



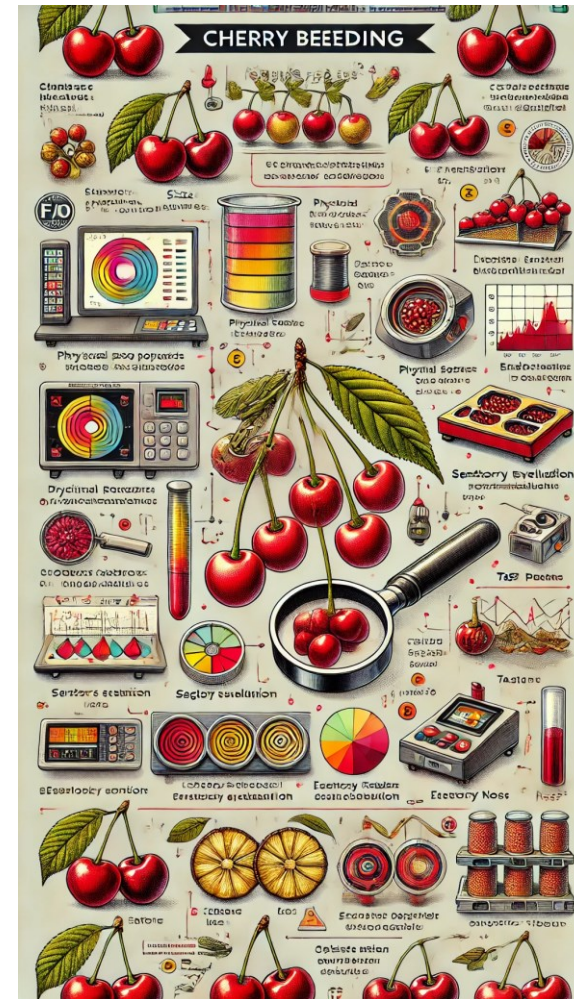
**VÝZKUMNÝ A ŠLECHTITELSKÝ ÚSTAV
OVOCNÁŘSKÝ HOLOVOUSY s.r.o.**



Šlechtění ovocných plodin na
odolnost ke škodám mrazem a
přísuškem

Šlechtění pro lepší budoucnost

- Co je šlechtění?



Co je stres u rostlin?

- **Definice stresu:** Abiotické stresory jako sucho a mráz negativně ovlivňují fyziologické procesy rostlin.
- **Hlavní následky:** Snížení fotosyntézy, zpomalení růstu, poškození pletiv.
- **Důležitost ovocných plodin:** Jádroviny a peckoviny jsou zásadní pro zemědělství v Evropě a potřebují odolné odrůdy.





Proč je stres významný?

- **Klimatické změny:** Delší suchá období, časté jarní mrazy.
 - **Sucho:** Delší bezesrážková období ovlivňující výnosy.
 - **Pozdní jarní mrazy:** Poškození generativních orgánů.
- **Další změny:** Rychlejší nástup vegetačních fází, zvýšená extremita srážek.
- **Ekonomické dopady:** Ztráty výnosů způsobené abiotickými stresory.
- **Šlechtění:** Cílem je vytvoření odrůd přizpůsobených měnícím se podmínkám.

	období pro meteoreologická data	srážky	teplota průměrná	teplota max
2019	24/6-15/7	17.36	20,5	36,9
2020	25/6-17/7	141.67	17,7	31,8
2021	3/7-13/7	93.93	19,5	29,6



Význam adaptace ovocných plodin

- **Ovocné plodiny:** Klíčové pro ekonomiku i zdraví obyvatel.
- **Predikce:** Nárůst četnosti extrémních klimatických událostí.
- **Příležitosti:** Zavádění odrůd odolných vůči suchu a mrazu.



Vliv vodního deficitu na rostliny

- **Fotosyntéza:** Snížená rychlost a nevyrovnaná bilance energie.
- **Vodní bilance:** Snížení stomatální vodivosti a transpirace.
- **Poškození:** Oxidační stres způsobený ROS.



Biochemická a anatomická adaptace

- **Osmolytika:** Akumulace prolinu, cukrů a polyalkoholů.
- **Anatomické změny:** Zvýšení hustoty cévních svazků, změna velikosti listů.
- **Role antioxidantních systémů:** Detoxikace ROS enzymy, jako je superoxiddismutáza.



