

Univerzita Hradec Králové
Přírodovědecká fakulta

Diplomová práce

Univerzita Hradec Králové

Přírodovědecká fakulta

Katedra biologie

**Akumulace osmoticky aktivních látek u ovocných
stromů v průběhu vegetační sezony**

Diplomová práce

Autor: Bc. Šárka Lehká
Studijní program: N0588A030001 / Biologie a ekologie
Studijní obor: Experimentální biologie
Vedoucí práce: RNDr. Zuzana Kovalíková, Ph.D.



Zadání diplomové práce

Autor: Bc. Šárka Lehká

Studium: S21BI018NP

Studijní program: N0588A030001 Biologie a ekologie

Studijní obor: Experimentální biologie

Název diplomové práce: **Akumulace osmoticky aktivních látek u ovocných stromů v průběhu vegetační sezony.**

Název diplomové práce AJ: Accumulation of osmotically active substances in fruit trees during the growing season.

Cíl, metody, literatura, předpoklady:

Důsledky klimatických změn jsou v zemědělství patrné především v dřívějším nástupu vegetačních fází rostlin, v celkovém prodlužování délky vegetační sezóny i zvýšená extremita srážek a rozložení srážek během roku. V průběhu extrémních podmínek se v rostlině hromadí řada metabolitů, které napomáhají zmírnit negativny dopad stresorů na vitalitu stromů. Právě změny v akumulaci osmoticky aktivních látek, jako například aminokyselin (zejména prolinu) a produktů metabolismu sacharidů, jsou vhodným markérem pro posouzení míry stresu.

odborné publikácie v dostupných vedecných databázach

Zadávací pracoviště: Katedra biologie,
Přírodovědecká fakulta

Vedoucí práce: RNDr. Zuzana Kovalíková, Ph.D.

Oponent: doc. Ing. Jiří Tůma, CSc.

Datum zadání závěrečné práce: 23.1.2020

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci vypracovala samostatně a že jsem v seznamu použité literatury uvedla všechny prameny, z kterých jsem vycházela.

V Hradci Králové, dne 1. května 2023

Bc. Šárka Lehká

Poděkování

Na tomto místě bych ráda poděkovala své vedoucí diplomové práce RNDr. Zuzaně Kovalíkové, PhD. z Katedry biologie Přírodovědecké fakulty Univerzity Hradec Králové za cenné rady, věcné připomínky, vstřícnost a trpělivost při konzultacích a vypracování diplomové práce.

Poděkování také patří Výzkumnému a šlechtitelskému ústavu ovocnářskému v Holovousech za poskytnutí materiálu k experimentům a Národní agentuře pro zemědělský výzkum za finanční podporu v rámci projektu QK21010200 (Šlechtění ovocných druhů na odolnost k abiotickým vlivům v kombinaci s vysokým obsahem antioxidantních látek v plodech).

V neposlední řadě děkuji své rodině a přátelům za jejich podporu.

Anotace

LEHKÁ, Š. *Akumulace osmoticky aktivních látek u ovocných stromů v průběhu vegetační sezony*, Hradec Králové, 2023. Diplomová práce na Přírodovědecké fakultě Univerzity Hradec Králové. Vedoucí bakalářské práce Zuzana Kovalíková. 100 s.

Klimatické změny jsou závažnou hrozbou v zemědělství, kde jejich důsledky jsou patrné především v dřívějším nástupu vegetačních fází rostlin či v celkovém prodlužování délky vegetační sezony. Během probíhajících extrémních podmínek jsou rostliny vystaveny mnohým stresovým faktorům. V reakci na stres se v rostlinách akumuluje celá řada metabolitů, které napomáhají zmírnit negativní dopady stresorů na celkovou vitalitu stromů. Změny akumulace metabolitů se představují jako vhodné markery pro posuzování míry stresu u rostlin.

Diplomová práce je zaměřena na hodnocení míry akumulace osmoticky aktivních látek (prolin, sacharidy, cukerné alkoholy) a rostlinného hormonu kyseliny abscisové. Jejich obsah byl měřen během vegetační sezony u vybraných odrůd šesti meruněk (‘Betinka’, ‘Candela’, ‘Harcot’, ‘Harogem’, ‘Leskora’, ‘Sophinka’) a šesti třešní (‘Amid’, ‘Early Korvik’, ‘Jacinta’, ‘Justyna’, ‘Kordia’, ‘Regina’) v sadech Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského v Holovousech.

Vybrané odrůdy stromů byly rozděleny podle míry odolnosti vůči stresovým podmínkám na odrůdy senzitivní a odolné. Během analýz byly mezi rozdělenými odrůdami sledovány rozdíly hodnot akumulovaných metabolitů.

Klíčová slova

osmoticky aktivní látky, kyselina abscisová, osmotický stres, meruňky, třešně

Annotation

LEHKÁ, Š. *Accumulation of osmotically active substances in fruit trees during the growing season*. Hradec Králové, 2023. Master thesis at Faculty of Science, University of Hradec Králové. Thesis supervisor Zuzana Kovalíková. 100 p.

Climatic changes are a serious threat in agriculture, where their consequences are mainly visible in the earlier onset of the vegetation phases of plants or in the overall extension of the length of the growing season. During the current extreme conditions, plants are exposed to many stress factors. In response to stress plants accumulate a whole range of metabolites that help mitigate the negative effects of stressors on the overall vitality of trees. Changes in the accumulation of metabolites represent suitable markers for assessing the level of stress in plants.

The diploma thesis is focused on the evaluation of the accumulation of osmotic active substances (proline, sugars, sugar alcohols) and the plant hormone abscisic acid. Their content was measured during the growing season in selected genotypes of six apricots ('Betinka', 'Candela', 'Harcot', 'Harogem', 'Leskora', 'Sophinka') and six cherries ('Amid', 'Early Korvik', 'Jacinta', 'Justyna', 'Kordia', 'Regina') in the orchards of the Research and Breeding Institute of Pomology in Holovousy.

The selected tree genotypes were divided according to the degree of resistance to stress conditions into sensitive and resistant genotypes. During the analysis, differences in the values of accumulated metabolites were monitored between the divided genotypes.

Key words

osmotically active substances, abscisic acid, osmotic stress, apricots, cherries

Obsah

Úvod	12
1 Teoretická část.....	14
1.1 Stres u rostlin.....	14
1.2 Vodní vs. osmotický stres.....	17
1.2.1 Projevy na morfologické úrovni	19
1.2.2 Projevy na fyziologické úrovni.....	20
1.2.3 Vodní deficit a reaktivní formy kyslíku	21
1.2.3.1 Vznik reaktivních forem kyslíku.....	22
1.2.3.2 Antioxidační mechanismy	24
1.2.4 Osmoticky aktivní sloučeniny	27
1.2.4.1 Prolin	28
1.2.4.2 Sacharidy	29
1.2.4.3 Cukerné alkoholy.....	35
1.2.5 Rostlinné hormony v podmínkách sucha	36
1.2.5.1 Kyselina abscisová	36
1.3 Ovocnářství v České republice	40
2 Praktická část.....	43
2.1 Materiál a metodiky	43
2.1.1 Ovocné dřeviny	43
2.1.2 Odběr rostlinného materiálu	46
2.1.3 Stanovení cukrů a cukerných alkoholů.....	51
2.1.4 Stanovení obsahu prolinu	52
2.1.5 Stanovení obsahu kyseliny abscisové	52
2.1.6 Statistické zpracování dat.....	54
3 Výsledky	55
3.1 Obsah cukru a cukerných alkoholů	55
3.1.1 Meruňky.....	55
3.1.2 Třešně.....	63
3.2 Obsah prolinu	71
3.2.1 Meruňky.....	71

3.2.2 Třešně	73
3.3 Obsah kyseliny abscisové.....	74
3.3.1 Meruňky.....	74
3.3.2 Třešně	76
4 Diskuze	78
Závěr.....	83
Seznam použité literatury.....	85
Přílohy	94

Seznam použitých zkratek

$^1\text{O}_2$ – singletový kyslík

ABA – kyselina abscisová

ABA-GE – ABA glukosyl ester

ADP – adenosindifosfát

APX – askorbát peroxidáza

AsA – redukovaný askorbát

ATP – adenosintrifosfát

CAT – kataláza

DHA – dehydroaskorbát

ETC – elektronový transportní řetězec

GPX – glutation peroxidáza

GR – glutation reduktáza

GSA – glutamát-5-semialdehyd

GSH – redukovaný glutation

GSSG – oxidovaný glutation

H_2O_2 – peroxid vodíku

LEA – proteiny hojné při pozdní embryogenezi

NADPH – nikotinamidadenindinukleotidfosfát

NCED – 9-*cis*-epoxykarotenoid dioxygenáza

NDP- glukóza – nukleotid difosfát glukóza

P5C – pyrrollin-5-karboxylát

PS I – fotosystém I

PS II – fotosystém II

O₂ – kyslík

O₂⁻ – superoxid

OH• – hydroxylový radikál

ROS – reaktivní formy kyslíku

SOD – superoxid dismutáza

UDP-glukóza – uridínodifosfátglukóza

Úvod

Rostliny jsou přisedlé organismy, které jsou po celý svůj život vázané na svá stanoviště a nemohou unikat před nepříznivými stresovými podmínkami. Musí se přizpůsobovat z důvodu neustálého kolísání podmínek vnějšího prostředí, aby i přesto mohly vykonávat životně důležité funkce (Lichtenthaler 1998, Procházka *et al.* 1998). Změny prostředí se však pravidelně a předvídatelně mění (denní kolísání, sezonní cykly), proto je pro přežití rostlin důležitá fyziologická plasticita. Ta optimalizuje výkon a je významná pro přežití rostlin v dynamickém prostředí (Shabala 2017).

Abiotické stresory jsou běžné nepříznivé environmentální podmínky, které omezují produktivitu plodin na celém světě (Zaidi 2014). Zemědělská produkce a produktivita jsou na působící abiotické stresy citlivé. Tyto stresy vznikají v důsledku sucha, teplotních extrémů (teplo, mráz), záření (UV, ionizující záření), povodní či edafických faktorů zahrnujících chemické, fyzikální a biologické složky. Zhruba 9 % světové zemědělské plochy je vhodné pro příslušnou rostlinnou produkci, zatímco zbylých 91 % je pod tlakem stresorů, které často působí v různých kombinacích. Ke ztrátám v rozsahu více než 50 % zemědělské produkce dochází v důsledku abiotických stresů, jejichž intenzita je pravděpodobně zesilována změnou klimatu a nadměrným využíváním přírodních zdrojů. Ke zmírnění účinku stresorů se vyvíjejí nové strategie zahrnující šlechtění genotypů rostlin odolných vůči stresu, u kterých se zvyšuje kapacita adaptace na stresové prostředí (Minhas 2017).

Dlouhodobým cílem zemědělské biotechnologie je zlepšení odolnosti plodin vůči osmotickému stresu. Sucho, slanost a dehydratace vyvolaná mrazem představují přímý osmotický stres. V reakci na to se u některých rostlin vyvinuly vysoce schopné mechanismy, které mají možnost syntetizovat a akumulovat netoxické rozpuštěné látky označované jako osmoprotektivita. Tyto látky jsou součástí celkového mechanismu, který má za úkol zvyšovat osmotický tlak, tím udržet buněčný turgor a posílit celkovou odolnost rostliny vůči stresu. Jelikož jsou netoxické, může docházet k jejich akumulaci v rostlinách (Gangola a Ramadoss 2018, Nuccio 1999, Singh *et al.* 2022).

Cílem diplomové práce je hodnocení míry akumulace osmoticky aktivních látek, konkrétněji se jedná o prolin, sacharidy a cukerné alkoholy, a rostlinného hormonu kyseliny abscisové. Měření akumulovaných látek bylo provedeno z rostlinného materiálu, který byl odebrán ze šesti odrůd meruněk a šesti odrůd třešní v sadech Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského v Holovousech. Vybrané odrůdy ovocných dřevin byly dle míry odolnosti rozděleny na odrůdy senzitivní a odolné vůči stresovým podmínkám. V průběhu analýz se hodnotily rozdíly hodnot akumulovaných látek mezi jednotlivými odrůdami.

1 Teoretická část

1.1 Stres u rostlin

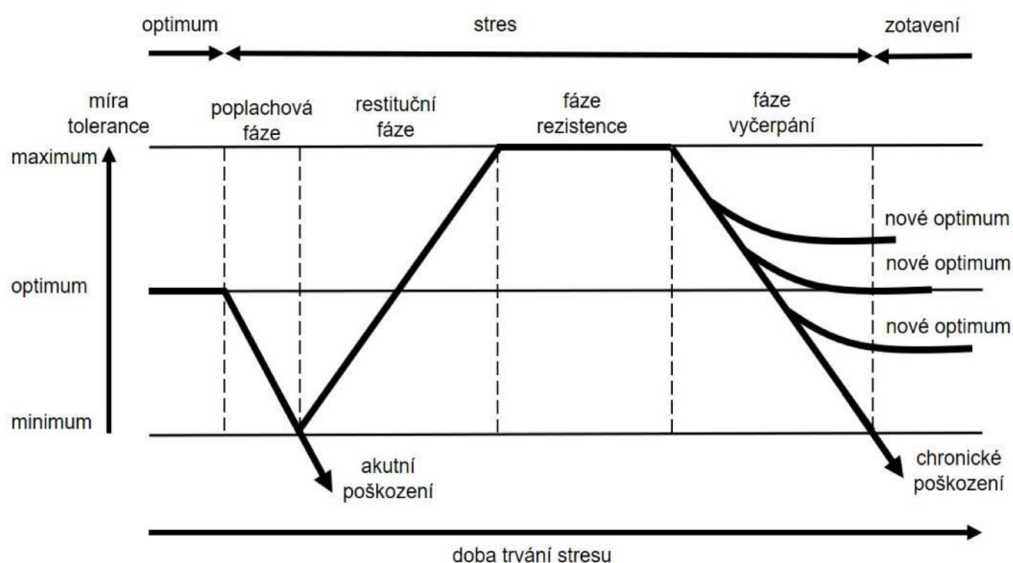
Stres je obvykle definován jako působení vnějšího faktoru, které má nepříznivý vliv na rostlinu (Taiz a Zeiger 2003). V případě negativního působení vnějších faktorů, dojde u rostliny k ovlivnění jejího růstu, vývoje a metabolismu (Shabala 2017). K obraně před ohrožujícími vlivy jim napomáhá celá řada speciálních mechanismů, díky kterým se rostliny dokážou vyhnout stresu nebo se na něj adaptovat (Lichtenthaler 1998, Procházka *et al.* 1998). V některých případech může vystavení rostliny mírnému stresu indukovat zvýšení fyziologické aktivity či aktivaci buněčného metabolismu (Lichtenthaler 1998).

Stresory lze členit dle původu na biotické a abiotické. K biotickému stresu dochází v důsledku působení biologických faktorů, mezi které lze zařadit herbivorní živočichy, patogenní mikroorganismy (viry, houby, mikroby) nebo vzájemné ovlivňování rostlin (parazitismus, alelopatie) (Kochhar a Gujral 2020, Procházka *et al.* 1998). Rostliny na takové podmínky reagují změnami chemických a fyzikálních vlastností buněčných stěn a syntézou sekundárních metabolitů. Tyto reakce se souhrnně označují jako hypersenzitivní reakce, které izolují potencionálně patogenní organismy a zastavují jejich vývoj a šíření v rostlině (Kochhar a Gujral 2020). Stres rostlin může taktéž nastat v případě nadbytečného či nedostatečného působení abiotických faktorů (Procházka *et al.* 1998). Abiotický stres lze členit na fyzikální nebo chemický. Mezi fyzikální stresory se zařazují extrémní teploty (horko, chlad, mráz), mechanické účinky větru nebo nadměrné záření (viditelné, UV). Chemickými stresory se rozumí nedostatek vody (sucho) a kyslíku (hypoxie, anoxie), nedostatek živin v půdě nebo nadbytek iontů solí a vodíku v půdě (Procházka *et al.* 1998, Singh *et al.* 2020). Kolísání abiotických faktorů má obecně negativní biochemické a fyziologické dopady na rostliny (Kochhar a Gujral 2020). Rostlinný stres může být vyvolán i antropogenní činností, jako je např. využívání herbicidů, znečištění ovzduší (SO₂, O₃), kyselá deště nebo toxické kovy a organické látky v půdě (Lichtenthaler 1998).

Celková reakce rostliny závisí na extrémnosti a době trvání stresu, vývojovém stádiu, typu pletiva a interakci mezi dalšími stresory (Kochhar a Gujral 2020).

Rostlina je obvykle vystavena více stresovým faktorům najednou (Lichtenthaler 1998). V přirozených podmínkách jsou velmi běžné kombinace dvou nebo více stresorů, jako je např. sucho a slanost, slanost a horko či kombinace sucha a extrémních teplot (Suzuki *et al.* 2014). Například nedostatek vody je často spojen se zvýšenou salinitou v půdním prostředí a s tepelným stresem v listech (Taiz a Zeiger 2003). V případě obrany vůči více stresorům nastávají v rostlině složité reakce, které se mohou vzájemně ovlivňovat nebo inhibovat. Rovněž se zjistilo, že mnoho stresorů abiotického původu oslabuje obranné mechanismy rostlin a zvyšuje tak jejich náchylnost k infekcím (Suzuki *et al.* 2014). Uvádí se, že abiotický stres je primární celosvětovou příčinou ztráty úrody, což snižuje výnosy pěstovaných plodin (Shabala 2017).

Nepříznivé změny podmínek vnějšího prostředí spouštějí u rostliny stresovou reakci v momentě, kdy je rostlina schopna vnímat stres na buněčné úrovni (Obrázek 1) (Kochhar a Gujral 2020). Veškeré vytvořené signály vnějších stresorů, jsou transportovány pomocí stresových metabolitů, hormonů či enzymů do jednotlivých buněk rostliny. V počáteční fázi neboli fázi poplachové dochází k narušení buněčných struktur a funkcí. U rostliny se zaznamenává snížení fyziologických funkcí (intenzita fotosyntézy, transport a příjem metabolitů, translokace iontů), což má za následek pokles vitality. Rovněž je znatelná převaha katabolických procesů nad anabolickými. Následující restituční fáze nastává, pokud intenzita stresoru nepřekročí letální úroveň. Dochází tak k mobilizaci kompenzačních mechanismů, adaptačních procesů a procesů oprav, které směřují ke zvýšení odolnosti rostliny vůči působícím stresorům. Tuto část stresové reakce lze označit za fázi rezistence. Avšak při dlouhodobé a vysoké intenzitě stresu dochází u rostliny k fázi vyčerpání, která vede k chronickému onemocnění nebo smrti rostliny. V případě je-li stresor odstraněn a poškození rostliny není rozsáhlé, dochází k regenerační fázi, kdy nastává částečná nebo úplná regenerace fyziologické funkce. Průběh a konečný výsledek stresové fáze se odvíjí od adaptační schopnosti rostliny, intenzity a délky působení stresového faktoru. V případě přechodně zvýšené odolnosti rostliny pod působícím stresem se jedná o aklimaci (Kosová *et al.* 2011, Lichtenthaler 1998, Procházka *et al.* 1998).



Obrázek 1: Schéma průběhu stresové reakce (upraveno dle Kosová *et al.* 2011)

Mechanismy rezistence vůči stresu jsou seskupeny do dvou obecných kategorií. První kategorie zahrnuje vyhybací mechanismy, které zabraňují vystavení rostliny stresu prostřednictvím kratšího životního cyklu. Druhou kategorií představují toleranční mechanismy, které umožňují rostlinám tolerovat stres prostřednictvím změn v jejich metabolismu. Některé mechanismy rezistence jsou aktivní před samotným vystavením se stresu. Existují však rostliny, které během působícího stresu mění svou fyziologii a na nepříznivé podmínky se aklimatizují. Tato odolnost vůči určitému stresu bývá členěna do dvou typů, a to na adaptaci a aklimatizaci. Adaptace na stres spočívá v mnoha genetických změnách, které se formovaly procesem selekce po mnoho generací (např. morfologické fyziologické modifikace CAM rostlin). Aklimatizace u rostlin umožňuje reagovat na výkyvy prostředí. Fyziologické změny rostlin spojené s aklimatizací jsou v zásadě reverzibilní a nevyžadují tak žádné genetické změny. Jak adaptace, tak aklimatizace může rostlinám poskytnout toleranci vůči extrémním podmínkám prostředí (Kochhar a Gujral 2020, Taiz a Zeiger 2003).

1.2 Vodní vs. osmotický stres

Voda je zásadní složkou pro život a je hlavním intermediátem v dopravě živin a metabolitů v rostlinách (Singh *et al.* 2020). Jako médium je žádaná pro správný provoz biochemických reakcí v živé buňce. Rostlinné buňky jsou navzájem propojeny mikroskopickými kanálky nazývanými jako plasmodesmata. Díky nim mohou buňky aktivně absorbovat vodu, která se pohybuje po symplastické dráze mezi sousedícími buňkami. Voda může být rovněž transportována apoplastickou cestou, během které pasivně prochází mezibuněčnými prostory a buněčnou stěnou. Transcelulární cesta je dalším typem transportu, při kterém voda prochází transmembránovými vodními kanály, zvanými aquaporiny (Dai 2019).

Voda generuje pro rostlinné buňky tlak turgoru, který je hnací silou buněčné expanze. Vegetativní růst rostlin může nastat pouze za určitého nasycení vodou, které lze měřit vodním potenciálem (Xiong a Zhu 2002). V rostlinné buňce je vodní potenciál tvořen určitými složkami, kterými jsou osmotický potenciál, tlakový potenciál, gravitační potenciál a matricový potenciál. Množství, o které se vodní potenciál buňky sníží v důsledku přítomnosti rozpuštěné látky ve vodě, se označuje jako osmotický potenciál neboli potenciál rozpuštěné látky. V momentě, kdy dojde k přidání rozpuštěných látek do vody, se volná energie molekul vody sníží (Srivastava 2021). Rostlinné buňky během udržování pozitivního tlaku turgoru obvykle upravují svůj osmotický potenciál, aby splnily požadavek celé rostliny na vyrovnaní jejího vodního stavu (Xiong a Zhu 2002).

Vodní stres může vzniknout v důsledku nadměrného přísunu vody (anoxie, záplavy) nebo v častějším případě vodním deficitem (sucho, nízký vodní potenciál). Jedná se o jeden z hlavních abiotických faktorů, který ovlivňuje celkový stav a vývoj rostliny (Kochhar a Gujral 2020). Sucho je považováno za jeden z nejničivějších environmentálních faktorů, který snižuje produktivitu plodin a má hlavní omezení pro zemědělskou činnost na celém světě. Souvislý nedostatek srážek a vyšší poptávka po evapotranspiraci vedou k suchu (Farooq *et al.* 2012, Tiwari *et al.* 2021). Další přidružené environmentální faktory, jako např. salinita, mrznutí či vysoká ozáření rostlin dále prohlubují navozený vodní deficit. Ten lze definovat jako stav buňky nebo pletiva, při kterém je obsah vody nižší než při plném nasycení (Taiz a Zeiger 2003).

Sucho ovlivňuje vodní poměr v rostlinách, ať už na buněčné nebo celotělové úrovni (Tiwari *et al.* 2021). Působí na rostliny jako selektivní faktor, který způsobuje fyziologické, molekulární a buněčné změny (Székely 2007). Ve všeobecnosti nedostatek vody blokuje normální růst a vývoj rostlin, narušuje metabolismus a buněčné struktury, což vede k zástavě enzymaticky katalyzovaných aktivit (Tiwari *et al.* 2021).

Deficit vody v rostlinném organismu je doprovázen sekundárním osmotickým stresem, který narušuje běžné buněčné aktivity nebo způsobí smrt rostliny. Osmotický stres je samotnou buňkou vnímán jako ztráta turgoru. V reakci na to se spouští signální kaskády pro osmotické přizpůsobení na molekulární, biochemické, buněčné a celotělové úrovni (Lozano-Juste *et al.* 2020, Munnik a Meijer 2001, Xiong a Zhu 2002).

Mezi obranné reakce proti osmotickému stresu se zařazují např. morfologické a vývojové změny (inhibice růstu výhonků, zesílení růstu kořenů), úprava transportu iontů nebo metabolické změny (např. syntéza kompatibilních solutů). Některé z těchto reakcí jsou spouštěny primárními signály osmotického stresu. Zatímco jiné reakce mohou být výsledkem sekundárních reakcí, které byly vyvolány primárními signály. Sekundární signály nemusí být zpravidla omezeny na místa primárního stresu (např. v kořenu), ale mohou se přesouvat do jiných částí rostliny a tím přispívat ke koordinaci reakcí celé rostliny na působící stresové podmínky. Mezi sekundární signály nejčastěji zahrnujeme fytohormony (kyselina abscisová, ethylen), reaktivní formy kyslíku (ROS) nebo intracelulární druhé posly (fosfolipidy, fosfolipáza C) (Munnik a Meijer 2001, Székely 2007, Xiong a Zhu 2002). V momentě, kdy je rostlina vystavena vodnímu stresu se začínají hromadit ochranné osmolyty. Ty regulují osmotický potenciál buňky do té doby, dokud se intracelulární osmotický potenciál nerovná potenciálu média mimo buňku. Rostlinné druhy využívají pro osmoregulaci rozdílné typy osmolytů, kterými jsou volné aminokyseliny, rozpustné cukry, volné polyaminy nebo různé ionty (Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Cl^-). Tyto molekuly jsou kompatibilní s vnitřním buněčným prostředím, kde se relativně ve vysokých koncentracích hromadí. Osmotická úprava je obecně přijímána jako mechanismus adaptace rostlin na sucho (Dai 2019).

1.2.1 Projevy na morfológické úrovni

Potřeba vyhýbat se nebo tolerovat delší či dočasný deficit vody vede rostliny k vyvinutí speciálních reakcí, které mohou ovlivnit celou řadu anatomických a morfológických vlastností rostliny (Anjum *et al.* 2011, Dai 2019).

Buněčné dělení a vývoj buněk jsou životně důležitými procesy pro růst a vývoj rostlin. Buněčný růst je jedním z nejcitlivějších procesů na nedostatek vody z důvodu snižujícího se turgoru, který potlačuje růst a buněčnou expanzi. Následkem sucha se narušuje mitotická aktivita buněk v meristematických oblastech, kde se blokuje primární růst, při kterém dochází k prodlužování buněk. Během silného deficitu vody nastává přerušování transportu vody z xylému do prodlužujících se buněk, čímž nastává inhibice prodlužovací aktivity. Suchem je rovněž negativně ovlivněn sekundární růst, při kterém dochází k samotnému růstu dceřiných buněk a následné expanzi mladých buněk. Obecně zhoršená mitotická aktivita, prodlužování a expanze buněk vedou u rostlin s vodním deficitem ke sníženému růstu a vývoji (Anjum *et al.* 2017, Farooq *et al.* 2009, Khati *et al.* 2020).

Sucho má rovněž značný vliv na omezený příjem živin, který je přímo závislý na dostupnosti vody (Khati *et al.* 2020). Celkově snížená dostupnost živin má za výsledek nízký obsah iontů v rostlinných pletivech. Rostliny s vodním deficitem mají snížený příjem např. draslíku, dusíku či fosforu (Bijalwan *et al.* 2022).

Dostupnost vody hraje důležitou roli u zahájení klíčení. Za sucha je proces příjmu a nasávání vody zpomalen, čímž se snižuje samotná rychlost klíčení a snižuje se i vitalita sazenic. Výška rostliny nebo změna poměru kořenů ku výhonku představují agronomické parametry, které odrážejí míru vegetativního růstu v reakci na dané stresové podmínky. Kořenový systém z důvodu nižší citlivosti k nízkému vodnímu potenciálu dosahuje větších rozměrů nežli výhonek. Silné a dlouhé kořeny mají schopnost zasahovat do velkých hloubek půdy a jsou způsobilé odtud čerpat vodu. Vlivem sníženého turgoru je i zřetelná změna v průměru stonku, která klesá se změnou vodního potenciálu půdy a listů (Anjum *et al.* 2017).

Projevy vodního deficitu jsou viditelné taktéž na listech. Častým důsledkem je zmenšení listové plochy vlivem snížené buněčné expanze, sníženého buněčného dělení, odumřenin apikální části listu nebo rolováním listu (Anjum *et al.* 2017). Menší listové plochy mohou mít i pozitivní dopad, díky čemuž se rostlině daří udržet kontrolu nad spotřebou vody během sucha (Székely 2007). Dalším viditelným parametrem, který může indikovat stres ze sucha, je tloušťka a hustota listů. V průběhu sucha si lépe udržují tloušťku listů dřeviny než bylinné druhy. Během průzkumu na dřevinách bylo naznačeno, že tloušťka listů pozitivně koreluje s asimilační kapacitou, zatímco hustota listů s asimilační kapacitou má negativní korelaci (Dai 2019).

Během nedostatku vody je zejména u dřevin pozorovaná změna kambiální aktivity, jež se odráží v letokruzích. Kambium může mít potencionálně celoroční aktivitu. Ta je však silně ovlivněna teplotou okolí a dostupností vody. V případě nízkých teplot je kambiální aktivita blokována. Jakmile však teploty stoupnou a půda je nasycena vodou, je aktivita kambia maximální a dochází k tvorbě širokých cév v xylému. V momentu úbytku vody jsou přítomné cévy užší a celková produkce xylému klesá (Dai 2019).

Při stavu vodního deficitu může docházet k membránovému poškození. Vinou smrštění protoplastu se zvyšuje únik rozpuštěných látek z vysušených buněk. Při stresu se taktéž negativně ovlivňuje lipidová dvojvrstva a zároveň dochází k vytěsnění membránových proteinů. To má za následek vážná strukturální a metabolická poškození na úrovni buněk a pletiv (Kochhar a Gujral 2020).

1.2.2 Projevy na fyziologické úrovni

V momentě, kdy jsou rostliny vystaveny suchu, se začínají bránit aktivací fyziologických mechanismů na několika úrovních v závislosti na závažnosti a délce sucha (Dai 2019).

Snížení nebo inhibice fotosyntézy je jedním z hlavních účinků sucha u vyšších rostlin (Hossain *et al.* 2016). Jedním z důvodů je inhibice růstu buněk, díky čemuž dochází k zástavě zvětšování listových ploch (Mishra *et al.* 2020). Během sucha dochází k rolování listů a uzavírání průduchů, což přímo snižuje výměnu plynů

a dostupnost CO₂ pro fotosyntézu (Tiwari *et al.* 2021). Vlivem uzavření průduchů se omezuje absorpce CO₂ listy a předchází se tak ztrátě vody při transpiraci (Yang *et al.* 2021). Nízký vodní potenciál nepříznivě ovlivňuje strukturu a integritu fotosyntetického aparátu kvůli inhibované asimilaci CO₂. V chloroplastech dochází k poklesu fosforylace a transportu elektronů, díky čemuž se poškozují thylakoidní membrány a ATP-syntázy. Z důvodu inhibice transportu elektronů nemůže být absorbovaná světelná energie zpracována a dochází tak k poškození reakčního centra fotosystému II (Kochhar a Gujral 2020). Vodní deficit zapříčiňuje zhoršenou aktivitu esenciálních fotosyntetických enzymů (např. Rubisco, NADP-malát dehydrogenáza), což se projeví sníženým výnosem fotosyntézy během sucha (Farooq *et al.* 2012).

