

**Česká zemědělská univerzita v Praze**

**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů**

**Katedra chemie**



**Fakulta agrobiologie,  
potravinových a přírodních zdrojů**

**Úloha anthokyanů ve stresu u rostlin**

**Bakalářská práce**

**Matěj Zigo**

**Výživa a potraviny**

**Ing. Matyáš Orsák, Ph.D.**

© 2021 ČZU v Praze

## **Čestné prohlášení**

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci "Úloha anthokyanů ve stresu u rostlin" jsem vypracoval samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autor uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne \_\_\_\_\_

## **Poděkování**

Rád bych touto cestou poděkoval mému vedoucímu panu Ing. Matyši Orsákovi, Ph.D. za jeho odborné rady a vedení mé práce. Zejména bych mu chtěl poděkovat za jeho nekonečnou trpělivost, vstřícnost, podporu a životní rady. Chtěl bych také poděkovat mojí konzultantce paní Ing. Zoře Kotíkové, Ph.D. a celé katedře chemie za jejich rady, pomoc v laboratoři a hezky strávené chvíle.

Dále bych chtěl poděkovat mým kamarádům a spolužákům za všechny zvládnuté překážky během studia i v osobním životě. Zejména Balimu, Lucince a Annie.

Největší poděkování samozřejmě patří mé rodině a rodičům za jejich všelijakou podporu a lásku.

# Úloha anthokyanů ve stresu u rostlin

## Souhrn

Stres rostlin je spojen s působením biotických a abiotických faktorů. Působení těchto stresorů vede k narušení normálního fyziologického stavu rostliny, může vážně poškodit její funkce nebo vést až ke smrti. Abiotické stresy jako sucho, zasolení, chlad a kontaminace těžkými kovy jsou jedny z nejčastějších stresů a mají významný dopad na snížení celosvětové produkce plodin, což vede k velkým ekonomickým a enviromentálním ztrátám. Zvyšování rezistence rostlin k těmto stresům je tak jedna z klíčových možností k zabezpečení dostačující produkce potravin.

Anthokyaniny tvoří jednu z nejrozšířenějších skupin rostlinných barviv. Jsou to sekundární fenolické látky patřící do skupiny flavonoidů. Rostlinám poskytují atraktivní zbarvení a díky jejich potenciálním účinkům na zdraví konzumenta přitahují pozornost k zvýšení jejich přímé konzumace nebo ve využití v potravinářství.

Mimo pigmentace rostlin mohou být anthokyaniny součástí mechanismů rostliny při zvládnání stresu. Díky jejich chemické struktuře vykazují silné antioxidační účinky a mohou tak pomáhat rostlinám v ochraně proti oxidačnímu stresu nebo být součástí komplexní odpovědi rostliny na stres a zvyšovat tak její rezistenci.

Obilniny jsou jednou z nejstabilnější a nejčastější složkou lidské a zvířecí výživy již od počátku civilizace. Mimo hlavní složky jako jsou bílkoviny a sacharidy, obsahují další zdravé prospěšné látky jako vlákninu, vitamíny, minerály a fytochemikálie.

Barevné odrůdy obilnin obsahují vysoké množství anthokyaninů a jsou tak slibnou možností jak obohatit nutriční hodnotu potravin.

**Klíčová slova:** anthokyanidin, stres, lipnicovité

# The role of anthocyanins in plant stress

## Summary

Plant stress is associated with biotic and abiotic stressors. The effect of these stressors leads to disturbance of the normal physiological state of the plant, can seriously damage functions or eventually lead to plants death. Abiotic stresses such as drought, salinity, cold or heavy metal intoxication are one of the most common stresses and they have a significant impact on worldwide crop yield, which leads to great economical and enviromental losses. Enhancing plant resistance to these stresses is one of the key possibilities how secure sufficient food production.

Anthocyanins are one of the most widespread group of plant pigments. Anthocyanins are secondary metabolites that belong to the flavonoid family. They provide the plants attractive color and due to their potencial health benefits to consumers attract attention to increasing their consumption or use in the food industry.

Apart from pigmentation of plants tissue anthocyanins can be part of the plant stress mechanisms. Due to their chemical structure they have strong antioxidant properties or can be involved in complex stress response.

Cereals are one of the most stable and common component of human and animal nutrition since the beggining of civilization. Among main components such as proteins and carbohydrates, they contain another health beneficial substances such as fibre, vitamins, minerals or phytochemicals.

Coloured cereals contain high amount of anthocyanins and thus can be one of the promising possibilities how to enhance nutritional value of food.

**Keywords:** anthocyanidins, stress, cereals

# Obsah

<b>1 Úvod</b> .....	<b>8</b>
<b>2 Cíl práce</b> .....	<b>9</b>
<b>3 Literární rešerše</b> .....	<b>10</b>
<b>3.1 Stres rostlin</b> .....	<b>10</b>
3.1.1 Reakce rostliny na stres .....	10
3.1.2 Biotický stres .....	12
3.1.3 Abiotický stres .....	13
3.1.3.1 Sucho .....	13
3.1.3.2 Chlad.....	14
3.1.3.3 Zasolení .....	15
3.1.3.4 Těžké kovy.....	17
3.1.4 Oxidační stres .....	17
3.1.5 Kombinace stresů.....	18
<b>3.2 Anthokyany</b> .....	<b>19</b>
3.2.1 Chemická struktura .....	20
3.2.2 Chemické vlastnosti.....	22
3.2.2.1 Barva.....	22
3.2.2.2 Stabilita.....	24
3.2.2.3 Antioxidační aktivita .....	24
3.2.3 Biosyntéza.....	24
3.2.4 Význam ve výživě a potravinářství .....	27
3.2.5 Funkce anthokyanů při stresu rostlin .....	29
3.2.5.1 Fotoprotekce .....	30
3.2.5.2 Sucho .....	30
3.2.5.3 Chlad.....	31
3.2.5.4 Zasolení .....	33
3.2.5.5 Těžké kovy.....	34
<b>3.3 Anthokyany v obilninách</b> .....	<b>35</b>
3.3.1 Pšenice ( <i>Triticum aestivum</i> L.) .....	36
3.3.2 Rýže ( <i>Oryza sativa</i> L.).....	38
3.3.3 Ječmen ( <i>Hordeum vulgare</i> L.).....	39
3.3.4 Kukuřice ( <i>Zea mays</i> L.) .....	40
<b>4 Závěr</b> .....	<b>41</b>

<b>5 Literatura.....</b>	<b>42</b>
<b>6 Seznam obrázků.....</b>	<b>50</b>

# 1 Úvod

Anthokyany jsou jednou z nejrozšířenějších skupin rostlinných barviv. Poskytují rostlinám atraktivní modré, červené nebo purpurové zbarvení. Této vlastnosti se využívá v potravinářství, kde jsou slibnou alternativou syntetickým barviv. Konzumace anthokyanů má také pozitivní vliv na zdraví konzumenta a to díky svým antioxidačním účinkům. V poslední době se také ukazuje, že mohou být nápomocné v prevenci proti různým druhům civilizačních onemocnění.

Kromě pigmentace pletiv mohou rostlinám poskytovat ochranu proti abiotickým a biotickým stresům. Každoročně dochází v důsledku nedostatku vody a nízkých teplot k velkým ztrátám v produkci. To má za následek značné ekonomické ztráty a negativní dopad na životní prostředí. Zlepšení rezistence rostlin je jedna z největších výzev dnešního zemědělství. Se stále se zvyšující populací totiž stoupá poptávka po dostatku kvalitních potravin.

Zjištění, jak mohou anthokyany pomoci rostlinám překonávat nepříznivé podmínky, může být dobrým nástrojem jak zvýšit výnosnost plodin. Spojení potenciálních zdravotních účinků a možností vyšší výnosnosti z nich dělá velmi zajímavou skupinu.



## **2 Cíl práce**

V literárním přehledu se zaměřit obecně na problematiku anthokyanů, jejich úlohu u rostlin. Zjistit, zda anthokyany jsou látkami, které pomáhají rostlinám překonat stres, jak se anthokyany zapojují do obranných mechanismů rostlin.

V další části se zaměřit na anthokyany v čeledi lipnicovitých, především u kulturních druhů této čeledi.

## 3 Literární rešerše

### 3.1 Stres rostlin

Jelikož se moje práce věnuje úloze anthokyanů u stresu rostlin, jsou v této kapitole shrnuty důležité pojmy spojené se stresem rostlin, obecně vysvětlen princip stresu rostlin a mechanismy, jakými na stres rostlina reguluje. Dále jsou podrobněji rozebrány jednotlivé stresové faktory (zejména abiotické) u nichž anthokyaniny hrajou určitou roli.

Rostliny žijí v neustále měnícím se prostředí, které je často nepříznivé pro jejich růst a vývin (Zhu 2016). Jsou vystaveny širokému spektru stresů, čímž se snižuje nebo limituje produkce zemědělských plodin (Gull et al. 2019). Díky těmto neoptimálním podmínkám nedosahují zemědělské plodiny jejich plného genetického potenciálu pro růst a reprodukci (Atkinson & Urwin 2012). Snížení průměrné produkce spojené s biotickým a abiotickým stresem může dosahovat 65–87 % dle druhu plodiny (Buchanan et al. 2015).

Zlepšení rezistence rostlin vůči těmto stresům je kritická jak pro produkci, tak i pro udržitelnost životního prostředí. Malá rezistence rostlin ke stresům zvyšuje spotřebu vody a hnojiv, což má za následek zatížení životního prostředí (Zhu 2016).

Pojem stres rostlin je většinou definovaný jako vnější faktor, který má na rostliny nepříznivý vliv (Taiz & Zeiger 2002). Procházka (1998) označuje stres jako souhrnný stav, při kterém se rostlina nachází pod vlivem stresorů, které na ní nepříznivě působí a závažně ji tak ohrožují. Dále dodává, že stres je dynamický komplex mnoha reakcí a nelze ho snadno definovat.

#### 3.1.1 Reakce rostliny na stres

Protože rostliny žijí přisedlým způsobem života, musely si vyvinout specifické mechanismy, které jim umožňují odpovědět na komplexní stresové podmínky a minimalizovat tak jejich poškození a zachovat si cenné zdroje pro jejich růst a reprodukci (Atkinson & Urwin 2012). Tyto mechanismy jsou komplexní a zahrnují četné fyziologické, molekulární a buněčné adaptace (Rejeb et al. 2014). Na rozdíl od živočichů rostliny nemají možnost útěku před působením stresorů a je u nich mnohem větší heterogenita vnitřního prostředí, která se projevuje kolísáním fyzikálně chemických parametrů (Procházka 1998).

Mechanismus rezistence rostlin na stres může být rozdělen na stress avoidance a stress tolerance (Buchanan 2015).

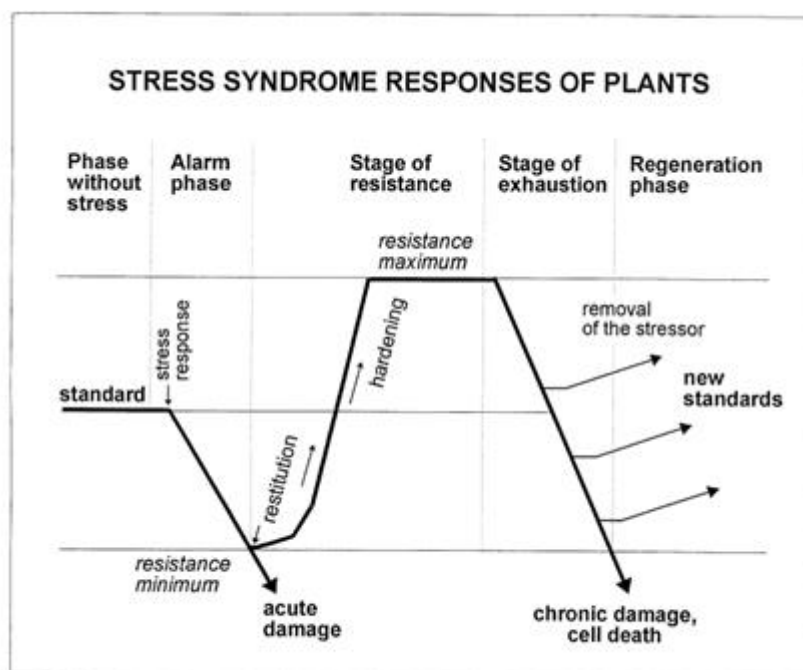
Stress avoidance neboli schopnost rostliny vyhnout se stresu má převážně pasivní a dlouhodobý charakter a jedná se o vyvinutí ochranných struktur jako např. tlustá kutikula na listech, výrazná impregnace buněčné stěny nebo rezervoáry vody a snadno rozložitelných látek (Procházka 1998).

Stress tolerance neboli aktivní odolnost jsou fyziologické mechanismy, které omezují negativní dopad stresorů až po jejich proniknutí k plazmatické membráně buněk a do symplastu (Procházka 1998) a udává způsobilost rostliny vyrovnat se nepříznivému prostředí (Taiz & Zeiger 2002)

Lichtenthaler (1998) na základě původního konceptu stresu od Selye s přihlédnutím k návrhu Larchera, rozděluje reakci rostliny na stres do čtyř fází:

- 1) Fáze odezvy (poplachová reakce),
- 2) Restituční fáze (přetrvávající stres),
- 3) Konečná fáze (fáze vyčerpání),
- 4) Regenerační fáze.

Na začátku rostliny reagují poklesem jedné nebo více fyziologických funkcí např. fotosyntézy, transportu metabolitů nebo absorpce a translokace iontů. To má za následek odchýlení od normálního fyziologického standardu a pokles vitality. U rostlin s nízkou nebo žádnou tolerancí dochází k akutnímu poškození. Většina rostlin zde však aktivuje ochranné mechanismy jako aklimatizaci metabolických toků, opravné procesy a dlouhodobé metabolické a morfologické adaptace. To vede k posílení rostlin ustálením nových fyziologických standardů, což je optimální fáze pod vlivem stresoru a odpovídá rezistentnímu maximu rostlin. Při dlouhodobém působení stresoru může dojít k přetížení a nastává vyčerpání. Zde dochází ke ztrátě vitality a vede k vážnému poškození rostliny nebo buněčné smrti. Pokud dojde k přerušení působení stresoru, rostlina zregeneruje a vytvoří se nové fyziologické standardy. (viz. obrázek 1)



Obrázek 1 - Obecný princip reakce rostliny na stres (Zdroj: Lichtenthaler 1998)

Průběh stresové reakce a její konečný výsledek závisí na intenzitě, délce působení stresového faktoru a na geneticky vázaných předpokladech odpovědi (tyto předpoklady se

souhrně označují jako adaptační schopnosti rostliny) (Procházka 1998). Pokud se po působení stresu tolerance rostliny zvýší, tak se rostlina stane aklimatizována (Taiz & Zeiger 2002). Aklimatizace může být založena jak na rychle pomíjivých změnách (tvorba specifických metabolitů), tak i na změnách trvalejších (změny tvorby nových orgánů a v jejich vnitřní struktuře) (Procházka 1998).

Základem pro obranu rostliny a její odpovědi je včasné rozpoznání daného stresu. Potom, co rostlina rozpozná stres, aktivuje komplexní signální kaskády, které se pro jednotlivé stresu mohou lišit. Po expozici biotickému nebo abiotickému stresu jsou aktivovány specifické iontové kanály a kinázové kaskády, dochází ke vzniku a akumulaci ROS, fytohormonů (kyselina abscisová, salicylová, jasmonová nebo ethylen) a je aktivován genetický aparát (Rejeb et al. 2014). Regulační geny, zejména transkripční faktory hrají významnou roli při reakci rostliny na stres. Jejich aktivace vede k expresi funkčních genů, které přímo nebo nepřímo regulují transdukční signální síť a stres regulující geny (Mehrotra et al. 2020). To vše vede k zvýšení tolerance ke stresu a zmírnění poškození rostliny (Rejeb et al. 2014). Reakce rostlin, zejména na abiotický stres, je velmi dynamická a komplexní. Záleží také na pletivu nebo orgánu, který je stresem postihnut. Dále je tato komplexnost také ovlivněna délkou působení stresu (akutní a chronický) (Cramer et al. 2011).

Kyselina abscisová (ABA) je považována za primární hormon v kontrole proti biotickému i abiotickému stresu (Rejeb et al. 2014). Je produkována v průběhu životního cyklu rostliny a hraje roli v kontrole klíčení a vývoje semen, uzavírání stomat, emryo morfogenezi, syntéze v zásobních proteinech a lipidů, stárnutí listů a také v obraně proti patogenům. Jejím hlavním úkolem se ale zdá být regulace vodní bilance a tolerance proti osmotického stresu (Tuteja 2007).

Rostliny syntetizují takzvané primární a sekundární metabolity. Primární metabolity tvoří cukry, aminokyseliny, trikarboxylové kyseliny, bílkoviny, nukleové kyseliny a polysacharidy (Hussein & El-Anssary 2018). Sekundární metabolity mohou být produkovány při ochraně rostliny proti biotickému i abiotickému stresu. Jsou to různorodé nízkomolekulární organické molekuly mající specifický uhlíkatý řetězec (Pagare et al. 2015) Mezi sekundární metabolity patří fenolické látky, alkaloidy, saponiny, terpeny, lipidy a sacharidy. Fenolické látky obsahují charakteristickou fenolovou skupinu a tvoří pravděpodobně největší skupinu sekundárních metabolitů. Řadí se sem jednoduché fenoly, taniny, kumariny, flavonoidy, chromony a xanthyony, stilbeny a lignany (Hussein & El-Anssary 2018).

### **3.1.2 Biotický stres**

Biotický stres je u rostlin způsoben živými organismy zejména viry, bakteriemi, houbami, nematodami, hmyzem, pavoukovci nebo plevelem (Gull et al. 2019). Jedná se zejména o patogenní mikroorganismy, herbivorní živočichy nebo může dojít k vzájemnému ovlivnění další rostliny (Procházka 1998). Tyto ostatní organismy využívají živiny svého hostitele a jejich napadení může rostlině způsobit usmrcení. Druh biotického stresu, kterým je

rostlina zasažena, bývá závislé na prostředí ve kterém rostlina žije a na druhu rostliny. (Gull et al. 2019).