Mechanismy adaptace na nízké teploty

- **Chladová aklimatizace:** Hromadění sacharidů a tuků na podzim.
- **Buněčné změny:** Zahuštění obsahu buněk, syntéza proteinů pro stabilizaci membrán.
- **Kutikula:** Zesílení ochranné vrstvy listů.



Poškození způsobené mrazem

- **Strukturální změny:** Zmenšení buněk a jejich dehydratace.
- **Biochemické procesy:** Snížená enzymatická aktivita a oxidativní poškození.
- **Adaptace:** Krátkodobé zvýšení tolerance prostřednictvím syntézy alkoholových cukrů.





ROS jako ukazatel stresu

- **Role ROS:** Produkty oxidace během stresu.
- **Antioxidační systémy:** Ochrana pomocí enzymů (superoxiddismutáza, kataláza) a neenzymových antioxidantů (glutathion, flavonoidy).
- **Měření stresu:** Spektrofotometrie ROS jako nástroj pro detekci intenzity stresu.



Osmolytika a jejich význam

- **Prolin:** Zvýšená akumulace jako reakce na vodní deficit.
- **Další osmolytika:** Glukóza, sacharóza, cukerné alkoholy.
- **Marker odolnosti:** Změny v koncentraci osmolytik jako indikátor tolerance.



Cíl a význam hodnocení odolnosti ovocných plodin

- Identifikace genotypů tolerantních vůči stresům sucha a mrazu.
- Využití poznatků pro cílené šlechtění odolných odrůd.
- Zajištění stabilní produkce v podmínkách klimatických změn.





Použité metody hodnocení fyziologie a biochemie

- Kontrola vs. stresová varianta (50 % zálahy, mrazové testy).
- Dlouhodobé sledování regenerace po stresu.





Analyzované chemické látky a parametry

- **Reaktivní formy kyslíku (ROS):**
 - Peroxid vodíku (H_2O_2).
 - Superoxidový radikál (O_2^-).
- **Osmoticky aktivní látky:**
 - **Aminokyseliny:** Prolin.
 - **Jednoduché cukry:** Glukóza, fruktóza, sacharóza.
 - **Cukerné alkoholy:** Sorbitol, glycerol.
- **Antioxidační a sekundární metabolity:**
 - Polyfenoly.
 - Flavonoidy.
 - Celková antioxidační aktivita
- **Fotosyntetické parametry:**
 - Obsah chlorofylu (a, b) a karotenoidů.
 - Rychlost fotosyntézy.
 - Transpirace a stomatální vodivost.
- **Hormonální regulace:**
 - Kyselina abscisová (ABA), měřená pomocí HPLC-MS.
- **Membránové markery poškození:**
 - Malondialdehyd (MDA), jako ukazatel lipidové peroxidace.
- **Voda a obsah sušiny:**
 - Vodní potenciál rostliny.
 - Obsah vody a sušiny ve vzorcích.

