroj byl využit na sledování fluorescence chlorofylů (Opti-Sciences 2021).

Na vyvinuté listy byly připevněny měřící klipy, které jsou nastavitelné na polohu zatměnou, či osvětlenou (Obrázek 4).



Obrázek 4: Klipy na listech révy vinné v pozici zatměněno (zdroj: autor práce)

Pro měření bylo nutné přichytit klipy v počtu pět tak, aby byla nastavena poloha zatemněno, která trvala 30 minut. Po uplynulé době se do každého klipu posvítí přístrojem OS5p+, který zvládne během vteřiny vyhodnotit fluorescenci chlorofylů.

Byly změřeny tyto hodnoty:

- potenciální fotochemická efektivita elektronového transportu ve fotosystému II
- základní fluorescence (F<sub>0</sub>)
- maximální fluorescence (F<sub>m</sub>)
- variabilní fluorescence (F<sub>v</sub>)

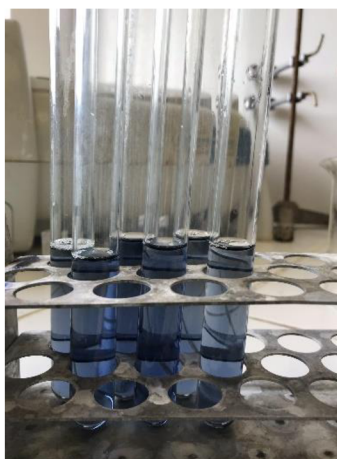
Variabilní fluorescence (F<sub>v</sub>) byla přístrojem stanovena z hodnot základní fluorescence (F<sub>0</sub>) a maximální fluorescence (F<sub>m</sub>). Nejužívanější hodnotou pro fluorescenci chlorofylů je poměr F<sub>v</sub>/F<sub>m</sub> – z něj tedy vychází hodnota, která se při nestresových podmínkách pohybuje kolem hodnoty 0,8.

Když se list přenese z temnoty na světlo, reakční centra PSII se postupně uzavírají. To způsobí během několika sekund zvýšení výtěžku fluorescence chlorofylu. V návaznosti na to však hladina fluorescence obvykle začne znovu klesat v časovém měřítku několika minut.

#### 4.3.3 Stanovení celkových fenolických látek

Pro stanovení obsahových látek v listech bylo naváženo 0,5 g čerstvého materiálu, který se po přelití tekutým dusíkem ve třecí misce, rozetřel tloučkem s 10,5 ml 80% ethanolu. Rozmělněný materiál se nechal několik minut vyluhovat, a poté byl zfiltrován přes filtrační papír. Filtrát byl ihned použit pro stanovení, nebo uchován při teplotě -20 °C pro další analýzy.

Stanovení celkového obsahu fenolických látek (total phenolic content; TPC) vycházelo z metodiky dle Marinova et al. (2005). Do zkumavky bylo napipetováno 0,5 ml extraktu, ke kterému bylo přidáno 1,5 ml 10×zředěného Folin-Ciocalteuova činidla. Po promíchání se nechala směs inkubovat šest minut při laboratorní teplotě a následně se přidalo 1,6 ml 7% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> a vzorek se doplnil destilovanou vodou na konečný objem 5 ml. Po 90 minutách ve tmě byla změřena absorbance při 760 nm na UV/Vis spektrofotometru proti vodě. TPC byl následně vyjádřen jako ekvivalent kyseliny gallové (GAE) v mg/g sušiny. Obrázek 5 znázorňuje připravené vzorky pro měření.



Obrázek 5: Připravené vzorky pro měření TPC (zdroj: autor práce)

#### 4.3.4 Stanovení celkových flavonoidů

Pro stanovení obsahu celkových flavonoidů (total flavonoids content; TFC) byl použit postup upravený dle Wan & Ying (2012). Z extraktu připraveného pro analýzu TPC bylo odebráno 0,4 ml, zředěno 0,16 ml destilované vody a smícháno s 0,12 ml 5% NaNO<sub>2</sub>. Roztok se nechal pět minut inkubovat při laboratorní teplotě a následně bylo přidáno 0,12 ml 10% AlCl<sub>3</sub>. Po druhé inkubaci trávající šest minut se ke směsi napipetovalo 0,8 ml 1M NaOH, a po promíchání se objem doplnil na 2 ml destilovanou vodou. Absorbance roztoku byla změřena při vlnové délce 415 nm a TFC byl vypočítán pomocí kalibrační křivky připravené ze standardu kvercetinu a uvedena v mg/g. Obrázek 6 zobrazuje připravené vzorky.



Obrázek 6: Připravené vzorky pro měření TFC (zdroj: autor práce)

#### 4.3.5 Stanovení obsahu chlorofylů

Obsah chlorofylů byl stanoven podle metodiky Porry et al. (1989). Z listů révy vinné byly při každém odběru vyseknuty pomocí korkovrtu dva terčíky z každé rostliny v dané hodnocené variantě o ploše 0,5 cm<sup>2</sup>. Terčíky byly jednotlivě vloženy do čistých zkumavek, kam byl následně přidán 1 ml dimethylformamidu. Takto připravené zkumavky se překryly parafilmem a byly umístěny na třepačku do laboratorní digestoře, kde se třepaly přes noc zakryté černou látkou. Další den byl připraven extrakt vhodný pro měření. Extrakt byl přelit do spektrofotometrických kyvet a byla měřena absorbance při 646,8; 663,8 a 710 nm. Pro přepočet na nmol/ml byl výsledek násoben koeficientem 1,11. Pro stanovení množství chlorofylů na plochu listu byl výsledek následně násoben dvěma. Obsah chlorofylů je uveden v nmol/cm<sup>2</sup>.

Rovnice pro výpočet chlorofylu a:  $Chl\ a = 12,0 * A_{663,8} - 3,11 * A_{646,8}$

Rovnice pro výpočet chlorofylu b:  $Chl\ b = 20,78 * A_{646,8} - 4,88 * A_{663,8}$

Rovnice pro výpočet celkového chlorofylu:  $Chl\ a+b = 7,12 * A_{663,8} + 17,67 * A_{646,8}$

Rovnice pro výpočet karotenoidů:  $Car_{x+c} = (1000 * A_{480} - 1,12 * Chl\ a - 34,07 * Chl\ b) / 245$



#### 4.3.6 Listový vodní potenciál

Osmotický potenciál byl stanoven na vybraných rostlinách všech variant a odrůd. Vzorky byly měřeny pomocí přístroje WP4C. Jedná se o přístroj vhodný k určení nejen osmotického potenciálu u rostlin, ale například i vzorků půdy. Interval hodnot, které mohou být přístrojem WP4C měřeny u rostlinného materiálu, se mohou pohybovat v rozmezí od -0,1 až do -300 MPa. Doba měření jednoho rostlinného vzorku trvá průměrně okolo 20 minut. Pokus stanovení vodního potenciálu spočíval v odebrání listového materiálu napěstovaných odrůd révy vinné dle jednotlivých variant. Jednotlivé listy byly naskládány do injekční stříkačky o objemu 5 ml. Naplněné stlačené injekční stříkačky utěsněné parafilmem byly uloženy minimálně 24 hodin v mrazáku. Následně se před měřením nechaly stříkačky při běžné laboratorní teplotě, dokud listové pletivo zcela nerozmrzlo. Vodní potenciál, udáván v MPa, byl stanoven na základě několika vytlačených kapek tekutiny. Měření tohoto parametru bylo provedeno přístrojem WP4C ve více opakování u jednotlivých variant vzorků.

#### 4.3.7 Vodní sytostní deficit

Vodní sytostní deficit udává, kolik vody rostlině nebo její části chybí do maximálního nasycení. Z čerstvých listů sledovaných odrůd révy vinné byly pomocí korkovrtu vyřezány listové terčíky, které neobsahovaly výraznou listovou žilnatinu. Vyražené terčíky byly zváženy na laboratorní váze a následně byly nasyceny destilovanou vodou po dobu 3 hodin. Po saturaci byly terčíky opět zváženy, a poté se nechaly vysušit. Sušení probíhalo 48 hodin v sušárně při 70 °C. Sušina se následně naposledy zvážila a hodnoty vodního sytostního deficitu vyjádřeny v %. Výpočet byl proveden dle následujícího vzorce:

$$VSD (\%) = \frac{\text{hmotnost po nasycení vodou} - \text{čerstvá hmotnost}}{\text{hmotnost po nasycení vodou} - \text{hmotnost sušiny}} * 100$$

#### 4.3.8 Zpracování výsledků

K vyhodnocení výsledků byl použit program pro zpracování dat Microsoft Office Excel a následně STATISTICA verze 12.0. Jako metoda pro analyzování dat byla použita ANOVA s interakcemi. Stanovená hladina významnosti byla  $\alpha=0,05$ . Výsledkem ANOVY byl vždy graf s navolenými parametry, jako je F-test, vážený průměr a  $\pm$  směrodatná odchylka. Hodnoty F-testu a hodnoty p jsou zaznamenány v popisu jednotlivých grafů. Výsledky vychází nejméně ze tří opakování.

## 5 Výsledky

V této diplomové práci byla věnována pozornost vlivu snižující se zálivky na fyziologické parametry révy vinné. Jako modelové rostliny byly vybrány tři její odrůdy, běžně pěstované v České republice, u nichž se během několika týdnů pokusu měnily u jednotlivých stresových variant sledované parametry.

### 5.1 Rychlost výměny plynů

V Grafu 1 je znázorněn vývoj rychlosti transpirace ( $\text{mmol H}_2\text{O}/\text{m}^2\cdot\text{s}$ ) po dobu pěti odběrů u jednotlivých odrůd a čtyřech pokusných variant. Pozorované varianty představují čtyři sledované objemy používané zálivky: K=120 ml, S1=90 ml, S2=60 ml a S3=30 ml vody.

Z Grafu 1 vyplývá, že se během testování projevily změny v rychlosti transpirace. Vzhledem k tomu, že hodnota  $p$  je nižší než hladina významnosti  $\alpha=0,05$ , bylo potvrzeno, že zde existuje alespoň jeden statisticky významný rozdíl. Rychlost transpirace se měnila zejména až po delší době trvání experimentu.

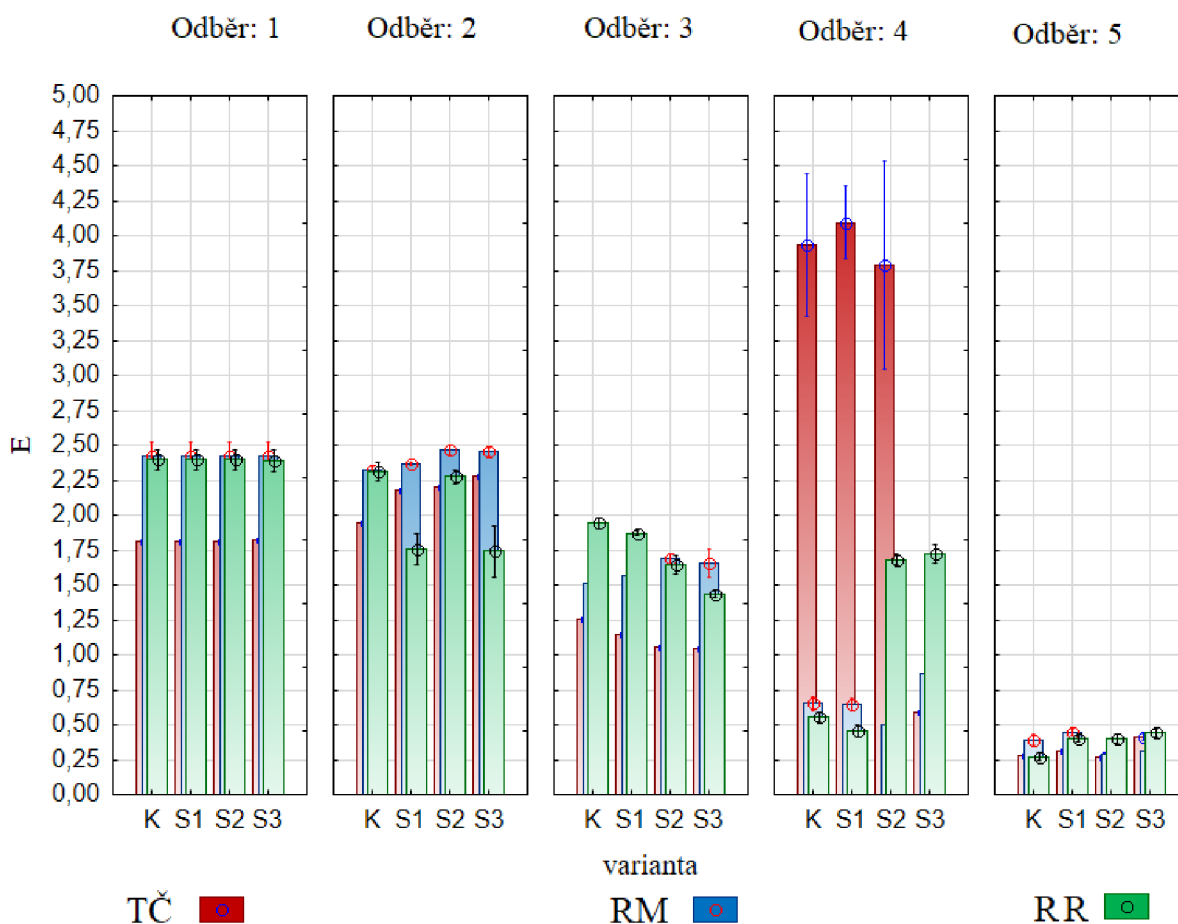
Při prvním odběru byly naměřeny průměrné hodnoty  $E$  u odrůdy TČ nejnižší z hlediska odrůd ( $1,75 \text{ mmol H}_2\text{O}/\text{m}^2\cdot\text{s}$ ). Rychlost transpirace ostatních dvou odrůd byla vyšší, ale nebyl mezi nimi výrazný rozdíl.

Druhý odběr se rychlostí transpirace podobal odběru prvnímu, nicméně lze pozorovat, že u odrůdy TČ se s klesající zálivkou projevil rostoucí trend a podobný nárůst se objevil i u odrůdy RM. Hodnoty  $E$  u odrůdy RR naopak spíše klesaly s výjimkou varianty S2, kde byl pokles ve srovnání s kontrolou menší.

Uprostřed měření (3. odběr) došlo k poklesu  $E$  u všech odrůd oproti předcházejícímu a kromě TČ, byl pozorován, ve srovnání s kontrolou, lineárně klesající trend jak u odrůdy TČ, tak i RR. Pouze odrůda RM si tak zachovala se snižováním zálivky rostoucí míru transpirace.

Nejvyšší průměrné hodnoty rychlosti transpirace byly naměřeny při čtvrtém odběru u varianty K, S1 a S2 odrůdy TČ. Zcela nejvyšší průměrná hodnota rychlosti transpirace ( $4,1 \text{ mmol H}_2\text{O}/\text{m}^2\cdot\text{s}$ ) byla zjištěna u varianty S1, která odpovídá 90ml zálivce této odrůdy TČ. U odrůdy RM se v tomto odběru dále snížily průměrné hodnoty  $E$  oproti předešlým odběrům, ale stále si zachovávala o něco vyšší transpiraci u varianty s nejmenší zálivkou. U odrůdy RR však byl poprvé zaznamenán nárůst u variant s redukováným množstvím vody (S2, S3), kdy transpiroval daleko rychleji oproti RM.