Jako patogen se označuje organismus, který dokončuje část nebo celý svůj životní cyklus uvnitř rostliny (Gull et al. 2019). Tyto mikroorganismy jako viry, bakterie nebo houby pronikají přes buněčnou stěnu do buněk rostliny. To vyvolá rozmanitou řadu koordinovaných vnitrobuněčných procesů, které mají za cíl omezit nebo zcela eliminovat působení a šíření mikroorganismů do dalších buněk. Tuto odezvu může vyvolat i pouhý kontakt patogenu s rostlinou (Procházka 1998). Herbivorní živočichové jsou organismy, které požívají vegetativní části rostlin (Buchanan 2015).

Mnoho biotických stresů má vliv na fotosyntézu. Např. hmyz svým okusováním listů snižuje plochu listu nebo infekce, které jsou způsobené viry snižuje rychlost fotosyntézy (Gull et al. 2019).

### **3.1.3 Abiotický stres**

Abiotický stres způsobuje celosvětově značné ztráty v zemědělské produkci (Mittler 2006). Na celém světě snižuje průměrnou roční produkci o 51–82 %, dle druhu plodiny (Cavatte et al. 2012).

Je způsoben nadbytkem nebo nedostatkem fyzikálního nebo chemického faktoru. Mezi abiotické stresy se řadí zavodnění, sucho, vysoké nebo nízké teploty, zasolení půdy, nedostatek minerálních živin, nedostatek kyslíku, nadměrné nebo nedostatečné záření a obsah toxických prvků a chemických látek v půdě nebo v ovzduší (Buchanan 2015; Procházka 1998).

V podkapitolách budou vysvětleny zejména stresy, u kterých se účastní anthokyany a které jsou rozebrány v další části práce.

#### **3.1.3.1 Sucho**

Vodní stres může nastat v důsledku buď nadbytku či nedostatku vody. Nadbytek vody, způsobený nejčastěji povodněmi, má za následek snížení přívodu kyslíku ke kořenům. Snížení kyslíku poté vede k narušení funkcí kořenů, což zahrnuje přísun živin a respiraci. Nedostatek vody je však mnohem častější příčinou vodního stresu, a proto bude popsán podrobněji (Mahajan & Tuteja 2005).

Nedostatek vody je ze všech abiotický stresů, které mají vliv na růst a produktivitu rostlin, nejvýznamnější. Voda má velmi rychlý koloběh narozdíl od minerálních živin a její zásoba jak v rostlinách, tak v půdě vystačí pouze na krátkou dobu. Doplnění vody srážkami je obvykle nepravidelné a mohou nastat i dlouhá období sucha (Procházka 1998).

Voda tvoří u nedřevnatých rostlin 80 – 95% biomasy a hraje roli v mnoha aspektech růstu, vývoji a metabolismu rostlin. Důvody nedostatku vody zahrnují nízké srážky, zasolení půdy, vysoké a nízké teploty nebo nedostatečné nebo nadměrné záření. Změny způsobené globálním oteplováním jsou považované za hlavní příčinu sucha (Salehi-Lisar & Bakshayeshan-Agdam 2016).

Sucho je obecný výraz pro stav spojený s atmosférickými nebo povětrnostními jevy. Popisuje se jako období bez srážek (Salehi-Lisar & Bakshayeshan-Agdam 2016). Procházka (1998) udává, že pro vodní stres je lepší využívat charakteristiky vycházející ze stavu vody v rostlině (vodní potenciál nebo sytostní deficit), než údaje o vodě v prostředí.

Sucho patří mezi nejdůležitější enviromentální faktory, který závažně zhoršuje růst a vývin plodin a limituje jejich produkci. Má vliv na růst rostliny, integritu membrán, obsah barviv a fotosyntetickou aktivitu. Růst a vývoj rostlin je závislý na buněčném dělení, transkripci a diferenciaci. Tyto fáze jsou při suchu v důsledku ztráty turgoru, enzymové aktivity a energie potřebné pro fotosyntézu poškozeny. Dochází k němu díky nedostatečnému přísunu vody kořenům nebo vysoké transpiraci (Anjum et al. 2011; Salehi-Lisar & Bakshayeshan-Agdam 2016).

Relativní vlhkost, vodní potenciál listů, rezistence stomat, transpirace a teplota listu jsou důležité faktory spojené s vodním deficitem. Snížení relativní vlhkosti vede k uzavření stomat, což je prvních známek sucha. Vyšší stomatalní rezistence snižuje rychlost transpirace a dochází ke zvýšení teploty listu. Zvýšením teploty listu může vést k denaturaci bílkovin, zejména enzymů (Salehi-Lisar & Bakshayeshan-Agdam 2016). Uzavření stomat vede ke přizpůsobení fotosyntézy, respirace, ke změně toku iontů, živin a vody a ke změnám v alokaci uhlíku a dusíku (Bohnert & Jensen 1996).

Rostliny mají tendenci vyrovnávat se suchem tím, že sníží osmotický potenciál buňky akumulací rozpuštěných látek. Určité metabolické procesy jsou spouštěny v důsledku stresu a zvýší koncentraci rozpuštěných látek v buňce. To napomůže pohybu vody do listů a zvýšení turgoru listů. Dochází k syntéze sloučenin, které hrají důležitou roli v udržení osmotické rovnováhy a ochrany membrán. K těmto sloučeninám se řadí prolin, glutamát, glycin-betain, karnitin, mannitol, sorbitol, fruktany, polyoly, trehalosy, sacharóza, oligosacharidy a anorganické ionty jako například draselný kationt. Tyto sloučeniny napomáhají buňce udržet hydratovaný stav a funkce, které zajišťují ochranu před suchem a dehydratací. (Mahajan & Tuteja 2005)

### 3.1.3.2 Chlad

Stejně jako ostatní abiotické stresory, nízké teploty jsou kritickým faktorem a mají dopad na růst a vývoj rostlin. To je zejména v zemědělství velkou limitací, protože změny

vyvolané nízkými teplotami snižují celkovou produkci a výnos, což vede k velkým ekonomickým ztrátám (Mehrotra et al. 2020). K zajištění úspěšného pěstování zemědělských plodin je důležité, aby plodiny odolaly i nízkým teplotám a tedy tolerance ke chladu je klíčová pro udržitelnost zemědělství (Yadav 2010).

Každá rostlina pro svůj optimální růst a vývoj vyžaduje jiné teploty (Mahajan & Tuteja 2005). Jako chlad se označuje stav, kdy je rostlina vystavena nižším teplotám nad bodem mrazu (Mehrotra et al. 2020). Citlivost na chlad, tedy kdy se rostlina dostává do stresu, kolísá s druhem rostliny. Citlivější jsou zejména rostliny pocházející z teplejších oblastí (např. banán, sója nebo kukuřice) (Mahajan & Tuteja 2005). Většina rostlin našeho klimatického pásma může být vážně poškozena při teplotách pod bodem mrazu vody. Přesto u nás existují i rostliny, které jsou vystaveny stresu již pod +10 °C (Mehrotra et al. 2020; Procházka 2009). Symptomy poškození vyvolané chladem se objevují v rozmezí 48–72 h, přičemž závisí na citlivosti dané rostliny a doby, po kterou je rostlina chladu vystavena. Projevují se snížením olistění, vadnutím nebo žloutnutím listů, což může vést k nekróze pletiva. U reprodukčních orgánů se vyskytuje sterilita (Mahajan & Tuteja 2005). Listy poškozených rostlin vykazují inhibici fotosyntézy, zpomalení translokace sacharidů, nižší respiraci, inhibici syntézy bílkovin a zvýšenou degradaci již syntetizovaných bílkovin (Taiz & Zeiger 2002).

Hlavní negativní efekt chladu je poškození membrán v důsledku dehydratace spojené s chladem. Při stresu z nízké teploty se produkují ROS, které zapříčiňují právě poškození membrán. U citlivých rostlin se může objevit metabolická dysfunkce při vystavení nízkým teplotám. Obecně tedy chlad vede k ztrátě integrity membrán, což má za následek únik rozpuštěných látek (Mahajan & Tuteja 2005).

Tolerance ke chladu je schopnost rostlin tolerovat nízké teploty bez poškození. Aklimatizace ke chladu je zvýšení tolerance k nepříznivým fyzikálním chemickým změnám v důsledku chladového stresu. Tolerance i aklimatizace ke chladu zahrnují více biochemických, molekulárních a metabolických procesů (Yadav 2010).

Aklimační změny jsou spojeny s hromaděním osmoticky aktivních látek, tvoří se stresové proteiny a mění se chemické složení lipidové vrstvy membrán. Snížení kritické teploty přechodu lipidů do gelového stavu zajišťuje zvýšení zastoupení nenasycených mastných kyselin. Další roli hrají v řízení aklimačních změn také fytohormony (Procházka 1998).

### 3.1.3.3 Zasolení

Zasolení půdy je jeden z nejvážnějších abiotických stresů, který limituje přes 20 % zavlažovaných půd a negativně tak ovlivňuje světovou produkci (Hasanuzzaman et al. 2012).

Zasolení se rozděluje na primární a sekundární. Primární zasolení je výsledkem akumulace solí, které vznikají přirozenými procesy v půdě nebo v podzemní vodě. To zahrnuje zvětvávání matečných hornin obsahující rozpustné soli a depozicí oceánských solí (zejména

chlorid sodný) větrem nebo dešťovými srážkami. Sekundární zasolení je antropogenního původu, který je výsledkem zavlažováním vodou obsahující rozpustné soli (Parihar et al. 2015).

Na základě adaptivní evoluce na zasolené půdy se rostliny dělí do dvou skupin – halofytní a glykofytní. Halofytní rostliny dokáží zasolené půdy tolerovat, zatímco glykofytní rostliny jsou daleko citlivější a může v důsledku stresu dojít i k odumření rostliny. Většina plodin patří do glykofytní skupiny (Gupta & Huang 2014).

Rostliny rostoucí v zasolených půdách čelí hned několika problémům. Toxický vliv vysoké koncentrace iontů, zejména  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$  a  $\text{Mg}^{2+}$ , nízký vodní potenciál a zhoršené fyzikální vlastnosti půdy patří právě mezi tyto problémy. Neadaptované rostliny hromadí velké množství uvedených iontů, které negativně ovlivňují funkci enzymů, což může mít za následek i úhyn rostlin (Procházka 1998).

Vysoké koncentrace  $\text{Na}^+$  snižují vstřebávání  $\text{K}^+$  iontů, které jsou nezbytným prvkem při růstu a vývoji rostlin. V důsledku působení stresu ze zasolení je produkce ROS zvýšená. To může vést k oxidačnímu poškození v buněčných komponentech jako jsou proteiny, lipidy či DNA a tím dochází k narušení buněčných funkcí v rostlinách (Gupta & Huang 2014).

Osmotický stres je prvním příznakem pokud jsou rostliny vystaveny zasolení. Dalším stádiem je toxicita spojená přímo s danými ionty. U rostlin je pak narušena iontová rovnováha. Osmotický stres a iontová toxicita vedou k oxidačnímu stresu a dalším sekundárním stresům (Liang et al. 2018).

Jedním z počátečních dopadů zasolení je inhibice růstu. Sůl v půdní vodě inhibuje růst rostlin ze dvou důvodů. Snižuje schopnost rostlin vstřebávat vodu a může poškodit buňky v transpiračním systému (Parihar et al. 2015). Pokud jsou kořeny vstřebány ionty  $\text{Na}^+$  a  $\text{Cl}^-$  ve velkém množství, negativně ovlivňují růst narušením metabolických procesů a snížením schopnosti fotosyntézy (Deinlein et al. 2014). V vyrovnání osmotického stresu rostliny začnou syntetizovat osmolytické látky (prolin, rozpustné cukry, glyciny, betain. Vyrovnání osmotického stresu je klíčové pro udržení buněčného turgoru. (Liang et al. 2018). Rostliny poté sníží osmotický stres tím, že sníží ztráty vody a zvýší vstřebávání vody. Dále minimalizují negativní účinky  $\text{Na}^+$  vyloučením  $\text{Na}^+$  z listů či sekvestrací do vakuol. (Deinlein et al. 2014)

Mnoho rostlin si vyvinulo metodu k udržení nízké koncentrace iontů v cytoplazmě. Důležitou roli v udržení stabilní koncentrace iontů v cytosolu hrají membrány při působení stresu tím, že regulují příjem a transport iontů. Udržují buněčnou homeostázu sodných a draselných iontů, což je stěžejní pro přežití rostlin v zasolených půdách. (Gupta & Huang 2014)

Ztráta intracelulární vody je také velmi nepříznivým následkem zasolení. Aby nedošlo ke ztrátám vody z buňky a chránily se buněčné proteiny, akumulují rostliny metabolity, které neinhibují normální metabolické reakce. Patří mezi ně cukry, zejména fruktóza, sacharóza, cukerné alkoholy a trehalozy a fruktany. Akumulace těchto osmolytů umožňuje osmotickou



regulaci a vytváří nízký vodní potenciál uvnitř buňky, čímž předchází úbytku intracelulární vody (Mahajan a Tuteja 2005).

#### 3.1.3.4 Těžké kovy

Těžké kovy jsou významným polutantem díky zvyšujícím se ekologických, evolučních, nutričních a environmentálních důvodů (Nagajyoti et al. 2010)

Termín „těžké kovy“ je označení pro kovy s relativně vysokou atomovou hustotou (4 g/cm<sup>3</sup> nebo jako 5x větší než hustota vody). Mezi těžké kovy se řadí zinek, olovo, kadmium, nikl, kobalt, železo, zinek, chrom, arsen a stříbro. Těžké kovy se nachází v disperzní formě v horninách. Toxicita těžkých kovů pro rostliny kolísá s druhem rostliny, druhem kovu, koncentrací, chemické formě a kompozicí půdy a její pH. Některé kovy jako například zinek nebo železo jsou pro rostliny esenciální, protože slouží jako kofaktory nebo aktivátory enzymů (Nagajyoti et al. 2010)

Těžké kovy v prostředí jsou jak antropogenního, tak přírodního původu. Zdroje kontaminace mohou být přírodní nebo pocházet ze zemědělství, průmyslu, odpadních vod nebo atmosféry (Nagajyoti et al. 2019). Všechny těžké kovy jsou nedegrovatelné. Některé se považují za imobilní, to znamená, že se nedostávají z místa kde jsou akumulovány. Některé jsou mobilní a rostliny je tak mohou vstřebávat kořenovým systémem skrz difúzi, endocytózu nebo kovové transporty. Toxicita se na rostlinách může podepsat na růstu rostliny, chloróze, hnědnutí kořenů nebo i smrti (Ghori et al. 2019).

Těžké kovy mohou způsobit toxicitu, která v důsledku inaktivuje enzymy a denaturuje bílkoviny. Narušují integritu membrány, což vede ke narušení fotosyntézy, respirace a homeostázy. Dále také stimulují produkci ROS. Rostliny si vyvinuly různé molekulární, fyziologické a genetické mechanismy pro zvládnutí tohoto stresu. Prvním mechanismem je rekukce vstřebávání těžkých kovů pomocí kořenových exudátů. Exudáty brání vstupu těžkých kovů do buňky effluxu nebo sorpcí na buněčné stěny. Součástí těchto mechanismů jsou aminokyseliny, glutathion, fytochelatiny, metalthioneiny nebo enzymy (Ghori et al. 2019).

#### 3.1.4 Oxidační stres

Jak bylo popsáno v předchozích kapitolách, rostliny jsou nuceny čelit neustálým nepříznivým svého prostředí – tedy abiotickým a biotickým stresorů. Působení těchto stresů vede ke zvýšené produkci reaktivních forem kyslíku (ROS) (Gill a Tuteja 2010), což je na molekulární úrovni považováno za jeden z klíčových znaků stresu (Hasanuzzaman et al. 2012). Mezi tyto stresy patří zasolení, UV radiace, sucho, stres způsobený těžkými kovy, teplotními extrémami, nedostatkem živin, znečištěním ovzduší, herbicidy a patogeny. Akumulace ROS jako důsledek působení stresu patří celosvětově mezi hlavní příčinu ztráty produkce. Je odhadováno, že 1–2 % kyslíku v pletivech rostlin je přeměněno na tyto molekuly (Gill a Tuteja 2010).

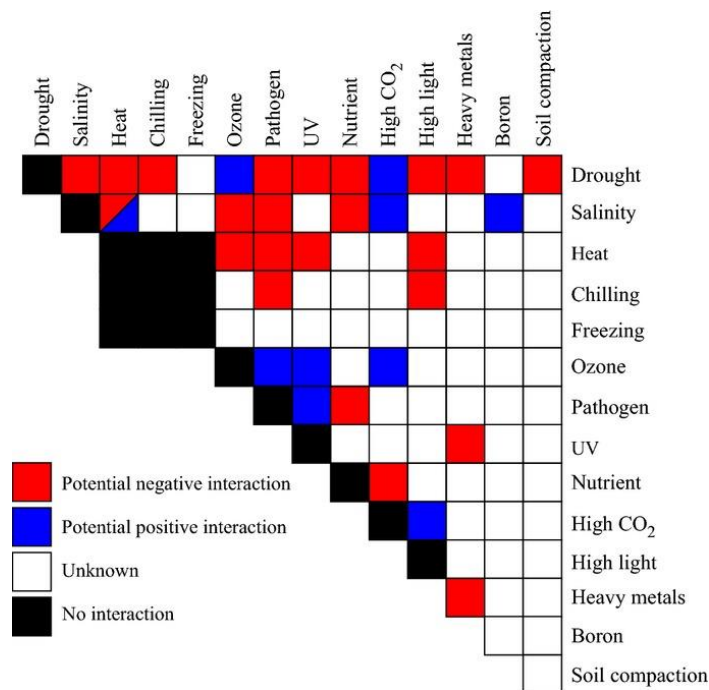
Mezi aktivní formy kyslíku (ROS) patří singletový kyslík, superoxidový aniont, peroxid vodíku, hydroxylový radikál a perhydroxylový radikál (Buchanan 2015). Jsou to redukované nebo excitované formy atmosférického kyslíku (Mittler 2017). Vznikají neustále jako meziprodukty mnoha metabolických reakcí (Gill a Tetuja 2010). Uvnitř buňky jsou produkovány v organelách a jejich membránách (Procházka 1998). Konkrétně v chloroplastech, mitochondriích, peroxisomech, endoplasmatickém retikulu, plazmatické membráně, buněčné stěně a apoplastu (Piterková et al. 2005). Při denním světle jsou hlavními producenty ROS chloroplasty a peroxisomy, za tmy dominují mitochondrie (Gill a Tetuja 2010). V chloroplastech se při absorpci záření asimilačními pigmenty soustředí velké množství energie a současně je v nich zvýšena koncentrace kyslíku z rozkládající se vody ve fotosystému II. K fotoredukci kyslíku na superoxid dochází při Mehlerově reakci ve fotosystému I. Ze vzniklého superoxidu pak vznikají nebezpečnější hydroxylové radikály a peroxid vodíku (Procházka 1998). Peroxisomy jsou subcelulární organely a pravděpodobně tvoří hlavní intracelulární produkci ROS. V jejich matrixu a membránách se tvoří superoxid. V mitochondriích se v komplexu I a III tvoří superoxid, který může být dále redukovaný pomocí superoxid dismutázy na peroxid vodíku (Gill & Tetuja 2010).

