

Mendelova univerzita v Brně

Zahradnická fakulta

Mendelova
univerzita
v Brně



Zahradnická
fakulta

**VLIV STRESOVÝCH FAKTORŮ NA RŮST INTAKTNÍCH
ROSTLIN PODNOŽÍ RÉVY VINNÉ *IN VITRO***

Diplomová práce

Vedoucí práce:

Dr. Ing. Helena Fišerová

Vypracovala:

Bc. Vladimíra Dvořáková

Lednice 2016

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

Zpracovatelka: **Bc. Vladimíra Dvořáková**
Studijní program: Zahradnické inženýrství
Obor: Řízení zahradnických technologií
Konzultant: RNDr. Ing. Marek Klemš, Ph. D.
Název tématu: **Vliv stresových faktorů na růst intaktních rostlin podnoží révy vinné in vitro**
Rozsah práce: 40

Zásady pro vypracování:

1. Téma diplomové práce navazuje na výsledky práce bakalářské, kdy vytvořené podmínky in vitro simulující stres suchem na nodální segmenty podnože Kober 125 AA zvyšovaly produkci etylenu a CO₂, snižovaly kvantový výtěžek fotosyntézy, obsah chlorofylu a, ale zvyšovaly chlorofyl b a obsah karotenoidů v listech nodů. Ve variantě se zvýšeným vápníkem v mediu došlo v listech ke zvýšenému obsahu chlorofylu a i b.
2. V rámci diplomové práce budou tyto údaje doplněny o růstové a fyziologické hodnoty již zakořeněných segmentů podnoží Kober 125 AA a Börner a nodálních segmentů podnože Börner s analýzami kvantového výtěžku fotosystému PS II, obsahu fotosynteticky aktivních pigmentů a stanovení obsahu ACC a ABA v apikálních a bazálních částech rostlin.
3. Podle získaných hodnot prekurzoru etylenu a kyseliny abscisové ve vztahu k fotosyntetickým parametrům lze vyhodnotit adaptaci rostlin na vytvořené stresové podmínky a diskutovat literární informace o hormonálních odpovědích rostlin na vybrané abiotické stresy.

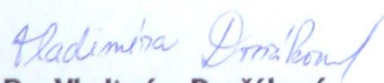
Seznam odborné literatury:

1. periodika
2. DUBERT, F. – KREKULE, J. – MACHÁČKOVÁ, I. Analytical methods in plant stress biology. Kraków: Polish Academy of Science, 2004. 166 s. ISBN 83-86878-19-3.
3. LARCHER, W. Fyziologická ekologie rostlin. Praha: academia, 1988. 368 s.
4. PROCHÁZKA, S., ŠEBÁNEK, J. a kol., 1997. Regulátory rostlinného růstu, AVČR, 1 – 395.

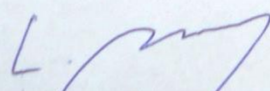
Datum zadání diplomové práce: listopad 2014

Termín odevzdání diplomové práce: květen 2016

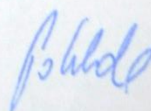
L. S.


Bc. Vladimíra Dvořáková
Autorka práce


Dr. Ing. Helena Fišerová
Vedoucí práce


prof. RNDr. Ladislav Havel, CSc.
Vedoucí ústavu




doc. Ing. Robert Pokluda, Ph.D.
Děkan ZF MENDELU

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že jsem diplomovou prací na téma „**Vliv stresových faktorů na růst intaktních rostlin podnoží révy vinné *in vitro***“ vypracovala samostatně a veškeré použité prameny a informace jsou uvedeny v seznamu použité literatury. Souhlasím, aby moje práce byla zveřejněna v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách ve znění pozdějších předpisů a v souladu s platnou *Směrnici o zveřejňování vysokoškolských závěrečných prací*.

Jsem si vědoma, že se na moji práci vztahuje zákon č. 121/2000 Sb., autorský zákon, a že Mendelova univerzita v Brně má právo na uzavření licenční smlouvy a užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona.

Dále se zavazuji, že před sepsáním licenční smlouvy o využití díla jinou osobou (subjektem) si vyžádám písemné stanovisko univerzity o tom, že předmětná licenční smlouva není v rozporu s oprávněnými zájmy univerzity a zavazuji se uhradit případný příspěvek na úhradu náklad spojených se vznikem díla, a to až do jejich skutečné výše.

V Lednici dne:

.....
podpis

PODĚKOVÁNÍ

Touto cestou bych chtěla poděkovat zejména paní Dr. Ing. Heleně Fišerové za odborné vedení mé diplomové práce, trpělivost a cenné rady, které mi poskytla.

Dále panu Ing. RNDr. Markovi Klemšovi, Ph.D. za ochotnou spolupráci při laboratorních analýzách.

Velké poděkování za podporu až do konce mého studia patří rodičům a nejbližším příbuzným, mému příteli a kamarádům.

OBSAH

1. ÚVOD.....	8
2. CÍL PRÁCE.....	9
3. LITERÁRNÍ PŘEHLED	10
3.1 Kořenový systém révy vinné.....	10
3.1.1 Stavba kořenového systému révy vinné	10
3.1.2 Příjem vody a živin	12
3.1.3 Produkce fytohormonů	15
3.2 Stresové signály rostlin	21
3.2.1 Stres u rostlin - základní pojmy.....	22
3.2.2 Tlakový potenciál.....	24
3.2.3 Kyselina abscisová.....	24
3.2.3 Cytokininy.....	27
3.2.4 Etylen	28
3.3 Vliv stresu na fotosyntézu a dýchání	29
3.4 Problematika nadbytku vápna v půdě.....	31
4. MATERIÁL A METODY.....	35
4.1 Podnože révy vinné použité pro simulaci stresu	35
4.2 Kultivace révy vinné v podmínkách <i>in vitro</i>	37
4.3 Zakořeňování révy vinné v podmínkách <i>in vitro</i>	39
4.4 Kultivace podnoží ve stresových podmínkách	42
4.5 Analýza koncentrace etylenu, etanu a CO ₂ v kultivačních nádobách	43
4.6 Stanovení délky, hmotnosti a kvantového výtěžku fotosyntézy..	44
4.7 Analýza obsahu chlorofylu, karotenoidů a kyseliny abscisové ...	44
5. VÝSLEDKY A DISKUZE.....	47
6. ZÁVĚR.....	71

7.	SOUHRN A RESUME.....	73
8.	SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK.....	75
9.	SEZNAM OBRÁZKŮ	76
10.	SEZNAM GRAFŮ	77
11.	SEZNAM TABULEK.....	78
12.	POUŽITÁ LITERATURA.....	79

1. ÚVOD

„ Aby se člověk naučil zacházet s rostlinou ke svému prospěchu, musí nejprve dokonale poznat její biologické vlastnosti, seznámit se s prostředím, ve kterém procházel její dlouhodobý vývoj, a poznat, jak podmínky tohoto prostředí na rostlinu působily “ (KRAUS, 2010).

Mezi nejvíce diskutované stresové faktory, které v poslední době zatěžují naše zemědělství, se řadí problematika sucha a výživy rostlin. Adekvátní příjem potřebných látek rostlinou je dán dobrým zdravotním stavem kořenového systému a péčí o něj. Člověk může zamezit působení stresového faktoru ve své vinici přímo, a to výběrem vhodné podnože. Ta se v současnosti řadí mezi faktory stěžejní. Právě podnož může ovlivnit hloubku kořenového systému a tím suchovzdornost podnože, dále příjem živin a také vápnomilnost naroubované odrůdy.

Stresové podmínky lze sledovat i ve specificky upravených podmínkách *in vitro*, které nesou několik výhod (růst rostlin lze sledovat kdykoliv během cyklofýzy, podmínky kultivace jsou přesně stanovené, eliminace napadnutí rostlinou škodlivými patogeny, běžně se vyskytujícími v polních podmínkách). Stresový faktor v rostlině vyvolává aktivaci signálů, které se snaží rostlinu ubránit před nadměrným působením daného stresoru. Mezi nejlépe takto prozkoumané odpovědi rostlin na stres se řadí kyselina abscisová a etylen.

Experimentální část navazuje na výsledky bakalářské práce, kde probíhala simulace stresu u nezakořeněných explantátů přidavkem různých koncentrací PEG, sacharózy a vápníku do kultivačního média u podnože Kober 125 AA. Poté byly analyzovány reakce na stres a to konkrétně kvantový výtěžek fotosyntézy, produkce etylenu, CO₂ a obsah fotosynteticky aktivních pigmentů. V diplomové práci bude tato problematika rozšířena o výsledky analýzy podnože Börner a dále o zakořeněné segmenty obou podnoží. Budou sledovány již zmiňované odpovědi na stres, rozšířené o stanovení kyseliny abscisové.

2. CÍL PRÁCE

Cílem diplomové práce bylo stanovení tolerance k suchu a nadbytku vápna zakořeněných prýtů podnoží Kober 125 AA a Börner a nezakořeněných segmentů prýtů Börner v podmínkách *in vitro*. Výsledky navazují na bakalářskou práci, kdy byly sledovány reakce nodálních segmentů podnože Kober 125 AA v kultivačních médiích obsahujících osmotické látky a vyšší obsah vápníku. Na základě růstových (délka, hmotnost rostliny) a fyziologických (produkce etylenu, etanu, CO₂, kvantový výtěžek fotosyntézy, obsah chlorofylů a kyseliny abscisové) hodnot byla porovnána adaptace zakořeněných a nezakořeněných segmentů daných podnoží.

3. LITERÁRNÍ PŘEHLED

3.1 Kořenový systém révy vinné

Réva vinná – *Vitis vinifera* L. se řadí mezi rostliny nejvíce rozšířené po celém světě. Její poddruh *Vitis vinifera* subsp. *silvestris*, známá jako „lesní réva“ je považován za předchůdce dnešních známých odrůd. Právě tento poddruh se v dávné minulosti musel vypořádat s klimatickými změnami a započal změnu své morfologické stavby. V lesních porostech si réva začala tvořit úponky, aby se mohla pnout za slunečním svitem a přeměnila se tak v liánu. Současně s touto morfologickou přeměnou se vyvinul u révy vinné velký kořenový systém, který prorůstá hluboko do půdního horizontu. Druhým poddruhem je *Vitis vinifera* subsp. *vinifera* (nebo *sativa*), známá jako „evropská réva vinná“ (PAVLOUŠEK, 2011; KRAUS, 2010).

Důležitost kořenového systému u révy se příkládá podnožím, na které se ušlechtilá réva vinná začala štěpovat ve 2. pol. 19. století, a to v důsledku devastování evropských vinic mšičkou révokazem (GRANETT et al., 2001).

3.1.1 Stavba kořenového systému révy vinné

Réva vinná se množí vegetativně. Generativní způsob rozmnožování révy vinné můžeme najít v průběhu šlechtitelského procesu, kdy se vysévají semena nových odrůd (PAVLOUŠEK, 2011).

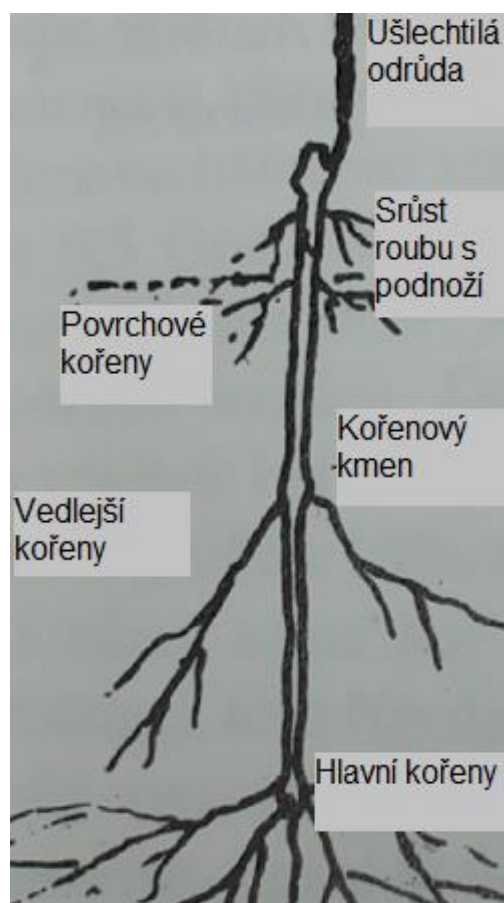
Růst kořenů se aktivuje ihned po rašení oček a svého maxima dosahuje v době kvetení, poté má růst klesající tendenci. Nicméně další vývoj kořenů probíhá ihned po sklizni hroznů (VAN ZYL et al., 1988).

SMART, SCHWASS et al.(2006) se zmiňuje o tom, že réva vinná má oproti jehličnanům menší podíl kořenů ve svrchních 60 cm půdního horizontu, což znamená, že většina z nich leží poté v horizontech nižších. Potvrzuje, že réva vinná je hluboko kořenící rostlinou. Studie některých autorů uvádí, že je běžné její kořeny nalézt ještě v 6 metrech půdního horizontu i hlouběji. Na prorůstání půdy kořeny mají vliv fyzikální vlastnosti půdy, kultivace půdy a genotyp naštěpované odrůdy. Autoři také uvádí, že rod *Vitis* vlivem poměrně nízké hustoty

kořenového systému by mohl oproti travinám bylinám a keřům kolonizovat půdu ve větší míře.

KOUNDOURAS, TSIALTAS, ZIOZIOU et al. (2008) ve své studii uvádí, že růst kořenového systému závisí zejména na interakci genotypu naštěpované podnože s prostředím. Tím se myslí půdní struktura, objemová hmotnost půdy, dostupnost vody a dusíkatých látek, pH a salinita.

Někteří vědci se zmiňují, že vývoj kořenů u révy vinné je ovlivněn půdními a přírodními faktory, jako je teplota, stupeň provzdušnění a textura půdy, pH prostředí, dostupnost vody a živin, četnost a hloubka orby (RICHARDS, 1983; MORLAT, JAQUET, 1993).



Obr. 1: Stavba kořenového systému révy vinné (upraveno podle HILLEBRAND et al., 1998)

Kořenový systém révy vinné se tvoří na podnožovém řízku a vytváří kořenový kmen. Ten se skládá z hlavních kořenů (6-100 mm v průměru), vedlejších kořenů (2-6 mm v průměru) a povrchových kořenů. Povrchové kořeny je potřeba odstraňovat, jinak by keř zakořenil těsně pod povrchem půdy a byl by

pravokořeným. Pokud má réva příznivé podmínky pro růst a je naštěpována na danou podnož, vytváří dostatečné množství kořenů (MULLINS et al., 1992; WINKLER, 1974).

Pro výsadbu révových sazenic se doporučuje přítomnost alespoň 3 - 5 kořenů rostoucích vertikálně. Vzhledem k tomu, že hlavní kořeny jsou schopny prorůst do několika metrů, mohou nalézt vodu v těch nejhlubších vrstvách půdního horizontu. Svou hluboko kořenící schopností ovlivňují jak příjem vody, tak ukotvení keře v prostoru (PAVLOUŠEK, 2011).

Kořenový systém je tvořen jak staršími zdřevnatělými kořeny, tak i novými, mladými kořeny, které tvoří aktivní biomasu a jsou důležité pro funkci příjmu vody a živin z půdního roztoku. Konkrétním příkladem jsou horizontálně rostoucí vedlejší (laterální) kořeny. Na růst vedlejších kořenů a následného kořenového vlášení mají vliv zejména klimatické podmínky. To bylo prokázáno v roce 1984, kdy se zjistilo, že réva vinná rostoucí v mírném a středozezemním podnebí tvoří nejvíce vedlejších kořenů mezi kvetením a zaměkáváním bobulí. V případě vhodných podmínek i v průběhu léta. V subtropické oblasti k nejdynamičtějšímú růstu docházelo až po sběru hroznů (RICHARDS, 1983; VAN ZYL, 1984; COMAS, BAUERLE, 2010). Podle průměru lze kořeny rozdělit na silné (nad 2 mm) a jemné (pod 2 mm). První zmiňované vytváří prostorové uspořádání kořenového systému, jsou zásobárnou živin a transportují látky v rostlině. Zástupcem jemných kořenů jsou kořenové vlásky, které přijímají vodu a živiny. Představují až 60 % z plochy kořenového systému (PAVLOUŠEK, 2011).

3.1.2 Příjem vody a živin

Kořenový systém nese řadu důležitých biochemických a fyzikálních funkcí. Jeho dobrý zdravotní stav se potom odráží na kvalitě celého keře a tím i výnosu hroznů. Mezi hlavní funkce kořene řadíme příjem vody a živin, upevnění rostliny v prostoru, produkce růstových regulátorů a v neposlední řadě také slouží k uchování zásobních látek (MORLAT, JAQUET, 1993).

Jednou ze základních funkcí kořenového systému je příjem vody a živin, který je zabezpečen několika cestami (obr. 2). Osmotická cesta je určena jen pro transport vody (cesta 1), přes rhizodermis (pokožku kořene) a primární kůru (tvořena endodermis, mezodermis a exodermis) se uskutečňuje apoplastickou

cestou (cesta 2) a symplastickou cestou plazmodezmami (cesta 3). V endodermálních buňkách lze najít Caspariho proužky, kde voda musí přejít z apoplastu přes plazmalemu do symplastu endodermis.

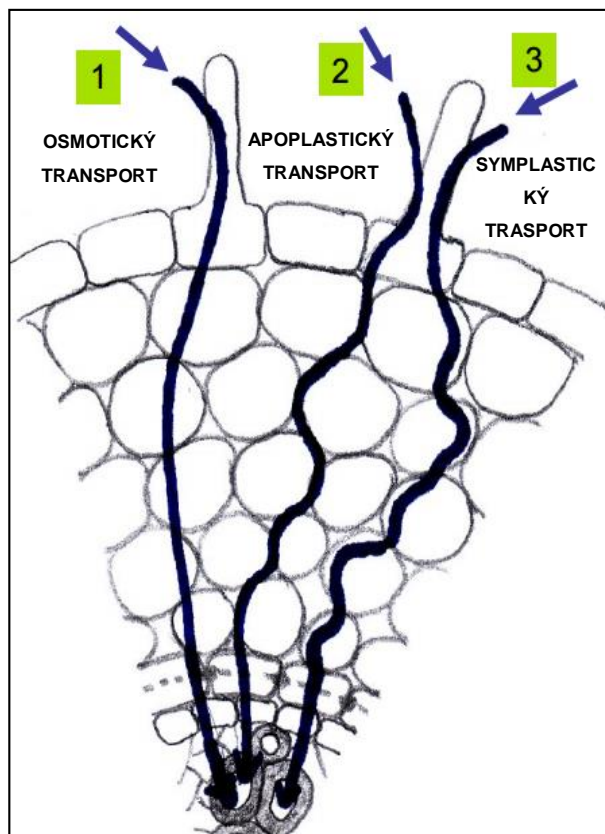
O tomto procesu rozhoduje tzv. vodní potenciál (Ψ_w), který udává informace o stavu vody v buňce. Sestává ze tří složek. *Osmotický potenciál* (Ψ_s), který je analogem k osmotickému tlaku a vyznačuje se zápornou hodnotou. *Gravitační potenciál* (Ψ_g) bývá kladný nebo záporný. *Tlakovým potenciálem* (Ψ_p) označujeme *turgor*. Ten má za následek zvyšování vodního potenciálu. Všechny látky, které se ve vodě rozpouštějí, snižují vodní potenciál roztoku. Pokud je buňka zcela nasycena vodou nese nulový vodní potenciál a je v rovnovážném stavu s vodou čistou.

Při ztrátě vody dojde ke zvýšení obsahu osmotických látek, sníží se turgor a osmotický tlak se nachází v negativních hodnotách. To znamená, že vodní potenciál u rostlinných buněk je menší než u chemicky čisté vody, a má tudíž zápornou hodnotu. Voda v rostlině se tak pohybuje ve směru snižujícího se vodního potenciálu (GLOSER, PRÁŠIL, 1998; ŠANTRŮČEK, 1998).

Voda a v ní rozpuštěné látky nacházející se v endodermis jsou poté pumpovány do vodivých elementů xylému a následně putují do nadzemní části rostliny (VINTER, 2006; TAI, ZEIGER, 1991).

Pro příjem vody je důležité, aby kořeny rostliny měly nižší vodní

potenciál, než je vodní potenciál půdního roztoku. Rychlost příjmu vody je dán zejména velikostí kořenového povrchu – čím větší je povrch kořenového systému, tím rychleji dokáže kořen vodu přijímat. Snižování příjmu vody rostlinou



Obr. 2 : Schéma transportu vody a minerálních látek z kořenového vlášení do vodivých drah xylému (upraveno podle VINTER, 2006)

dochází v případě, kdy se vodní potenciál nachází u hodnot bodu vadnutí. Rostlina není schopna zmenšit svůj vodní potenciál a vadne. Mluvíme pak o bodu trvalého vadnutí. U každé rostliny je bod trvalého vadnutí při různém vodním potenciálu. Obecně se však tento bod pohybuje v rozmezí -1 až -4 MPA (LARCHER, 1988).

Při vysychání dochází k poklesu vodního potenciálu a růstu negativního tlaku v apoplastu a xylému. Voda v cévách je pevně držena hydrofobními stěnami v mezofylu listu. Dochází k rozdílu tlaků mezi vnitřní a vnější strukturou cév. Meniskus vzduchové bubliny se protlačí přes otvor (tečku) v sekundární stěně cévy, následuje tzv. vakuový var, neboli *kavitace* – rozpínání vodní páry a přerušení sloupce vody- *embolie*. Přetrhnutí se projevuje akustickým cvaknutím, které je měřitelné speciálním přístrojem založeným na funkci mikrofonu, který je citlivý v ultrazvukové oblasti. Réva vinná se řadí mezi rostliny, které jsou schopny si zavodnit cévy zasažené embolií vlivem pozitivního kořenového vztlaku (ŠANTRŮČEK, 1998).

WILLIAMS (2000) provedl studii vodního stresu u révy vinné. Vodní potenciál v dobře zásobovaných vinicích se nacházel v rozmezí - 0,8 až 1 MPa. Ve vinicích nedostatečně zásobovaných vodou se vodní potenciál pohyboval okolo -1,4 MPa.

Mezi další faktory, které ovlivňují příjem vody a živin kořeny, patří teplota a přístup kyslíku. Jeho nedostatečné množství (např. na zaplavených místech) a nízká teplota zpomalují příjem a vedení vody kořenem. Nejspíše je to následek snížené *hydraulické vodivosti kořene*. Tento jev odpovídá za množství vody, která proteče svazkem trubic xylému za sekundu při rozdílu tlaků 1 MPa. K nejmohutnějšímu odporu vody, a tedy i k největšímu gradientu vodního potenciálu pak dochází na rozhraní půda - kořen. Nikoliv jen v samotném kořeni (GLOSER, PRÁŠIL, 1998; ŠANTRŮČEK, 1998).

LOVISOLO, TRAMONTINI et al. (2008) uvádí, že podnože vyšlechtěné pro zvýšení suchovzdornosti podnoží mají vyšší hydraulickou vodivost, a tím lépe zajišťují příjem vody rostlinou. Lepší příjem je podle něho zajišťován i delšími cévními svazky xylému. Právě jejich anatomická stavba má vliv na absorpci a transport vody.

Tímto směrem se ubírají i nejnovější teorie. Stále se diskutuje o tom, že hlavní faktor příjmu vody u podnoží může být na jedné straně tzv. WUE (water use efficiency), do češtiny přeloženo jako hospodaření s vodou. WUE vyjadřuje rovnováhu mezi ziskem biomasy (např. vyprodukovaná biomasa v kilogramech) a ztrátou vody (dáno např. litry spotřebované vody, nebo množstvím transpirovaného oxidu uhličitého). Na druhé straně příjem vody rostlinou může ovlivnit i samotná genetická dispozice dané odrůdy. V tomto ohledu bylo zjištěno, že *Vitis rupestris* a *Vitis riparia* má vyšší WUE, nižší potom nese *Vitis doaniana*, *Vitis californica*, *Vitis candidans* (PAVLOUŠEK, 2013).

Významnou roli hrají v tomto ohledu i aquaporiny. Jedná se o proteiny skupiny MIP "*major intrinsic proteins*" přítomné ve všech organismech. Umožňují buňce regulovat přesun vody změnou exprese svých genů a svou propustností (VANDELEUR, NIEMIETZ, 2004).

Analýza aquaporinů byla prováděna i u podnoží révy vinné, a to konkrétně u 110 Richter, která je uváděna jako podnož odolná vůči suchu. Byla zjištěna změna genové exprese aquaporinů mezi listy a kořeny během působení sucha. Zatímco v listech se exprese genů aquaporinů snižovala pro omezení ztrát vody výparem, v kořenech se zvyšovala. Úspěšné naroubování podnože na ušlechtilou odrůdu hraje klíčovou roli pro příjem vody a živin kořeny. Absorpce živin kořeny má vliv na vitalitu kořenového systému i celého keře. Apikální části kořene jsou nejaktivnější v absorpci živin, ale jejich aktivita věkem klesá (SERRA, STREVER, 2014).

3.1.3 Produkce fytohormonů

Poprvé použil pojem *hormon*, slovo pocházející z řeckého *horman* (stimulovat), H. Starling pro sekretin, který izoloval z dvanácterníku. V průběhu dvacátého století poté docházelo k objevení několika sloučenin v rostlině, které významně ovlivňují její růst a vývoj a následně byly pojmenovány fytohormony (CROZIER et al., 2000).

Růstové regulátory jsou charakterizovány jako nízkomolekulární přírodní produkty, často uváděné v mikromolech (μmol), které podstatně regulují všechny fyziologické a vývojové procesy v průběhu života rostlin. Jedná se o strukturálně odlišné sloučeniny zahrnující auxiny, cytokininy, kyselinu abscisovou (ABA),

gibereliny, brassinosteroidy, kyselinu jasmonovou a etylen. (PIOTROWSKA, BAJGUZ, 2011; PROCHÁZKA, ŠEBÁNEK, 1997).

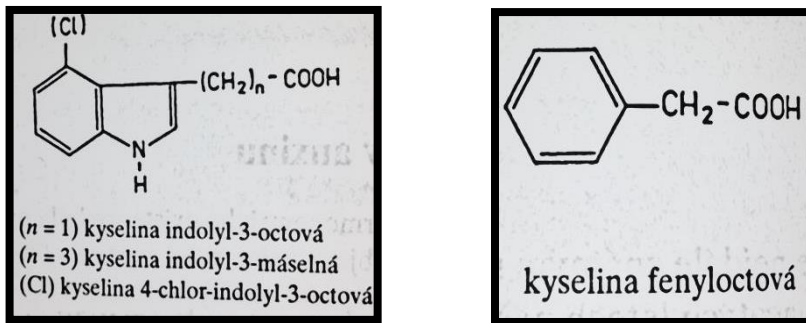
Charakter a aktivaci fytohormonů určuje jeho samotná přítomnost v rostlině a korelace s daným procesem. Při odstranění orgánu, ve kterém dochází k syntéze hormonu, vede k zastavení procesu. Dodání syntetického hormonu vede k obnovení tohoto procesu. V případě izolování celého reakčního systému je účinek hormonu totožný jako v tom neizolovaném. Syntetický hormon by měl být specifický a měl by působit stejně ve všech podobných situacích (JACOBS, 1979).