Působící vodní stres má negativní dopad na obsah chlorofylu, kterého během sucha ubývá (Tiwari *et al.* 2021). Příčinou sníženého obsahu chlorofylu je poškození tylakoidních struktur a rozpad chloroplastů, za kterým stojí ROS (Tiwari *et al.* 2021). Změny rostlinných pigmentů vedou ke změně barvy rostliny, která bývá během sucha žlutohnědá. Z hlediska odolnosti vůči suchu mají rostliny s vyšším obsahem chlorofylu silnější odolnost vůči nedostatku vody (Yang *et al.* 2021).

1.2.3 Vodní deficit a reaktivní formy kyslíku

Reaktivní formy kyslíku hrají klíčovou roli v procesu aklimace rostlin na abiotický stres. Primárně fungují jako signální transdukční molekuly, které regulují různé dráhy během aklimatizace rostlin (Choudhury *et al.* 2017). Zastávají významnou signalizační roli v řídicích procesech jako je růst, vývoj, reakce na biotické a abiotické podněty prostředí nebo buněčná smrt (Bailey-Serres a Mittler 2006). ROS však mohou být i toxickými vedlejšími produkty rostlin. Během stresu dochází ke zvýšení hladiny ROS z důvodu převahy produkce ROS nad jejich eliminací prostřednictvím využití antioxidačních mechanismů. Následkem tohoto sekundárního oxidačního stresu může docházet k narušení plazmatické membrány, deoxidaci sacharidů, degradaci enzymů a pigmentů, denaturaci proteinů, peroxidaci lipidů, fragmentaci nukleových kyselin a v závěru může nastat

buněčná smrt. V rámci oxidačního vzplanutí mohou fungovat i jako signální molekuly (Bijalwan *et al.* 2022, Ishaku *et al.* 2020).

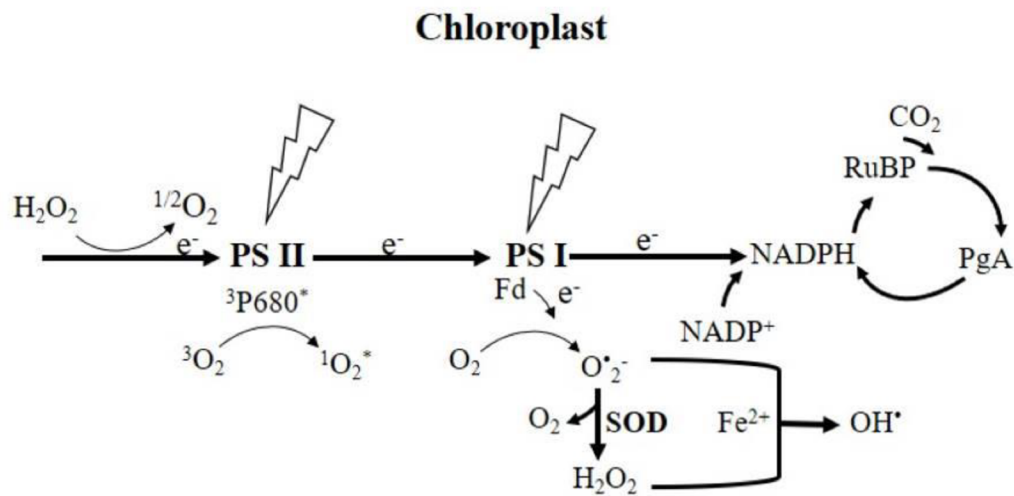
ROS jsou částečně redukované nebo aktivované formy atmosférického kyslíku. Jsou považovány za nevyhnutelné vedlejší produkty aerobního metabolismu (Choudhury *et al.* 2017). Ze skupiny ROS se v rostlinách nejčastěji generuje superoxidový radikál (O_2^-), peroxid vodíku (H_2O_2), singletový kyslík (1O_2), hydroxylový radikál (OH^\bullet) či organický kyslíkový radikál (RO^\bullet , ROO^\bullet) (Yang *et al.* 2021).

1.2.3.1 Vznik reaktivních forem kyslíku

ROS vznikají během metabolických pochodů v různých buněčných kompartmentech včetně chloroplastů, peroxisomů, endoplazmatického retikula, mitochondrií, buněčné stěny nebo plazmatické membrány. V přítomnosti světla jsou hlavními zdroji ROS chloroplasty a peroxisomy, zatímco mitochondrie jsou předním producentem ROS za tmy (Bijalwan *et al.* 2022, Das a Roychoudhury 2014).

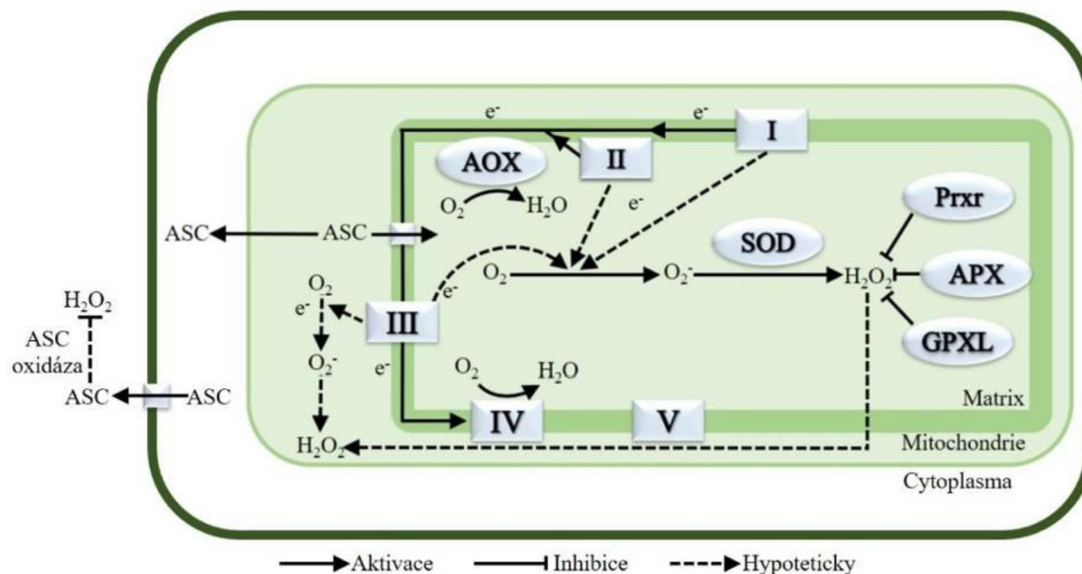
Chloroplast se skládá z uspořádaného systému tylakoidních membrán, ve kterých jsou fotosyntetické mechanismy pro sběr světla, fotosystém I a II (PS I a II). Tyto jsou zároveň i hlavními producenty ROS (Obrázek 2) (Das a Roychoudhury 2014). V momentu, kdy jsou rostliny v prostředí s nedostatečným obsahem vody, klesá účinnost absorpce světelné energie. Blokováná fixace CO_2 má za následek snížený přísun $NADP^+$. Přes Mehlerovu reakci dochází ke zvýšené rychlosti přenosu fotosyntetických elektronů na O_2 , ze kterého vzniká O_2^- (Das a Roychoudhury 2014, Yang *et al.* 2021). Na PS I rovněž probíhá jednoelektronová redukce kyslíku, při které vzniká O_2^- . Ten je však následně na stromální straně thylakoidů spontánně nebo enzymaticky přes superoxid dismutázu (SOD) proměněn na H_2O_2 (Das a Roychoudhury 2014, Waszczak *et al.* 2018). Pro chloroplasty je unikátní tvorba vysoce reaktivního 1O_2 ve PS II. Aktivita PS II je řízená světelnou energií, kterou zachycují molekuly chlorofylu a přenáší ji do reakčních center. V PS II probíhají redoxní reakce s vysokými redukčními a oxidačními potenciály, mezi které se zahrnuje štěpení vody. Během této reakce dochází k uvolnění kyslíku, který je v základním (tripletovém) stavu.

Prostřednictvím přenesení excitační energie z excitovaného tripletového stavu chlorofylu P680 na kyslík vzniká $^1\text{O}_2$ (Dmitrieva *et al.* 2020).



Obrázek 2: Generování ROS v chloroplastu (upraveno dle Apel a Hirt 2004)

Produkce ROS v mitochondriích je úzce spjata s mitochondriálním elektronovým transportním řetězcem, konkrétně s komplexy I a III, který je lokalizován ve vnitřní mitochondriální membráně (Obrázek 3) (Waszczak *et al.* 2018). NADH dehydrogenáza neboli komplex I přímo redukuje O_2 na $\text{O}_2^{\bullet -}$ ve své flavoproteinové oblasti. Produkce ROS se může v komplexu I zvyšovat následkem reverzního toku elektronů z komplexu III kvůli nedostatku NAD^+ . V komplexu III plně redukovaný ubiquinon odevzdá elektron cytochromu *c1* a zanechává za sebou nestabilní ubisemichinon, jež napomáhá úniku elektronů. Akceptorem uvolněných elektronů se stává O_2 , ze kterého se stává reaktivní $\text{O}_2^{\bullet -}$. Přestože je $\text{O}_2^{\bullet -}$ hlavním ROS v mitochondriích, tak se pomocí SOD a askorbát peroxidázy (APX) přeměňuje na H_2O_2 (Das a Roychoudhury 2014, Waszczak *et al.* 2018).



Obrázek 3: Generování ROS v mitochondriích (upraveno dle Waszczak *et al.* 2018)

AOX – alternativní oxidáza, ASC – askorbát, ASC oxidáza – askorbát oxidáza, GPXL – podoba glutation peroxidázy, Prxr – peroxiredoxin

Peroxisomy hostí celou řadu metabolických procesů, z nichž mnohé vedou k tvorbě ROS, včetně H_2O_2 , O_2^- a 1O_2 . Při současném obsahu CO_2 významná část katalytických cyklů Rubisco okysličuje ribulózu-1,5-bifosfát (Waszczak *et al.* 2018). Výsledný 2-fosfoglykolát je metabolizován na glykolát, který je přeměrován do peroxisomů, kde prochází oxidací na glyoxylát za uvolnění H_2O_2 (Das a Roychoudhury 2014, Waszczak *et al.* 2018). V peroxisomech se dále nacházejí dvě místa, u kterých byla zjištěna tvorba O_2^- (del Río a López-Huertas 2016). Prvním místem je matrix peroxizomů, kde xanthinoxidáza katalyzuje oxidaci xanthinu a hypoxantinu na kyselinu močovou, přičemž se uvolňuje vedlejší produkt ve formě O_2^- . Druhé místo je lokalizováno v membráně peroxisomu, kde NADPH-dependentní elektronový transportní řetězec využívá O_2 jako akceptor elektronů a uvolňuje O_2^- do cytosolu (Das a Roychoudhury 2014, del Río a López-Huertas 2016).

1.2.3.2 Antioxidační mechanismy

Antioxidanty jsou obranné mechanismy, které přímo nebo nepřímo vycitávají ROS, řídí jejich produkci a napomáhají zmírňovat poškození vzniklé následkem oxidačního stresu. Antioxidační obranný systém se skládá z nízkomolekulárních

neenzymatických antioxidantů a antioxidantních enzymů, které koordinovaně spolupracují na inhibici nadprodukce ROS (Das a Roychoudhury 2014, Hasanuzzaman *et al.* 2020).

Neenzymatické antioxidanty chrání buněčné komponenty před poškozením, které vzniklo během oxidačního stresu. Zastupují však i důležitou roli během mitózy, prodlužování buněk, růstu a vývoje rostlin, stárnutí a buněčné smrti (Muzaffar *et al.* 2022).

Kyselina askorbová (askorbát) je nejhojnější antioxidantní sloučenina, která je k dispozici většinou v redukované formě. Vyskytuje se především v chloroplastech, mitochondriích, cytosolu, peroxisomech a apoplastu. Z rostlinného organismu vychytává především O_2^- , H_2O_2 , 1O_2 a OH^\bullet . Askorbát představuje významnou roli v askorbát glutationovém cyklu při odstraňování ROS. Během cyklu dvě molekuly redukovaného askorbátu využívají APX k redukci H_2O_2 na H_2O . Současně se produkuje monodehydroaskorbát, který se může disproportionovat na dehydroaskorbát a redukovaný askorbát. V askorbát glutationovém cyklu monodehydroaskorbát reduktáza nebo ferredoxin rovněž katalyzují NADPH, které je donorem elektronů. Dále se askorbát podílí na regulaci biosyntézy fytohormonů a regeneraci α -tokoferolu z tokoferoxylového radikálu, čímž chrání membrány před oxidačním poškozením (Ahmad *et al.* 2010, Das a Roychoudhury 2014, Hasanuzzaman *et al.* 2020).

Glutation (γ -glutamyl-cystein-glycin) je další významnou složkou antioxidantního obranného systému, který se vyskytuje převážně v redukované formě (Ahmad *et al.* 2010). Jeho výskyt je hojný téměř ve všech buněčných kompartmentech, jako je cytosol, endoplazmatické retikulum, mitochondrie, chloroplasty, vakuoly, peroxisomy nebo apoplast. Glutation se podílí na širokém spektru procesů v rostlinách, mezi kterými je i účast při expresi genů reagujících na stres. V rostlinách vychytává O_2^- , H_2O_2 , 1O_2 a OH^\bullet (Das a Roychoudhury 2014, Hasanuzzaman *et al.* 2020). Ochraňuje biomolekuly pomocí vytvořených aduktů nebo biomolekuly redukuje v případě přítomnosti ROS. Glutation má též zásadní roli v askorbát glutationovém cyklu, kdy se v redukované formě využívá k redukci dehydroaskorbátu a sám se oxiduje na oxidovaný glutation. Regenerace oxidovaného glutationu zpátky na redukovaný je katalyzovaná glutation

reduktázou, ke které se připojuje NADPH jako redukční síla. V neposlední řadě pomáhá při tvorbě fytochelatinů prostřednictvím fytochelatin syntázy, která se podílí na chelataci iontů těžkých kovů (Ahmad *et al.* 2010, Das a Roychoudhury 2014).

Tokoferoly jsou antioxidanty nacházející se pouze v tylakoidních membránách chloroplastů. Vyskytují se ve čtyřech izotopových formách (α , β , γ a δ), ze kterých převládá α -tokoferol (vitamín E). Antioxidační vlastnosti jsou způsobeny schopností vychytávat 1O_2 a OH^\bullet a ochranou proti fotooxidačnímu poškození. Reaguje s O_2 , kdy zháší jeho přebytečnou energii a tím chrání PS II, lipidy a další membránové složky chloroplastů. α -tokoferol vychytává volné lipidové radikály, které redukuje a sám se přeměňuje na tokoferolový radikál. Ten může být reakcí s askorbátem nebo jiným antioxidantem recyklován zpět na α -tokoferol (Ahmad *et al.* 2010, Das a Roychoudhury 2014, Hasanuzzaman *et al.* 2020).

Karotenoidy jsou lipofilní antioxidanty, které jsou lokalizované v plastidech fotosyntetických i nefotosyntetických rostlinných pletiv. Karotenoidy chrání fotosyntetický aparát, a to konkrétně čtyřmi způsoby. U prvního způsobu reagují karotenoidy s produkty vzniklými peroxidací lipidů. Reakce se odehrává za účelem ukončení řetězových reakcí. Během druhého způsobu karotenoidy vychytávají 1O_2 a současně se uvolňuje vedlejší produkt ve formě tepla. Při třetím způsobu karotenoidy zabraňují vzniku 1O_2 během reakce mezi tripletovým excitovaným chlorofylem a excitovaným chlorofylem. U posledního způsobu karotenoidy rozptylují přebytečnou excitační energii prostřednictvím xantofylového cyklu (Das a Roychoudhury 2014).

Při výše zmíněných antioxidantech se v rostlinách současně uplatňuje i enzymatický systém. Jeho aktivita je výsledkem souběžného a sekvenčního působení vícerych enzymů. Mezi ně můžeme zařadit enzymy kataláza (CAT), SOD, peroxidázy (POX), glutation peroxidáza a enzymy askorbát glutationového cyklu.

SOD je metaloenzym, který se řadí mezi enzymatické antioxidanty rostlin. Na základě kovových kofaktorů spojených s SOD se odlišují tři izoformy: Cu/Zn SOD (lokalizace v cytosolu, chloroplastech a peroxisomech), Mn SOD (lokalizace v mitochondriích a peroxisomech) a Fe SOD (lokalizace v chloroplastech) (Rajput

et al. 2021). Při stresových podmínkách vytváří SOD první linii obrany proti poškozením způsobenými ROS. SOD katalyzuje dismutaci O_2^- , ze kterého vzniká O_2 a H_2O_2 (Das a Roychoudhury 2014).

CAT je tetramerní enzym obsahující železo, jehož lokalizace je převážně v peroxisomech rostlin. Zde katalyzuje proměnu H_2O_2 na H_2O a O_2 (Das a Roychoudhury 2014). Pro svou katalytickou činnost nepotřebuje žádné redukční činidlo. Zprvu H_2O_2 oxiduje železo, čímž vzniká intermediární peroxid železa. V tomto stavu může enzym zůstat, pokud je koncentrace H_2O_2 nízká. V momentě zvýšení koncentrace druhá molekula H_2O_2 , fungující jako redukční činidlo pro peroxid železa, regeneruje enzym. V závěru proměny se uvolňuje H_2O a O_2 (Rajput *et al.* 2021).

APX se řadí mezi hemperoxidázy I. třídy (Rajput *et al.* 2021). Skládá se z pěti izoform, které se liší ve složení aminokyselin a lokalizaci v buňce, konkrétně v cytosolu, mitochondriích, peroxisomech a chloroplastech. Hlavní funkcí je podílení se na vychytávání H_2O_2 v cyklu voda-voda a v askorbát glutationovém cyklu (Ahmad *et al.* 2010, Das a Roychoudhury 2014).

Glutation peroxidáza je souborem většího množství izoenzymů, které katalyzují redukci H_2O_2 a cytotoxických hydroperoxidů na H_2O a lipidové alkoholy. Další funkcí je detoxikace produktů, které vznikly během peroxidace lipidů (Ahmad *et al.* 2010, Rajput *et al.* 2021).

1.2.4 Osmoticky aktivní sloučeniny

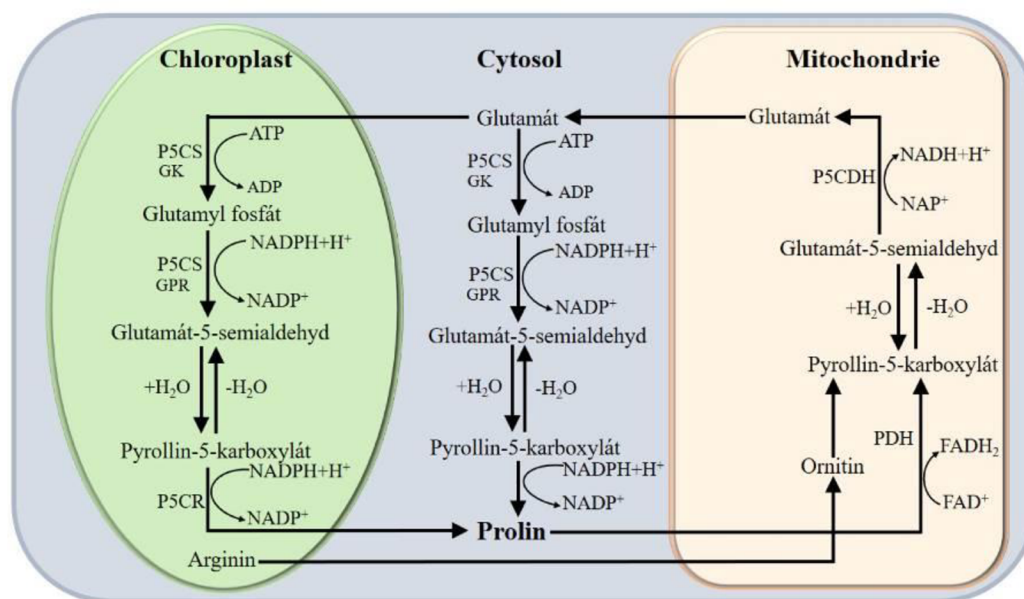
Během vodního a osmotického stresu je nutné udržet tlak turgoru v buňkách a posílit celkovou odolnost vůči stresu. To se děje díky zvýšené hladině osmoprotektiv a osmolitů. V rostlinách bylo identifikováno mnoho osmoprotektantů mezi nimiž významnou roli hrají sacharidy, cukerné alkoholy či aminokyseliny (prolin, glycinbetain) (Gangola a Ramadoss 2018, Singh *et al.* 2022). Tyto zmíněné sloučeniny jsou malé nenabitě molekuly, které jsou vysoce rozpustné ve vodě. Díky této vlastnosti se mohou akumulovat ve vysokých koncentracích v cytosolu rostlinných buněk, aniž by způsobily poškození buněčných struktur (Trovato *et al.* 2008).

1.2.4.1 Prolin

Prolin je důležitá aminokyselina, která se asimiluje během působení stresových podmínek (Singh *et al.* 2022). Jedná se o kompatibilní osmolit a osmoprotektivní sloučeninu, která se uplatňuje při osmotickém stresu. Podílí se na udržování buněčného turgoru, osmotické úpravě a ochraně buněčných struktur, proteinů a membrán (Ábrahám *et al.* 2010, Liang *et al.* 2013).

U prolinu bylo prokázáno jeho působení, jakožto proteinového chaperonu stabilizujícího proteiny, který rovněž redukuje agregaci a termodenaturaci proteinů. Díky svým vlastnostem posiluje a stabilizuje redoxní enzymy a tím se podílí na ochraně rostliny před oxidačním stresem. Během ochrany před oxidačním stresem může prolin reagovat s H_2O_2 a $OH\cdot$ a vytvářet stabilní radikálové adukty prolinu a deriváty hydroxyprolinu. Další ochranný mechanismus prolinu probíhá na způsobu chelatace kovů, kdy dochází k vytvoření komplexů prolin-kov, který chrání enzymy před jejich možnou inhibicí (Liang *et al.* 2013).

V rostlinách probíhá biosyntéza prolinu dvěma cestami, a to glutamátovou a ornitinovou cestou (Obrázek 4) (Trovato *et al.* 2008). Za normálních podmínek probíhá tvorba v cytosolu, avšak během stresových podmínek může být produkce možná i v chloroplastech. V glutamátové dráze začíná syntéza prolinu fosforylací glutamátu na glutamyl fosfát. Ten je redukován enzymem pyrrollin-5-karboxylát syntetázou na glutamát-5-semialdehyd, který se cyklizuje na pyrrollin-5-karboxylát. Tento meziprodukt je v závěru redukován pyrrollin-5-karboxylát reduktázou na konečný prolin. Při ornitinovém cyklu se ornitinin transaminuje prostřednictvím ornitin-aminotransferézy na glutamát-5-semialdehyd, který se přes meziprodukt pyrrollin-5-karboxylát přeměňuje na prolin. V opačném případě probíhá v mitochondriích katabolismus prolinu, který je katalyzován enzymy prolin dehydrogenázou a pyrrollin-5-karboxylát dehydrogenázou. Tento děj vede k tvorbě výchozího produktu glutationu (Per *et al.* 2017, Singh *et al.* 2022).



Obrázek 4: Biosyntéza prolinu (upraveno dle Pet *et al.* 2017)

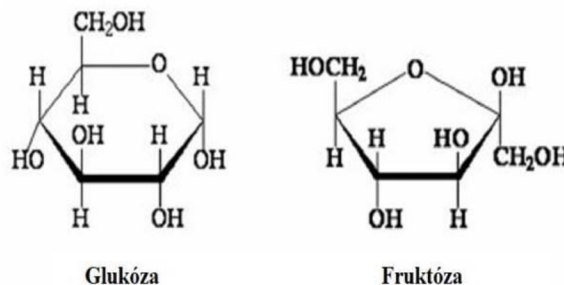
P5CDH - pyrollin-5-karboxylát dehydrogenáza, P5CR - pyrollin-5-karboxylát reduktáza, P5CS - pyrollin-5-karboxylát syntetáza, PDH - prolin dehydrogenáza, GK - glutamyl kináza, GPR - glutamyl fosfát reduktáza

1.2.4.2 Sacharidy

Rostliny, které jsou autotrofními organismy, fungují jako producenti ale i jako spotřebitelé uhlohydrátových molekul. Prostřednictvím fotosyntézy jsou sacharidy primárními sloučeninami akumulující energii a jsou základními organickými látkami, ze kterých se syntetizují další organické látky rostlin. Sacharidy jsou rovněž hlavními složkami buněčných stěn a jsou výchozím bodem pro syntézu tuků a proteinů (Bhattacharya a Kundu 2020, Pallardy 2008). Celá řada sacharidů slouží jako významné regulátory reakcí na abiotický stres (Bhattacharya a Kundu 2020). Rozpustné sacharidy jsou důležité součásti signální cesty, která je propojena se stresovými dráhami, které tvoří komplexní síť a kontrolují metabolické reakce rostlin. Sacharidy mohou při stresu působit jako negativní signály nebo modifikují buňku k vyvolání signálů reakce na stres a zvyšují tak odolnost rostlin vůči stresu (Yang *et al.* 2019).

Základními stavebními prvky sacharidů jsou uhlík, vodík a kyslík. Mnoho sacharidů obsahuje i další prvky jako např. fosfor nebo dusík. Sacharidy lze rozdělit do tří hlavních skupin, kterými jsou monosacharidy, oligosacharidy a polysacharidy (Pallardy 2008).

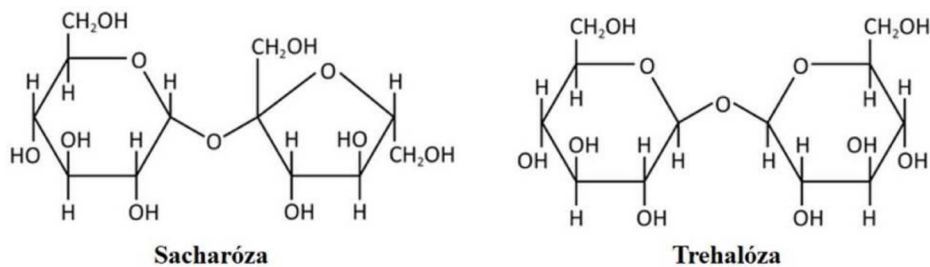
Monosacharidy jsou označovány za jednoduché cukry. Jedná se o základní sacharidové jednotky, ze kterých vznikají složitější sloučeniny. Monosacharidy se skládají z atomů uhlíku, ke kterým jsou připojeny atomy vodíku, aldehyd nebo keton a alespoň jedna hydroxylová skupina. Počet atomů uhlíku se pohybuje od tří do osmi, přičemž nejběžněji se vyskytují monosacharidy s pěti (např. pentózy) nebo šesti (např. hexózy) atomy uhlíku. V dřevinách se vyskytují v nižším množství kvůli jejich rychlému zabudování do polysacharidů. Pentózy se zřídka kdy vyskytují volně ale jsou často přítomny jako části polymerů buněčné stěny. Do skupiny monosacharidů spadá glukóza, fruktóza, ribóza, deoxyribóza, galaktóza nebo manóza (Obrázek 5) (Pallardy 2008).



Obrázek 5: Glukóza a fruktóza (převzato od Charrez *et al.* 2015)

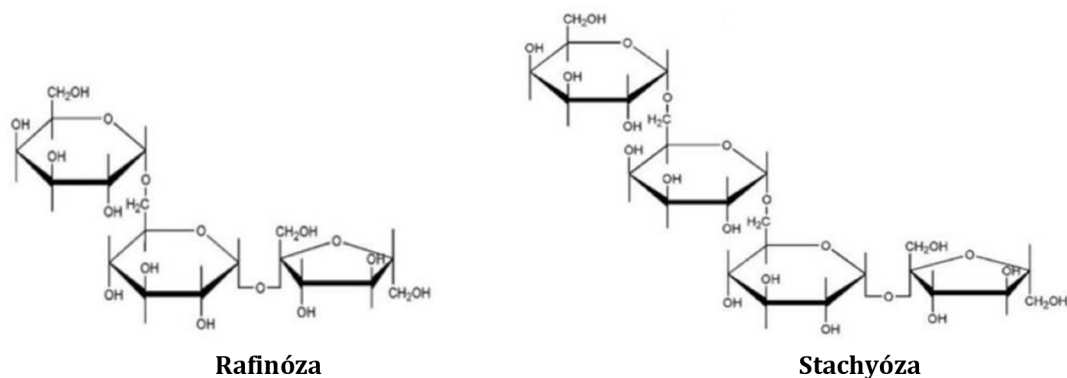
Oligosacharidy se skládají ze dvou nebo více molekul monosacharidů, které jsou spojeny prostřednictvím glykosidické vazby (Pallardy 2008, Fry *et al.* 1993). Mezi hlavní oligosacharidy se zahrnují disacharidy (sacharóza, maltóza, trehalóza), trisacharidy (rafinóza, melezitóza) a tetrasacharidy (stachyóza) (Pallardy 2008). Sacharóza (Obrázek 6) je neredukující disacharid, který je jedním z hlavních transportních a zásobních sacharidů v rostlinách. Sacharóza je považovaná za nejdůležitější oligosacharid v rostlinách kvůli vysoké koncentraci v buňce, široké distribuci a metabolickému významu. Spolu se škrobem se řadí mezi hlavní rezervní sacharidy (Pallardy 2008). Syntéza probíhá převážně v cytosolu z fotosynteticky fixovaných triózových fosfátů. Alternativně může sacharóza vznikat degradací škrobu nebo reverzibilní reakcí mezi NDP-glukózou a fruktózou. Po syntéze je sacharóza symplasticky nebo apoplasticky translokovaná do floémových buněk, kde může být uložena nebo je hydrolyzována na glukózu a fruktózu. Při stresových podmínkách se uplatňuje jako osmoregulační molekula,

kteřá zabraňuje dehydrataci a udržuje tlak turgoru (Bhattacharya a Kundu 2020, Gangola a Ramadoss 2018). Trehalóza (Obrázek 6) je jeden z nejstabilnějších neredukujících disacharidů. Podobně jako sacharóza je zásobním sacharidem, který poskytuje ochranu proti abiotickému stresu. V rostlinách se syntetizuje ve dvou po sobě následujících reakcích. UDP- glukóza a glukóza-6-fosfát spolu reagují v reakci katalyzované enzymem trehalóza-6-fosfát syntáza. Dochází ke vzniku trehalóza-6-fosfátu, který se defosforyluje na konečnou trehalózu. První reakce syntézy probíhá v cytosolu, zatímco reakce druhá se odehrává v chloroplastu, kde se trehalóza váže na membránu (Bhattacharya a Kundu 2020, Gangola a Ramadoss 2018).