Za normálních podmínek jsou ROS odbourávány řadou antioxidačních systémů, což má za úkol udržovat rovnováhu mezi produkcí a odbouráváním těchto molekul (Gill a Tetuja 2010). K tomu aby se držela tato rovnováha, rostliny disponují řadou neenzymatických a enzymatických antioxidačních systémů. Z neenzymatických jsou to např. askorbová kyselina, glutathion, prolin,  $\alpha$ -tokoferoly, karotenoidy nebo flavonoidy. Z enzymatických např. kataláza, askrobát peroxidáza, superoxid dismutáza nebo glutathion reduktáza (Gill a Tetuja 2010). Tyto systémy jsou vytvořeny v téměř všech buněčných kompartmentech, což poukazuje na důležitost detoxikace ROS (Hasanuzzaman et al. 2012).

V nízkých koncentracích ROS fungují jako signální molekuly pro aktivaci obraných mechanismů rostliny (Hasanuzzaman et al. 2012). Při vysokých koncentracích, které jsou způsobeny dlouhodobým působením stresorů, mohou poškodit buněčné struktury (např. nukleové kyseliny, bílkoviny, lipidy) nebo inhibovat funkci enzymů a v konečném důsledku vyvolat buněčnou smrt. (Hasanuzzaman et al. 2012). Tento proces se označuje jako oxidační stres (Mittler 2017).

### 3.1.5 Kombinace stresů

Na rozdíl od laboratorního prostředí, v přírodních podmínkách rostliny čelí kombinací dvou nebo více stresů (např. sucho a zasolení, zasolení a přehřátí). Kombinace sucha s vysokými teplotami nebo nadměrným zářením je v agrosystémech běžné po celém světě. K abiotickému stresu může rostlina zároveň čelit i biotickému. Vícečetné stresy vyvolávají v rostlině jiné odpovědi, než jednotlivé stresy individuálně. Kombinace stresů nemusí být nutně negativní, ale může vyvolat i pozitivní výsledek. Sucho například vede k uzavření stomat, ale zároveň zvyšuje odolnost rostliny proti ozonu (Suzuki et al. 2014). Příklady interakcí mezi jednotlivými stresory je uveden na obrázku 2.



Obrázek 2 – Příklad interakcí jednotlivých stresorů (Zdroj: Suzuku et al. 2014)

### 3.2 Anthokyany

Anthokyany (z řeckého slova „*anthos*“ = květ a „*kyanos*“ = modrá) jsou v přírodě velmi rozšířená, ve vodě rozpustná rostlinná barviva.

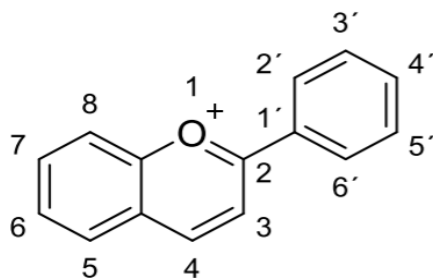
Tvoří jednu z největších a nejdůležitějších skupin ve vodě rozpustných barviv u většiny druhů rostlinné říše (Horbowicz et al. 2008). Jedná se o polyfenolické látky patřící do skupiny flavonoidů, které vznikají při sekundárním metabolismu vyšších rostlin (He & Giusti 2010). Anthokyany se téměř výlučně nacházejí u vyšších rostlin, nicméně byly nalezeny i u nižších rostlin např. u mechů a kapradin (Welch et al. 2008). Zodpovídají za zbarvení většiny květů, plodů a listů krytosemenných rostlin. Anthokyany jsou přítomny i v dalších pletivech jako jsou kořeny, hlízy, stonky nebo cibulky. Zbarvení se pohybuje ve škále od růžové přes červenou a fialovou až po tmavě modrou (Andersen & Jordheim 2006).

Anthokyany jsou běžně rovnoměrně rozpuštěny ve vakuolárním roztoku epidermálních buněk (Andersen & Jordheim 2006). Je diskutovaná i přítomnost takzvaných anthokyanoplastů, což jsou struktury vázané na membránu, které jsou formovány při syntéze a eventuálně po jejich rozložení zbarvují celou vakuolu. K květech jsou anthokyany téměř vždy v epidermálních buňkách, méně často v mezofylu (Delgado-Vargas et al. 2000). U ovoce a zeleniny jsou ve slupkách (Welch et al. 2008). Obecně jsou typy anthokyanů v květech komplexnější, než v plodech. V květech probíhá polyglykosylace i polyacylace a řada vysoce regulovaných biochemických reakcí, které vedou k produkci rozdílně barvených sloučenin. Zatímco v plodech je obsažen pouze jeden nebo dva typy anthokyanů (Welch et al. 2008).

### 3.2.1 Chemická struktura

Molekula anthokyanů je složena z anthokyanidinů (též nazývané jako aglykony) a jednoho či více cukrů. V některých případech bývá na cukr estericky vázaná i acylová skupina. Anthokyaniny se označují jako glykosidy těchto aglykonů.

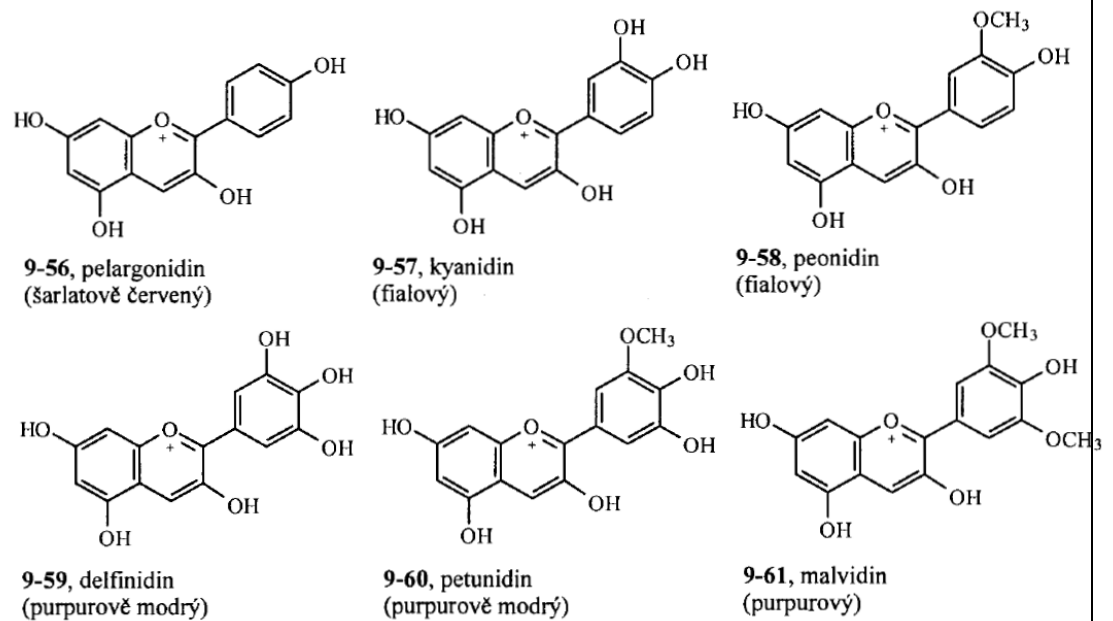
Anthokyanidiny jsou odvozeny od základní struktury, kterou tvoří flavyliový kation, systematicky 2-fenylbenzopyryliový kation (obrázek 3). (Velíšek & Hajšlová 2009)



Obrázek 3 - Flavyliový kationt (Zdroj: Velíšek & Hajšlová 2009)

Základní struktura anthokyanidinu je složena z C-6 (kruh A)-C3 (kruh C)-C6 (kruh B) uhlíkového řetězce (Horbowicz et al. 2008). Aromatický kruh (A) je připojen na heterocyklický kruh (C), který obsahuje kyslík a je připojen vazbou mezi dvěma uhlíky na třetí aromatický kruh (B) (Castañeda-Ovando 2009). Anthokyanidiny jsou polyhydroxy a polymethoxy deriváty tohoto kationtu (Mazza & Miniati 1993). Liší se od sebe počtem a pozicí hydroxylových skupin, stupněm methylace a pozicí, počtem a druhem navázaného cukru (Pojer et al. 2013).

Obecně se shoduje v tom, že většina v přírodě se vyskytujících anthokyanů je odvozena pouze od 6 anthokyanidinů. Jsou jimi pelargonidin, peonidin, kyanidin, malvidin, petunidin a delphinidin (obrázek 4). Distribuce těchto jednotlivých anthokyanidinů v jedlých částech rostlin je podle Konga et al. (2003) pro kyanidin 50 %, pelargonidin 12 %, peonidin 12 %, delphinidin 12 %, petunidin 7 % a malvidin 7 %. V 97 % nalezneme tyto anthokyanidiny glykosylované (Andersen & Jorheim 2006). Počet známých anthokyanidinů se v literatuře různí. Velíšek & Hajšlová (2009) udávají 15, Kong et al. (2003) 17 a Andersen & Jordheim (2006) 31.

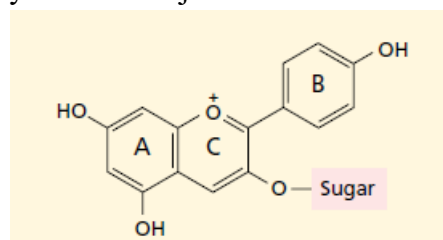


Obrázek 4 - 6 Nejběžnějších anthokyanidinů (Zroj: Velíšek & Hajšlová 2009)

Molekula anthokyanu vzniká připojením cukru na hydroxy skupinu anthokyanidinu, tedy jeho glykosylací. Hydroxy skupiny mohou být glykosylovány na různých pozicích různými cukry.

Nejhoněji glykosylace probíhá na pozici C-3 (Mattioli et al. 2020) a nejčastěji připojené cukry jsou v sestupném pořadí D-glukosa, L-rhamnosa, D-galaktosa, D-xylosa a L-arabiosa (Velíšek & Hajšlová 2009). Cukry jsou na anthokyanidin připojeny O-vazbou, ale existují i C-glykosylanthokyaniny, které jsou u jiných flavonoidů běžné (Andersen & Jordheim 2006). Glykosylovat anthokyanidiny mohou i kombinace těchto monosacharidů a vznikají tak di- nebo trisacharidy (Mazza & Miniati 1993). Podle počtu a pozice vázaných cukrů se anthokyaniny dělí do 18 skupin. Nejběžnější jsou glukosidy 3-monosidy, 3-biosidy, 3,5-diglykosidy a 3,7-diglykosidy (Velíšek & Hajšlová 2009).

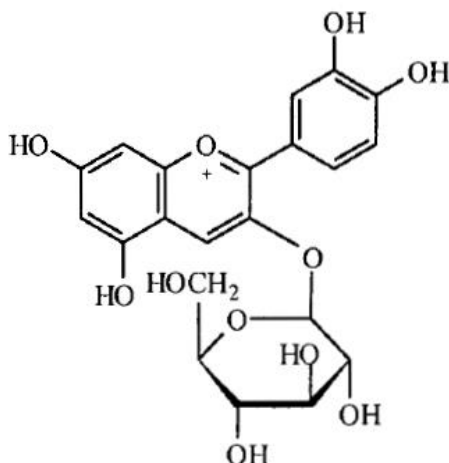
Cukry mohou být ještě acylovány aromatickými nebo alifatickými kyselinami. Z aromatických to je například kyselina kumarová, kávová, ferulová nebo sinapová a z alifatických octová, jablečná, šťavelová nebo jantarová. Až na výjimky jsou acylovány pouze 3-glykosidy (Mazza & Miniati 1993; Velíšek & Hajšlová 2009; Andersen & Jordheim 2006). Obecnou strukturu anthokyanu zobrazuje obrázek 5



Obrázek 5 - Obecný vzorec anthokyanu (Zdroj: Taiz & Zeiger 2002)

Nejrozšířenějšími anthokyaniny v přírodě jsou glykosidy nemethylovaných anthokyanidinů (kyanidinu, delphinidinu a pelargonidinu), vyskytujících se v 80 %

pigmentovaných listech, 69 % plodů a 50 % květů. (Kong et al. 2003). Nejběžnější anthokyan je kyanidin-3-glukosid (obrázek 6) (Kong et al. 2003; Velíšek & Hajšlová 2009)



Obrázek 6 - Kyanidin-6-glukosid (Zdroj: Velíšek & Hajšlová)

Počet známých antokyanů se v literatuře opět různí. Andersen & Jordheim (2006) uvádají, že jen od roku 1992 bylo identifikováno 277 nových anthokyanů. Kong et al. (2003) udávají odhadovaných 400, He & Giusti (2010) dokonce 635.

### 3.2.2 Chemické vlastnosti

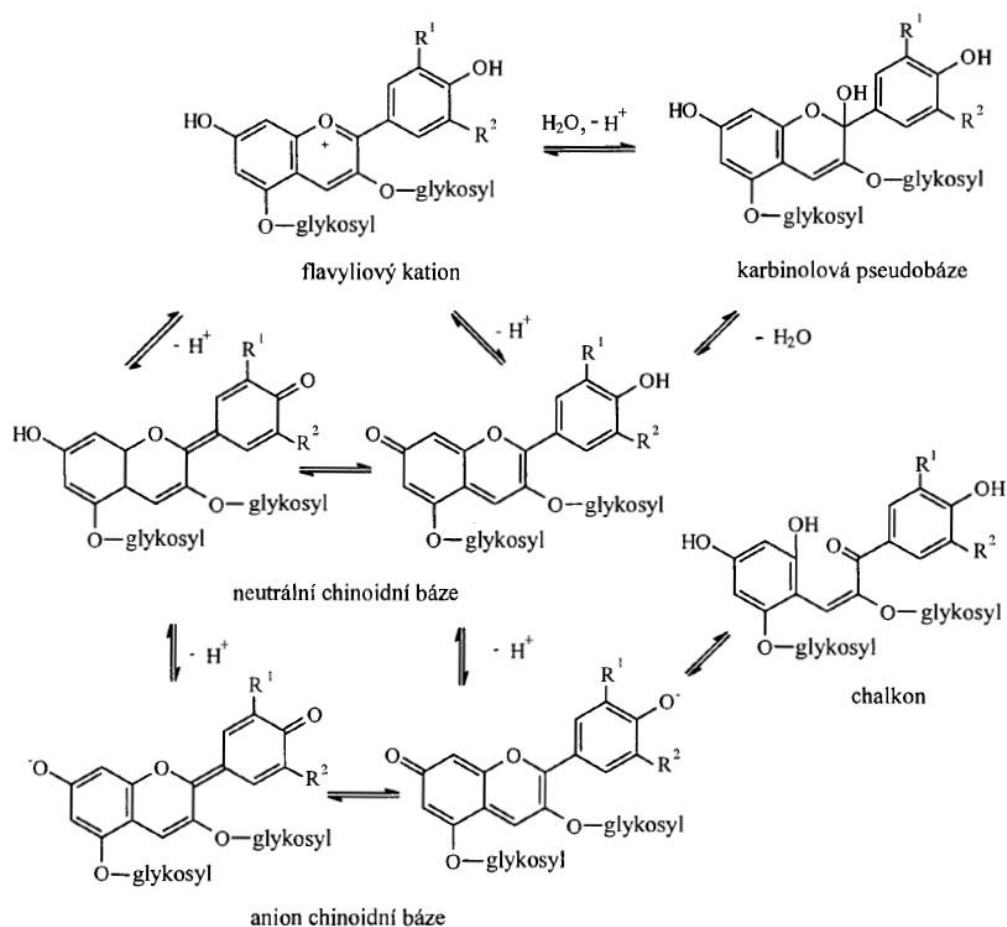
Jelikož se anthokyany v mnoha druzích ovoce, zeleniny a dalších rostlin chovají jako barviva, jejich stabilita, odstín a intenzita barvy jsou důležité vlastnosti (Welch et al. 2008). Tyto vlastnosti závisí na struktuře molekuly, koncentraci barviva, pH prostředí, teplotě, přítomnosti kopigmentu, kovového iontu, enzymů, přítomnosti kyslíku a působení záření (Velíšek & Hajšlová 2009).

#### 3.2.2.1 Barva

Jak bylo řečeno na začátku kapitoly, anthokyany poskytují širokou škálu barev např. červenou, modrou nebo fialovou. Stejně tak jako stabilita je barva anthokyanů ovlivněna elektronovou konjugací oxoniového kationtu, která je pro tuto skupinu charakteristická (Mattioli et al. 2020). Díky této iontové struktuře je pak barva ovlivněna hodnotou pH prostředí. V kyselém prostředí se některé anthokyany jeví jako červené, při neutrálním pH mají fialový odstín a s dalším zvyšováním pH se barva mění do modra (Khoo et al. 2017).

Ve vodném prostředí v závislosti na pH dochází k transformacím a rovnováze mezi pěti strukturami anthokyanidinů a to červeným flavylyovým kationtem, bezbarvou karbinolovou

pseudobází, purpurově červenou neutrální chinoidní bází, modrou chinoidní bází a žlutým chalkonem (Velíšek & Hajšlová 2009). viz obrázek 7



Obrázek 7 - Transformace anthokyanů v závislosti na pH (Zdroj: Velíšek a Hajšlová 2009)

V prostředí o pH 1 se anthokyaniny převážně nacházejí ve formě červeného flavyliového kationtu. V rozmezí pH 2–4 pak ve formě modré chinoidní báze a v rozmezí pH 5–6 se vyskytují jako bezbarvá karbinolová pseudobáze a chalkon (Castañeda-Ovando et al. 2009). Se zvyšujícím se pH totiž dochází vlivem kinetiky a termodynamiky ke kompetici mezi hydratační reakcí flavyliového kationtu a proton transferázové reakce kyselé hydroxyl skupiny (Welch et al. 2008).