U posledního odběru byl zaznamenán pokles u všech odrůd, zvláště výrazný propad nastal u TČ, který ještě v předešlém týdnu experimentu dosahoval nejvyšších průměrných hodnot  $E$ . Odrůda RR si udržela mírně rostoucí trend, naopak u RM se rychlost transpirace se sníženou zálivkou také redukovala. Mezi jednotlivými odrůdami byly při tomto závěrečném odběru pouze nepatrné rozdíly zaznamenaných hodnot, i přes různé stupně stresu. Celkově rychlost transpirace v průběhu experimentu s výjimkou TČ (4. odběr) klesala včetně kontroly, nicméně u jednotlivých odrůd bylo možné pozorovat odlišnou reakci na působící stres.



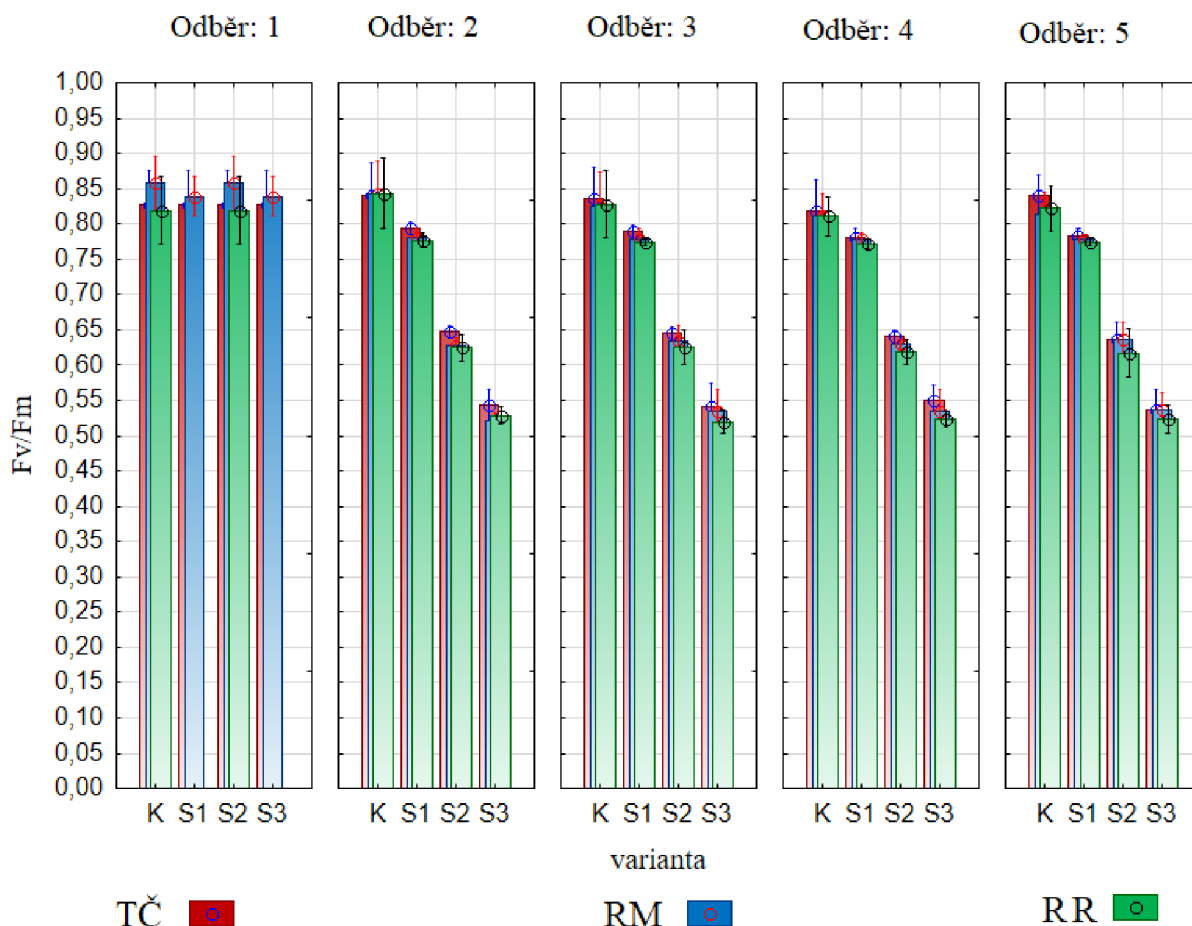
Graf 1: Rychlost transpirace (mmol H<sub>2</sub>O/m<sup>2</sup>.s), (F=22,224=64,311; p=0,000)

## 5.2 Fluorescence chlorofylu

Graf 2 zobrazuje změny v listech révy vinné z hlediska fluorescence chlorofylu určeného na základě poměru Fv/Fm v průběhu experimentu. Jednotlivé rostliny tří odrůd byly analyzovány opět ve 4 typech závlivky a z výsledků je viditelný rozdíl mezi prvním odběrem a ostatními u stresovaných variant. Vzhledem k tomu, že ale hodnota p (0,999) je vyšší než hladina významnosti  $\alpha=0,05$ , v tomto souboru nebyl prokázán statisticky významný rozdíl. Interval při zjištěných naměřených průměrných hodnotách fluorescence se pohyboval při prvním odběru u všech odrůd od 0,82 do 0,86.

V průběhu experimentu bylo zjištěno, že maximální kvantový výtěžek PS II má klesající efekt se snižující se závlivkou, který se projevil již při druhém odběru. Čím vyšší stupeň stresu na rostlinu působil, tím byla naměřena nižší průměrná hodnota kvantového výtěžku. Hodnoty u varianty K byly zjištěny okolo 0,84, varianta S1 se u všech odrůd pohybovala v rozmezí 0,75–0,80 a varianta S2 se projevila hodnotami do 0,63.

Vůbec nejnižší poměr Fv/Fm byl pozorován u poslední stresované varianty S3, kde se od druhého odběru hodnoty pohybovaly u všech odrůd v intervalu 0,50–0,55. Nejnižší maximální kvantový výtěžek PS II byl naměřen při druhém odběru u RM (S3), kdy v přecházejícím měření měla tato odrůda poměr Fv/Fm v rámci kontroly nejvyšší.



Graf 2: Maximální kvantový výtěžek PS II, ( $F=22,242=0,266$ ;  $p=0,999$ )

Fluorescenci chlorofylu lze hodnotit i z hlediska minimálního kvantového výtěžku PS II, určeného poměrem  $F_v/F_0$  (Graf 3). Po statistickém zhodnocení lze říci, že v souboru neexistuje statisticky významný rozdíl mezi zkoumanými vzorky, jelikož  $p > 0,05$ . Nicméně mezi naměřenými průměrnými hodnotami  $F_v/F_0$  jsou vidět u jednotlivých variant rozdíly.

Při srovnání prvního odběru s následujícími lze pozorovat odlišný vývoj  $F_v/F_0$  u jednotlivých odrůd oproti  $F_v/F_m$ . Při prvním odběru se průměrné hodnoty minimálního kvantového výtěžku pohybovaly u všech odrůd mezi hodnotou 1,00–1,25, u druhého odběru ale byly naměřeny vyšší hodnoty, a to zejména u varianty S1 a S2. U TČ došlo ke zvýšení  $F_v/F_0$  i u kontrolní varianty, zatímco odrůdy RR a RM zaznamenaly u K pokles. Po aplikaci nejmenšího množství závlivky nebyl mezi hodnotami jednotlivých odrůd révy přílišný rozdíl.

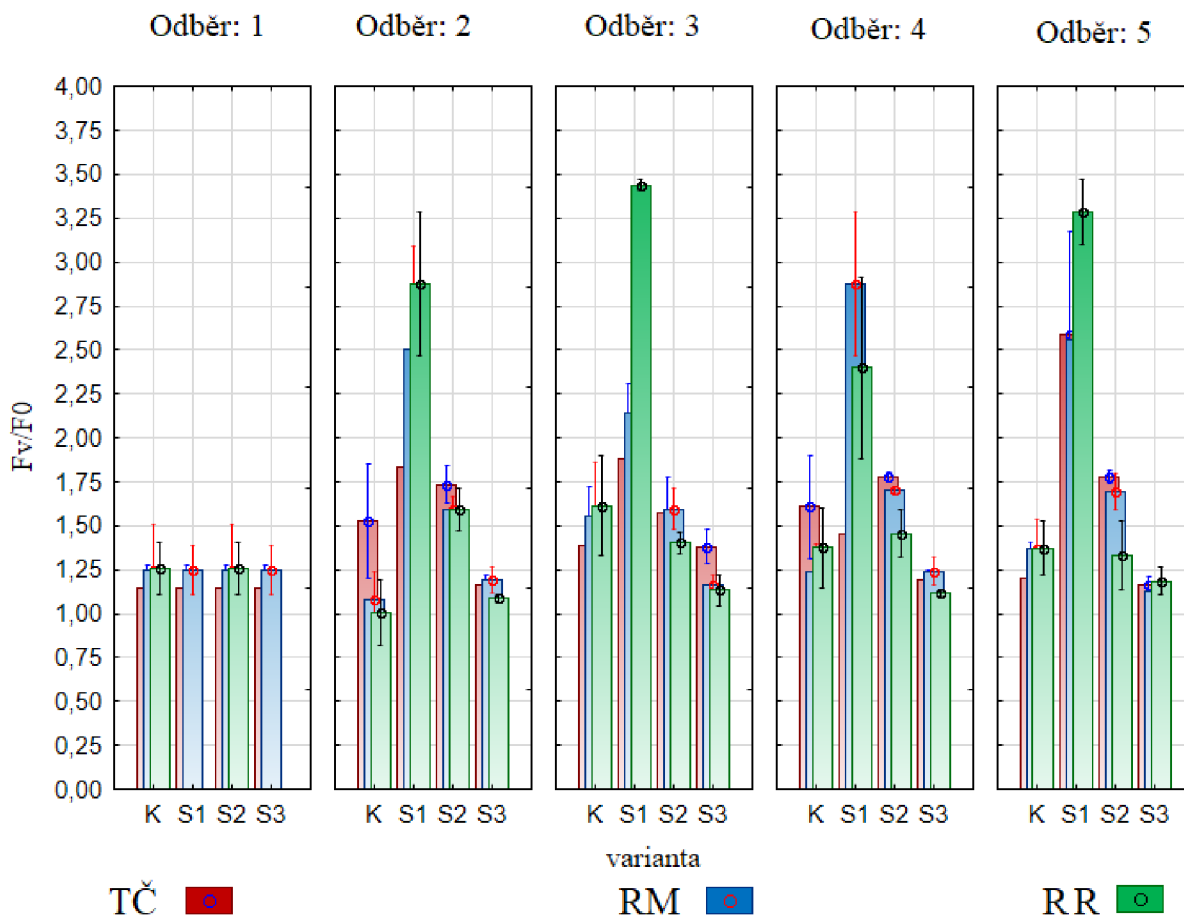
Po dalším týdnu se snižující se závlivkou u révy nenastaly výrazné změny mezi naměřenými průměrnými hodnotami oproti předchozímu. Odrůda RR se u K a S1 projevila rostoucím trendem a podobné hodnoty byly zaznamenány i u TČ a RM, kde však navýšení nebylo tak patrné jako u ryzlinku. Nejvyšší průměrná hodnota pak byla změřena právě v tomto odběru u odrůdy RR (S1;  $F_v/F_0 = 3,40$ ).

Hodnocené listy, které byly analyzovány ve 4. týdnu pokusu, ukázaly, že oproti předešlému odběru klesla průměrná hodnota S1 odrůdy RR, zatímco v rámci této závlivky došlo k nárůstu u RM.

U posledního odběru bylo zaznamenáno opětovné zvýšení u všech odrůd po aplikaci 90ml závlivky (S1), kdy i odrůda TČ měla vyšší hodnoty (2,50) ve srovnání s kontrolou a předchozími



měřeními. Celkově lze říci, že kontrolní varianta spolu s variantami S2 a S3 nevykazovaly výkyvy v průběhu experimentu přílišné výkyvy mezi naměřenými hodnotami.



Graf 3: Minimální kvantový výtěžek PS II, ( $F=22,242=0,921$ ;  $p=0,568$ )

### 5.3 Stanovení obsahu celkových fenolických látek (TPC)

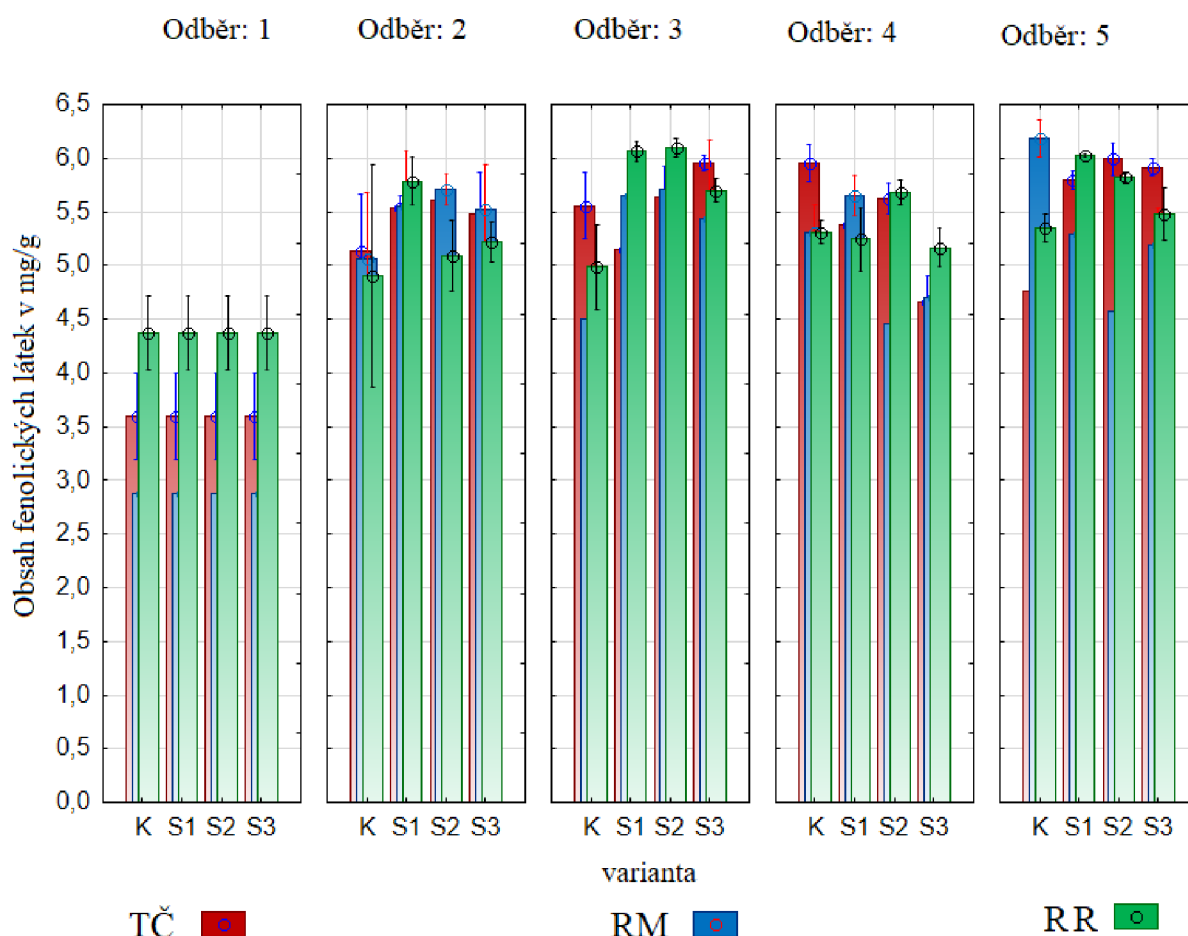
Při experimentu bylo také pozorováno, jak se mění hladina fenolických látek v listech při působení vodního stresu. Vzhledem k tomu, že hodnota  $p$  je nižší než hladina významnosti  $\alpha=0,05$ , bylo potvrzeno, že mezi variantami existuje alespoň jeden statisticky významný rozdíl, jak je vidět i z Grafu 4. Nejmenší naměřené množství bylo u RM (2,8 mg/g GAE; K, 1. odběr), nejvyšší pak také u této odrůdy na konci měření (6,2 mg/g GAE; K, 5. odběr).