Obrázek 6: Sacharóza a trehalóza (převzato od Singh 2018)

Sacharidy rafinóзовé řady patří mezi neredukující oligosacharidy, do které řadíme rafinózu, stachyózu, verbaskózu a ajugózu (Obrázek 7). Představují galaktosylové deriváty sacharózy a po sacharóze jsou druhými nejhojnějšími rozpustnými cukry (Bhattacharya a Kundu 2020, Gangola a Ramadoss 2018). Prekurzorová molekula pro biosyntézu rafinóзовé řady je UDP-glukóza, která je katalyzovaná různými enzymy, jako například galaktinol syntáza, rafinóza syntáza, stachyóza syntáza atd. Galaktinol syntáza indukuje syntézu galaktinolu, který je klíčovou molekulou v syntéze rafinóz. Následně rafinóza syntáza přenáší galaktózový zbytek galaktinolu na sacharózu, která katalyzuje syntézu rafinóz. Rafinózy se podílejí na ochraně buněčné integrity, působí jako signály ke zprostředkování stresových reakcí, slouží jako fotosyntetické transportéry a účastní se membránového transportu (Bhattacharya a Kundu 2020, Suprasanna *et al.* 2015).



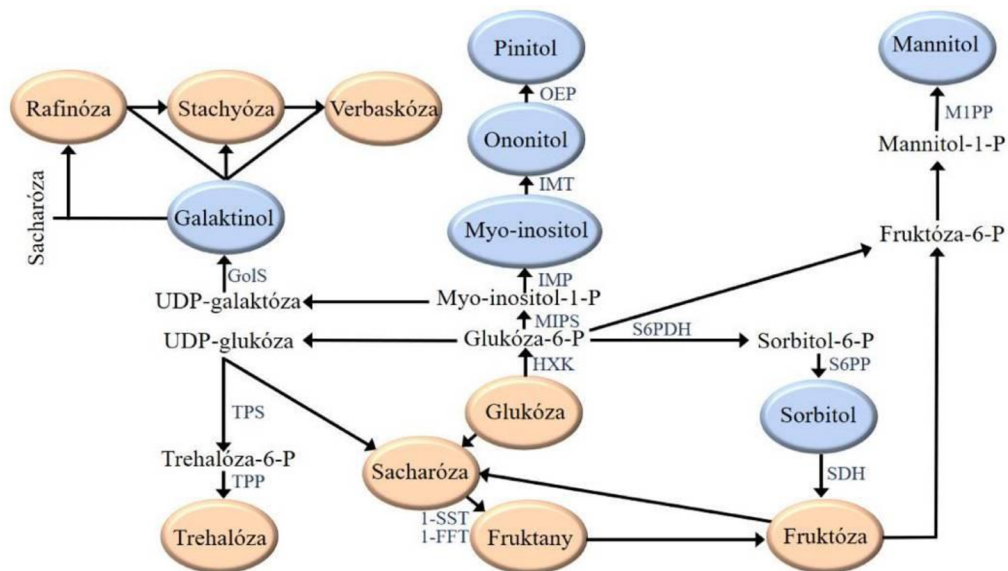
Obrázek 7: Rafinóza a stachyóza (převzato od Meyer *et al.* 2015)

Fruktany jsou ve vodě rozpustné polymery fruktózy a představují jeden z hlavních rezervních uhlohydrátů. Na základě glukózy a glykosidické vazby se fruktany rozdělují do pěti kategorií, kterými jsou inuliny, levany, graminany, neo-inuliny a neo-levany. Akumulace fruktanů probíhá ve vakuolách nebo vezikulech. Syntéza se uskutečňuje prostřednictvím spolupráce enzymů fruktosyl transferáz, které přenášejí jednotky fruktózy z molekul sacharózy a katalyzují tvorbu fruktanů (Bhattacharya a Kundu 2020, Gangola a Ramadoss 2018).

Polysacharidy jsou polymery obsahující více jak 20 monosacharidových jednotek. Jsou strukturálními složkami buněčných stěn, zásobárnou energie a uhlíku a plní jakožto extracelulární materiál řadu dalších funkcí u rostlin. V dřevinách jsou nejvýznamnějšími polysacharidy celulóza a škrob. Celulóza je významnou složkou buněčných stěn. Celulózové řetězce se seskupují do tzv. mikrofibril, díky kterým má buněčná stěna vysokou pevnost v tahu. Škrob je nejhojnějším rezervním sacharidem dřevin, který vzniká kondenzací stovek molekul glukózy. Skládá se ze dvou složek, a to z amylopektinu a amylozy. V rostlinách se hromadí ve formě tzv. škrobových zrn, která se často vyskytují v živých buňkách (Pallardy 2008).

V rostlinách mnohé sacharidy procházejí neustálou přeměnou z jedné formy na jinou. Nebo se mění na sloučeniny významné pro dýchání či syntézu tuků a bílkovin. Prvním krokem v transformaci sacharidů je fosforylace. Jedná se o aktivační proces, při kterém dochází k reakci monosacharidu s ATP za vzniku fosfátových esterů a ADP. Během transformace se sacharidy nepřetvářejí pouze na jiné sacharidy ale i na alkoholy. Příkladem je např. tvorba sorbitolu a mannitolu, kteří vznikají z glukózy a manózy (Pallardy 2008).

Koncentrace rozpustných sacharidů v listech jsou vysoce regulovány rovnováhou mezi jejich syntézou, degradací a exportem (Obrázek 8). Sacharóza je hlavním rozpustným produktem fotosyntézy u většiny rostlin. Je syntetizovaná v zelených listech a následně transportovaná na místo spotřeby do okolitých pletiv. Jedním z klíčových enzymů pro syntézu sacharózy je sacharóza-fosfát syntáza. Sacharózu lze přeměnit na fruktózu a glukózu, které jsou pak fosforylovány na fruktózu-6-fosfát a glukózu-6-fosfát. Vzájemné konverze mezi fruktózou-6-fosfát a glukózou-6-fosfát jsou enzymaticky katalyzovány ve snadno reverzibilních reakcích. Glukóza, fruktóza a další rozpustné cukry, které nebyly metabolizovány, jsou speciálními transportními proteiny translokovány do vakuol. Systém metabolismu sacharidů v buňkách reguluje jejich koncentrace a udržuje rovnováhu osmotického potenciálu a turgoru (Yang *et al.* 2019).



Obrázek 8: Biosyntéza cukrů a cukerných alkoholů (upraveno dle Bhattacharya a Kundu 2020)

1-FFT – fruktan 1-fruktosyl transferáza, 1-SST – sacharóza 1-fruktosyl transferáza, GolS – galaktinol syntáza, HXK – hexokináza, IMP – myo-inositol mono fosfatáza, IMT – inositol-o-methyl transferáza, M1PP – mannitol-1-fosfát fosfatáza, MIPS – myo-inositol-1-fosfát syntáza, OEP – ononitol epimeráza, S6PDH – sorbitol-6fosfát dehydrogenáza, S6PP – sorbitol-6-fosfát fosfatáza, SDH – sorbitol dehydrogenáza, TPP – trehalóza-6-fosfát fosfatáza, TPS – trehalóza-6-fosfát syntáza, UDP – uridin difosfát

Akumulování sacharidů je pro rostliny během růstu nezbytností. Uložené sacharidy zastupují významnou roli v metabolismu, růstu, obraně a navození mrazuvzdornosti. Zásoby sacharidů se hromadí z velké části v parenchymatických buňkách různých pletiv orgánů a ve vodivých elementech. Typy a množství sacharidů je v každé části dřeviny odlišné a jejich obsah se sezoně mění (Pallardy 2008).

Sacharidy plní významnou roli osmoprotektantů v rostlinách. Jakožto osmoregulační látky udržují buněčný turgor pod působícím osmotickým stresem. Regulace koncentrací rozpustných sacharidů v rostlinných buňkách je důležitou cestou adaptace rostlin vůči deficitu vody (Yang *et al.* 2019). Hydroxylové skupiny cukrů mohou nahradit molekuly vody pro udržení hydrofilních interakcí v buňkách, což je důležité pro stabilizaci makromolekul a membránových struktur během dehydratace. Dalším mechanismem tolerance k vysychání je tzv. vitrifikace, během níž se struktura buněčného roztoku mění na vysoce viskózní (Gangola a Ramadoss 2018).

Sacharidy mohou zastávat rovněž roli neenzymatických antioxidantů, které se uplatňují při obraně během oxidačního stresu. Disacharidy (sacharóza, trehalóza) a sacharidy rafinózové řady mají schopnost zhášet volné radikály v chloroplastech, vakuole i cytoplazmě. Předpokládá se, že fruktany chrání vakuolární tonoplast před lipidickou peroxidací způsobenou H_2O_2 , zatímco v chloroplastech hrají významnou roli sacharidy rafinózové řady. Ve všeobecnosti ROS atakují primárně OH-C-H vazbu, proto sacharidy s vyšším počtem hydroxylových skupin mají lepší zhášecí kapacitu (Keunen *et al.* 2013, Pashev *et al.* 2013). Monosacharidy ovlivňují antioxidační vlastnosti buněk nepřímým způsobem. V prvním případě se chovají jako sekundární posilové indukce exprese nebo aktivity jiných antioxidantů. V druhém případě napomáhají prostřednictvím svých polymerů. Běžné disacharidy (sacharóza, trehalóza, maltóza) vykazují významný účinek na zhášení volných radikálů a ukázalo se, že jsou aktivnější vůči hydroxylovým radikálům. Fruktany mají v porovnání s disacharidy lepší schopnost vychytávání ROS a předpokládá se jejich napojení na cytoplazmatickou antioxidační síť (Gangola a Ramadoss 2018).

1.2.4.3 Cukerné alkoholy

Cukerné alkoholy, neboli polyoly, jsou aldózové nebo ketózové sacharidy, které jsou redukovány na příslušné hydroxylové zbytky (Bhattacharya a Kundu 2020). Cukerné alkoholy úzce souvisí s primárním metabolismem a jejich role jsou obdobné s cukry. U některých druhů představují cukerné alkoholy translokované fotosyntetické produkty, které slouží jako zdroje uhlíku a energie (Pleyerová *et al.* 2022).

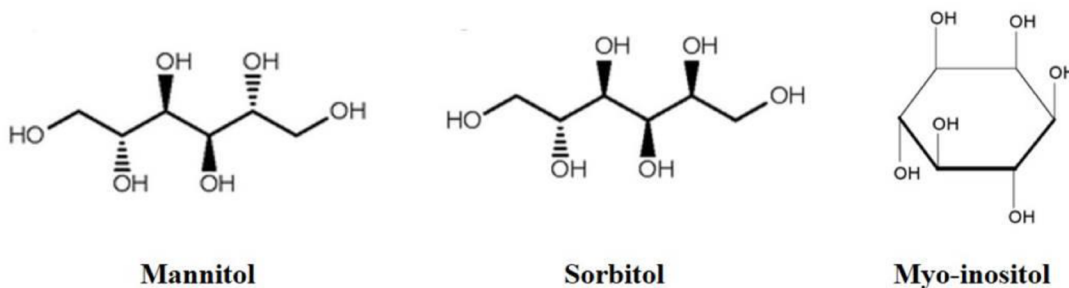
Cukerné alkoholy se podílí na ochraně makromolekul během oxidačního stresu a osmotických změn. Jako osmolyty mohou mít významnou funkci v osmotické regulaci díky své malé molekulové velikosti a povaze kompatibilních solutů. Díky tomu nemohou při vysokých koncentracích negativně ovlivnit strukturu makromolekul a mohou se podílet na úpravě vodního potenciálu a odstraňování škodlivých látek z cytoplazmy. Ty mohou rovněž sloužit k vychytávání ROS a tak se podílet na zmírňování oxidačního poškození (Bhattacharya a Kundu 2020, Pleyerová *et al.* 2022, Suprasanna *et al.* 2015).

Mannitol (Obrázek 9) je stabilní a ve vodě dobře rozpustný cukerný alkohol, který je strukturně podobný manóze (Bhattacharya a Kundu 2020, Chen *et al.* 2020b). Funkcemi mannitolu je osmoregulace, vychytávání ROS vzniklých během stresových podmínek a ukládání redukční energie. Představuje zásobárnu uhlíku a funguje jako hlavní translokovaný sacharid v případě vyčerpání sacharózy (Bhattacharya a Kundu 2020).

Sorbitol (Obrázek 9) je široce rozšířený šestiuhlíkový cukerný alkohol, který je redukovanou formou glukózy. Je syntetizován jako fotosyntetický asimilát ve zralých listech společně se sacharózou, která je translokovaná floémem. Sorbitol představuje hlavní formu fotosynteticky fixovaného uhlíku, zejména u čeledí Rosaceae a Plantaginaceae. Při nedostatku vody se podílí na osmotické úpravě a ochraně makromolekul. Během oxidačního stresu sorbitol vychytává ROS a snižuje riziko jejich tvorby (Bhattacharya a Kundu 2020, Pleyerová *et al.* 2022).

Inositoly jsou skupinou esenciálních cyklohexitolů, ze kterých je nejběžnější formou myo-inositol (Obrázek 9). Tato skupina cukerných alkoholů je funkčně

nezbytná pro normální růst a vývoj, podílí se na membránové biosyntéze a přenosu signálů (Bhattacharya a Kundu 2020).



Obrázek 9: Mannitol, sorbitol a myo-inositol (převzato z: Ábrahám et al. 2010, Jung et al. 2005)

1.2.5 Rostlinné hormony v podmínkách sucha

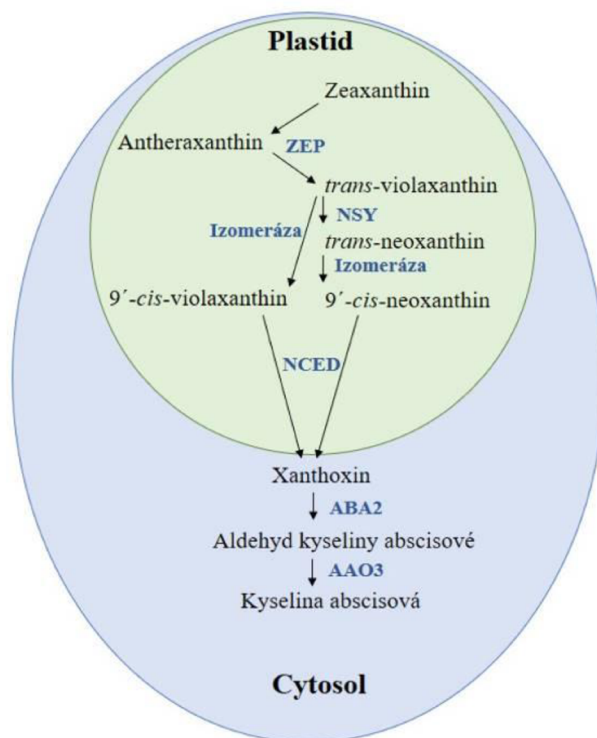
Fytohormony jsou rovněž nepostradatelnými sloučeninami rostlin během vodního stresu. Příkladem fytohormonů, které mají významnou funkci během stresu ze sucha, jsou kyselina abscisová a etylén (Farooq et al. 2012).

1.2.5.1 Kyselina abscisová

Kyselina abscisová (ABA) je rostlinný hormon, který zastupuje důležitou roli během mnoha fází životního cyklu rostliny. Významně se podílí na reakcích rostlin na abiotické stresy, a proto se označuje za stresový, inhibiční hormon. S rostoucím osmotickým stresem se zvyšuje hladina ABA, která slouží jako regulátor reakce rostlin na stres a toleranci. ABA je významná díky svým reakcím, které umožňují rostlinám se přizpůsobit na sucho (Aslam et al. 2022).

Biosyntéza ABA (Obrázek 10) probíhá prostřednictvím karotenoidové dráhy, označované jako nepřímá cesta (Chen et al. 2020a). První krok syntézy se odehrává v plastidech, kde zeaxanthin epoxidáza katalyzuje přeměnu zeaxanthinu na *trans*-violaxanthin přes antheraxanthin. Tato dráha je poté rozdělena na dvě další části. První z nich vyžaduje gen ABA4, který kóduje neoxanthin syntázu a neznámou izomerázu ke konverzi *trans*-violaxanthinu přes *trans*-neoxanthin na konečný 9'-*cis*-neoxanthin. Může však proběhnout i druhá možná cesta syntézy, při které neznámá izomeráza katalyzuje *trans*-violaxanthin přímo na 9'-*cis*-violaxanthin. Následně jsou 9'-*cis*-neoxanthin a 9'-*cis*-violaxanthin

oxidačně štěpeny enzymem 9-*cis*-epoxykarotenoid dioxygenáza (NCED) za vzniku xanthoxinu. Ten je z plastidu translokován do cytoplazmy, kde je enzymatickým působením přeměněn na aldehyd kyseliny abscisové. V posledním kroku je aldehyd převeden prostřednictvím ABA aldehyd oxidázy na kyselinu abscisovou (Ali *et al.* 2020, Chen *et al.* 2020a).

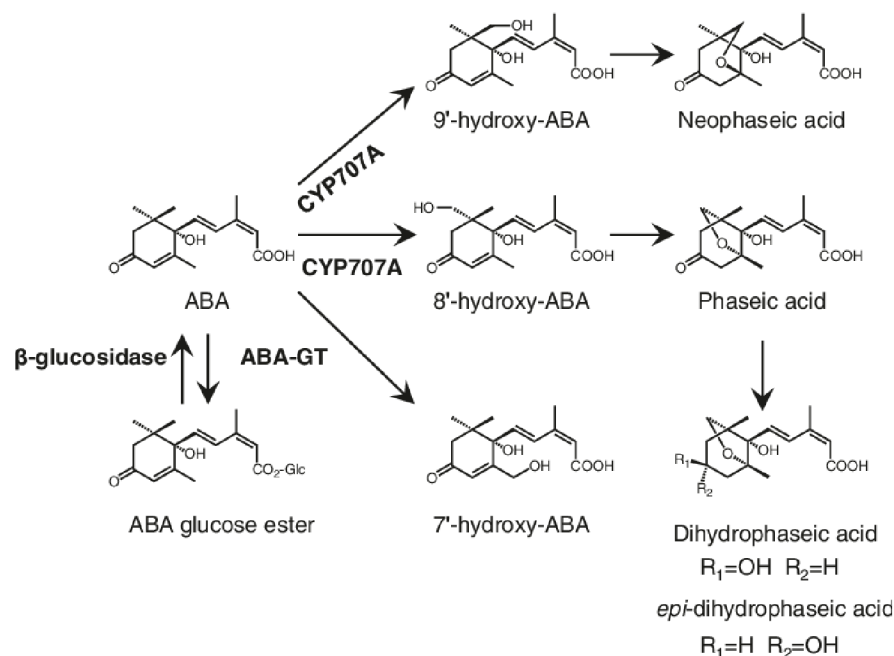


Obrázek 10: Biosyntéza kyseliny abscisové (upraveno dle Chen *et al.* 2020a)

AAO3 – abscisový aldehyd oxidáza3, ABA2 – protein xanthoxin dehydrogenázy, NCED – 9-*cis*-epoxykarotenoid dioxygenáza, NSY – neoxanthin syntáza, ZEP – zeaxanthin epoxidáza

Koncentrace ABA v rostlinných pletivech je dynamicky udržována protichůdnými silami syntézy, transportu a katabolismu na inaktivní produkty (Wang *et al.* 2002). Na rozdíl od biosyntézy může být ABA katabolizovaná několika cestami (Obrázek 11). Obvykle se katabolismus rozděluje do dvou typů reakcí, kterými jsou hydroxylace a konjugace. Klíčovým krokem je ABA 8'-hydroxylace, která pravděpodobně probíhá v endoplazmatickém retikulu. Hydroxylace na C-8' ABA je katalyzována cytochromem P-450. Vzniklá nestabilní 8'-hydroxy-ABA je spontánně izomerizována na kyselinu fázovou. Ta se dále metabolizuje na kyselinu dihydrofázovou či kyselinu *epi*-dihydrofázovou, které nemají téměř žádnou biologickou aktivitu. Kromě ABA 8'-hydroxylací dráhy je ABA taktéž

hydroxylována na C-7' a C-9', ze kterých vzniká 7'- a 9'-hydroxy ABA. Tyto hydroxylované katabolity mají podstatnou biologickou aktivitu. Nestabilní 9'-hydroxy ABA je dále spontánně izomerizovaná na kyselinu neofázovou. Všechny vzniklé katabolity jsou následně konjugovány s glukózou. Mezi několika konjugovanými katabolity je nejrozšířenější ABA glukosyl ester (ABA-GE). Předpokládá se, že se jedná o neaktivní zásobu ABA, která se hromadí ve vakuolách nebo v apoplastu. β -glukosidáza hydrolyzuje ABA-GE za vzniku aktivní ABA. ABA-GE se rovněž považuje za skladovací nebo dálkově transportní formu ABA, jež funguje jako mobilní stresový signál z kořenů do výhonků rostlin (Endo *et al.* 2014).



Obrázek 11: Katabolismus ABA (převzato z Endo *et al.* 2014)

S nástupem vodního stresu se ABA syntetizuje v kořenovém systému, odkud je prostřednictvím xylému a floému transportována do nadzemních částí rostliny. ABA se v rostlinách přirozeně vyskytuje jak v aniontové, tak protonované formě. Disociovaná aniontová forma se hromadí v alkalických kompartmentech a může být redistribuována podle strmosti pH gradientu přes membránu (Kalra a Bhatla 2018). Protonovaná forma může pasivně difundovat přes plazmatickou membránu

do buněk mezofylu. Difúze ABA do značné míry klesá s alkalizací cytoplazmy, která se zvyšuje během osmotického stresu (Chen *et al.* 2020a).

Rostliny ztrácejí vodu především během transpirace, kdy dochází k výměně plynů přes průduchy na listech. ABA je klíčový hormon, který reguluje stav vody a pohyby průduchů. Během sucha rostliny produkují v listech zvýšené množství ABA, která je základním mediátorem při spuštění obranných reakcí rostlin. Tlak turgoru svěrací buňky je klíčovým parametrem regulujícím otevírání a uzavírání průduchů. To je zprostředkováno iontovými toky prostřednictvím kationtových a aniontových kanálů, které jsou ukotveny v membráně svěrací buňky. V podmínkách abiotického stresu má ABA roli chemického posla, který indukuje uzavření průduchů prostřednictvím aktivace a inaktivace iontových kanálů proteinkinázami a fosfatázami. Primární funkcí uzavření je zabránění ztráty vody, a tím následné navození tolerance vůči suchu v podmínkách osmotického stresu (Lim *et al.* 2015). V momentě, kdy je obnoven vodní potenciál, se pohyb ABA do svěracích buněk zastaví a průduchy se opět otevřou (Kalra a Bhatla 2018, Lim *et al.* 2015).

Vysoké hladiny ABA inhibují utváření kořenů, zatímco nízké koncentrace jej stimulují. Nízký obsah ABA podporuje primární vývoj kořenů, zvyšuje aktivitu kmenových buněk a potlačuje diferenciaci meristemických a dceřiných buněk v kořenovém meristému. Nízká koncentrace ABA pozitivně moduluje signalizaci a transport auxinů, které stimulují růst kořenu. Boční kořeny jsou citlivější vůči ABA nežli kořeny primární. Z toho důvodu má ABA silnější vliv na laterální prodlužování kořenů (Ali *et al.* 2020).

ABA zasahuje také do vývoje semen, který probíhá ve třech samostatných fázích. Během druhé a třetí fáze navozuje ABA u semen toleranci k vysychání, které může poškodit membrány a další buněčné složky. Během vývoje se aktivují metabolické procesy, které přispívají k získání tolerance k vysychání. Významnou složkou těchto metabolických drah jsou LEA proteiny, jejichž akumulace je ovlivněna ABA. Tyto proteiny mají schopnost tvořit vodíkové vazby se sacharózou a tak zvyšovat odolnost k vysychání (Kalra a Bhatla 2018).

1.3 Ovocnářství v České republice

Díky mnoha archeologickým objevům bylo prokázáno, že ovoce doprovází člověka od počátku jeho existence. Zprvu lidé pouze příležitostně plody sbírali, avšak později se je naučili pěstovat a šlechtit. Většina u nás pěstovaného ovoce pochází z evropského a asijského mírného pásma. Nejstarší písemné zmínky o ovoci v Čechách lze nalézt v různých záznamech klášterních zahrad či malbách. Podrobnější dokumenty pak pochází z římské doby. V období vlády Karla IV. došlo k rozvoji ovocnářství, kdy byla velká podpora pěstování ovocných rostlin. To se však s nástupem husitských válek změnilo a míra ovocnářství poklesla. K opětovnému rozkvětu došlo za vlády Rudolfa II. Průběh třicetileté války měl však na ovocnářství a celkově na zemědělství negativní dopad. K novému vývoji ovocnářství došlo až koncem 17. a v průběhu 18. století, kdy se začínaly zlepšovat techniky pěstování. Bitva na Bílé hoře v roce 1620 donutila lidi k emigraci. Ti si do zahraničí s sebou brali i své oblíbené odrůdy ovoce. Z toho důvodu se např. původní odrůdy jablek dostaly do Německa a dalších evropských zemí. V období mezi světovými válkami neexistovala žádná šlechtitelská organizace kontrolovaná státem, a tak se šlechtění ovocných stromů neslo především mezi soukromými osobami a soukromými zahradnickými společnostmi. Toto období tak přineslo celou řadu nových ovocných odrůd jako např. 'Allthanova renkoláda', 'Hammanova švestka' či odrůda jabloně 'Sudetská renta'. V roce 1924 byla založena Československá akademie zemědělská, která se začala podílet na rozvoji ovocnářství. Poválečná situace po roce 1945 a následující politické události roku 1948 výrazně negativně zasáhly do zemědělství (Salaš a Lužný 2004). Došlo k plošnému znárodnění a vzniku zemědělských subjektů (Moudrý *et al.* 2019). V roce 1951 došlo k reorganizaci zemědělského výzkumu a vytvořily se státní specializované ústavy jako např. Výzkumný ústav ovocnářský v Holovousích (Salaš a Lužný 2004). Tyto změny měly negativní dopad na strukturu zemědělské krajiny, kdy prakticky zanikla tradice rodinných farem hospodařících na menších výměrách a zmizela tak síť drobných zpracovatelských kapacit. Rok 1989 byl však pro zemědělství zlomem, kdy se část zemědělské půdy navrátila původním vlastníkům a začala obnova tradičního hospodaření na rodinných farmách. Většina zemědělské půdy však i nadále zůstala pod velkými zemědělskými subjekty. Po roce 1990 se výrazně zhoršila ochrana půdy. Došlo k úbytku orné půdy

z důvodů intenzivní výstavby nových průmyslových a skladových areálů a bytové výstavby (Moudrý *et al.* 2019).

Podle evidence katastru nemovitostí zabírá zemědělská půda zhruba 53,4 % rozlohy České republiky. Zemědělská půda je zhruba z 70,9 % tvořena ornou půdou. Zbývající procenta zaujímají trvalé travní porosty (zhruba 27,8 %), chmelnice (0,16 %), vinice (0,49 %), zahrady (0,02 %), ovocné sady (0,49 %) a ostatní trvalé kultury (0,13 %) (Moudrý *et al.* 2019).

Celková výměra ovocných sadů v České republice v roce 2022 poklesla a podle ČSÚ dosahuje 15 419 ha, což je oproti roku 2021 o 580 ha méně. Z ovocných sadů mají nejvyšší výměru produkční sady a to 11 437 ha. Od roku 2015 je pozorována značná redukce výměry ovocných sadů. Důvodem klučení je špatná ekonomická situace ovocnářství v České republice za poslední roky, kdy rentabilita pěstování ovoce více klesá (Němcová a Buchtová 2022).

Zima 2021/2022 byla teplotně normální a srážkově nadnormální. Vlna mrazů, která zasáhla celou Evropu v průběhu jarních měsíců způsobila značné škody na peckovinách, a to především v jihozápadní části Evropy. Během dubna a května nastaly chladové epizody, které se negativně projeví na úrodě višní, na nižším počtu plodů u hrušní a specificky byly poškozeny některé druhy meruněk. Zprvu pomalejší vývoj vegetace byl u většiny druhů ovocných dřevin akcelerován v letních měsících s nástupem vysokých teplot a výrazných dešťových srážek. V zemích západní Evropy bylo léto považováno za jedno z nejsušších v posledních 500 letech. Avšak v České republice díky výraznému ochlazení v první části července a s alespoň ojedinělými srážkami bylo léto celkem příznivé v porovnání s extrémem v jiných zemích Evropy (Němcová a Buchtová 2022).

Podle potvrzených výsledků roční sumarizace sklizně ovoce prováděnou Ústředním kontrolním a zkušebním ústavem zemědělským, byla díky příznivému počasí v druhé polovině roku 2022 vyšší sklizeň jaderovin. V případě peckovin byla zaznamenána nejnižší úroda u broskví, na kterých se negativně projevilo sucho v průběhu letních měsíců. V případě jabloní činila skutečná sklizeň přibližně 138 150 tun. V produkčních jabloňových sadech byla nejvíce pěstovaná odrůda 'Golden Delicious', druhá nejčastější byla odrůda Idared a třetí byla Jonagold. V množství

sklizených plodů vévodily opět odrůdy 'Golden Delicious', před skupinou 'Jonagold' a na třetím místě se umístila odrůda 'Gala'. V roce 2022 se část produkce jablek nesklidila z důvodu vysoké ceny energie nutné pro chlazení skladované produkce a velmi nízké velkoobchodní ceny jablek na evropském trhu. Úroda hrušní díky pěstitelsky příznivému podzimu činila 7404 tun. Nejvíce pěstovanými odrůdami hrušní byly 'Konference' a 'Lucasova'. Z peckovin se nejvíce sklídilo švestek a to konkrétně 10 343 tun. Významná část produkce švestek však byla poškozena krupobitím. Relativně dobrá byla i sklizeň meruněk. Dlouhodobé chladné počasí dubna se negativně projevilo na některých odrůdách meruněk a celková úroda tak činila 1 704 tun. Nejhůře z peckovin dopadly broskve, kterých se sklídilo okolo 1 302 tun. Třešně z důvodu velké násady a letního sucha na mnoha lokalitách nedosahovaly požadovaného tržního kalibru. Část jejich produkce byla taktéž poškozena červnovými dešti a následným popraskáním plodů. Celková sklizeň třešní byla za rok 2022 1484 tun. U višňi bylo důvodem poklesu sklizně chladové poškození a jejich celková úroda činila 4517 tun (ÚKZÚZ 2023).