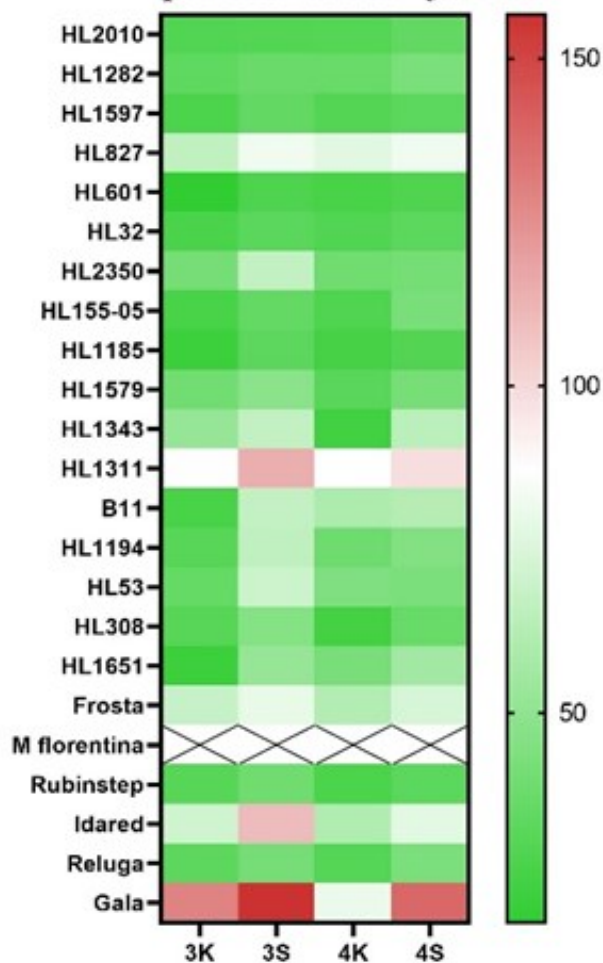


Reaktivní formy kyslíku

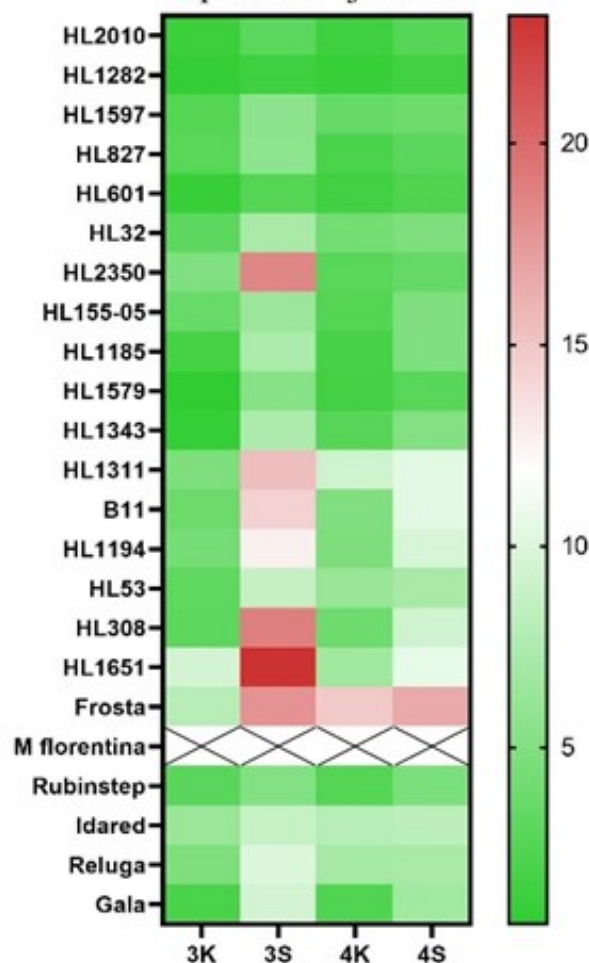
(ROS) a osmoticky aktivní látky u jabloní

- **Reaktivní formy kyslíku (ROS):**
 - **Nejvyšší hodnoty peroxidu vodíku (H_2O_2):** HL827 (82,3 $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2/\text{g}$ č. hm.).
 - **Nejnižší hodnoty H_2O_2 :** HL1282 (34,9 $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2/\text{g}$ č. hm.).
 - **Superoxidový radikál (O_2^-)** vykazoval podobný trend.
 - **ROS** jsou spolehlivými indikátory oxidačního stresu.
- **Osmoticky aktivní látky:**
 - **Prolin:** Nejvyšší akumulace u HL1282 (2,6 mg/g č. hm.) a HL2010 (2,4 mg/g).
 - **Cukry:** Výrazně vyšší koncentrace glukózy, fruktózy a sacharózy u HL1282 (až 40 mg/g č. hm.).