U 1. odběru je patrné, že TPC je u odrůdy RR vyšší než u zbylých testovaných odrůd, kdy nejmenší naměřené hodnoty v tomto odběru byly pozorovány u odrůdy RM. V následujícím odběru došlo k nárůstu TPC u všech odrůd, ale hodnoty jednotlivých variant se příliš nelišily. U RR byl v rámci srovnání S2 a S3 s kontrolou zaznamenán pouze malý nárůst průměrných hodnot. Výraznější obsah fenolů se projevil u S1, zatímco odrůdy RM a TČ měly vyšší TPC u varianty S2.

Při 3. odběru se zvýšil TPC u varianty K odrůdy TČ, s redukovanou záhlvkou však množství těchto látek kleslo (S1), nicméně další snížení vyvolalo nárůst (S3). Také odrůdy RR a RM měly zvýšený TPC u stresovaných variant ve srovnání s kontrolní, které ale kleslo u S3.

Další týden došlo u kontrolní varianty odrůdy TČ k dalšímu nárůstu TPC, nicméně snižující se zálivka již nezpůsobila zvýšení obsahu sledované skupiny metabolitů, ale spíše další pokles. U odrůdy RM bylo pozorováno určité zvýšení u K a S1, ale zbývající dvě varianty měly TPC menší. Listy RR obsahovaly víceméně stejné množství TPC v tomto odběru, kdy byl zjištěn nárůst pouze u S2.

U posledního odběru byl zaznamenán pokles u kontrolní varianty TČ, ale tam kde byly rostliny této odrůdy ošetřeny sníženou zálivkou došlo k nárůstu TPC. Kontrola RR se zde nelišila od 4. odběru, nicméně i zde redukovaná zálivka vyvolala zvýšení množství fenolických látek. Nejvyšší průměrná hodnota TPC byla naměřena u odrůdy RM (K; 6,2 mg/g), ale na rozdíl od ostatních odrůd zde došlo k jejímu snížení u stresovaných variant.



Graf 4: TPC (F=24,171=1,174; p=0,0225)

#### 5.4 Stanovení celkových flavonoidů (TFC)

V Grafu 5, který znázorňuje obsah flavonoidů v mg/g jsou patrné rozdíly mezi jednotlivými odběry. V rámci ANOVA testu byla hodnota p nižší než hladina významnosti  $\alpha=0,05$ , a tudíž existuje alespoň jeden statisticky významný rozdíl mezi srovnávanými vzorky. Graf 5 také ukazuje, že u všech testovaných variant všech odrůd se v průběhu měření projevil střídavě klesající a rostoucí trend TFC, uvedený v QE mg/g DW.

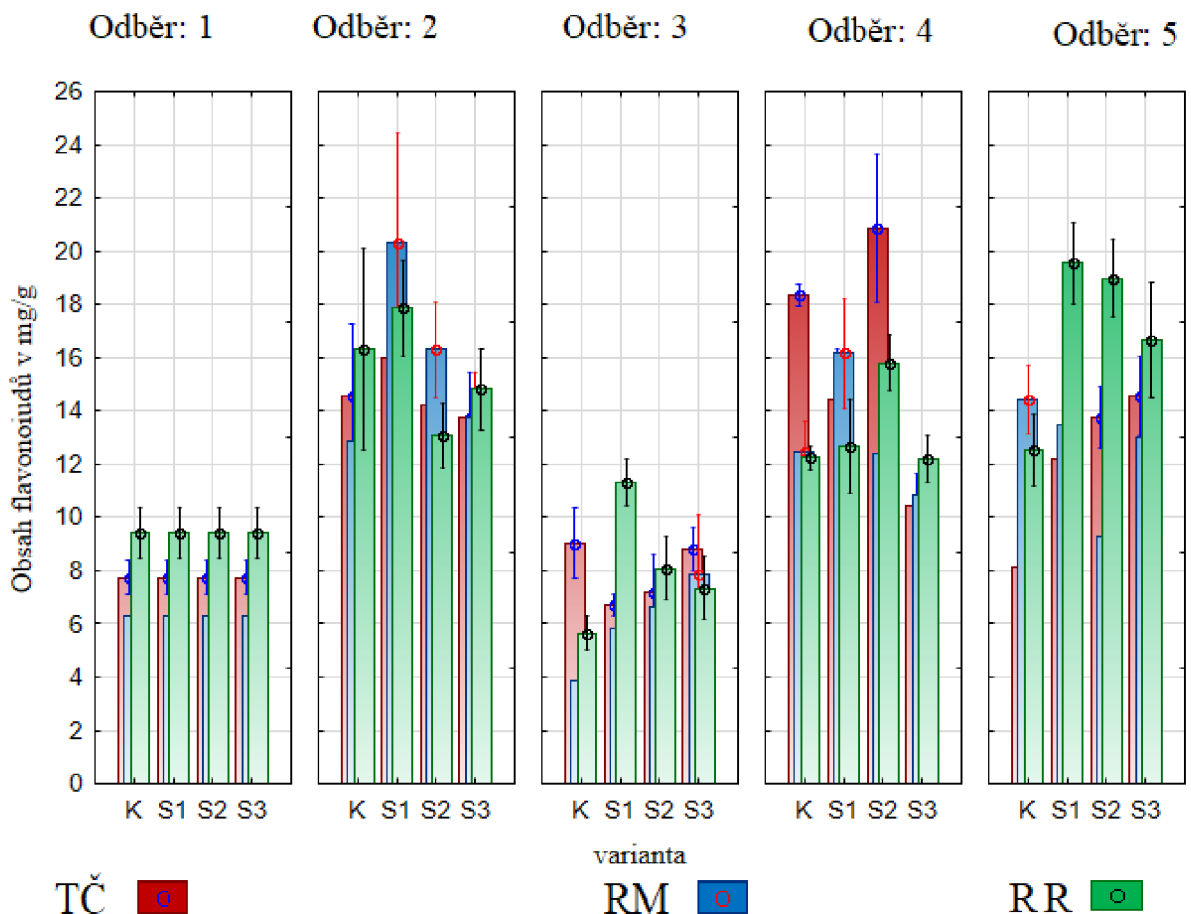
Podobně jako u TPC (Graf 4) lze vidět, že u 1. odběru, měla odrůda RR nejvyšší obsah flavonoidů (4,9 mg/g) a byla následována odrůdami TČ (3,5 mg/g) a RM (2,8 mg/g).

Při druhém odběru se výrazně zvýšil celkový obsah flavonoidů, a to u všech odrůd i stresových variant. Nejvyšší TFC byl pozorován u varianty S1 a S2 v případě RM, kdy nárůst obsahu flavonoidů byl zaznamenán i u odrůd TČ a RR. Nejnížší koncentrace pak byla u ošetření S3 u všech variant s výjimkou RR, kde byla naměřena u S2.

U 3. odběru došlo k viditelnému poklesu u všech sledovaných odrůd, kdy však rostliny RR a RM s menší záhlvkou obsahovaly více flavonoidů oproti kontrole. U RM byl nárůst postupný, zatímco u RR byla nejvyšší hodnota TFC pozorována u S1 a pak se snížila. Naopak listy z TČ měly nejméně flavonoidů u S1 a se snižující se záhlvkou se jejich obsah zvyšoval, kdy u S3 se příliš nelišil od kontroly této odrůdy. Při srovnání s TPC, tak TČ reagoval v tomto případě podobným způsobem.

Čtvrtý odběr představoval opět značný nárůst obsahu flavonoidů u pozorovaných rostlin oproti předchozímu. Nejvyšší průměrné hodnoty byly zjištěny u odrůdy TČ, varianty K (18,5 mg/g) a S2 (21 mg/g), kdy u zbylých variant byly naměřeny hodnoty nižší. U odrůdy RM došlo k nárůstu TFC už u S1, zatímco u RR až u S2. Ostatní varianty těchto dvou odrůd se v obsahu flavonoidů od kontroly nelišily nebo mírně klesly.

V rámci pátého odběru došlo k poklesu obsahu flavonoidů u kontroly odrůdy TČ, ale snížená záhlvka zde způsobila nárůst TFC. Zvýšení obsahu těchto metabolitů nastalo také u RR po aplikaci redukovaného množství vody a trend byl opět podobný jako u TPC. Také RM dosáhlo nejvyšší hodnoty v kontrolní variantě a následně naměřené hodnoty klesaly. Nejnížší hodnota u odrůdy RM v tomto odběru byla zjištěna u S2 (9 mg/g).



Graf 5: TFC, (F=24,171; p=0,030)

## 5.5 Stanovení pigmentů

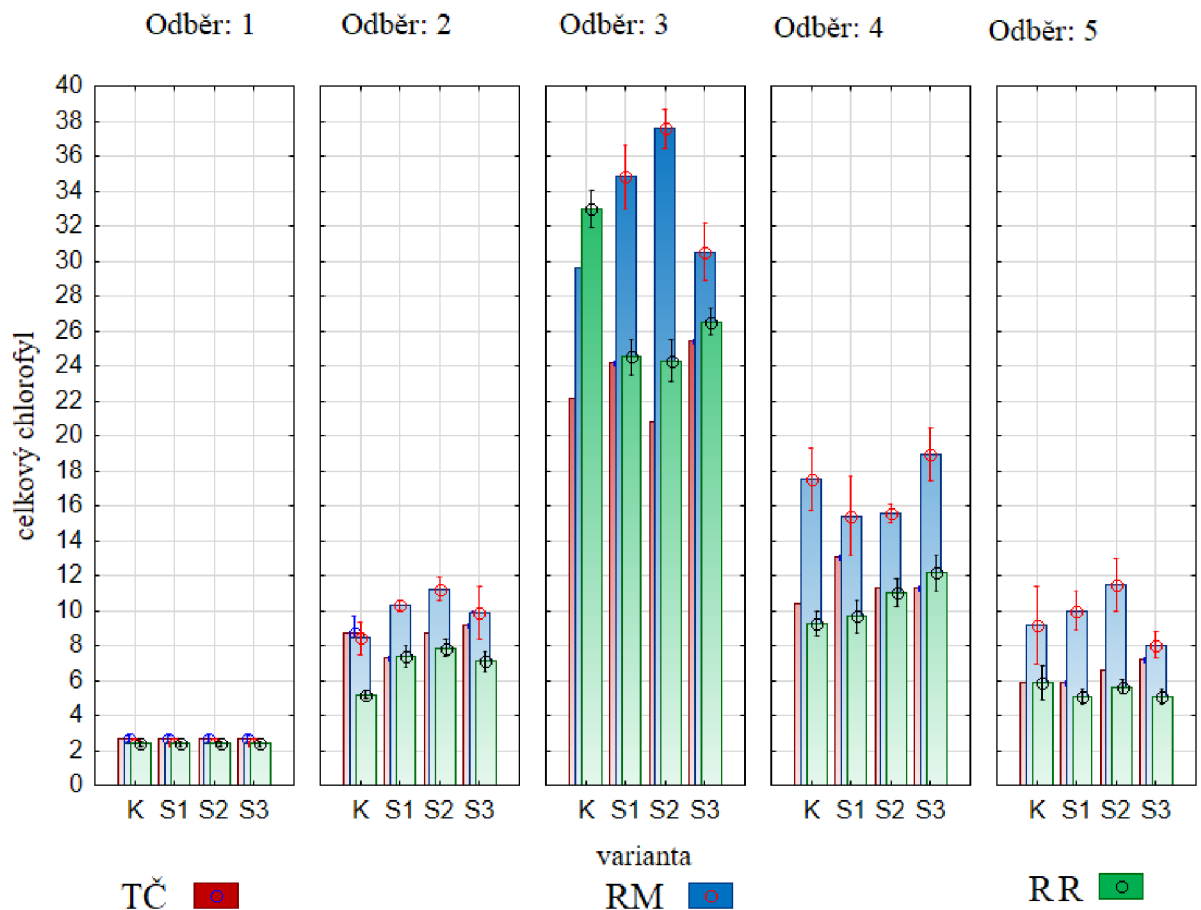
Graf 6 popisuje, jak se měnily hladiny celkového obsahu chlorofylu po dobu experimentu u jednotlivých variant tří odrůd. Hodnota  $p$  je nižší než hladina významnosti  $\alpha=0,05$ , což opět potvrzuje, že během experimentu zde existoval statisticky významný rozdíl.

V době prvního odběru byly naměřeny hodnoty celkového chlorofylu u všech tří odrůd velmi podobné, ale při druhém odběru hodnoty již vzrostly u všech odrůd, nejvíce u RM. U této odrůdy se obsah chlorofylu zvyšoval s klesající zálivkou, ale u S3 klesl. Stejný trend byl pozorován i u RR. V případě TČ se obsah zelených pigmentů u S1 snížil a zvyšoval se až při nižším množství zálivky.

Naměřené hodnoty se v druhém týdnu od začátku experimentu u všech odrůd a pokusných variant výrazně zvýšily. Nejvyšší množství obsahovaly stresové varianty S1 a S2 odrůdy RM, kdy se S3 nelišila od kontroly. Odrůdy RR a TČ také vykazovaly u varianty K i všech stresových variantách vyšší průměrné hodnoty v porovnání s ostatními odběry. Zatímco u RR obsah chlorofylu klesl u stresovaných variant, v případě TČ byl zjištěn u S1 a S3 menší nárůst.

Následující týden koncentrace chlorofylu v listech poklesly, ale největší množství bylo stále naměřeno u všech variant odrůdy RM u odrůdy RR je patrné, že vykazuje vzhledem k zvyšujícímu se vodnímu stresu stoupající obsah chlorofylů.