2 Praktická část

2.1 Materiál a metodiky

2.1.1 Ovocné dřeviny

Pro stanovení a analýzu osmoticky aktivních látek (prolinu, sacharidů) a rostlinného hormonu kyseliny abscisové bylo vybráno šest genotypů od dvou druhu ovocných dřevin, konkrétně třešně a meruňky. Rostlinný materiál poskytl Výzkumný a šlechtitelský ústav ovocnářský v Holovousích, v jehož sadech probíhaly odběry. Ve stanovených termínech, které byly významné z hlediska fenofází ovocných dřevin, proběhl odběr rostlinného materiálu, konkrétně se jednalo o listy. Vzorky se v průběhu transportu uchovávaly na ledu a do doby analýz uchovávaly při -20 °C.

Charakteristiky vybrané genotypů

Třešně

‘Amid’

Třešeň ‘Amid’ byla vyšlechtěna ve VŠÚO Holovousy. Jedná se o cizosprašnou odrůdu, která vystupuje do plodnosti raně. Chrupka má srdčitý tvar, tmavě červenou barvu a velmi dobrou chuť. Plody jsou odolné k praskání, avšak jsou méně citlivé k moniliové hnilobě. Květy jsou středně odolné vůči mrazu (Suran 2019, VŠÚO 2023).

‘Early Korvik’

Tato třešeň byla vyšlechtěna ve VŠÚO Holovousy. Jedná se o cizosprašnou odrůdu se středně pozdním nástupem kvetení. Její plodnost je velmi raná. Dozrálá chrupka je velkého srdčitého tvaru, tmavě hnědočervené barvy s velmi dobrou chutí. ‘Early Korvik’ má plody odolné k praskání a k moniliové hnilobě. Odrůda je odolná vůči suchu a květy jsou středně citlivé k jarním mrazům (Suran 2019, VŠÚO 2023, Vysloužil 2015).

‘Jacinta’

Odrůda třešně vyšlechtěná ve VŠÚO Holovousy. Plodnost je raná a vysoká. Plodem je velká polochrupka, která má srdčitý tvar a tmavě červenou slupku i dužinu. Chuť je sladce navinulá a velmi dobrá. Jacinta se řadí mezi citlivější odrůdy vůči suchu a mrazu. Je středně odolná k moniliové hnilobě a praskání plodů (Suran 2019).

‘Justyna’

Jedná se o odrůdu vyšlechtěnou ve VŠÚO v Holovousích, jejíž plodnost je raná. Plodem je velká červená chrupka se sladkou aromatickou dužinou o vyšší cukernatosti. Jedná se o odrůdu citlivou vůči suchu. Květy jsou citlivé k jarním mrazům a plody jsou středně odolné k praskání (Suran 2019, VŠÚO 2023).

‘Kordia’

Původně se jednalo o náhodný semenáč, jehož selekce byla dokončena ve VŠÚO Holovousy. V dnešní době se řadí mezi nejpěstovanější odrůdu třešní v České republice. Cizosprašná odrůda disponuje ranou, pravidelnou a vysokou plodností. Plodem je velká chrupka s tuhou červenou dužinou a navinulou sladkou chutí. Plody mají dobrou odolnost k praskání, avšak jsou napadány vrtulí třešňovou. Odrůda je náchylnější k suchu a květy jsou citlivé na pozdní jarní mrazy (Suran 2019, VŠÚO 2023, Vysloužil 2015).

‘Regina’

Jedná se o cizosprašnou odrůdu s ranou, pravidelnou plodností, která byla vyšlechtěna v Německu. V České republice se řadí mezi jednu z nejpěstovanějších odrůd třešní. Plod chrupka je velký s tuhou a tmavě červeně zbarvenou dužinou. Chuť je navinule sladká a velmi dobrá. Jedná se o třešeň odolnou vůči suchu a mrazu (VŠÚO 2023, Vysloužil 2015).

Meruňky

‘Candela’

‘Candela’ je středně raná odrůda meruňky vyšlechtěná v České republice. Dřevina má středně velký plod, který je z bočního pohledu zploštělý. Barva slupky i tuhé dužiny je středně oranžová se středně oranžovo červeným líčkem. Je řazena do odrůd citlivějších vůči suchu a mrazu (Boček 2008).

‘Betinka’

Jedná se o středně ranou odrůdu meruňky, která byla vyšlechtěná v České republice. Plod má střední až velkou velikost a z bočního pohledu je zploštělý. Slupka je oranžové barvy se středně velkým červeným líčkem. Dužina plodu je tuhá a oranžová. Řadí se mezi odolnější odrůdy k suchu a mrazu (Boček 2008).

‘Harcot’

Odrůda původem z Kanady s ranou, velkou a pravidelnou plodností. Plod je středně velký a kulovitý. Slupka má oranžovou barvu a tmavě červené líčko. Tuhá dužina je oranžového zbarvení a chuť má navinule sladkou a aromatickou. Odrůda je středně odolná k houbovým chorobám a vysoce odolná proti šarce švestky. Je citlivější vůči suchu a vyžaduje dostatečně vlhké půdy (VŠÚO 2023, Vysloužil 2015).

‘Harogem’

Meruňka ‘Harogem’ byla vyšlechtěna v Kanadě. Tato odrůda disponuje vysokou a téměř pravidelnou plodností. Plod o střední velikosti má oranžovou slupku se zářivým červeným velkým líčkem. Dužina je tuhá a oranžově zbarvená. Zralé plody mají navinule sladkou a aromatickou chuť. ‘Harogem’ je středně odolná proti houbovým chorobám a vysoce odolná vůči mrazu (VŠÚO 2023, Vysloužil 2015).

‘Leskora’

Jedná se o odrůdu meruňky, která byla vyšlechtěna na Mendlově univerzitě v Brně. ‘Leskora’ je částečně cizosprašná odrůda nastupující raně a pravidelně do plodnosti. Velikost plodu je středně velká. Slupka je oranžová s jasným červeným líčkem a středně tuhá dužina je rovněž oranžové barvy. Chuť je velmi

dobrá a aromatická. Odrůda je odolnější vůči suchu, její květy a pupeny jsou mrazu odolnější a plody jsou středně odolné k monilii a gnomonii (VŠÚO 2023, Vysloužil 2015).

‘Sophinka’

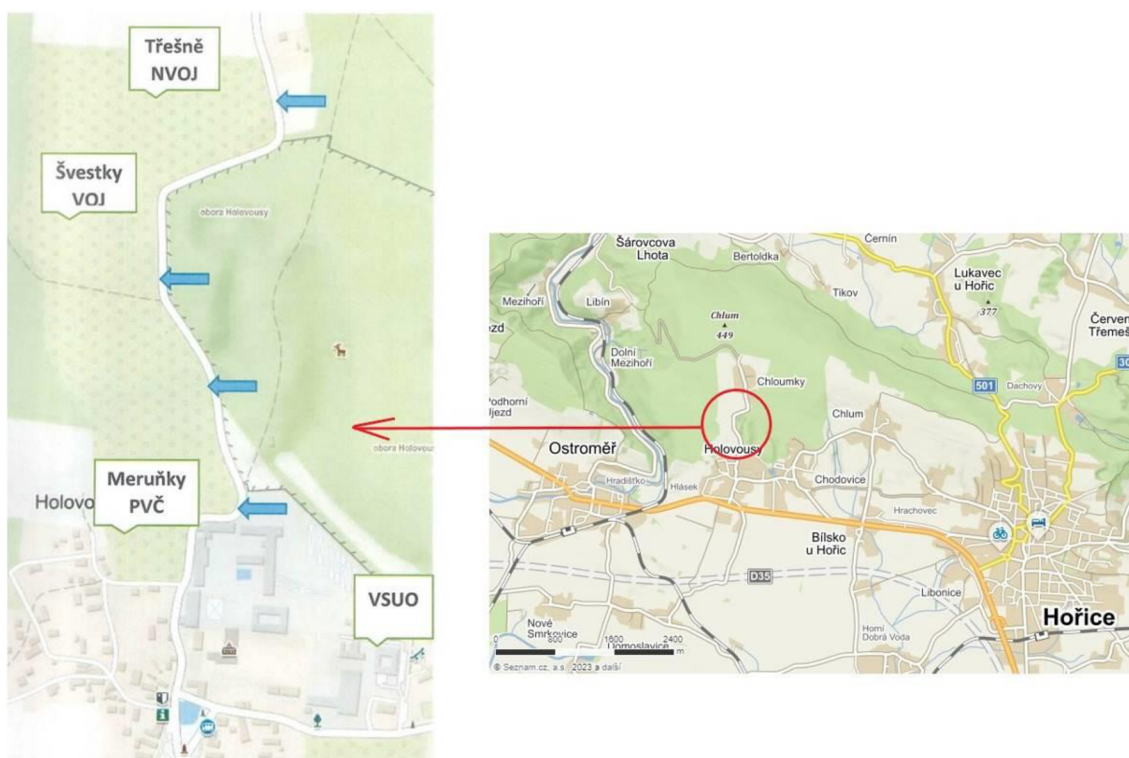
‘Sophinka’ je středně raná odrůda meruňky pocházející z České republiky. Plod je středně velký až velký, z bočního pohledu zploštělý a slabě nesouměrný. Barva slupky je světle oranžová s velkým červeným líčkem. Dužina má středně oranžovou barvu a tuhou konzistenci. Jedná se o citlivější odrůdu k suchu a mrazům (Boček 2008).

2.1.2 Odběr rostlinného materiálu

Odběr rostlinného materiálu probíhal v sadech VŠÚO Holovousy. Vzorky listů se konkrétně sbíraly ze vzrostlých stromů rostoucích v sadech označených PVČ, VOJ a NVOJ (Obrázek 12). Jednotlivé genotypy byly v sadu zastoupeny určitým množstvím jednotlivých stromů. Pro každý vzorek byly zvoleny 3 (třešně) až 10 (meruňky) stromů a z každého stromu pak bylo odebráno 3-5 listů z různých částí koruny stromu (Tabulka 1).

Tabulka 1: Odrůdy a genotypy ovocných dřevin

Kultivar		Genotyp	Sad
Betinka	odolná	Betinka 1, Betinka 2, Betinka 3	PVČ
Candela	senzitivní	Candela 1, Candela 2, Candela 3	PVČ, VOJ
Harcot	senzitivní	Harcot 1, Harcot 2, Harcot 3	CHVČ
Harogem	odolná	Harogem 1, Harogem 2, Harogem 3	PVČ, VOJ
Leskora	odolná	Leskora 1, Leskora 2, Leskora 3	CHVČ
Sophinka	senzitivní	Sophinka 1, Sophinka 2, Sophinka 3	PVČ, VOJ
Amid	odolná	Amid 1, Amid 2, Amid 3	NVOJ
Early Korvik	odolná	E. Korvik 1, E. Korvik 2, E. Korvik 3	NVOJ
Jacinta	senzitivní	Jacinta 1, Jacinta 2, Jacinta 3	NVOJ
Justyna	senzitivní	Justyna 1, Justyna 2, Justyna 3	NVOJ
Kordia	senzitivní	Kordia 1, Kordia 2, Kordia 3	NVOJ
Regina	odolná	Regina 1, Regina 2, Regina 3	NVOJ



Obrázek 12: Umístění sadů (autor Pavol Suran)

Odběr rostlinného materiálu probíhal v určitých stanovených termínech, které byly významné z hlediska fenologické fáze ovocných dřevin. Důležité fáze během sezony byly hodnoceny dle fenologické stupnice BBCH (Biologische Bundesanstalt, Bundessortenamt und Chemische Industrie). Jedná se o systém, který slouží k hodnocení fenologických stádií rostlin. Stupnice BBCH používá dvoumístný číselný kód. První číslice (0-9) vyjadřuje hlavní růstovou fázi a druhá číslice sekundární růstovou fázi (0-9). Hlavní růstové fáze odpovídají hlavním vývojovým stádiím rostliny, kterými jsou klíčení a vývoj vegetativních pupenů (0), vývoj listů (1), tvorba postranních výhonků (2), vývoj výhonků (3), vývoj vegetativních částí rostlin možných ke sklizni či vývoj vegetativně množených orgánů (4), vzházení květenství (5), kvetení (6), vývoj plodů (7), zrání nebo zrání plodů semen (8) a senescence či začátek dormance (9) (Meier *et al.* 2009, Zhao *et al.* 2019). Sekundární růstové fáze jsou na rozdíl od hlavního stádia krátké vývojové kroky, charakteristické pro příslušné rostlinné druhy (Meier *et al.* 2001).

Termínová tabulka s přesným popisem fenofází je uvedena níže (Tabulka 2).
 Ilustrační fotografie z vybraných fenofází jsou znázorněny na obrázcích 13-16.

Tabulka 2: Termíny sběrů

Termín	Třešeň	Meruňka	Popis fenofáze
1	12.05.2022	12.05.2022	stromy plně kvetoucí 50 % květů je otevřených opadávání prvních okvětních lístků
	BBCH 65	BBCH 65	
	všechny odrůdy	všechny odrůdy	
2	25.05.2022	25.05.2022	zvětšování semeníku, opad plodů po odkvětu
	BBCH 71	BBCH 71	
	všechny odrůdy	všechny odrůdy	
3	13.06.2022	13.06.2022	plod dosahuje asi poloviny konečné velikosti
	BBCH 75	BBCH 75	
	všechny odrůdy	všechny odrůdy	
4a	29.06.2022	29.06. 2022	vývoj typické odrůdové barvy
	BBCH 85	BBCH 85	
	všechny odrůdy	Candela, Leskora	
4b	14.07.2022	14.07.2022	vývoj typické odrůdové barvy
	BBCH85	BBCH 85	
	všechny odrůdy	Candela, Leskora	
4c	X	20.07.2022	vývoj typické odrůdové barvy
	BBCH 85	BBCH 85	
	X	Betinka, Harcot, Harogem, Sophinka	
4d	X	12.08. 2022	vývoj typické odrůdové barvy
	BBCH85	BBCH 85	
	X	Betinka, Harcot, Harogem, Sophinka	
6	15.09.2022	15.09.2022	listy se začínají zbarvovat
	BBCH 92	BBCH 92	
	všechny odrůdy	všechny odrůdy	



Obrázek 13: Třešně během 2. termínu sběru. Foto Šárka Lehká



Obrázek 14: Meruňky během 2. termínu sběru. Foto Šárka Lehká



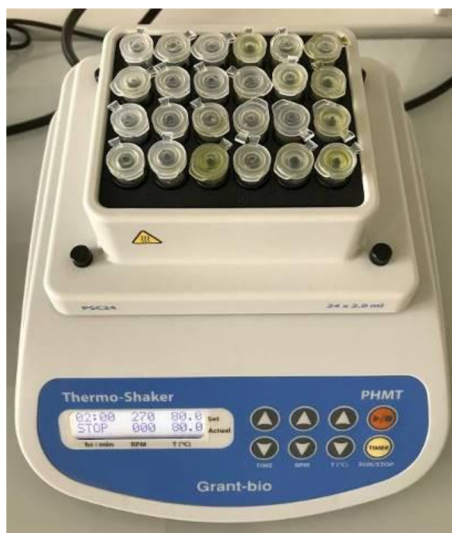
Obrázek 15: Třešně během 4b termínu sběru. Foto Šárka Lehká



Obrázek 16: Meruňky během 4a termínu sběru. Foto Šárka Lehká

2.1.3 Stanovení cukrů a cukerných alkoholů

Analýza vybraných cukrů (glukóza, fruktóza, sacharóza, laktóza, rafinóza a stachyóza) a cukerných alkoholů (glycerol, sorbitol) začínala přípravou vzorku. Ze zmrazeného materiálu se navážilo 0,2 g a v třecí misce se zhomogenizovalo s trochou mořského písku a 2 ml 80% etanolu. Vzniklý homogenát se přenesl do 2 ml mikrozkušavky a po dobu 20 minut se zahříval při 80 °C v termobloku (Thermo-Shaker, Grant-bio) (Obrázek 17). Následně se homogenát 10 minut centrifugoval při 4500 rpm (MPW-55 Microcentrifuge, MPW, Polsko) (Obrázek 18). Vzniklý supernatant se odebral do čisté zkumavky. Pelet se resuspendoval s 0,75 ml 80% etanolu a opět se zahříval po dobu 20 minut při 80 °C. Znovu se ponechal 10 minut centrifugovat při 4500 rpm. Vzniklé supernatanty se následně spojily a pelet se znovu resuspendoval s 0,75 ml 50% etanolu. Vzorek se opět zahříval při 80 °C po dobu 20 minut a poté se 10 minut centrifugoval při 4500 rpm (Carillo a Gibon 2022). Vzniklý supernatant se spojil se směsí předchozích. Ve spojených supernatantech se pomocí HPLC-DAD-RID (Agilent 1260) stanovil obsah jednoduchých cukrů a cukerných alkoholů. Separace probíhala na NH₂ koloně (250 mm x 4,6 mm, 3,0 μm; Arion) využitím isokratické eluce mobilní fáze: směs acetonitrilu a vody v poměru 75:25 s průtokem 1 ml·l⁻¹. Teplota kolony 35 °C, vlnová délka 191 nm. Parametry RID zdroje: teplota 35 °C, pozitivní polarita. Nástřik vzorků byl 20 μl. Všechny použité standardy cukrů na sestavení kalibračních křivek (Příloha 1) byly zakoupeny od firmy Sigma-Aldrich a celkový obsah cukrů se vyjádřil v mg na g čerstvé hmotnosti (č. hm.). Reprezentativní chromatogramy jsou vyobrazeny v příloze 2 a 3.



Obrázek 17: Termoblok se vzorky.

Foto Šárka Lehká



Obrázek 18: Centrifuga se vzorky.

Foto Šárka Lehká

2.1.4 Stanovení obsahu prolinu

Pro stanovení obsahu prolinu se využili supernatanty připraveny pro stanovení sacharidů. Samotná reakční směs pozůstávala z 0,5 ml supernatantu a 1 ml reakčního činidla (kyselý ninhydrin se připravil vždy čerstvý, a to smícháním ninhydrinu, ledové kyseliny octové, etanolu a vody v poměru 1:60:20:20). Vzniklá směs se promíchala a nechala se inkubovat po dobu 20 minut v termobloku při teplotě 95 °C. Následně se zkumavky prudce ochladily ve vodě s ledovou drtí na teplotu zhruba 25 °C. Absorbance vzorků se spektrofotricky změřila při vlnové délce 520 nm. Jako standard pro sestavení kalibrační křivky se využil prolin o různé koncentraci (kalibrační křivka viz Příloha 4). Celkový obsah prolinu se v závěru vyjádřil, jako μmol prolinu na g č. hm. (Carillo a Gibon 2022).

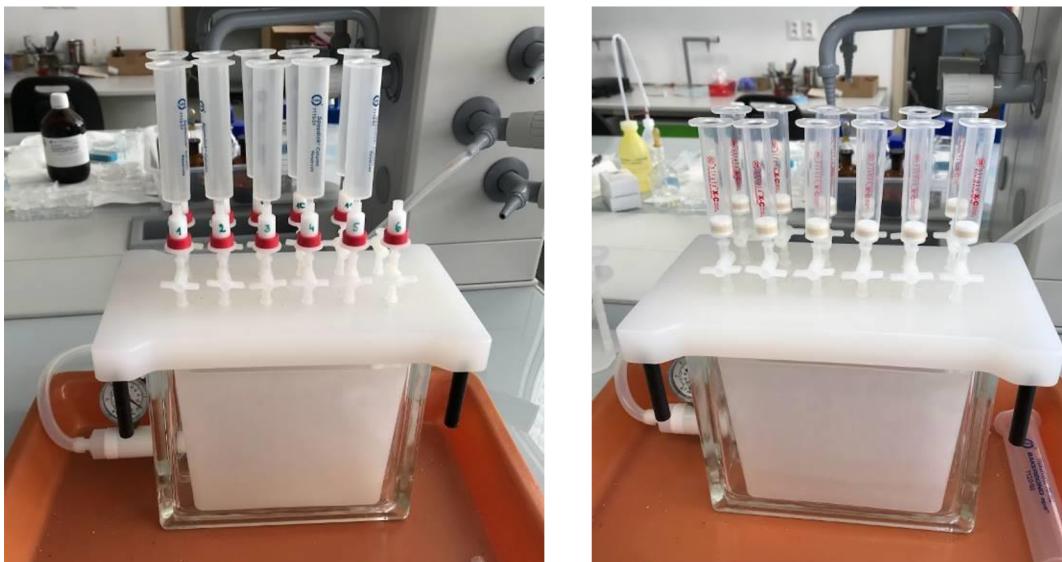
2.1.5 Stanovení obsahu kyseliny abscisové

Vzorky určené ke stanovení obsahu kyseliny abscisové bylo nutné po odběru okamžitě zmrazit v tekutém dusíku a do doby analýzy je skladovat při -80 °C, z důvodu zamezení degradace hormonu. Hmotnost odebrané čerstvé hmoty se pohybovala okolo 0,1 g. Vzorek ke stanovení obsahu ABA se začínal připravovat homogenizací zmrzlého rostlinného materiálu ve třecí misce s tekutým dusíkem. Vzniklý jemný prášek se přenesl do 1,5 ml mikrozkušavky vychlazené v tekutém

dusíku. Třetí miska se dvakrát vypláchla 250 µl extrakčního roztoku (směs etanolu, destilované vody a kyseliny mravenčí v poměru 15:4:1) vychlazeného na 20 °C. Ten se přidal do zkumavky s rozdrčeným rostlinným materiálem. Zhotovené vzorky se nechaly na 1 hodinu inkubovat při teplotě -20 °C a následně se centrifugovaly 30 minut při 15000 g a 4 °C. Vzniklý supernatant se umístil do čisté mikrozkušavky, pelet se resuspendoval s 0,25 ml extrakčního roztoku, ponechal se 30 minut inkubovat při -20 °C a následně se opět centrifugoval při 15000 g a 4 °C po dobu 30 minut. Vzniklý supernatant se spojil se supernatantem po první centrifugaci a takto připravený vzorek se dále purifikoval.

Během purifikace (Obrázek 19) došlo k očištění vzorku od co největšího množství látek, které by potencionálně mohly interferovat v průběhu analýzy. V průběhu purifikace bylo zároveň nutné zamezit ztrátám analyzované látky. Při purifikaci se využívaly dva typy SPE kolonek. Prvním typem byla kolonka C18, která sloužila pro odstranění lipofilních látek. Druhá kolonka byla typu MCX, která rozdělila vyzolované fytohormony do tří frakcí. Purifikace začala promytím SPE C18 kolonky 5 ml metanolu a následným nanesením a prokapáním 5 ml extrakčního roztoku. Poté se na kolonku umístil vzorek, který se po prokapání zachytil a nechal se odpařit ve vakuové odparce SpeedVac při 40 °C na zhruba 1/10 objemu. Po odpaření se vzorek rozpustil v 1 ml 1M kyseliny mravenčí. Následně došlo k aktivaci SPE kolonky Oasis MCX, která se promyla 5 ml metanolu a poté 5 ml 1M kyseliny mravenčí. Na aktivovanou kolonku se nakapal odpařený vzorek, který se nechal prokapat. Kolonka se poté promyla 5 ml 1M kyseliny mravenčí. Následně se pod kolonky umístily čisté zkumavky a promyly se 5 ml 100% metanolu. Nasbíraný eluent ve zkumavkách, který obsahoval kyselinu abscisovou, se nechal odpařit do sucha pomocí vakuové odparky SpeedVac při teplotě 40 °C. Vzniklý odparek se před samotnou analýzou rozpustil v 50 µl 10% acetonitrilu a nechal se po dobu 10 minut centrifugovat při 15000 g a teplotě 4 °C. Celkový obsah ABA byl stanoven pomocí UHPLC na koloně Zorbax RRHD Eclipse plus C18 (2,1 mm x 50 mm, 1,8 µm; Agilent) s hmotnostním spektrometrem 6470 Series Triple Quadrupole (Agilent) (ionizace elektrosprejem - režim negativních iontů) jako detektorem. Vybrané MRM přechody byly sledovány pro *cis* i *trans* ABA izomery: m/z 263,1=>153,1, 219,1. Eluenty: (A) 5 mM mravenčan amonný s 0,05% kyselinou mravenčí; (B) acetonitril. Gradient: 0-1 min (5 % B), 1,0-4,0 min (95 %

B), 4,0-5,0 min (95 % B), 5,0-5,1 min (5 % B), 5,1-6,0 (5 % B). Zdrojové podmínky: teplota plynu (300 °C), průtok plynu (6 l min⁻¹), nebulizér (40 psi), teplota pláště plynu (400 °C), průtok pláště plynu (12 l min⁻¹), kapilára (2000 V), napětí trysky (0 V) (Jiroutová *et al.* 2021)



Obrázek 19: Purifikace na SPE kolonkách C18 (vlevo) a MCX Oasis (vpravo).

Foto Šárka Lehká

2.1.6 Statistické zpracování dat

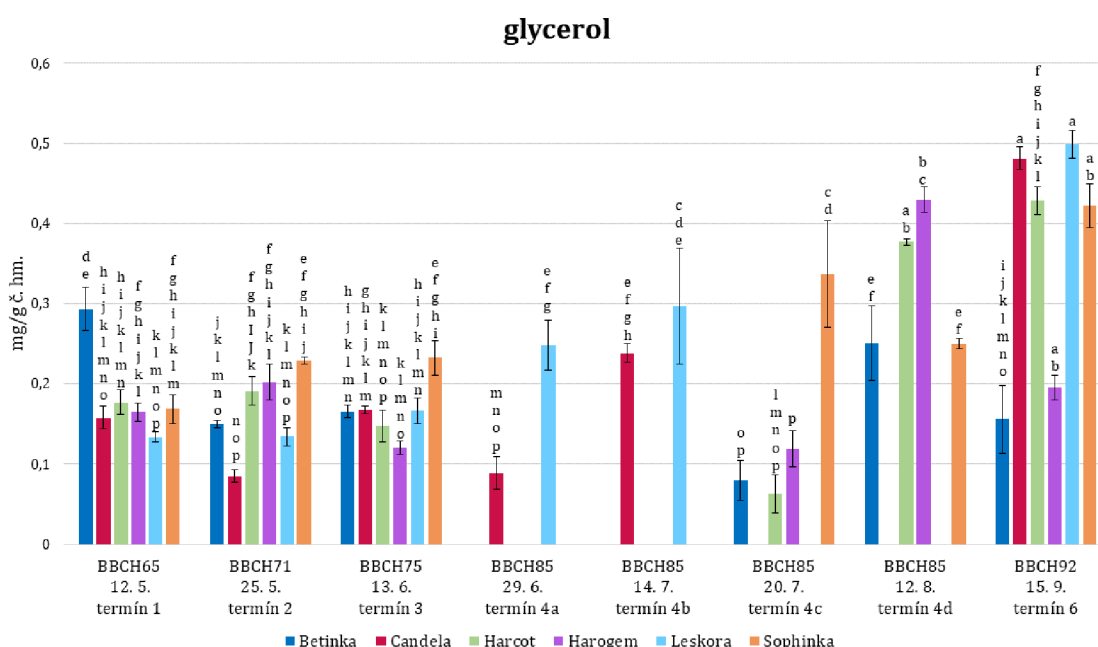
Pro každou odrůdu ovocných dřevin a fenofázi byla provedena 3 měření. Data byla zpracována pomocí statistického programu GraphPad Prism 9 (LLC, San Diego, CA, USA) s využitím jednorozměrné analýzy variance (Anova) a Tukeyho testu na hladině významnosti $p < 0,05$. Grafy byly vytvořeny v programu MS Excel (Microsoft, USA).

3 Výsledky

3.1 Obsah cukru a cukerných alkoholů

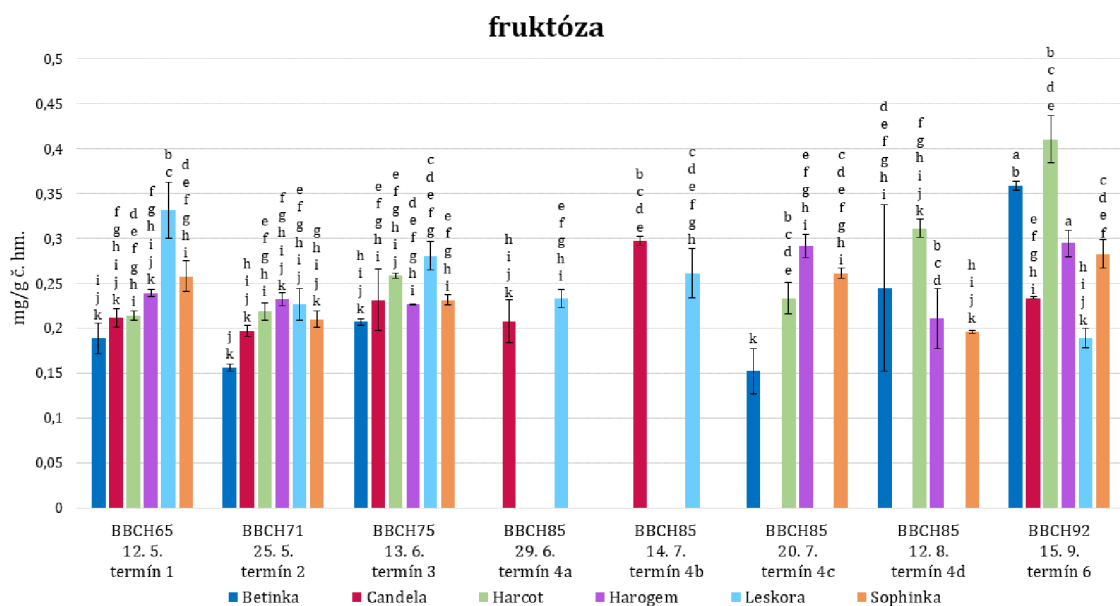
3.1.1 Meruňky

V grafu 1 je uveden zjištěný obsah glycerolu u odrůd meruněk ve stanovených termínech sběru rostlinného materiálu. Se začátkem vegetační sezony byla míra glycerolu u všech odrůd celkem vyrovnaná. Nejvyšší hodnota byla při termínu 1 naměřena u odrůdy 'Betinka', avšak po dobu dalších sběrů obsah glycerolu klesal. Během celé vegetační sezony bylo zaznamenáno postupné zvyšování hodnot glycerolu u odrůdy 'Leskora' a 'Sophinka'. Postupný nárůst byl taktéž viditelný od termínu 4b po konec vegetační sezony u odrůdy 'Candela'. Při termínu 4d byly naměřeny vyšší hodnoty u odrůd 'Harcot' a 'Harogem'. Obsah glycerolu však při posledním termínu sběru u odrůdy 'Harogem' znásobně klesl. Naopak při tomto sběru byly nejvyšší hodnoty glycerolu u odrůd 'Candela', 'Leskora' a 'Sophinka'. Nelze však jednotně usoudit rozdíly mezi senzitivními a odolnými odrůdami meruněk.