Anthokyanidiny s větším počtem hydroxylových skupiny mají spíše modrý odstín a deriváty s methoxyskupinami mají spíše odstín červený (Velíšek & Hajšlová 2009). Pokud je hydroxylová skupina připojena na pozici C-3, která je často glykosylována, barva se jeví jako oranžová nebo červená. 3-glukosidy pelargonidinu, peonidinu a malvidinu si udržují modrou barvu nad hodnotu pH 8 zatímco kyanidin, petunidin a delphinidin mění svojí barvu z modré na červenou (Welch et al. 2008).

Barvu ovlivňuje také přítomnost kopigmentu. Kopigmentace je fenomén kdy spolu barviva a bezbarvé látky vytvoří melukuly nebo komplexy, které vedou ke změně nebo zvýšení intenzity barvy (Castañeda-Ovando et al. 2009). Mezi kopigmenty patří flavonoidy, alkaloidy, aminokyseliny, organické kyseliny, nukleotidy, polysacharidy, kovy a samotné anthokyaniny

(Mazza & Brouillard 1990). Kopigmentace je založena na dvou efektech. V prvním případě vzniká  $\pi$ - $\pi$  komplex, který mění vlastnosti spektra flavyliového iontu a zvyšuje intenzitu absorpce a vlnovou délku. V druhém případě se stabilizuje flavyliový iont  $\pi$  komplexem, který posune rovnováhu k červené barvě (Castañeda-Ovando et al. 2009).

### 3.2.2.2 Stabilita

Isolované anthokyany jsou vysoce nestabilní a velmi náchylné na degradaci. Stabilita je ovlivněna podobně jako barva hodnotou pH, skladovací teplotou, chemickou strukturou, koncentrací, světlem, kyslíkem, rozpouštědlem a přítomností enzymů, flavonoidů, bílkovin a kovů (Castañeda-Ovando et al. 2009). Anthokyany je nejlepší skladovat v temnu a chladu (Welch et al. 2008)

Anthokyanidiny jsou málo stabilní, proto je v přírodě samostatně nalezneme jen málo (He & Gusti 2010). Jejich stabilita je ovlivněna počtem hydroxylových a methoxylových skupin. Stabilitu anthokyanidinu zvyšuje glykosylace. Diglykosidy jsou totiž více stabilní než monoglykosidy (Delgado-Vargas et al. 2000) a to díky působení vodíkových můstků (He & Giusti 2010).

Z nejznámějších anthokyanidinů je nejstabilnější malvidin, následovaný peonidem, petunidinem, kyanidem a delphinidem. Obecně jsou anthokyany stabilnější v kyselém prostředí (Escribano-Bailón et al. 2004).

### 3.2.2.3 Antioxidační aktivita

Anthokyany vykazují antioxidační aktivitu. Ta může mít dva mechanismy. Jednou z nich je, že anthokyany jsou schopné fungovat jako donor vodíkového atomu. Druhá možnost je přenesení elektronu (Tena et al. 2020).

Anthokyany mají vyšší antioxidační aktivitu než například vitamin C nebo vitamin E. (Castañeda-Ovando et al. 2009)

## 3.2.3 Biosyntéza

Biosyntéza anthokyanů je jedna z nejvíce prostudovaných drah sekundárních metabolitů rostlin a vedla k identifikaci genů a enzymů, které se této syntézy účastní. Její obecný průběh byl popsán na třech druzích rostlin, konkrétně na kukuřici seté (*Zea mays*), hledíku větším (*Antirrhinum majus*) a petunii (*Petunia hybrida*) (Welch et al. 2008). Ačkoli tyto rostliny spolu sdílí většinu kroků, každý druh produkuje jiné anthokyany (Holton & Cornish 1995).

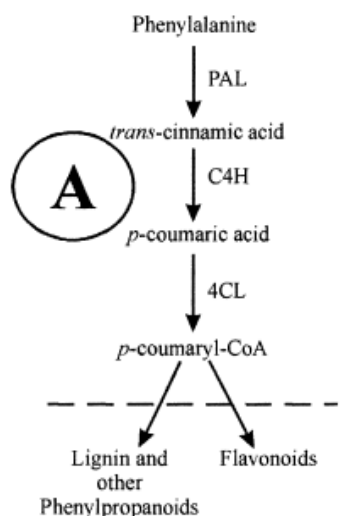
Anthokyanidiny a anthokyany jsou téměř výlučně syntetizovány jako část fenylypropanoidové dráhy, která je součástí syntézy i ostatních flavonoidů. Enzymy účastníci se v biosyntéze anthokyanů jsou lokalizovány v endoplasmatickém retikulu a jsou organizovány do



multienzymového komplexu, který se nazývá „flavonoid metabolon“ (Mannino et al. 2021). Jak uvádí Delgado-Vargas et al. (2000), biosyntéza anthokyanů by se dala rozdělit na dvě části:

- A) Prekurzory získané z fenylpropanoidové dráhy (obrázek 8)
- B) Konkrétní kroky vedoucí k biosyntéze flavonoidů (obrázek 9)

V první části (A) je výchozím substrátem fenylalanin, který je produktem šikimátové dráhy a bylo zjištěno, že je začleněn v C6-C3 části základní flavonoidní struktury. Fenylalanin je přeměněn na p-kumaryl-CoA za pomoci tří enzymů a to fenylalanin amoniak-lyázy (PAL), cinamát-4-hydroxylázy (C4H) a 4-kumaryl-CoA ligázy (4CL). P-kumaryl-CoA je hlavní prekurzor flavonoidů, ligninu a dalších fenylpropanoidů.

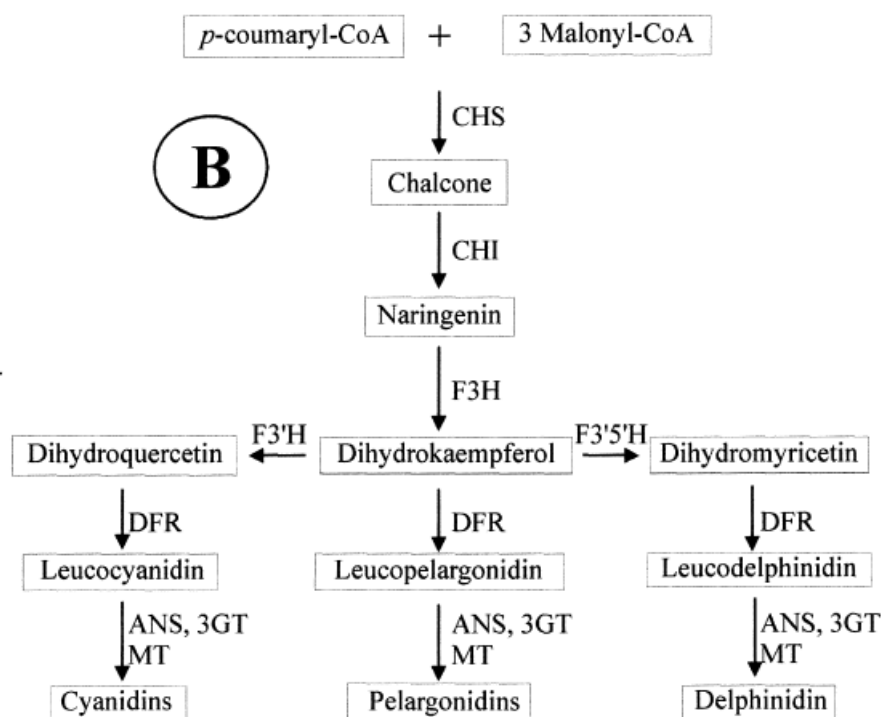


Obrázek 8 - Prekurzory získané z fenylpropanoidové dráhy (Zdroj: Delgado-Vargas et al. 2000)

Prekurzory pro syntézu všech flavonoidů, do kterých anthokyaniny patří, jsou malonyl-CoA a p-kumaryl-CoA (Welch et al. 2008).

V druhé části (B) enzym chalkon syntáza (CHS), která je považována za klíčový enzym v biosyntéze flavonoidů, katalyzuje kondenzaci tří molekul malonyl-CoA s 4-kumaryl-CoA za vzniku chalkonu. Dále podléhá chalkon izomeraci pomocí enzymu chalkon isomerázy (CHI) a vzniká naringerin (flavanon). Naringerin je prekurzor flavonoidů a isoflavonoidů. Dále je naringerin (flavanon) přeměněn na dihydrokaempferol (flavon) za pomoci enzymu flavanon 3-hydroxylázy (F3H). V této části může být dihydrokaempferol přeměněn na tři různé molekuly, z kterých vznikají tři jiné anthokyanidiny. Dihydrokaempferol může být přeměněn hydroxylací na pozici 3' katalyzovanou enzymem flavanon 3'-hydroxylázou (F3'H) na dihydroquercetin, hydroxylací na pozici 3' a 5' katalyzovanou enzymem flavanon 3',5'-hydroxylázou na dihydromyricetin nebo hydroxylace neprobíhá. Tyto dihydroflavonoly jsou redukovány za pomoci dihydroflavonol 4-reduktázy (DFR) na leukoanthokyanidiny (leukocyanidin, leukopelargonidin, leukodelphinidin). V dalším kroku enzym anthokyanidin syntáza (ANS) katalyzuje konverzi bezbarvých leukoanthokyanidinů na 2-flaven-3,4-diol a ten je poté glykosylován pomocí enzymu 3-O-glukosyltransferázy (3GT) a transportován do

vakuoly, kde je nakonec konvertován na barevný flavyliový iont. (Delgado-Vargas et al. 2000; Welch et al. 2008).



Obrázek 9 - Samotná syntéza anthokyanů (Zdroj: Delgado-Vargas et al. 2000)

Komplexní anthokyaniny podléhají dalším modifikacím, kde 3-O-glykosylace je téměř vždy prerekvizitou pro další glykosylaci, metylaci nebo acylaci. Glukosylace na pozici 5 je katalyzovaná enzymem anthokyan 5-O-glukosyltransferázou a využívá UDP-glukózu jako kofaktor. Acylaci umožňují enzymy anthokyan acyltransferázy, které se dle připojené kyseliny dělí na dvě skupiny (alifatické a aromatické acyltransferázy) (Welch et al. 2008). O-methylaci katalyzuje O-methyltransferáza (Jaakola 2013).

Trasnkripční faktory jsou regulační bílkoviny, které modulují expresi určitých skupin genů přes sekvenčně-specifické DNA vázící a bílkovina-bílkovina interakce. Fungují jako aktivátory nebo represory genové exprese a zvyšují nebo snižují expresi cílových genů (Petroni & Tonelli 2011).

U syntézy flavonoidů jsou geny koordinovaně indukované a transkripční faktory (TF) přímo regulují expresi strukturálních genů biosyntézy. K regulaci dochází interakcí mezi DNA vázící R2R3-MYB genem a bHLH a WD40 bílkoviny (Jaakola 2013). Tento komplex R2R3-MYB/bHLH /WD40 může fungovat jednotlivě nebo dohromady s ostatními bílkoviny a řídit enzymy účastněné v biosyntéze anthokyanů (Li et al. 2015).

Biosyntéza anthokyanů je rozdílná u jednoděložných a dvouděložných rostlin (Petroni & Tonelli 2011).

### 3.2.4 Význam ve výživě a potravinářství

Široká dostupnost a konzumace vysokokalorických a průmyslově zpracovaných potravin, zejména v západních zemích, způsobila rozvoj chronických kardiovaskulárních, metabolických nebo neurodegenerativních onemocnění. Z tohoto pohledu by měla být věnována pozornost čerstvým potravinám, obsahující bioaktivní látky vykazující zdraví prospěšné účinky v mnoha ohledech. Látky jako polyfenolické sloučeniny v našem těle modulují různé dráhy a procesy a poskytují antioxidační, protizánětlivé, protirakovinné nebo neuroprotektivní účinky a mohou regulovat hladinu glukózy (Mattioli et al. 2020).

Anthokyany jsou obsaženy v mnoha druzích ovoce, zeleniny a z nich zpracovaných produktů jako např. želé, džusy a červené víno. S ohledem na spotřebu těchto potravin anthokyany představují pravděpodobně nejdůležitější podskupinu flavonoidů (He & Giusti 2010). Obecně je obsah anthokyanů vyšší u ovoce než u zeleniny (Mannino et al. 2021). Anthokyany obsahují např. bobule, třešně, broskve, hrozny, granátové jablko, švestky nebo také tmavě zbarvená zelenina jako cibule, ředkev, fazole, lilek, fialová kukuřice, červené zelí a fialové brambory (He & Giusti 2010). Dále jsou obsaženy i v obilovinách jako kukuřice, rýže, pšenice, ječmen, čirok nebo oves. Bohaté na anthokyany jsou především jejich netradičně zbarvené odrůdy (černá, fialová, růžová, červená nebo hnědá) (Zhu 2018). Příklady potravin obsahující vysoké množství anthokyanů jsou uvedeny v tabulce 1.

Tabulka 1: Příklady potravin obsahující vysoké množství anthokyanů (Zdroj: De Pascual-Teresa et al. 2010; upraveno)

<b>Druhy potravin</b>	<b>Obsah (mg/100 g)</b>
Arónie	410-1480
Bezinka	664-1816
Borůvky	61,8-299,6
Brusinka	67-140
Černá fazole	24,1-44,5
Černý rybíz	130-476
Červené zelí	322
Červené hroznové víno	30-750
Fialová kukuřice	1642
Jahody	19-55
Maliny	20-687
Rebarbora	4-200
Ředkev	100-154
Třešeň	2-450

Průměrný denní příjem anthokyanů je podle De Pascual-Teresa (2010) závislý na individuálních stravovacích návycích a na sociálních a kulturních rozdílech. Dále uvádí rozmezí příjmu 3–215 mg/den. Wu et al. (2006) odhaduje v USA příjem na 12,5 mg/den. Zamora-Ros et al. (2011) provedli studii na 27 místech v 10 zemích Evropy u lidí ve věku 35–74 let. Celkový příjem anthokyanů byl stanoven pro muže v rozmezí 19,83–64,88 mg/den a pro ženy 18,73–44,08 mg/den.

Zájem o anthokyaniny se zvyšuje díky jejich potenciálním zdravotním benefitům. To zahrnuje například ochranu LDL cholesterolu proti oxidaci, protizánětlivé a protirakovinné účinky, prevenci proti obezitě a diabetu, neuroprotektivní účinky nebo antioxidační účinky (He & Giusti 2010; Mattioli et al. 2020).

Diskutovaným tématem je ovšem jejich biodostupnost. Modely na zvířatech ukázaly, že do krevního oběhu se po pozření dostávají v řádech minut (6 – 20) a maximálního obsahu v krvi dosahují po 15 – 60 minutách. Koncentrace anthokyanů v krevní plasmě byly stanoveny v nM nebo nižších hodnotách uM (Pojer et al. 2013). U lidí jsou na základě klinických studií považovány za málo biodostupné. V krevní plasmě se hodnoty po pozření 50 mg ekvivalentu aglykonu pohybovaly mezi 10–50 nmol/l (De Pascual-Teresa 2010).

S rostoucí obavou z možných vedlejších účinků a environmentálního dopadu syntetických barviv je v potravinářství zvyšující se trend ve využívání barviv přírodních (Cortez et al. 2016). Karotenoidy a anthokyaniny patří mezi nejvíce využívaná barviva z rostlinných materiálů v potravinářském průmyslu. U anthokyanů se k barvení používají např. extrakty z bobulí, červeného zelí, ředkvi, tulipánů, růží, orchidejí nebo ze slupek hroznů (Khoo et al. 2017; Castañeda-Ovando 2009). Anthokyaniny mají příznivou barvicí schopnost a v kyselém prostředí postačují nízké koncentrace k dosažení atraktivního zbarvení. Jako

barvia se používají např. v cukrovinkách, mléčných výrobcích, sušených směsí, zmrzlin, pekařských výrobcích a nápojích. Zejména nealkoholické nápoje jsou vhodnými produkty pro použití anthokyanů díky jejich nízkému pH a dobrou rozpustností anthokyanů ve vodě (Sampaio et al. 2021). Zároveň je použití anthokyanů omezující na kyselé prostředí, protože při hodnotě pH větší než 4 se jejich stabilita a barva mění (Velíšek & Hajšlová 2009).

### 3.2.5 Funkce anthokyanů při stresu rostlin

Anthokyaniny mají potenciální význam u odpovědi rostlin na stres. Ačkoli jsou jedny z nejvíce biochemicky a geneticky studovaných fenyylpropanoidů, jejich role při stresu je stále kontroverzní. Anthokyaniny jsou indukované nebo modulované řadou abiotických stresů, ale spojení s jejich akumulací a adaptací na stres není přímočará (Cirillo et al. 2021).

Vizuální funkce anthokyanů v reprodukčních orgánech jako pomoc při lákání opylovačů a k šíření semen je obecně přijatá (Steyn et al. 2002). Mohou být také spolu s ostatními flavonoidy důležité při ochraně rostliny proti útoku hmyzu (Kong et al. 2013) nebo herbivorům (Gould 2004).

Biosyntéza anthokyanů v listech je obecně zvýšená v důsledku působení jednoho či více stresorů jako je nadměrné záření, UV-B radiace, teplotní extrém, sucho, ozon, nedostatek dusíku a fosforu, bakteriální a plísňová infekce, mechanické poškození, herbivoři, herbicidy a polutanty. Se spojením s těmito stresy jsou anthokyaniny považovány jako symptom stresu či jako součást mechanismu zmírnění účinků stresu. (Gould & Hatier 2009). Indukce anthokyanů v horní části epidermu listu pod působením abiotického stresu je způsobena signálem ROS a následnou transkripcí regulačních transkripčních faktorů (TF) MYB/bHLH/WD40, které aktivují expresi biosyntetických genů anthokyanů (Naing & Kim 2021). Funkce anthokyanů není přesně známa. Jedna z teorií je, že anthokyaniny vyvolané stresem slouží jako antioxidanty pro odbourávání ROS (Kovinich et al. 2014).