Ač je každý fytohormon syntetizován v jiném orgánu a ovlivňuje vývoj rostliny odlišně, tvoří fytohormony dohromady velkou skupinu látek, které vzájemně podporují (stimulují) či brzdí (inhibují) růst rostliny. Můžeme je rozdělit na endogenní – přirozeně se vyskytující v rostlinách a exogenní – syntetické (PROCHÁZKA, ŠEBÁNEK, 1997).

V této kapitole se však budu zabývat jen endogenními fytohormony, které ovlivňují růst a vývoj rostlin s důrazem na stresové vztahy vyvolané nedostatkem vody.

AUXINY

Nejznámějším rostlinným hormonem je auxin. Jeho objevení započal už Charles Darwin, a na něj navazoval F. W. Went, který v 1. pol. 20. stol. pracoval s koleoptilemi ovsa, u kterých dokázal produkci látky, která se translokují do agaru a stimuluje růst. V roce 1946 byla pak objevena kyselina indolyl-3-octová (IAA), která byla dlouho jediným známým růstovým regulátorem přirozeně se vyskytujícím v rostlině. Dále poté byly objeveny kys. indolyl-3-máselná (IBA) a kys. fenyl-octová (PAA). Jedná se o slabé organické kyseliny. IAA je nestálá. Snadno dekarboxyluje, vyznačuje se citlivostí na světlo a UV záření. PAA je naopak považována za látku stálou. V rostlině je v nejvyšší míře zastoupena IAA. Dále pak některé deriváty indolu, nejčastěji se jedná o prekurzory, degradační produkty či konjugáty IAA. Jen některé z nich však vykazují auxinovou aktivitu a jsou v rostlině přeměněny na IAA. Nejvyšší růstová aktivita byla pozorována u 4-chlor-IAA (MACHÁČKOVÁ, 1997).



Obr. 3: Chemická struktura endogenních auxinů (MACHÁČKOVÁ, 1998)

Je známo vazebné místo na membráně endoplazmatického retikula a na plazmalemě. Syntéza IAA probíhá ve vrcholu koleoptile u jednoděložných rostlin a je transportována bazipetálně, směrem od vrcholu k bázi. U dvouděložných rostlin se nejvyšší hladina nachází v subapikální zóně stonku. Bazipetální transport je důležitý pro udržení apikální dominance. Po odříznutí vrcholu dochází k uvolnění úžlabních pupenů z apikální dominance. Auxin je syntetizován v apexu, v mladých listech, v semenech a vyvíjejících se plodech (MACHÁČKOVÁ, 1997).

MASON et al., (2014) provedli rozsáhlou studii týkající se vlivu cukrů na apikální dominanci. Bylo prokázáno uvolnění pupenů z apikální dominance po dekapitaci prýtu již po 1 dni, před prvními změnami koncentrace auxinu, v nejbližší části stonku hrachu setého. K přesunu glukózy a sacharózy a jejich hromadění v úžlabí pupenů docházelo ve stejném časovém období, v jakém nastávalo uvolnění pupenů z inhibice. Při umělém dodání sacharózy rostlině došlo k potlačení genu pro udržování inhibice pupenů, což vedlo k jejich rychlému růstu. Tato práce stojí za teorií, že v případě apikální dominance omezuje apex transport cukrů do níže položených pupenů, což má za následek inhibici jejich růstu.

Auxiny stimulují tvorbu adventivních kořenů. Vznikla řada studií zabývajících se vlivem auxinu na tvorbu kořenů. U některých rostlin nebyly zjištěny významné rozdíly v obsahu auxinu mezi dobře a hůře kořenícími rostlinami javoru cukrového a rododendronu. Tyto rozdíly zaznamenal mezi dvěma podnožemi révy vinné, kdy byl zjištěn vyšší obsah auxinů u lépe kořenící podnože BLAKESLEY (1994).

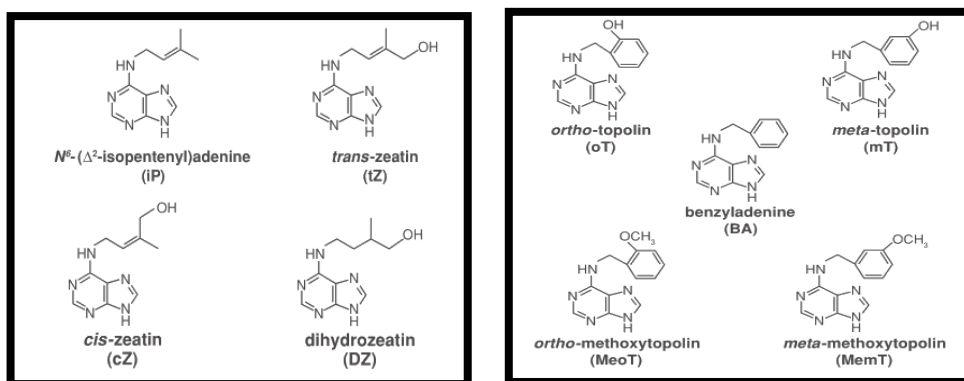
V souvislosti se stresem se auxin může podílet na vhodné architektuře kořenového systému a zabránit nadměrnému působení stresoru. Při simulaci vodního stresu u mutantní rostliny *Arabidopsis*, kde byl zvýšen obsah IAA,

rostliny vykazovaly vyšší odolnost vůči suchu, než druhá část rostlin, kde obsah IAA byl menší. Pozitivně byla ovlivněna regulace genů související s abiotickým stresem (RAB18, RD22, RD29A, RD29B, DREB2A a DREB2B), kde docházelo ke kladnému ovlivnění reaktivní formy kyslíku, antioxidantů, metabolismů a základních enzymatických aktivit, aminokyselin, organických kyselin, cukrů, cukerných alkoholů. Modulován byl i kořenový systém rostliny a to zvýšenou tvorbou postranních kořenů, oproti kontrole (SHI, CHEN, 2015).

CYTOKININY

Další skupina fytohormonů, ovlivňující vývoj rostliny, nese název cytokininy, definované jako deriváty adeninu. V roce 1956 byl objeven *kinetin* (6-furfuryladenin), získaný z autoklávované rostlinné DNA a jako první endogenní cytokinin v roce 1973 byl nalezen *zeatin*, vyzolovaný z endospermu kukuřice. Je známo okolo 30 endogenních cytokininů, které rozdělujeme na isoprenoidní a aromatické. V rostlinách jsou běžnější isoprenoidní. Podmínkou jejich biologické aktivity je jejich specifická konfigurace, která musí vycházet z adeninu substituovaného na aminoskupině v poloze 6. Další endogenní cytokinin 6-benzyladenin (BA), neboli 6-benzylaminopurin (BAP) je nejčastěji zmiňován, i když nese nízkou cytokininovou aktivitu. Bylo však zjištěno, že deriváty benzyladeninu s hydroxylovaným benzenovým jádrem v poloze *orto* a *meta* nese nejvyšší biologickou aktivitu. Takovým derivátem je např. *m-topolin* (m-hydroxybenzyladenin). Izoprenoidní cytokininy zeatin a izopentyladenin (ip) jsou degradovány cytokininoxidázou (MACHÁČKOVÁ, 1997; SAKAKIBARA, 2006.)

LALOUE, PETHÉ (1982) definoval tzv. zásobní formy cytokininů. Jedná se zejména o ribotidy a glykosidy, které se mohou metabolickou cestou přeměnit na cytokininové báze. Nejlépe jsou rostlinou buňkou přijímány právě lipofilní báze cytokininu. Pro glykosidy a ribotidy nejsou rostlinné membrány permeabilní.



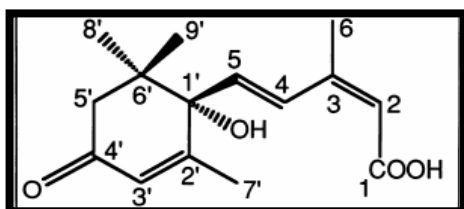
Obr. 4: Chemická struktura isoprenoidních cytokininů (vlevo) a aromatických cytokininů (vpravo) (upraveno podle SAKAKIBARA, 2006)

Nejvíce cytokininů nalezneme v intenzivně se dělících buňkách, v rostoucích pletivech v kořenovém apexu. Z toho lze vyvodit jasnou interakci polárního transportu mezi auxinem, syntetizovaném ve vzrostopných vrcholech a cytokininem produkovaným kořenovým apexem. I když auxinový polární transport ve stonku i v kořenu je obecně znám, cytokininový výrazně polární není (KAMÍNEK, 1997).

Translokace cytokininů probíhá symplasticky lýkem i xylémem z kořenů do nadzemní části keře. Syntéza cytokininu se děje v apexu kořene, odkud xylémem putuje do nadzemní části rostliny, zejména listů, kde přechází do floému a poté do ostatních orgánů rostliny. Transport auxinu z apexu k bázi rostliny a opačně směřovaný transport cytokininů hraje důležitou roli při morfogenezi. V případě apikální dominance působí cytokininy jako antagonisti k auxinům. Uvolňují pupeny z auxinové inhibice a stimulují tak jejich růst (MACHÁČKOVÁ, 1997; KAMÍNEK, 1997).

KYSELINA ABSCISOVÁ

V roce 1964 byla vyizolována z plodů bavlníku látka způsobující opad listů - později nazvaná jako *abscisin II*. Na tuto skutečnost současně navazoval další pokus, kdy byla objevena identická látka *dormin*, navozující u javoru klene dormanci. Pro obě látky byl na konferenci v roce 1967 přijat název kyselina abscisová (ABA) (PROCHÁZKA, BORKOVEC, 1997).



Obr. 5: Chemická struktura (S)-cis- ABA – biologicky aktivní forma ABA (CHURCHILL et al., 1992)

ABA je označována jako seskviterpen složený ze tří isoprenoidních jednotek (obr. 5) a vzniká štěpením větší molekuly karotenoidu. Konkrétně je považována za produkt štěpení 9- cis epoxykarotenoid xantofylů, 9-cis violaxantinu a 9-cis neoxantinu. Stejně jako ostatní seskviterpeny je možno ji odvodit od kyseliny mevalonové. Biologicky aktivní ABA se vyznačuje specifickou chemickou strukturou- karboxylová skupina, terciární hydroxylová skupina, 2-cis-4-trans-pentadienový postranní řetězec, 4'-keton a dvojná vazba v cyklohexanovém kruhu. V případě chybějící některé z těchto skupin se jedná o neaktivní formu kyseliny abscisové. V kořenových čepičkách probíhá největší hromadění ABA, zřejmě vlivem nízké vakuolizace a vyššího obsahu cytosolu. Další syntéza probíhá v listech, kam je vedena xylémem. Floémový transport kys. abscisové vede poté k jejímu hromadění v kořeni. Zde se jedna část ukládá do pletiva a druhá putuje do xylémových cév (HARTUNG, 2002; TAIZ, 2002).

VLASÁKOVÁ (2011) uvádí způsoby transportu ABA do kořene vlastní syntézou v kořeni,

- uvolněním z konjugovaných forem,
- nasátím z půdního roztoku v okolí kořene,
- transportem floemem z nadzemní části rostliny.

Uvnitř kořene ABA může být:

- uchopena symplastem a být zde skladována anebo degradována,
- je nesena apoplasticky s transpiračním proudem směrem ke xylémovým cévám a následně do listu,
- může difundovat do půdního roztoku.

Jako receptor pro ABA je uváděn vnější povrch plazmalemy svěřacích buněk průduchů. Ihned po navázání kys. abscisové na její vazebné místo dojde

ke změně povahy plazmalemy i proudu iontů. Ze svěřacích buněk dochází k zvýšenému průtoku draslíku a protonů, voda je nasávána svěřacími buňkami, turgor se mění a průduch se uzavírá (MACHÁČKOVÁ, 1998).

Kyselina abscisová je fytohormon, jehož obsah se mění v závislosti na daném prostředí. Je spjat s řadou fyziologických procesů (uzavírání průduchů, růst kořene apod.) a v současné době je nejvíce diskutovaným fytohormonem v oblasti stresu u rostlin. Právě u stresovaných rostlin můžeme sledovat výrazně vyšší obsah ABA.

ETYLEN

Produkce etylenu rostlinou byla potvrzena v roce 1934. Jde o plynný hormon, který lze stanovit plynovou chromatografií. Je to nejjednodušší uhlovodík s chemicky reaktivní dvojnou vazbou, která je nepolární. Etylen disponuje vysokou fyziologickou aktivitou. Může oxidovat až na formaldehyd (MACHÁČKOVÁ, 1997).

Etylen vzniká z aminokyseliny L-metioninu, dále vzniká S-adenosylmetionin (SAM) -> kys. 1-aminocyklopropan-1-karboxylová (ACC) -> etylen. Poslední krok je katalyzován enzymem ACC syntázou. Prekurzorem etylenu je ACC, která se nachází ve vyšších rostlinách jako konjugát s kyselinou malonovou, N-malonyl-ACC. Největší množství se tvoří při zrání ovocných plodů a při působení stresových faktorů (MACHÁČKOVÁ, 1997; PIOTROWSKA, BAJGUZ, 2011).

ARGUESO et al. (2007) uvádí etylen jako fytohormon, který výrazně ovlivňuje klíčení semen, diferenciaci buněk, utváření kořene a primordia stonku, prodlužování kořene, vývoj postranních pupenů, iniciaci kvetení, senescenci, opylení, zrání ovoce a produkci volatilních organických látek, způsobující vývoj aroma ovoce.

3.2 Stresové signály rostlin

Rostlina se během svého života musí potýkat s mnoha nepříznivými podmínkami, které negativně ovlivňují růst a následně i výnos. Ušlechtilou révu vinnou naštěpujeme na podnože, která může výrazně ovlivnit toleranci keře révy vinné vůči suchu a nadměrnému vápnu v půdě. Právě sucho a s ním související

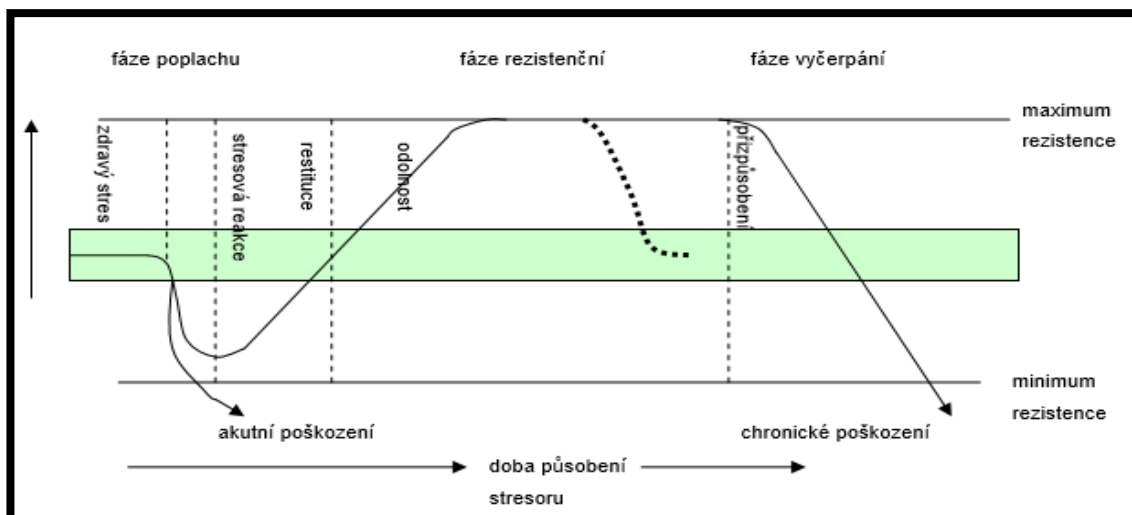
suchovzdornost rostlin se v současné době řadí na přední příčky diskuzí v oblasti zemědělství.

Problematiku nadměrného vápna v půdě zase musí řešit vinohradníci v oblasti Pálavy, kde se hojně vápenité půdy vyskytují. Nedostatek vody a nadměrný obsah vápna v půdě řadíme do abiotických stresových faktorů.

3.2.1 Stres u rostlin - základní pojmy

Evolucí docházelo postupně k vytvoření různých mechanismů, které umožnilo rostlinám se stresu přizpůsobit. Reakce rostlin na stres je považována za dynamický proces (obr. 7). *Rezistencí*, nebo také odolností rostlin rozumíme jejich schopnost přežít nepříznivé podmínky. Tento stav se dále dělí na stav *avoidance*, což je strategie, kdy se rostlina snaží stresu vyhnout například zkrácením životního cyklu a *tolerance*. Tento stav je oproti předešlému aktivní tím, že se snaží působení stresoru co nejvíce zmírnit. Získává se v procesu otužování, neboli *aklimace*. Jedná se o proces vyrovnání se novým podmínkám změnou metabolismu. Takto získané vlastnosti jsou však reverzibilní (PROCHÁZKA, 1998; PAVLOVÁ, 2005).

VLASÁKOVÁ (2011) uvádí, že rostlina využívá buď *separace*, možnost vyhnout se stresové reakci, *adaptace*, přizpůsobení se anebo *reparace*, obnovení poškozené struktury. Pokud některý z uvedených mechanismů nefunguje, organismus je trvale poškozen a odumírá.



Obr. 6: Stresová reakce u rostlin (LARCHER,2003; upraveno podle VLASÁKOVÁ, 2011)

Jako první při působení stresu je vyvolána *poplachová fáze*, kdy v rostlině dojde k destabilizaci funkčních a strukturálních systémů, které jsou důležité pro vitalitu celé rostliny – proteiny, biomembrány, veškeré biochemické procesy a energetický metabolismus. Rostlina disponuje i kompenzačními systémy, kdy nastartuje syntézu proteinů a ochranných látek. Mluvíme o *restituční fázi*. Následující *fáze rezistence* vede ke zvýšené odolnosti vůči stresu. Při dlouhodobém působení stresoru se však křivka posunuje směrem k *fázi vyčerpání*. Později rostlina hyne. V případě, že stresový faktor nenabyde dlouhého trvání, je velká pravděpodobnost návratu organismu do původního, vitálního stavu (LARCHER, 2003).

Informace o stavu stresoru v půdě udávají specifické signalizační látky, které se přemísťují z kořenů do nadzemní části rostlin spolu s vodou a rozpuštěnými látkami v ní, tedy transpiračním proudem. Signalizace může probíhat na úrovni mezi jednotlivými rostlinami, mezi buňkami a komunikací mezi organelami. Stěžejní je komunikace kořene a nadzemní části rostliny. Signály můžeme rozdělit na pozitivní, kdy daná látka je do transpiračního proudu uvolňována a negativní – je z transpiračního proudu odebrána. Dále se signály rozdělují na chemické (ABA, etylen, cytokininy, pH xylému), hydraulické (aquaporiny, hydrostatický tlak) a elektrické (CHAVES, OLIVEIRA, 2004; SERRA et al., 2014; FOJTŮ, 2011).

Existuje řada produktů genů indukovaných suchem. Rozdělují se do dvou skupin. První, funkční proteiny, hrají důležitou roli při toleranci vůči abiotickému stresu a řadíme sem *LEA proteiny*, *antifreeze proteiny*, *mRNA binding proteiny*, *proteiny vodních kanálů*, *transportéry cukrů a prolinu* a různé *proteázy*. Do této skupiny se řadí i tzv. *chaperony*. Jedná se o stresové bílkoviny, které chrání nejdůležitější proteiny v buňce proti ztrátě jejich aktivity. *Chaperony* jsou produkovány kyselinou abscisovou. Druhá skupina zahrnuje regulační proteiny. Ty se účastní exprese faktorů genů spojených se stresem. Řadíme sem fytohormony, transkripční faktory, protein kinázy, enzymy metabolismu fosfolipidů (SHINOZAKI et al., 2006; GLOSER, PRÁŠIL, 1998).

3.2.2 Tlakový potenciál

Tlakový potenciál Ψ_p (hydrostatický tlak) řadíme mezi signály hydraulické. Tento jev úzce souvisí s vodním potenciálem, o kterém jsem se zmiňovala v kapitole o příjmu vody a živin kořeny (3.1.2). Hydraulické signály, ještě nejsou zcela objasněny a jsou středem dalšího zkoumání. Vznikají vlivem rozdílného vodního potenciálu a nacházejí uplatnění u variant suchého prostředí. Bývají využity v transportu zejm. u stromů, kde jsou orgány od sebe ve velké vzdálenosti (FOJTŮ, 2011).

Gradient hydrostatického tlaku je hromadný, jedná se o pohyb celého kontinua – *bulk flow*. Tlakový potenciál udává rozdíl mezi tlakem atmosferickým a tlakem vody v systému. Může být negativní i pozitivní. Pokud je tlak v xylému negativní, mluvíme o *tenzi*. Kladná tlaková složka se nazývá *turgor*. Právě pokles turgoru je signálem pro vyplavení kyseliny abscisové. Rostliny rychle transpirující mají hodnotu tlakového potenciálu v xylému okolo -1 až - 4 MPa. Logicky lze uvažovat o snižování všech složek vodního potenciálu stejnou rychlostí, nicméně pokud by k tomu došlo, rostlina by zastavila svůj růst. Zde se uplatňuje *turgor maintenance*, neboli udržování turgoru. Rostlina se snaží v období sucha udržet kladný nenulový tlakový potenciál. Hromadí se asimiláty v buňce, což vyvolá zvýšenou extrakci vody z okolních pletiv a zvýšení tlakového potenciálu na hodnotu, ve které se vyskytoval před působením stresu. Tento jev se vyskytuje např. i u cukrové řepy, kdy hodnoty osmotického potenciálu mohou sahat až ke 3 MPa (ŠANTRŮČEK, 1998).

3.2.3 Kyselina abscisová

Kyselina abscisová je jedním z nejlépe prostudovaných rostlinných hormonů vůbec a řadí se mezi nejdůležitější signalizační komponenty na úrovni kořen- nadzemní část. Na druhou stranu je to však fytohormon, u kterého je obtížné zjistit příčinu jejího vzniku. ABA je považována za střed všech reakcí, které se v rostlině dějí při působení stresoru. Připravuje a přenáší signály pro své vlastní jednotky. Její zvýšený obsah můžeme nalézt zejména v případě dehydratace pletiv, tedy sucha, přičemž se její množství mění v čase. ABA v rostlině je využívána, syntetizována, degradována, redistribuována nebo se

mění v neaktivní formu. Prvotním signálem pro aktivaci ABA je změna turgoru, nebo vyšší záporný vodní potenciál. Plazmatická membrána reaguje na snížení turgoru zvýšeným transportem Ca^{2+} do buňky a spolu s fosfoinozitoly působí v signálním řetězci, kdy aktivují syntézu ABA. Zvýšenou produkci ABA můžeme najít u rostlin vystavených vodnímu a osmotickému stresu, ale také stresu z nízké nebo vysoké teploty (JIANG, HARTUNG, 2008; PROCHÁZKA, BORKOVEC, 1997; VLASÁKOVÁ, 2011).

Dřívější pokusy s rozděleným kořenovým systémem do dvou nádob, kdy jedna obsahovala osmotikum a druhá jen živný roztok, prokázaly uzavírání průduchů. Stupeň uzavření závisel na koncentraci osmotika. Tím se potvrdila syntéza ABA v kořeni. V důsledku působení stresu je syntetizována v kořenech a následně transportována xylémem do nadzemní části rostliny, kde reguluje funkci průduchů. I u révy vinné bylo prokázáno, že má schopnost regulovat produkci ABA, právě signalizací v úrovni kořen- nadzemní část (ŠANTRŮČEK, 1998; JIANG, HARTUNG, 2008; SOAR et al., 2004).

DAVIES a ZHANG (1991) upozorňují na to, že při dehydrataci listu, dochází k výraznému zvýšení obsahu ABA v listu, což poté koreluje s uzavíráním průduchů. V tom případě musíme rozlišovat nárůst kyseliny abscisové, vzniklé v listu a ABA, vzniklé v kořeni a translokované do nadzemní části.

V případě, kdy dojde k vystavení kořene nedostatku vody, naroste obsah ABA transportované xylémem do nadzemní části. To poté vede k syntéze vlastní kyseliny abscisové, ta se přemístí z mezofylu do epidermis a vyvolá uzavření průduchů, čímž zamezí transpiraci. Během stresu se množství endogenní ABA zvedá rychleji v epidermis listu než v jeho mezofylu. ABA pak brání vstupu iontů K^+ do svěřacích buněk průduchů a výstupu iontů H^+ z nich (GLOSER, PRÁŠIL, 1998; VIZÁROVÁ, 1997).

Vodním stresem se spouští 2 signální dráhy, a to *ABA-independentní* a *ABA-dependentní*, lišící se svými komponenty. Tyto dráhy vedou k navození stavu adaptace. Stresem vznikající malát, sukcinát a citrát se řadí k prvně jmenované dráze. Osmotickým stresem indukovaný prolin je závislý na produkci kys. abscisové a řadí se k ABA-dependentní dráze. Prolin bývá často syntetizován při vodním potenciálu -1 MPa (KEMPA et al., 2008; GLOSER, PRÁŠIL, 1998).

WILKINSON a DAVIES (2002) zdůrazňují, že v současné době lze potvrdit, že rostlinné hormony a zejména kyselina abscisová hrají důležitou roli v regulaci průduchů a výměny plynů v průběhu působení stresového faktoru.

Se signalizací ABA souvisí i změna pH xylémové šťávy a apoplastu listu. Právě stres vyvolaný suchem ovlivňuje pH xylému a apoplastu, a tím i negativně nebo pozitivně transport ABA z kořene do nadzemní části keře. Hodnoty pH 5 – 6 se vyskytují u nestresovaných variant, kdy je uvolňování ABA z xylému a apoplastu listu největší, čímž dochází k minimálnímu transportu tohoto fytohormonu ke svěřacím buňkám. Zvýšená hodnota pH xylému byla zjištěna u stresu suchem, vysoké salinity, při nedostatku živin a nadbytkem vody (WILKINSON, DAVIES, 2008; FOJTŮ, 2011).

KOROVETSKA et al. (2014) potvrzují zvýšenou produkci ABA v listu slunečnice v případě alkalického stavu xylému a snížení vodivosti průduchů. V případě dlouhodobého stresu suchem se hodnoty pH xylému a apoplastu snižují více nejen vlivem nerovnováhy mezi kationty a anionty, ale také vlivem zvýšeným obsahem malátu v xylému.