V posledním odběru nastal další pokles obsahu chlorofylů ve sledovaných rostlinách. Velmi podobné hodnoty byly naměřeny u odrůdy TČ a RR, které se pohybovaly od 4 do 6 nmol/cm<sup>2</sup>. I při tomto odběru odrůda RM měla nejvyšší koncentraci chlorofylů v rámci zkoumaných odrůd, a s výjimkou S3, obsah těchto pigmentů u stresovaných variant zde opět stoupal.



Graf 6: Celkový obsah chlorofylu (nmol/cm<sup>2</sup>), (F=24,442=3,434; p=0,000)

Graf 7 popisuje, jak se během experimentu měnily hladiny naměřených hodnot karotenoidů u vybraných pokusných rostlin. Hodnota p je nižší, než hladina významnosti  $\alpha=0,05$ , tím bylo potvrzeno, že mezi jednotlivými vzorky existuje statisticky významný rozdíl.

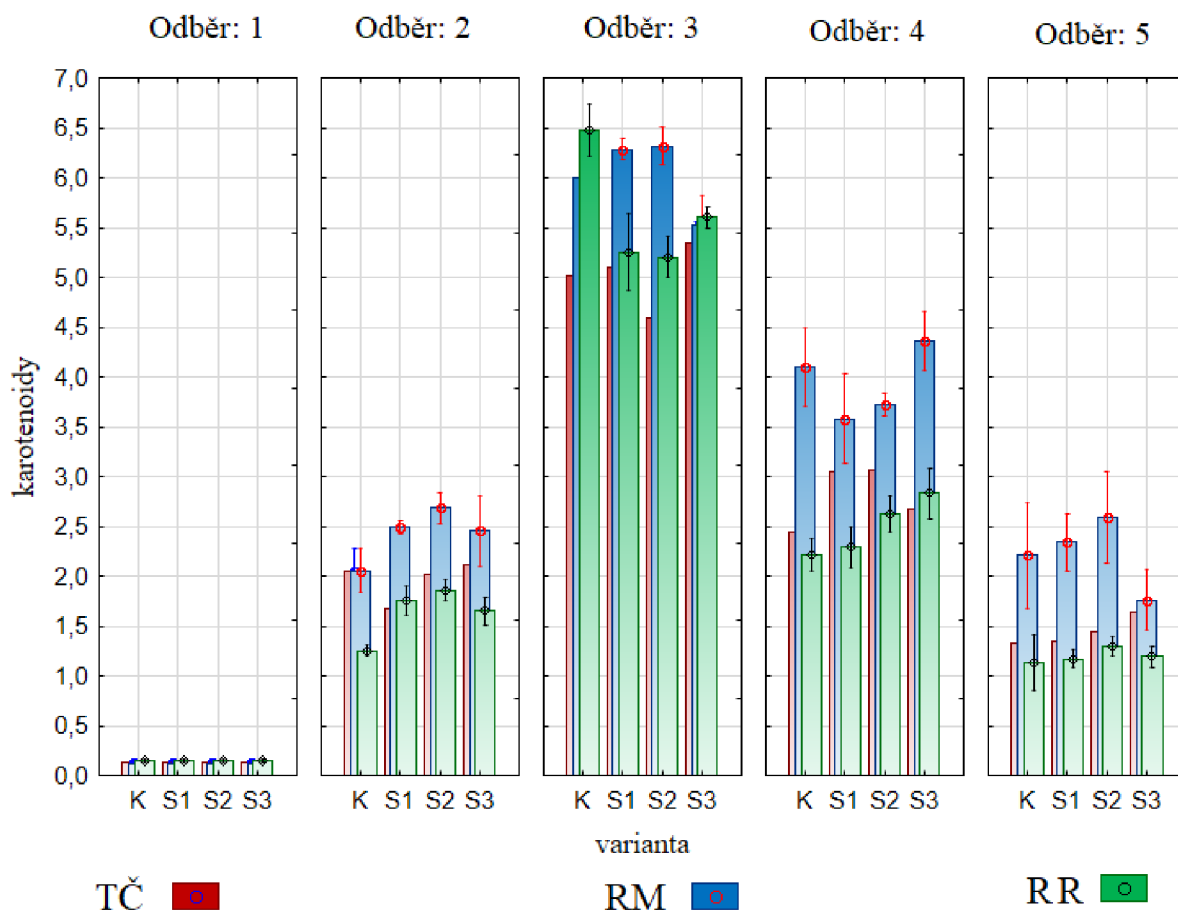
V prvním odběru byly stejně jako u chlorofylu zaznamenány nejnižší průměrné hodnoty obsahu karotenoidů v rámci experimentu. Tyto hodnoty se pohybovaly u všech odrůd okolo 0,1 nmol/cm<sup>2</sup>.

Následující týden se množství karotenoidů výrazně zvýšilo. U odrůdy RM byl nárůst nejvyšší u stresové varianty S2, tedy při 60 ml zálivky, a byl tedy podobný jako v případě chlorofylu. Obdobný trend byl sledován i u TČ a RR.

Při 3. odběru koncentrace karotenoidů také vzrostly na nejvyšší průměrné hodnoty za celou dobu trvání experimentu. Zcela nejvyšší hodnota byla ale naměřena u kontroly odrůdy RR (6,5 nmol/cm<sup>2</sup>), a na rozdíl od chlorofylů tak přesáhla hodnoty odrůdy RM ve stresové variantě S1 a S2. Nicméně u RR se snížená zálivka opět projevila nižším množstvím u všech stresovaných variant, stejně jako S3 u RM. TČ pak obsahoval s klesajícím množstvím zálivky, s výjimkou S2, karotenoidů více.

Zjištěné hodnoty těchto pigmentů rovněž výrazně poklesly 4. den odběru u všech variant všech tří odrůd révy. U odrůdy RM byly opět naměřeny vyšší hodnoty než u zbývajících dvou odrůd. Při tomto odběru byl u odrůdy RR od K k S3 zaznamenán růst, stejně jako u odrůdy TČ, kde však obsah karotenoidů u poslední varianty S3 klesl.

Také poslední den experimentu jednotlivé odrůdy vykazovaly menší obsah karotenoidů, kdy byl nízký u všech variant odrůdy TČ a RR. Naměřené průměrné hodnoty u TČ se od kontrolní varianty směrem k vyššímu vodnímu deficitu měnily směrem k vyšší koncentraci karotenoidů. Odrůda RM se v zastoupení karotenoidů opět projevila i při tomto odběru vyššími průměrnými hodnotami, které od K k S2 stoupaly, ale u S3 obsah této skupiny pigmentů výrazně klesl.



Graf 7: Karotenoidy (nmol/cm<sup>2</sup>), (F=24,442=1,893; p=0,007)

## 5.6 Vodní potenciál listů

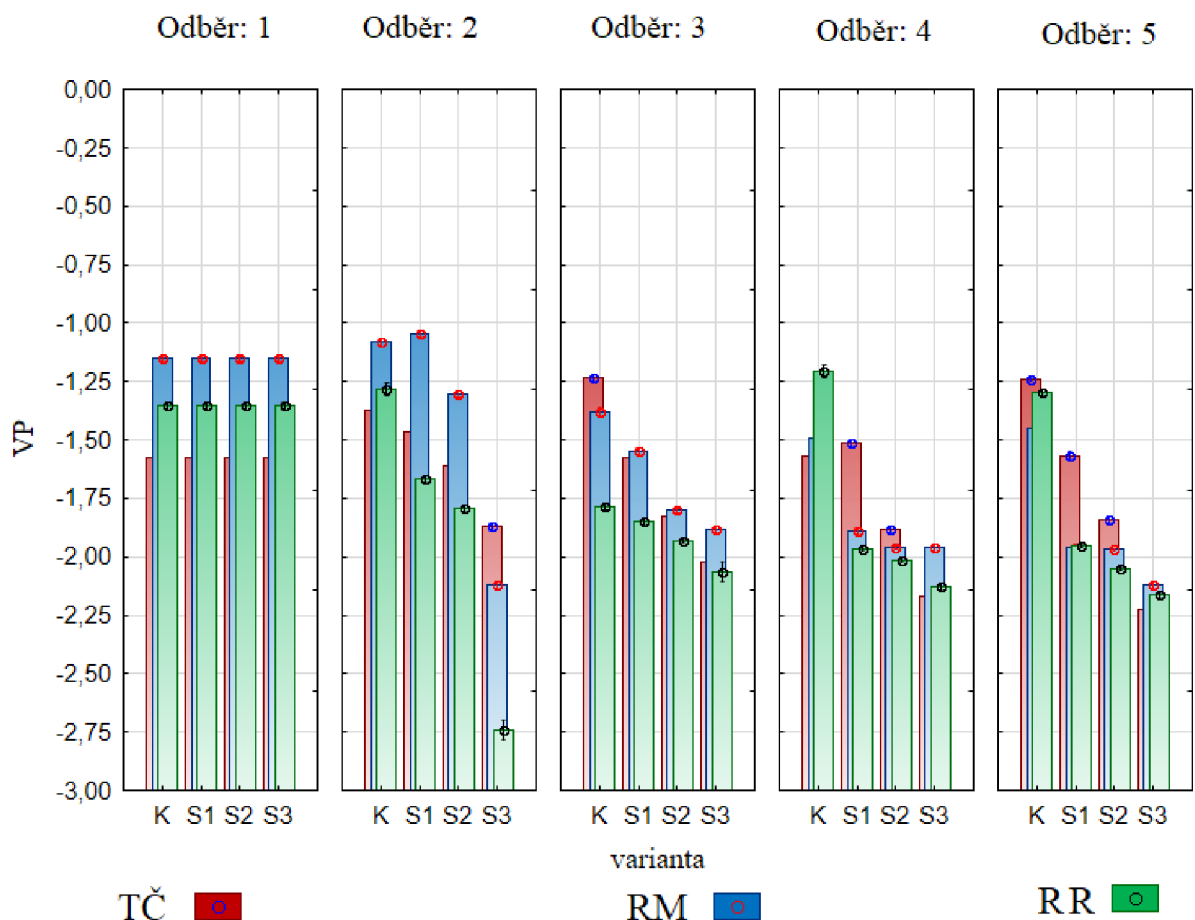
Graf 8 znázorňuje dopad působení několikadenního vodního deficitu na vodní potenciál (VP) v listech révy vinné. Z hlediska statistiky vyšla hodnota p nižší než hladina významnosti  $\alpha=0,05$  a existuje zde významný rozdíl mezi porovnávanými vzorky.

Již na začátku pokusu, byl pozorován rozdíl mezi jednotlivými variantami, kdy nejvyšší hodnoty VP byly zjištěny u odrůdy RM, naopak nejnižší u odrůdy TČ.

V rámci následujícího odběru byl pozorován u kontrolních variant všech odrůd nárůst VP. U RR a TČ došlo již u varianty S1 (90 ml zálivky) ke snížení VP, ale u ryzlinku pak S3 způsobila ve srovnání s druhou odrůdou výraznější pokles. Oproti tomu listy RM měly nižší VP až po aplikaci 60 ml (S2), ale další varianta (S3) také způsobila strmější pokles ve srovnání s TČ.

Ve třetím odběru, jak je patrné z Grafu 8, byl opět zaznamenán pokles VP v závislosti na redukované zálivce. Oproti předešlému odběru však u RR a RM neměla S3 skokový dopad na VP. Zároveň se zvýšil VP u kontroly odrůdy TČ, který byl v tomto odběru nejvyšší naměřenou průměrnou hodnotou.

U varianty K odrůdy RR byl u 4. a 5. odběru pozorován vyšší VP v porovnání s předchozími odběry, případně i ostatními odrůdami, s výjimkou TČ při posledním měření. zatímco u RR a RM výrazný pokles vodního potenciálu listů nastal již při 90 ml (S1) a pak se příliš neměnil, TČ měl v závislosti na zálivce pokles VP pozvolnější, ale konečné hodnoty všech tří odrůd se nelišily.



Graf 8: VP (MPa), ( $F=24,192=2,451$ ;  $p=0,000$ )

## 5.7 Vodní sytostní deficit

Graf 9 znázorňuje dopad působení několikátýdenní redukované zálivky na míru vodního sytostního deficitu VSD, který se projevil u zkoumaných rostlin. Protože je hodnota  $p$  nižší než hladina významnosti  $\alpha=0,05$ , tak existuje mezi zkoumanými vzorky alespoň jeden statisticky významný rozdíl. Z Grafu 9 je jasně patrné, že u všech odrůd nejvíce VSD ovlivnila zálivka pouze 30 ml vody, a čím déle působil stres na rostliny, tím více vodním deficitem trpěly.

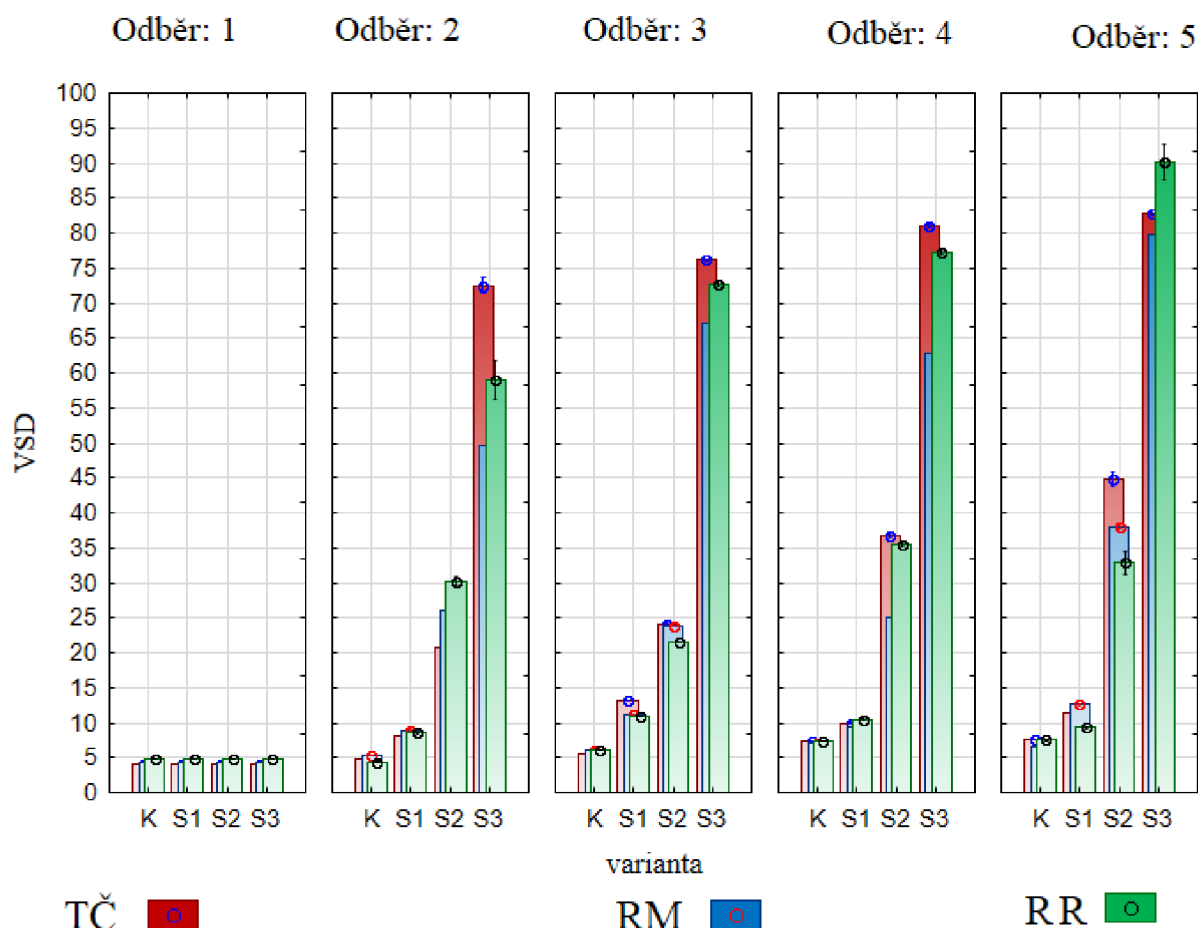
Z Grafu 9 lze vidět, že při prvním odběru byly naměřeny hodnoty VSD velmi nízké v porovnání zejména stresových variant napříč dobou trvání experimentu. Zjištěné hodnoty v prvním odběru se pohybovaly okolo 5 %.