Anthokyaniny jako ostatní flavonoidy s polyhydroxy skupinami na B kruhu efektivně odbourávají ROS *in vitro* (Landi et al. 2015). Navzdory tomu, že jsou anthokyaniny lokalizovány ve vakuole a enzymy biosyntézy flavonoidů v cytosolu, listy obsahující anthokyaniny vykazují větší schopnost odbourat  $H_2O_2$  než buňky bez nich (Basu et al. 2010).  $H_2O_2$  se pod působením abiotického stresu může rychle šířit přes membrány, buněčné útvary a vakuoly. Díky těmto antioxidantním vlastnostem anthokyaniny chrání rostliny před inhibicí růstu a buněčnou smrtí tím, že snižují oxidační stres odbouráváním ROS. Tento vliv byl prokázán některými studiemi, které ukázaly, že zelené listy měly více endogenních ROS a byly na rozdíl od červených listů více senzitivní na abiotické stresy (Naing & Kim 2021). Například Xu et al. (2017) potvrdili zvýšenou akumulaci ROS pod vlivem stresu a aktivaci exprese biosyntetických genů a jejich regulačních genů. Prokázali také vliv anthokyanů na jejich toleranci. Mutanti neobsahující anthokyaniny akumulovali větší množství endogenních ROS (jak pod vlivem stresu tak při kontrolních podmínkách) a byly také citlivější.

Řada studií prokázala pod vlivem stresu zvýšenou akumulaci anthokyanů napříč druhy. Některé se snažily vysvětlit spojení mezi expresí genů vedoucí k biosyntéze anthokyanů a tolerancí na stres. Dále se pokoušely demonstrovat akumulaci anthokyanů a toleranci ke stresům pomocí transgenních rostlin, což je jeden z potenciálních kroků v pěstování rezistentních odrůd rostlin a zvýšit tak výnos jednotlivých plodin (Naing & Kim 2021). V následujících podkapitolách bude uveden přehled studií a shrnuty jejich výsledky

#### 3.2.5.1 Fotoprotekce

Fotooxidace je oxidace iniciovaná nebo katalyzovaná slunečním zářením. Anthokyaniny mají potenciál snížit poškození fotooxidací tím, že zachytávají nadbytečné množství fotonů, které by jinak vedlo k zvýšení produkce ROS, což by zapříčinilo poškození. Anthokyaniny absorbují žluté/zelené a UV vlnové délky a tím značně snižují poškození fotosystému II. Listy, které obsahují anthokyaniny vykazují méně fotoinhibice a rychlejší obnovení fotosyntézy než listy bez anthokyaninů. (Landi et al. 2015) Možnost fotoprotekce anthokyaninů může vysvětlit, proč listy stromů v průběhu podzimu červenají (Gould 2004).

Anthokyaniny také mohou poskytovat rostlinám ochranu absorbováním UV-B záření. (Gould 2004).

#### 3.2.5.2 Sucho

Akumulace anthokyaninů indukovaná suchem byla potvrzena v mnoha druzích rostlin a pletivech (González-Villagra et al. 2017). Například Basu et al. (2010) zjistili zvýšený obsah anthokyaninů u všech třech odrůd rýže. U odrůdy PB byl zvýšen 1,39x, u Pokkali 1,27x a u IR 1,24x. Značně byl zvýšen i obsah ostatních flavonoidů.

Někteří autoři však avizovali, že díky nízkým koncentracím anthokyaninů a díky jejich velké energetické spotřebě nehrají takovou roli při zvládnutí osmotického stresu jako ostatní látky (prolin a rozpustné cukry). Dále je pak usuzováno, že vyšší obsah anthokyaninů může být jako důsledek zvyšování hodnot ABA. Na základě dalších studií bylo zjištěno, že je ABA zapojena do biosyntézy anthokyaninů expresí klíčových genů fenylypropanoidové dráhy. (González-Villagra et al. 2018)

Pleonlap & Pattanagul (2015) studovali efekt sucha na akumulaci anthokyaninů v listech purpurové rýže (*Oryza sativa* L.) a zda přidání exogenní ABA ovlivní obsah anthokyaninů. Ovlivnění obsahu po přidání ABA však nepotvrdili. U purpurové rýže došlo ke zvýšení obsahu anthokyaninů. Vyšší obsah anthokyaninů rovněž vedl k vyšší antioxidační aktivitě. Podle autorů výsledek studie vedl k tvrzení, že stres suchem nemusí být přímo spojená s akumulací anthokyaninů, ale jejich zvýšená akumulace přispívá k zlepšení tolerance.

Alexieva et al. (2001) zkoumali efekt sucha UV-B záření na růst a stresové markery u *Pisum sativum* L. cv. *Citrina* a *Triticum aestivum* L. cv. *Centauro*. Studie neprokázala vliv

sucha na zvýšení obsahu anthokyanů u obou druhů rostlin. Silné zvýšení anthokyanů však zaznamenali po aplikaci UV-B paprsků (hrášek vyzakoval o něco větší množství) a po aplikaci sucha i UV-B záření. Zvýšil se i obsah prolinu.

Nakabayashi et al. (2014) připravili mutanty *Arabidopsis thaliana*. Výsledky ukázaly, že MYB12 a PAP1 indukovaly syntézu anthokyanů. Dále vzorky linií vystavili oxidačnímu stresu. Mutantní linie (pap1-D a WOX1) vykazovaly 3x vyšší toleranci proti oxidačnímu stresu. Dále pak rostliny vystavili suchu. Počet PAP1 expresujících linií byl vyšší než u planých linií. Na základě svých výsledků autoři předpokládají, že zvýšená akumulace anthokyanů je přímo spojená s odolností proti suchu a oxidačnímu stresu. Linie syntetizující anthokyaniny vykazovaly větší odolnost oproti rostlinám deficientním ve flavonoidech.

Efeoğlu et al. (2009) zkoumali 3 odrůdy *Zea mays* L. Doge, Luce a Vero. Výsledky prokázaly zvýšení obsahu anthokyanů při suchu. U odrůdy Luce byl poměrně vysoký obsah anthokyanů bez závislosti na suchu. U odrůd Doge a Vero došlo k poměrně zvýšenému obsahu anthokyanů, ale před a po aplikování stresu tyto hodnoty byly nízké.

### 3.2.5.3 Chlad

Li et al. (2015) zkoumali rostlinu *Fagopyrum tataricum*. Akumulace anthokyanů u výhonků v důsledku chladu byla 3–4x vyšší než množství anthokyanů u rostlin při pokojové teplotě. Zvýšil se také obsah celkových flavonoidů. Stresované rostliny také vykazovaly vyšší antioxidační aktivitu. Dále studovali expresi genů účastnících se v biosyntéze anthokyanů, konkrétně Ft4CL, FtCHI, FtF3H, FtF3H', FtANS, FtGST, FtAHA, FtMYC, FtMYB a FtWD40. Výsledek ukázal, že všechny tyto geny byly v důsledku stresu chladem exprimovány.

Christie et al. (1994) studovali zvýšení akumulace anthokyanů u kukuřice (*Zea mays* L.) při nízkých teplotách. Studie prokázala zvýšenou transkripci fenyylpropanoidové a anthokyanové biosyntézy.

Lo Piero et al. (2005) zaznamenali vyšší obsah anthokyanů při skladování červeného pomeranče (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) při teplotě 4 °C. Při skladování při 25 °C byly PAL, CHS, DFR, a UGTG konstantně exprimovány. Po vystavení nižších teplot došlo k nárůstu jejich exprese. Po 75 dnech skladování při nízkých teplotách došlo k 8x větší akumulaci anthokyanů než u pokojové teploty a k 40x vyšší transkripci strukturálních genů. Autoři předpokládají, že akumulace PAL může být ve spojení se syntézou fenyylpropanoidové dráhy při ochraně proti chladu. Tyto výsledky byly pak podle Crifó et al. (2011) ve shodě v jejich pozdější studii.

Zhang et al. (2019) zkoumali *Mikania micrantha*. Zaznamenali v důsledku chladu značně vyšší hodnoty anthokyanů u červených listů a stonků než u zelených. Červené listy obsahovaly 60x vyšší obsah anthokyanů oproti zeleným. Celková antioxidační kapacita červených listů a stonků byla významně vyšší. Expres CHS, CHI, F3H, DFR a ANS také byla

znatelně vyšší, u ANS dokonce 1000x vyšší než u zelených listů a stonků. V zelených částech byla také detekovaná vyšší akumulace ROS (superoxidového aniontu a peroxidu vodíku). To potvrzuje schopnost anthokyanů efektivně eliminovat ROS pod stresem chladem.

Wang et al. (2013) se snažili prokázat vliv anthokyanů na odbourávání ROS vyvolaných chladem u transgenní purpurové batáty (*Impomoea batatas* Lam.) cv. Ayamurasaki. K tomu isolovali IbDFR gen u kterého potvrdili asociaci s expresí biosystézy anthokyanů. K potvrzení hypotézy měřili obsah H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> před a po vystavení chladu. Obsah H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> po vyvolání stresu se zvýšil jak u transgenních, tak u planých linií. Anthokyaniny rovněž vykazaly antioxidační aktivitu a poskytla tak transgenní rostlině ochranu.

Ahmed et al. (2014) zkoumali u *Brassica rapa* vztah mezi expresí 12 BrDFR genů a akumulací anthokyanů a jejich tolerancí proti stresu vyvolaného chladem. K porovnání použili červenou a zelenou odrůdu. Expresí BrDFR genů byla variabilní mezi jednotlivými orgány. Jednotlivé geny také vykazovaly různé exprese jak v červené tak v zelené odrůdě. To naznačuje, že se regulace anthokyanů může účastit více genů. Geny BrDFR2, 4, 8 a 9 vykazaly u pigmentovaných vzorků vysokou odezvu na stres, což naznačuje spojení mezi akumulací anthokyanů a chladem. Zároveň se ukázalo, že BrDFR geny byly regulovány BrMYB-2 a BrTT8 transkripčními faktory.

Zhang et al. (2012) zkoumali vztah mezi akumulací anthokyanů a jejich biosyntetickými geny. Použili k tomu 2 odrůdy kapusty *Brassica Oleracea* var. *acephala* (purpurovou a bílou). Porovnávali mladé listy. Všechny strukturní geny byly (kromě F3H) v purpurové kapustě dramaticky regulované oproti bílé kapustě. U C4H došlo k 5x, u CHS 9x a u UFGT 2x větší expresi v purpurové kapustě oproti bílé. Geny DFR a ANS byly u bílé kapusty jen nepatrně zvýšené, ale u purpurové ano. To ukazuje, že vysoká exprese biosyntetických genů je silně spojena s výsledným zbravením. U BoPAP1 genu došlo k 100x větší expresi u purpurové odrůdy. To naznačuje, že BoPAP1 je pravděpodobně klíčový gen při kontrole biosyntézy anthokyanů u purpurových zbarvení. Dále se prokázala po vyvolání stresu chladem exprese BoPAP 1 a BoTT8 s regulací MoMYB113 a BoMYB114 transkripčních faktorů. To potvrdilo hypotézu, že BoPAP1 aktivuje strukturální geny u purpurové odrůdy.

Schulz et al. (2016) zkoumali 20 mutantů 2 rozdílných druhů *Arabidopsis thaliana* (Col-0 a Ler) pro zkoumání vlivu nízké teploty všech regulačních genů a kroků biosyntézy flavonolů a anthokyanů. Použili také linii pap1-D, která poskytuje aktivaci PAP1/MYB75 genu pro kódování MYB transkripčního faktoru. Studie ukázala, že na rozdíl od linií bez obsahu flavonoidů, tato linie vykazovala vysokou akumulaci anthokyanů a zvýšenou toleranci na chlad.

Meng et al. (2014) zkoumali toleranci na chlad a oxidační stres u transgenního *Nicotina tabacum* L. Transgenní linie obsahovaly LeAN2 gen, který zvyšoval expresi a zapříčinil tak purpurový fenotyp rostliny (purpurové kořeny, stonky, listy a květy). Kromě barvy se ve srovnání od planého typu rostliny nelišily. Akumulace anthokyanů byla značně vyšší u transgenních linií než u planého typu. U planého typu došlo k větší inhibici růstu a poklesu



chlorofyly. U transgenních linií k větší transkripci NtANS1, NtANS2 a NtCHS genů, které jsou součástí biosyntézy anthokyanů. To poukazuje na to, že LeAN2 gen indukoval akumulaci anthokyanů. Transgení linie po vyvolání stresu snížením teploty měly nižší obsah ROS než planý typ a vykazovaly větší antioxidační aktivitu. Výsledky studie ukázaly, že vysoký obsah anthokyanů v transgenním tabáku vedl k větší rezistenci na nízké teploty.

#### 3.2.5.4 Zasolení

Obecně při zasolení jsou důsledkem signálních funkcí ROS spuštěny transkripční faktory, které regulují biosyntetické geny anthokyanů a tím dochází k odbourávání ROS, snížení iontového a osmotického poškození (Naing & Kim 2021).

Mbarki et al. (2018) u barvených genotypů pšenice identifikovali rozdílné anthokyany, což může ovlivnit specifické adaptivní odezvy na zasolení. Genotypy KM 178-14 purple a Skorpion Blue aleurone měly nejvyšší obsah anthokyanů v listech mezi ostatními odrůdami. V první fázi stresu (100 mM NaCl) byl u téměř všech stanovovaných genotypů zvýšen obsah anthokyanů. Při aplikování 150 nM NaCl byl obsah anthokyanů podobný s kontrolními odrůdami (až na odrůdu PS Karkulka). Vyšší obsah anthokyanů nevedl ke stejné adaptaci na stresované rostliny. Genotypy se zvýšeným obsahem anthokyanů v první a druhé fázi zaznamenaly také zvýšený obsah prolinu. Genotypy KM 178-14 a KM 53-14 měly tendenci k vyšší peroxidaci tuků (způsobené ROS). U Skorpion Blue aleurone a PS Karkulka purple byla zaznamenána nižší tendence k peroxidaci.

Chutipaijit et al. (2011) zkoumali toleranci pigmentované rýže na základě akumulace prolinu a anthokyanů. Obsah anthokyanů v tolerantních genotypech byl vysoký a zároveň větší než u senzitivních genotypů. Nejvyšší zvýšená akumulace byla u SY genotypu (3,86x vyšší v porovnání s nestresovanými). Z výsledků studie vyplynulo, že množství endogenního prolinu může vysvětlit osmotickou a antioxidační toleranci. Výsledek měl také pozitivní spojení se zvýšeným množstvím anthokyanů a stabilizaci fotosyntetických pigmentů. Podle autorů tak mohou anthokyany mít roli při obranných mechanismech.

Oh et al. (2011) zkoumali vliv ektopického *Arabidopsis thaliana* s transkripčním faktorem pap1-D, který byl prokázán, že pozitivně ovlivňuje akumulaci anthokyanů. Stejně tak studie přetím ukázaly, že pap1-D rostliny vykazují větší míru antioxidační aktivity. Po vyvolání stresu zasolením, pap-D mutanti přežily déle než plané typy. Expres anthokyanů v odpovědi na stres byla zvýšená. Protože při stresu zasolením je syntetizována ABA, byly tak mutantní typy vystaveny soli a ABA zároveň. To zvýšilo míru přežití pap1-D mutantů. Byla také prokázána vyšší antioxidační aktivita. Výsledky ukázaly, že větší míra exprese PAP1 není tak významná jako u jiných genů. Přesto se však ukazuje, že vysoké množství anthokyanů může zvýšit toleranci na stres zasolením (v této studii konkrétně pap1-D).

Naing et al. (2017) zkoumali transgenní tabák *Nicotina tabacum*. Po aplikaci NaCl v několika fázích došlo u všech rostlin ke snížení růstu a výšky. Transgenní linie však měly vyšší

toleranci než planý typ. Stejně tak planý typ vykazoval nejnižší antioxidační aktivitu. Antioxidační aktivita byla rozdílná mezi liniemi transgenního tabáku, avšak rozdíly mezi nestresovanými a stresovanými planými typy byl větší než u transgenních.

Kim et al. (2017) se snažili určit u *Brassica napus*. L zda zvýšený obsah anthokyanů pod tímto stresem vede k větší toleranci. K tomuto použili AtDFR gen z *A. thaliana*, který hraje důležitou roli při biosyntéze anthokyanů a způsobit tak zvýšenou syntézu anthokyanů (bez quercetinu a kaempferolu). Po vyvolání stresu transgenní rostlina vykazovala 2x vyšší zvýšení anthokyanů než planý typ. Vykazovaly také zvýšenou antioxidační aktivitu, což bylo spojené se zvýšenou akumulací anthokyanů. Výsledky poukázaly na to, že zvýšená tolerance je způsobena DFR bílkovinami důsledkem jejich zvýšené exprese, ale ne expresí jiných genů. Podle autorů tak existuje komplikovaná síť v regulaci akumulace anthokyanů.

Některé studie však ukázaly, že vysoké množství anthokyanů není pro toleranci na zasolení nezbytné. Může to být proto, že tolerantní rostliny disponují jinými antioxidačními systémy pro lepší odstranění ROS, vyvolané osmotickým stresem. Syntéza anthokyanů však může nastat v bodě, kdy už je při delším působení stresu rostlina přehlcena (Naing & Kim 2021).

#### 3.2.5.5 Těžké kovy

Je dlouho známo, že toxicita kovů může indukovat syntézu anthokyanů. Anthokyaniny mají schopnost vázat kovové ionty buď v cytosolu nebo ve vakuole a poskytovat tak možnou ochranu. První zmínka o schopnosti anthokyanů navázat molekuly kovu přišla na začátku 20. století. Bylo pozorováno, že když se flavonol redukoval  $Mg^{2+}$  ionty, roztok získal zelenomodrou barvu. Došlo tak v důsledku formace komplexu  $Mg^{2+}$  iontů s anthokyanem. Tento komplex se nazývá metaloanthokyan. Dále se pak objevily variace s  $Cd^{2+}$ ,  $Ni^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$  nebo  $Mn^{2+}$  ionty (Landi et al. 2015)

Ai et al. (2018) použili transgenní linie petunie exprimující RsMYB1. Ten zapříčinil zbarvení celé rostliny díky anthokyanům. Antioxidační aktivita byla nejnižší u planých typů a záležela na obsahu anthokyanů. Hustota stomat se snížila při aplikování těžkých kovů (záleželo na typu aplikovaného kovu). Transgenní linie exprimující gen RsMYB1 vykazovaly zvýšenou akumulaci anthokyanů, což vedlo k větší antioxidační aktivitě a tím k většímu odbourávání ROS vyvolaných těžkými kovy. Sekvence RsMYB1 byla podobná jiným MYB, které podporují toleranci k ostatním abiotickým stresům.