SALOMON et al. (2014) prováděli rozsáhlou studii, kdy se zabývali produkcí ABA různými bakteriemi. Vyizolovali 11 různých kmenů bakterií z kořenů a rhizosféry z odrůdy Malbec ve vinici v Argentině. Pro další pokusy byly použity kmeny *Bacillus licheniformis*, *Pseudomonas fluorescens*, které jsou zařazeny do tzv. skupiny PGPR, neboli *Plant growth promoting rhizobacteria*. Při kultivaci *in vitro*, kdy byla provedena inokulace rostliny těmito bakteriemi, se prokázala zvýšená indukce ABA, která vedla ke snížení ztráty vody. Přítomnost jmenovaných bakterií a následná produkce ABA měla za následek aktivaci ABA-independentní dráhy a tím syntézu obranných látek.

U *Vitis Vinifera* jsou známé 2 geny, *VvNCED* a *VvZEP*, zapojené v biosyntéze ABA. Rozdílné množství nasyntetizované ABA v kořenech podnoží révy vinné je dáno různou absorpční schopností vody daných podnoží. Intenzita signálu ABA na úrovni kořen-nadzemní část je regulována na 4 anatomických úrovních – v rhizosféře, v kortexu, ve stonku a v listech (SOAR et al., 2004; JIANG, HARTUNG, 2008).

3.2.3 Cytokininy

Cytokininy jsou syntetizovány v kořenech a vyznačují se antagonistickou povahou vůči ABA v procesu uzavírání průduchů. U *Vitis vinifera* byl v kořeni objeven zeatin a zeatin ribosid. Nicméně v souvislosti právě s uzavíráním průduchů a vlivem cytokininů na průběh stresu u rostlin je stále plno nezodpovězených otázek. Je to dáno zejména změnou poměrů jednotlivých cytokininů a jejich velkým množstvím zástupců (STOLL et al., 2000; SERRA, 2014; FOJTŮ, 2011).

Množství endogenních cytokininů v listech je v průběhu sucha sníženo, vlivem poklesu biosyntézy cytokininů v kořenech a ke zmírnění jejich transportu z kořenů do lodyhy. V případě, kdy období sucha je delší, dochází k ovlivnění korelace mezi kořenem a lodyhou ve prospěch podzemní části, což obsah cytokininů ovlivní pozitivně (KAMÍNEK, 1997).

Většina výzkumů se momentálně pohybuje v oblasti vlivu cytokininů na vývoj rostlin. Otázky na téma vlivu cytokininů na abiotický stres ale nezůstávají pozadu, i když je zde plno nejasností. Poslední studie ukazují, že hladina endogenních cytokininů je v průběhu stresové reakce vysoce regulovaná. Byly provedeny pokusy s aplikací exogenních cytokininů, nebo biotechnologickou manipulací s endogenními cytokininy. Ty ukázaly jak negativní, tak i pozitivní vliv na toleranci při působení stresového faktoru. Jsou známé *CHK* receptory proteinů u *Arabidopsis* antagonistické k suchu. Interakce mezi složkami cytokininové signální dráhy a stresu jsou variabilní. Dále jsou známé *CRF proteiny*, které jsou v současnosti studovány, a uvažuje se, že právě ony koordinují signalizaci cytokininů (ZWACK, RASHOTTE, 2015).

ALVAREZ et al. (2008) zjistil, že snížením obsahu cytokininů se zvyšuje odolnost rostliny vůči abiotickému stresu. Pokles obsahu cytokininů je dán činností enzymu *cytokininoxidázy*, který je indukován samotnými cytokininy, kyselinou abscisovou a abiotickými stresory.

FOJTŮ (2011) tvrdí, že cytokininy, jako látky, které stimulují růst rostliny a uzavírání průduchu se musí v průběhu stresu eliminovat, protože v nepříznivých podmínkách je rostlina omezena v růstu i transpiraci. Dochází ke snížení koncentrace v xylémové šťávě i buňkách listu. Dělo se tak v případě vystavení rostlin stresu suchem, zasolením půdy a nedostatkem dusíku v půdě.

3.2.4 Etylen

V roce 1977 byla publikována studie, kdy se prokázala zvýšená produkce etylenu u listů pšenice, kdy při každém poklesu obsahu vody o 9 % se zvýšilo množství etylenu 30krát až 40krát. Je však známá i teorie, že uzavření průduchů zpomaluje difuzi etylenu do okolního vzduchu, a tak je důležité rozlišovat etylen uvolňovaný z rostliny a vakuově extrahovaný z pletiva (MACHÁČKOVÁ, 1997).

Zvýšená tvorba etylenu v rostlině je způsobena následujícími stresy – sucho, nadbytek vody, nízká nebo vysoká teplota, salinita půdy. Z biotických stresů je to potom poranění rostliny patogenem. K nárůstu tohoto plynného hormonu dochází několik desítek minut po napadnutí rostliny stresorem. Stresové faktory vyvolají tvorbu ACC syntázy, zčásti se vytvoří etylen a zčásti je ACC převedena na konjugát s kyselinou malonovou, *N-malonyl-ACC* (MACC). Tato forma je biologicky neaktivní a ve velmi malé míře se převádí zpět na ACC (MACHÁČKOVÁ, 1997).

ARRAS et al. (2015) provedli studii, kdy zjišťovali odpovědi různých odrůd sóji na sucho. Podrobně zkoumali zejména produkci etylenu a ACC. U stresovaných rostlin analyzovali vyšší obsah ACC v listech a v kořenu zvýšený obsah etylenu. U nestresované varianty byl zvýšený obsah ACC jen v kořenech. Zkoumané bylo i spektrum genů, které spouští biosyntézu etylenu v průběhu stresu - *MAT*, *ACS*, *ACO*, *EDR* a *MP*. Konkrétně *ACS* a *ACO* byly za sucha sníženy a gen *CTR*, který je zapojen do signalizace etylenu, se zvyšoval.

Poslední studie ukazují, že je důležitá interakce mezi etylenem a kyselinou abscisovou, které se navzájem v působení doplňují. Oba fytohormony mají podle autorů studie vliv na uzavírání průduchů a růstu nadzemní části rostliny v průběhu stresu rostliny suchem a znečištěném prostředí polutanty. Mluví o antagonistickém vztahu etylenu k ABA v uzavírání průduchů. Další fytohormony, nebo efektory, jako je pH xylémové šťávy a změna vodního stavu rostliny výrazně napomáhají k signalizaci mezi orgány. Zmiňují se i o zvýšené produkci peroxidu vodíku a oxidu dusného rostlinou v období sucha (WILKINSON, DAVIES, 2010).

3.3 Vliv stresu na fotosyntézu a dýchání

V průběhu stresu z nedostatku vody, je rostlina stále závislá na průběhu fotosyntézy a dýchání. To, aby byl CO₂ pro fotosyntézu využit v tom neoptimálním množství zajišťuje průduchová regulace výměny plynů. ABA snížením turgoru průduchy zavírá (kap. 3.2.3 o ABA). Fixační cesty rostlin C₄ a CAM, vyskytující se v aridních oblastech naší Země, umožňují navýšení obsahu CO₂ jen v těsné blízkosti chloroplastů a snížení jeho koncentrace v intercelulárách listu. V případě, že jsou průduchy rostlin typu C₃ a C₄ otevřeny stejně, u druhé zmiňované skupiny rostlin dochází k rychlejšímu průtoku CO₂ do listů, čímž je spotřeba vody menší oproti rostlinám typu C₃ (GLOSER, PRÁŠIL; 1998).

Při snížení vodního potenciálu v listu na -1 až -2 MPa dochází ke snižování činnosti fotosyntézy a zvýšenému prodýchávání substrátu. Po navození sucha nebo zvýšením přístupu solí ke kořenům může dojít jak ke snížení nebo zvýšení rychlosti dýchání, tyto protichůdné jevy jsou zřejmě zapříčiněny různými mechanismy regulace stresu rostlin. Obecně však platí, že na nedostatek vody v půdě reagují rostliny sníženou rychlostí růstu (NÁTR, 1998).

Fotosystém II (PS II) je nejvíce zranitelným komponentem fotosyntetického aparátu při působení abiotického stresu. Komplex PS II katalyzuje rozklad vody a uvolňuje molekulární kyslík. Zároveň je napojen na komplex cytochromu b₆/f, který přenáší elektrony z PS II na PS I, kde dochází k redukci NADP⁺. Fotosystémy se nachází u chloroplastů v membráně tylakoidů. Obsahují vždy komplex jádra a světlosběrný systém (LHCI a LHCII). Ten zachycuje kvanta záření a převádí získanou excitační energii elektronů do reakčního centra (RC). Excitovaná molekula se vrací do původního stavu vydáním energie ve formě fluorescence, tepla nebo přenosem energie na sousední molekulu. Produktem fotosyntézy je kyslík, NADPH+H⁺ a ATP (NÁTR, 1998; GURURANI et al., 2015).

V případě působení abiotického stresoru je PSII komplex schopen opravit jeho určitá poškození, a to vlivem několika proteinových kináz a fosfatáz, které usnadňují fosforylaci a následnou defosforylaci *D1 proteinu* PS II komplexu. Jedná se o velmi složitý cyklus. Při nadměrném ozáření se modifikují aminokyseliny v bílkovině *D1* a dochází k fotoinhibici PS II. Celý protein musí být zcela rozložen a nově syntetizován, poté nazpět vložen do fotosystému PS II.

Tolerance rostlin vůči stresu je dána tedy i kapacitou opravy poškozených molekul D1, protože se jedná o energeticky velmi náročný proces (GURURANI et al., 2015).

V současné době se zkoumá vliv endogenních fytohormonů na aktivitu fotosyntézy i dýchání. U rostlin kustovnice čínské (*Lycium chinense*) byl izolován v průběhu působení stresu suchem gen *violaxanthin de-epoxidasa* (LcVDE) a zjistilo se, že je v úzké souvislosti s akumulací ABA. U transgenních rostlin *Arabidopsis* tento gen zvýšil toleranci k suchu a způsobil pomalejší pokles kvantového výtěžku PS II ve srovnání s kontrolními variantami. Vzhledem k tomu, že *violaxanthin de-epoxidasa* (VDA) hraje důležitou roli v přeměně violaxanthinu na zeaxanthin, a je prekurzorem kyseliny abscisové, lze uvažovat o vlivu ABA na expresi fotosyntetických genů v průběhu působení sucha (GURURANI et al., 2015; GUAN et al., 2015).

Akumulace etylenu v rostlinách vystavených stresu suchem ukazují zvýšenou senescenci a narušenou biosyntézu ABA, což má za následek sníženou fotosyntetickou aktivitu a zpomalený růst listů. Dále v úvahu připadají látky, zvané rostlinné osmolyty. Například Glycin-betain chrání lumenální a stromatální proteiny, enzymy a lipidy a jeho syntéza je úzce spjata s endogenní hladinou ABA, kyseliny salicylové a etylenu (GURURANI et al., 2015).

MARTORELL et al. (2015) se ve svém pokusu mmj. zabývali výměnou plynů v listech u odrůdy Tempranillo a Grenache naroubovaných na podnoží Richter-110 v průběhu působení stresu suchem v polních podmínkách na Islandu. U kontrolní varianty, která byla pravidelně zavlažována, se vodní potenciál rostlin pohyboval od -0,4 MPa do -0,3 MPa. U stresované varianty (po dobu dvou let nedocházelo vůbec k zavlažování) se vodivost průduchů snižovala v průběhu obou let. Výrazný pokles fotosyntézy byl zřejmý jen v srpnu. Odrůda Grenache projevila odpověď na vodní stres snížením aktivity fotosyntézy a vodivosti průduchů už v červnu.

MEGGIO et al. (2014) publikovali další pokus, zabývající se vlivem sucha na průběh fotosyntézy u rostlin, tentokrát u podnoží révy vinné. Konkrétně se jednalo o podnož 101.14 Millardet et de Grasset (*V. riparia* × *V. rupestris*), relativně odolnou vůči vodnímu stresu a podnož vzniklou křížením [(*V. vinifera* × *V. berlandieri*) × *V. berlandieri* cv. Resseguier n. 1] nazývanou M4, která je uváděna jako tolerantní k suchu. Pokus probíhal v Miláně v květináčích, které

nebyly 10 dní zalévány. Rostliny byly vystaveny stresu suchem a zasolením. Vodní potenciál u obou podnoží se ve stresových podmínkách pohyboval v rozmezí -1,22 MPa až -1,28 MPa. Vodní stres snižoval aktivitu fotosyntézy u obou podnoží, ale v rozdílné míře. Po 6-ti dnech došlo k úplné inhibici fotosyntézy u podnože 101.14. V tuto dobu ukazovala podnož M4 zhruba 40% aktivitu fotosyntézy v porovnání s kontrolou. Vodivost průduchů dramaticky klesala u obou podnoží, ale u M4 byly hodnoty podstatně vyšší. U 101.14 byly hodnoty kvantového výtěžku fotosyntézy sníženy o 20 % oproti kontrole. U této podnože bylo také zjištěno, že při vodním potenciálu listu pod -0,6 MPa se začala snižovat vodivost průduchů, u podnože M4 se jednalo o hodnotu -0,9 MPa. Na základě vodivosti průduchů, vodního potenciálu a aktivity fotosyntézy bylo konstatováno, že podnož M4 je odolnější vůči suchu než podnož 101.14 Millardet et de Grasset.

SERRA, STREVER (2013) poukazují na možnost podnože révy vinné regulovat výměnu plynů v listech u naroubované odrůdy. Podnož může fotosyntetickou aktivitu ušlechtilé révy v případě vystavení stresu suchem zvýšit.

3.4 Problematika nadbytku vápna v půdě

Minerální výživou jsem se podrobně zabývala v bakalářské práci, proto tuto kapitolu chci směřovat pouze na problematiku jednoho prvku, a to vápníku. Na jižní Moravě se můžeme setkat s oblastmi, kde půdy obsahují vysoké množství vápníku, a přesto lze na těchto lokalitách révu vinnou pěstovat. Takovým případem je pohoří Pálava.

Výběrem vhodné podnože můžeme ovlivnit toleranci keře révy vinné k vysokému obsahu vápníku. Réva vinná přijímá aktivní formu vápna z půdy, což jsou vápenaté částice pod 0,002 mm. V případě vyššího obsahu vápna dochází k blokování železa z půdního roztoku a vzniku chlorózy. Mimo to se snižuje příjem i fosforu, manganu a bóru (HLUŠEK et al., 2002; PAVLOUŠEK, 2011).

Symptomy chlorózy vyvolané nadbytkem vápna se projevují mezižilkovým žloutnutím listů a poklesem biomasy. Zvýšeným obsahem vápníku se snižuje obsah železa, který je součástí chlorofylu, což následně vede k inhibici chlorofylu a poklesu fotosyntetické aktivity. Projev této chlorózy je znatelný hlavně u mladých listů na vrcholcích letorostů. Žilnatina má zelené zbarvení, mezižilkový

prostor je zbarven zelenožlutě. Okraje listů mohou nekrotizovat. Dochází ke zkrácení internodií na vrcholcích letorostů. Chloróza se může projevit i na hroznech, květenstvích a úponcích. Chloróza je považována za komplexní fyziologickou poruchu. Výrazně je ovlivněna zdravotním stavem kořenového systému. V případě, že nedochází k optimálnímu příjmu živin kořeny, vlivem nevhodných podmínek, jako je např. sucho nebo příliš vlhké, studené či utužené půdy, se mohou projevit právě chlorózou, která výrazně ovlivní následný výnos (PAVLOUŠEK, 2013).



Obr. 7 : Chloróza u révy vinné (PAVLOUŠEK, 2012)

CAMBROLLÉ et al. (2014) zkoumali fyziologické odpovědi révy vinné na půdách s vysokým obsahem vápna. Zaměřili se pouze na druh *Vitis vinifera* ssp. *sylvestris*. Materiál byl odebrán z přírodního parku v jižním Španělsku, kde jsou vysoce vápenité půdy, písčito-jílovité s pH 7,6- 8,1 a 62-67 % obsahem CaCO_3 . Získané axilární pupeny byly umyty teplou vodou a následně ponořeny do 20% roztoku chlornanu sodného po dobu 20 minut, pro získání sterilního materiálu. Následoval trojnásobný oplach ve sterilní vodě, vždy po dobu 5 minut. Kultivace probíhala na médiu, uvedeném v TRONSOCO, et al. (1990), s přídávkem 0,32 μM BA a 0,13 μM NAA. Sklenice přikryté parafilmem byly uloženy do kultivační místnosti po dobu 45 dnů, při teplotě 24°C s fotoperiodou 16 hodin světla. Kultivace rostlin v podmínkách in vitro, byla zvolená pro získání homogenní skupiny rostlin. Namnožené rostliny byly následně aklimatizovány dle CANTOS, et al. (1993). Dále pokus probíhal v květináčích se substrátem, který

obsahoval 0%, 20%, 40% a 60 % CaCO₃, kdy byly zakořeněné rostliny o délce 20 cm vystaveny stresu. Výsledky byly následující. Růst nadzemní části se snižoval v závislosti na zvyšujícím se obsahu vápníku. Rostliny rostoucí na půdě s 60 % obsahem vápna se vyznačovaly chlorózou v druhém týdnu experimentu. Koncentrace železa nevýrazně kolísala a začala se snižovat u rostlin rostoucích na půdě s 40 % obsahem vápna. Se zvyšujícím se obsahem vápna se snižovala aktivita fotosyntézy a vodivost průduchů. Minimální hodnoty kvantového výtěžku fotosyntézy byly zaznamenány u rostlin rostoucích na půdě s nejvyšším obsahem vápna. Obsah *chlorofylu a* a *chlorofylu b* se snižoval nepatrně.

V Itálii probíhal pokus, kdy se sledovaly fyziologické funkce rostliny v průběhu vystavení stresu nedostatkem železa. Pro pokus byla použita odrůda *Cabernet Sauvignon*. Autoři potvrzují, že nedostatkem železa na vápenitých půdách se u révy projevuje narušení integrity membrán, snižuje se výměna CO₂ v listu a aktivita fotosyntézy vlivem špatné funkčnosti chlorofylu, snižuje se biomasa. Železo je zde uváděno jako prvek důležitý pro správnou asimilaci dusíku a tím výrazně může ovlivnit celý růst rostliny a produkci (BERTAMINI, NEDUNCHEZHIAN, 2005).

Citlivost odrůdy k chloróze se netýká jen schopnosti kořene dodávat železo do listů, ale samotným požadavkům na železo, které je genotypově odlišné. Na základě této koncepce se podnože dříve šlechtily. Podnože, tolerantní k chloróze v sobě nesou specifický fyziologický mechanismus, který jim umožní přežívat na vápenitých půdách. Je to dáno zdokonaleným příjmem železa kořeny. Obecně platí, že druhy *Vitis riparia*, *Vitis rupestris*, *Vitis cinerea* jsou méně odolné vůči vápnu v půdě, vysokou odolnost naopak vykazuje *Vitis berlandieri* a *Vitis vinifera*. Tento druh však nevykazuje odolnost vůči révokazu (PAVLOUŠEK, 2013).

Byla zavedena klasifikace, tzv. *Chlorotic power index* (CPI) pro výběr vhodné podnože. Tento systém je založen na vztahu aktivního vápna k extrahovatelnému železu v půdě. V případě CPI hodnoty menší jak 5, je intenzita chlorózy malá, v rozmezí 6 - 15 je střední, 16 - 35 charakterizuje vysokou intenzitu chlorózy a při hodnotě vyšší jak 36 je intenzita chlorózy velmi vysoká (POUGET, 1974; LUPASCU et al. 2009; PAVLOUŠEK, 2013).

Jak již bylo zmíněno, volbou vhodné podnože lze zamezit nadměrnému působení sucha či chloróze vyvolané vyšším obsahem vápna v půdě. Následující tabulka (Tab. I) shrnující toleranci k suchu a vápnu jednotlivých podnoží.

Tab. I: Tolerance podnoží k nadbytku vápna a suchu (upraveno podle PAVLOUŠEK, 2013; HOFACKER, 2004)

PODNOŽ	KŘÍŽENÍ	ODOLNOST K SUCHU	ODOLNOST K CHLORÓZE
5 BB	V. berlandieri x V. riparia	střední	střední
SO4	V. berlandieri x V. riparia	vysoká	vysoká
Binova	V. berlandieri x V. riparia	vysoká	vysoká
Kober 125 AA	V. berlandieri x V. riparia	nízká až střední	vysoká
Teleki 5C	V. berlandieri x V. riparia	nízká až velmi nízká	střední až vysoká
Teleki 8B	V. berlandieri x V. riparia	vysoká	vysoká
420 A	V. berlandieri x V. riparia	vysoká	střední
161-49 Couderc	V. berlandieri x V. riparia	velmi nízká	velmi vysoká
R.S.B.1	V. berlandieri	střední	velmi vysoká
140 Ruggeri	V. berlandieri x V. rupestris	vysoká	vysoká
1103 Paulsen	V. berlandieri x V. rupestris	velmi vysoká	vysoká
775 Paulsen	V. berlandieri x V. rupestris	velmi vysoká	vysoká
Richter 110	V. berlandieri x V. rupestris	vysoká	vysoká
Richter 99	V. berlandieri x V. rupestris	vysoká	střední
3309 Couderc	V. riparia x V. rupestris	střední	velmi nízká až nízká
Schwarzmann	V. riparia x V. rupestris	nízká až střední	nízká
101-14 Millardet de Grasset	V. riparia x V. rupestris	velmi nízká až nízká	velmi nízká až nízká
Cosmo 2	V. berlandieri x V. riparia	střední	střední
Cosmo 10	V. berlandieri x V. riparia	střední	střední
Riparia Glorie de Montpellier	V. riparia	velmi nízká	střední až vysoká
Rupestris du Lot	V. rupestris	nízká	nízká
Börner	V. riparia x V. cinerea	střední až vysoká	nízká
Rici	V. riparia x V. cinerea	střední až vysoká	nízká
Cina	(V. berlandieri x V. riparie) x V. cinerea	střední až vysoká	nízká
Sori	V. solonis x V. riparia	střední	nízká
1616 Couderc	V. solonis x V. riparia	střední	nízká
Gravesac	161-49 x 3309 C	vysoká	střední
Sorisil	Sylvaner x 1616 C	vysoká	vysoká
26 G	Trolinger x V. riparia	střední	vysoká
41 B Millardet de Grasset	Chasselas blanc x V. berlandieri	vysoká	vysoká
333 E.M.	Cabernet Sauvignon X V. berlandieri	vysoká	vysoká
Golia	Castel 156-12 x V. berlandieri	vysoká	střední
Georgikon 28	Kober 5 BB x V. vinifera	vysoká	vysoká
Fercal	(V. berlandieri x Colombard) x / V. berlandieri x (V. riparia x V. rupestris x V. candidans)	nízká	střední

4. MATERIÁL A METODY

4.1 Podnože révy vinné použité pro simulaci stresu

Kober 125 AA

Podnožová odrůda vzniklá křížením *Vitis berlandieri* x *V. riparia* byla do Státní odrůdové knihy ČR zapsána v roce 1983. Podnož pochází z rakouského Klosterneubergu, kde ji vyšlechtil F. Kober, který disponoval rostlinným materiálem od maďarského šlechtitele Zsigmonda Telekiho (SEDLO et al., 2011).



Obr. 8: List podnože Kober 125 (SOTOLÁŘ, 2006)

List podnože je větší velikosti, tmavozelený a vyznačuje se nevýraznými laloky. Čepel listu je nálevkovitého tvaru s výraznou žilnatinou a jednoleté dřevo bývá tmavohnědé barvy s čárkovaným vzorem (PAVLOUŠEK, 2008).

V podnožové vinici se vyznačuje bujným růstem a naštěpovaným odrůdám dává středně bujný růst. Vzhledem k nízké schopnosti prorůstat hlouběji do půdy se řadí mezi podnože méně tolerantní k suchu. Nedoporučuje se ji tedy vysazovat do mělkých půd a suchých stanovišť. Vhodné půdy pro tuto podnož jsou písčitohlinité, hlinité, jílovité, i slínovité. Pro Kober 125 AA je charakteristická velmi dobrá tolerance k révokazu. Díky jednomu z rodičů – *V. berlandieri* (réva vápnomilná) Kober 125 AA snese 17- 20% aktivního vápna, a tak se řadí mezi podnože více tolerantní k vápnu v půdě (KRAUS et al., 2010; PAVLOUŠEK, 2008).

Börner

Podnož vzniklá křížením (*Vitis riparia* Michx. „183 Gm“ x *Vitis cinerea* Engelm. „Arnold“) byla vyšlechtěna v německém Geisenheimu pod vedením Helmuta Beckera, který získal semenáče po Carlu Börnerovi. Ten začátkem 20. století objevil imunitu k révokazu u *V. cinerea* „Arnold“ a použil ji v křížení. V ČR tato podnož není zapsána ve Státní odrůdové knize, ale můžeme ji nalézt zaregistrovanou v jiných státech EU. V tom případě legislativa umožňuje její pěstování i u nás (PAVLOUŠEK, 2008).



Obr. 9: List podnože Börner (PAVLOUŠEK, 2011)

List podnože Börner je velmi velký a trojlaločnatý. Na čepeli listu jsou charakteristické krátké, širší zoubky, na rubu jsou patrné štětinky. Řapíkový výkroj je otevřený. Vrcholky letorostu jsou hustě vlnatě ochlupeny a s načervenalým okrajem lístků. Na jednoletém dřevě se nachází hnědé až červenohnědé proužky (PAVLOUŠEK, 2008).

Podnožová odrůda ve vinici roste bujně. Řadí se k podnožím více tolerantním k suchu vzhledem k schopnosti prorůstat hluboko do půdy. Naopak však disponuje nízkou odolností k aktivnímu vápnu v půdě. Snese 15 % celkového vápna a 6-8% aktivního vápna v půdě (RUHL, ERNST, 1996; KRAUS, 2010; PAVLOUŠEK, 2008).