Při druhém odběru je již patrné, jak se vodní sytostní deficit exponenciálně zvyšuje s klesajícím objemem zálivky u všech odrůd. Zatímco hodnoty K, S1 a S2 nepřesáhly 30 % VSD, u poslední stresové varianty hodnoty dosahovaly vyšších hodnot. Nejvíce se VSD v rámci S3 projevil u odrůdy TČ (74 %), zatímco odrůdy RR (59 %) a RM (50 %) měly hodnoty nižší.

Třetí, čtvrtý i pátý týden experimentu přinesl velmi podobné výsledky. U těchto odběrů platí, jak lze najít v grafu, že je vidět rostoucí trend. Kontrolní varianty si drží hodnoty okolo 5–7 %. První stresová varianta se v těchto odběrech drží pod hranicí 15 %. U S2 (60 ml) už lze pozorovat vyšší naměřené průměrné hodnoty, včetně rozdílů mezi odrůdami. Například u 5. odběru je hodnota S2 u odrůdy TČ nejvyšší (45 %) za celou dobu pětitédenního pokusu.

Při 5. odběru byla u stresové varianty S3 naměřena nejvyšší průměrná hodnota, která se projevila VSD o velikosti 90 %. Bylo tomu tak u testovaných vzorků odrůdy RR, kdy poprvé u této varianty přesáhla i hodnoty u TČ. Nižší hodnotu VSD pak vykazovala dle Grafu 9 během 2–5. odběru odrůda RM v případě varianty s nejmenší zálivkou. U S2, případně S1, byly rozdíly mezi odrůdami proměnlivější.



Graf 9: VSD (%), (F=24,192=29,61; p=0,000)



## 6 Diskuze

U vybraných odrůd révy vinné byl hodnocen vliv vodního deficitu na fyziologické změny během růstu zakořeněných řízků z réví. Předmětem experimentu bylo měření rychlosti transpirace (E), fluorescence chlorofylů (Fv/Fm; Fv/F0), stanovení celkových fenolů (TPC) a celkových flavonoidů (TFC), pigmentů (celkové chlorofyly, karotenoidy), listového vodního potenciálu (VP) a vodního sytostního deficitu (VSD).

Vodním deficitem mohou být rostliny postiženy kdykoliv během svého vývoje, nicméně v některých fenologických fázích růstu jsou na nedostatek vody obzvláště citlivé. Jeho projevy se mohou dotknout od molekulární po morfologickou úroveň, jak popisuje Farooq et al. (2009). Působení jediného stresového faktoru ovlivňujícího rostlinu se vyskytuje zřídka a téměř vždy existují vzájemně se ovlivňující faktory (Cramer 2010). I když tedy můžeme studovat takové stresy v laboratoři či skleníku, jako tomu bylo při našem pokusu, je důležité vzít v úvahu celé prostředí, ve kterém rostlina roste, abychom plně porozuměli chování rostliny a jejím mechanismům, například u stresové odolnosti.

Ferrandino & Lovisolo (2014) se zabývali působením vodního stresu zejména na tvorbu sekundárních metabolitů u révy vinné. Tito autoři označili abiotický stres, jako je nedostatek vody, světla či působení nežádoucích teplot, jako modifikátor růstu a vývoje révy vinné napříč všemi jejími orgány. Dále uvedli, že vinařskými postupy lze ovlivnit stresovou reakci rostlin tak, aby nebyla ovlivněno složení sekundárních metabolitů, jako jsou fenolické látky v bobulích. Důsledky ve vinařských pěstebních postupech jsou diskutovány ve vztahu k různým abiotickým stresům a vlivům globálního oteplování.

Ferrandino & Lovisolo (2014) také sledovali, že při nástupu stresu se zvyšuje hladina klíčového fytohormonu, kyseliny abscisové (ABA), která ovlivňuje regulaci akvaporinů v reakci na abiotické stresy, což potvrzuje i Mahajan & Tuteja (2005) či Conesa et al. (2018).

Různé úrovně tolerance vůči stresu, které vykazují odrůdy révy vinné, přímo souvisí s genetickou plasticitou antioxidantní homeostázy. Některé odrůdy si udržují nízké bazální hladiny antioxidantních metabolitů, a musí si je tak syntetizovat při nástupu stresu *de novo*. Takové odrůdy mají pomalejší odezvu než ty s vyššími přirozenými hladinami antioxidantních látek.

Carbone et al. (2021) ve své studii upozorňují, že změny v environmentálních faktorech, které ovlivňují rostliny, působí také na jejich mikrobiom a tento vztah je vzájemný. Vodní deficit ovlivňuje strukturu mikrobiálního společenstva půdy, v důsledku selekce ve prospěch taxonů tolerantních k nízkému obsahu vlhkosti a posunům v rychlosti difúze a chemismu půdy.

Bohatá edafická společenstva jsou převládajícím zdrojem mikroorganismů pro kořenový systém (KS), a pokud jsou v tomto společenstvu vyvolané změny suchem, nefunguje správně jeho funkce. Dále se mohou objevit modifikace v morfologii kořenů vyvolané stresem ze sucha. Na základě těchto informací je i přes to, že vinná réva je tradičně nezavlažovaná plodina s pevným a hlubokým KS, zohledněn způsob pěstování. V souvislosti s předpokládaným zvýšeným výskytem sucha se stále více uplatňují strategie managementu včetně používání kultivarů odolných vůči suchu. Mezi tyto strategie patří například podnože (*V. berlandieri* L. × *V. rupestris* L.) a opatření na ochranu půdy (krycí plodina, orba). Jejich výzkum potvrdil, že v přemokřeném či naopak suchém prostředí, kde nefunguje půdní

mikrobiom, se vytvoří prostředí vhodné pro škodlivé patogeny, které způsobují nekrotické odumírání révy vinné, zejména u mladých keřů (Carbone et al. 2021).

Cuneo et al. (2021) se ve své práci rovněž zaměřili na základní anatomii KS a fyziologii funkčních jemných kořenů souvisejících s úspěšným příjmem vody. Uvedli, že KS víceletých dřevin je složen z hrubých suberizovaných kořenů a dále drobných jemných nesuberizovaných kořínků. Pod pojmem suberizace je zahrnut proces ukládání ligninu a suberinu do matrice buněčné stěny (Geldner, 2013). Cuneo et al. (2021) došli k závěru, že během období vodního deficitu, který působí na révu vinnou, je její KS přiměřen, aby absorboval adekvátní množství půdní vody, které by mělo vyhovět požadavkům transpirace. Nicméně jsou tyto studie, zaměřené na reakci révy vinné na suchu v posledních několika desetiletích, stále plné otázek ohledně disfunkce KS a následných biochemických a fyziologických jevů (Mahajan & Tuteja 2005). Vodní stres pak může vzniknout jako důsledek dvou podmínek, buď v důsledku přebytku vody nebo nedostatku vody, doplněné často v přírodě o kombinaci s několika dalšími stresovými faktory (Mittler 2006).

## 6.1 Rychlost výměny plynů

Častějším vodním stresem je stres z nedostatku vody, známý jako stres ze sucha, který byl i předmětem provedeného experimentu u tří odrůd vína. Omezená zálivka vede k odstranění vody z membrány, čímž se naruší její normální struktura. Mahajan & Tuteja (2005) sledovali různé aspekty reakce rostlin vlivem vodního deficitu, které se projeví např. postupným uzavíráním listových průduchů. Tím se rostlina snažila snížit transpiraci, tedy výpar vody v podobě vodní páry, jak potvrzuje také Farooq et al. (2009), který tvrdí, že tento proces je inhibován suchem.

V rámci našeho pokusu, kde byly stresovány mladé rostliny révy vinné, byla pozorována rychlost transpirace po dobu pěti týdnů. Na základě výsledků (Graf 1), lze říci, že rychlost transpirace ve sledovaném období byla zaznamenána v kolísavém snižujícím se a zvyšujícím se trendu. Oproti kontrolní variantě, by se ale měla rychlost transpirace spíše snižovat, jak tomu bylo například u 3. odběru (TČ, RR).

Dle Farooq et al. (2009), uzavřením průduchů se sníží přísun CO<sub>2</sub> do listů, a tím je dostupnější více elektronů pro tvorbu aktivních forem kyslíku. Čím více klesne rychlost transpirace, tím více se snižuje množství tepla, které lze odvést. Porovnání těchto studií je poněkud složité, kvůli druhové rozmanitosti a měřených parametrů, kdy provedli měření například u rostlin ječmene nebo rýže, které byly hodnoceny při optimálních podmínkách závlahy a následně došlo k vysychání substrátu. Escalona et al. (2013) ve své práci sledovali noční bilanci vody a měřili transpiraci na mladých listech révy vinné. Došli k závěru, že byly prokázány významné rozdíly mezi kultivary révy vinné při optimálním množství zálivky, které vykazují významné otevření průduchů, které přetrvávalo v noci a vedlo ke značným ztrátám vody. Z toho vyplývá, že se ztráty výrazně snížily při působení stresu ze sucha. Jejich výsledky potvrzuje ve své práci Schultz (2003), který řadí uzavírání průduchů, jako klíčový faktor při působení vodního deficitu na révu vinnou. K uzavírání dochází během vysychání půdy a může nastat dříve, než dojde k zachycení měřitelné změny. Tombesi et al. (2018) také zmiňuje že, při kritickém nedostatku vody dojde k okamžité reakci uzavírání stomat, na základě chemických či hormonálních signálů, které jsou produkovány dehydratovanými kořeny, jedná

se zejména o kyselinu abscisovou (ABA). V našem pokusu došlo k významnému poklesu rychlosti transpirace po působení pěti týdnů stresu, tedy u 5. odběru, což mohlo být způsobeno dle výše uvedených zdrojů uzavíráním stomat, které reagovaly na nedostatek vody. I v našem experimentu byly pozorovány rozdíly mezi odrůdami i u stanovené kontrolní zálivky.

## 6.2 Fluorescence chlorofylu

Fluorescenční analýza přináší informace o světelné energii absorbované molekulami chlorofylu. Pokud je list přenesen z temnoty na světlo, tak se reakční centra fotosystému (PS II) uzavírají. Tento jev způsobí už během vteřiny zvýšení výtěžku fluorescence chlorofylu. Měření fluorescence tak poskytuje informace o fotosyntetickém výkonu a zejména tento jev poskytuje pohled na schopnost rostliny tolerovat abiotický stres (Maxwell & Johnson 2000).

Při silném působení stresu mohou nastat nevratné až letální změny ve fotosyntetickém aparátu, na druhou stranu snížení dodávky vody ve vinici se jeví jako důležitý nástroj pro zlepšení kvality vína, a často tak bývá při pěstování zaveden tzv. regulovaný vodní deficit. V posledních letech se běžně zařadila analýza fluorescenčních vlastností do výzkumu rostlin (Maxwell & Johnson 2000).

Dřívější studie uváděly trvalé snížení maximálního kvantového výtěžku, daného poměrem  $F_v/F_m$  tmavě adaptovaných listů. To ukazuje na výskyt fotoinhibičního poškození v reakci na vysokou teplotu a vodní stres (Zulini et al. 2007). V rámci našeho experimentu se na listech neprojeví změny v barvě, maximálně lehké osychání po okrajích a v naměřených hodnotách  $F_v/F_m$  nebyly během pěti týdnů pokusu zjištěny statisticky významné rozdíly (Graf 2).

V každém odběru bylo nicméně pozorováno, že maximální kvantový výtěžek PS II nabýval nižších hodnot při snižujícím se stupni zálivky. Od kontrolních rostlin směrem k stresované variantě S3, se velikost výtěžku pohybovala s klesajícím trendem.

V rámci výzkumu vlivu podnože révy vinné na fotosyntézu při vodním deficitu a zároveň vysoké míře osvětlení, Zulini et al. (2007) dospěli k závěru, že snížení čisté fotosyntézy je způsobeno stomatálními omezeními a fotochemickými změnami ve fotosyntetickém aparátu, přestože je réva vinná považována za druh adaptovaný na stres ze sucha. To, že se neprojeví statisticky významné změny u námi zkoumaných odrůd vína, může být vysvětleno na základě toho, že účinky fotosyntézy jsou ovlivněny až po delší době růstu při nedostatku vody. Lze proto říci, že při méně závažném vodním deficitu není toto stanovení užitečným indikátorem mírného stresu ze sucha u révy vinné, jak potvrzuje Zulini et al. (2007).

Nicméně jak je vidět na Grafu 2, určitý pokles byl zaznamenán a podobné výsledky byly naměřeny i u jiných pěstovaných plodin, například u řepky (Tohidi-Moghadam et al. 2009) a obilovin, jako je ječmen (Li et al. 2006) nebo pšenice (Paknejad et al. 2007).

Uvádí se, že produkce fotosynteticky aktivního materiálu, jako jsou zelené části rostlin, hraje důležitou roli v růstu plodin a také se podílí na tvorbě výnosu, což potvrzuje Zhang et al. (2019). Bylo prokázáno, že nejen při vodním stresu ze sucha, ale i z přemokření mají tyto faktory vliv na snížení rychlosti fotosyntézy a transpirace.

U *V. vinifera* L. si fotochemický aparát zachovává vysokou stabilitu za různých okolních podmínek, které révu ovlivňují. Při polním experimentu bylo prokázáno, že pouze mírné zalévání pomohlo udržet vysokou účinnost PS II a zabránilo fotoinhibici (Flexas et al. 1999). Cílem studie, na které se Flexas et al. (1999) podílel, bylo zhodnotit účinky vodního stresu na fotosyntetické primární reakce a na jejich vztah s čistou asimilací uhlíku ve vinné révě. Došli k závěru, že parametry fluorescence chlorofylu by mohly sloužit jako důležité indikátory vodního stresu.