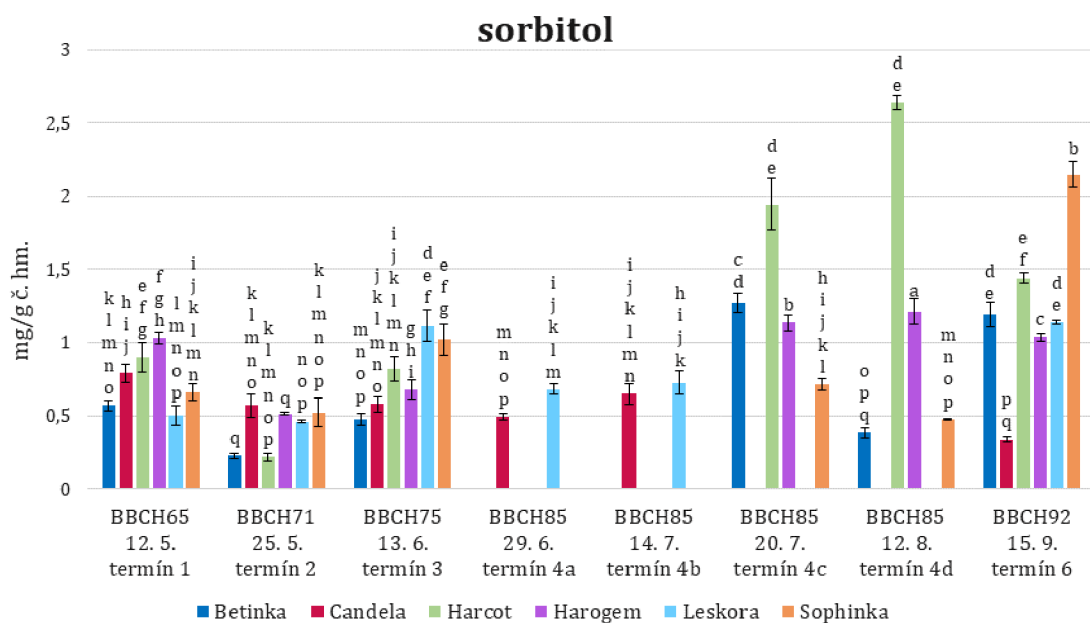
Graf 1: Obsah glycerolu (mg/g č. hm.) u vybraných odrůd meruněk v průběhu sezony. Sloupce označené stejnými písmeny nevykazují statisticky významný rozdíl dle Tukeyova testu na hladině spolehlivosti $p < 0,05$.

V grafu 2 je uveden zjištěný obsah fruktózy u odrůd meruněk ve stanovených termínech sběru rostlinného materiálu. Dynamika obsahu fruktózy byla během vegetační sezony vyrovnaná. Nejvyšší hladina byla během termínu odběru 1 zjištěna u odrůdy 'Leskora', u které však při dalších odběrech hodnoty mírně klesaly. V průběhu sezony nebyly zaznamenány žádné větší výkyvy hodnot. Během termínu odběru 4d a 6 byl naměřen nejvyšší obsah fruktózy u odolných odrůd 'Betinka' a 'Harogem'. Ucelený závěr o rozdílech mezi senzitivními a odolnými odrůdami však nelze usoudit.



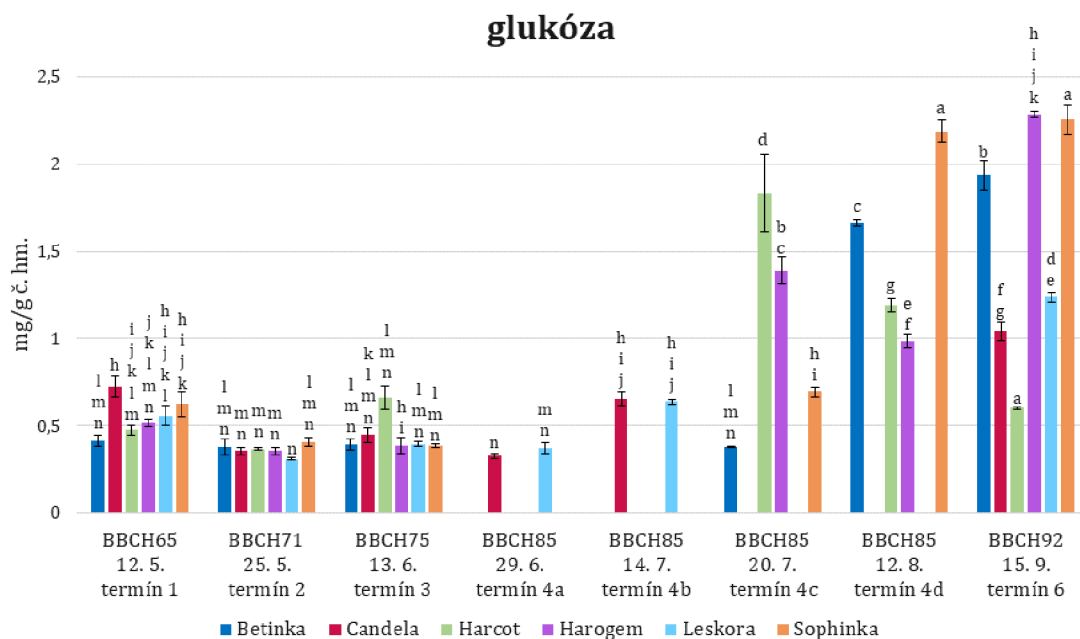
Graf 2: Obsah fruktózy (mg/g č. hm.) u vybraných odrůd meruněk v průběhu sezony. Sloupce označené stejnými písmeny nevykazují statisticky významný rozdíl dle Tukeyova testu na hladině spolehlivosti $p < 0,05$.

V grafu 3 je uveden naměřený obsah sorbitolu u odrůd meruněk ve stanovených termínech sběru rostlinného materiálu. Se začátkem vegetační doby byl obsah sorbitolu u všech odrůd poměrně stejný. Mírný pokles byl zaznamenán u všech sledovaných odrůd během termínu 2, avšak v následujících termínech odběru se znovu hodnoty mírně zvýšily. Výrazný nárůst obsahu sorbitolu byl viditelný během termínu odběru 4c a 4d u odrůdy 'Harcot'. U termínu odběru 6 však hodnoty u zmíněné odrůdy znatelně klesly naopak hodnoty sorbitolu se zvýšily u odrůdy 'Sophinka'.



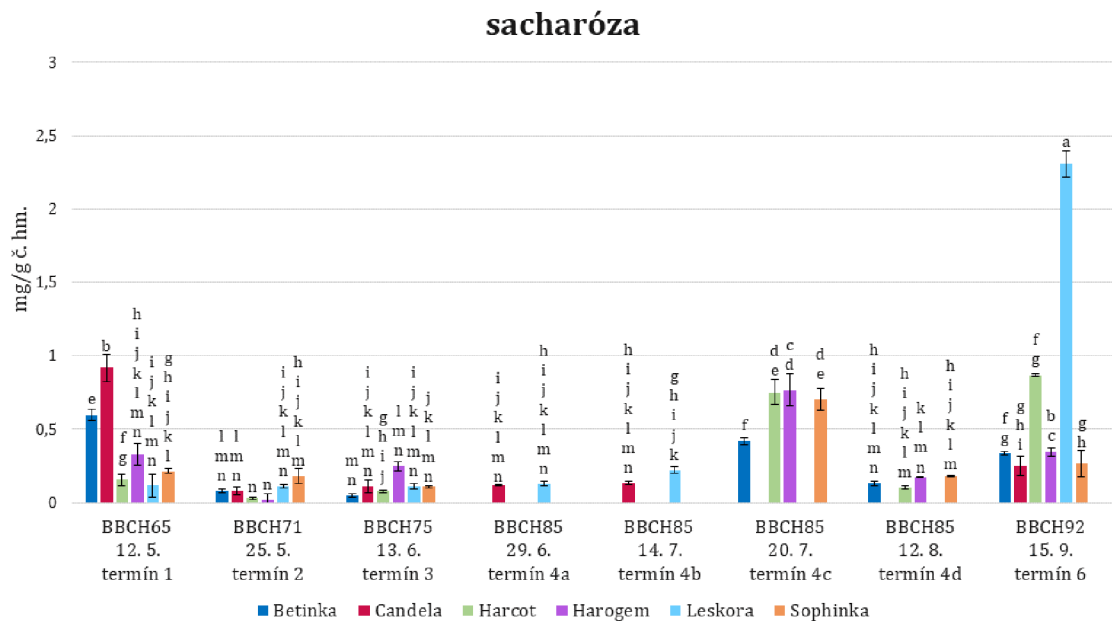
Graf 3: Obsah sorbitolu (mg/g č. hm.) u vybraných odrůd meruněk v průběhu sezony. Sloupce označené stejnými písmeny nevykazují statisticky významný rozdíl dle Tukeyova testu na hladině spolehlivosti $p < 0,05$.

V grafu 4 je uveden naměřený obsah glukózy u odrůd meruněk ve stanovených termínech sběru rostlinného materiálu. Dynamika obsahu glukózy byla na začátku vegetační sezony u všech odrůd podobná. Výrazný nárůst hodnot byl zaznamenán během termínu 4c, kdy se obsah glukózy zhruba 3násobně zvýšil u odrůd 'Harcot' a 'Harogem'. U těchto odrůd byl však v následujícím termínu 4d zaznamenán mírný pokles glukózy. Při termínu 4d a 6 se obsah glukózy u odrůdy 'Betinka' zhruba 5násobně zvýšil a u odrůdy 'Sophinka' přibližně 3násobně. V termínu 6 opětovně narostla glukóza u odrůdy 'Harogem', jejíž obsah se zvýšil zhruba 2,5násobně. Nejvyšší hodnoty glukózy byly především naměřeny v termínech odběrů 4c a 4d, kdy se vyvíjela typická barva odrůdy a během termínu 6, při kterém začínalo zbarvování listů.



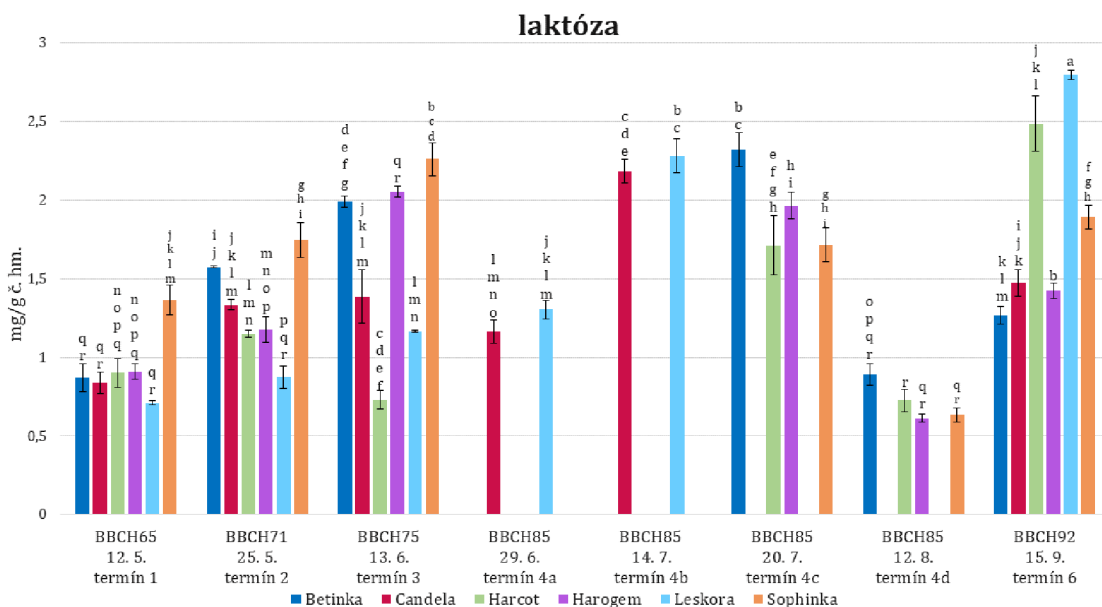
Graf 4: Obsah glukózy (mg/g č. hm.) u vybraných odrůd meruněk v průběhu sezony. Sloupce označené stejnými písmeny nevykazují statisticky významný rozdíl dle Tukeyova testu na hladině spolehlivosti $p < 0,05$.

V grafu 5 je znázorněn zjištěný obsah sacharózy u odrůd meruněk ve stanovených termínech sběru rostlinného materiálu. Na začátku vegetační sezony byla nejvyšší míra sacharózy naměřena u odrůdy 'Candela', jejíž obsah však v následujících termínech sběru výrazně pokles. V termínech 2–4b byly hodnoty obsahu sacharózy u všech odrůd podobné. Nárůst hodnot byl zaznamenán během termínu 4c u všech odebraných odrůd. Ten však během termínu 4d opět klesl. Při termínu odběru 6 bylo zaznamenáno 10násobné zvýšení obsahu sacharózy u odrůdy 'Leskora'.



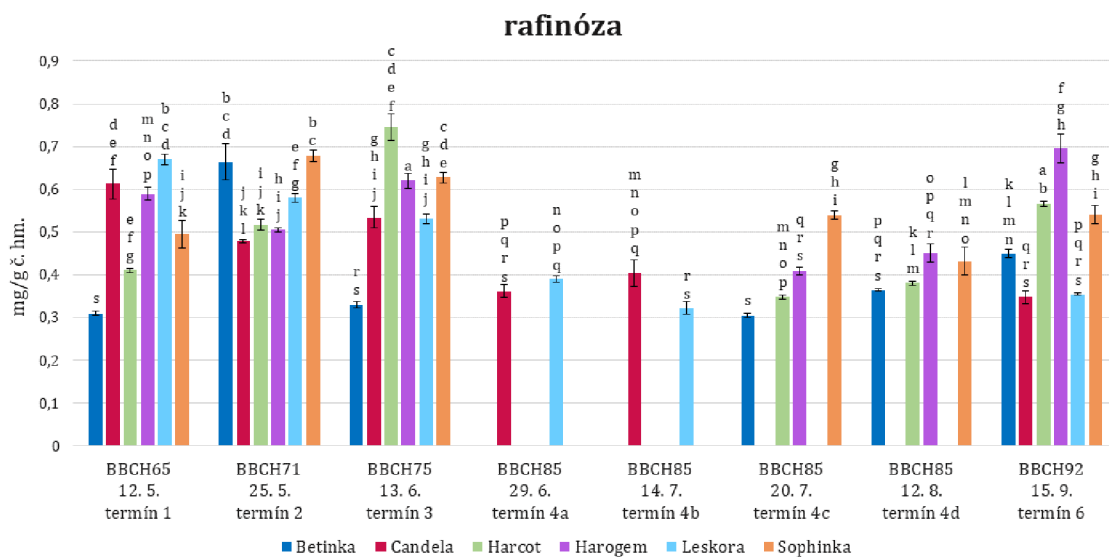
Graf 5: Obsah sacharózy (mg/g č. hm.) u vybraných odrůd meruněk v průběhu sezony. Sloupce označené stejnými písmeny nevykazují statisticky významný rozdíl dle Tukeyova testu na hladině spolehlivosti $p < 0,05$.

V grafu 6 je uveden naměřený obsah laktózy u odrůd meruněk ve stanovených termínech sběru rostlinného materiálu. Již od začátku vegetační sezony v termínech 1, 2 a 3 byly nejvyšší hodnoty obsahu laktózy u odrůdy 'Sophinka'. U termínu 3 a 4c byl rovněž naměřen vyšší obsah u odrůd 'Betinka' a 'Harogem' naopak u odrůdy 'Sophinka' došlo během termínu 4c k mírnému snížení hodnot. V průběhu sezony se u termínu 4b zaznamenalo zvýšení laktózy u odrůd 'Candela' a 'Leskora'. Během termínu 4d došlo však k výraznému poklesu obsahu laktózy u všech odrůd. Opětovný nárůst byl při následujícím termínu odběru, kdy byl nejvyšší obsah naměřen u odrůdy 'Leskora' a 'Harcot', u níž došlo zhruba k 3,5násobnému zvýšení laktózy.



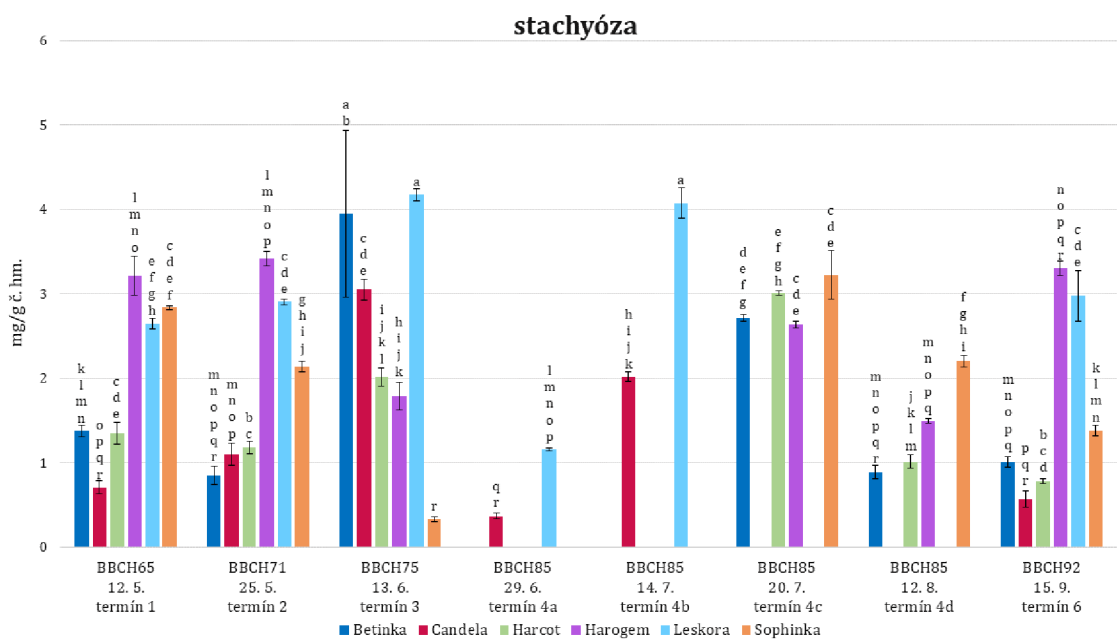
Graf 6: Obsah laktózy (mg/g č. hm.) u vybraných odrůd meruněk v průběhu sezony. Sloupce označené stejnými písmeny nevykazují statisticky významný rozdíl dle Tukeyova testu na hladině spolehlivosti $p < 0,05$.

V grafu 7 je znázorněn zjištěný obsah rafinózy u odrůd meruněk ve stanovených termínech sběru rostlinného materiálu. Dynamika obsahu rafinózy byla během vegetační sezony u odrůd podobná. Vyšší obsah rafinózy byl naměřen během termínů odběru 1,2 a 3. Při termínu 4a, 4b a 6 byl zaznamenán pokles obsahu rafinózy u odrůd 'Candela' a 'Leskora'. Nižší hodnoty byly zaznamenány během termínu 4c a 4d u odrůd 'Betinka', 'Harcot' a 'Harogem'. Jejich hodnoty obsahu rafinózy se však při posledním termínu odběru opět mírně zvýšily.



Graf 7: Obsah rafinózy (mg/g č. hm.) u vybraných odrůd meruněk v průběhu sezony. Sloupce označené stejnými písmeny nevykazují statisticky významný rozdíl dle Tukeyova testu na hladině spolehlivosti $p < 0,05$.

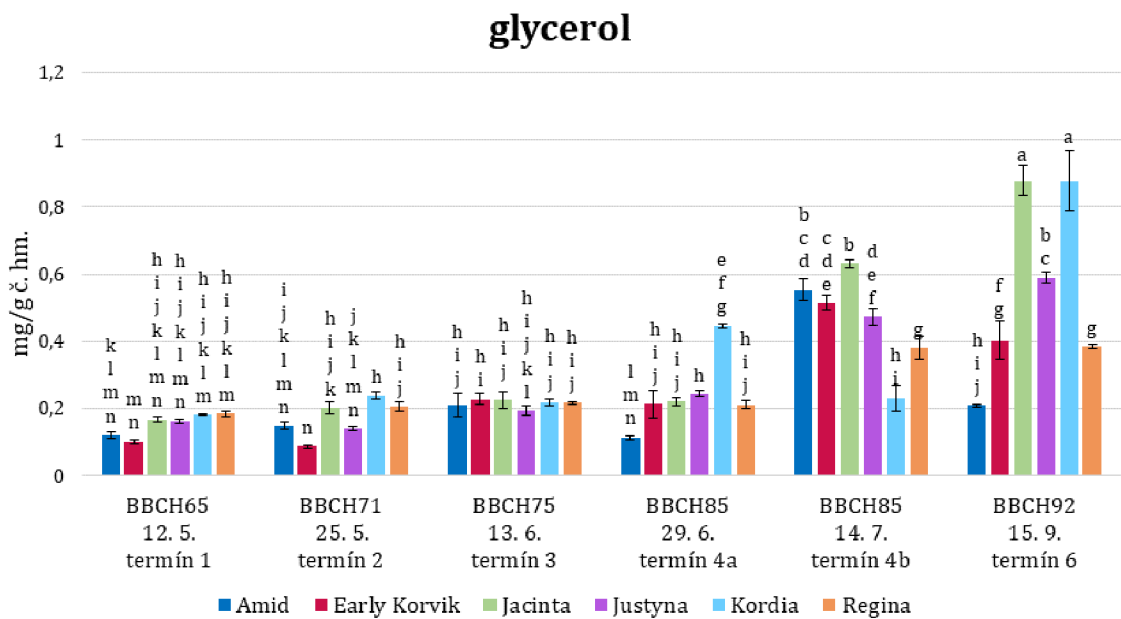
V grafu 8 je uveden obsah stachyózy u odrůd meruněk ve stanovených termínech sběru rostlinného materiálu. Obsah stachyózy byl během prvních dvou termínů odběrů nejvyšší u odrůd 'Harogem', 'Leskora' a 'Sophinka'. Míra stachyózy však během termínu 3 u odrůdy 'Harogem' 2násobně klesla a u odrůdy 'Sophinka' 6,5násobně. V tomto termínu byl však u odrůdy 'Betinka' zaznamenán zhruba 4,5násobný a u odrůdy 'Candela' skoro 3násobný nárůst stachyózy. Výrazný pokles obsahu byl během termínu 4a u pozorovaných odrůd 'Candela' a 'Sophinka'. Hodnota obsahu stachyózy se však při dalším termínu u obou odrůd zvýšila. Během termínu 4c došlo k výraznému snížení obsahu stachyózy, který byl u odrůd 'Betinka' a 'Harcot' zhruba 3násobný a u odrůdy 'Harogem' 2násobný. Při posledním termínu byl nejvyšší obsah stachyózy u odrůd 'Harogem' a 'Leskora'. V tomto termínu byly hodnoty stachyózy u zbylých odrůd meruněk výrazně nižší.



Graf 8: Obsah stachyózy (mg/g č. hm.) u vybraných odrůd meruněk v průběhu sezony. Sloupce označené stejnými písmeny nevykazují statisticky významný rozdíl dle Tukeyova testu na hladině spolehlivosti $p < 0,05$.

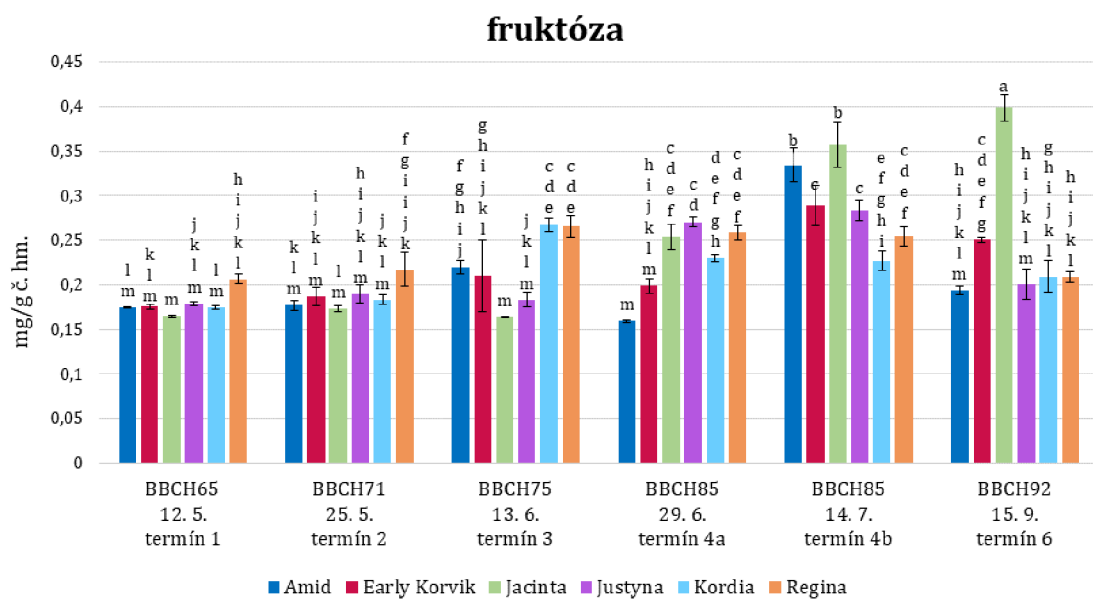
3.1.2 Třešně

V grafu 9 je uveden zjištěný obsah glycerolu u odrůd třešní ve stanovených termínech sběru rostlinného materiálu. Při prvních termínech sběru byl obsah glycerolu u všech odrůd podobný a nebylo zaznamenáno viditelné zvýšení hodnot. K 2násobnému nárůstu obsahu glycerolu došlo během termínu 4a u odrůdy 'Kordia', hodnoty se však v termínu 4b opět snížily. U zbylých odrůd byl však v tomto termínu odběru zaznamenán nárůst glycerolu. Hodnoty se nadále zvyšovaly při posledním termínu odběru u odrůd 'Jacinta' a 'Kordia'. Obecně lze usoudit, že nejvyšší obsah glycerolu byl naměřen během posledních dvou termínů, kdy se u stromů začínaly vyvíjet typické odrůdové barvy (BBCH85) a zbarvování listů (BBCH92).



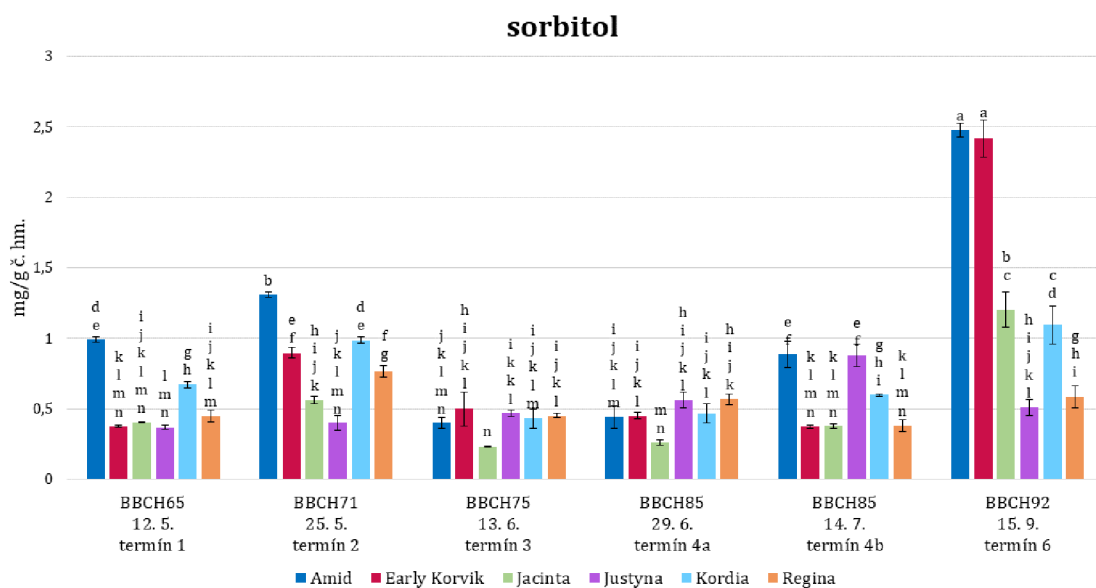
Graf 9: Obsah glycerolu (mg/g č. hm.) u vybraných odrůd třešní v průběhu sezony. Sloupce označené stejnými písmeny nevykazují statisticky významný rozdíl dle Tukeyova testu na hladině spolehlivosti $p < 0,05$.

V grafu 10 je zobrazený obsah fruktózy u odrůd třešní ve stanovených termínech sběru rostlinného materiálu. Dynamika obsahu se během vegetační sezony u odrůd výrazně nelišila. Hodnoty fruktózy se s postupem sezony mírně zvyšovaly. Nejvyšší obsah byl během termínu 4b a to zejména u odrůdy 'Amid' a 'Jacinta', u které došlo ještě k mírnému nárůstu hodnot při posledním termínu odběru. U zbylých odrůd se obsah fruktózy během termínu 6 mírně snížil.



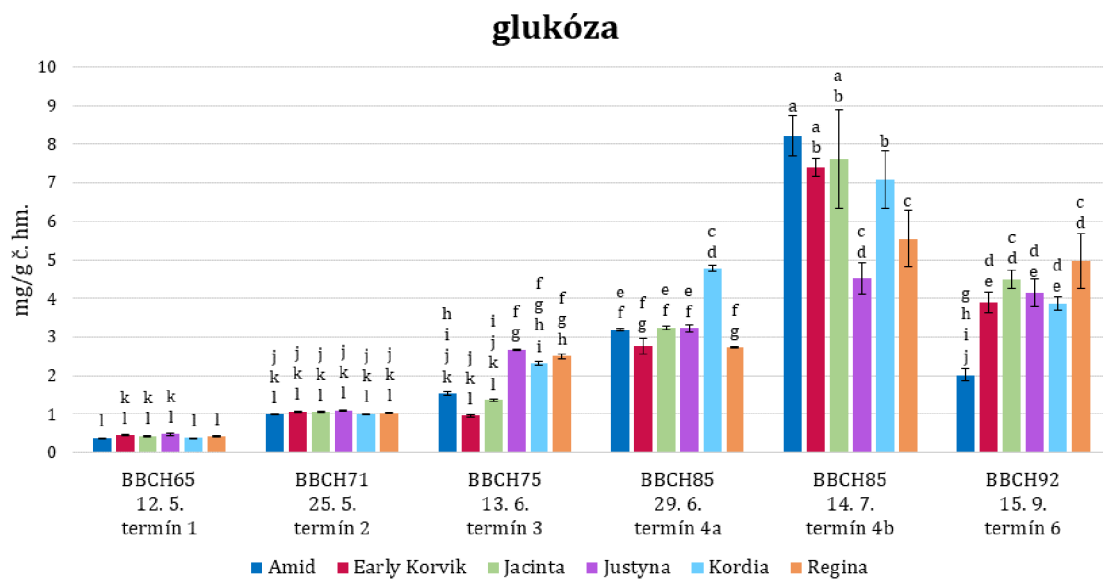
Graf 10: Obsah fruktózy (mg/g č. hm.) u vybraných odrůd třešní v průběhu sezony. Sloupce označené stejnými písmeny nevykazují statisticky významný rozdíl dle Tukeyova testu na hladině spolehlivosti $p < 0,05$.