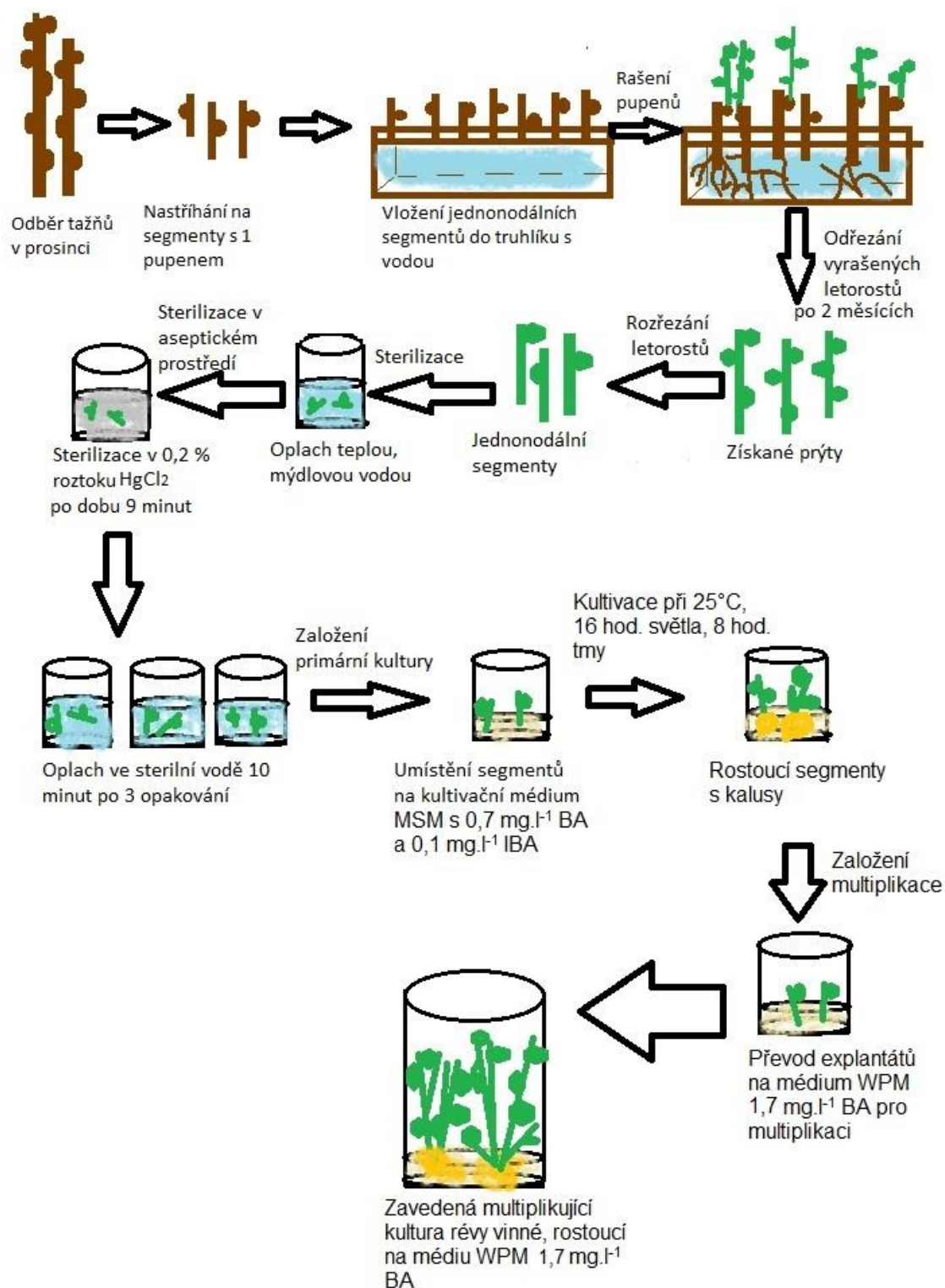
Podnož Börner je však atraktivní hlavně díky své vysoké odolnosti vůči révokazu. Po napadení tohoto patogena se u podnože projeví hypersenzitivní reakce. Jde o odpověď rostliny rychlým odumřením rostlinného pletiva, a tím daný patogen není schopen na rostlině dále přežít. U podnože Börner se tato

reakce projevuje nekrotickými tečkovanými skvrnami. Byla objevena i vysoká odolnost kořenů ke všem formám révokazu a gen rezistence pro podnož Börner byl označen jako Rdv1 (PAVLOUŠEK, 2011).

4.2 Kultivace révy vinné v podmínkách *in vitro*

Postup převodu rostlin révy vinné je zobrazen v následujícím schématu (obr. 10). Převod daných podnoží do podmínek *in vitro* byl uskutečněn v rámci bakalářské práce v prosinci 2012 (DVOŘÁKOVÁ, 2014). Nejprve byly odebrány dřevnatělé prýty daných podnoží, nastříhány na jednodálční segmenty, které se nechaly rašit v truhlíku s vodou. Po 8 týdnech byly založeny primární kultury obou podnoží. Došlo k odřezání vyrašených pupenů, získané prýty byly rozřezány na segmenty s jedním pupenem a následoval sterilizační pokus, prováděný již v aseptickém prostředí laminárního boxu. Vybrány byly 3 varianty doby působení sterilizačního roztoku – 7, 9 a 13 minut v 0,2% roztoku HgCl₂. Nejvíce životaschopných a sterilních rostlin bylo získáno z varianty 9 minut sterilizace. Po odebrání rostlin ze sterilizačního roztoku byly segmenty podnoží ponechány po dobu 10 minut postupně ve 3 sterilních vodách. Následovala volba vhodného kultivačního média pro primární kulturu. Segmenty podnoží byly převedeny vždy po 3 kusech na média MSM s 0,7 mg.l⁻¹ BA a 0,1 mg.l⁻¹ IBA a MS s 0,5 mg.l⁻¹ 2ip; 0,25 mg.l⁻¹ NAA (MURASHIGE, SKOOG, 1962). Skleněné kultivační nádoby byly uzavřeny kovovým uzávěrem s molitanem a uloženy v kultivační místnosti s teplotou 21°C a s osvětlením dlouhého dne (16 hod. světlo, 8 hod. tma). Tzv. multiplikační media se lišila složením makroelementů a mikroelementů (média RN- NITCH and NITCH (1956), RK- KOHLENBACH (1966), RB- BINDING (1972), WPM- LLOYD et al. (1981), QL- QUORIN et al. (1977) a B5- GAMBORG et al. (1968)) za stejného obsahu růstových regulátorů, která se osvědčila při růstu primární kultury (1,7 mg.l⁻¹ BA a 0,7 mg.l⁻¹ BA s 0,1 mg.l⁻¹ IBA). Nejvhodnější médium bylo WPM s - 1,7 mg.l⁻¹ zeat. a WPM s 1,7 mg.l⁻¹ BA. Toto médium bylo poté použito pro pokus simulaci stresu u daných podnoží. Podnož Börner vykazovala pomalejší růst oproti podnoži Kober 125 AA. Proto kvůli nízkému počtu získaných rostlin a časové náročnosti nebylo možné tuto podnož zařadit do pokusu se stresem v rámci bakalářské práce.

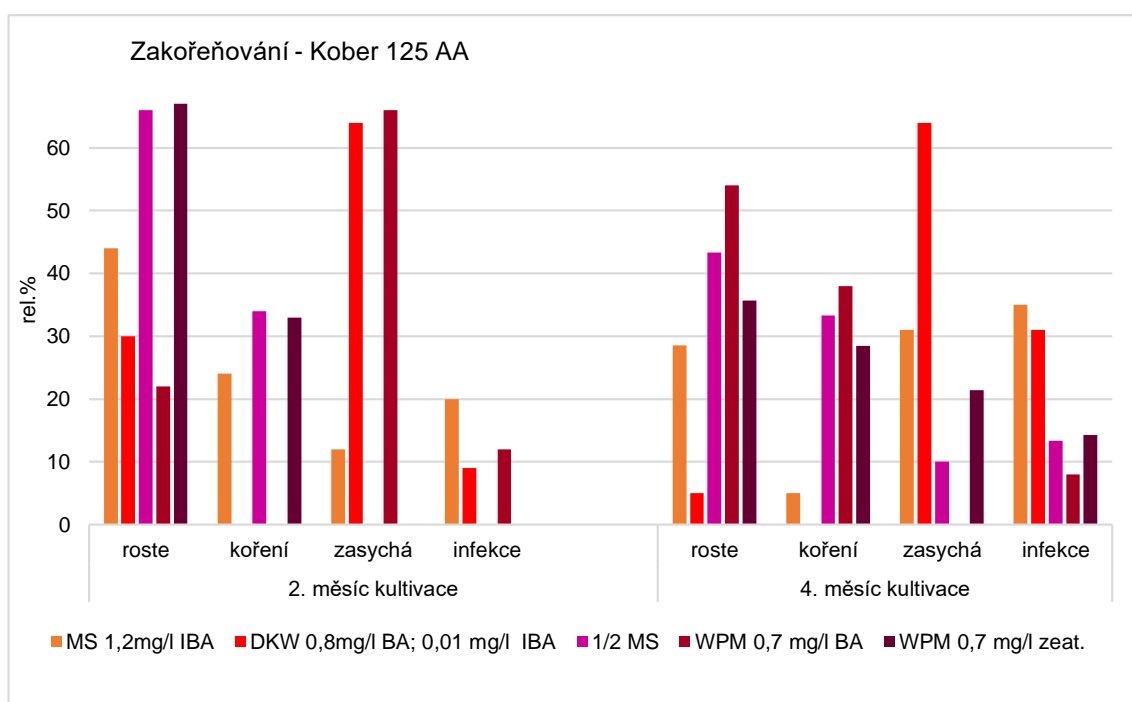
Stresové odpovědi segmentů prýtu podnože Börner jsou řešeny v této diplomové práci, jež má za cíl sledovat reakci zakořeněných segmentů podnoží révy vinné na stresové situace.



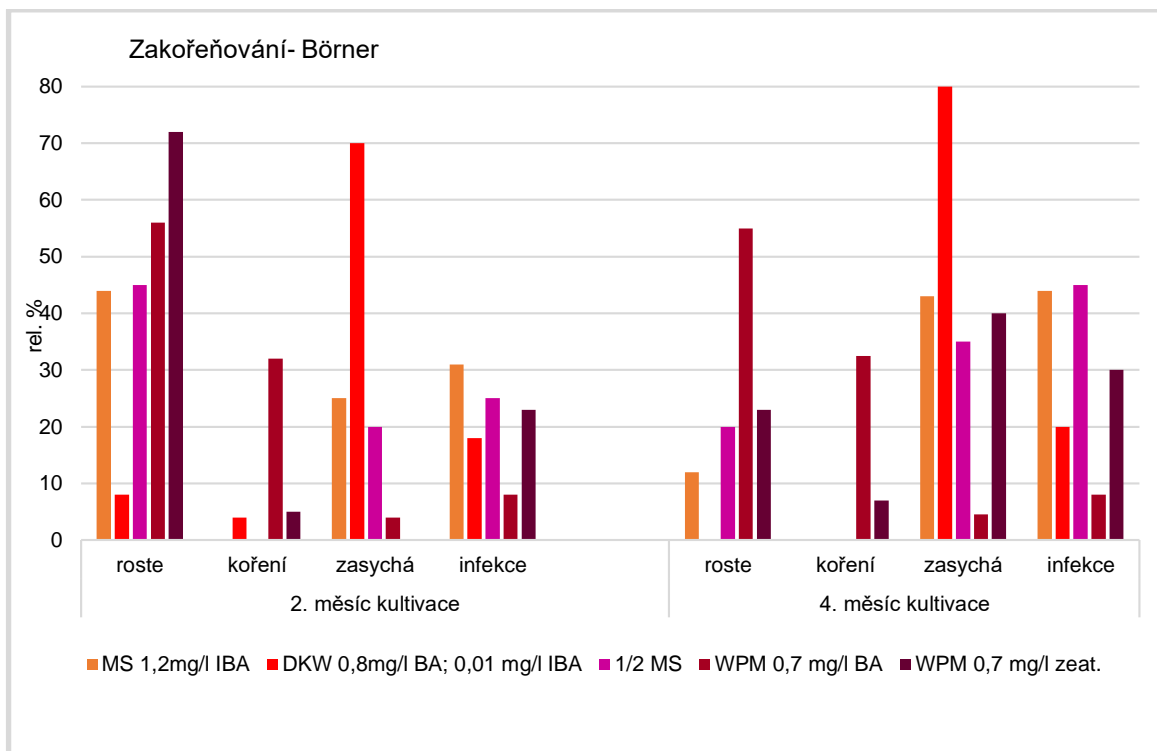
Obr. 10 : Postup převodu rostlin révy vinné v podmínkách in vitro

4.3 Zakořeňování révy vinné v podmínkách *in vitro*

Dobrá zakořeňovací schopnost podnože je předpokladem pro úspěšný růst celého keře. Aby bylo možné provést pokus se zakořeněnými rostlinami ve stresových podmínkách, bylo potřeba zjistit optimální zakořeňovací kultivační médium pro révu vinnou. Testace zakořeňovacích médií u obou podnoží započala 7. 7. 2014 a byla použita média s růstovými regulátory uvedenými v grafech (graf 1 a graf 2) - WPM - LLOYD et al. (1981), DKW- DRIVER, KUNIYUKI (1984), H - poloviční MURASHIGE, SKOOG (1962), MS- MURASHIGE, SKOOG (1962). Úspěšnost médií i s použitými růstovými regulátory shrnují následující grafy.



Graf 1: Vhodnost zakořeňovacích médií u podnože Kober 125 AA



Graf 2: Vhodnost zakořeňovacích médií u podnože Börner

Z Grafu 1 a 2 vyplývá, že nejlépe se dařilo podnožím na médiu WPM s 0,7 mg.l⁻¹ BA. Po 4 měsících kultivace podnož Kober 125 AA rostla z 52 %, přičemž u 38 % z těchto rostoucích rostlin byly patrné kořeny. U podnože Börner bylo znatelných 55 % rostoucích rostlin, ze kterých 31 % tvořilo kořeny.

Všeobecně je známo, že právě auxiny podporují růst kořenů. Lze zde uvažovat o možnosti, že podnože obsahují tolik endogenního auxinu, že sám o sobě již inhibuje tvorbu kořenů (viz medium H – což je poloviční MS bez růstových regulátorů, kde se kořeny netvořily vůbec) a tím pádem i exogenně aplikovaný auxin kořeny inhibuje – (tzv. zakořeňovací medium MS s IBA tvorbu kořenů snižovalo) – a naopak BA v médiu vstupuje do interakce s nativním auxinem a může tak tvorbu kořenů stimulovat.

KŘÍŽAN et al., (2012), TEHRIM et al., (2013), LU (2005) potvrzují, že se zvyšujícím se obsahem cytokininu benzyladeninu (BA) s limitem do 2 mg.l⁻¹ se zvyšuje jak počet nových prýtů, tak i délka kořenů podnoží révy vinné. Pro kultivaci révy vinné tito autoři považují WPM médium - LLOYD et al. (1981) za vhodnější než médium MS - MURASHIGE, SKOOG (1962) a DKW - DRIVER, KUNIYUKI (1984), či NN - NITCH, NITCH (1956).

Obr. 11 (a-b): 4 měsíční kultura explantátů podnože Kober 125 AA na vybraných zakořeňovacích kultivačních médiích



a) MS 1,2 mg.l⁻¹ IBA



b) WPM 0,7 mg.l⁻¹ BA

Obr. 12 (a-b): 4 měsíční kultura explantátů podnože Börner na vybraných zakořeňovacích kultivačních médiích



a) WPM 0,7 mg.l⁻¹ zeatin



b) WPM 0,7 mg.l⁻¹ BA

4.4 Kultivace podnoží ve stresových podmínkách

Kultivace ve stresových podmínkách byla provedena se třemi typy rostlin: Börner – nezakořeněné segmenty, Kober 125 AA – zakořeněné rostliny, Börner – zakořeněné rostliny. Pokus s nezakořeněnými segmenty podnože Börner byl založen 14. 5. 2015 a kultivace trvala 61 dní za stejných podmínek jako u nezakořeněných rostlin, aby byly výsledky srovnatelné s výsledky segmentů podnože 125 AA uvedených v bakalářské práci. Zakořeněné rostliny podnoží Kober 125 AA a Börner byly 19. 11. 2015 ve sterilních podmínkách rozděleny na jednotlivé zakořeněné rostliny a po 1 kusu převedeny na kultivační médium WPM s $0,7 \text{ mg.l}^{-1}$ BA (tab. II), jehož upravené složení mělo simulovat abiotický stres. Explantáty byly uchovávány ve 200 ml skleněných kultivačních nádobách s kovovým uzávěrem se septem a označeny. Každá varianta měla 5 opakování. Kultivace zakořeněných podnoží Kober 125 AA a Börner trvala 61 dní. Simulace sucha byla docílena přidavkem 30, 60, 90 g.l^{-1} polyethylenglykolu (PEG 6000) a sacharózy 60 a 90 g.l^{-1} . Nadbytek vápna byl zajištěn přidavkem 500 mg.l^{-1} a 1000 mg.l^{-1} $\text{Ca}(\text{NO}_3) \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$.

Tab. II: Složení modifikovaného WPM média ($0,7 \text{ mg.l}^{-1}$ BA) pro simulaci stresu u podnoží révy vinné

označení média	složení pro 1000 ml média
WPM-1 (kont.)	30 g sacharózy
WPM-2	60 g sacharózy
WPM-3	90 g sacharózy
WPM-4	30 g sacharózy + 30 g PEG
WPM-5	30 g sacharózy + 60 g PEG
WPM-6	30 g sacharózy + 90 g PEG
WPM-7	30 g sacharózy + 500mg Ca (NO ₃). 4 H ₂ O
WPM-8	30 g sacharózy +1000 mg Ca (NO ₃). 4 H ₂ O

RAHAYU et al. (2015) uvádí PEG, jako makromolekulární látku, která se pro simulaci sucha v *in vitro* kultuře využívá velmi často. Jedná se o osmotikum, které indukuje sucho totožné se suchem běžným v polních podmínkách. Zmiňuje se o úspěšných pokusech, kde se zjišťovala tolerance k suchu nově vyšlechtěných odrůd rajčat, brambor, sóji, kukuřice a pšenice pomocí přidavku PEG do kultivačního média v podmínkách *in vitro*.

Po přidavku PEG do média dochází ke snížení příjmu a absorpci vody až k úplnému zastavení příjmu. Rostlina usychá. Pokud dojde k aplikaci PEGu na zakořeněné rostliny, dojde k obalení kořenů tímto osmotikem a vyvolání osmotického stresu (LAWLOR, 1970; JEDLIČKOVÁ et al., 2007; OLŠOVSKÁ et al., 2001).

4.5 Analýza koncentrace etylenu, etanu a CO₂ v kultivačních nádobách

V průběhu kultivace rostlin ve stresových podmínkách docházelo k odběru plynů z kultivačního prostředí baňky. Kovový uzávěr se septem umožňoval sterilní odběr vzorků plynů do injekční stříkačky o objemu 2 ml s jehlou 0,5 mm silnou. Injekční stříkačky se vzorky se postupně zapíchnávaly do pryžové zátky, ze kterých se odebíraly pro nástřik do plynových chromatografů a analýzu obsahu etylenu, etanu a CO₂. První odběr plynů proběhl 24 hodin po založení pokusu, následovalo měření 2. a 3. den a poté vždy 1x za týden. Uchování vzorků plynů v zapíchnutých injekčních stříkačkách v pryžové zátce může být až 24 hodin (FIŠEROVÁ et al., 2008).

Odebrané množství plynů se těsně před nástřikem do plynového chromatografu upravilo na 1 ml. Etan a etylen byl stanoven v 1 ml sledovaného ovzduší odebraného tuberkulinovou stříkačkou na plynovém chromatografu firmy Master DANI Instruments S.p.A., Italy, s kapilární 30 m dlouhou kolonou RT-Q-BOND/divinylbenzen. Teplota detektoru byla 220°C, nástřiku 100°C a kolony 50°C. Obsah oxidu uhličitého byl stanoven na plynovém chromatografu CHROM 5 s katharometrem s náplňovou kolonou o délce 1,5 m plněnou PORAPAKem Q. Výsledky byly statisticky vyhodnoceny po přepočtu na standard etylenu a oxidu uhličitého v objemu 1 ml ovzduší z prostoru nádoby. Pro produkci plynů rostlinným pletivem byla koncentrace plynů přepočtena na

hmotnost rostlinného materiálu (FIŠEROVÁ, HRADILÍK 1994: FIŠEROVÁ et al., 2001: FIŠEROVÁ et al. 2008: PROKEŠ et. al., 2006). Výsledky měření jsou zpracovány graficky.

4.6 Stanovení délky, hmotnosti a kvantového výtěžku fotosyntézy

Po ukončení kultivace podnoží ve stresových podmínkách byla u jednotlivých variant změřena délka daného explantátu a na analytických vahách zjištěna hmotnost. Kvantový výtěžek elektronového transportu fotosystému PS II (QY) byl stanoven pomocí přístroje FluorPen FP 100, firmy Photon System Instrument (obr. 13). Jedná se o přenosný fluorometr s interní pamětí, který umožňuje měřit fluorescenci chlorofylu v laboratoři, skleníku nebo v polních podmínkách. Využívá se pro studium fotosyntetické aktivity, k detekci stresu nebo pro testování herbicidů.



Obr. 13: FluorPen FP 100 (ANONYM, 2016)

4.7 Analýza obsahu chlorofylu, karotenoidů a kyseliny abscisové

Po změření délky, hmotnosti a QY stresovaných rostlin následovalo zamrazení rostlinného materiálu. Pro stanovení obsahu chlorofylu a, b a karotenoidů byla navážka 0,2 g listů či apikální části rostliny. Po 2 měsících následovala homogenizace, kdy v třecí misce spolu s mořským pískem, uhličitánem vápenatým pro neutralizaci buněčné šťávy a s malým množstvím acetonu extrahujícímu barviva došlo k rozmělnění rostlinného materiálu. Po homogenizaci byla směs kvantitativně přefiltrována přes fritu s vývěvou.

Získaný extrakt byl doplněn do objemu 10 ml a následně hodnocen absorpční analýzou. Spektorfotometrické měření bylo při určitých vlnových délkách - 645 nm pro max. absorpci chlorofylu b, 663 nm pro max. absorpci chlorofylu a, 440nm pro max. absorpci karotenoidů (HRADILÍK, 2003).

Pro stanovení kyseliny abscisové (ABA) byla odebrána navážka 0,1 g z celé nadzemní části prýtu po dvou opakováních. Následovalo zmrazení a po 2 měsících stanovení RIA (radioimunoanalytickou) metodou. Princip metody spočívá v soupeření antigenu /ABA - H³/ značeného radioaktivním prvkem /³H/ a antigenu nativního ze vzorku /ABA/ při vazbě na molekulu protilátky MAC 252. MAC 252 (výrobce Monoclonal Antibody Centre, Cambridge, UK/pro stanovení/+/- S - ABA a 3H - ABA/Amersham, spec. radioakt. 2,55 TBq mmol, rad. koncentrace 92,5 bBq.l-1/). Antigen radioaktivní je vytěšňován z vazby antigenem nativním, takže přidavek většího množství nativního antigenu má za následek snížení radioaktivity v komplexech protilátek s antigenem. Komplexy /Ag - Ab^x, Ag - Ab/ se vysráží síranem amonným, zcentrují, odsaje se supernatant a měří se radioaktivita ve sraženině. Radioaktivita byla měřena pomocí scintilačního spektrometru Packard 2 000 CA a programu SECURIA - Packard.

Postup samotné metody RIA pro stanovení obsahu ABA v rostlinném materiálu

- Vytřepání homogenátu do vodní frakce
- Oddělení volné ABA centrifugací
- Odběr 50 µl vzorku
- Kalibrační křivka standardů a vzorků s označením mikrozkuavek
- Přidání 100 µl ³H-ABA.
- Přidání 100 µl protilátky MAC.
- Přidání 200 µl 50% PBS
- Inkubace 45 minut v ledničce při teplotě 4°C.
- Přidání 500 µl 100% (NH₄)₂SO₄.
- Inkubace 30 minut při laboratorní teplotě. Příprava centrifugace.
- Centrifugace 10 minut při 5000 ot/min a 4°C.
- Odstranění supernatantu odsávačkou.
- Přidat 1 ml 50% (NH₄)₂SO₄ , uzavření mikrozkuavky.
- Vortexovat, tzn. roztřepat sraženinu.
- Centrifugace 5 minut při 5000 ot/min a 4°C.

- Odstranění supernatantu odsávačkou.
- Přidání 100 µl destilované H₂O, uzavření mikrozkušavky .
- Vytřepání na třepačce
- Přidání 1 ml dioxanového scintilátoru.
- Pevné uzavření mikrozkušavek, vložení do měřících ampulí, měření na scintilačním spektrofotometru PACKARD 2000 CA (QUARRIE, et al. ,1988).

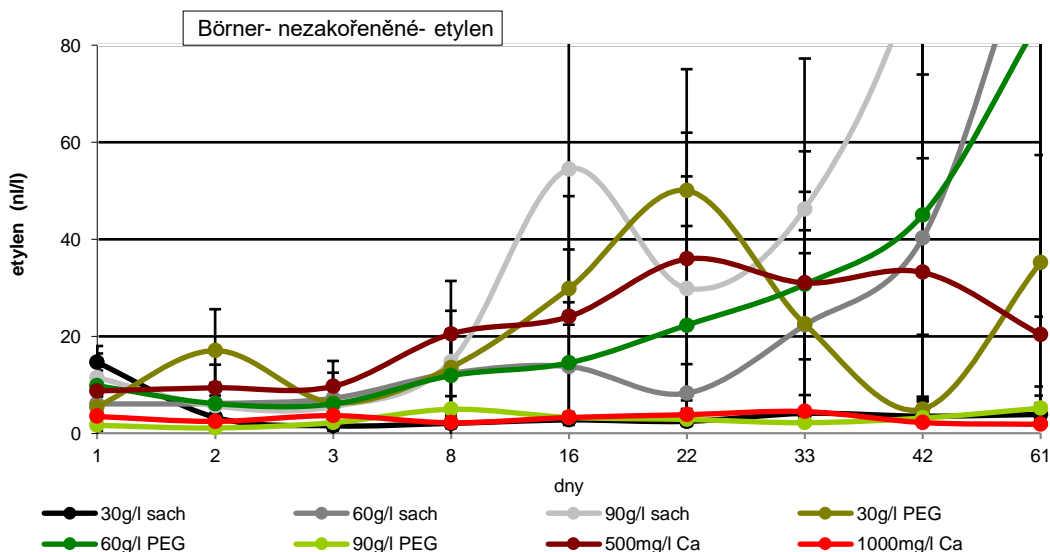
Výsledky jsou zpracovány graficky.

Plánované stanovení ACC (kyselina 1-aminocyklopropan–1-karboxylové) – prekursoru etylenu nebylo možné z důvodu nedostatku rostlinného materiálu stanovit.