Dai et al. (2012) zkoumali vliv kadmia u *Azolla imbricata*. U CHS během prvních tří dnů nedošlo k významné transkripci. Transkripce se zvýšila až během 5. dne (2,4x) a během 7. dne (2,9x) v porovnání s kontrolními rostlinami. U DFR došlo k rychlé a významné transkripci během 7. dne (11,3x).

Imtiaz et al. (2018) provedli pokus pigmentovanou hořčicí (*Brassica juncea* var. *gracilis*). Zkoumali vliv odpovědi anthokyanů (a jiných látek) indukci vanadia. Akumulace anthokyanů v listech se snižovala se stoupající koncentrací vanadia. Expres genů anthokyanové biosyntézy byla snažně vyšší než u zelených listů. Geny TT8, F3H a MYBL2 byly exprimovány ve všech stádiích pokusu. Nejspíše vlivem toxicity vanadia došlo ke snížení obsahu anthokyanů.

Baek et al. (2012) zkoumali vliv mědi, manganu, zinku, olova a rtuti u *Arabidopsis thaliana*. Všechny pět kovů zvýšilo akumulaci anthokyanů, ačkoli záleželo na typu kovu. Nejvíce akumulace bylo zaznamenáno u mědi. Nejmenší odpověď byla na olovo (stále ale došlo k pětinasobnému zvýšení). Podle autorů tyto výsledky indikují, že rostlina disponuje různými mechanismy ke zvládnutí stresu. Např. anthokyaniny mohou být rostlinou syntetizovány jako odpověď na stres vyvolaný mědí, na olovo mohou být zase syntetizovány karotenoidy. Podle autorů zvyšující se obsah anthokyanů jako reakce na kovy může znamenat určitou roli při detoxikaci.

Wiszniewska et al. (2019) zkoumali antioxidační odpověď u *Daphne jasminea* pod vlivem kadmia, niklu a olova. Stresované rostliny zvýšily syntézu anthokyanů. Nicméně důvod syntézy nevysvětlili.

Park et al. (2012) u *Arabidopsis thaliana* L. pomocí Col-0 ekotypu zkoumali vliv kadmia a zinku. Po aplikování 500 uM zinku listy Col-0 po 3 dnech zaznamenali zvýšenou akumulaci anthokyanů. Výsledek tak naznačuje, že toxicita zinku podněcuje akumulaci anthokyanů v Col-0 ekotypu. Dále studie ukázala, že pod 7 denním působením stresu došlo k transkripci PAP1, F3'H a UFG3T a expresi LDOX genu. To naznačuje, že zvýšená akumulace anthokyanů v důsledku stresu zinkem byla zvýšena transkripcí biosyntetických genů anthokyanů.

### 3.3 Anthokyaniny v obilninách

Obilniny patří ve světě mezi jedny z nejdůležitějších plodin. Již od počátku civilizace tvoří základní zdroj lidské a zvířecí obživy. V dnešní době zaujímají 74 % z celkové světové obdělávané plochy a tvoří 60 % hmotnostního podílu světové produkce potravin. Za obilniny se obecně považují rostliny z čeledi lipnicovité (*poaceae*), které jsou pěstovány pro jejich požitelné zrna. Podle WHO tvoří nejvýznamnější obilniny kukuřice, rýže, ječmen, čirok, proso, oves, žito. Obilniny tvoří významnou část lidské výživy díky svému obsahu energie, sacharidů, bílkovin, vitamínů skupiny B, minerálů a bioaktivních fytochemikálií (fenolické sloučeniny, karotenoidy, fytoosteroly a vláknina) s potenciálním zdravotním účinkem (Xiong et al. 2020).

Vitamíny, minerály, vláknina a fytochemikálie jsou součástí celého zrna, které obsahuje klíčky, otruby a endosperm. Tyto látky jsou většinou obsaženy ve vnějších vrstvách zrna, konkrétně v perikarpu a aleuronu. (Francavilla & Joye 2020)

Černé, purpurové, růžové, červené, modré a hnědé obilniny mohou obsahovat anthokyany. Protože anthokyany vykazují potenciální zdravotní benefity (viz kapitola) můžou tak být tyto varianty obilnin využívány jako funkční ingredience do potravin (Zhu 2018). Anthokyany jsou lokalizovány v určitých vrstvách zrna (Abdel-Aal et al. 2006).

K extrakci anthokyanů se používá polární rozpouštědlo (ethanol nebo methanol) s malým množstvím kyseliny s cílem získání flavyliového kationtu, který je červený a stabilní v kyselém prostředí. Jako další metody extrakce se dají použít PLE (pressurized liquid extraction) nebo SFE (supercritical fluid extraction). K izolaci anthokyanů se používají chromatografické metody. Papírová chromatografie (PC) nebo chromatografie na tenké vrstvě (TLC) poskytují možnost nejenom izolace, ale i identifikace a kvantifikace jednotlivých anthokyanů. Dnešní analýzy využívají vysokoúčinnou kapalinovou chromatografii (HPLC), která poskytuje separaci, identifikaci a kvantifikaci anthokyanů bez nutnosti vysoké čistoty. K detekci a identifikaci se využívá UV-vis spektroskopie, hmotnostní spektroskopie, nukleární magnetická rezonance nebo hydrolytických technik (Escribano-Bailón 2004).

Řada studií se věnovala stanovení obsahu anthokyanů v netradičně zbarvených obilninách. Následující podkapitoly budou věnovány vybraným druhům obilnin a jejich obsahu anthokyanů v rozdílných odrudách. Největší pozornost byla věnována pšenici, jelikož se jí bude věnovat moje diplomová práce.

### 3.3.1 Pšenice (*Triticum aestivum* L.)

Pšenice (*Triticum aestivum* L.) je lidmi globálně konzumovaná ve velkém množství. Po rýži je druhou nejzastoupenější obilninou v lidské stravě. Nejvíce konzumovanými odrůdy jsou bílá a červená pšenice, které anthokyany neobsahují, jsou konzumovány nejvíce. Modré, purpurové a černé odrůdy jsou považovány za speciální. Tyto netradiční odrůdy obsahují vysoké množství anthokyanů, které jsou ve vnějších vrstvách zrna (Francavilla & Joye 2020). Modré pigmenty jsou lokalizovány v aleuronové vrstvě a purpurové v perikarpu (Abdel-Aal 2006 et al.), černé jsou lokalizovány v aleuronu i perikarpu. V průměru purpurové odrůdy obsahují nižší obsah celkových anthokyanů než modré a černé. Obsah anthokyanů je závislý na podmínkách pěstování a na dané odrůdě (Francavilla & Joye 2020).

Abdel-Aal et al. (2006) stanovili u modré pšenice průměrný celkový obsah byl 212  $\mu\text{g/g}$ . Purpurové linie pšenice obsahují nižší obsah celkových anthokyanů než modré linie. Výsledné koncentrace jsou ovlivněny podmínkami při pěstování, kde purpurové linie jsou na tyto podmínky náchylnější díky své lokalizaci anthokyanů v perikarpu nebo plodovému obalu. Nejzastoupenějším anthokyanem u modré pšenice byl delfinidin-3-glukosid, který zaujímal 37 % z celkového obsahu anthokyanů. Druhým nejzastoupenějším byl delfinidin-3-rutinosid. Delfinidin je hlavním aglykonem modrých pšenic. U purpurových linií bylo identifikováno 10 anthokyanů v malých koncentracích a nejzastoupenějšími byly kyanidin-3-glukosid a penodin malonylglukosid.

Abdel-Aal et al. (2008) stanovovali modrou odrůdu Purendo. Zrna byly rozemlety na celozrnnou mouku a rozděleny na mouku a otrubové frakce. Otrubová frakce obsahovala celkový obsah anthokyanů 405 a 321  $\mu\text{g/g}$  a celozrnná frakce 178 a 138  $\mu\text{g/g}$ . Otrubová frakce byla rozemleta na prášek a obsahovala 3378 a 3987  $\text{mg}/100\text{g}$  anthokyanů. Tato modrá pšenice obsahovala hlavní anthokyany delfinidin-3-glukosid, kyanidin-3-glukosid a delfinidin-3-rutinosid. Extrakty obsahovaly ještě petunidin-3-glukosid, petunidin-3-rutinosid, malvidin-3-rutinosid a peonidin-3-rutinosid.

Hosseinian et al. (2008) v purpurové pšenici identifikovali 13 hlavních anthokyanů. Nejzastoupenější anthokyan byl kyanidin-3-glukosid, následovaly kyanidin-3-galaktosid a malvidin-3-glukosid. Obsah celkových anthokyanů byl 522,7  $\text{mg}/\text{kg}$ .

Liu et al. (2010) stanovovali 6 odrůd z toho 3 purpurové (Charcoal, Indigo, Konini), 1 červenou (Red Fife), 1 žlutou (Luteus) a 1 bílou (AC Vista). Všechny odrůdy byly pěstované při stejných podmínkách. Obsah anthokyanů u purpurových odrůd byl v rozmezí 2,5 – 23,5  $\text{mg}/100\text{ g}$ . Extrakty z bílé, žluté a červené odrůdy obsahovaly  $<1\text{ mg}/100\text{ g}$ . Identifikovali pelargonidin-3-glukosid, delfinidin-3-glukosid, penodin-3-glukosid a petunidin-3-rutinosid. V purpurové pšenici byl dominantní kyanidin-3-glukosid.

Varga et al. (2013) stanovovali modré a purpurové odrůdy, pěstované v několika letech. Obsah celkových anthokyanů v celozrnné mouce se pohyboval v rozmezí 0 – 304,6  $\text{mg}/\text{kg}$ . Nejvyšší obsah byl detekován v purpurové odrůdě Charcoal. Autoři také detekovali meziroční rozdíly u jednotlivých odrůd. Odrůda Konini obsahovala nejvyšší obsah anthokyanů v roce 2010 (17,4  $\text{mg}/\text{g}$ ). Nejvyšší obsah mezi modrými byl naměřen 157,6  $\text{mg}/\text{kg}$ . Purpurové odrůdy však obsahovaly značně nižší obsah celkových anthokyanů než modré odrůdy. Po mletí zrn purpurové odrůdy vykazovaly polovinu anthokyanů a modré dokonce o desetinu nižší.

Bartl et al. (2013) detekovali u modré pšenice celkový obsah anthokyanů 12,3  $\text{mg}/\text{kg}$  a u purpurové 12,3  $\text{mg}/\text{kg}$ . Modré pšenice obsahovali delfinidin-3-glukosid, delfinidin-3-rutinosid, kyanidin-3-glukosid, kyanidin-3-rutinosid a peonidin-3-rutinosid. Purpurová pšenice obsahovala kyanidin-3-glukosid, peonidin-3-rutinosid, peonidin-3-glukosid a pelargonidin-3-glukosid

Bartl et al. (2015) dále pak stanovovali modrou a purpurovou pšenici. Následně z nich připravili tradiční český chléb. Zkoumali, jak teplota a čas ovlivní obsah anthokyanů. V modré pšenici identifikovali 19 anthokyanů a v purpurové 26. Hlavními anthokyany v obou odrůdách byly kyanidin-3-glukosid, kyanidin-3-rutinosid a peonidin-3-rutinosid. Pouze v modré pšenici byl delfinidin-3-glukosid a delfinidin-3-rutinosid. Pouze v purpurové pšenici pelargonidin-3-glukosid, pelargonidin-3-rutinosid a peonidin-3-rutinosid. Modrá pšenice obsahovala dvě nebo tři cukerné složky. Některé byly acylované kumarovou kyselinou. Celkové obsahy anthokyanu byly pro modrou pšenici 9,26  $\text{mg}/\text{kg}$  a 13,23  $\text{mg}/\text{g}$  pro purpurovou. Analýza chlebu ukázala, že chléb z modré pšenice při 240 °C obsahoval 8,33  $\text{mg}/\text{kg}$  anthokyanů (což představuje 7,1%

pokles). Chléb připravený z purpurové pšenice obsahoval 5,2 mg/kg anthokyanů (což představuje 61% pokles)

Garg et al. (2016) stanovovali modrou odrůdu, purpurovou, červenou a černou. Identifikovali 26 různých anthokyanů. Nejvíce anthokyanů obsahovala černá (185 mg/kg) modrá obsahovala 113 mg/kg a purpurová 16-86 mg/kg. Převážně byly obsaženy glukosidy (monoglykosylované) a rutinosidy (diglykosyly). Dále byly identifikovány i triglykosidy kyanidinu, peonidinu, petunidinu a malvidinu. Purpurové odrůdy obsahovaly více acylovaných anthokyanů než modré.

### 3.3.2 Rýže (*Oryza sativa* L.)

Rýže (*Oryza sativa* L.) je nejvíce konzumovanou obilninou v Asii. Konzumována je bez otrub, ve formě mouky nebo jako celé zrno. Bílá a hnědá rýže jsou nejvíce konzumovanými druhy, ale genotypy s červenými, purpurovými a červenými otruby jsou v Asii kultivované po dlouhou dobu, kde je barevná rýže používána v mnoha pokrmech. (Sutharut a Sudarat 2012). Je předpokládáno, že u rýže jsou anthokyaniny lokalizovány podobně jako u ostatních obilnin. Purpurové odrůdy obsahují anthokyaniny v perikarpu, modré v aleuronu a černé odrůdy v perikarpu i aleuronu. Stejně tak je obsah anthokyanů variabilní. Ovlivněný je způsobem pěstování a sklizně. Při úpravách rýže se obsah anthokyanů může snížit (Francavilla a Joye 2020). Pokud jsou při mletí odstraněny otruby, rýže se jeví jako bílá. Pro lidské zdraví jsou důležité celozrnné produkty (Shao et al. 2014).

Ryu et al. (1998) stanovovali 10 odrůd rýže. Celkový obsah anthokyanů napříč odrůdami se pohyboval v rozmezí 0–493 mg/100 g. Purpurová odrůda Suwon #415 vykazovala nejvyšší obsah anthokyanů (493 mg/100 g) z čehož kyanidin-3-glukosid zaujímal 95,3 %.

Abdel-Aal (2006) u černé rýže stanovili průměr 3276 ug/g, což bylo cca 35x více než u červené rýže (94 ug/g). Planý druh rýže obsahoval 27 ug/g anthokyanů. U černé a červené rýže byl dominantní anthokyan kyanidin-3-glukosid, kde u černé zaujímal 88 % a u červené 67 % z celkového obsahu anthokyanů.

Sutharut & Sudarat (2012) stanovovali 2 černé odrůdy a 1 nepigmentovanou. Obsah celkových anthokyanů byl 3,26 mg/100 g u Phitsanulok 2 (nepigmentovaná), 103,45 mg/100 g u Niew Dam a 9,79 mg/100 g u Hom Nil

Shao et al. (2014) stanovovali bílou, červenou a černou odrůdu rýže. Anthokyaniny byly stanoveny u černé rýže v různých fázích vývoje, která jako jediná akumulovala anthokyaniny. Její celkový obsah anthokyanů se pohyboval mezi 26,55-174,71 mg/100 g. Otruby zaujímaly 97 % z celkových anthokyanů, embryo 3 %. Detekován v otrubách byl kyanidin-3-glukosid a peonidin-3-glukosid.

Hao et al (2015) stanovovali černou odrůdu. Detekovali kyanidin-3-glukosid (91,01 %), peonidin-3-glukosid (7,13 %), kyanidin-3,5-diglukosid (0,92 %) a kyanidin-3-rutinosid (0,94 %). Obsah celkových anthokyanů byl 416,9 mg/100 g.

Chen et al. (2017) stanovovali 25 odrůd s purpurovými otrubami. Identifikovali 4 glukosidy (kyanidin-3-galaktosid, kyanidin-3-glukosid, kyanidin-3-rutinosid a peonidin-3-glukosid). Nejzastoupenějšími anthokyany byly kyanidin-3-glukosid (82,3 %), následoval penodin -3-glukosid (14,6 %), kyanidin-3-galaktosid (1,2 %) a kyanidin-3-rutinosid (1 %).

Hou et al. (2013) stanovovali černou odrůdu rýže Longjin No.1. Identifikovali anthokyany kyanidin-3-glukosid (91,01 %), peonidin-3-glukosid (7,13 %), kyanidin-3-rutinosid (0,94 %) a kyanidin-3,5-diglukosid (0,92 %).

Abdel-Aal et al. (2006) u černé rýže stanovili celkový obsah anthokyanů 3276 µg/g

Hasoda et al. (2018) u černé odrůdy stanovili nejvyšší obsah celkových anthokyanů 5,0456 µg/g. U červené a běžné rýže nebylo detekováno žádné množství

### 3.3.3 Ječmen (*Hordeum vulgare* L.)

Ječmen (*Hordeum vulgare*) je další významnou obilninou pěstovanou v mírných pásmech. Je často využíván jako zdroj cukrů např. pro výrobu alkoholických nápojů nebo jako zdroj potravy pro zvířata. Zrna ječmene mohou mít netradiční bílé, purpurové, modré nebo černé zbarvení. Anthokyany jsou u ječmene také lokalizovány v perikarpu a aleuronu. Podobně jako u pšenice mletí může vést k absenci anthokyanů. Genotyp a podmínky pěstování mají opět vliv na obsah anthokyanů (Francavilla & Joye 2020).

Kim et al. (2007) stanovovali černé, modré a purpurové linie. Celkový obsah anthokyanů se pohyboval mezi 13–1037,8 µg/g. Průměrný obsah v modrých a purpurových odrůdách byl 305 µg/g, což bylo vyšší než u černých, které obsahovaly v průměru 49,0 µg/g.

Lee et al (2012) stanovovali purpurovou, modrou a černou odrůdu. Nejvyšší obsah měla purpurová odrůda, dále pak modrá a černá. Celé zrno purpurové odrůdy obsahovalo 678,5 mg/kg, jeho otrubová frakce pak 1656,6 mg/kg, což bylo více než stanovily studie u jahody nebo třesně. Toho podle autorů může být využito pro výrobu funkčních potravin nebo jako barvivo. Dále u purpurové odrůdy identifikovali 11 anthokyanů. Hlavními byly kyanidin-3-glukosid, neznámé deriváty peonidinu a kyanidin-3-(6“sukcinyl). Dohromady zaujímaly 74 % z celkových anthokyanů v zrna.