Graf 11 znázorňuje naměřený obsah sorbitolu u odrůd třešní ve stanovených termínech sběru rostlinného materiálu. Obsah sorbitolu byl v prvních dvou termínech sběru nejvyšší u odrůdy 'Amid'. Během termínu 2 byl viditelný nárůst u odrůd 'Early Korvik', 'Kordia' a 'Regina'. V následujících odběrech byly zaznamenány nižší hodnoty obsahu sorbitolu. K výraznému zvýšení došlo na konci vegetační sezony během termínu 6 u odolných odrůd 'Amid' a 'Early Korvik'. V porovnání s hodnotami z termínu 4b se zvýšila míra sorbitolu u odrůdy 'Amid' téměř 3násobně a u odrůdy 'Early Korvik' 6,5násobně.



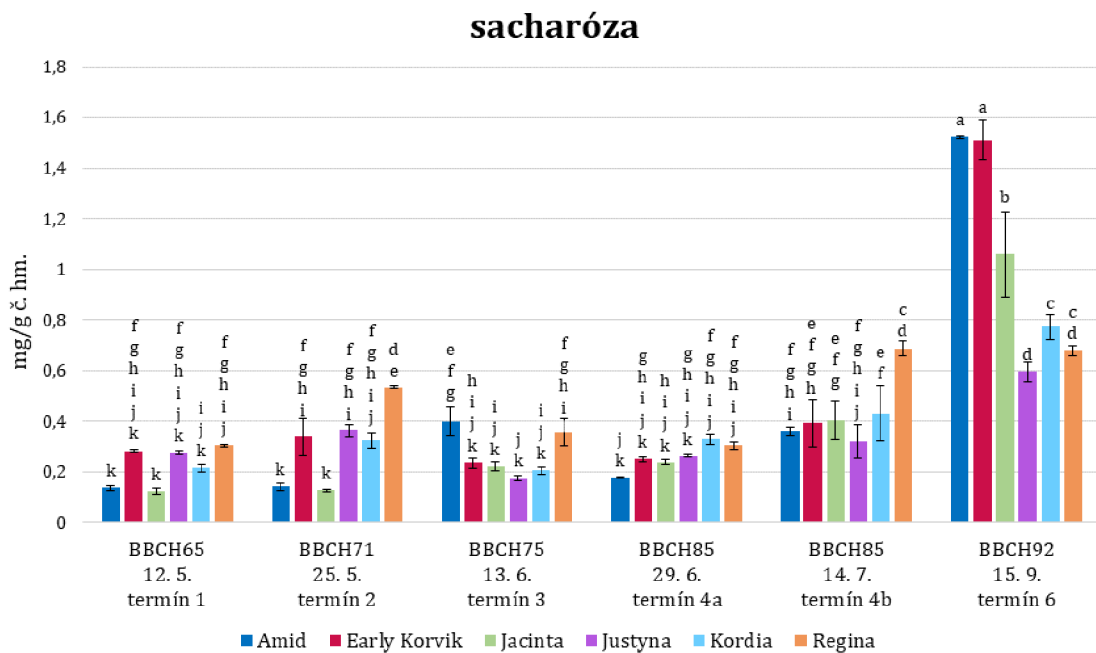
Graf 11: Obsah sorbitolu (mg/g č. hm.) u vybraných odrůd třešní v průběhu sezony. Sloupce označené stejnými písmeny nevykazují statisticky významný rozdíl dle Tukeyova testu na hladině spolehlivosti $p < 0,05$.

Graf 12 znázorňuje naměřená data obsahu glukózy u odrůd třešní ve stanovených termínech sběru rostlinného materiálu. Na začátku vegetační sezony byly hodnoty glukózy nízké a u všech odrůd podobné. Postupem sezony se však hodnoty začaly zvyšovat. U všech odrůd byl největší obsah glukózy naměřen během termínu 4b. Nejvyšší hodnoty byly u odrůd 'Amid', 'Early Korvik', 'Jacinta' a 'Kordia'. Výrazný pokles glukózy byl zaznamenán během posledního termínu odběru u odrůdy 'Amid', u které došlo k 8násobnému snížení obsahu glukózy.



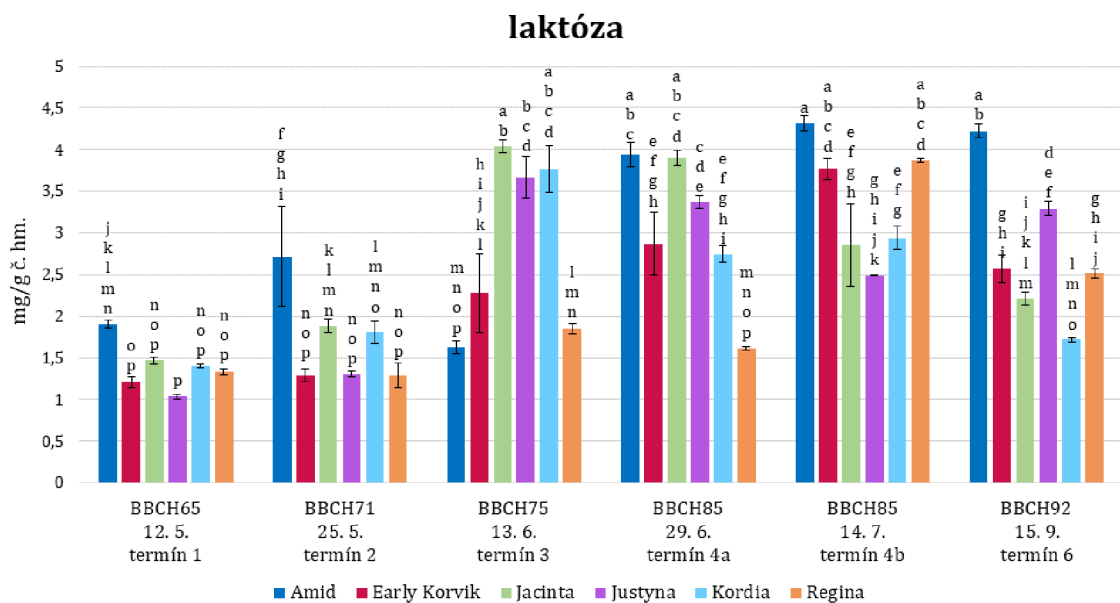
Graf 12: Obsah glukózy (mg/g č. hm.) u vybraných odrůd třešní v průběhu sezony. Sloupce označené stejnými písmeny nevykazují statisticky významný rozdíl dle Tukeyova testu na hladině spolehlivosti $p < 0,05$.

V grafu 13 jsou uvedena naměřená data obsahu glukózy u odrůd třešní ve stanovených termínech sběru rostlinného materiálu. Téměř během celé sezony byla dynamika obsahu sacharózy u všech odrůd podobná. Oproti zbylým odrůdám byly mírně vyšší hodnoty sacharózy naměřeny během termínu 2 a 4b u odolné odrůdy 'Regina'. Znatelný nárůst obsahu sacharózy nastal během posledního termínu odběru. Nejvyšší hodnoty byly zaznamenány u odolných odrůd 'Amid' a 'Early Korvik', u kterých sacharóza zhruba 4násobně narostla.



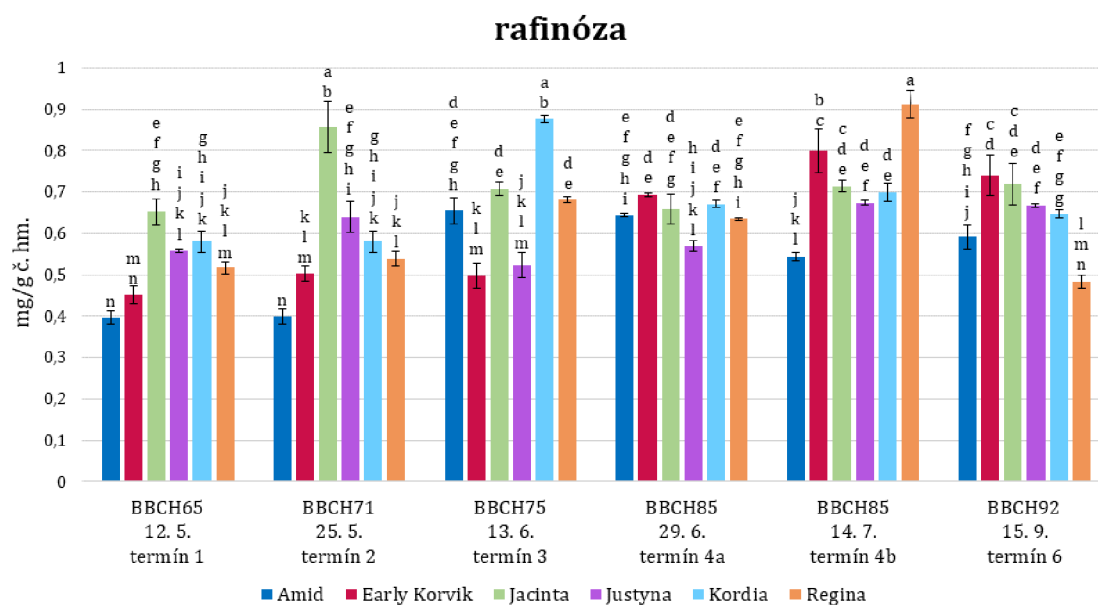
Graf 13: Obsah sacharózy (mg/g č. hm.) u vybraných odrůd třešní v průběhu sezony. Sloupce označené stejnými písmeny nevykazují statisticky významný rozdíl dle Tukeyova testu na hladině spolehlivosti $p < 0,05$.

V grafu 14 je znázorněn naměřený obsah laktózy u odrůd třešní ve stanovených termínech sběru rostlinného materiálu. Během prvních dvou termínů odběru byly nejvyšší hodnoty u odrůdy 'Amid'. K výraznému zvýšení laktózy došlo během termínu 3 u odrůd 'Jacinta', 'Justyna' a 'Kordia'. Při následujícím termínu odběru 4a byly nejvyšší hodnoty u odrůd 'Jacinta', 'Justyna' a 'Amid', u níž se obsah laktózy zhruba 2,5násobně zvýšil. Během termínu 4b byly nejvyšší hodnoty laktózy opět u odolné odrůdy 'Amid'. Vyšší obsah laktózy byl naměřen i u dalších dvou odolných odrůd. U odrůdy 'Early Korvik' bylo postupné zvyšování laktózy od začátku vegetační sezony, zatímco u odrůdy 'Regina' se hodnota laktózy zhruba 2,5násobně zvýšila. U posledního termínu odběru byl viditelný mírný pokles laktózy. Výjimku tvořily vyšší hodnoty u odrůd 'Amid' a 'Justyna'.



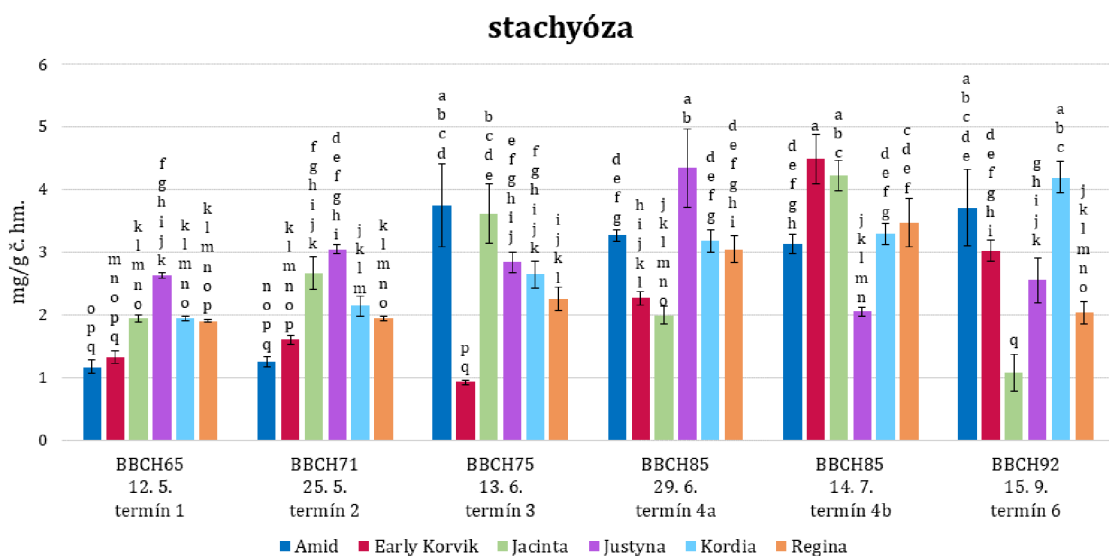
Graf 14: Obsah laktózy (mg/g č. hm.) u vybraných odrůd třešní v průběhu sezony. Sloupce označené stejnými písmeny nevykazují statisticky významný rozdíl dle Tukeyova testu na hladině spolehlivosti $p < 0,05$.

Graf 15 znázorňuje naměřené hodnoty obsahu rafinózy u odrůd třešní ve stanovených termínech sběru rostlinného materiálu. Dynamika obsahu rafinózy byla během celé vegetační sezony u všech odrůd vyrovnaná a nebyly zaznamenány výrazné rozdíly mezi odrůdami. Nejvyšší obsah byl naměřen během termínu 2 u odrůdy 'Jacinta'. V následujícím termínu byla nejvyšší míra laktózy u odrůdy 'Kordia'. Mírný nárůst hodnot byl zaznamenán i odrůdy 'Regina' v termínu 4b.



Graf 15: Obsah rafinózy (mg/g č. hm.) u vybraných odrůd třešní v průběhu sezony. Sloupce označené stejnými písmeny nevykazují statisticky významný rozdíl dle Tukeyova testu na hladině spolehlivosti $p < 0,05$.

V grafu 16 jsou uvedeny naměřené hodnoty obsahu stachyózy u odrůd třešní ve stanovených termínech sběru rostlinného materiálu. V prvních dvou termínech byla míra stachyózy u odrůd vyrovnaná. Výjimkou byly však odrůdy 'Amid' a 'Early Korvik', u kterých byl naměřen nejnižší obsah stachyózy. Během termínu 3 se však hodnoty u odrůdy 'Amid' více jak 2,5násobně zvýšily a společně s odrůdou 'Jacinta' měly nejvyšší obsah stachyózy. Viditelný nárůst hodnot byl zpozorován u odrůdy 'Justyna' při termínu odběru 4a a u odrůd 'Jacinta' a 'Early Korvik' během termínu 4b. Výrazný pokles stachyózy byl u odrůdy 'Jacinta' během termínu 6, kdy se hodnoty zhruba 4násobně snížily.



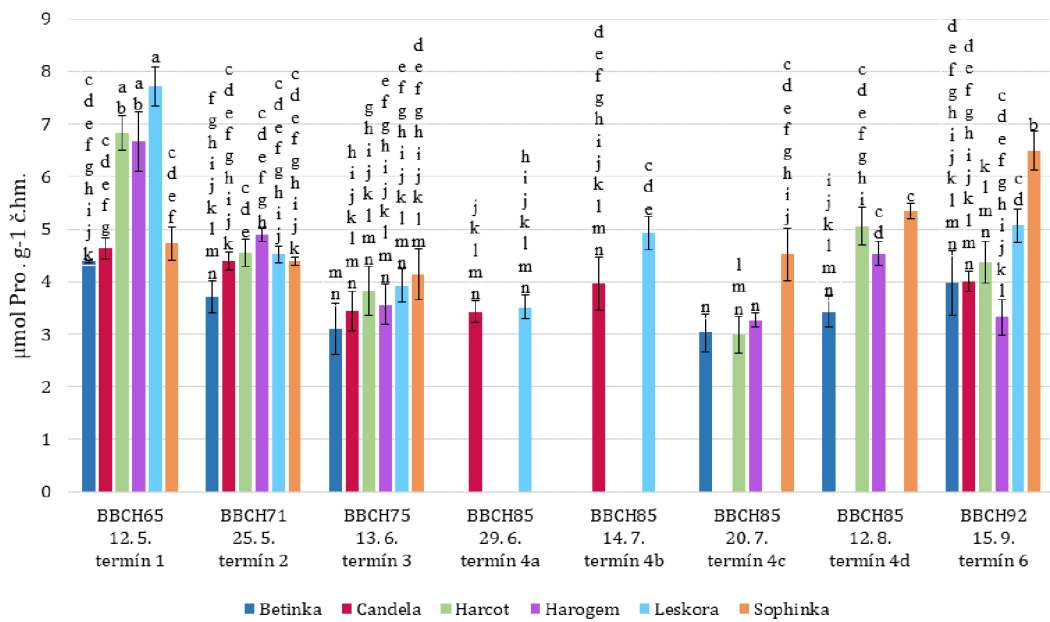
Graf 16: Obsah stachyózy (mg/g č. hm.) u vybraných odrůd třešní v průběhu sezony. Sloupce označené stejnými písmeny nevykazují statisticky významný rozdíl dle Tukeyova testu na hladině spolehlivosti $p < 0,05$.

3.2 Obsah prolinu

3.2.1 Meruňky

V grafu 17 je znázorněn zjištěný obsah prolinu u odrůd meruněk ve stanovených termínech sběru rostlinného materiálu. Míra obsahu prolinu byla během sezony u všech odrůd podobná. Nejvyšší hodnoty byly naměřeny v prvním termínu odběru, kdy největší obsah byl zpozorován u odrůd 'Harcot', 'Harogem' a 'Leskora'. V porovnání s jinými odrůdami měly tyto tři zmíněné 1,5násobně vyšší obsah prolinu. V následujících termínech byl však očividný pokles jejich hodnot. U odrůd 'Harcot' a 'Harogem' byl zaznamenán až 2násobný pokles hladiny prolinu, a to zejména během termínu 3 a 4c. U odrůdy 'Leskora' byl taktéž znatelný pokles, a to především během termínu 2, 3 a 4a, u kterého byly hodnoty v porovnání s hodnotami z termínu 1 poloviční. Celkově lze zhodnotit, že nejnižší míra prolinu byla naměřena během termínů 4a a 4c, kdy u stromů začaly postupně zrát plody. Následně započaly hladiny prolinu do konce vegetační sezony pozvolna stoupat. U odrůdy 'Sophinka' bylo zaznamenáno postupné stoupaní hodnot prolinu od termínu 4c. U téže odrůdy byl během termínu 6 naměřený nejvyšší obsah. Z naměřených hodnot nelze usoudit ucelený závěr v rozdílech mezi tolerantními a senzitivními druhy. Vyšší hodnoty prolinu mohou poukazovat na možnou toleranci rostlin vůči stresovým podmínkám, či se může jednat o rychlou aklimatizaci.

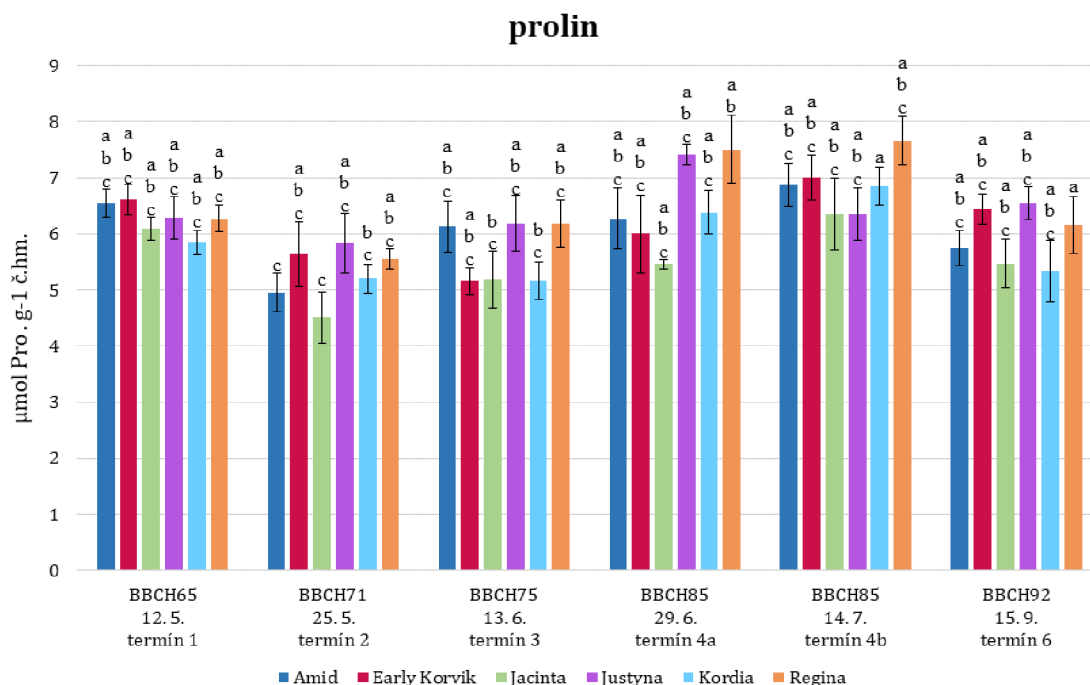
prolin



Graf 17: Obsah prolinu ($\mu\text{mol Pro. g}^{-1}$ č. hm.) u vybraných odrůd meruněk v průběhu sezony. Sloupce označené stejnými písmeny nevykazují statisticky významný rozdíl dle Tukeyova testu na hladině spolehlivosti $p < 0,05$.

3.2.2 Třešně

V grafu 18 je znázorněn zjištěný obsah prolinu u odrůd třešní ve stanovených termínech sběru rostlinného materiálu. U třešní byla dynamika obsahu prolinu během vegetační sezony podobná. Během termínu 2 došlo k mírnému poklesu hladin prolinu. Ten se začal však následně u všech odrůd zvyšovat, a to především v termínech 4a a 4b. U zmíněných dvou termínů byl nejvyšší obsah prolinu u odrůd 'Justyna' a 'Regina'. Ke konci vegetační sezony byl u termínu odběru 6 znatelný mírný pokles obsahu prolinu, a to u všech pozorovaných odrůd. Jak bylo zmíněno výše u meruněk, i zde u třešní nelze z naměřených hodnot usoudit ucelený závěr v rozdílech mezi tolerantními a senzitivními druhy.



Graf 18: Obsah prolinu ($\mu\text{mol Pro g}^{-1}$ č. hm.) u vybraných odrůd třešní v průběhu sezony. Sloupce označené stejnými písmeny nevykazují statisticky významný rozdíl dle Tukeyova testu na hladině spolehlivosti $p < 0,05$.

3.3 Obsah kyseliny abscisové

3.3.1 Meruňky

Celkově byly ve vzorcích detegovány dvě izomorfy, a to *cis*-ABA a *trans*-ABA. Obecně je *cis* isoforma považována za biologicky aktivní, která se v podmínkách vysokého ozáření reverzibilně mění na inaktivní *trans* formu, což představuje jednu z možností regulace biologické aktivity ABA. V našich vzorcích byly výrazné rozdíly v zastoupení obou isoform (Tabulka 3 a 4) pozorovány u meruňek v odběru č. 2 u všech odrůd, kdy bylo více *cis* isoformy a v odběru č. 6, kde bylo naopak více *trans* isoformy (vyjma odrůd 'Harcot' a 'Harogem').

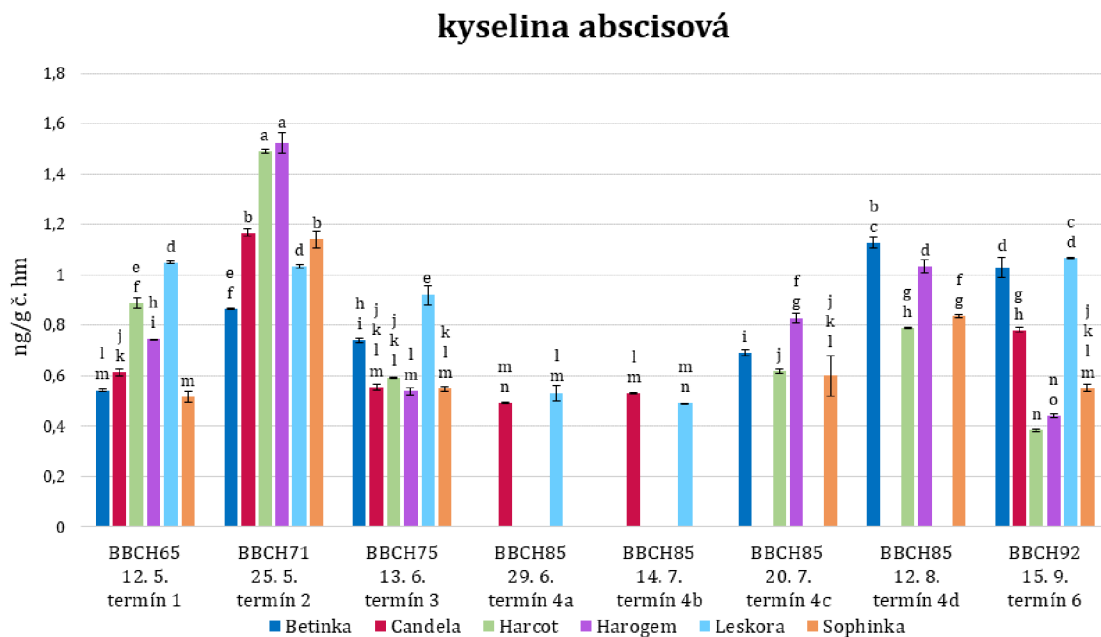
Tabulka 3: Obsah *cis* formy kyseliny abscisové (ng/g č. hm) u vybraných odrůd meruňek v průběhu sezony

	12.05.2022	25.05.2022	13.06.2022	29.06.2022	14.07.2022	20.07.2022	12.08.2022	15.09.2022
Kultivar	<i>cis</i>	<i>cis</i>	<i>cis</i>	<i>cis</i>	<i>cis</i>	<i>cis</i>	<i>cis</i>	<i>cis</i>
Betinka	0,277±0,001	0,517±0,013	0,363±0,008			0,318±0,005	0,554±0,024	0,317±0,007
Candela	0,305±0,013	0,733±0,026	0,275±0,005	0,259±0,001	0,268±0,002			0,27±0,008
Harcot	0,529±0,024	0,786±0,032	0,284±0,001			0,281±0,008	0,334±0,001	0,198±0,004
Harogem	0,316±0,003	1,048±0,03	0,266±0,007			0,368±0,012	0,393±0,005	0,255±0,007
Leskora	0,592±0,014	0,519±0,026	0,394±0,022	0,266±0,00003	0,257±0,0001			0,296±0,003
Sophinka	0,262±0,017	0,714±0,021	0,278±0,006			0,302±0,024	0,357±0,004	0,223±0,001

Tabulka 4: Obsah *trans* formy kyseliny abscisové (ng/g č. hm) u vybraných odrůd meruňek v průběhu sezony

	12.05.2022	25.05.2022	13.06.2022	29.06.2022	14.07.2022	20.07.2022	12.08.2022	15.09.2022
Kultivar	<i>trans</i>	<i>trans</i>	<i>trans</i>	<i>trans</i>	<i>trans</i>	<i>trans</i>	<i>trans</i>	<i>trans</i>
Betinka	0,264±0,004	0,347±0,016	0,377±0,0004			0,372±0,006	0,573±0,003	0,71±0,046
Candela	0,308±0,001	0,434±0,01	0,28±0,006	0,233±0,00001	0,262±0,001			0,511±0,002
Harcot	0,358±0,004	0,704±0,023	0,308±0,002			0,338±0,002	0,453±0,003	0,185±0,0001
Harogem	0,430±0,003	0,477±0,01	0,273±0,02			0,461±0,006	0,64±0,019	0,187±0,001
Leskora	0,457±0,018	0,513±0,034	0,526±0,016	0,266±0,031	0,234±0,0003			0,771±0,0001
Sophinka	0,255±0,004	0,426±0,011	0,269±0,002			0,297±0,056	0,479±0,001	0,327±0,013

V grafu 19 je znázorněn naměřený celkový obsah ABA u odrůd meruněk ve stanovených termínech sběru rostlinného materiálu. Začátkem vegetačního období byl zřejmý nárůst hladiny ABA u všech odrůd, a to především během termínu odběru 2. V průběhu termínu 2 byla zaznamenána nejvyšší míra ABA u odrůd 'Harcot' a 'Harogem'. U termínů 3, 4a a 4b byl viditelný pokles obsahu fytohormonu. V termínu 3 u zmíněných odrůd 'Harcot' a 'Harogem' se zmenšil obsah ABA o více jak o polovinu. K opětovnému nárůstu ABA došlo během termínu odběru 4c a 4d. V závěru vegetační sezony byla u termínu odběru 6 nejvyšší hladina ABA u odrůd 'Betinka', 'Candela' a 'Leskora', jejichž hodnoty se od posledních termínů odběru navýšily. Oproti tomu byla u zbylých odrůd zaznamenána klesající tendence obsahu ABA.



Graf 19: Obsah kyseliny abscisové (ng/g č. hm) u vybraných odrůd meruněk v průběhu sezony. Sloupce označené stejnými písmeny nevykazují statisticky významný rozdíl dle Tukeyova testu na hladině spolehlivosti $p < 0,05$.

3.3.2 Třešně

Ve vzorcích třešní byly rozdíly v zastoupení obou isoformů výraznější (Tabulka 5 a 6). V odběru č. 2 bylo u všech odrůd pozorováno více *cis* isoformy, naopak v odběrech č. 3 a 4b bylo více *trans* isoformy.