5. VÝSLEDKY A DISKUZE

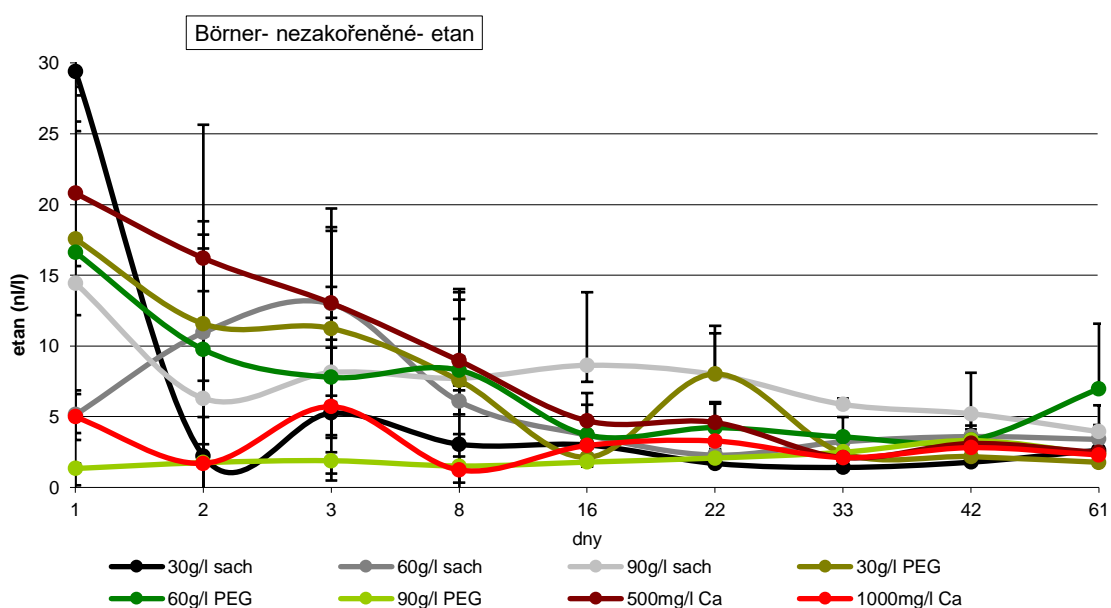
V následujících grafech jsou zpracovány výsledky měření koncentrace jednotlivých plynů v kultivačních nádobách, délka a hmotnost rostliny v závěru pokusu a kvantový výtěžek fotosyntézy (QY) a obsah kyseliny abscisové daných variant podnoží, rostoucích po určitou dobu na modifikovaném WPM médiu (tab. II), simulující stres suchem a nadbytkem vápna.

První graf (graf 3a) znázorňuje koncentraci etylenu nezakořeněné podnože Börner rostoucí 61 dní na modifikovaném WPM médiu. Po celou dobu kultivace vykazuje kontrolní varianta velmi nízkou koncentraci etylenu. Od 3. dne kultivace se započala zvyšovat koncentrace etylenu u všech variant simulujících stres suchem, kromě varianty s nejvyšším obsahem vápníku. Výrazné zvýšení koncentrace etylenu u nejvyšší varianty přídatku sacharózy a 60 g.l⁻¹ PEG je znatelné od 33. dne kultivace. Vyšší koncentrace plynu u varianty s 500 mg.l⁻¹ Ca(NO₃).4H₂O byla měřitelná od 61. dne kultivace. Zvýšenou koncentraci etylenu mmj. u rostlin sóji stresovaných nedostatkem vody prokázal ARRAS et al. (2015), u podnoží révy vinné (*Vitis vinifera* L.) Kober 125 AA a intaktních rostlin tabáku (*Nicotiana tabacum* L.) a rosnatky (*Drosera capillaris* L) FIŠEROVÁ, DVOŘÁKOVÁ et al. (2015).



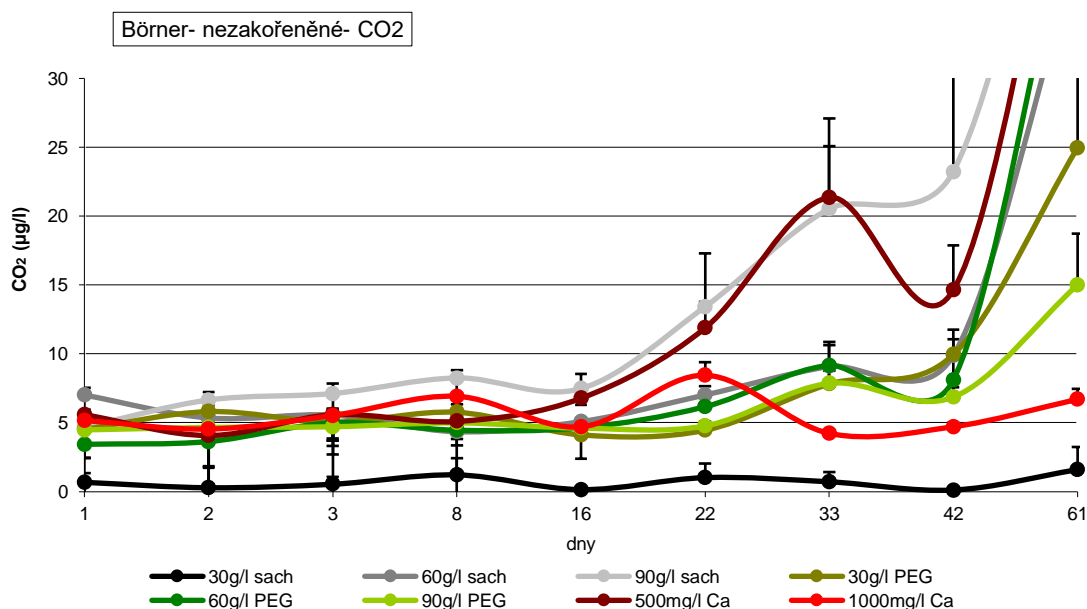
Graf 3a: Sledování koncentrace etylenu v kultivačních nádobách se zvýšenými koncentracemi sacharózy, PEG a Ca(NO₃). 4 H₂O nezakořeněné podnože Börner

Výrazné zvýšení koncentrace etanu u nezakořeněné podnože Börner je možné sledovat jak u všech variant simulující stres, tak i u kontrolní varianty (graf 3b). Takto dynamicky se vyvíjející koncentrace etanu je pravděpodobně známkou poškození a stárnutí rostlin, které nemají vytvořený kořenový systém. Zejména se tak dělo u variant s nejvyšším obsahem sacharózy, 60 g.l⁻¹ PEG a s nižším obsahem vápníku. Podobně tomu tak bylo i u koncentrace etanu u nezakořeněné podnože Kober 125 AA kultivované 71 dní na modifikovaném WPM médiu v rámci bakalářské práce s tím rozdílem, že u nezakořeněných segmentů Börnera je u kontrolní varianty po 24 hodinách vysoká koncentrace etanu a u kontrolní varianty nezakořeněné podnože 125 AA byla naopak koncentrace etanu nízká (DVOŘÁKOVÁ, 2014).



Graf 3b: Sledování koncentrace etanu v kultivačních nádobách se zvýšenými koncentracemi sacharózy, PEG a Ca(NO₃). 4H₂O nezakořeněné podnože Börner

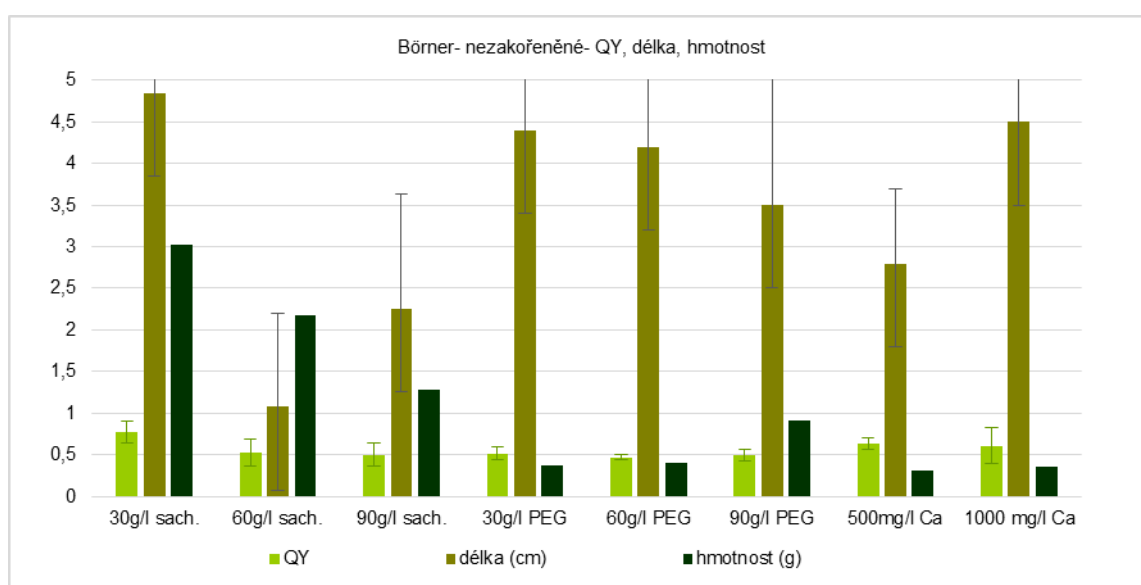
Kontrolní varianta nezakořeněné podnože Börner má po celou dobu trvání pokusu statisticky průkaznou nízkou koncentraci CO₂ oproti stresovaným variantám a oproti kontrolní variantě 125 AA, která produkovala více CO₂ (DVOŘÁKOVÁ, 2014). Nepatrné zvýšení koncentrace CO₂ je viditelné od 3. dne kultivace nezakořeněné podnože Börner (graf 3c). Dynamické prodýchávání substrátu započalo od 16. dne kultivace u všech stresovaných variant. Od 42. dne kultivace varianty s 60 g.l⁻¹ PEG a nižším obsahem sacharózy se prudce koncentrace CO₂ v baňce zvyšuje. Stejně tak se děje i u variant s 60 g.l⁻¹ a 90 g.l⁻¹ sacharózy, které se vyznačují nejvyšší koncentrací oxidu uhličitého ze všech stresovaných variant. Uvedené grafy upozorňují na různou reakci sledovaných odrůd ke stresu – u podnože 125 AA je v závěru pokusu statisticky průkazně vyšší koncentrace CO₂ u maximální dávky vápníku oproti kontrolní variantě (DVOŘÁKOVÁ, 2014), zatímco podnož Börner jak v kontrolní, tak i ve variantě s vysokým obsahem vápníku produkuje nižší množství CO₂. Vyšší koncentrace CO₂ byla v kultivačních nádobách s nižší koncentrací vápníku.



Graf 3c: Sledování koncentrace CO₂ v kultivačních nádobách se zvýšenými koncentracemi sacharózy, PEG a Ca(NO₃). 4H₂O u nezakořeněné podnože Börner

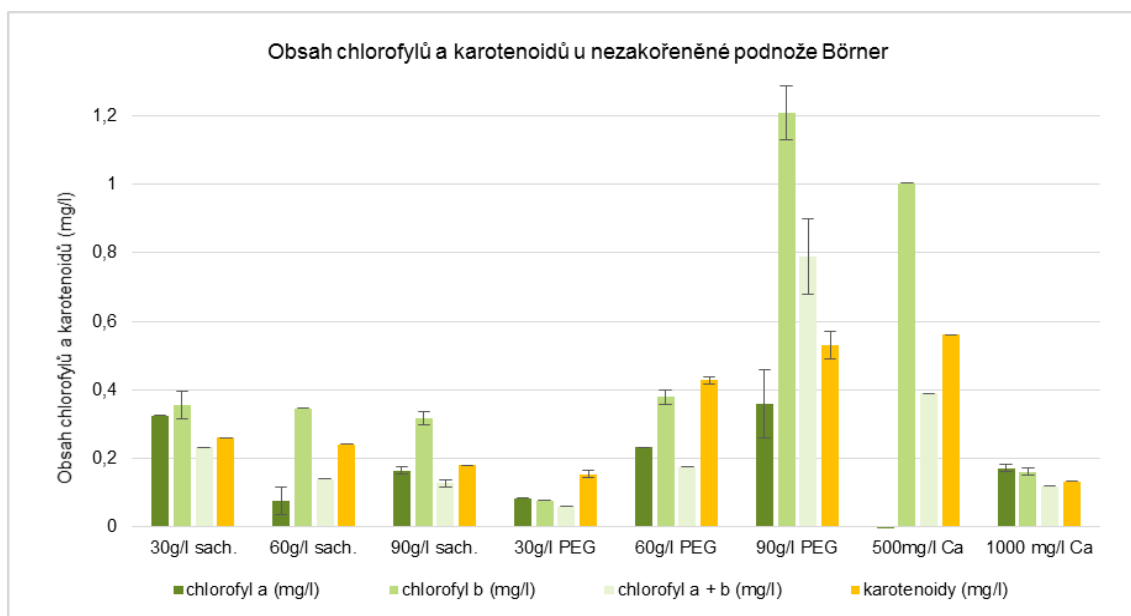
Následující graf sleduje kvantový výtěžek fotosyntézy, délku a hmotnost rostlin u nezakořeněné podnože Börner (graf 3d).

Nejnižší statisticky průkazný rozdíl oproti kontrole je u střední a vysoké dávky PEG, což se tak výrazně neprojevilo u Kober 125 AA (DVOŘÁKOVÁ, 2014), která měla i délku rostliny a hmotnost rostliny u stresovaných variant vyšší než u varianty kontrolní. Stresovaná podnož Börner má nižší délku rostliny a hmotnost než kontrolní varianta – dokonce na zvýšený přídavek sacharózy 60 a 90 g.l⁻¹ reaguje réva se statisticky průkazným výsledkem a hmotnost rostlin je průkazně snížena u všech variant s PEGem a vápníkem.



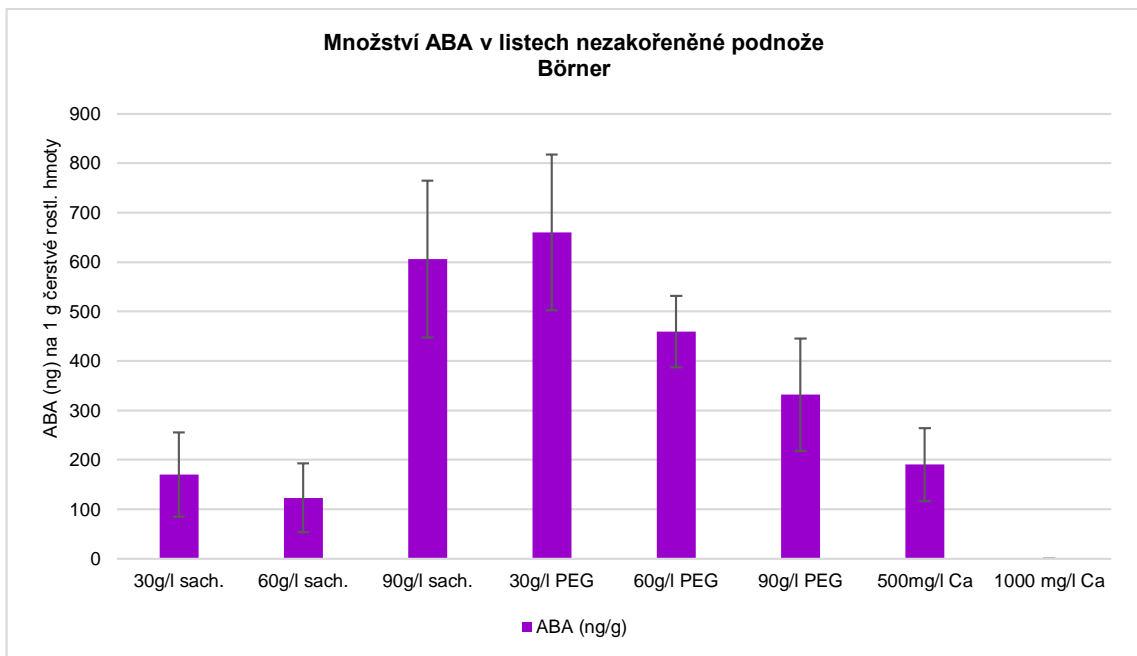
Graf 3d: Hodnocení kvantového výtěžku fotosyntézy (Qy), délky a hmotnosti rostliny v závěru pokusu (61. den kultivace) rostoucích v kultivačních nádobách se zvýšenými koncentracemi sacharózy, PEG a Ca(NO₃). 4 H₂O nezakořeněné podnože Börner

U podnože Börner je u stresovaných variant méně chlorofylu a (graf 3e). Podobně tomu bylo i u podnože Kober 125 AA, kde však nižší varianta vápníku obsah chlorofylu několikanásobně zvýšila oproti kontrolní variantě (DVOŘÁKOVÁ, 2014). U podnože Börner naopak stejná koncentrace Ca snížila hodnotu chlorofylu až k nule. Chlorofyl b byl snížen u Börnera statisticky průkazně při nejnižším přídavku PEGu a naopak maximální přídavek PEGu a nižší koncentrace vápníku obsah chlorofylu b statisticky průkazně zvýšily. Obdobně reaguje obsahem chlorofylu b i podnož Kober 125 AA (DVOŘÁKOVÁ, 2014), kde byly stresem zvýšeny i karotenoidy oproti kontrole a obsah karotenoidů se blížil k nule. U Börnera jsou karotenoidy ve vysoké koncentraci u kontrolní varianty. Vyšší koncentrace sacharózy a nižší koncentrace PEGu snižují obsah karotenoidů a vyšší koncentrace PEGu a nižší koncentrace vápníku obsah karotenoidů zvyšují.



Graf 3e: Obsah chlorofylů a karotenoidů v 1 g rostlinného materiálu nezakořeněné podnože Börner

Množství kyseliny abscisové stresovaných variant nezakořeněné podnože Börner dosahovalo oproti kontrole vyšších hodnot (graf 3f). Zejména se tak dělo u nejvyššího přídavku sacharózy. Obsah ABA měl u osmotika PEGu klesající tendenci. Varianta s nejvyšším přídavkem vápníku nebyla do pokusu zařazena kvůli nedostatku rostlinného materiálu. FIŠEROVÁ et al., 2011 prokazují zvyšující se obsah kyseliny abscisové u rostlin okurek kultivovaných v přítomnosti fluorantenu (xenobiotikum) a naopak snížený obsah ABA u hrachu, kultivovaných za stejných podmínek.



Graf 3f: Množství ABA v 1 g rostlinného materiálu nezakořeněné podnože Börner

Obr. 14 (g-m): Reprezentativní rostlina nezakořeněné podnože Börner v závěru hodnocení pokusu stresu suchem a nadbytkem obsahu vápníku



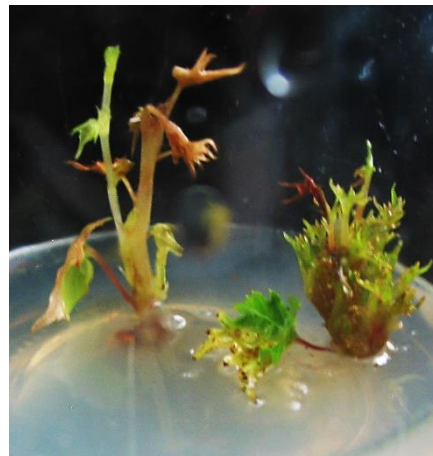
Obr. 14g:
Podnož Börner rostoucí 61 dní na WPM médiu s $0,7 \text{ mg.l}^{-1}$ BA a 30 g.l^{-1} sacharózy



Obr. 14h:
Podnož Börner rostoucí 61 dní na WPM médiu s $0,7 \text{ mg.l}^{-1}$ BA a 60 g.l^{-1} sacharózy



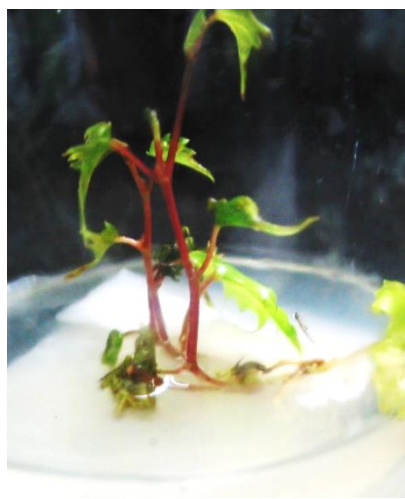
Obr. 14ch:
Podnož Börner rostoucí 61 dní na WPM médiu s $0,7 \text{ mg.l}^{-1}$ BA a 90 g.l^{-1} sacharózy



Obr.14i:
Podnož Börner rostoucí 61 dní na WPM médiu s $0,7 \text{ mg.l}^{-1}$ BA, 30 g.l^{-1} sacharózy a 30 g.l^{-1} PEG



Obr. 14j:
Podnož Börner rostoucí 61 dní
na WPM médiu s $0,7 \text{ mg.l}^{-1}$ BA,
 30 g.l^{-1} sacharózy a 60 g.l^{-1} PEG



Obr. 14k:
Podnož Börner rostoucí 61
dní na WPM médiu s $0,7 \text{ mg.l}^{-1}$
 1 BA, 30 g.l^{-1} sacharózy a 90
 g.l^{-1} PEG

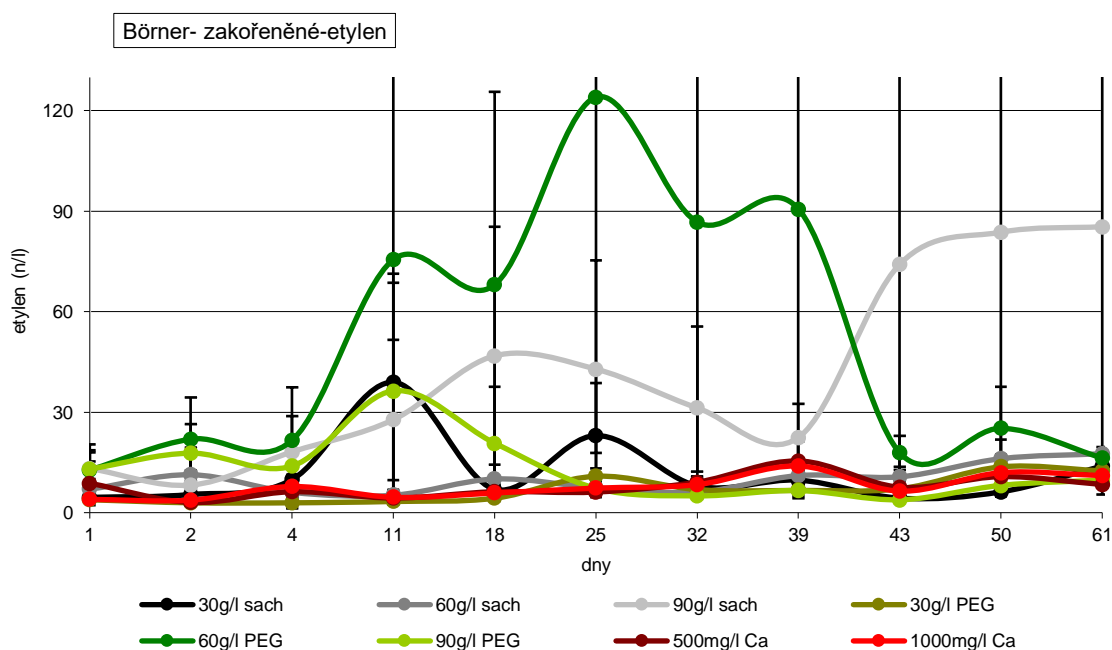


Obr. 14l:
Podnož Börner rostoucí 61 dní
na WPM médiu s $0,7 \text{ mg.l}^{-1}$ BA,
 30 g.l^{-1} sacharózy a 500 mg.l^{-1}
 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4 \text{ H}_2\text{O}$



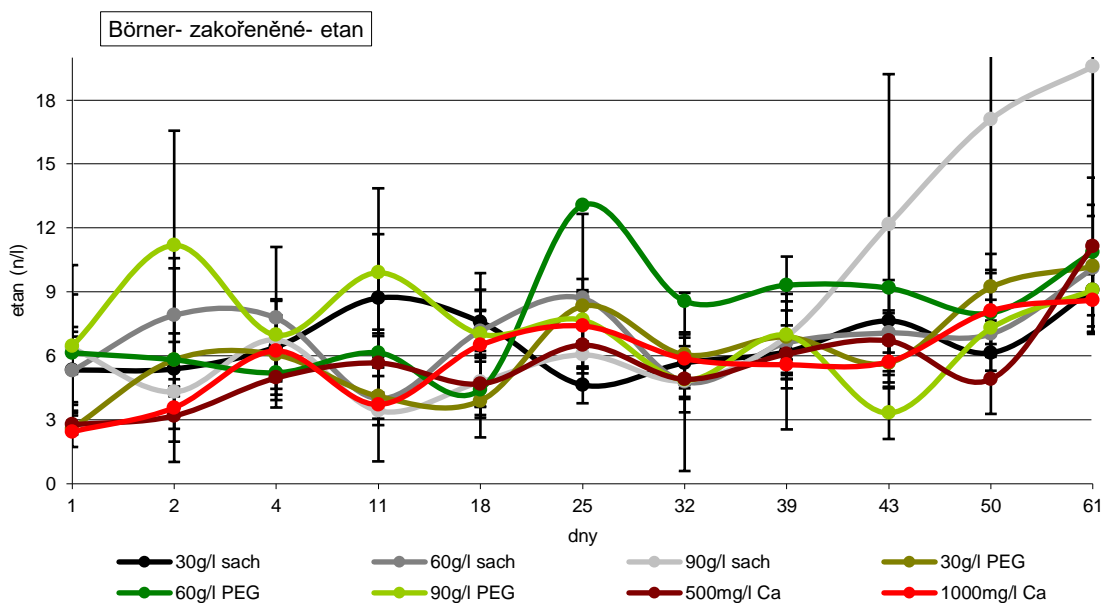
Obr. 14m:
Podnož Börner rostoucí 61 dní
na WPM médiu s $0,7 \text{ mg.l}^{-1}$ BA,
 30 g.l^{-1} sacharózy a 1000 mg.l^{-1}
 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4 \text{ H}_2\text{O}$

Následuje graf produkce etylenu u zakořeněné podnože Börner (graf 4a). Zatímco u nezakořeněných segmentů je u kontrolní varianty nejvyšší koncentrace etylenu 24 hod. od založení pokusu a pak je po celou další dobu sledování na velmi nízkých hodnotách, podobá se produkce zakořeněných kontrolních rostlin Börnera se svými zvýšeními 11. a 25. den průběhu nezakořeněných segmentů Kober 125 AA (DVOŘÁKOVÁ, 2014). U stresovaných variant se produkce etylenu zvyšuje od 2. dne kultivace u variant simulujících sucho. Od 4. dne prudce vzrostla produkce etylenu u varianty s 60 g.l⁻¹ PEG, která svého maxima dosáhla 25. den a koncem pokusu se snižovala. Nejvyšší přídavek sacharózy produkci etylenu zvýšil 4. den a ke konci pokusu se dále zvyšoval. Vysokou produkci etylenu vyvolanou přídavkem 90 g.l⁻¹ sacharózy lze pozorovat také u zakořeněné podnože Kober 125 AA (graf 5a). Přídavek 500 a 1000 mg.l⁻¹ Ca(NO₃). 4 H₂O výrazně produkci etylenu neovlivnil – křivky kopírují kontrolní variantu.