Snížení stomatální vodivosti vinné révy u namáhaných listů vodním deficitem může snížit rychlost transpirace (Ju et al. 2018). Ve stresu se může snížit účinnost PS II a vyvolat fotorespiraci a produkci  $H_2O_2$  v listech. Ve studii, kterou provedl Ju et al. (2018) vinná réva vykazovala pokles úrovně Fv/Fm při vodním stresu a tyto výsledky jsou v souladu s námi, naměřenými hodnotami Fv/Fm u rostlin s nižším objemem zálivky.

V našem pokusu se fluorescence chlorofylu nezkoumala pouze dle výsledků poměru běžněji používaného poměru Fv/Fm, ale byl využit i minimální kvantový výtěžek PS II, daný poměrem Fv/F0, který je někdy označován jako citlivější indikátor potenciálního stresu. Ve studii, kterou provedl Zhang et al. (2021) je tento poměr označován jako potenciální fotochemická účinnost. Jak uvádí Roháček (2002), maximální kvantový výtěžek PS II je vhodné doplnit i tím minimálním pro detekci menších rozdílů. Zatímco se u poměru Fv/Fm (Graf 2) pohybovaly jednotlivé hodnoty variant klesajícím trendem směrem od kontroly k předpokládaným stresem více zasaženým variantám, u hodnocení poměru Fv/F0 (Graf 3) byly zaznamenány výrazně jiné hodnoty. Vyšší hodnoty zde byly pozorovány u S1 oproti kontrolní i ostatním stresovým variantám u všech odrůd.

### 6.3 Stanovení obsahu celkových flavonoidů a fenolických látek

Cui et al. (2017) popisuje flavonoidy, jako ve vodě rozpustné pigmenty, patřící mezi fenolické sloučeniny, které jsou nejhojnějšími sekundárními metabolity a přispívají k rozvoji červené, modré a fialové barvy rostlin, což je v souladu s tvrzením Zareei et al. (2019) a Goufo et al. (2020). Flavonoidy mají také více rolí ve vývoji a obraně rostlin. U hroznů (*V. vinifera* L.) se primárně hromadí podskupina anthokyanů ve slupce bobulí odrůd s červenými plody, jsou však také produkovány ve vegetativních pletivech včetně listů v různých fázích vývoje a v reakci na abiotický stres, jako je sucho. Dále se také tvoří například při vysoké intenzitě světelného záření nebo působení nízkých teplot (Cui et al. 2017).

Zelené orgány, které jsou fotosynteticky aktivní, jsou nejen u révy vinné listy. Vzhledem k velkému množství houbových infekcí, které způsobují ve vinici například patogeny *Botrytis cinerea*, nebo *Plasmopara viticola*, se musí rostlina ubránit působení těchto škodlivých vlivů. Reakce rostlin na tyto mikroorganismy většinou závisí na obsahu a složení fenolických sloučenin, které se hojně nacházejí ve vnějších pletivech listu (epidermis, kutikula, trichomy) (Griesser et al. 2015).

Polyfenolické látky v listech révy vinné hrají zásadní roli v ochraně proti houbovým chorobám, která je způsobena například plísní *P. viticola*. V této studii byly detekovány významné změny fenolických látek, které se objevily při obraně proti vodnímu stresu u odrůdy 'Chardonnay'. Dlouhodobý stres ze sucha vede ke zvýšení tvorby fenolických látek jako jsou např.: *cis-resveratrol-3-O-glukosid*, *trans-resveratrol-3-O-glukosid*, *kvercetin-3-O-glukosid*

a další látky. Zvýšená koncentrace byla zjištěna v listech révy vinné během podmínek vodního stresu (Štambuk et al. 2022). U našeho experimentu se výrazně neprojevil nárůst množství flavonoidů (TFC) během pěti týdnů pokusu. Většina stresových variant sice vykazovala vyšší průměrné hodnoty TFC, ale byly pouze o několik mg/g vyšší než varianta K. Určitý nárůst se sice projevil oproti hodnotám TFC při prvním odběru, ale 3. týden byl značný pozorován propad v obsahu flavonoidů u zkoumaných rostlin, jak je patrné z Grafu 5.

Moldovan et al. (2020) zjistil při pozorování révy vinné v různých oblastech rozmanité hodnoty z hlediska fenolických látek. Nejvyšší naměřené množství celkových flavonoidů (TFC) a fenolových kyselin z listů révy vinné, které bylo zjištěno, odpovídalo hodnotě 16,75 mg/g TFC a následně byla provedena analýza nejen z listů, ale i z úponků, kde naměřené hodnoty dosáhly 14,21 mg/g. Ohledně obsahu celkových fenolů (TPC), bylo v úponcích naměřeno 35,65 mg/g a byly bohatší na polyfenolické sloučeniny než listy (28,62 mg/g).

Pokud jde o obsah fenolů v listech, vzhledem k podmínkám pěstování a době sklizně se naměřené hodnoty lišily. Pokud jde o celkový obsah flavonoidů, vyhodnotil, že oblasti, ve kterých je réva pěstována hraje roli v obsahu těchto látek, jak dokládají rozdíly mezi extrakty z listů z Rumunska, které byly bohatší než některé odrůdy z Turecka, Chorvatska nebo Indie.

Zareei et al. (2019) také uvádí, že fenolické sloučeniny mají zásadní roli ve fyziologických procesech rostlin a zejména tyto sloučeniny hrají důležitou roli při zvyšování tolerance rostlin vůči stresu. V našem experimentu byly zjištěny nejvyšší hodnoty TFC u mladých sazenic révy okolo 20–21 mg/g. Během stresu se většinou hladiny těchto látek snižují, ale naše zkoumání tento jev výrazně nezachytilo, jak je vidět v Grafu 5.

Goufo et al. (2020) zmiňuje, že bylo již publikováno mnoho studií, které referovaly o koncentraci fenolických látek, zejména z hlediska zdraví prospěšným látkám při konzumaci hroznů. Zkoumal přítomnost fenolických sloučenin i v běžně nekonzumujících se částech rostlin révy, jako jsou kořeny, stonky a listy a potvrdil přítomnost mnoha fenolických složek.

Mapování fenolických sloučenin (kvercetin, flavonoly atd.) ve vinné révě ukazuje, že hladiny a složení jednotlivých obsahových látek se velmi liší dle zkoumaného orgánu.

Flavonoly tvoří nejhojnější skupinu sloučenin ve stoncích. Vysoká variabilita fenolických hladin ve vinné révě se nejlépe vysvětluje biotickými a mechanickými stresy. Ve většině studií bylo zjištěno, že vlivem stresu nebo onemocnění rostliny ovlivňuje fenolické profily mnohem více než jiné faktory, a to jejich stimulací.

## 6.4 Stanovení obsahu chlorofylů

Změny koncentrací celkového chlorofylu, tedy chlorofylu a, b, jsou rovněž citlivé na změny ve vodním režimu rostlin, zejména při delším období vodního deficitu, jak zmiňuje Farooq et al. (2009). Studie Rustioni & Bianchi (2021) vycházející ze starších pozorování potvrzuje, že fotosyntetická aktivita *V. vinifera* L. byla zkoumána již v roce 1971. Dle autorů existuje specifická aktivita mezi jednotlivými genotypy révy vinné, jež mohou z fyziologického hlediska ovlivnit různé hladiny chlorofylů u kontrolovaných rostlin.

Kromě závislosti obsahu chlorofylu na genotypu, zde zároveň hraje roli i prostředí a okolní podmínky, ve kterých je rostlina pěstována. Například u dvou kultivarů ječmene, kde bylo testováno progresivní sucho, došlo ke zvýšení indexu chlorofylu u obou genotypů této

obiloviny (Anjum et al. 2003). Kromě toho došlo i ke změnám koncentrací samotného chlorofylu a, b, i také karotenoidů.

Snížení obsahu chlorofylů v listech bývá často projevem stresu, který poškodí listovou plochu, či díky nevhodným pěstebním podmínkám například změni barvu. V našem experimentu byly pozorovány a odebírány mladé rostliny révy vinné, které měly zcela vyvinuté zelené listy, ze kterých byly vzorky připraveny. Hladiny naměřených hodnot se během našeho pokusu, který trval pět týdnů, měnily. Nebyly zaznamenány velké rozdíly mezi naměřenými průměrnými hodnotami u kontrolní varianty v porovnání s variantami stresovými. Výrazný nárůst hladiny chlorofylů byl zaznamenán při 3. odběru, kdy u všech odrůd a jejich variant byl obsah velmi vysoký oproti ostatním odběrům. U zbylých odběrů je tedy možné, že na to, aby se výrazněji změnil obsah chlorofylů v pozorovaných listech pod vlivem vodního deficitu, by muselo dojít k výraznějšímu poškození, které by mohlo vyvolat delší období působení vlnějšího vodního stresu.

Lze tedy konstatovat, že námi provedený experiment neprokázal poškození fotosyntetických pigmentů a jestli se v takovém časovém rozmezí změni obsahu chlorofylů při zvolené snižující se závlaze. Kamble et al. (2015) prováděl při svém výzkumu analýzu velmi podobnou našemu pokusu, nicméně využil ke zkoumání jiné druhy rostlin, ze kterých extrahoval pigmenty i pomocí dalšího organického rozpouštědla, acetonu.

Kamble et al. (2015) sledoval obsah chlorofylů u mladých a starších listů rostlin jako je například mango (*Magnifera indica* L.), ibišek (*Hibiscus rosa-sinensis* L.), mandloň (*Prunus dulcis* (Mill. D. A. Webb), nebo durman (*Datura metel* L.) a další. Tyto druhy byly použity pro analýzu obsahu chlorofylu a ve všech případech dosahovaly naměřené hodnoty dospělých listů vyšších hladin chlorofylu než u mladých listů. Závěrem jejich práce bylo zjištění, že stáří listů je jedním z důležitých faktorů při hodnocení, jelikož starší dobře vyvinuté listy obsahovaly značně větší naměřené hladiny chlorofylů.

Dále byly v našem pokusu hodnoceno množství karotenoidů. Carvalho et al. (2015) zmínili, že karotenoidy chrání fotosyntetický aparát před fotooxidačním poškozením nejen zhášením tripletových stavů molekul chlorofylu, ale také vychytáváním reaktivních forem kyslíku (ROS), ochranou pigmentů a nenasycených mastných kyselin před oxidačním poškozením.

## 6.5 Listový vodní potenciál

Cuneo et al. (2021) rostliny révy také ovlivňovali snižující se závlazkou a jejich výsledky VP při adekvátní závlaze byly větší než -0,6 MPa, při mírném stresu se pohybovaly mezi 0,6 MPa a -1,4 MPa, při silnějším se hladiny VP dostaly na hodnoty nižší než -1,4 MPa. Podle dosavadních výsledků předpokládali, že v podnoži odolné vůči vodnímu deficitu, na rozdíl od podnože náchylné, strukturální změny během sucha posouvají vzorce příjmu vody po délce kořenů, což pomáhá zajistit adekvátní zásobování rostoucí kořenové špičky vodou.

Výsledky naměřené u našeho pokusu se u kontrolní varianty vždy pohybovaly okolo hodnoty -1,25 MPa (Graf 8), kdy byly rostliny zalévány 120 ml vody. Cole & Pagay (2015), kteří sledovali také vinnou révu a její vodní režim, uvedli, že měření hodnot VP je užitečnou metodou pro získání informací ohledně stavu vody. Studie potvrzují, že čím menší je obsah



vody v rostlinné buňce, tím je hodnota vodního potenciálu nižší, a zároveň se tedy zvyšuje nasávací síla rostlinných pletiv.

U stresované varianty by tak měl být osmotický potenciál nejnižší, čímž se rostlina snaží zvýšit příjem vody z prostředí. Při srovnání kontrolních a stresovaných rostlin se potvrdilo, že čím více na rostlinu působil vodní stres, tím byla hodnota VP nižší. To lze pozorovat u varianty S3, odpovídající záливce 30 ml, která byla tedy ovlivněna vodním deficitem.

Pozorované odrůdy RR, TČ a RM, se mezi sebou, dle naměřených hodnot, výrazně nelišily, nicméně byl patrný rozdíl mezi kontrolní variantou a variantami více zasaženými vodním deficitem. Velmi patrný pokles VP byl však zaznamenán při 2. odběru u varianty S3 RR, kde naměřená průměrná hodnota klesla na -2,75 MPa. Hodnoty VP se pohybovaly u S1 a S2 okolo -1,75 MPa (Graf 8). U varianty S3 hodnoty klesly až pod -2 MPa, a jak je patrné z Grafu 6, nejnižší hodnota byla zaznamenána právě u záливky aplikované u odrůdy RR. Odchylky mezi naměřenými daty a studií Cuneo et al. (2021) lze vysvětlit odlišným zkoumaným materiálem, podmínkami, ve kterém byl pokus proveden a v neposlední řadě také dobou trvání experimentu. V našem případě se jedná o pět pokusných týdnů, po kterou dobu byly rostliny révy vinné pěstovány v experimentálním kójovém skleníku.

## 6.6 Vodní sytostní deficit

Vodní sytostní deficit, „Water saturation deficit“ – WSD, je běžně používaný parametr pro detekci tolerance rostlin k dočasnému nedostatku vody. Vadnutí při nedostatku záливky je opticky rozpoznatelná fyziologická reakce, která může způsobit letální změny v rostlině, kdy nastane při extrémní stresové situaci buněčná smrt (Czerski et al. 2015; Rybka et al. 2019).

VSD, který udává informace o tom, jaké množství chybí rostlině, nebo její části do maximálního nasycení byl zaznamenán v Grafu 9. Jak lze vidět, vodní stres zde způsobil, že rostliny, které měly omezenou záливku pouze na 30 ml, se logicky potýkaly s největším VSD. Téměř všechny průměrné hodnoty u nejvíce zatěžované varianty S3 se pohybovaly v intervalu hodnot od 70–90 %. Nejvyšší zaznamenaná hodnota byla zjištěna u posledního odběru u odrůdy RR (90 %). Do 20 % VSD mohou rostliny fungovat, ale nad 40 % se jedná při dlouhodobém působení o kritický stav, který je nevratný (Rybka et al. 2019). V našem pokusu tedy došlo k tak velkému působení vodního deficitu (S3), že pokud by byla réva běžně pěstována při této záливce, její životnost by byla patrně zkrácena. U ostatních variant byly naměřeny nižší průměrné hodnoty, se kterými by si réva, která je suchomilná, dokázala poradit.