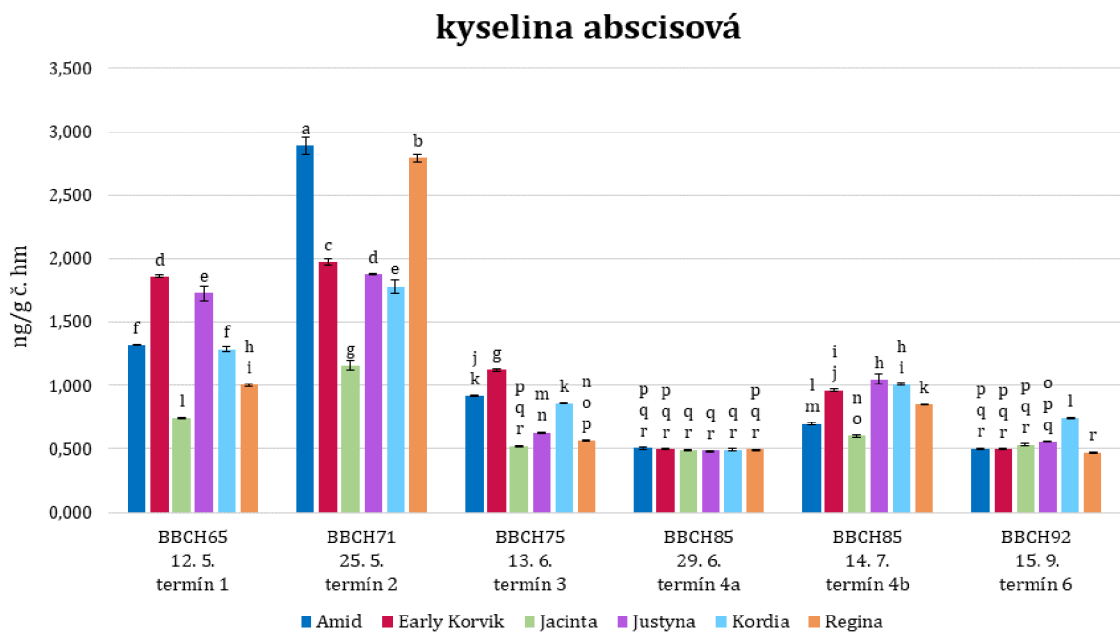
Tabulka 5: Obsah *cis* formy kyseliny abscisové (ng/g č. hm) u vybraných odrůd třešní v průběhu sezony

	12.05.2022	25.05.2022	13.06.2022	29.06.2022	14.07.2022	15.09.2022
Kultivar	<i>cis</i>	<i>cis</i>	<i>cis</i>	<i>cis</i>	<i>cis</i>	<i>cis</i>
Amid	0,414±0,001	2±0,041	0,386±0,008	0,26±0,002	0,252±0,003	0,26±0,001
Early Korvik	0,971±0,008	0,636±0,01	0,466±0,008	0,262±0,003	0,315±0,01	0,263±0,002
Jacinta	0,301±0,003	0,415±0,012	0,26±0,0005	0,259±0,005	0,273±0,007	0,225±0,009
Justýna	0,832±0,03	0,659±0,006	0,281±0,0004	0,253±0,001	0,381±0,018	0,231±0,007
Kordia	0,579±0,025	0,557±0,015	0,33±0,009	0,258±0,006	0,397±0,008	0,255±0,004
Regina	0,43±0,003	1,048±0,021	0,269±0,002	0,26±0,003	0,311±0,003	0,213±0,002

Tabulka 6: Obsah *trans* formy kyseliny abscisové (ng/g č. hm) u vybraných odrůd třešní v průběhu sezony

	12.05.2022	25.05.2022	13.06.2022	29.06.2022	14.07.2022	15.09.2022
Kultivar	<i>trans</i>	<i>trans</i>	<i>trans</i>	<i>trans</i>	<i>trans</i>	<i>trans</i>
Amid	0,906±0,007	0,888±0,023	0,53±0,012	0,246±0,012	0,446±0,009	0,244±0,003
Early Korvik	0,889±0,018	1,338±0,016	0,654±0,002	0,237±0,003	0,648±0,003	0,236±0,001
Jacinta	0,441±0,002	0,741±0,027	0,263±0,001	0,234±0,0004	0,333±0,002	0,309±0,0001
Justýna	0,894±0,031	1,218±0,003	0,349±0,005	0,234±0,0002	0,669±0,018	0,327±0,01
Kordia	0,705±0,006	1,227±0,038	0,53±0,004	0,236±0,001	0,612±0,002	0,489±0,003
Regina	0,574±0,009	1,743±0,009	0,295±0,004	0,236±0,001	0,54±0,002	0,261±0,001

V grafu 20 je znázorněn naměřený celkový obsah ABA u odrůd třešní ve stanovených termínech sběru rostlinného materiálu. Podobně jako u meruněk i u třešní byl nejvyšší nárůst ABA v termínu odběru 1 a 2. Během termínu 1 byla naměřena nejvyšší hodnota u odrůd 'Justyna' a 'Early Korvik'. U termínu 2 byla nejvyšší hladina ABA u odolných odrůd 'Amid' a 'Regina'. V dalších termínech odběru 3 a 4a byl výrazný pokles obsahu ABA. Během odběru 3 byl zaznamenán u odrůdy 'Amid' zhruba 3násobný a odrůdy 'Regina' zhruba 5,5násobný pokles. Při tomto odběru došlo u odrůd 'Early Korvik' a 'Kordia' přibližně k 2násobnému poklesu ABA a u odrůdy 'Justyna' zhruba k 3,5násobnému poklesu. Množství ABA se mírně zvýšilo u všech odrůd během odběru 4b, avšak na konci vegetační sezony u odběru 6 byl opět znatelný její pokles.



Graf 20: Obsah kyseliny abscisové (ng/g č. hm.) u vybraných odrůd třešní v průběhu sezony. Sloupce označené stejnými písmeny nevykazují statisticky významný rozdíl dle Tukeyova testu na hladině spolehlivosti $p < 0,05$.

4 Diskuse

V diplomové práci byly po dobu vegetační sezony sledovány hladiny akumulace osmoticky aktivních látek a fytohormonu kyseliny abscisové u ovocných dřevin. U stromů byly pozorovány rozdíly mezi odolnými a citlivými odrůdami vůči abiotickému stresu.

Rostliny jsou neustále vystavovány různým druhům stresů. Úbytek srážek a stoupající průměrné teploty snižují ukládání vody v půdě, což způsobuje stres ze sucha (Jiroutová a Kovalíková 2021). Sucho vede u rostlin k osmotickému stresu, což je jeden z hlavních abiotických stresových faktorů, který negativně ovlivňuje růst rostlin a zemědělskou produkci na celém světě. Reakce rostlin na abiotický stres jsou složité a zahrnují fyziologické a biochemické mechanismy. Proti vodnímu stresu se podílí celá řada fyziologických mechanismů. Významná osmotická úprava je klíčová pro udržení buněčného turgoru rostlin. Během tohoto mechanismu rostliny syntetizují osmotické látky, kterými jsou například prolin či sacharidy a cukerné alkoholy (Centritto 2005, Jiroutová a Kovalíková 2021).

Rozpustné sacharidy či cukerné alkoholy zastávají v rostlinách celou řadu významných funkcí. Jejich akumulace se může použít jako indikátor pro hodnocení tolerance rostlin vůči stresu (Jiroutová a Kovalíková 2021). V rámci diplomové práce byla sledována akumulace sacharidů a cukerných alkoholů během vegetační sezony. U meruněk bylo nejvyšší zastoupení laktózy a stachyózy, zatímco u třešní byl nejvyšší obsah glukózy, laktózy a stachyózy. Z cukerných alkoholů bylo nejvyšší zastoupení sorbitolu.

Ve studii Nemeskéri *et al.* (2015) se zkoumal vliv sucha na obsah sacharidů v listech jabloní. Bylo zjištěno, že během krátkodobého sucha se v listech koncentruje vyšší obsah glukózy a fruktózy. Naopak během dlouhodobějšího sucha je v listech vyšší obsah sacharózy. Při našem měření byl obsah fruktózy během všech odběrů celkem vyrovnaný. Mírný nárůst byl zaznamenán u odrůd meruněk 'Betinka' a 'Harcot' a u odrůdy třešní 'Jacinta' během posledního termínu odběru. S nástupem sucha od poloviny července (Příloha 5) se však začala zvyšovat hladina glukózy jak u meruněk, tak třešní. Zvýšený obsah glukózy i fruktózy by mohl znamenat začátek adaptace rostlin na nedostatek srážek. Zvýšené hodnoty

sacharózy byly viditelné během posledního termínu odběru především u odrůd třešní 'Amid', 'Early Korvik' a 'Jacinta' a u odrůdy meruněk 'Leskora'. Poslední odběr byl v období, kdy stále převládalo období bez srážek. Z toho důvodu je možné, že v reakci na delší dobu sucha se zvýšil obsah sacharózy. Naopak míra glukózy u třešní se během posledního termínu odběru snížila.

Ve studii Dichio *et al.* (2009) byly sledovány koncentrace sacharidů u olivovníků během vodního stresu. Od začátku sucha bylo zaznamenáno postupné zvýšení glukózy a fruktózy. Jejich hodnoty však s delším trváním sucha klesaly. Podobně i u našeho měření začalo postupné zvyšování glukózy s nástupem sucha. Ve studii Dichio *et al.* (2009) byly nejvyšší hodnoty sacharózy na začátku a na konci suché periody. Během našich měření byla nejvyšší koncentrace sacharózy u některých odrůd na konci sezony. Celkově však během vegetační sezony byly hodnoty sacharózy jedny z nejnižších. Dalšími sacharidy s menším zastoupením byly rafinóza, fruktóza a cukerný alkohol glycerol. Ve studii s olivovníky byl nejnižší obsah rafinózy, galaktózy a stachyózy (Dichio *et al.* 2009). V porovnání s našimi výsledky měla stachyóza společně s laktózou a glukózou nejvyšší zastoupení.

Bianco *et al.* (2000) sledovali vliv sucha na metabolismus sorbitolu a sacharózy u broskví. Ty byly rozděleny do tří skupin, podle rozdílného množství přísunu vody. Akumulace sorbitolu ve zralých listech stresovaných rostlin byla zpozorována po dvou týdnech od začátku působení sucha. Sorbitol se podílel na osmotické úpravě a obecně se jeho nárůst pohyboval okolo 63-80 % ve zralých listech. V porovnání se sorbitolem byly hodnoty obsahu sacharózy 4-8krát nižší. Sacharóza se v listech během stresu hromadila pouze příležitostně, a to např. na konci období sucha. Příspěvek sacharózy k osmotické úpravě nebyl nikdy větší než 12 %. Další cukry jako fruktóza nebo glukóza nevykazovaly žádnou specifickou odpověď na sucho. Během naší analýzy cukrů nebyly rozdíly v obsahu sorbitolu a sacharózy tak zjevné jako ve studii Bianco *et al.* 2000, i když během vegetační sezony byly výskyty sušších bezsrážkových period (Příloha 5). Výraznější nárůst nastal až koncem sezony, což mohlo mít souvislost také s postupnou akumulací metabolitů ve stárnoucích listech. Oproti tomu byl však naměřen vyšší obsah glukózy, laktózy a stachyózy.

V Malajsii probíhal experiment sledující rozdíly v obsahu nestrukturálních sacharidů u senzitivního druhu rostliny *Shorea parvifolia* Dyer a u odolného druhu *S. beccariana* Burck. Mezi těmito druhy byly objeveny rozdíly v alokaci sacharidů. Druhy senzitivní na sucho udržovaly větší množství sacharidů v listech, zatímco tolerantní druhy měly vyšší obsah sacharidů ve stoncích. Dlouhotrvající sucho brzdí růst a způsobuje odumírání listů. Z toho důvodu je možné, že tolerantní druhy měly vyšší akumulaci sacharidů ve stoncích. Z výsledků experimentu se akumulace sacharidů ve stoncích může brát jako strategie v reakci na sucho (O'Brien 2020).

Podobně jako sacharidy má během působení stresoru významnou funkci prolin. Prolin je cyklická aminokyselina, která je za normálních podmínek součástí proteinů. Za stresových podmínek zastává významnou roli jednoho z nehojnějších osmoprotektiv. Akumulace prolinu v rostlinách může být použita jako fyziologický indikátor odolnosti rostlin ke stresu (Jiroutová a Kovalíková 2021). Během našeho sledování byla akumulace prolinu během celé vegetační sezony poměrně vyrovnaná, i když docházelo k nerovnoměrnému rozložení srážek (Příloha 5). U některých odrůd byly během termínů odběru viditelné zvýšené hodnoty prolinu. Ty by mohly nasvědčovat možné toleranci či aklimatizaci rostlin vůči stresovým podmínkám. Dynamika obsahu byla však především u odrůd třešní vyrovnaná a nelze tak hodnotit rozdíly mezi odolnými a senzitivními druhy.

Během studie Arndt *et al.* (2001) byla sledována akumulace prolinu v rámci sucha u rostliny *Ziziphus rotundifolia*. Zjistilo se postupné zvyšování prolinu v listech v období nedostatku vody. V rámci našeho sledování byl obsah prolinu u třešní během všech odběrů relativně podobný a nebyly zaznamenány výrazné odchylky. U meruněk zejména u odrůd 'Harcot', 'Harogem' a 'Betinka' byl vyšší obsah prolinu naměřen během prvního termínu. Důvodem mohl být nižší úhrn srážek v období dubna a začátku května (Příloha 5). Během vegetační sezony byl u odrůdy 'Sophinka' viditelný postupný nárůst prolinu, který byl nejvyšší během termínu 6. Důvodem mohlo být přizpůsobení se stromů na nedostatek srážek, který panoval od poloviny července.

Jiménez *et al.* (2013) sledovali ve své práci reakce podnoží *Prunus* na stres ze sucha. Podnože byly rozděleny do dvou skupin, konkrétně na skupinu

vystavenou suchu a skupinu zavlažovanou. Vzorčky pro analýzu cukrů a prolinu se odebíraly po 16 a 28 dnech. Po uplynulých 16 dnech nebyly ovlivněny koncentrace cukrů ani prolinu v listech u rostlin vystavených vodnímu deficitu. Výraznější rozdíly byly zjištěny po 26 dnech vodního stresu v koncentracích rozpustných cukrů (kromě glukózy) a prolinu. U rostlin byla zvýšená koncentrace sorbitolu, a naopak došlo ke snížení obsahu sacharózy. Vysoká koncentrace sorbitolu může být jako jedna z hlavních součástí osmotické úpravy. Sucho rovněž způsobilo hromadění prolinu, který mohl být využíván rostlinami jako toleranční mechanismus. Během měření celková míra obsahu prolinu korelovala s tolerancí rostlin vůči stresu.

Sofo *et al.* (2004) sledovali ve své práci akumulaci prolinu v listech olivovníku během reakcí na stres ze sucha. Pokusy byly prováděny po dobu 20 dnů na stromech rozdělených do dvou skupin, a to na rostliny vystavené suchu a na rostliny se závlahou. Obsah prolinu se v listech zvýšil ve vztahu k závažnosti stresu. Rozdíly obsahu prolinu začínaly být mezi stresovanými a nestresovanými rostlinami výraznější od 12 dne experimentu. Vyšší hodnoty prolinu byly naměřeny u olivovníků vystavených suchu zejména na konci experimentu více jak 2násobně. Akumulace prolinu v rostlinách mohla naznačovat možnou roli v toleranci k suchu.

Kyselina abscisová zaujímá rovněž důležitou roli při integraci se stresovými signály a při kontrole následných reakcí na vodní stres. ABA modifikuje kořenové hydraulické vlastnosti, které byly způsobeny nerovnováhou mezi kořenovým příjmem vody a transpirací v listech. ABA díky svým vlastnostem plní významnou funkci v regulaci vodní rovnováhy rostlin (Salazar-Parra *et al.* 2015).

V průběhu našeho sledování byly u odrůd třešní nejvyšší hodnoty ABA v prvních dvou termínech. V následujících odběrech obsah ABA u všech odrůd výrazně klesl. U meruněk byl nejvyšší obsah ABA především během termínu 2. V následujících termínech se koncentrace ABA snížila a opětovně se zvýšila na konci vegetační sezony. Zvýšené hodnoty mohou nasvědčovat možné aklimatizaci či toleranci vůči nedostatkům srážek, které byly na začátku i na konci vegetační doby. Rozdíly mezi odolnými a senzitivními odrůdami stromů však nebyly zcela jednotné.

Kowitcharoen *et al.* (2015) sledovali obsah ABA u dvou skupin jabloní. První skupinu tvořily jabloně se zavlažováním naopak ve druhé skupině byly stromy vystavené suchu. Po dobu experimentu byl sledován vliv sucha na koncentraci ABA v rostlinách. Již od začátku pokusu byla akumulace ABA vyšší u stromů pod vlivem stresu. Během 7. dne experimentu bylo zpozorováno výrazné zmenšení stomatálního otvoru u rostlin vystavených suchu. Koncentrace hormonu dosáhla svého vrcholu v průběhu 26. dne experimentu. Po jeho ukončení, kdy byla stresovaným rostlinám poskytnuta závlaha, hladina ABA prudce klesla. Celkově byly zjištěny rozdíly, které poukazovaly na vyšší hladiny ABA u rostlin vystavených stresu.

Obsah ABA byl rovněž studován na pomerančovnicích, které byly vystaveny suchu. Roubované pomerančovničky byly rozděleny do dvou skupin, a to na rostliny se závlahou a na rostliny vystavené suchu. Na začátku pokusů, kdy započal vodní stres, byla koncentrace ABA nízká. Během postupného vysychání substrátu se začal zvyšovat obsah ABA v kořenech rostlin vystavených suchu. Z kořenů byla ABA dál translokována do výhonků a akumulována v listech, kde iniciovala uzavření průduchů. Během pokusu byl sledován vztah mezi ABA a vodním potenciálem. S klesajícím vodním potenciálem se zvyšovala koncentrace ABA v listech. Z pokusu vyplivalo že v momentě, kdy vodní potenciál dosáhl záporných hodnot $-1,0$ MPa a nižších, došlo k uzavírání stomat (Gomes *et al.* 2004).

Závěr

Enviromentální stresy ovlivňují růst, vývojové procesy a metabolismus rostlin. Nicméně rostliny mají různé mechanismy, které jim napomáhají stres tolerovat, či se na něj adaptovat. V teoretické části diplomové práce byly popsány osmotické látky (prolin, sacharidy, cukerné alkoholy) a fytohormon kyselina abscisová, které se podílejí na celkovém mechanismu posilujícího odolnost rostlin vůči abiotickému stresu.

V praktické části byly sledovány hladiny koncentrace osmotických látek a ABA v odrůdách meruněk a třešní během vegetační sezony. Od obou dřevin byly poskytnuty odrůdy senzitivní a tolerantní vůči abiotickému stresu. Z každé odrůdy se během stanovených termínů odebraly vzorky listů.

Jako zástupci sacharidů byly zvoleny fruktóza, glukóza, sacharóza, laktóza, stachyóza, rafinóza, a zástupci cukerných alkoholů byly glycerol a sorbitol. V meruňkách byl ze sacharidů nejvyšší obsah laktózy a stachyózy a z cukerných alkoholů byly nejvyšší hodnoty sorbitolu. U třešní byl ze sacharidů nejvyšší obsah glukózy, laktózy a stachyózy a z cukerných alkoholů byla rovněž vyšší míra sorbitolu. Vyšší hodnoty některých sacharidů a cukerných alkoholů mohly značit adaptaci či aklimatizaci rostlin vůči stresovým podmínkám. Během vegetační sezony byly rozdíly obsahu sacharidů a cukerných alkoholů u každé odrůdy rozličné. Nelze tak usoudit ucelený závěr o rozdílech mezi senzitivními a odolnými odrůdami meruněk a třešní.

Během vegetační sezony byla dynamika prolinu u všech odrůd meruněk celkem vyrovnaná. Nejvyšší hodnoty byly naměřeny při prvním termínu. V následujících odběrech byl zaznamenán mírný pokles koncentrace prolinu. Hodnoty do konce sezony zůstávaly prakticky stejné a nebyly zaznamenány výrazné odchylky. Výjimkou byla odrůda 'Sophinka', jejíž množství prolinu začalo od termínu 4c do konce sezony růst. U odrůd třešní byla dynamika obsahu rovněž vyrovnaná. Mírný pokles hodnot byl zaznamenán během termínů 2, 3 a 6. Nejvyšší obsah prolinu byl naměřen u odrůdy 'Justyna' při termínu 4a a u odrůdy 'Regina' během termínu 4a a 4b. Během celé vegetační sezony však u třešní nebyla naměřena hodnota, která by se výrazně odchylovala od ostatních hodnot. Rozdíly mezi

citlivými a senzitivními odrůdami meruněk i třešní nebyly viditelné. Z toho důvodu nelze vyvodit ucelený závěr v rozdílech reakcí odrůd.

U meruněk byly nejvyšší hodnoty ABA během začátku vegetační sezony, zejména během termínu 2. Obsah ABA se v průběhu dalších termínů snížil a k opětovnému nárůstu došlo až v posledních termínech odběru, zejména v odběru 4d a 6. Podle rozložení srážek byly od zhruba poloviny července do posledního termínu odběrů nulové srážky. V reakci na tyto podmínky mohlo dojít k opětovnému nárůstu hodnot ABA během posledních dvou odběrů. U třešní byly podobně jako u meruněk naměřeny nejvyšší hodnoty během termínů 1 a 2. Při dalších odběrech byly koncentrace ABA nižší. Meruňky i třešně měly nejvyšší koncentraci během prvních dvou termínů odběru. Důvodem může být nedostatek srážek, který byl před prvním termínem odběru. Je tedy možné, že v reakci na nedostatek srážek začaly stromy akumulovat zvýšené množství ABA. Pokles ABA v dalších odběrech mohl u všech stromů být z důvodu častějšího výskytu srážek, a to zejména v období od konce května do poloviny července. Naměřené hodnoty obsahu ABA byly během termínu 2 nejvyšší u odrůd 'Amid' a 'Regina'. Významné rozdíly mezi odolnými a senzitivními odrůdami třešní a meruněk během celé vegetační sezony nebyly. Z toho důvodu nelze vypovědět ucelený závěr o rozdílech mezi odolnými a senzitivními druhy.

Seznam použité literatury

- 1) Ábrahám, E.; Cabassa, C.; Erdei, L.; Szabados, L. (2010). Methods for Determination of Proline in Plants. In: Walker, J. M. (ed). Methods in molecular biology. Humana Press, New Jersey, pp. 317-331.
- 2) Ahmad, P.; Jaleel, C. A.; Salem, M. A.; Nabi, G.; Sharma, S. (2010). Roles of Enzymatic and Non-enzymatic Antioxidants in Plants During Abiotic Stress. *Critical Reviews in Biotechnology*. 30(1): 161-175.
- 3) Ali, S.; Hayat, K.; Iqbal, A.; Xie, L. (2020). Implications of Abscisic Acid in the Drought Stress Tolerance of Plants. *Agronomy*. 10(9): 1323.
- 4) Anjum, S. A.; Ashraf, U.; Zohaib, A.; Tanveer, M.; Naeem, M.; Ali, I.; Tabassum, T.; Nazir, U. (2017). Growth and Developmental Responses of Crop Plants under Drought Stress: a Review. *Zemdirbyste-Agriculture*. 104(3): 267-276.
- 5) Anjum, S. A.; Xie, X.; Wang, L.; Saleem, M. F.; Man, C.; Lei, W. (2011). Morphological, Physiological and Biochemical Responses of Plants to Drought Stress. *African Journal of Agricultural Research*. 6(9): 2026-2032.
- 6) Apel, K.; Hirt, H. (2004). Reactive Oxygen Species: Metabolism, Oxidative Stress, and Signal Transduction. *Annual Review of Plant Biology*. 55(1): 373-99.
- 7) Arndt, S. K.; Clifford, S. C.; Wanek, W.; Jones, H. G.; Popp, M. (2001). Physiological and Morphological Adaptations of the Fruit tree *Ziziphus rotundifolia* in Response to Progressive Drought stress. *Tree Physiology*. 21: 705-715.
- 8) Asghar, M. A.; Li, Y.; Jiang, H.; Sun, X.; Ahmad, B.; Imran, S.; Yu, L.; Liu, C.; Yang, W.; Du, J. (2019). Crosstalk between Abscisic Acid and Auxin under Osmotic Stress. *Agronomy Journal*. 111(5): 2157-2162.
- 9) Aslam, M. M.; Waseem, M.; Jakada, B. H.; Okal, E. J.; Lei, Z.; Saqib, H. S. A.; Yuan, W.; Xu, W.; Zhang, Q. (2022). Mechanisms of Abscisic Acid-Mediated Drought Stress Responses in Plants. *International Journal of Molecular Science*. 23(3): 1084.
- 10) Bailey-Serres, J.; Mittler, R. (2006) The Roles of Reactive Oxygen Species in Plant Cells. *Plant Physiology*. 141(2): 311.

- 11) Bhattacharya, S.; Kundu, A. (2020). Sugars and Sugar Polyols in Overcoming Environmental Stresses. In: Roychoudhury, A.; Tripathi, D. K. (eds). Protective Chemical Agents in the Amelioration of Plant Abiotic Stress: Biochemical and Molecular Perspectives. John Wiley and Sons Ltd, Hoboken, pp 71-101.
- 12) Bianco, R. L.; Rieger, M.; Sung, S-J. S. (2000) Effect of drought on sorbitol and sucrose metabolism in sinks and sources of peach. *Physiologia Plantarum*. 108: 71-78.
- 13) Bijalwan, P.; Sharma, M.; Kaushik, P. (2022). Review of the Effects of Drought Stress on Plants: A Systematic Approach [online]. [cit. 15. 2. 2023]. Dostupné z: <https://www.preprints.org/manuscript/202202.0014/v1>
- 14) Boček, S. (2008). *Ovocné dřeviny v krajině. Sborník přednášek a seminárních prací*. Veronica, Hostětín. ISBN: 978-80-904109-2-3
- 15) Carillo, P.; Gibon, Y. (2021). Protocol: Extraction and Determination of Proline. Dostupné z: https://www.academia.edu/23291405/PROTOCOL_Extraction_and_determination_of_proline
- 16) Centritto, M. (2005). Photosynthetic Limitations and Carbon Partitioning in Cherry in Response to Water Deficit and Elevated [CO₂]. *Agriculture Ecosystems & Environment*. 106(2): 233-242.
- 17) Charrez, B.; Qiao, L.; Hebbard, L. (2015). The Role of Fructose in Metabolism and Cancer. *Hormone Molecular Biology and Clinical Investigation*. 22: 79-89.
- 18) Chen, K.; Li, G. J.; Bressan, R. A.; Song, C. P.; Zhu, J. K.; Zhao, Y. (2020). Abscisic Acid Dynamics, Signaling and Functions in Plants. *Journal of Integrative Plant Biology*. 62(1): 25-54.
- 19) Chen, M.; Zhang, W.; Wu, H.; Guang, C.; Mu, W. (2020). Mannitol: Physiological Functionalities, Determination Methods, Biotechnological Production, and Applications. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 104: 6941-6951.
- 20) Chiu, P. L.; Kelly, D.; Walz, T. (2011). The Use of Trehalose in the Preparation of Specimens for Molecular Electron Microscopy. *Micron*. 42: 762-772.
- 21) Choudhury, F. K.; Rivero, R. M.; Blumwald, E.; Mittler, R. (2017). Reactive Oxygen Species, Abiotic Stress and Stress Combination. *The Plant Journal*. 90(5): 856-867.

- 22) Dai, W. (2019) *Stress Physiology of Woody Plants*. CRC Press, Boca Raton. ISBN: 9780429190476
- 23) Das, K.; Roychoudhury, A. (2014) Reactive Oxygen Species (ROS) and Response of Antioxidants as ROS-Scavengers During Environmental Stress in Plants. *Frontiers in Environmental Science*. 2(53).
- 24) Dichio, B.; Margiotta, G.; Xiloyannis, C.; Bufo, S. A.; Sofò, A.; Cataldi, T. R. I. (2009). Changes in Water Status and Osmolyte Contents in Leaves and Roots of Olive Plants (*Olea europaea* L.) Subjected to Water Deficit. *Trees*. 23: 247-256.
- 25) Dmitrieva, V. A.; Tyutereva, E.V.; Voitsekhovskaja, O. V. (2020). Singlet Oxygen in Plants: Generation, Detection, and Signaling Roles. *International Journal of Molecular Sciences*. 21(9): 3237.
- 26) Endo, A.; Okamoto, M.; Koshiha, T. (2014). ABA Biosynthetic and Catabolic Pathways. In: Zhang, D. P. (ed). *Abscisic Acid: Metabolism, Transport and Signaling*. Springer, Dordech, pp. 21-45.
- 27) Farooq, M.; Hussain, M.; Wahid, A.; Siddique, K. H. M. (2012). Drought Stress in Plants: An Overview. In: Aroca, R. (ed). *Plant Responses to Drought Stress: From Morphological to Molecular Features*. Springer, Berlin, pp. 1-33.
- 28) Farooq, M.; Wahid, A.; Kobayashi, N.; Fujita, D.; Basra, S. (2009). Plant Drought Stress: Effects, Mechanisms and Management. *Agronomy for Sustainable Development*. 29: 185-2012
- 29) Fry, S.C.; Aldington, S.; Hetherington, P.R.; Aitken, J. (1993). Oligosaccharides as Signals and Substrates in the Plant Cell Wall. *Plant Physiology*. 103(1): 1-5.
- 30) Gangola, M. P.; Ramadoss, B. R. (2018). Sugars Play a Critical Role in Abiotic Stress Tolerance in Plants. In: Wani S. H. (ed). *Biochemical, Physiological and Molecular Avenues for Combating Abiotic Stress Tolerance in Plants*. Academic Press, London, pp. 17-38.
- 31) Gomes, M. M. A.; Lagôa, A. M. M. A.; Medina, C. L.; Machalido, E. C.; Machado, M. A. (2004). Interactions between Leaf Water Potential, Stomatal Conductance and Abscisic Acid Content of Orange Trees Submitted to Drought Stress. *Brazilian Journal of Plant Physiology*. 16 (3): 155-161.