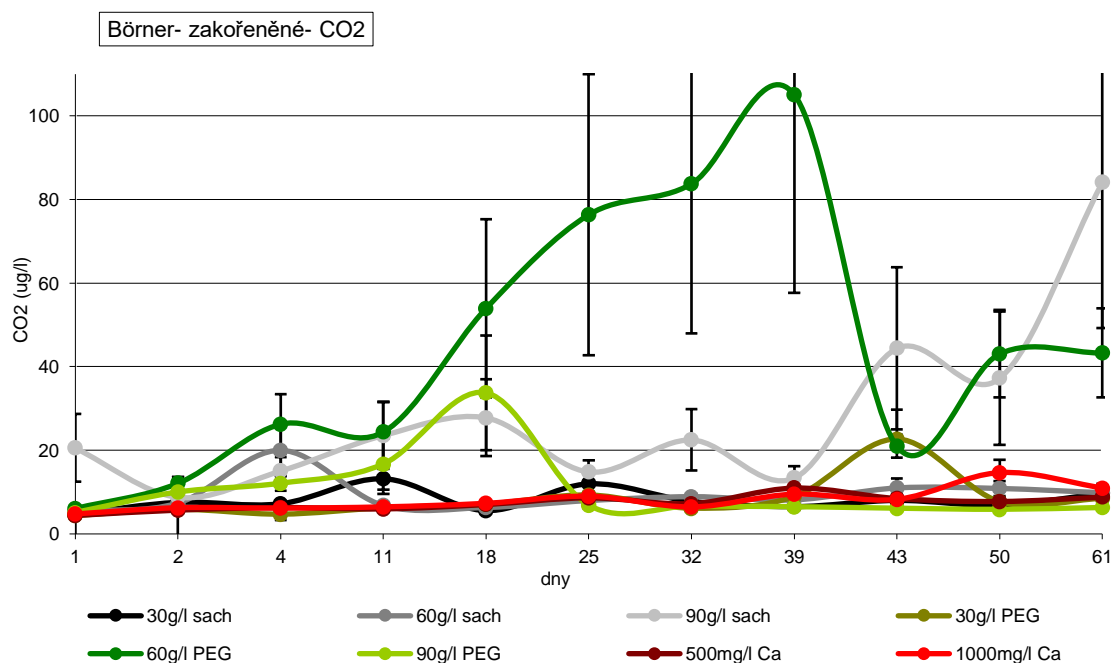
Graf 4a: Sledování koncentrace etylenu v kultivačních nádobách se zvýšenými koncentracemi sacharózy, PEG a Ca(NO₃). 4H₂O zakořeněné podnože Börner

Koncentraci etanu u zakořeněné podnože Börner znázorňuje Graf 4b. Průběh hodnot, i když celkově nižších je obdobný s hodnotami nezakořeněné Kober 125 AA (DVOŘÁKOVÁ, 2014). Vysoká koncentrace etanu v průběhu prvních tří dnů kultivace signalizuje poškození, stárnutí a následné odumírání rostliny. Počáteční hodnoty koncentrace etanu však nejsou tak vysoké, jako u nezakořeněné varianty (graf 3b), kdy se zřejmě rostliny musely vyrovnat s vlastní rhizogenezí a proliferací. U rostlin hrachu vystavených působení fluorantenu byla produkce etanu zvýšena po 1. dnu kultivace (KUMMEROVÁ et al., 2009). Ve 25. den kultivace vytvářejí všechny stresované varianty více etanu jak varianta kontrolní, což může předznamenávat produkci etanu poškozenými buňkami (CHROMINSKI, et al., 1986; DVOŘÁKOVÁ, 2014). Od 32. dne se prudce zvýšila produkce plynu u nejvyšší varianty přídávku cukru, simulující sucho. Ke konci pokusu opět všechny varianty simulující stres převyšují kontrolní variantu.



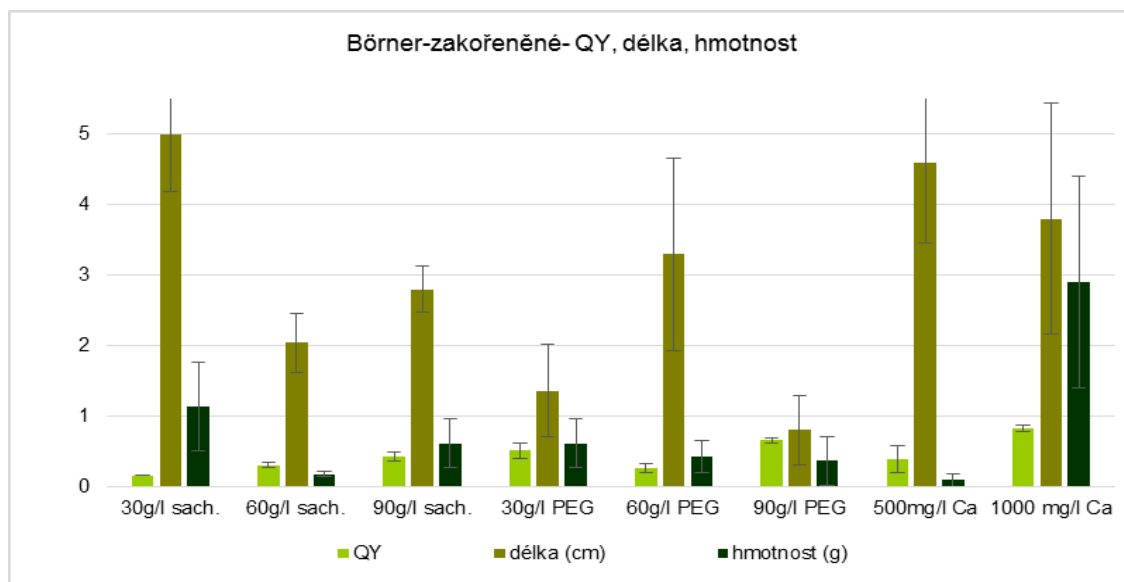
Graf 4b: Sledování koncentrace etanu v kultivačních nádobách se zvýšenými koncentracemi sacharózy, PEG a $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ zakořeněné podnože Börner

Výrazné dýchání zakořeněných rostlin podnože Börner probíhalo u varianty s nejvyšším přidavkem sacharózy již v průběhu prvních 24 hodin (Graf 4c). Svého minima dosáhlo 39. den, od kterého začalo opět narůstat. Významná koncentrace CO₂ byla zaznamenána u varianty s přidavkem 60 g.l⁻¹ PEG již od 1. dne kultivace, kdy 39. den dosahuje svého statisticky průkazného maxima. KUMMEROVÁ et al. (2009) prokazují obdobný vývoj produkce CO₂ u rostlin hrachu vystavených stresu fluorentenem, kdy 2., 3., 7. den proběhlo zvýšení produkce CO₂ a následně 7., 14. a 21. den snížení. Všechny stresované varianty se vyznačují vyššími hodnotami produkcí CO₂ oproti nezakořeněné variantě podnože Börner, která začala vykazovat vyšší hodnoty koncentrace plynu až 42. den kultivace (graf 3c). Kontrolní varianta zakořeněných rostlin produkuje více CO₂ než nezakořeněné segmenty podnože Börner (graf 3c).



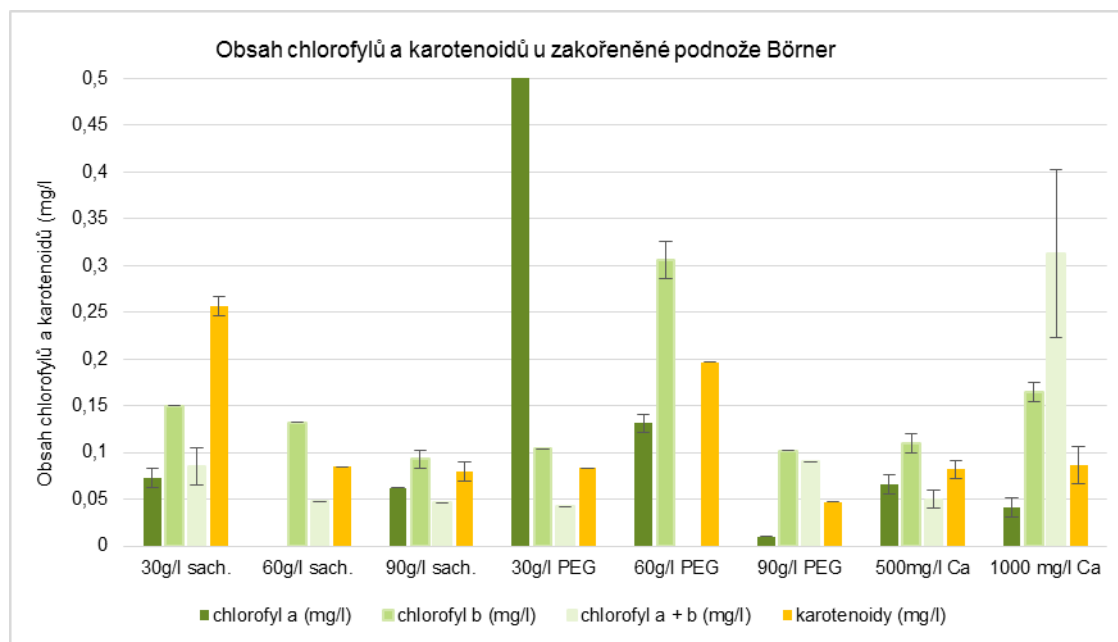
Graf 4c: Sledování koncentrace CO₂ v kultivačních nádobách se zvýšenými koncentracemi sacharózy, PEG a Ca(NO₃). 4 H₂O zakořeněné podnože Börner

U zakořeněných stresovaných variant kultivaru Börner nastává zvyšování rychlosti fotosyntézy (graf 4d) – dokonce u 90 g.l⁻¹ PEG a nejvyššímu přídávku vápníku statisticky průkazně – zatímco u nezakořeněných segmentů podnože Börner (graf 3d) se rychlost fotosyntézy snižovala. Zakořeněné rostliny výrazněji reagují na stres statisticky průkazným snížením růstu do délky a tím i snížením hmotnosti rostlin oproti kontrolní variantě než nezakořeněné segmenty podnože Börner (graf 3d).



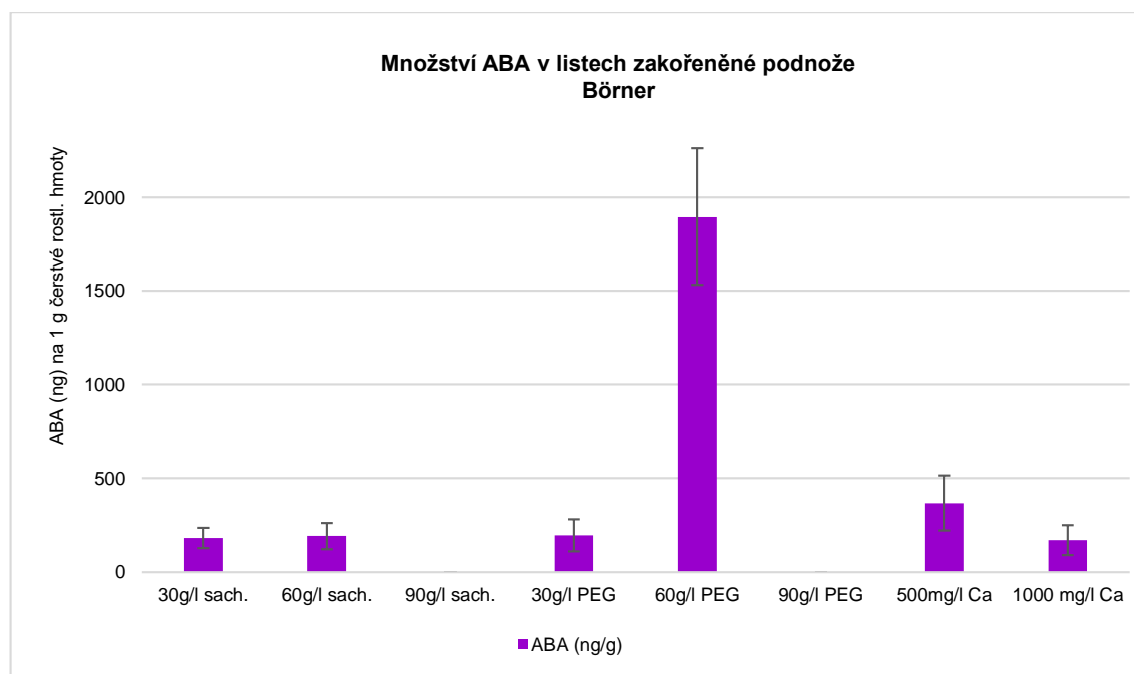
Graf 4d: Hodnocení kvantového výtěžku fotosyntézy (Qy), délky a hmotnosti rostliny v závěru pokusu (61. den kultivace) rostoucích v kultivačních nádobách se zvýšenými koncentracemi sacharózy, PEG a Ca(NO₃). 4 H₂O zakořeněné podnože Börner

Listy zakořeněné varianty podnože Börner obsahují celkově méně listových barviv, než listy nezakořeněných segmentů téže podnože (graf 4e), ale dynamika obsahu u stresovaných variant jednotlivých chlorofylů a karotenoidů je obdobná.



Graf 4e: Obsah chlorofylů a karotenoidů v 1 g rostlinného materiálu zakořeněné podnože Börner

Naměřené hodnoty ABA u zakořeněné podnože Börner (graf 4f) i Kober 125 AA (graf 5f) jsou podstatně vyšší, než u nezakořeněné podnože Börner (graf 3f). HARTUNG (2002) a TAIZ (2002) potvrzují, že nejvíce dochází k akumulaci ABA v kořeni, kdy poté dochází k translokaci xylémem do nadzemní části rostliny. Varianty s nejvyšším obsahem polyethylenglykolu a sacharózy nebyly do pokusu zařazeny kvůli nedostatku rostlinného materiálu. Zakořeněná podnož Börner disponuje nejvyšším množstvím ABA u přidavku 60 g.l⁻¹ PEG. Zde je možné sledovat korelaci k produkci etylenu (graf 4a), kdy je znatelná nejvyšší produkce tohoto plynu právě u varianty s 60 g.l⁻¹ PEG. GURURANI (2015) tvrdí, že akumulace etylenu v rostlinách vystavených suchem poukazuje na narušenou biosyntézu ABA. FIŠEROVÁ, et al. (2011) vysvětlují skutečnost, že různé rostlinné druhy reagují na stresové zatížení s různou citlivostí, podle toho, jakým obranným mechanismem disponují.



Graf 4f: Množství ABA v 1 g rostlinného materiálu zakořeněné podnože Börner

Obr. 15 (g-m): *Reprezentativní rostlina zakořeněné podnože Börner v závěru hodnocení pokusu (61. den) stresu suchem a nadbytku obsahu vápníku*



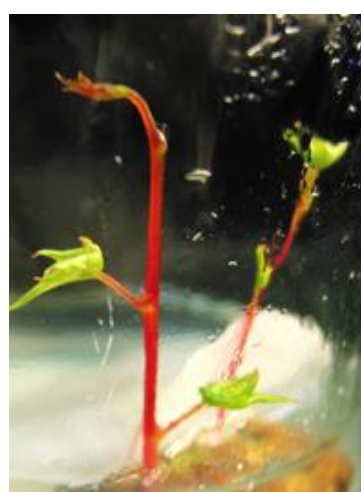
Obr. 15g:
Podnož Börner rostoucí
61 dní na WPM médiu
s $0,7 \text{ mg.l}^{-1}$ BA a 30 g.l^{-1}
sacharózy



Obr. 15h:
Podnož Börner rostoucí 61
dní na WPM médiu s $0,7$
 mg.l^{-1} BA a 60 g.l^{-1} **sacharózy**



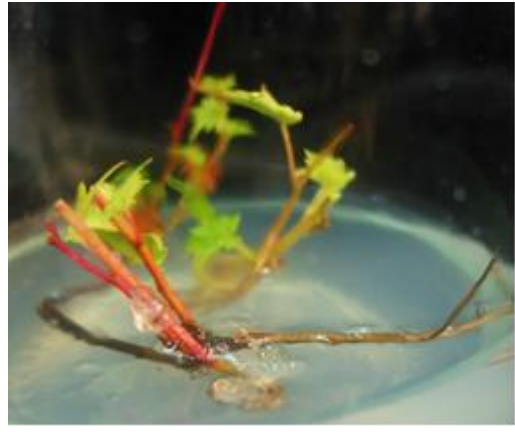
Obr. 15ch:
Podnož Börner rostoucí
61 dní na WPM médiu s
 $0,7 \text{ mg.l}^{-1}$ BA a 90 g.l^{-1}
sacharózy



Obr. 15i:
Podnož Börner rostoucí
61 dní na WPM médiu
s $0,7 \text{ mg.l}^{-1}$ BA 30 g.l^{-1}
sacharózy a 30 g.l^{-1} **PEG**



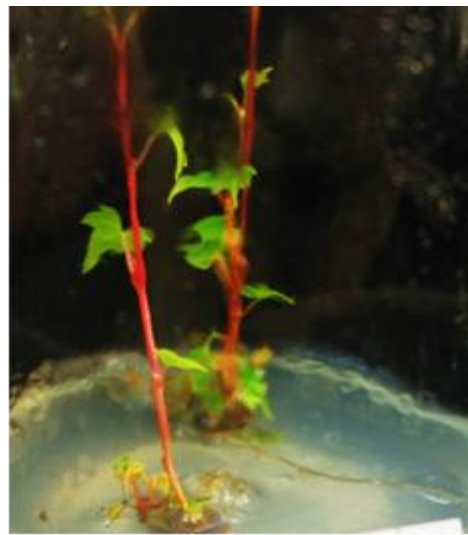
Obr. 15j:
Podnož Börner rostoucí 61 dní na
WPM médiu s $0,7 \text{ mg.l}^{-1}$ BA, 30 g.l^{-1}
sacharózy a 60 g.l^{-1} PEG



Obr. 15k:
Podnož Börner rostoucí 61 dní na
WPM médiu s $0,7 \text{ mg.l}^{-1}$ BA, 30 g.l^{-1}
sacharózy a 90 g.l^{-1} PEG

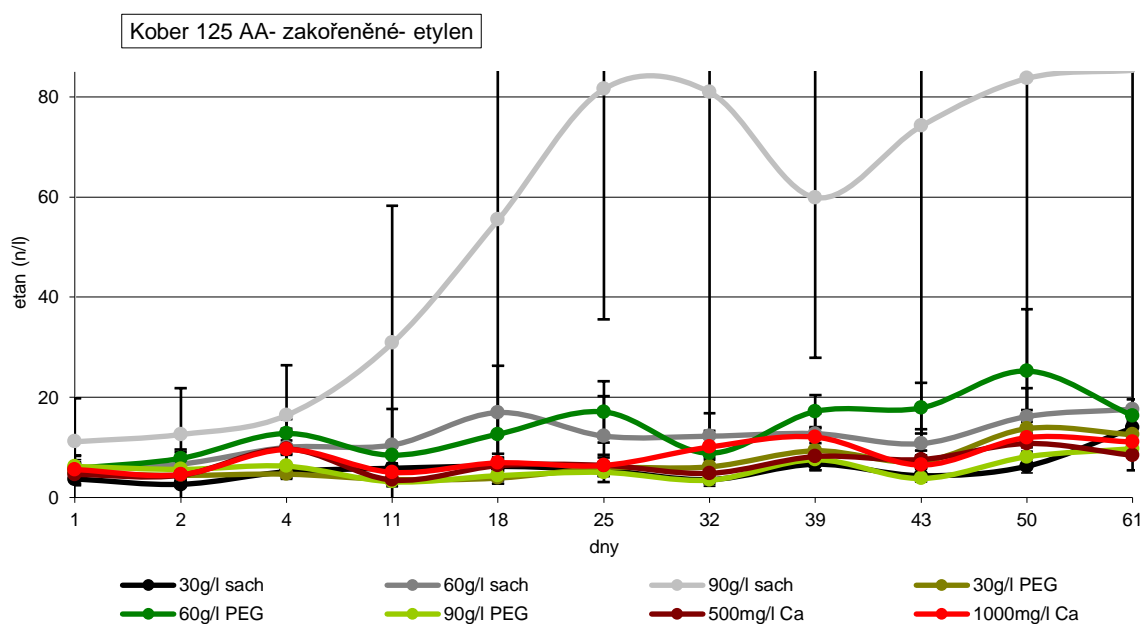


Obr. 15l:
Podnož Börner rostoucí 61 dní na WPM médiu s $0,7$
 mg.l^{-1} BA, 30g.l^{-1} sacharózy a
 500 mg.l^{-1} $\text{Ca(NO}_3)_2 \cdot 4 \text{ H}_2\text{O}$



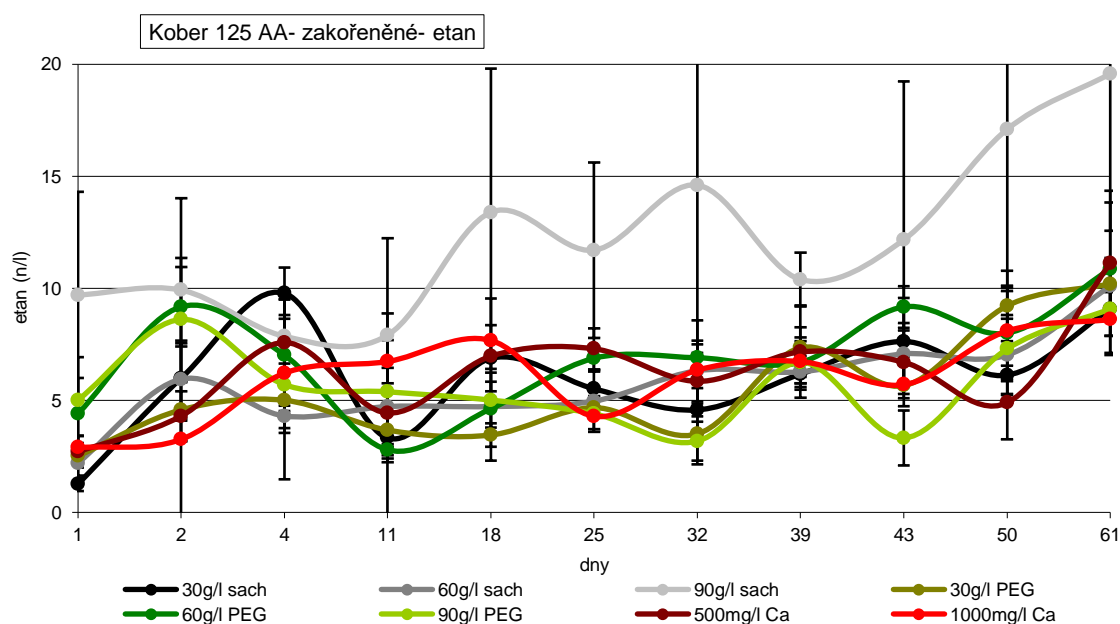
Obr. 15m:
Podnož Börner rostoucí 61 dní
na WPM médiu s $0,7 \text{ mg.l}^{-1}$ BA,
 30g.l^{-1} sacharózy a 1000 mg.l^{-1}
 $\text{Ca(NO}_3)_2 \cdot 4 \text{ H}_2\text{O}$

Následující graf (graf 5a) znázorňuje koncentraci etylenu zakořeněné varianty podnože Kober 125 AA. Produkce etylenu prudce vzrůstala od 4. dne kultivace u nejvyššího přídávku sacharózy, simulující stres suchem a dále byla po celou dobu sledování statisticky průkazně zvýšena oproti kontrolní variantě. Zvýšená produkce plynu byla znatelná i u varianty s 60 g.l⁻¹ PEG. Všechny stresované varianty se nacházely nad křivkou varianty kontrolní. MORGAN a DREW (1997) uvádí, že pokusy s rostlinou sóji pěstované v květináčích prokázaly, že pomalý přechod do podmínek sucha neměl vliv na produkci etylenu, oproti tomu při rychlém přechodu produkce etylenu byla výrazně vysoká.



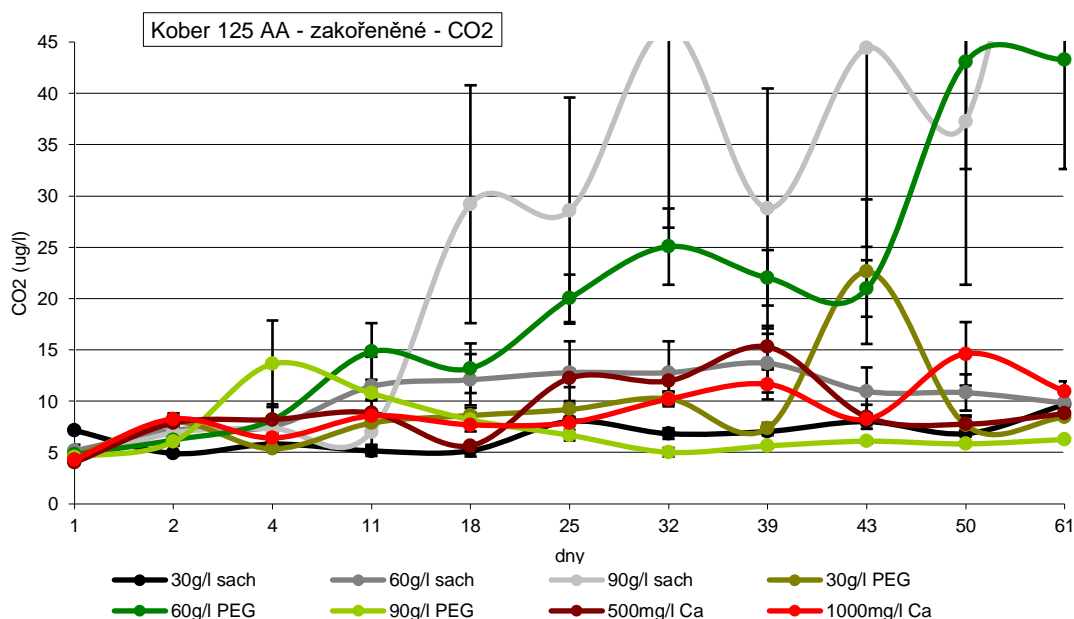
Graf 5a: Sledování koncentrace etylenu v kultivačních nádobách se zvýšenými koncentracemi sacharózy, PEG a Ca(NO₃). 4H₂O zakořeněné podnože Kober 125 AA

Koncentrace etanu je nejvyšší u varianty s 90g.l⁻¹ sacharózy (graf 5b), stejně jako tomu bylo u vysoké koncentrace etylenu (graf 5b). Tyto vysoké hodnoty znamenají značné poškození buněk. Použité osmotikum, jako je sacharóza nebo polyethylenglykol (PEG) v kultivačním médiu obalí kořeny a vyvolají osmotický stres. (LAWLOR, 1970; JEDLIČKOVÁ et al., 2007; OLŠOVSKÁ et al., 2001). Zvýšená koncentrace etanu u kontrolní varianty je zřejmě způsobena růstem kořenů podnože. Produkce etanu dynamicky kolísá, kdy mimo vysokých hodnot produkce plynu u přídavek osmotik (sacharóza a PEG) je výrazně zvýšena i varianta s nejvyšším přídavkem vápníku, obdobné – ale celkově vyšší koncentrace etanu byly zaznamenány u nezakořeněných segmentů podnože Kober 125 AA (DVOŘÁKOVÁ, 2014).