## 7 Závěr

Cílem diplomové práce bylo vyhodnotit vliv vodního deficitu, navozeného snižující se zálivkou, na vybrané odrůdy révy vinné a zjištění jejich rozdílů při využití ověřených analýz. Byl vyhodnocen efekt snižující se zálivky a ze získaných výsledků vyplývají tyto závěry:

- Bylo potvrzeno, že mezi pěstovanými rostlinami v průběhu experimentu v odstupňovaném množství zálivky existují rozdíly, a tím byla vyvrácena nulová hypotéza.
- V průběhu experimentu docházelo k poklesu rychlosti transpirace, kdy ale k nejvyšší naměřený nárůst hodnot byl zaznamenán u kontroly, 90ml a 60ml zálivky u odrůdy 'Tramín červený' při 4. odběru. U posledního odběru pak nastal u všech odrůd a variant výrazný pokles transpirace.
- U fluorescence chlorofylu nebyl prokázán statisticky významný rozdíl mezi naměřenými hodnotami. Nicméně u všech odrůd bylo patrné, že se maximální kvantový výtěžek vlivem snižující se zálivky snižoval oproti kontrole.
- U stanovení TPC byla prokázána existence rozdílu, který byl zaznamenán mezi jednotlivými stupni zálivky. Hladiny fenolických látek se mezi variantami kolísavě snižovaly a zvyšovaly v průběhu trvání pokusu a jednotlivé odrůdy vykazovaly podobné naměřené hladiny těchto látek. Hodnoty výrazněji klesly u stresových variant odrůdy 'Rulandské modré' v posledních dvou týdnech pokusu.
- Při stanovení TFC byly naměřené hodnoty proměnlivé vzhledem k použitému množství zálivky a výskyt flavonoidů se zvyšoval oproti kontrole zejména u posledního odběru. V průběhu času se obsah TFC výrazně zvyšoval oproti 1. odběru, nicméně tento trend byl přerušen 3. odběrem, kdy hladiny výrazně poklesly.
- Při sledování celkových chlorofylů byly naměřeny výrazně vyšší hodnoty při 3. odběru u všech odrůd. Nárůst byl potvrzen hlavně u odrůdy 'Rulandské modré' ve všech zkoumaných variantách oproti ostatním odběrům, a i v následujících termínech tato odrůda obsahovala celkových chlorofylů více.
- Při hodnocení výsledků byl zaznamenán podobný vývoj zjištěn i u stanovení obsahu karotenoidů s výjimkou kontroly třetího odběru, kde byla vyšší průměrná koncentrace u 'Ryzlinku rýnského'.
- Z hlediska pozorovaných pigmentů byla odrůda 'Rulandské modré' na obsah chlorofylů i karotenoidů výrazněji obsahově bohatší.
- Hladiny vodního potenciálu se vlivem nižší zálivky projevíly klesajícím trendem, kdy postupně klesaly naměřené hodnoty směrem od kontroly (120 ml) k nejvíce stresem zasažené variantě (30 ml).
- Vliv vodního deficitu výrazně ovlivnil VSD u všech odběrů. Rozdíl mezi odrůdami nebyl zaznamenán, všechny vykazovaly velmi vysoký stupeň deficitu u nejvíce zasažené varianty s 30 ml zálivkou.
- Réva vinná snese při pěstování nižší množství zálivky, aniž by byl ovlivněn její metabolismus a došlo k výrazným fyziologickým změnám, nicméně je nutné při působení silnějšího vodního deficitu hlídat rozhodující parametry.



- Z hodnocení fyziologických parametrů vyplývá, že vodní deficit měl výrazný vliv na rychlost transpirace, VSD, VP a z hlediska hodnocení chemických parametrů byly zaznamenány proměnlivé hodnoty u stanovení TFC a u hladin celkového chlorofylu.

## 8 Literatura

- ADC BioScientific. 2013. LCPro+. ADC BioScientific Ltd. Dostupné z: [https://www.adc.co.uk/wp-content/uploads/2013/09/LCProSD\\_8\\_Page.pdf](https://www.adc.co.uk/wp-content/uploads/2013/09/LCProSD_8_Page.pdf)
- Anjum F, Yaseen M, Rasul E, Wahid A, Anjum S. 2003b. Water stress in barley (*Hordeum vulgare* L.). II. Effect on chemical composition and chlorophyll contents. *Pak J Agric Sci* **40**:45–49.
- Arlettaz R, Maurer ML, Mosimann-Kampe P, Nusslé S, Abadi F, Braunisch V, Schaub M. 2012. New vineyard cultivation practices create patchy ground vegetation, favouring Woodlarks. *Journal of Ornithology* **153**:229–238.
- Asanica A, Badulescu L, Tudor V. 2015. The Synthesis Potential of Some Sweet Cherry Cultivars under the Influence of Different Rootstocks. *Agriculture and Agricultural Science Procedia* **6**:102–109.
- Azri W, Cosette P, Guillou C, Rabhi M, Nasr Z, Mliki A. 2020. Physiological and proteomic responses to drought stress in leaves of two wild grapevines (*Vitis sylvestris*): a comparative study. *Plant Growth Regulation* **91**:37–52.
- Balti H, Ben Abbes A, Mellouli N, Farah IR, Sang Y, Lamolle M. 2020. A review of drought monitoring with big data: Issues, methods, challenges and research directions. *Ecological Informatics* **60**.
- Bhattacharjee S, Saha AK. 2014. Plant Water-Stress Response Mechanisms. 149-172in *Approaches to Plant Stress and their Management*. Springer India, New Delhi.
- Blum A. 2016. Stress, strain, signaling, and adaptation – not just a matter of definition. *Journal of Experimental Botany* **67**:562–565.
- Bou Nader K et al. 2019. Impact of grapevine age on water status and productivity of *Vitis vinifera* L. cv. Riesling. *European Journal of Agronomy* **104**:1–12.
- Braidot E, Zancani M, Petrusa E, Peresson C, Bertolini A, Patui S, Macrì F, Vianello A. 2014. Transport and accumulation of flavonoids in grapevine (*Vitis vinifera* L.). *Plant Signaling & Behavior* **3**:626-632.
- Brázdil R, Trnka M. 2015. Historie počasí a podnebí v Českých zemích: minulost, současnost, budoucnost. Centrum výzkumu globální změny Akademie věd České republiky, Brno.
- Bunting EL, Wanyama D, Goodwin R, Weil N, Sabbatini P, Andresen J. 2021. *Vitis vinifera* Production in Michigan: Factors and Trends Driving Cultivation Patterns. *Frontiers in Plant Science* **12**.
- Buschmann C. 2007. Variability and application of the chlorophyll fluorescence emission ratio red/far-red of leaves. *Photosynthesis Research* **92**:261–271.
- Carbone MJ, Alaniz S, Mondino P, Gelabert M, Eichmeier A, Tekielska D, Bujanda R, Gramaje D. 2021. Drought Influences Fungal Community Dynamics in the Grapevine Rhizosphere and Root Microbiome. *Journal of Fungi* **7**.

- Carvalho LÃasa C, Vidigal PÃacia, AmÃncio S. 2015. Oxidative stress homeostasis in grapevine (*Vitis vinifera* L.). *Frontiers in Environmental Science* **3**.
- Cole J, Pagay V. 2015. Usefulness of early morning stem water potential as a sensitive indicator of water status of deficit-irrigated grapevines (*Vitis vinifera* L.). *Scientia Horticulturae* **191**:10–14.
- Conde A, Regalado A, Rodrigues D, Costa JM, Blumwald E, Chaves MM, Gerós H. 2015. Polyols in grape berry: transport and metabolic adjustments as a physiological strategy for water-deficit stress tolerance in grapevine. *Journal of Experimental Botany* **66**:889–906.
- Conesa MR, Dodd IC, Temnani A, De la Rosa JM, Pérez-Pastor A. 2018. Physiological response of post-veraison deficit irrigation strategies and growth patterns of table grapes (cv. Crimson Seedless). *Agricultural Water Management* **208**:363–372.
- Cramer Gr. 2010. Abiotic stress and plant responses from the whole vine to the genes. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **16**:86–93.
- Cui Z-H, Bi W-L, Hao X-Y, Li P-M, Duan Y, Walker MA, Xu Y, Wang Q-C. 2017. Drought Stress Enhances Up-Regulation of Anthocyanin Biosynthesis in Grapevine leafroll-associated virus 3- Infected in vitro Grapevine ( *Vitis vinifera* ) Leaves. *Plant Disease* **101**:1606–1615.
- Cuneo IF, Barrios-Masias F, Knipfer T, Uretsky J, Reyes C, Lenain P, Brodersen CR, Walker MA, McElrone AJ. 2021. Differences in grapevine rootstock sensitivity and recovery from drought are linked to fine root cortical lacunae and root tip function. *New Phytologist* **229**:272–283.
- Czerski J, Sosińska A, Kozłowska Z. 2015. The effect of water saturation deficit on the volume of intercellular space in laeves. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae* **43**:465–470.
- Ding Y, Gong X, Xing Z, Cai H, Zhou Z, Zhang D, Sun P, Shi H. 2021. Attribution of meteorological, hydrological and agricultural drought propagation in different climatic regions of China. *Agricultural Water Management* **255**.
- Escalona JM, Fuentes S, Tomás M, Martorell S, Flexas J, Medrano H. 2013. Responses of leaf night transpiration to drought stress in *Vitis vinifera* L. *Agricultural Water Management* **118**:50-58.
- Farooq M, Wahid A, Kobayashi N, Fujita D, Basra SMA. 2009. Plant drought stress: effects, mechanisms and management. *Agronomy for Sustainable Development* **29**:185–212.
- Ferrandino A, Lovisolo C. 2014. Abiotic stress effects on grapevine (*Vitis vinifera* L.): Focus on abscisic acid-mediated consequences on secondary metabolism and berry quality. *Environmental and Experimental Botany* **103**:138–147.
- Flexas J, Escalona JM, Medrano H. 1999. Water stress induces different levels of photosynthesis and electron transport rate regulation in grapevines. *Plant, Cell and Environment* **22**:39–48.
- Fukao T, Bailey-Serres J. 2004. Plant responses to hypoxia – is survival a balancing act? *Trends in Plant Science* **9**:449–456.

- Funk C, Shukla S. 2020. Drought early warning—definitions, challenges, and opportunities. 23-42in Drought Early Warning and Forecasting. Elsevier.
- Geldner N. 2013. The Endodermis. Annual Review of Plant Biology **64**:531–558.
- Goufo P, Singh RK, Cortez I. 2020. A Reference List of Phenolic Compounds (Including Stilbenes) in Grapevine (*Vitis vinifera* L.) Roots, Woods, Canes, Stems, and Leaves. Antioxidants **9**.
- Griesser M, Weingart G, Schoedl-Hummel K, Neumann N, Becker M, Varmuza K, Liebner F, Schuhmacher R, Forneck A. 2015. Severe drought stress is affecting selected primary metabolites, polyphenols, and volatile metabolites in grapevine leaves (*Vitis vinifera* cv. Pinot noir). Plant Physiology and Biochemistry **88**:17–26.
- Grossi D, Rustioni L, Simone Di Lorenzo G, Failla O, Brancadoro L. 2016. Water deficit effects on grapevine woody tissue pigmentations. Horticultural Science **43**:188–194.
- Hellman, Edward W. Grapevine structure and function. Oregon viticulture. 2003. Dostupné z: [https://www.researchgate.net/publication/237296145Grapevine\\_Structure\\_and\\_Function](https://www.researchgate.net/publication/237296145Grapevine_Structure_and_Function)
- Hirayama T, Shinozaki K. 2010. Research on plant abiotic stress responses in the post-genome era: past, present and future. The Plant Journal **61**:1041–1052.
- Holá D, Benešová M, Honnerová J, Hnilička F, Rothová O, Kočová M, Hniličková H. 2010. The evaluation of photosynthetic parameters in maize inbred lines subjected to water deficiency: Can these parameters be used for the prediction of performance of hybrid progeny?. Photosynthetica **48**:545–558.
- Hossain A et al. 2021. Wild relatives of plants as sources for the development of abiotic stress tolerance in plants. 471-518in Plant Perspectives to Global Climate Changes.
- Jenks, M., Hasegawa, P. 2005, Plant abiotic stress. Victoria, Blackwell Publishing, 270 s., ISBN 978-14051-2238-2.
- Ju Y-lun, Min Z, Zhang Y, Zhang K-kun, Liu M, Fang Y-lin. 2021. Transcriptome profiling provide new insights into the molecular mechanism of grapevine response to heat, drought, and combined stress. Scientia Horticulturae **286**.
- Ju Y-lun, Yue X-feng, Zhao X-fang, Zhao H, Fang Y-lin. 2018. Physiological, micro-morphological and metabolomic analysis of grapevine (*Vitis vinifera* L.) leaf of plants under water stress. Plant Physiology and Biochemistry **130**:501–510.
- Kamble, Pramod N., et al., 2015, Estimation of chlorophyll content in young and adult leaves of some selected plants. Universal journal of environmental research and technology, **5.6**: 306–310
- Keller M. 2015. Botany and Anatomy. 1-57in The Science of Grapevines. Elsevier.
- Król A, Amarowicz R, Weidner S. 2014. Changes in the composition of phenolic compounds and antioxidant properties of grapevine roots and leaves (*Vitis vinifera* L.) under continuous of long-term drought stress. Acta Physiologiae Plantarum **36**:1491–1499.

- Kubota C. 2020. Growth, development, transpiration, and translocation as affected by abiotic environmental factors. 207-220 in Plant Factory. Elsevier.
- Kuhn N, Guan L, Dai ZW, Wu B-H, Lauvergeat V, Gomès E, Li S-H, Godoy F, Arce-Johnson P, Delrot S. 2013. Berry ripening: recently heard through the grapevine. *Journal of Experimental Botany* **65**:4543–4559.
- Lebom G, Fontaine F, Wojnarowicz G. 2008. Sugars and flowering in the grapevine (*Vitis vinifera* L.). *Journal of Experimental Botany* **59**:4288–4288.
- León J, Castillo MC, Gayubas B, Gibbs D. 2021. The hypoxia–reoxygenation stress in plants. *Journal of Experimental Botany* **72**:5841–5856.
- Li R, Guo P, Baum M, Grando S, Ceccarelli S. 2006. Evaluation of chlorophyll content and fluorescence parameters as indicators of drought tolerance in barley. *Agricultural Sciences in China* **5**:751–757.
- Li X, Shi W, Broughton K, Smith R, Sharwood R, Payton P, Bange M, Tissue DT. 2020. Impacts of growth temperature, water deficit and heatwaves on carbon assimilation and growth of cotton plants (*Gossypium hirsutum* L.). *Environmental and Experimental Botany* **179**.
- Lichtenthaler HK, Rinderle U. 1988. The Role of Chlorophyll Fluorescence in The Detection of Stress Conditions in Plants. *C R C Critical Reviews in Analytical Chemistry* **19**:29–85.
- Likar M, Vogel-Mikuš K, Potisek M, Hančević K, Radić T, Nečemer M, Regvar M. 2015. Importance of soil and vineyard management in the determination of grapevine mineral composition. *Science of The Total Environment* **505**:724–731
- Liu M, Huang J, Sun AY, Wang K, Chen H. 2021. What roles can water-stressed vegetation play in agricultural droughts? *Science of The Total Environment* **803**.
- Loon AF et al. 2016. Drought in a human-modified world: reframing drought definitions, understanding, and analysis approaches. *Hydrology and Earth System Sciences* **20**:3631–3650.
- Mahajan S, Tuteja N. 2005. Cold, salinity and drought stresses: An overview. *Archives of Biochemistry and Biophysics* **444**:139–158.
- Manici LM, Saccà ML, Caputo F, Zanzotto A, Gardiman M, Fila G. 2017. Long-term grapevine cultivation and agro-environment affect rhizosphere microbiome rather than plant age. *Applied Soil Ecology* **119**:214–225.
- Maurel C, Verdoucq L, Rodrigues O. 2016. Aquaporins and plant transpiration. *Plant, Cell & Environment* **39**:2580–2587.
- Maxwell K, Johnson Gn. 2000. Chlorophyll fluorescence—a practical guide. *Journal of Experimental Botany* **51**:659–668.
- Medrano H, Tomás M, Martorell S, Flexas J, Hernández E, Rosselló J, Pou A, Escalona J-M, Bota J. 2015. From leaf to whole-plant water use efficiency (WUE) in complex canopies: Limitations of leaf WUE as a selection target. *The Crop Journal* **3**:220–228.