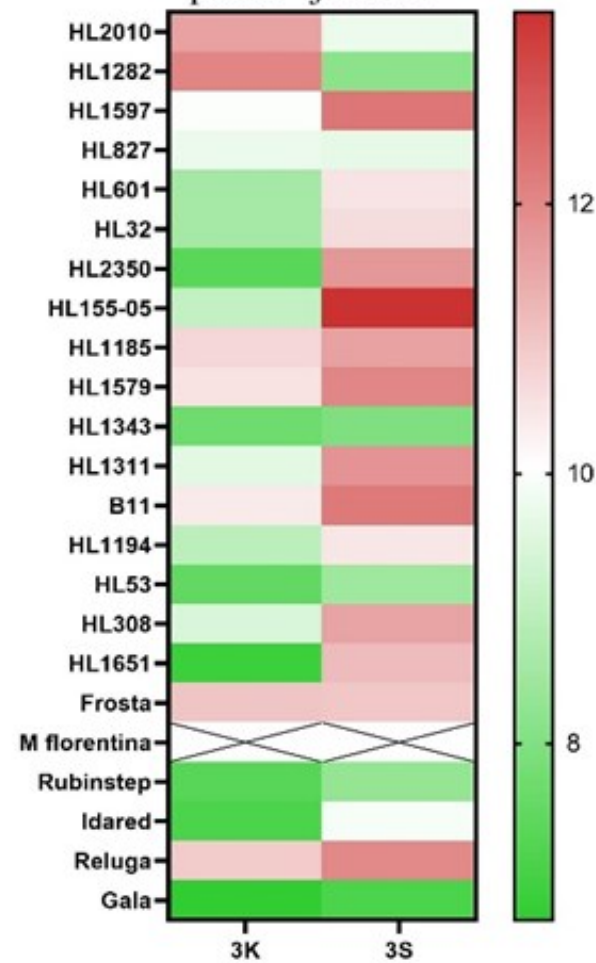
peroxid vodíku - jabloně



superoxid - jabloně



prolin - jabloně





Antioxidační aktivita a poškození membrán (MDA)

- **Antioxidační aktivita:**
 - Nejvyšší hodnoty u HL1282 (131,8 μ M Troloxu/100 g).
 - Antioxidanty neutralizují ROS a chrání buněčné struktury.
 - Význam polyfenolů jako přirozených antioxidantů.
- **Poškození membrán (MDA):**
 - HL1282 vykazoval nejnižší hodnoty MDA (1,8 μ mol/g č. hm.).
 - Nižší lipidová peroxidace naznačuje menší oxidační poškození membrán.
- **Fotosyntéza a chlorofyl:**
 - HL1282 si udržel vyšší obsah chlorofylu (21,7 mg/g č. hm.), což umožnilo zachovat fotosyntetickou aktivitu během stresu.
 - HL827 vykázal pokles fotosyntézy o 45 %, zatímco HL1282 pouze o 15 %.



Genotypové rozdíly u jabloní v reakci na závlahové režimy

- Variabilita v reakci na sníženou závlahu: HL53 a HL1282 nejodolnější.
- Genotyp HL827 byl citlivější na suché podmínky, vykazoval vyšší hodnoty ROS i nižší fotosyntetickou aktivitu.
- Po rehydrataci se hodnoty ROS u odolnějších genotypů vrátili na úroveň kontrolní skupiny.