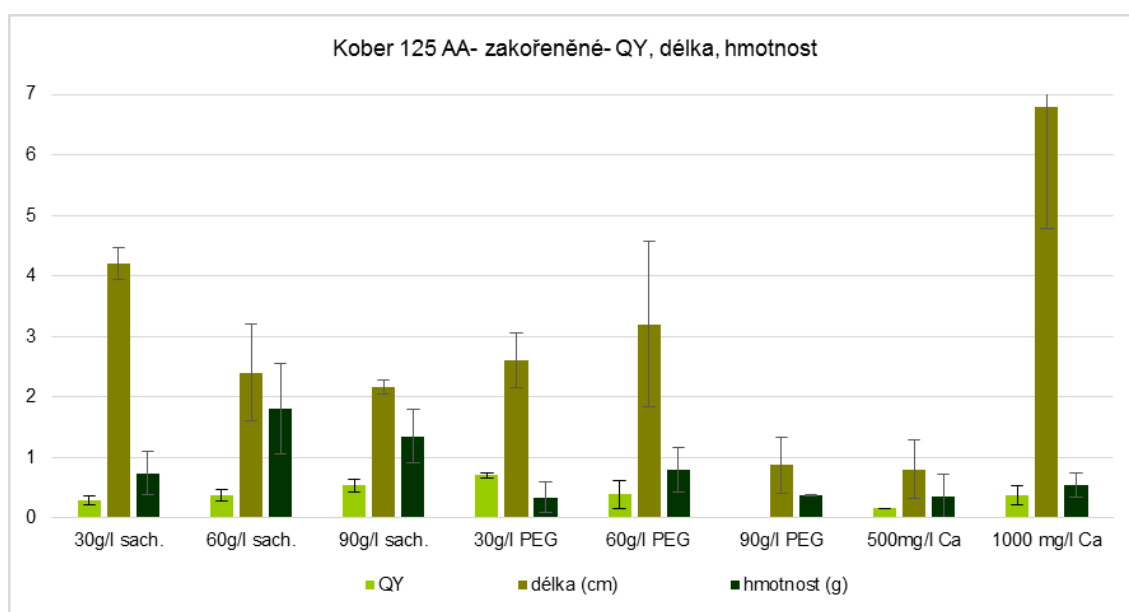
Graf 5b: Sledování koncentrace etanu v kultivačních nádobách se zvýšenými koncentracemi sacharózy, PEG a Ca(NO₃). 4H₂O zakořeněné podnože Kober 125 AA

Vývoj dýchání v podobě koncentrace CO₂ u zakořeněné podnože Kober 125 AA znázorňuje Graf 5c. Od 2. dne se zvýšila koncentrace plynu u nejvyššího přídávku PEG, kdy do konce pokusu se křivka této varianty nacházela pod křivkou kontrolní. Výrazné prodýchávání substrátů nastalo od 11. dne u variant s 90 g.l⁻¹ sacharózy a 60 g.l⁻¹ PEG. Koncentrací CO₂ převyšovaly kontrolu od 25. dne i obě varianty s přídávkem vápníku. CAMROLLÉ et al. (2014) při pokusu s odrůdou Cabernet Sauvignon prokázal sníženou výměnu CO₂ na půdách s vysokým obsahem vápníku. Celková koncentrace CO₂ u zakořeněné varianty byla zhruba o polovinu nižší, než koncentrace CO₂ u nezakořeněné varianty Kober 125 AA (DVOŘÁKOVÁ, 2014).



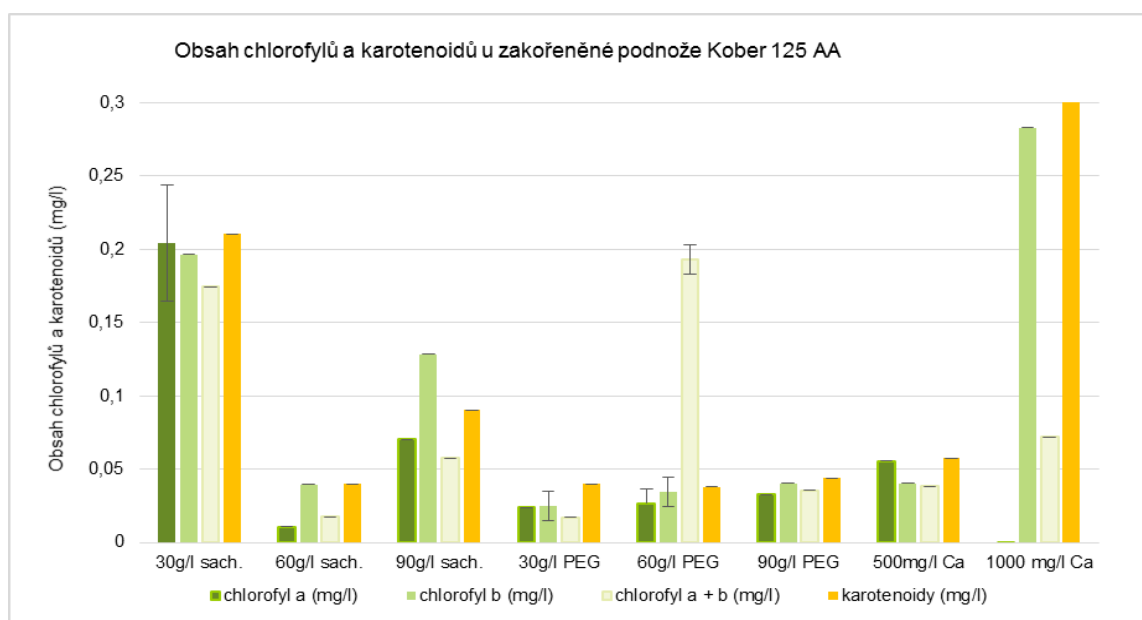
Graf 5c: Sledování koncentrace CO₂ v kultivačních nádobách se zvýšenými koncentracemi sacharózy, PEG a Ca(NO₃). 4H₂O zakořeněné podnože Kober 125 AA

Zakořeněná podnož Kober 125 AA vykazuje statisticky průkazně nejnižší aktivitu fotosyntézy u přídavek 500 mg.l⁻¹ a 1000 mg.l⁻¹ vápníku (graf 5d). Nízkou aktivitu fotosyntézy s minimálními hodnotami kvantového výtěžku fotosyntézy u odrůdy Cabernet Sauvignon na půdách s vysokým obsahem CaCO₃ prokázal i CAMBROLLÉ et al. (2014). U varianty s nejvyšším přídávkem polyethylenglykolu nebylo možné kvantový výtěžek fotosyntézy změřit, kdy listy rostliny byly simulací sucha tak poškozené, že se nedaly rozložit do detektoru QY. Nižší přídavek vápníku a nejvyšší přídavek PEG se projevil na snížení délky rostliny. Naopak vyšší přídavek vápníku vyvolal růst rostliny do délky – stejně jako u nezakořeněné podnože Kober 125 AA. (DVOŘÁKOVÁ, 2014). Stres vyvolaný přídávkem polyethylenglykolu a vápníku snižoval hmotnost rostlin.



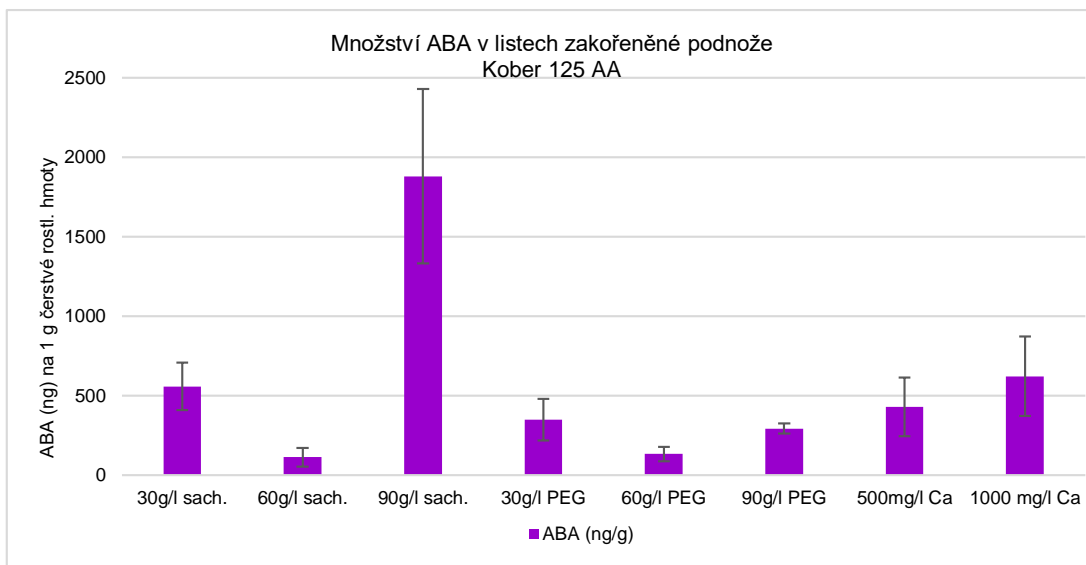
Graf 5d: Hodnocení kvantového výtěžku fotosyntézy (Qy), délky a hmotnosti rostliny v závěru pokusu (61. den kultivace) rostoucích v kultivačních nádobách se zvýšenými koncentracemi sacharózy, PEG a Ca(NO₃). 4H₂O zakořeněné podnože Kober 125 AA

Zakořeněná podnož Kober 125 AA má statisticky průkazně nejvyšší obsah fotosyntetických pigmentů u kontrolní varianty (graf 5e). Značné snížení je patrné u přidavku 60 g.l⁻¹ sacharózy a u všech variant s přidavkem PEG. Nejvyšší přírůstek vápníku snížil obsah chlorofylu a až k nule a několikanásobně navýšil obsah chlorofylu b a karotenoidů. Tento jev se u nezakořeněné podnože Kober 125 AA projevil u nejvyššího přidavku sacharózy (DVOŘÁKOVÁ, 2014). Vlivem špatné funkčnosti chlorofylu se snižovala aktivita fotosyntézy i biomasa u zakořeněných rostlin révy vinné, odrůdy Cabernet Sauvignon na vápenitých půdách (CAMBROLLÉ et al., 2014).



Graf 5e: Obsah chlorofylů a karotenoidů v 1 g rostlinného materiálu zakořeněné podnože Kober 125 AA

Zakořeněná podnož Kober 125 AA vyznačuje vysokou koncentraci kyseliny abscisové u nejvyššího přídávku sacharózy (graf 5f). Lze zde vidět opět korelace s vysokou produkcí etylenu u této podnože rostoucí na modifikovaném WPM médiu s 90 g.l⁻¹ sacharózy. Oproti kontrole je snížený obsah ABA u všech variant přídávku PEG a znatelný nárůst obsahu fytohormonu se zvyšujícím se množstvím vápníku.



Graf 5f: Množství ABA v 1 g rostlinného materiálu zakořeněné podnože Kober 125 AA

Obr. 16 (g-m): *Reprezentativní rostlina zakořeněné podnože Kober 125 AA v závěru hodnocení pokusu (61. den) stresu suchem a nadbytku obsahu vápníku*



Obr. 16g:
Podnož Kober 125 AA
rostoucí 61 dní na WPM
médiu s $0,7 \text{ mg.l}^{-1}$ BA a **30 g.l^{-1} sacharózy**



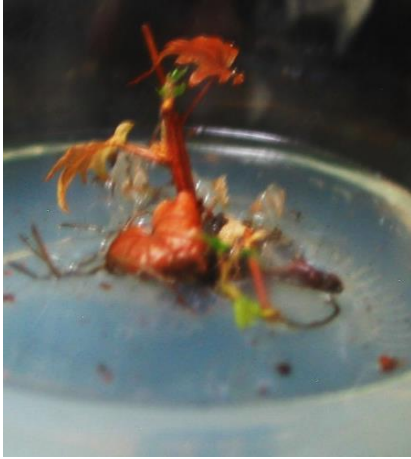
Obr. 16h:
Podnož Kober 125 AA
rostoucí 61 dní na WPM
médiu s $0,7 \text{ mg.l}^{-1}$ BA a
 60 g.l^{-1} sacharózy



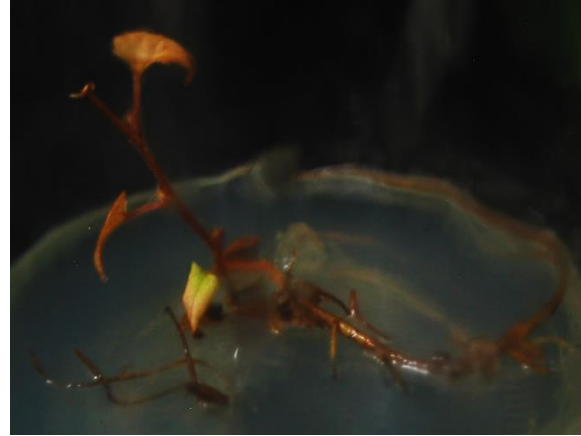
Obr. 16ch:
Podnož Kober 125 AA
rostoucí 61 dní na WPM
médiu s $0,7 \text{ mg.l}^{-1}$ BA a **90 g.l^{-1} sacharózy**



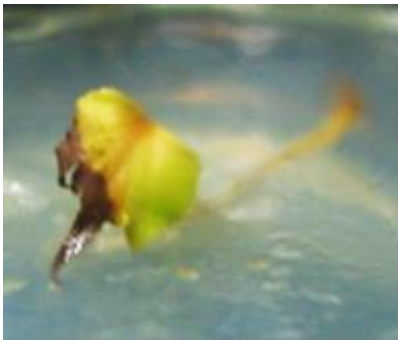
Obr. 16i:
Podnož Kober 125 AA rostoucí
61 dní na WPM médiu s $0,7 \text{ mg.l}^{-1}$ BA, 90 g.l^{-1} sacharózy a
 30 g.l^{-1} PEG



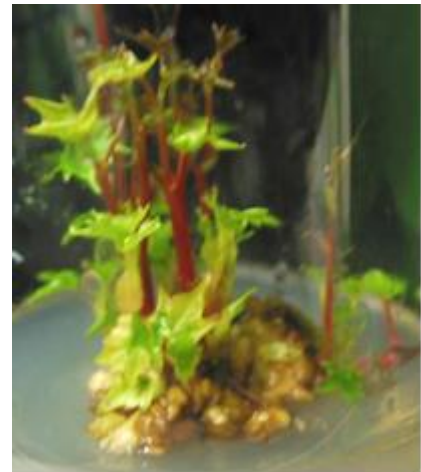
Obr. 16j:
Podnož Kober 125 AA
rostoucí 61 dní na WPM
médiu s $0,7 \text{ mg.l}^{-1}$ BA, 90 g.l^{-1}
sacharózy a 60 g.l^{-1} PEG



Obr. 16k:
Podnož Kober 125 AA rostoucí 61 dní na
WPM médiu s $0,7 \text{ mg.l}^{-1}$ BA, 90 g.l^{-1}
sacharózy a 90 g.l^{-1} PEG



Obr. 16l:
Podnož Kober 125 AA
rostoucí 61 dní na WPM
médiu s $0,7 \text{ mg.l}^{-1}$ BA, 30 g.l^{-1}
sacharózy a 500 mg.l^{-1}
 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4 \text{ H}_2\text{O}$



Obr. 16m:
Podnož Kober 125 AA
rostoucí 61 dní na WPM
médiu s $0,7 \text{ mg.l}^{-1}$ BA, 30 g.l^{-1}
sacharózy a 1000 mg.l^{-1}
 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4 \text{ H}_2\text{O}$

6. ZÁVĚR

Rostlina se často musí potýkat s podmínkami vnějšího prostředí, které se negativně projeví na jejím růstu a výnosu. Ušlechtilá réva vinná se vlivem devastování vinic révokazem v 19. století začala štěpovat na podnože, které výrazně ovlivňují toleranci keře révy vinné k různým stresovým faktorům. V současné době jsou nejčastějšími stresory v zemědělství sucho a v oblasti Pálavy i nadměrný obsah vápníku v půdě.

Pro pokus ve stresových podmínkách byly použity podnože Kober 125 AA a Börner. Kultivace rostlin probíhala v podmínkách *in vitro*. Simulace stresu byla sledována u nodálních a zakořeněných prýtů Börner a zakořeněných prýtů Kober 125 AA. Hodnocení nodálních segmentů této podnože bylo řešeno v bakalářské práci. Kultivace rostlin na médiích s přídavkem osmotických látek a vápníku probíhala 61 dní, kdy byly sledovány růstové a fyziologické parametry rostlin.

Závěry výsledků práce:

1. Vhodné zakořeňovací médium pro podnož Börner a Kober 125 AA je WPM médium s $0,7 \text{ mg.l}^{-1}$ BA. Přídavek IBA inhiboval rhizogenezi.
2. Simulace stresu suchem vyvolává vyšší produkci etylenu než u kontrolních variant, kde produkce etylenu odráží fyziologický stav kultivaru podnože. Nezakořeněné segmenty Kober 125 AA produkují více etylenu než segmenty kultivaru Börner. Kontrolní zakořeněné segmenty kultivaru Börner naopak produkují více etylenu, než zakořeněné segmenty Kober 125 AA.
3. Zakořeněné rostliny produkovaly méně etanu než nezakořeněné. Produkce etanu, určující poškození buněk, byla vysoká u všech variant simulujících stres. U kontrolní varianty nezakořeněné podnože Börner je vysoká počáteční koncentrace etanu patrně odezvou na okamžitý proces rhizogeneze, který u nezakořeněné podnože Kober 125 AA nastal až o několik dní později – hodnoty etanu byly zvýšeny v době 3 – 6 dní od založení pokusu. Z výsledků bakalářské práce vyplývá, že nodální segmenty podnože Börner rašily dříve, než nodální segmenty Kober 125 AA.

4. Stresované rostliny produkovaly více CO₂, než kontrolní varianta. Produkce plynu zakořeněných rostlin byla o polovinu nižší jak u rostlin nezakořeněných. Nezakořeněná podnož Kober 125 AA vystavená stresu nadbytkem vápna produkuje více CO₂ než nezakořeněná podnož Börner.
5. Zakořeněný kultivar Börner při působení stresu zvyšuje rychlost fotosyntézy, což může naznačovat tolerantnost k suchu, ale i k vápníku. Aktivita fotosyntézy zakořeněného kultivaru Kober 125 AA je snížena či shodná s kontrolou u variant simulujících stres suchem i nadbytkem vápníku a naznačuje to nižší tolerantnost podnože k suchu. Nezakořeněné segmenty podnože Börner ve stresových podmínkách dosahují nižší hmotnost i délky, a zakořeněné rostliny snižují hmotnost a délkový vzrůst více jako nezakořeněné. Intaktní rostlina reaguje v rámci hodnocení délky a hmotnosti rostliny na stresové situace výrazněji, než nezakořeněný segment. Vyšší přídavek vápníku vyvolal u zakořeněné podnože Kober 125 AA růst rostliny do délky.
6. U nezakořeněných podnoží Börner stres vápnem snížil obsah chlorofylu a k nule a navýšil obsah chlorofylu b a karotenoidů. Obdobně reagovala intaktní rostlina i nezakořeněné segmenty podnože Kober 125 AA.
7. Podnože révy vinné reagují na stres suchem zvýšeným obsahem kyseliny abscisové v listech. Produkce ABA intaktními rostlinami obou podnoží je podstatně vyšší než u nezakořeněných rostlin podnože Börner. U stresovaných variant zakořeněných kultivarů můžeme sledovat korelaci s produkcí etylenu. Intaktní podnož Börner se vyznačuje nejvyššími hodnotami kyseliny abscisové u přídavku 60 g.l⁻¹ PEG, podnož Kober 125 AA u nejvyššího přídavku cukru, stejně jak tomu bylo u produkce etylenu.

Dle uvedených výsledků lze konstatovat, že se intaktní rostliny lépe vyrovnávají s působením stresu suchem a nadbytkem vápna, než nezakořeněné segmenty. Podnože révy vinné v době působení stresu produkují více etylenu, etanu a CO₂, snižují aktivitu fotosyntézy a zvyšují produkci kyseliny abscisové.

Podnož Börner vykázala vyšší tolerantnost vůči pozorovaným stresorům než podnož Kober 125 AA.

7. SOUHRN A RESUME

SOUHRN

Diplomová práce se zabývá problematikou působení nedostatku vody a nadbytku vápna v půdě na růst zakořeněných rostlin podnoží révy vinné. Teoretická část poskytuje shrnutí informací o stavbě a hlavních funkcích kořenového systému se zvýšenou pozorností na produkci fytohormonů. Následující kapitola pojednává o fyziologii stresu u rostlin se zaměřením na stresové signály a jejich podrobnějším popisem. Literární část uzavírají kapitoly zabývající se vlivem stresu na fotosyntézu a dýchání a vlivu nadbytku vápna v půdě na růst révy vinné. Experimentální část navazuje na výsledky bakalářské práce, kdy byla sledována simulace stresu v podmínkách *in vitro* pouze u nezakořeněné podnože Kober 125 AA, kdy byly měřeny odpovědi rostliny na růst rostlin (délka, hmotnost) a jejich fyziologické reakce (kvantový výtěžek fotosyntézy, produkce etylenu, etanu, CO₂ a obsah fotosynteticky aktivních pigmentů). Tyto výsledky jsou v diplomové práci doplněny o stanovení obsahu kyseliny abscisové v nadzemní části rostlin. V diplomové práci pokus probíhal se stádii rostlin – nezakořeněné nodální segmenty podnože Börner a zakořeněné prýty podnože Börner a Kober 125 AA.

Klíčová slova: *Börner, Kober 125 AA, zakořeňování, kyselina abscisová, etylen*

RESUME

This thesis deals with the effects of water scarcity and excess lime in the soil to grow rooted grapevine rootstocks. The theoretical part provides summary information on the structure and main functions of the root system with increased attention on the production of phytohormones. The following chapter discusses the physiology of stress in plants, focusing on stress signals and detailed description. Literary part of the closing chapter on the effects of stress on photosynthesis and respiration and the impact of excess lime in the soil to grow grapevine rootstocks. Experimental part follows the results of the bachelor thesis, when being monitored by simulation of stress *in vitro* only unrooted rootstocks Kober 125 AA when the measured responses of plants to plant growth (length and weight) and their physiological response (quantum yield of photosynthesis, the production of ethylene, ethane, CO₂ content and photosynthetically active pigments). These results are in the thesis completed by the determination of the abscisic acid in the above - ground parts of plants. In this thesis, the experiment was performed with the stage of the plant - unrooted nodal segments rootstock Börner shoots and rooted rootstock Börner and Kober 125 AA.

Key words: *Börner, Kober 125 AA, rooting, abscisic acid, ethylene*

8. SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

QY	kvantový výtěžek elektronového transportu fotosystému II
PEG	polyethylenglykol
Ψ_w	vodní potenciál
Ψ_s	osmotický potenciál
Ψ_g	gravitační potenciál
Ψ_p	tlakový potenciál
IAA	kyselina indolyl-3-octová
IBA	kyselina indolyl-3-máselná
PAA	kyselina fenylactová
BA	6-benzyladenin
BAP	6-benzylaminopurin
Ip	izopentyladenin
ACC	kyselina 1-aminocyklopropan-1-karboxylová
PSII	fotosystém II
VDA	violaxanthin de-epoxidasa
RIA	radioimunoanalýza

9. SEZNAM OBRÁZKŮ

Obr. 1: Stavba kořenového systému révy vinné.....	11
Obr. 2: Schéma transportu vody a minerálních látek z kořenového vlášení.....	13
Obr. 3: Chemická struktura endogenních auxinů.....	17
Obr. 4: Chemická struktura isoprenoidních cytokininů a aromatických cytokininů.....	19
Obr. 5: Chemická struktura (S)-cis- ABA – biologicky aktivní forma ABA.....	20
Obr. 6: Stresová reakce u rostlin.....	22
Obr. 7 : Chloróza u révy vinné.....	32
Obr. 8: List podnože Kober 125.....	35
Obr. 9: List podnože Börner.....	36
Obr. 10: Postup převodu rostlin révy vinné v podmínkách <i>in vitro</i>	38
Obr. 11 (a-b): 4 měsíční kultura explantátů podnože Kober 125 AA na vybraných zakořeňovacích kultivačních médiích.....	41
Obr. 12 (a-b): 4 měsíční kultura explantátů podnože Börner na vybraných zakořeňovacích kultivačních médiích.....	41
Obr. 13: FluorPen FP 100.....	44
Obr. 14 (g-m): Reprezentativní rostlina nezakořeněné podnože Börner v závěru hodnocení pokusu (61. den) stresu suchem a nadbytkem obsahu vápníku.....	53
Obr. 15 (g-m): Reprezentativní rostlina zakořeněné podnože Börner v závěru hodnocení pokusu (61. den) stresu suchem a nadbytkem obsahu vápníku.....	61
Obr. 16 (g-m): Reprezentativní rostlina zakořeněné podnože Kober 125 AA v závěru hodnocení pokusu (61. den) stresu suchem a nadbytkem obsahu vápníku.....	69

10. SEZNAM GRAFŮ

Graf 1: <i>Vhodnost zakořeňovacích médií u podnože Kober 125 AA</i>	39
Graf 2: <i>Vhodnost zakořeňovacích médií u podnože Börner</i>	40
Graf 3a: <i>Sledování koncentrace etylenu v kultivačních nádobách se zvýšenými koncentracemi sacharózy, PEG a Ca(NO₃). 4H₂O nezakořeněné podnože Börner</i>	47
Graf 3b: <i>Sledování koncentrace etanu v kultivačních nádobách se zvýšenými koncentracemi sacharózy, PEG a Ca(NO₃). 4H₂O nezakořeněné podnože Börner</i>	48
Graf 3c: <i>Sledování koncentrace CO₂ v kultivačních nádobách se zvýšenými koncentracemi sacharózy, PEG a Ca(NO₃). 4H₂O nezakořeněné podnože Börner</i>	49
Graf 3d: <i>Hodnocení kvantového výtěžku fotosyntézy (Q_y), délky a hmotnosti rostliny v závěru pokusu (61. den kultivace) rostoucích v kultivačních nádobách se zvýšenými koncentracemi sacharózy, PEG a Ca (NO₃). 4 H₂O nezakořeněné podnože Börner</i>	50
Graf 3e: <i>Obsah chlorofylů a karotenoidů v 1 g rostlinného materiálu nezakořeněné podnože Börner</i>	51
Graf 3f: <i>Množství ABA v 1 g rostlinného materiálu nezakořeněné podnože Börner</i>	52
Graf 4a: <i>Sledování koncentrace etylenu v kultivačních nádobách se zvýšenými koncentracemi sacharózy, PEG a Ca(NO₃). 4H₂O zakořeněné podnože Börner</i>	55
Graf 4b: <i>Sledování koncentrace etanu v kultivačních nádobách se zvýšenými koncentracemi sacharózy, PEG a Ca(NO₃). 4H₂O zakořeněné podnože Börner</i>	56
Graf 4c: <i>Sledování koncentrace CO₂ v kultivačních nádobách se zvýšenými koncentracemi sacharózy, PEG a Ca(NO₃). 4 H₂O zakořeněné podnože Börner</i>	57