- 32) Hasanuzzaman, M.; Bhuyan, M. H. M.; Zulfiqar, F.; Raza, A.; Mohsin, S.; Mahmud, J. A.; Fujita, M.; Fotopoulos, V. (2020). Reactive Oxygen Species and Antioxidant Defense in Plants Under Abiotic Stress: Revisiting the Crucial Role of a Universal Defense Regulator. *Antioxidants*. 9(8): 681.
- 33) Hossain, M. A.; Wani, S. H.; Bhattacharjee, S.; Burrit, D. J.; Tran L-S. P. (2016) *Drought Stress Tolerance in Plants, Volume 1: Physiology and Biochemistry*. Springer, Switzerland. ISBN: 978-3-319-28897-0
- 34) Ishaku, G. A.; Tizhe, D. T.; Bamanga, R.; Afolabi, E. T. (2020). Biotechnology and Drought Stress Tolerance in Plants. *Asian Plant Research Journal*. 5(2): 34-46.
- 35) Jiménez, S.; Dridi, J.; Gutiérrez, D.; Moret, D.; Irigoyen, J. J.; Moreno, M. A.; Gogorcena, Y. (2013). Physiological, biochemical and molecular responses in four *Prunus* rootstocks submitted to drought stress. *Tree Physiology*. 33: 1061-1075.
- 36) Jiroutová, P.; Kovalíková, Z. (2021). Certifikovaná metodika odolnosti ovocných plodín k suchu v *in vitro* podmíenkách. Výzkumný a šlechtitelský ústav ovocnářský Holovousy s.r.o., Hořice.
- 37) Jiroutová, P.; Kovalíková, Z.; Toman, J.; Dobrovolná, D.; Andrys, R. (2021). Complex Analysis of Antioxidant Activity, Abscisic Acid Level, and Accumulation of Osmotica in Apple and Cherry In Vitro Cultures under Osmotic Stress. *International Journal of Molecular Sciences*. 22(15): 7922.
- 38) Jung, T. S.; Hahm, J. R.; Kim, J. J.; Jung J. H.; Kang, M. Y.; Moon, S. W.; Lee, K. W.; Kim, H. C.; Lee, J. D.; Kim, J. H.; Kim, D. R.; Chung, S. I. (2005). Determination of Urinary *Myo-/Chiro*-Inositol Ratios from Korean Diabetes Patients. *Yonsei Medical Journal*. 46(4):532-538.
- 39) Kalra, G.; Bhatla, S. C. (2018). Abscisic Acid. In: Bhatla, S. C.; Lal, M. A. (eds). *Plant Physiology, Development and Metabolism*. Springer, Singapore, pp. 629-641.
- 40) Keunen, L.; Pashev, D.; Vangronsveld, J.; Van Ende, W.; Cuypers, A. (2013). Plant Sugars are Crucial Players in the Oxidative Challengeduring Abiotic Stress: Extending the Traditional Concept. *Plant, Cell and Environment*. 36: 1242-1255.

- 41) Khati, P.; Mishra, P. K.; Parihar, M.; Singh, A. K.; Bisht, J. K.; Pattanayak, A. (2020). Drought Stress Tolerance: An Insight to Resistance Mechanism and Adaptation in Plants. In: Sharma, A. (ed). *Microbes and Signaling Biomolecules Against Plant Stress*. Springer, Singapore, pp. 183-197.
- 42) Kochhar, S. L.; Gujral, S. K. (2020) *Plant Physiology: Theory and Applications*. Cambridge University Press, Cambridge. ISBN: 978-1-108-48639-2
- 43) Kosova, K.; Vıtamvas, P.; Prasıl, I. T.; Renaut, J. (2011). Plant Proteome Changes under Abiotic Stress-Contribution of Proteomics Studies to Understanding Plant Stress Response. *Journal of Proteomics*. 74(8): 1301-1322.
- 44) Kowitcharoen, L.; Wongs-Aree, C.; Seta, S.; Komkhuntod, R.; Srialong, V.; Kondo, S. (2015). Changes in abscisic acid and antioxidant activity in sugar apples under drought conditions. *Scientia Horticulturae*. 193: 1-6.
- 45) Liang, X.; Zhang, L.; Natarajan, S. K.; Becker, D. F. (2013). Proline Mechanisms of Stress Survival. *Antioxidants and Redox Signaling*. 19(9): 998-1011.
- 46) Lichtenthaler, H. K. (1998). The Stress Concept in Plants: An Introduction. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 851(1): 187-198.
- 47) Lim, C. W.; Baek, W.; Jung, J.; Kim, J. H.; Lee, S. C. (2015). Function of ABA in Stomatal Defense against Biotic and Drought Stresses. *International Journal of Molecular Sciences*. 16(7): 15251–15270.
- 48) Lozano-Juste, J.; Alrefaei, A. F.; Rodriguez, P. L. (2020). Plant Osmotic Stress Signaling: MAPKKs Meet SnRK2s. *Trends in Plant Science*. 25(12):1179-1182.
- 49) Meier, U. (2001). *Growth Stages of Mono and Dicotyledonous Plants*. BBCH Monograph. Federal Biological Research Centre for Agriculture and Forestry, Bonn.
- 50) Meier, U.; Bleiholder, H.; Buhr, L.; Feller, C.; Hack, H.; Heß, M.; Lancashire, P. D.; Schnock, U.; Strauß, R.; Boom, T.; Weber, E.; Zwerger, P. (2009). The BBCH system to coding the phenological growth stages of plants-history and publications. *Journal fur Kulturpflanzen*. 61(2): 41-52.
- 51) Meyer, T. S. M.; Miguel, . S. M.; Fernandez, D. E. R.; Ortiz, G. M. D. (2015). Biotechnological Production of Oligosaccharides — Applications in the Food Industry. In: Eissa, A. H. A (ed). *Food Production Industry*. IntechOpen, London, pp. 25-78.

- 52) Minhas, P. S.; Rane, J.; Pasala, R. K. (2017). Abiotic Stress in Agriculture: An Overview. In: Minhas, P.; Rane, J.; Pasala, R. (eds). Abiotic Stress Management For Resilient Agriculture. Springer, Singapore, pp. 3-8. ISBN 978-981-10-5743-4
- 53) Moudrý, J.; Moudrý, J.; Chovanec, T.; Hudcová, E. (2019). Malofaremní hospodaření. Bioinstitut. České Budějovice. ISBN: 978-80-87371-36-7
- 54) Munnik, T.; Meijer, H. J. G. (2001). Osmotic Stress Activates Distinct Lipid and MAPK Signalling Pathways in Plants. FEBS Letters. 498(2-3):172-178.
- 55) Muzaffar, A.; Arif, U.; Akram, F.; Batool, F.; Hassan, S.; Rashid, B. (2022). Abiotic Stress: Interplay Between ROS Production and Antioxidant Machinery, Signaling, and ROS Homeostasis. OBM Genetics. 6(4): 171.
- 56) Nemeskéri, E.; Kovács-Nagy, E.; Nyéki, J.; Sárdi, É. (2015). Response of Apple Tree Cultivars to Drought: Carbohydrate Composition in the Leaves. Turkish Journal of Agriculture and Forestry. 39(6): 949-957.
- 57) Nuccio, M. L.; Rhodes, D.; McNeil, S. D.; Hanson, A. (1999). Metabolic Engineering of Plants for Osmotic Stress Resistance. Plant Biology. 2: 128-134.
- 58) O'Brien, M. J.; Valtat, A.; Abiven, S.; Studer, M.; Ong, R.; Schmid, B. (2020). The Role of Soluble Sugars During Drought in Tropical Tree Seedlings with Contrasting Tolerances. Journal of Plant Ecology. 13: 389-397.
- 59) Pallardy, S. G. (2008). Physiology of Woody Plants. Academic Press, San Diego. ISBN: 978-0-12-088765-1
- 60) Pashev, D.; Vergauwen, R.; Moglia, A.; Hideg, É.; Van Ende, W. (2013). Towards understanding vacuolar antioxidant mechanisms: a role for fructans? Journal of Experimental Botany. 64(4): 1025-1038.
- 61) Per, T. S.; Khan, N. A.; Reddy, P. S.; Masood, A.; Hasanuzzaman, M.; Khan, M. I. R.; Anjum, N. A. (2017). Approaches in Modulating Proline Metabolism in Plants for Salt and Drought Stress Tolerance: Phytohormones, Mineral Nutrients and Transgenics. Plant Physiology and Biochemistry. 115: 126-140.
- 62) Pleyerová, I.; Hamet, J.; Konradova, H.; Lipavská, H. (2022). Versatile Roles of Sorbitol in Higher Plants: Luxury Resource, Effective Defender or Something Else?. Planta 256(1): 13.
- 63) Procházka, S.; Macháčková, I.; Krekule, J.; Šebánek, J. (1998). Fyziologie rostlin. Academia, Praha. ISBN 80-200-0586-2.

- 64) Rajput, V. D.; Harish; Singh, R. K.; Verma, K. K.; Sharma, L.; Quiroz-Figueroa, F. R.; Meena, M.; Gour, V. S.; Minkina, T.; Sushkova, S.; Mandzhieva, S. (2021). Recent Developments in Enzymatic Antioxidant Defence Mechanism in Plants with Special Reference to Abiotic Stress. *Biology*. 10(4): 267.
- 65) Rehman, R. S.; Ali, M.; Zafar, S.; Hussain, M.; Pasha, A.; Naveed, M.; Ahmad, M.; Waseem, M. (2022) Abscisic Acid Mediated Abiotic Stress Tolerance in Plants. *Asian Journal of Research in Crop Science*. 7(1): 1-17.
- 66) del Río, L. A.; López-Huertas, E. (2016). ROS Generation in Peroxisomes and its Role in Cell Signaling. *Plant and Cell Physiology*. 57(7): 1364-1376.
- 67) Rowe, J. H.; Topping, J. F.; Liu, J.; Lindsey, K. (2016). Abscisic Acid Regulates Root Growth under Osmotic Stress Conditions via an Interacting Hormonal Network with Cytokinin, Ethylene and Auxin. *New Phytologist*. 211(1): 225-239.
- 68) Salaš, P.; Lužný, J. (2004). Important Personalities of Czech Fruit Plant Research and Breeding. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis*. 52(2): 139-142.
- 69) Salazar-Parra, C.; Hernández, C.; Pino, M. T. (2015). Plant Water Stress: Associations between Ethylene and Abscisic Acid Response. *Chilean Journal of Agricultural Research*. 75(1): 71-79.
- 70) Seo, M.; Koshiha, T. (2002). Complex Regulation of ABA Biosynthesis in Plants. *Trends in Plant Science*. 7(1): 41-8.
- 71) Shabala, S. (2017). *Plant Stress Physiology*. CABI, Wallingford. ISBN 13: 978 1 78064 729 6.
- 72) Singh, A.; Roychoudhury, A. (2023). Abscisic Acid in Plants under Abiotic Stress: Crosstalk with Major Phytohormones. *Plant Cell Report*. 42(4).
- 73) Singh, P.; Sharma, A.; Sharma, J. (2020). Stress Physiology in Plants. Reforms in Agriculture and Ruraldevelopment under Covid-19 Pandemic. *Society of Human Resource and Innovation*, pp. 175-186.
- 74) Singh, S. K. (2018). Sucrose and Trehalose in Therapeutic Protein Formulations. In: Warne, N. W.; Mahler, H. C. (eds). *Challenges in Protein Product Development*. AAPS Advances in the Pharmaceutical Sciences Series, vol 38. Springer, Bearsden, pp. 63-95.

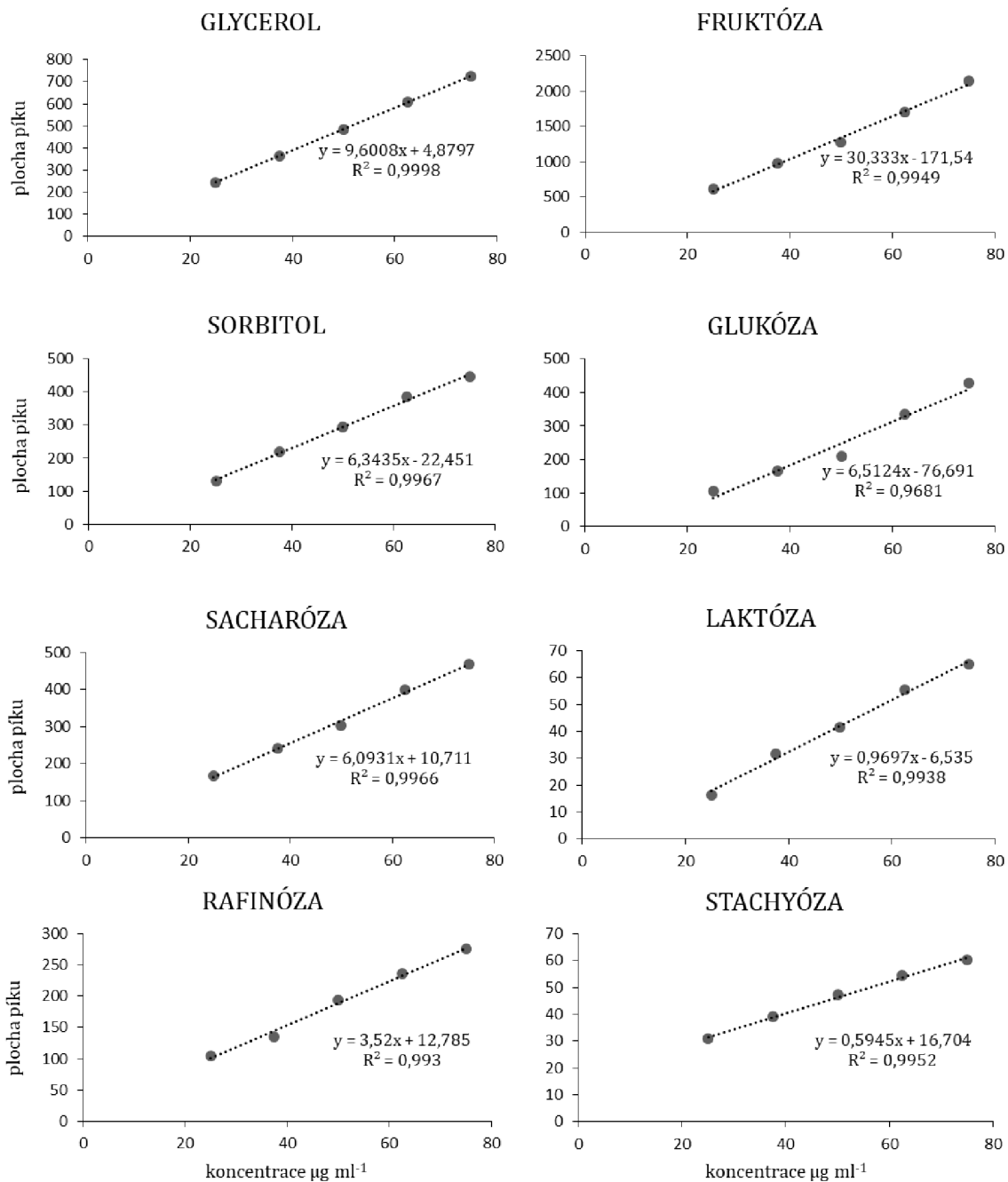
- 75) Singh, S.; Singh, P.; Tomar, R. S.; Sharma, R. A.; Singh, S. K. (2022). Proline: A Key Player to Regulate Biotic and Abiotic Stress in Plants. In: Rani, M.; Chaudhary, B. S.; Jamal, S.; Kumar, P. (eds). *Towards Sustainable Natural Resources*. Springer, Switzerland, pp. 333-346.
- 76) Sofo, A.; Dichio, B.; Xiloyannis, C.; Masia, A. (2004). Lipoyxygenase Activity and Proline Accumulation in Leaves and Roots of Olive Trees in Response to Drought Stress. *Physiologia Plantarum*. 121: 58-65.
- 77) Suprasanna, P.; Nikalje, G. C.; Rai, A. N. (2015). Osmolyte Accumulation and Implications in Plant Abiotic Stress Tolerance. In: Iqbal, N.; Khan, N. A.; Nazar, R. (eds). *Osmolytes and Plants Acclimation to Changing Environment: Emerging Omics Technologies*. Springer, India, pp. 1-12.
- 78) Suran, P. (2019). Odrůdy třešní vyšlechtěné ve VŠÚO Holovousy [online]. [cit. 16. 3. 2023]. Dostupné z: https://www.ctpz.cz/media/upload/1560324127_odrudy-tresni-vyslechtene-ve-vsuo-holovously.pdf
- 79) Suzuki, N.; Rivero, R. M.; Shhulaev, V.; Blumwald, E.; Mittler, R. (2014) Abiotic and Biotic Stress Combinations. *New Phytologist*. 203(1): 32-43.
- 80) Székely, G. (2007). Osmotic Stress in Plants. *Sciend*. 15: 5-25.
- 81) Taiz, L.; Zeiger, E. (2003). *Plant Physiology*. Sinauer, Sunderland. ISBN 0878938230
- 82) Tiwari, A.; Punetha, S.; Kesarwani, K. (2021) Drought Stress and its Impact on Plant Mechanism. *International Journal of Plant Sciences*. 16: 95-112.
- 83) Trovato, M.; Mattioli, R.; Costantino, P. (2008) Multiple Roles of Proline in Plant Stress Tolerance and Development. *Rendiconti Lincei, Scienze Fisiche e Naturali*. 19(4): 325-346.
- 84) Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský. (2020). Přehled odrůd ovoce [online]. [cit. 16. 3. 2023]. Dostupné z: <https://eagri.cz/public/web/ukzuz/portal/odrudy/informace-o-odrudadach/vysledky-zkouseni-odrudad/seznamy-doporucenych-odrudad/x2020/publikace/ovoce-2020.html>
- 85) Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský. (2023). Sklizeň ovoce v roce 2022 [online]. [cit. 19. 3. 2023]. Dostupné z: <https://eagri.cz/public/web/ukzuz/portal/sklizen-ovoce-v-roce-2022.html>

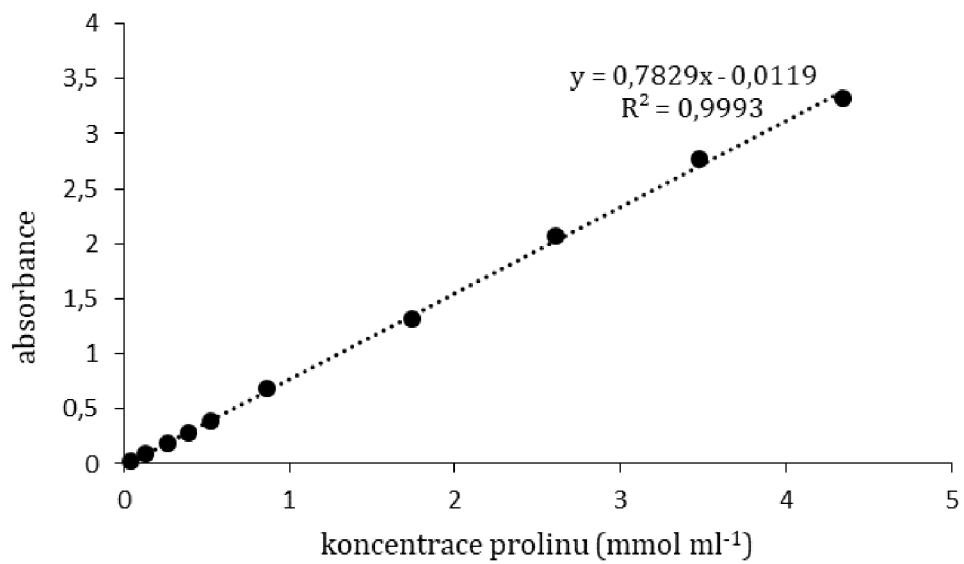
- 86) Vosnjak, M.; Mrzlic, D.; Hudina, M.; Usenik, V. (2021). The Effect of Water Supply on Sweet Cherry Phytochemicals in Bud, Leaf and Fruit. *Plants*. 10(6): 1131.
- 87) Vysloužil, J. (2015). Databáze odrůd ovocných dřevin [online]. [cit. 18. 3. 2023]. Dostupné z: http://jirivyslouzil.cz/databaze_ovoce/
- 88) Výzkumný a šlechtitelský ústav ovocnářský Holovousy s.r.o. (2023). Ovocnářská produkce a prodej [online]. [cit. 16. 3. 2023]. Dostupné z: <https://www.vsuo.cz/de/ovocnarska-produkce-a-prodej/stromky-a-kere-prostokoreenne-i-kontejnerovane>
- 89) Wang, Z.; Mambelli, S.; Setter, T. L. (2002). Abscisic Acid Catabolism in Maize Kernels in Response to Water Deficit at Early Endosperm Development. *Annals of Botany*. 90(5): 623-630.
- 90) Waszczak, C.; Carmody, M.; Kangasjärvi, J. (2018). Reactive Oxygen Species in Plant Signaling. *Annual Review of Plant Biology*. 69: 209-236.
- 91) Xiong, L.; Zhu, J-K. (2002). Molecular and Genetic Aspects of Plant Responses to Osmotic Stress. *Plant, Cell & Environment*. 25(2): 131-139.
- 92) Yang, J.; Zhang, J.; Li, C.; Zhang, Z.; Ma, F.; Li, M. (2019). Response of Sugar Metabolism in Apple Leaves Subjected to Short-Term Drought Stress. *Plant Physiology and Biochemistry*. 141(4):164-171.
- 93) Yang, X.; Lu, M.; Wang, Y.; Wang, Y.; Liu, Z.; Chen, Su. (2021). Response Mechanism of Plants to Drought Stress. *Horticulturae* 7: 50.
- 94) Zaidi, N. W.; Dar, M. H.; Singh, S.; Sing, U. S. (2014). *Trichoderma* Species as Abiotic Stress Relievers in Plants. In: Gupta, V. K.; Schmoll, M.; Herrera-Estrella, A.; Upadhyay, R. S.; Druzhinina, I.; Tuohy, M. G. (eds). *Biotechnology and Biology of Trichoderma*. Elsevier, India, pp. 515-525. ISBN 978-0-444-5976-8
- 95) Zhao, G.; Gao, Y.; Gao, S.; Xu, Y.; Liu, J.; Sun, C.; Gao, Y.; Liu, S.; Chen, Z.; Jia, L. (2019). The Phenological Growth Stages of *Sapindus mukorossi* According to BBCH Scale. *Forests*. 10: 462.

Přílohy

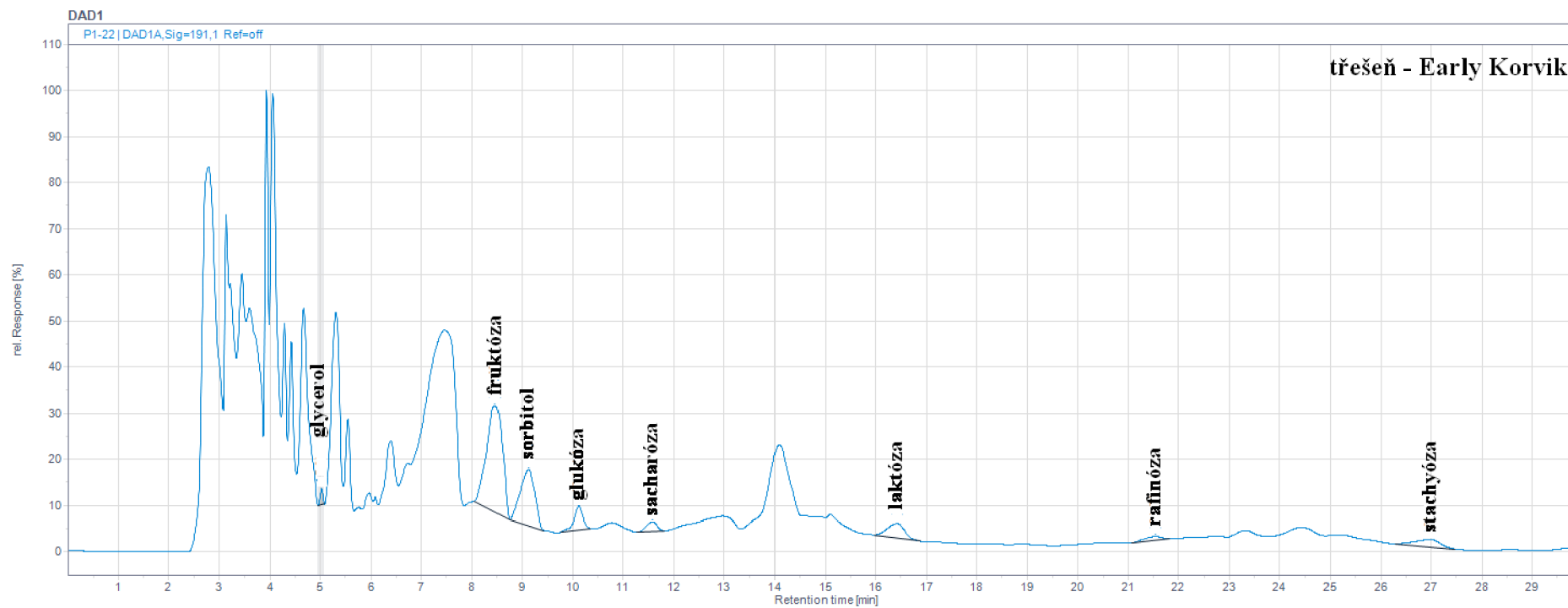
1. Kalibrační křivky pro cukry a cukerné alkoholy
2. Kalibrační křivka pro prolin
3. Reprezentativní chromatogram analýzy cukru třešňového genotypu 'Early Korvik'
4. Reprezentativní chromatogram analýzy cukru meruňkového genotypu 'Candela'
5. Rozložení srážek během termínů sběru rostlinného materiálu
6. Teplota vzduchu během termínů sběru rostlinného materiálu

Kalibrační křivky pro cukry a cukerné alkoholy

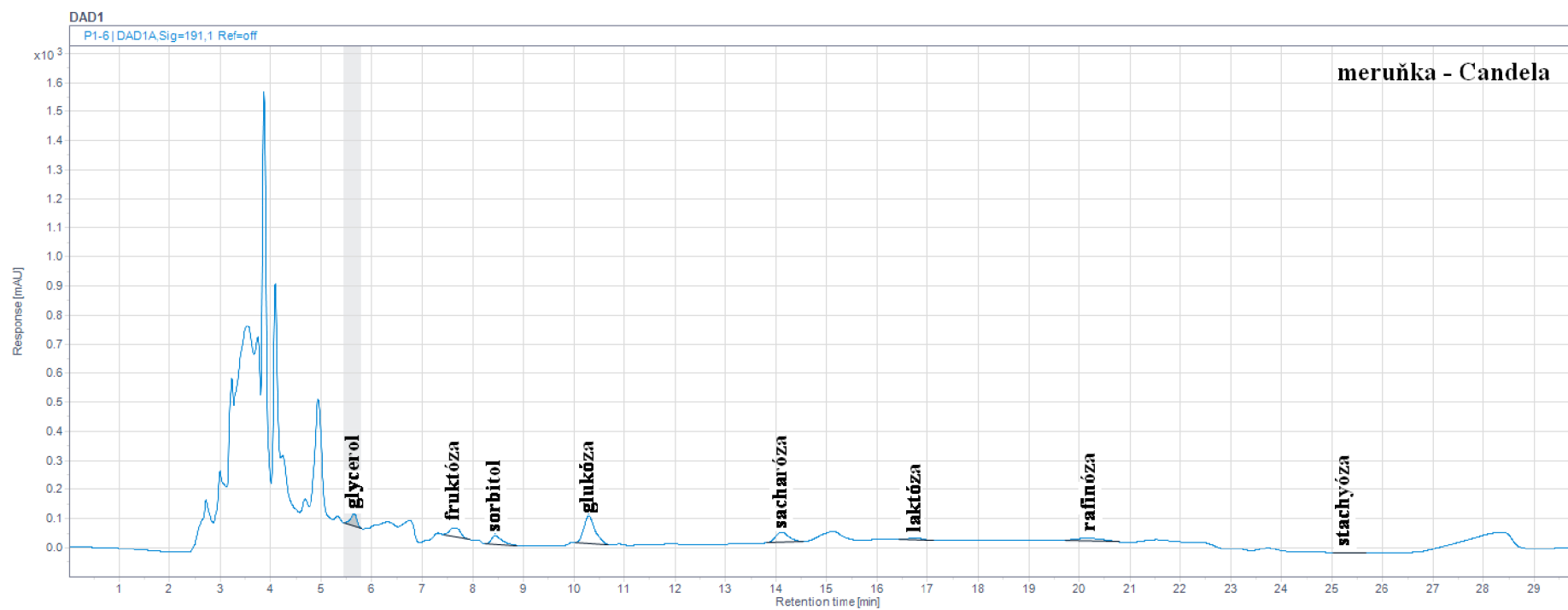


Kalibrační křivka pro prolin

Reprezentativní chromatogram analýzy cukru třešňového genotypu 'Early Korvik'



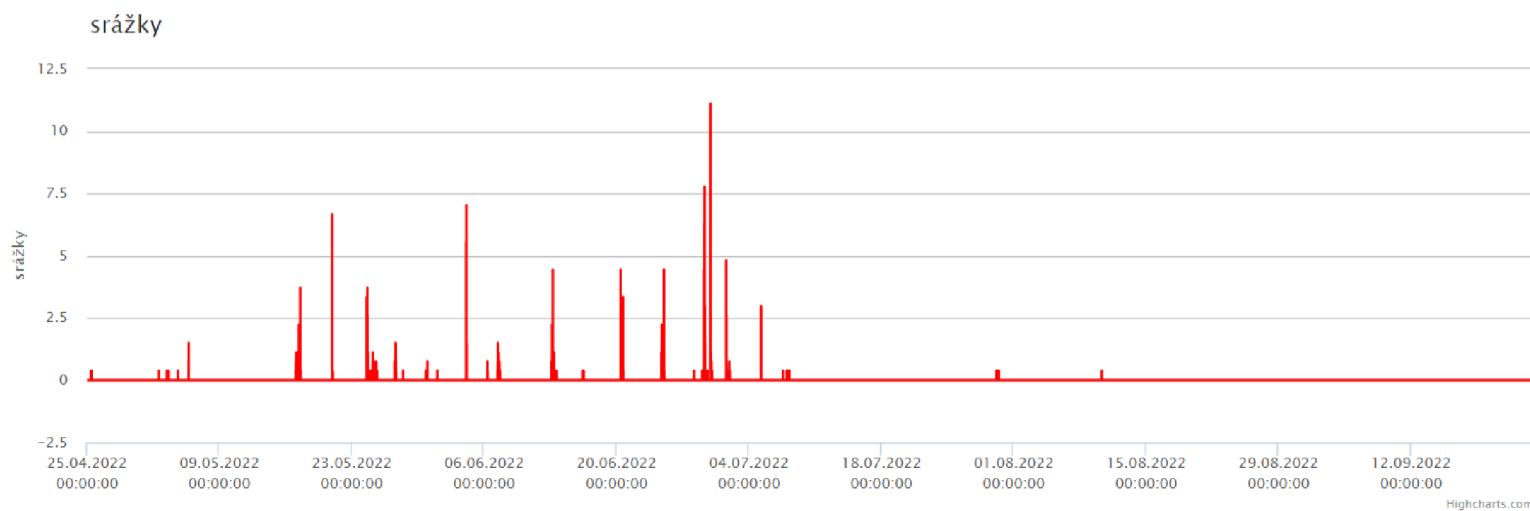
Reprezentativní chromatogram analýzy cukru meruňkového genotypu 'Candela'



Rozložení srážek během termínů sběru rostlinného materiálu

Graf dat sondy Holovousy U Vojáka

Typ kanálu cumulative
Minimum 0.37
Maximum 11.1
Průměr -
Suma 237.54



Teplota vzduchu během termínů sběru rostlinného materiálu

Graf dat sondy Holovousy U Vojáka

Typ kanálu level
Minimum 1.5
Maximum 34.4
Průměr 17.6
Suma -