Reaktivní formy kyslíku

(ROS) a osmoticky aktivní látky u třešní

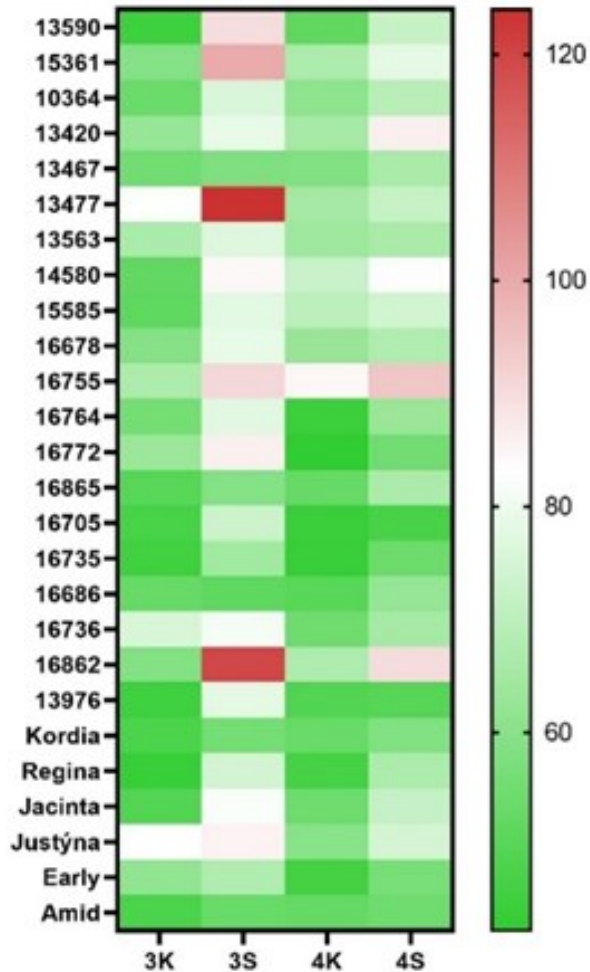
- **Reaktivní formy kyslíku (ROS):**

- Nejvyšší hladiny **peroxidu vodíku (H₂O₂)** byly zaznamenány u genotypů 16736 (123,9 μmol H₂O₂/g) a 16755 během sucha.
- Po **rehydrataci** došlo k poklesu **ROS** u většiny genotypů, avšak 16736 a 16862 si udržely zvýšené hodnoty, což naznačuje intenzivní metabolickou aktivitu.

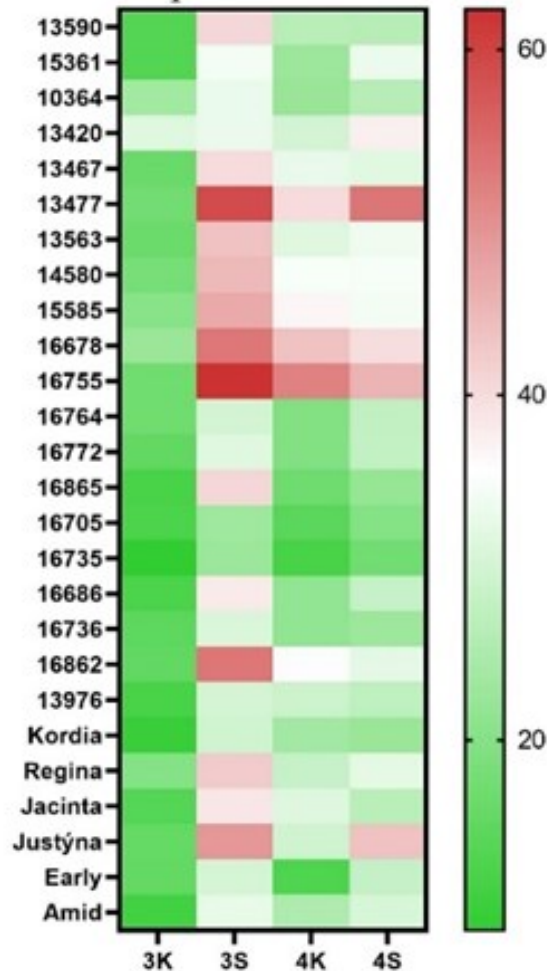
- **Osmoticky aktivní látky:**

- Nejvyšší akumulace **prolinu** byla u genotypu 16862 (3,1 mg/g č. hm.).
- Zvýšené hladiny **cukrů** u 16862 pomáhaly stabilizovat **osmotickou rovnováhu** a chránily buňky před **dehydratací**.