Bellido a Beta (2009) stanovovali žlutou, purpurovou a černou odrůdu. Celkový obsah anthokyanů v purpurových a normálních odrůdách se pohyboval mezi 573 a 210 µg/g. Dstranění vnějších vrstev zvýšilo koncentraci anthokyanů. Ta se pohybovala mezi 3534 a 1587 µg/g (u purpurové odrůdy). V purpurové odrůdě byl detekován delphinidin-3-glukosid, kyanidin-3-glukosid a petunidin-3-glukosid. Nejzastoupenějšími anthokyany byly kyanidin-3-glukosid (99 µg/g) a delphinidin-3-glukosid (79 µg/g).

Zhang et al. (2020) u purpurové odrůdy identifikovali kyanidin malonyl glukosid zaujímal (73,50 %), kyanidin-6-galaktosid (19,24 %), kyanidi acetyl galaktosid (2,66 %) a kyanidin diglukosid (2,15 %), pelargonidin-3-glukosid a penodin glukosid.

### 3.3.4 Kukuřice (*Zea mays* L.)

Kukuřice (*Zea mays* L.) je rozšířená v Mexiku a ve Střední Americe. Hlavním použitím kukuřice v lidské stravě je výroba škrobu jako rafinovaný výrobek. Klasifikace kukuřice je primárně na základě obsahu a typu škrobu. V barevných variantách zrna také existují velké rozdíly. V purpurových odrůdách jsou anthokyany stejně jako u pšenice nebo ječmenu lokalizovány v perikarpu, v modrých odrůdách v aleuronu. U černých variant jsou stejně tak lokalizovány v perikarpu i aleuronu. Obsah anthokyanů je také daný odrůdou (Francavilla & Joye 2020).

Moreno et al. (2005) stanovovali purpurově červené odrůdy .Odrůda Arroccillo obsahovala nejvíce anthokyanů (115,05 mg/100 g) a nejméně odrůda Cónico (54 mg/100g). V aleuronové vrstvě anthokyany byly v malé koncentraci. Identifikovali kyanidin-3-glukosid, pelargonidin-3-glukosid a peonidin-3-glukosid. Z acylovaných anthokyanů pak kyanidin-3-(6“malonylglukosid) a kyanidin-3-(3,6“dimalonylglukosid).

Abdel-Aal (2006) stanovili celkový obsah anthokyanů v modré, růžové, purpurové a červené kukuřici, který se pohyboval v rozmezí 52–1277 ug/g. Celkově obsahovaly 18-27 anthokyanů. Nejvyšší obsah měla purpurová kukuřice (965 ug/g) a obsahovala 25 anthokyanů.

Lopez-Martinez et al. (2009) černé, purpurové, červené, modré, oranžové a žluté odrůdy. Obsah anthokyanů byl v rozmezí 1,54-860 mg/100g. Nejnižší obsah měly žluté a oranžové (díky karotenoidům). Obsahy v mg/100 byly pro purpurové 93-851, černé 76-120, červené 85-154.

Harakotr et al. (2014) stanovovali 12 genotypů ve 2 fázích zrání. Identifikovali kyanidin-3-glukosid, pelargonidin-3-glukosid, peonidin-3-glukosid, kyanidin-3-(6“malonylglukosid), pelargonidin-3-(6“-malonylglukosid), peonidin-3-(6“-malonylglukosid), kyanidin-3-(3“,6“- dimalonylglukosid), kyanidin-3-(6“-sukcinylglukosid), kyanidin-3-(3“,6“-malonylsukcinylglukosid) a peonidin-3-(6“-sukcinylglukosid). V mléčné fázi u všech genotypů byl hlavním anthokyanem kyanidin-3-(3“,6“-dimalonylglukosid) a v plné zralosti kyanidin-3-(6“malonylglukosid).



## 4 Závěr

Anthokyany tvoří jednu z nejrozšířenějších ve vodě rozpustných rostlinných barviv. Jsou to polyfenolické látky patřící do skupiny flavonoidů a vznikající při sekundárním metabolismu rostlin. Rostlinám poskytují atraktivní červené, modré nebo purpurové zbarvení ve všech částech rostlin. Díky této atraktivní barvě a potenciálním benefitům na zdraví konzumenta (např. snižování oxidace LDL cholesterolu, prevence proti kardiovaskulárních nebo neurodegenerativních onemocnění, obezitě nebo diabetu) přitahují pozornost k možnému zvýšení přímé konzumace potravin bohaté na anthokyany nebo jejich využití v potravinářství jako funkční přísada do potravin nebo jako barviva.

Biotický a abiotický stres rostlin způsobuje celosvětově velkou ztrátu v produkci a má značný dopad na ekonomické ztráty a životní prostředí. S roustoucím počtem obyvatelstva a tím spojeného zvýšení požadavků na produkci úpravin, je jednou z klíčových úloh zlepšení rezistence rostlin vůči biotickému a abiotickému stresu.

Anthokyany se mimo pigmentace pletiv rostlin podílejí v obranných mechanismech rostlin proti biotickým a abiotickým stresu.

Bylo zjištěno, že:

- Anthokyany pomáhají při lákání opylovačů, rozšiřování semen a proti útokům jiných organismů,
- Anthokyany poskytují rostlině fotoprotekci vůči nadměrnému záření a UV-B paprskům,
- Řada studií prokázala zvýšenou akumulaci anthokyanů v důsledku působení abiotických stresů, což vedlo k lepšímu odbourávání ROS a tím k lepšímu zvládnutí oxidačního stresu způsobeného těmito stresy,
- Některé studie prokázaly souvislost mezi exprimací biosyntetických genů anthokyanů jako odpověď na stres a tím k zlepšení rezistenci rostlin proti stresům,
- Slibnou možností, jak zvýšit toleranci rostlin ke stresům je využití transgenních rostlin exprimující biosyntetické geny anthokyanů,
- Ačkoli jsou anthokyany velmi studovanou skupinou, přímý mechanismu toho, jak přesně se anthokyany podílejí u rostlin na toleranci ke stresu není známo.

Obilniny jsou jednou z nejstabilnějších a nejzastoupenějších složek potravy lidí a zvířat. Mezi tyto potraviny patří zejména pšenice, ječmen, kukuřice a rýže. Obilniny mimo hlavních složek potravin (bílkoviny a sacharidy) poskytují další zdraví prospěšné látky jako je vláknina, vitamíny, minerály a fytochemikále. Studie potvrdily, že některé barevné odrůdy obilnin obsahují několikanásobně vyšší obsahy anthokyanů než běžné druhy ovoce a zeleniny. S ohledem na tuto skutečnost tak představují jednu z možností jak obohatit nutriční hodnotu potravin a přispět tak k zlepšení zdraví konzumenta. Díky nestabilitě anthokyanů je však nutné brát ohled na pH nebo teplotu.

## 5 Literatura

- Abdel-Aal E-SM, Abou-Arab AA, Gamel TH, Hucl P, Young JCH, Rabalski I, 2008. Fractionation of Blue Wheat Anthocyanin Compounds and Their Contribution to Antioxidant Properties. *J Agric Food Chem.* 56:11171-11177 doi:10.1021/jf802168c
- Abdel-Aal E-SM, Young JCH, Rabalski I, 2006. Anthocyanin composition in black, blue, pink, purple and red cereals grains. *J Agric Food Chem.* 54:4696-704 doi:10.1021/jf0606609
- Ahmed NU, Park J-I, Jung H-J, Yang T-J, Hur Y, Nou I-S, 2014. Characterization of dihydroflavonol 4-reductase (DFR) genes and their association with cold and freezing stress in *Brassica rapa*. *Gene.* 550:46-55. doi: 10.1016/j.gene.2014.08.013
- Ai TN, Nainh AH, Yun B-W, Lim HL, Kim CHK, 2018. Overexpression of RsMYB1 Enhances Anthocyanin Accumulation and Heavy Metal Stress Tolerance in Transgenic *Petunia*. *Plant Sci.* 9:1388. doi: 10.3389/fpls.2018.01388
- Alexieva V, Sergiev I, Mapelli S, Karanov E, 2001. The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. *Plant, Cell and Environment.* 24:1337-1344. doi:10.1046/j.1365-3040.2001.00778.x
- Andersen OM, Jordheim M, 2006. The Anthocyanins. 471-553 in Andersen OM, Marhkan KR, editors. *Flavonoids. Chemistry, Biochemistry and Applications.* Taylor & Francis Group, LLC. United States
- Anjum SA, Xie X, Wang L, Saleem MF, Man C, Lei W, 2011. Morphological, physiological and biochemical responses of plants to drought stress. *African Journal of Agricultural Research* Vol. 6:2026-2033. doi.10.5897/AJAR10.027
- Atkinson NJ, Urwin PE, 2012. The Interaction of plant biotic and abiotic stresses: from genes to the field. *J Exp Bot.* 63(10):3523-43. doi: 10.1093/jxb/ers100
- Baek S-A, Han T, Ahn, S-K, Kang H, Cho MR, Lee S-CH, Im KH, 2012). Effects of Heavy Metals on Plant Growths and Pigment Contents in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Pathol. J.* 28:4. doi:10.5423/PPJ.NT.01.2012.0006
- Bartl P, Albrecht A, Skrt M, Tremlová B, Ošřádalová M, Šmejkal K, Vovk I, Uhrh NP, 2015. Anthocyanins in purple and blue wheat grains and resulting bread: quantity, composition and thermal stability. *International Journal of Food Sciences and Nutrition.* 66:513-519. doi:10.3109/09637486.1056108
- Bartl P, Tremlová B, Ošřádalová M, Pokorná J, Žďárský M, 2013. Kvalitativní a kvantitativní stanovení anthokyanů v kultivarech pšenice s modrým a prupurovým zrnem. *Potravinářstvo* vol. 7:145-148. ISSN 1337-0960
- Basu S, Roychoudhury A, Saha PP, Sengupta DN, 2010. Differential antioxidative responses to indica rice cultivars to drought stress. *Plant Growth Regul.* 60:51-59. doi:10.1007/s10725-009-9418-4
- Bellido G, Beta T, 2009. Anthocyanin Composition and Oxygen Radical Scavenging Capacity (ORAC) of Milled and Pearled Purple, Black and Common Barley. *J Agric Food Chem.* 57:1022-1028.
- Bonhert HJ, Jensen RG, 1996. Strategies for engineering water-stress tolerance in plants. *Trends in Biotechnology.* Volume 14:89-97 doi.10.1016/0167-7799(96)80929-2

- Buchanan BB, Gruissem W, Jones RL, 2015. Biochemistry and molecular biology of plants 2nd edition. John Wiley & Sons, Ltd, The Atrium, Southern Gate, Chichester, West Sussex UK.
- Castañeda-Ovando A, Pacheco-Hernández L, Páez-Hernández E, Rodríguez JA, Galán-Vidal CA, 2009. Chemical studies of anthocyanins: a review. Food Chemistry. Volume **113**:859-871 doi:10.1016/j.foodchem.2008.09.001
- Cavatte PC, Martins SCV, Morais LE, Menezes-Silva PE, DaMatta FM, 2012. The Physiology of Abiotic Stresses. Chapter 3 in: Plant Breeding for Abiotic Stress Tolerance. Fritche-Neto R, Borém A, editors. Springer, Berlin, Heidelberg. doi:10.1007/978-3-642-30553-5\_3
- Cirillo V, D'Amelia V, Esposito M, Amitrano CH, Carillo P, Carputo D, Maggio A, 2021. Anthocyanins Are Key Regulators of Drought Stress Tolerance in Tobacco. Biology. Volume **10**:139. doi:10.3390/biology10020139
- Cortez R, Luna-Vital DA, Margulis D, Gonzalez de Mejia E, 2016. Natural Pigments: Stabilization Methods of Anthocyanins for Food Applications. Comprehensive Review in Food Science and Food Safety. Volume **16**:180-198. doi:10.1111/1541-4337.12244
- Cramer GR, Urano K, Delrot S, Pezzotti M, Shinozaki K, 2011. Effects of abiotic stress on plants: a system biology perspective. BMC Plant Biology. **11**:163. doi:10.1186/1471-2229-11-163
- Dai LP, Dong XJ, Ma HH, 2012. Molecular mechanism for cadmium-induced anthocyanin accumulation in *Azolla imbricata*. Chemosphere. **87**:319–325. doi:10.1016/j.chemosphere.2011.12.005
- De Pascual-Teresa S, Moreno DA, García-Viguera C, 2010. Flavanols and anthocyanins in cardiovascular health: a review of current evidence. Int J Mol Sci. **11**:1679-703. doi:10.3390/ijms11041679.
- Deinlein U, Stephan AB, Horie T, Luo W, Xu G, Schroeder JI. 2014. Plant salt-tolerance mechanisms. Trends Plant Sci. **19**:371-9. doi:10.1016/j.tplants.2014.02.001
- Delgado-Vargas F, Jimenéz AR, Paredes-López, 2000. Natural pigments: carotenoids, anthocyanins, and betalains—characteristics, biosynthesis, processing and stability. Crit Rev Food Sci Nutr. **40**:173-289. doi:10.1080/10408690091189257
- Efeoglu B, Ekmekçi Y, Çiçek N, 2009. Physiological responses of three maize cultivars to drought stress and recovery. South African Journal of Botany. **75**:34-42. doi:10.1016/j.sajb.2008.06.005
- Escribano-Bailón T, Santos-Buelga C, Rivas-Gonzalo JC, 2004. Anthocyanins in cereals. J Chromatogr A. **1054**:129-41. doi:10.1016/j.chroma.2004.08.152
- Francavilla A, Joye IJ, 2020. Anthocyanins in Whole Grain Cereals and Their Potencial Effect on Health. Nutrients. **12**:2922. doi:10.3390/nu12102922
- Garg M, Chawla M, Chunduri V, Kumar R, Sharma S, Sharma NK, Kaur N, Kumar A, Munday JK, Saini MK, Singh SP, 2016. Transfer of grain colors to elite wheat cultivars and their characterization. Journal of Cereal Science. **71**:138-144 doi:10.1016/j.jcs.2016.08.004
- Ghori NH, Ghori T, Hayat MQ, Imadi SR, Gul A, Altay V, Oztruk M, 2019. Heavy metal stress and responses in plants. International Journal of Enviromental Science and Technology. **16**:1807-1828. doi:10.1007/s13762-019-02215-8

- Gill SS, Tuteja N, 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry*. **48**:909-930. doi:10.1016/j.plaphy.2010.08.016
- González-Villagra J, Cohen JD, Reyes-Díaz MM, 2018. Abscisic acid is involved in phenolic compounds biosynthesis, mainly anthocyanins, in leaves of *Aristotelia chilensis* plants (Mol.) subjected to drought stress. *Physiol Plant*. 165:855-866. doi: 10.1111/ppl.12789
- Gould KS, 2004. Nature's Swiss Army Knife: The Diverse Protective Roles of Anthocyanins in Leaves. *J Biomed Biotechnol*. **5**:314-320. doi:10.1155/S1110724304406147
- Gould KS, Hatier J-HB, 2009. Anthocyanin Function in Vegetative Organs. Pages 1-12 in Gould K, Davies K, Winefield Ch, editors. *Anthocyanins. Biosynthesis, Function and Applications*. Springer, USA
- Gull A, Lone AA, Wani NI, 2019. Biotic and Abiotic Stresses in Plants.1-6 in *Abiotic and biotic stress in Plants*. Bosco de Oliveira A, editor. IntechOpen. doi:10.5772/intechopen.85832
- Gupta B, Huang B, 2014. Mechanisms of Salinity Tolerance in Plants: Physiological, Biochemical, and Molecular Characterization. *International Journal of Genomics*. **2014**:701596. doi: 10.1155/2014/701596
- Hao J, Zhu H, Zhang Z, Yang S, Li H, 2015. Identification of anthocyanins in black rice (*Oryza sativa* L.) by UPLC/Q-TOF-MS and their *in vitro* and *in vivo* antioxidant activities. *Journal of Cereal Science*. 64:92-99. doi:10.1016/j.jcs.2015.05.003
- Harakotr B, Suriharn B, Tangwongchai R, Scott MP, Lertrat K, 2014. Anthocyanins and antioxidant activity in coloured waxy corn at different maturation stages. *Journal of Functional Foods*. 9:109-118. doi:10.1016/j.jff.2014.04.012
- Hasanuzzaman M, Hossain MA, daSilva T, Fujita M, 2012. Plant Response and Tolerance to Abiotic Oxidative Stress: Antioxidant Defense Is a Key Factor in Venkateswarlu B, Shanker A, Shanker C, Maheswari M., editors. *Crop Stress and its Management: Perspectives and Strategies*. Springer, Dordrecht. doi:10.1007/978-94-007-2220-0\_8
- Hasoda K, Sahara H, Matsushita Kei, Tamura Y, Miyaji M, Matsuyama H, 2018. Anthocyanin and proanthocyanidin contents, antioxidant activity, and *in situ* degradability of black and red rice grains. *Asian-Austral J Anim Sci*. 31:1213-1220. doi: 10.5713/ajas.17.0655
- He J, Giusti MM, 2010. Anthocyanins: natural colorants with health-promoting properties. *Annu Rev Food Sci Technol*. **1**:163-87. doi:10.1146/annurev.food.080708.100754
- Holton TA, Cornish EC, 1995. Genetics and Biochemistry of Anthocyanins Biosynthesis. *Plant Cell*. **7**:1071-1083. doi:10.1105/tpc.7.7.1071
- Horbowicz M, Kosson R, Grzesiuk A, Dębski H, 2008. Anthocyanins of Fruit and Vegetables – Their Occurrence, Analysis and Role in Human Nutrition. *Vegetable Crops Research Bulletin* **68**:5-22. doi:10.2478/v10032-008-0001-8
- Hosseinian FS, Li W, Beta T, 2008. Measurement of anthocyanins and other phytochemicals in purple wheat. *Food Chemistry*. 109:916-924. doi:10.1016/j.foodchem.2007.12.083
- Hou Z, Qin P, Zhang Y, Ciu S, Ren G, 2013. Identification of anthocyanins isolated from black rice (*Oryza sativa* L.) and their degradation kinetics. *Food Research International*. 50:691-697.
- Hussein RA, El-Anssary AA, 2018. Plants Secondary Metabolites: The Key Drivers of the Pharmacological Actions of Medicinal Plants. 11-30. Builders P, editor. *Herbal Medicine*. IntechOpen. doi:10.5772/intechopen.76139