Graf 4d: <i>Hodnocení kvantového výtěžku fotosyntézy (Qy), délky a hmotnosti rostliny v závěru pokusu (61. den kultivace) rostoucích v kultivačních nádobách se zvýšenými koncentracemi sacharózy, PEG a Ca (NO₃). 4 H₂O zakořeněné podnože Börner.....</i>	58
Graf 4e: <i>Obsah chlorofylů a karotenoidů v 1 g rostlinného materiálu zakořeněné podnože Börner.....</i>	59
Graf 4f: <i>Množství ABA v 1 g rostlinného materiálu zakořeněné podnože Börner.....</i>	60
Graf 5a: <i>Sledování koncentrace etylenu v kultivačních nádobách se zvýšenými koncentracemi sacharózy, PEG a Ca(NO₃). 4H₂O zakořeněné podnože Kober 125 AA.....</i>	63
Graf 5b: <i>Sledování koncentrace etanu v kultivačních nádobách se zvýšenými koncentracemi sacharózy, PEG a Ca(NO₃). 4H₂O zakořeněné podnože Kober 125 AA.....</i>	64
Graf 5c: <i>Sledování koncentrace CO₂ v kultivačních nádobách se zvýšenými koncentracemi sacharózy, PEG a Ca(NO₃). 4H₂O zakořeněné podnože Kober 125 AA.....</i>	65
Graf 5d: <i>Hodnocení kvantového výtěžku fotosyntézy (Qy), délky a hmotnosti rostliny v závěru pokusu (61. den kultivace) rostoucích v kultivačních nádobách se zvýšenými koncentracemi sacharózy, PEG a Ca(NO₃). 4H₂O zakořeněné podnože Kober 125 AA.....</i>	66
Graf 5e: <i>Obsah chlorofylů a karotenoidů v 1 g rostlinného materiálu zakořeněné podnože Kober 125 AA.....</i>	67
Graf 5f: <i>Množství ABA v 1 g rostlinného materiálu zakořeněné podnože Kober 125 AA.....</i>	68

11. SEZNAM TABULEK

Tab. I: <i>Tolerance podnoží k nadbytku vápna a suchu.....</i>	34
Tab. II: <i>Složení modifikovaného WPM média (0,7 mg.l⁻¹ BA) pro simulaci stresu u podnoží révy vinné.....</i>	42

12. POUŽITÁ LITERATURA

- ANONYM.** *PHOTON SYSTEM INSTRUMENTS.* Fluorpen FP 100. [online] [cit.2016-03-02]. Dostupné na <http://www.psi.cz/products/pocket-sized-instruments/par-fluorpen-fp-100-max-ln>
- ARGUESO, C. T., HANSEN, M., KIEBER, J. J.** *Regulation of ethylene biosynthesis.* J. Plant Growth. Regulator, Volume 26, Issue 2, 2007 pp 92-105
- ARCHER, E., HUNTER, J. J.** *Vine roots play an important role in determining wine quality.* Wynboer Technical Yearbook 2005, 30 - 32.
- BERTAMINI, M., NEDUNCHEZHIAN, N.** *Grapevine Growth and Physiological Responses to Iron Deficiency.* Journal of Plant Nutrition. 28, 5, 737-749, May 2005. ISSN: 01904167.
- BINDING, H.** *Nuclear and cell division in isolated pollen of Petunia hybrida in agar suspension cultures.* Nature, New Biol. 237, 1972 ,p. 283-285.
- BLAKESLEY, D.** *Auxin Metabolism and adventitious root initiation.* In HAISSIG, B. E., DAVIS, D. T. Biology of adventitious root formation. New York: Plenum Press, 1994, xiv, 343 s. ISBN 0-306-44627-8.
- CAMBROLLÉ, J., GARCÍA, J. L., FIGUREOA, M. E., CANTOS, M.** *Physiological responses to soil lime in wild grapevine (Vitis vinifera ssp. sylvestris).* Environmental and Experimental Botany, 2014,105, 25-31.
- CANTOS, M., LIÑÁN J., PERÉZ -CAMACHO, F., TRONSOCO, A.** *Obtención de plantás selectas de vid, variedad Zalema, libres de la virosis „entrenado corto.* Acta de Horticulturas II , p. 705-709,1993
- COMAS, L. H., BAUERLE, T. L.** *Biological and environmental factors controlling root dynamics and function: effects of root ageing and soil moisture.* In Australian Journal of Grape and Wine Research 16, 2010, 131–137.
- CROZIER, A, KAMIYA, Y., BISHOP, G., YOKOTA, T.** *Biosynthesis of hormones and elicitor molecules.* In BUCHANAN, B., GRUISSEM, W. JONES, R. *Biochemistry and Molecular Biology of Plants.* American society of Plant physiologists, Rockville, USA, 2000, p.850-929
- DAVIES, W., ZHANG, J. H.** *Root signals and the regulation of growth and development of plants in drying soil.* Annual review of plant physiology and plant molecular biology 42, 1991, s.55 -76.

- DRIVER, J. A., KUIYUKI, A. H.** *In vitro* propagation of paradox walnut rootstock. Hort.Sci. 19, 1984,p.507-509
- DVOŘÁKOVÁ, V.** *Abiotické stresy v podmínkách in vitro u podnoží révy vinné.* Bakalářská práce. Mendelova univerzita v Brně, 2014
- EHRIM, S., MIRZA, M. Y., SAJID, G. M.** *Comparative Study Of Different Growth Regulators For Efficient Plant Regeneration In Grapes.* Pakistan Journal Of Agricultural Research 26.4 (2013): 275-289. Academic Search Complete. Web. 1 Mar. 2016.
- FIŠEROVÁ, H., DVOŘÁKOVÁ, V., STAŇKOVÁ, Z., VÍCHOVÁ, J., KLEMŠ, M.** *Stresové odpovědi rostlin v podmínkách in vitro.* In The 44th Conference of the European Society for New Methods in Agriculture Research, Book of abstracts. Brno: Mendel University in Brno. 1. vyd. Praha: Akademie věd ČR, 2015, s. 79
- FIŠEROVÁ, H., HRADILÍK, J.** *Produkce etylénu a etanu při tvorbě adventivních kořenů na stonkových segmentech révy vinné. (Ethylene and ethane production during adventitious root formation on vine stem segments)* Rostlinná výroba, 1994.40: 755 – 762.
- FIŠEROVÁ, H., KULA, E., KLEMŠ, M., REINÖHL, V..** *Phytohormones as indicators of the degree of damage in birch.* Biológia, 2001,56/4: 405-409.
- FIŠEROVÁ, H., MIKUŠOVÁ, Z., KLEMŠ, M.:** *Estimation of ethylene production and 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid content in plants by means.* Plant, Soil and Environment : Rostlinná výroba. 2008, sv. 54, č. (2), s. 55-60. ISSN 1214-1178.
- FOJTŮ, M.** *Dálkové signály sloužící ke koordinaci reakcí rostlin na stres.* Bakalářská práce, Masarykova univerzita, Přírodovědecká fakulta, Ústav experimentální biologie, odd. fyziologie a anatomie rostlin, Brno,2011, s.1-10
- GAMBORG, O. L., MILLER, A., OJIMA, K.** *Nutrient requirments of suspension cultures of soybean root cells.exp.cell..res.* 50, 1968, p. 151-158
- GLOSER, J., PRÁŠIL I.** *Fyziologie stresu.* In Procházka S. et al., *Fyziologie rostlin.* Praha: Academia Praha, 1998, s. 412-419, ISBN 80-200-0586-2
- GRANETT, J. WALKER, M.A., KOCSIS, L., OMER A.D.** *Biology and management of grape phylloxera.* IN *Annu. Rev.Entomol.*46, 387-412

- GUAN, C., JI, J., ZHANG, X., LI, X., JIN, C., GUAN, W., WANG, G.** *Positive feedback regulation of a Lycium chinense-derived VDE gene by drought-induced endogenous ABA, and over-expression of this VDE gene improve drought-induced photo-damage in Arabidopsis.* J. Plant Physiol. 2015, 175, 26–36. 49
- GURURANI, A. M., KUMAR, T., BAE, M., BAE, M.** *Current Understanding of the Interplay between Phytohormones and Photosynthesis under Environmental Stress.* In Int. J. Mol. Sci. 2015, 16(8), 19055-19085; 712-749doi:10.3390/ijms160819055
- HARTUNG, W., SAUTER, A., HOSE, E.** *Abscisic Acid in the xylem: where does it come from, where does it go?* Journal of Experimental Botany, 2002, 53 (366). 27-32.
- HILLEBRAND, W., LOTT, H., PFAFF, F.** *Taschenbuch der Rebsorten.* 12.Aufl. Mainz: Fachverl.Fraund, 1998, 454 s. ISBN 3-921156-37-8.
- HLUŠEK, J., RICHTER, R., RYANT, P.** *Výživa a hnojení zahradních plodin.* Praha, 2002, s.65, ISBN 80-902413-5-2
- HOFACKER, W.** *Ergebnisse und Überlegungen zum Einfluss der Unterlage auf Ertrag und Qualität der Rebe.* Deutsches Weinbau-Jahrbuch 2004. Ulmer Verlag Stuttgart, 175-183
- HRADILÍK, J.** *Fyziologie rostlin : návody do cvičení.* Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 2003,183s.
- CHAVES, M., OLIVEIRA, M.** *Mechanisms underlying plant resilience to water deficits: prospects for water-saving agriculture.* JOURNAL OF EXPERIMENTAL BOTANY, 2004, 55(407), s.2365-2384.
- CHROMINSKI, A., KHAN, M., WEBER D.** *Ethylene and ethane production in response to salinity stress.* Plant Cell and Environment 9, 687-691, 1986
- CHURCHILL, G. C., REANEY, E. B., ABRAMS, S. R., GUSTA, L. V.** *Structure-Activity Relationships of Abscisic Acid Analogs Based on the Induction of Freezing Tolerance in Bromegrass (Bromus inermis Leyss) Cell Cultures'* Plant Physiol. 1992, 100, 2024-2029
- FÍŠEROVÁ, H., KLEMŠ, M., VÍTKOVÁ, H., HAVEL, L., ZEZULKA, Š., TRÍSKA, J., JÍLEK, R.** *Effect of fluoranthene on growth and development of pea and cucumber plants.* Poľnohospodárstvo = Agriculture. 2011. sv. 57, č. 4, s. 15. ISSN 0551-3677

JACOBS, W. P. *Plant hormones and Plant development*. Cambridge university Press, 1979, 339 p.

JEDLIČKOVÁ, J., ZÁMEČNÍKOVÁ, B. *Aplikace osmotik PEG 6000 a NaCl v živném médiu*. In Vliv abiotických a biotických stresorů na vlastnosti rostlin 2007: (sborník příspěvků). Praha: Výzkumný ústav rostlinné výroby, 2007, 258 s. ISBN 978-80-213-1621-8, str. 128- 131)

JIANG, F., HARTUNG, W. *Long-distance signalling of abscisic acid (ABA): the factors regulating the intensity of the ABA signal*. Journal of Experimental Botany 59, 2008, 37–43.

KAMÍNEK, M. *Cytokininy*. In Procházka, S. et al. *Regulátory rostlinného růstu* , Praha: Academia, 1997, s. 63-76, ISBN 80-200-0597-8.

KEMPA, S., KRASENSKY, J., DAL SANTO, S., KOPKA, J., JONAK, C. *A Central Role of Abscisic Acid in Stress-Regulated Carbohydrate Metabolism* (2008). PLoS One, 3, (12), 3935

KOHLBACH, H. W. *Die entwick lungspotengen explantierter und isolierter Dauerzeller*. Das Streckung und Tuilungswachstum isolierter Mesophyllzellen von *Macleaya cordata*. Z. Pflanzenphysiol. 55 ,1966, 142-147

KOROVETSKA, H., NOVÁK, O., JŮZA, O., GLOSER, V. *Signalling mechanisms involved in the response of two varieties of Humulus lupulus L. to soil drying: I. changes in xylem sap pH and the concentrations of abscisic acid and anions*. Plant & Soil .July 2014;380(1/2):375-387.

KRAUS, V., HUBÁČEK, V. ACKERMANN, P. *Rukověť vinaře*. 3. vyd. Praha: Brázda, 2010, 267 s., [12] s. ISBN 978-80-209-0378-5.

KŘIŽAN, B., ONDRUŠIKOVÁ, E., MOUDRÁ, J. *The effect of media composition on multiplication of grape rootstocks in vitro*. Acta univ.agric.et silvic.Mendel.Brun.,2012,LX,No.8,pp.141-144

KUMMEROVÁ, M., VÁŇOVÁ, L., FIŠEROVÁ, H., KLEMŠ, M., ZEZULKA, Š., KRULOVÁ, J. *Understanding the effect of organic pollutant fluoranthene on pea in vitro using cytokinins, ethylene, ethane and carbon dioxide as indicators*. Plant Growth Regulation, Netherlands: Springer, 2010, roč. 61, č. 2, s. 161-174. ISSN 0167-6903. doi:10.1007/s10725-010-9462-0.

LARCHER, W. *Physiological plant ecology: ecophysiology and stress physiology of functional groups*. New York: Springer, 2003, s.341-415. ISBN 3-540-43516-6

- LAWLOR, D. W.** *Absorption of polyethylene glycols by plants and their effects on plant growth.* New phytologist, 1970, 69.2: 501-513.
- LLOYD, G., McCOWN, B.** *Commercially feasible micropropagation of mountain laurel, (Kalmia latifolia) by use of shoot tip culture.* Int. Plant Prop. Soc., Comb. Proc., 1981, 30: 421-427
- LOVISOLO, C., TRAMONTINI, S., FLEXAS, J., SCHUBART, A.** *Mercurial inhibition of root hydraulic conductance in Vitis spp. rootstocks under water stress.* Environmental and Experimental Botany 63, 2008, 178–182
- LU, M. C.** *Micropropagation of Vitis thunbergii Sieb. Et Zucc., a medicinal herb, through high-frequency shoot tip culture.* Scientia Horticulturae 107:64-69
- LUPASCU, N., NICOLAESCU, M., CHIRILA, E.** *Chlorosis risk evaluation from a new viticulture area located on a former Army region.* In: Simeonov L., Hassanien M.A. (eds) Exposure and Risk Assessment of Chemical Pollution-Contemporary Methodology: Springer Media; 2009.p. 415-421
- MACHÁČKOVÁ, I.** *Etylen.* In Procházka, S. et al. *Regulátory rostlinného růstu* , Praha: Academia, 1997, s. 92-101, ISBN 80-200-0597-8.
- MACHÁČKOVÁ, I.** *Růst a vývoj: Růstové regulátory.* In Procházka S. et al., *Fyziologie rostlin.* Praha: Academia Praha, 1998, s. 265-275, ISBN 80-200-0586
- MARTORELL, S., DIAZ-ESPEJO, A., TOMAS, M., POU, A., EI AOU-OUAD, H., ESCALONA, J., VADELL, J., RIBAS-CARBÓ, M., FLEXAS, J., MEDRANO, H.** *Differences in water-use-efficiency between two Vitis vinifera cultivars (Grenache and Tempranillo) explained by the combined response of stomata to hydraulic and chemical signals during water stress.* Agricultural Water Management. 156, 1-9, July 1, 2015. ISSN: 0378-3774.
- MASON, M. G., ROSS, J. J., BABST, B. A., WIENCLAW, B. N., BEVERIDGE, C. A.** *Sugar demand, not auxin, is the initial regulator of apical dominance.* In PNA2014 111 (16) 6092-6097; published ahead of print April 7, 2014, doi:10.1073/pnas.1322045111
- MEGGIO, F., PRINSI, B., NEGRI, A., SIMONE Di Lor., G., LUCCHINI, G., PITACCO, A., FAILLA, O., SCIENZA, A., COCUCCI, M., ESPEN, L.** *Biochemical and physiological responses of two grapevine rootstock genotypes to drought and salt treatments.* Australian journal of grape and wine research. 2, 2014. ISSN: 1322-7130.

- MONTEIRO, A. F., BENEVENTI, M., GROSSI-DE-SA M.** *Implications of ethylene biosynthesis and signaling in soybean drought stress tolerance.* BMC Plant Biology. September 3, 2015;15(1):1-20.
- MORGAN, P. W.; DREW, M. C.** *Ethylene and plant responses to stress.* Physiologia Plantarum, 1997, 100.3: 620- 630..
- MORLAT, R., JAQUET A.** *The soil effects on the grapevine root system in several vineyards of the Loire valley (France).* Vitis 1993, 32 (1) 35-42
- MULLINS, M. G., BOUQUET, A., WILLIAMS, L. E.** *Biology of the grapevine* (Cambridge University Press: Cambridge, UK), 1992.
- MURASHIGE, T., SKOOG, F.A.** *A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures.* Physiol. Plant. 15:473-97, 1962
- NÁTR, L. Dýchání.** In Procházka S. et al., *Fyziologie rostlin.* Praha: Academia Praha, 1998, s. 174-196, ISBN 80-200-0586-2
- NITSCH, J. P., NITSCH, C.** *Auxin-depend growth of excised Helianthus tissues.* Am.J.Bot. 43, 1956, p.839-851.
- OLŠOVSKÁ, K., BRESTIC, M.** *Function of hydraulic and chemical water stress signalization in evaluation of drought resistance of juvenile plants.* In Journal of Central European Agriculture, Volume 2, 2001 No. 3-4, str.157-164
- PAVLOUŠEK, P.** *Encyklopedie révy vinné.* Brno: Computer Press, 2008, 316 s. ISBN 978-80-251-2263-1.
- PAVLOUŠEK, P.** *Tolerance to Lime - Induced Chlorosis and Drought in Grapevine Rootstocks.* In VAHDATI, K., LESLIE,C., *Abiotic Stress - Plant Responses and Applications in Agriculture.* ISBN 978-953-51-1024-8, Published: March 13, 2013
- PAVLOUŠEK, P., BURG, P.** *Pěstování révy vinné: moderní vinohradnictví.* Praha: Grada, 2011, 333 s. ISBN 978-80-247-3314-2.
- PAVLOUŠEK, P.** *Chloróza u révy vinné.* [online]. [cit. 2016-01-21]. Dostupné na : <http://www.vinarskepotreby.cz/chloroza-u-revy-vinne/>
- PAVLOVÁ, L.** *Fyziologie rostlin.* Karolinum, Praha, 2005, ISBN 80-246-0985-1.
- PIOTROWSKA, A.; BAJGUZ, A.** *Conjugates of abscisic acid, brassinosteroids, ethylene, gibberellins, and jasmonates.* In *Phytochemistry*, 2011, 72.17: 2097-2112.
- POUGET, R.** *Influence des reserves glucidiques sur l'intensite de la chlorose ferrique chez la vigne.* Connaiss. Vigne Vin, 8: 16-21

- PROCHÁZKA, S.** *Fyziologie rostlin*. Academia, Praha, 1998, vyd. 1., ISBN 80-200-0586-2.
- PROCHÁZKA, S., BORKOVEC, V.** *Kyselina abscisová*. In Procházka, S. a kol. *Regulátory rostlinného růstu*, Praha: Academia, 1997, s. 80-90, ISBN 80-200-0597-8.
- PROKEŠ, J., FIŠEROVÁ, H., HELÁNOVÁ, A., HARTMANN, J.:** *Význam oxidu uhličitého a ethylenu v procesu sladování*. Kvasny Prum. 52, 2006, 11-12, s. 349-352, ISSN 0023-5830.
- QUARRIE, S. A., WHITFORD, P. N., APPLEFORD, N. E. J., WANG, T. L., COOK, S. K., HENSON, L. E., LOVEYS, B. R.** A monoclonal antibody to (S)-abscisic acid: its characterisation and use in a radioimmunoassay for measuring abscisic acid in crude extract of cereal lupin leaves. *Planta* 183, 1988, 330-339.
- QUORIN, M., LEPOIVRE, P.** *Hort science* 78, 1977, 437-497
- RAHAYU, ES; SUDARSONO, S.** In-vitro selection of drought tolerant peanut embryogenic calli on medium containing polyethylene glycol and regeneration of drought tolerant plants. *Emirates Journal of Food & Agriculture (EJFA)*. 27, 6, 475-487, June 2015. ISSN: 2079052X.
- RICHARDS, D.** The grape root system. *Horticultural reviews*, 1983; 5 127-168
- RUHL, E. H.** 'Borner' rootstock grape [online]. Eibingeweg 1, D-65366 Geisenheim, DE, June, 1996 [cit. 2016-03-01]. Dostupný z:
- SAKAKIBARA, H.** Cytokinins: Activity, biosynthesis, and translocation. *Annu. Rev. Plant Biol.*, Vol. 57, 2006, s. 431 - 449.
- SALOMON, M. V., BOTTINI, R., FILHO de S. G. A., COHEN, A.C., MORENO, D., GIL, M., PICCOLI, P.** *Bacteria isolated from roots and rhizosphere of Vitis vinifera retard water losses, induce abscisic acid accumulation and synthesis of defense-related terpenes in in vitro cultured grapevine*. *Physiol Plant*. 2014 Aug;151(4):359-74. doi: 10.1111/ppl.12117. Epub 2013 Nov 4.
- SEDLO, J., LUDVÍKOVÁ, I., JANDUROVÁ, O.** *Přehled odrůd révy vinné 2011*. Velké Bílovice : Svaz vinařů, 2011, 128 s. ISBN -978-80-903534-6-6
- SERRA, I., STREVER, A., MYBURGH, P. A., DELOIRE, A.** *Review: the interaction between rootstocks and cultivars (Vitis vinifera L.) to enhance drought tolerance in grapevine*. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 20: 1–14. doi: 10.1111/ajgw.12054, 2014

- SHI, H., CHEN L., YE, T., LIU, X., DING, K., CHAN, Z.** *Research article: Modulation of auxin content in Arabidopsis confers improved drought stress resistance.* Plant Physiology And Biochemistry. Available from: ScienceDirect, Ipswich, MA. Accessed December 9, 2015.
- SHINOZAKI, K., YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K.** *Gene networks involved in drought stress response and tolerance* (2006). Journal of Experimental Botany, 58, (2), 221-227.
- SMART, D., SCHWASS, E., LAKSO, A., MORANO, L.** *Grapevine rooting patterns: A comprehensive analysis and review.* In: *Am. J. Enol. Vitic.* 57(1):89-104, 2006 .
- SOAR, C. J., SPEIRS, J., MAFFEI, S. M., LOVEYS, BR.** *Gradients in stomatal conductance, xylem sap ABA and bulk leaf ABA along canes of Vitis vinifera cv. Shiraz: molecular and physiological studies investigating their sources.* Functional Plant Biology 31, 2004, 659–669.
- SOTOLÁŘ, R.** *Kober 125 AA.* In Multimedialní atlas podnožových, moštových a stolních odrůd révy vinné [online] ZF MENDELU [cit. 2016-03-01] Dostupný na http://tilia.zf.mendelu.cz/ustavy/556/ustav_556/atlas_reva/Atlas_reva_Adobe/podnoze/kober_125aa.pdf
- STOLL, M., LOVEYS, B., DRY, P.** *Hormonal changes induced by partial rootzone drying of irrigated grapevine.* Journal of Experimental Botany 51, 2000 1627–1634.
- TAIZ, L.** *Plant Physiology* 3rd ed., Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates, 2002
- TAIZ, L., ZEIGER, E.** *Plant physiology.* Benjamin/Cummings Publ. Co., Redwood City, California, 559s., 1991
- TRONCOSO, A., VILLEGAS, A., MAZUELOS, C., CANTOS, M.** *Growth and Mineral Composition of Grape-Vine Rootstock Cultured in vitro with Different Levels of Ammonium Nitrate.* Plant Nutrition, Physiology and Applications. Kluwer Academic Publishers, The Netherlands, 1990.
- VAN ZYL, J. J.; VAN HUYSSTEEN, L.** *Soil and water management for optimum grape yield and quality under conditions of limited or no irrigation.* In: AUSTRALIAN WINE INDUSTRY TECHNICAL CONFERENCE, 5., Adelaide, 1984. Proceedings. Adelaide: The Australian Wine Research Institute, 1984. p.25-67.

- VANDELOUR, R., NIEMIETZ, C., TILBROOK, J., TYERMAN S. D.** *Roles of aquaporins in root responses to irrigation.* In LAMBERS, H. and COLMER T.D. *Root physiology: from Gene to Function*, Volume 4 of the series Plant Ecophysiology. Springer Netherlands pub., 2005 pp 141-161, ISBN 978-1-4020-4098-6
- VINTNER, V.** *Anatomická stavba kořene.* In VINTNER, V. *Základy anatomie cévnatých rostlin* FRVŠ 38/2004
- VIZÁROVÁ, G.** *Růstové regulátory a rezistence vůči suchu.* In Procházka, S. a kol. *Regulátory rostlinného růstu*, Praha: Academia, 1997, s. 340-347, ISBN 80-200-0597-8.
- VLASÁKOVÁ, E.** *Vliv teploty a sucha na obsah kyseliny abscisové v rostlinách obilnin (Temperature and drought influence on abscisic acid content in cereal plants).* Disertační práce. Česká zemědělská univerzita v Praze, Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů, Katedra rostlinné výroby, Praha, 2002, s. 26-42
- WANG, L. J., FANN, L., LOESCHER, W., DUAN, W, LIU, G.J., CHENG, J.S., LUO, H.B., LI, S.H.** *Salicylic acid alleviates decreases in photosynthesis under heat stress and accelerates recovery in grapevine leaves.* BMC Plant Biol. 2010, 10, doi:10.1186/1471-2229-10-34.
- WILKINSON, S., DAVIES, W. J.** *ABA-based chemical signalling: the coordination of responses to stress in plants.* Plant, Cell and Environment. 25 (2). 2002, 195-210.
- WILKINSON, S., DAVIES, W.** *Manipulation of the apoplastic pH of intact plants mimics stomatal and growth responses to water availability and microclimatic variation.* JOURNAL OF EXPERIMENTAL BOTANY, 2008, 59(3), s.619-631.
- WILKINSON, S; DAVIES, W. J.** *Drought, ozone, ABA and ethylene: new insights from cell to plant to community.* Plant, Cell & Environment. 33, 4, 510-525, Apr. 2010. ISSN: 01407791.
- WILLIAMS, L., LARRY, E.** *Grapevine water relations.* In *Raisin Production Manual.* DANR Publications. California: Univ. California, 2000,
- WINKLER, A.** *General viticulture.* Rev. and enl. ed. Berkeley: University of California Press, 1974, xx, 710 s. ISBN 978-0-520-02591-2.

ZWACK P. J., RASHOTTE, A. M. *Interactions between cytokinin signalling and abiotic stress responses.* Journal of Experimental Botany Advance Access published April 23, 2015, USA, doi:10.1093/jxb/erv172