- Mishra AN. 2018. Chlorophyll Fluorescence: A Practical Approach to Study Ecophysiology of Green Plants. 77-97in *Advances in Plant Ecophysiology Techniques*. Springer International Publishing, Cham.
- Mittler R. 2006. Abiotic stress, the field environment and stress combination. *Trends in Plant Science* **11**:15–19.
- Moldovan ML, Carpa R, Fizeșan I, Vlase L, Bogdan C, Iurian SM, Benedec D, Pop A. 2020. Phytochemical Profile and Biological Activities of Tendrils and Leaves Extracts from a Variety of *Vitis vinifera* L. *Antioxidants* **9**.
- Muhammad Arslan Ashraf. 2012. Waterlogging stress in plants: A review. *African journal of agricultural research* **7**.
- Opti-Sciences. 2021. OS5p+. Opti-Sciences, Inc. Dostupné z: [https://www.optisci.com/assets/os5p-\\_brochure.pdf](https://www.optisci.com/assets/os5p-_brochure.pdf) (accessed March 2021).
- Paknejad F, Nasri M, Moghadam HT, Zahedi H, Alahmadi MJ. 2007. Effects of drought stress on chlorophyll fluorescence parameters, chlorophyll content and grain yield of wheat cultivars. *J Biol Sci* **7**:841–847.
- Pandey P, Srivastava S, Pandey AK, Dubey RS. 2020. Abiotic-stress tolerance in plants-system biology approach. 577–609in *Plant Life Under Changing Environment*. Elsevier.
- Pavloušek P, Lampíř L. 2016. Réva vinná: pro malopěstitele. Agriprint, Olomouc.
- Pavloušek P. 2011. Pěstování révy vinné: moderní vinohradnictví. Grada, Praha.
- Pellegrino Anne, Lebon Eric, Simmneau Thierry, Wery Jacques. 2005. Towards a simple indicator of water stress in grapevine (*Vitis vinifera* L.) based on the differential sensitivities of vegetative growth components. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **11**:306–315.
- Porra RJ, Thompson WA, Kriedemann PE. 1989. Determination of accurate extinction coefficients and simultaneous equations for assaying chlorophylls a and b extracted with four different solvents: verification of the concentration of chlorophyll standards by atomic absorption spectroscopy. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics* **975**:384–394.
- Přehled odrůd révy vinné 2020. 2020. Svaz vinařů České republiky, Brno. Dostupné z: [https://eagri.cz/public/web/file/649003/Reva\\_2020.pdf](https://eagri.cz/public/web/file/649003/Reva_2020.pdf)
- Pudelska K, Dudkiewicz M, Krawiec P. 2014. Cultivation of *Vitis vinifera* L. in the light of former publications and today in Poland. *Acta Agrobotanica* **67**:3–12.
- Ribarova, F., Atanassova, M., Marinova, D., Ribarova, F., & Atanassova, M. (2005). Total phenolics and flavonoids in Bulgarian fruits and vegetables. *JU Chem. Metal* **40**:255–260.
- Robards K. 2003. Strategies for the determination of bioactive phenols in plants, fruit and vegetables. *Journal of Chromatography A* **1000**:657–691.

- Rodrigo-Comino J, Brevik EC, Cerdà A. 2018. The age of vines as a controlling factor of soil erosion processes in Mediterranean vineyards. *Science of The Total Environment* **616–617**:1163–1173.
- Roháček K. 2002. Chlorophyll Fluorescence Parameters: The Definitions, Photosynthetic Meaning, and Mutual Relationships. *Photosynthetica* **40**:13–29.
- Rustioni L, Bianchi D. 2021. Drought increases chlorophyll content in stems of *Vitis* interspecific hybrids. *Theoretical and Experimental Plant Physiology* **33**:69–78.
- Rybka K, Janaszek-Mankowska M, Siedlarz P, mańkowski D. 2019. Machine learning in determination of water saturation deficit in wheat leaves on basis of Chl a fluorescence parameters. *Photosynthetica* **57**:226–230.
- Schultz Hr. 2003. Differences in hydraulic architecture account for near-isohydric and anisohydric behaviour of two field-grown *Vitis vinifera* L. cultivars during drought. *Plant, Cell & Environment* **26**:1393-1405.
- S. Lisar SY, Motafakkerazad R, M. M, M. Rahm IM. 2012. Water Stress in Plants: Causes, Effects and Responses. 16in *Water Stress*. InTech.
- Santesteban LG, Miranda C, Royo JB. 2011. Regulated deficit irrigation effects on growth, yield, grape quality and individual anthocyanin composition in *Vitis vinifera* L. cv. ‘Tempranillo’. *Agricultural Water Management* **98**:1171–1179.
- Slavík B, Štěpánková J. 2011. *Květena České republiky*. Academia, Praha.
- Štambuk P, Anić M, Huzanić N, Preiner D, Karoglan M, Kontić JK, Tomaz I. 2022. A Simple Method for the Determination of Polyphenolic Compounds from Grapevine Leaves. *Separations* **9**.
- Tohidi-Moghadam HR, Shirani-Rad AH, Nour-Mohammadi G, Habibi D, Modarres-Sanavy SAM, Mashhadi-Akbar-Boojar M, Dolatabadian A. 2009. Response of six oilseed rape 114 genotypes to water stress and hydrogel application. *Pesquisa Agropecuária Tropical* **39**:243–250.
- Tombesi S, Frioni T, Poni S, Palliotti A. 2018. Effect of water stress “memory” on plant behavior during subsequent drought stress. *Environmental and Experimental Botany* **150**:106-114.
- Venkitasamy C, Zhao L, Zhang R, Pan Z. 2019. Grapes. 133–163in *Integrated Processing Technologies for Food and Agricultural By-Products*. Elsevier.
- Wan D, Ying C. 2012. Quantitative determination of total and individual flavonoids in stems and leaves of *Buddleja davidii* and *Buddleja albiflora*. *Pharmacognosy Magazine* **8**.
- Xie L-J, Zhou Y, Chen Q-F, Xiao S. 2021. New insights into the role of lipids in plant hypoxia responses. *Progress in Lipid Research* **81**.
- Zareei E, Zaare-Nahandi F, Oustan S, Hajilou J. 2019. Effects of magnetic solutions on some biochemical properties and production of some phenolic compounds in grapevine (*Vitis vinifera* L.). *Scientia Horticulturae* **253**:217–226.

- Zhang F, Zhu K, Wang YQ, Zhang ZP, LU F, YU HQ, ZOU JQ. 2019. Changes in photosynthetic and chlorophyll fluorescence characteristics of sorghum under drought and waterlogging stress. *Photosynthetica* **57**:1156–1164.
- Zhang Y, Tian C, Yu T, Dayananda B, Fu B, Senaratne SL, Wu C, Li J. 2021. Differential effects of acid rain on photosynthetic performance and pigment composition of the critically endangered *Acer amplum* subsp. *catalpifolium*. *Global Ecology and Conservation* **30**.
- Zhu J-K. 2016. Abiotic Stress Signaling and Responses in Plants. *Cell* **167**:313–324.
- Zufferey V, Verdenal T, Dienes A, Belcher S, Lorenzini F, Koestel C, Gindro K, Spangenberg JE, Viret O, Spring J-L. 2018. The impact of plant water status on the gas exchange, berry composition and wine quality of Chasselas grapes in Switzerland. *OENO One* **52**.
- Zulini L, Rubinigg M, Zorer R, Bertamini M. 2007. Effects of drought stress on chlorophyll fluorescence and photosynthetic pigments in grapevine leaves (*Vitis vinifera* CV. 'White riesling'). *Acta Horticulturae*:289–294.



## 9 Seznam použitých zkratek, obrázků, tabulek a grafů

- ABA – kyselina abscisová
- ALA – kyselina 5- aminolevuliniová
- $\text{AlCl}_3$  – chlorid hlinitý
- ATP – adenosintrifosfát
- $\text{CO}_2$  – oxid uhličitý
- ČZU – Česká zemědělská univerzita
- E – transpirace
- ET – evapotranspirace
- FAPPZ – Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů
- F-C činidlo – Folin-Ciocalteuovo činidlo
- GAE – kyselina gallová
- $\text{H}_2\text{O}_2$  – peroxid vodíku
- KBFR – Katedra botaniky a fyziologie rostlin
- $\text{Na}_2\text{CO}_3$  – uhličitan sodný
- NADPH – nikotinamidadeninukleotidfosfát
- $\text{NaNO}_2$  – dusitan sodný
- NaOH – hydroxid sodný
- PAR – fotosynteticky aktivní radiace
- RM – Rulandské modré
- ROS – reaktivní forma kyslíku
- RR – Ryzlink rýnský
- TČ – Tramín červený
- TFC – total flavonoid content
- TPC – total phenolic content
- UV záření – ultrafialové záření
- VSD – vodní sytostní deficit
- WSD – Water saturation deficit

### Obrázky:

Obrázek 1: Květ révy vinné.....	12
Obrázek 2: Bobule révy vinné.....	13
Obrázek 3: Měření pomocí přístroje LCpro +.....	29
Obrázek 4: Klipy na listech révy vinné v pozici zatemněno.....	30
Obrázek 5: Připravené vzorky pro měření TPC.....	31
Obrázek 6: Připravené vzorky pro měření TFC.....	32

### Tabulky:

Tabulka 1: Přehled základních podmínek pro pěstování révy vinné.....	14
Tabulka 2: Přehled pokusných variant s uvedeným množstvím závlivky .....	28

Grafy:

Graf 1: Rychlost transpirace ( $\text{mmol H}_2\text{O/m}^2\cdot\text{s}$ ), ( $F=22,224=64,311$ ; $p=0,000$ ) .....	35
Graf 2: Maximální kvantový výtěžek PS II, ( $F=22,242=0,266$ ; $p=0,999$ ) .....	36
Graf 3: Minimální kvantový výtěžek PS II, ( $F=22,242=0,921$ ; $p=0,568$ ) .....	37
Graf 4: TPC, ( $F=24,171=1,174$ ; $p=0,0225$ ) .....	38
Graf 5: TFC, ( $F=24,171$ ; $p=0,300$ ) .....	39
Graf 6: Celkový obsah chlorofylu ( $\text{nmol/cm}^2$ ), ( $F=24,442=3,434$ ; $p=0,000$ ) .....	41
Graf 7: Karotenoidy ( $\text{nmol/cm}^2$ ), ( $F=24,442=1,893$ ; $p=0,007$ ) .....	42
Graf 8: VP (MPa), ( $F=24,192=2,451$ ; $p=0,000$ ) .....	43
Graf 9: VSD (%), ( $F=24,192=29,614$ ; $p=0,000$ ) .....	44

## 10 Samostatné přílohy

### 10.1 Seznam použitých pomůcek, přístrojů a chemikálií

#### Laboratorní pomůcky

- kovový stojan
- rychlofiltrační nálevka
- filtrační papír, vata
- buničina
- kádinky různého objemu
- kovová pinzeta
- alobal, papírové sáčky
- pipeta
- skleněná míchací tyčinka
- kovová pinzeta
- plastové váženky
- třecí miska s tloučkem
- magnetické míchátko
- korkovrt, děrovačka na papír
- plastové váženky

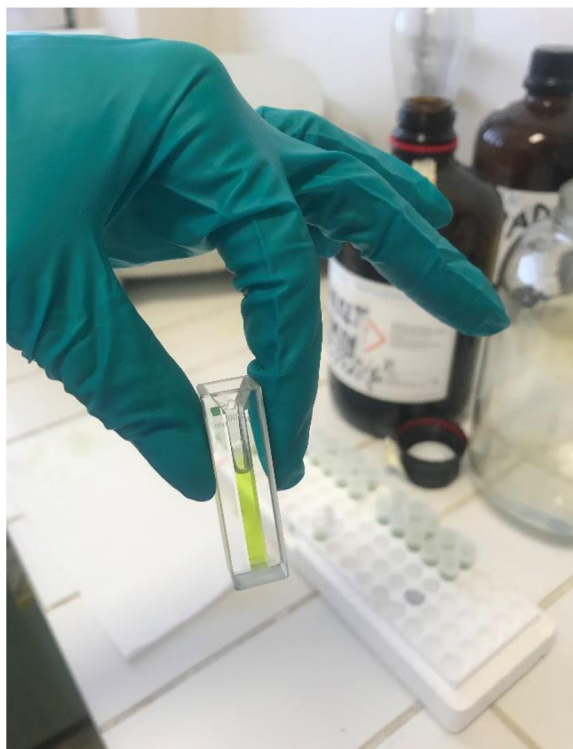
#### Přístroje

- Spektrofotometr UV-Vis Evolution 201
- Analytické váhy Ohaus Adventurer AX324
- Analyzátor výměny plynů ADC LCpro +
- WP4C
- Třepačka OS 20
- OS5p+

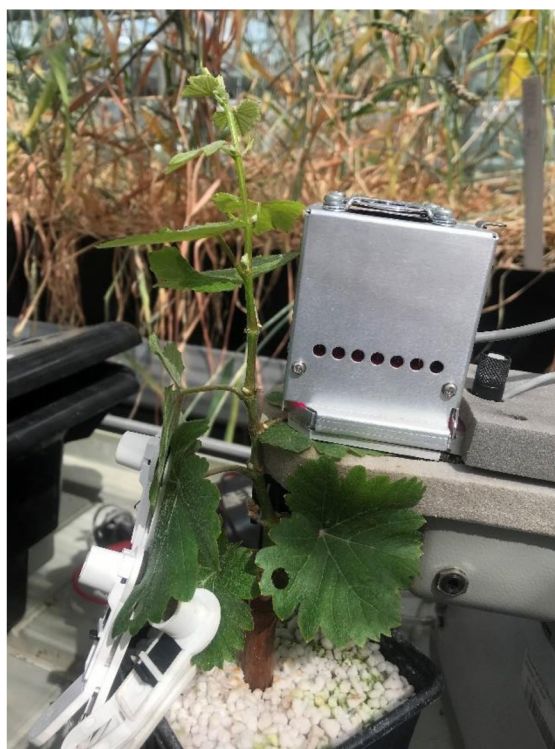
#### Použité chemikálie

- 80% ethanol
- Folin-Ciocalteuovo činidlo
- 7% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>
- 5% NaNO<sub>2</sub>
- 10% AlCl<sub>3</sub>
- 1M NaOH
- kapalný dusík
- dimethylformamid

## 10.2 Obrazové přílohy



kyveta s výluhem (zdroj: autor práce)



měření rychlosti transpirace (zdroj: autor práce)



měření fluorescence (zdroj: autor práce)



prostory skleníku (zdroj: autor práce)