- Chen MH, McClung AM, Bergman CHJ, 2017. Phenolic content, anthocyanins and antiradical capacity of diverse purple bran rice genotypes as compared to other bran colors. *Journal of Cereal Science*. 77:110-119. doi:10.1016/j.jcs.2017.07.010
- Christie PJ, Alfenito MR, Walbot V, 1994. Impact of low-temperature stress on general phenylpropanoid and anthocyanin pathways: Enhancement of transcript abundance and anthocyanin pigmentation in maize seedlings. *Planta*. **194**:541-549. doi:10.1007/BF00714468
- Chutipaijit S, Cha-Um S, Sampornpailin K, 2011. High contents of proline and anthocyanin increase protective response to salinity in *Oryza sativa* L. spp. indica. *Australian Journal of Crop Science*. 5:1191-1198.H
- Imtiaz M et al., 2018. Physiological and anthocyanin biosynthesis genes response induced by vanadium stress in mustard genotypes with distinct photosynthetic activity. *Environ Toxicol Pharmacol*. 62:20-29. doi:10.1016/j.etap.2018.06.003
- Jaakola L, 2013. New insights into regulation of anthocyanin biosynthesis in fruits. *Trends Plant Sci*. **9**:477-83 doi: 10.1016/j.tplants.2013.06.003.
- Khoo HE, Azlan A, Tang ST, Lim SM, 2017. Anthocyanidins and anthocyanins: colored pigments as food, pharmaceutical ingredients, and the potential health benefits. *Food Nutr Res*. **61**:1351779 doi:10.1080/16546628.2017.1361779.
- Kim J, Lee WJ, Vu TT, Jeong CHY, Hong S-W, Lee H, 2017. High accumulation of anthocyanins via the ectopic expression of AtDFR confers significant salt stress tolerance in *Brassica napus* L. *Plant Cell Rep*. 36:1215-1224. doi: 10.1007/s00299-017-2147-7
- Kim MJ, Hyun JN, Kim JA, Park JCH, Kim MY, Kim JG, Lee SJ, Chun SCH, Chung IM, 2007. Relationship between Phenolic Compounds, Anthocyanins Content and Antioxidant Activity in Colored Barley Germplasm. *J Agric Food Chem*. 55:4802-4809. doi:10.1021/jf0701943
- Kong JM, Chia LS, Gog NK, Chia TF, Brouillard R, 2003. Analysis and biological activities of anthocyanins. *Phytochemistry* **64**:923-33. doi:10.1016/s0031-9422(03)00438-2
- Kovinich N, Kanyaja G, Chancoa A, Riedl K, Otehui MS, Grotewold E, 2014. Not all anthocyanins are born equal: distinct patterns induced by stress in *Arabidopsis*. *Planta*. **240**:931-940. doi:10.1007/s00425-014-2079-1
- Landi M, Mattini M, Gould K, 2015. Multiple functional roles of anthocyanins in plant-environment interactions. *Environmental and Experimental Botany*. Volume **119**:4-17. doi:10.1016/j.envexpbot.2015.05.012
- Lee CH, Han D, Kim B, Baek N, Baik B, 2013. Antioxidant and anti-hypertensive activity of anthocyanin-rich extracts from hulled pigmented barley cultivars. *International Journal of Food Science and Technology*. 48:984-991. doi:10.1111/ijfs.12050
- Li S-J, Bai Y-CH, Li CH-L, Yao H-P, Chen H, Zhao H-X, Wu Q, 2015. Anthocyanins accumulate in tartary buckwheat (*Fagopyrum tataricum*) sprout in response to cold stress. *Acta Physiol Plant*. **37**:159. doi:10.1007/s11738-015-1913-9
- Liang W, Ma X, Wan P, Liu L, 2018. Plant salt-tolerance mechanism: A review. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. **495**:286-291. doi:10.1016/j.bbrc.2017.11.043

- Lichtenthaler HK, 1998. The Stress concept in plants: an introduction. *Ann NY Acad. Sci.* **30**:187-98
- Liu Q, Qiu Y, Beta T, 2010. Comparasion on Antioxidant Activities of Different Colored Wheat Grains and Analysis of Phenolic Compounds. *J Agric Food Chem.* **58**:9235-9241. doi:10.1021/jf101700s
- Lo Piero AR, Puglisi I, Rapisarda P, Petrone G, 2005. Anthocyanins Accumulation and Related Genes Expression in Red Orange Fruit Induced by Low Temperature Storage. *J Agric Food Chem.* **53**:9083-8. doi: 10.1021/jf051609s
- Lopez-Martinez L, Oliart-Ros RM, Valerio-Alfaro G, Lee CH-H, Parkin KL, Garcia HS, 2009. Antioxidant activity, phenolic compounds and anthocyanins content of eighteen strains of Mexican maize. *LWT Food Science and Technology.* **42**:1187-1192. doi:10.1016/j.lwt.2008.10.010
- Mahajan S, Tuteja N, 2005. Cold, salinity and drought stresses: an overview. *Arch Biochem Biophys.* **15**:444(2):139-58. doi: 10.1016/j.abb.2005.10.018
- Mannino G, Gentile C, Ertani A, Serio G, Berteza CM, 2021. Anthocyanins: Biosynthesis, Distribution, Ecological Role, And Use of Biostimulants to Increase Their Conten in Plant Foods - A review. *Agriculture.* **11**:212. doi:10.3390/agriculture11030212
- Mattioli R, Francioso A, Mosca L, Silva P, 2020. Anthocyanins: A Comprehensive Review of Their Chemical Properties and Health Effects on Cardiovascular and Neurodegenerative Diseases. *Molecules.* **25**:3809. doi:10.3390/molecules25173809
- Mazza G, Brouillard R, 1990. The mechanism of co-pigmentation of anthocyanins in aqueous solutions. *Phytochemistry. Volume* **29**:1097-1102 doi:10.1016/0031-9422(90)85411-8
- Mazza G, Miniati E, 1993. *Anthocyanins in Fruits, Vegetables and Grains.* CRC Press, Taylor & Francis Froup, Boca Raton
- Mbarki S, Sytar O, Zivcak M, Abdelly CH, Cerda A, Brestic M, 2018. Anthocyanins of Coloured Wheat Genotypes in Specific Response to SalStress. *Molecules.* **23**:1581. doi.org/10.3390/molecules23071518
- Mehrotra S, Verma S, Kumar S, Kumari S, Mishra BN, 2020. Transcriptional regulation and signalling of cold stress response in plants: An overview of current understanding. *Enviromental and Experimental Botany.* **180**. doi:10.1016/j.envexpbot.2020.104243
- Meng X, Yin B, Feng H-L, Zhang S, Liang X-Q, Meng Q-W, 2014. Overexpression of R2R3-MYB gene leads to accumulation of anthocyanin and enhanced resistance to chilling and oxidative stress. *Biologia Plantarum.* **58**:121-130.
- Mittler R, 2006. Abiotic stress, the field enviroment and stress combination. *Trends Plant Sci.* **11**:15-9. doi.10.1016/j.tplants2005.11.002
- Mittler R, 2017. ROS Are Good. *Trends Plant. Sci.* **22**:11-19 doi:10.1016/j.tplants.2016.08.002
- Moreno YS, Sánchez GS, Hernández DR, Lobato NR, 2005. Characterization of Anthocyanin Extracts from Maize Kernels. *Journal of Chromatographic Science.* **43**:483-7. doi:10.1093/chromsci/43.9.483
- Nagajyoti PC, Lee KD, Sreeknath TVM, 2010. Heavy metals, occurrence and toxicity for plants: a review. *Environ Chem Lett.* **8**:199-216 doi:10.1007/s10311-010-0297-8
- Naing AH, Kim CK, 2021. Abiotic stress-induced anthocyanins in plants: Their role in rolerance to abiotic stresses. *Physiologia Plantarum.* Early view. doi:10.1111/ppl.13373

- Naing AH, Park KI, Ai TN, Chung MY, Han JS, Kang YW, Lim KB, Kim CHK, 2017. Overexpression of snapdragon *Delila* (*Del*) gene in tobacco enhances anthocyanin accumulation and abiotic stress tolerance. *BMC Plant Biology*. 17:65. doi:10.1186/s12870-017-1015-5
- Nakabayashi R, Mori T, Saito K, 2014. Alternation of flavonoid accumulation under drought stress in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Signal Behav*. 9:e29518. doi:10.4161/psb.29518
- Oh JE, Kim YH, Kim JH, Kwon YR, Lee H, 2011. Enhanced level of anthocyanin leads to increased salt tolerance in *Arabidopsis PAPI-D* plants upon sucrose treatment. *Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry*. 54:79-88. doi.org/10.3839/jksabc.2011.011
- Pagare S, Bhatia M, Tripathi N, Bansal YK, 2015. Secondary metabolites of plants and their role: Overview. *Current Trends in Biotechnology and Pharmacy*. 9:293-304.
- Parihar P, Singh S, Singh R, Singh V, Prasad SM, 2015. Effect of salinity stress on plants and its tolerance strategies: a review. *Environ Sci Pollut Res*. 22:4056-4075 doi: 10.1007/s11356-014-3739-1
- Park W, HAN K-H, AHN S-J, 2012. Differences in root-to-shoot Cd and Zn translocation and by HMA3 and 4 could influence chlorophyll and anthocyanin content in *Arabidopsis* Ws and Col-0 ecotypes under excess metals. *Soil Science and Plant Nutrition*. 58:-334-348. doi: 10.1080/00380768.2012.684643
- Petroni K, Tonelli CH, 2011. Recent advances on the regulation of anthocyanin synthesis in reproductive organs. *Plant Sci*. 181:219-29. doi:10.1016/j.plantsci.2011.05.009
- Piterková J, Tománková K, Luhová L, Petřivalský M, Peč P, 2005. Oxidativní stres: lokalizace tvorby aktivních forem kyslíku a jejich degradace v rostlinném organismu. *Chem. Listy*. 99:455-466
- Pleonlap P, Pattanagul W, 2015. Effect of exogenous abscisic acid on foliar anthocyanin accumulation and drought tolerance in purple rice. *Biologia*. 70:915-921. doi:10.1515/biolog-2015-0107
- Pojer E, Mattivi F, Johnson D, Stockley CS, 2013. The Case for Anthocyanins Consumption to Promote Human Health: A Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. Volume 26: 483-508 doi:10.1111/1541-4337.12024
- Procházka S, Macháčková I, Krekule J, Šebánek J, a kol, 1998. *Fyziologie rostlin*. Academia, Praha
- Rejeb IB, Pastor V, Mauch-Mani B, 2014. Plant Responses to Simultaneous Biotic and Abiotic Stress: Molecular Mechanisms. *Plants (Basel)*. 15;3(4):458-74. doi: 10.3390/plants3040458
- Ryu SN, Park SZ, Ho CH-T, 1998. High Performance Liquid Chromatographic Determination of Anthocyanin Pigments in Some Varieties of Black Rice. *Journal of Food and Drug Analysis*. 6:729-736. doi:10.38212/2224-6614.2893
- Salehi-Lisar S, Bakshayeshan-Agdam H, 2016. Drought Stress in Plants: Causes, Consequences, and Tolerance. Pages 1-16 in Hissain MA, Wani SH, Bhattacharjee S, Burritt D, Tran PL-S editors. *Drought Stress Tolerance in Plants*, Volume 1. Springer International Publishing, Switzerland

- Sampaio S et al., 2021. Anthocyanin-rich extracts from purple and red potatoes as natural colourants: Bioactive properties, application in a soft drink formulation and sensory analysis. *Food Chem.* 342:128526. doi:10.1016/j.foodchem.2020.128526
- Shao Y, Xu F, Sun X, Bao J, Beta T, 2014. Phenolic acids, anthocyanins, and antioxidant capacity in rice (*Oryza sativa* L.) grains at four stages of development after flowering. *Food Chem.* 143:90-6. doi:10.1016/j.foodchem.2013.07.042
- Schulz E, Tohge T, Zuther E, Fernie AR, Hinch DK, 2016. Flavonoids are determinants of freezing and cold acclimation in *Arabidopsis thaliana*. *Scientific Reports.* 6:34027. doi:10.1038/srep34027
- Steyn WJ, Wand SJE, Holcroft DM, Jacobs G, 2002. Anthocyanins in vegetative tissues: a proposed unified function in photoprotection. *New Phytologist.* Volume **155**:349-361. doi:10.1046/j.1469-8137.2002.00482.x
- Sutharut J, Sudarat J, 2012. Total anthocyanin content and antioxidant activity of germinated colored rice. *International Food Research Journal.* 19:215-221.
- Suzuki N, Rivero RM, Shulaev V, Blumwald E, Mittler R. 2014. Abiotic and biotic stress combinations. *The New Phytologist* **203**:32-43 doi:10.1111/nph.12797
- Taiz L, Zeiger E, 2002. *Plant Physiology*, 3rd edition. Sinauer Associates, Inc. Publishers, Sunderland, MA, USA.
- Tena N, Martín J, Asuero AG, 2020. State of the Art of Anthocyanins: Antioxidant Acitivity, Sources, Bioavailability, and Therapeutic Effect in Human Health. *Antioxidants (Basel)* **9**:451. doi:10.3390/antiox9050451
- Tuteja N, 2007. Abscisic Acid and Abiotic Stress Signaling. *Plant Signaling & Behavior.* **2**:3,135-138. doi:10.4141/psb.2.3.4156
- Varga M, Bánhid J, Cseuz L, Matuz J, 2013. The Anthocyanin Content of Blue and Purple Coloured Wheat Cultivars and Their Hybrid Generations. *Cereal Research Communications.* 41:284-292. doi:10.1556/CRC.41.2013.2.10
- Velíšek J, Hajšlová J, 2009. *Chemie potravin.* OSSIS, Tábor
- Wang H, Fan W, Li H, Yang J, Huang J, Zhang P, 2013. Functional characterization of Dihydroflavonol-4-reductase in anthocyanin biosynthesis of purple sweet potato underlies the direct evidence of anthocyanins function against abiotic stresses. *PLoS One.* 8:e78484 doi:10.1371/journal.pone.0078484
- Welch CR, Wu A, Simon JE, 2008. Recent Advances in Anthocyanins Analysis and Characterization. *Curr Anal Chem.* **4**:75-101. doi:10.2174/157341108784587795
- Wiszniewska A, Muszyńska E, Kołton A, Kamińska I, Hanus-Fajerska E, 2019. In vitro acclimation to prolonged metallic stress associated with modulation of antioxidant responses in a woody shrub *Daphne jasminea*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture.* 139:339-357. doi:10.1007/s11240-019-01688-2
- Wu X, Beecher GR, Holden JM, Haytowitz DB, Gebhardt SE, Prior RL, 2006. Concentrations of anthocyanins in common foods in the United States and estimation of normal consumption. *J Agric Food Chem.* **54**:4069-75. doi: 10.1021/jf0603001.
- Xiong Y, Zhang P, Warner RD, Shen S, 2020. Cereal grain-based functional beverages: from cereal grain bioactive phytochemicals to beverage processing technologies, health benefits and product features. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition.* doi:10.1080/10408398.2020.1853037



- Xu Z, Mahmood K, Rothstein SJ, 2017. ROS Induces Anthocyanin Production Via Late Biosynthetic Genes and Anthocyanin Deficiency Confers the Hypersensitivity to ROS-Generating Stresses in Arabidopsis. *Plant Cell Physiol.* **58**:1364-1377. doi:10.1093/pcp/pcx073.
- Yadav SK, 2010. Cold stress tolerance mechanisms in plants. A review. *Agronomy for Sustainable Development.* **30**:515-527 doi:10.1051/agro/2009050
- Zamora-Ros R et al., 2011. Estimation of the intake of anthocyanidins and their food sources in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC) study. *Br J Nutr.* **106**:1090-9. doi:10.1017/S0007114511001437
- Zhang B, Hu Z, Zhang Y, Li Y, Zhou S, Chen G, 2012. A putative functional MYB transcription factor induced by low temperature regulates anthocyanin biosynthesis in purple kale (*Brassica Oleracea* var. *acephala* f. *tricolor*). *Plant Cell Rep.* **31**:281-9. doi:10.1007/s00299-011-1162-3
- Zhang Q, Zhai J, Shao L, Lin W, Peng CH, 2019. Accumulation of Anthocyanins: An Adaptation Strategy of *Mikania micrantha* to low Temperature in Winter. *Plant Sci.* **10**:1049. doi: 10.3389/fpls.2019.01049
- Zhang Y, Lin Y, Huang L, Tekliye M, Rasheed HA, Dong M, 2020. Composition, antioxidant, and anti-biofilm activity of anthocyanin-rich aqueous from purple highland barley bran. *LWT – Food Science and Technology.* **125**:109181. doi:10.1016/j.lwt.2020.109181
- Zhu F, 2018. Anthocyanins in cereals: Composition and health effects. *Food Res Int.* **109**:232-249. doi: 10.1016/j.foodres.2018.04.015
- Zhu JK, 2016. Abiotic Stress Signaling and Responses in Plants. *Cell.* **167**(2):313-324. doi: 10.1016/j.cell.2016.08.029.

## 6 Seznam obrázků

Obrázek 1 - Obecný princip reakce rostliny na stres (Zdroj: Lichtenthaler 1998).....	11
Obrázek 2 – Příklady interakcí jednotlivých stresorů (Zdroj: Suzuku et al. 2014).....	19
Obrázek 3 - Flavyliový kationt (Zdroj: Velíšek & Hajšlová 2009).....	20
Obrázek 4 - 6 Nejběžnějších anthokyanidinů (Zroj: Velíšek & Hajšlová 2009).....	21
Obrázek 5 - Obecný vzorec anthokyanu.....	21
Obrázek 6 - Kyanidin-6-glukosid (Zdroj: Velíšek & Hajšlová).....	22
Obrázek 7 - Tranformace anthokyanů v závislosti na pH (Zdroj: Velíšek a Hajšlová 2009) ..	23
Obrázek 8 - Prekurzory získané z fenyylpropanoidové dráhy (Zdroj: Delgado-Vargas et al. 2000).....	25
Obrázek 9 - Samotná syntéza anthokyanů (Zdroj: Delgado-Vargas et al. 2000).....	26