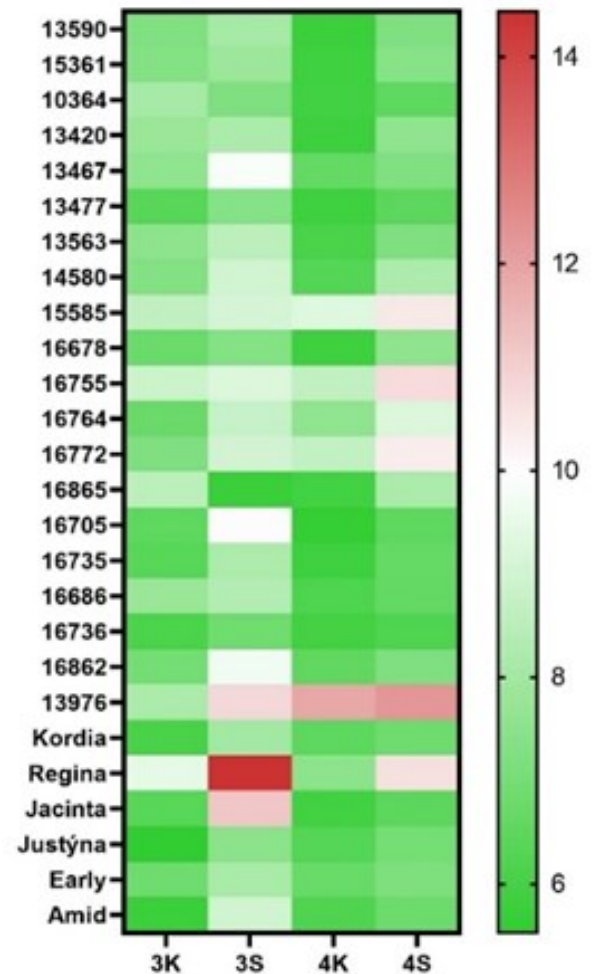
peroxid vodíku - třešně



superoxid - třešně



prolin - třešně





Antioxidační aktivita, fotosyntéza a poškození membrán (MDA)

- **Antioxidační aktivita:**
 - Nejvyšší hodnoty **polyfenolů** u genotypu 16862 (102,2 mg GAE/100 g), což přispělo k neutralizaci ROS.
 - **Flavonoidy** také významně podporovaly ochranu před **oxidačním stresem**.
- **Fotosyntéza:**
 - Genotypy 16736 a 16862 si udržely vyšší **obsah chlorofylu** a efektivní **transpiraci** během sucha.
 - Citlivější genotypy, jako Kordia, zaznamenaly výrazný pokles fotosyntézy.
- **Lipidová peroxidace (MDA):**
 - Genotyp Kordia měl nejvyšší hodnoty **MDA**, což ukazuje na výrazné poškození membrán během stresu.
- **Hormonální regulace:**
 - Zvýšené hladiny **kyseliny abscisové (ABA)** aktivovaly ochranné mechanismy, například uzavírání průduchů.



Třešně - adaptace na sucho pomocí osmotických látek (prolin a cukry)

- Akumulace prolinu byla výrazná u genotypu 16862, což potvrzuje jeho adaptivní schopnosti.
- Rozpustné cukry hrály významnou roli v osmotické ochraně, zejména u genotypů 16736 a 16862.
- Genotypy s nižší akumulací osmotických látek měly výraznější poškození pletiv.

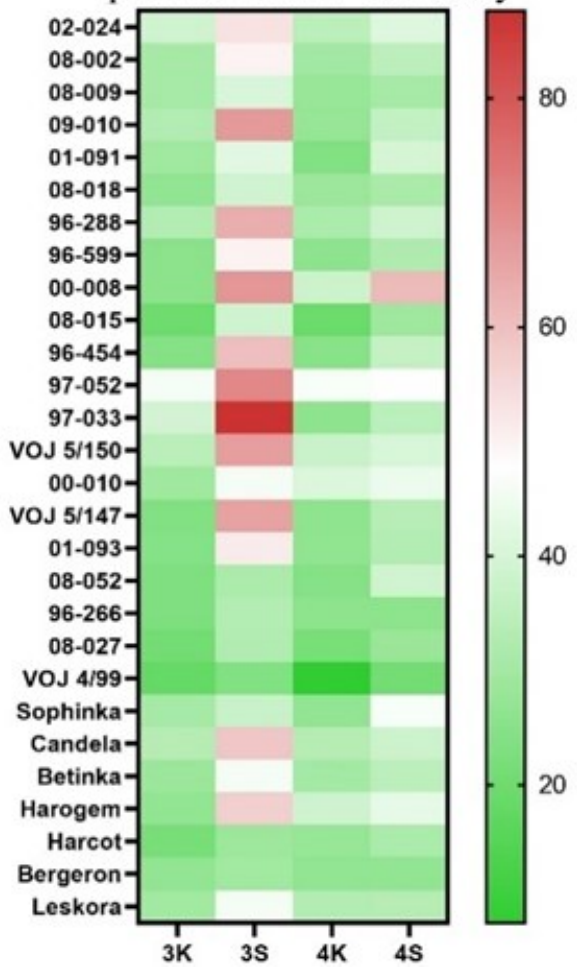


Reaktivní formy kyslíku

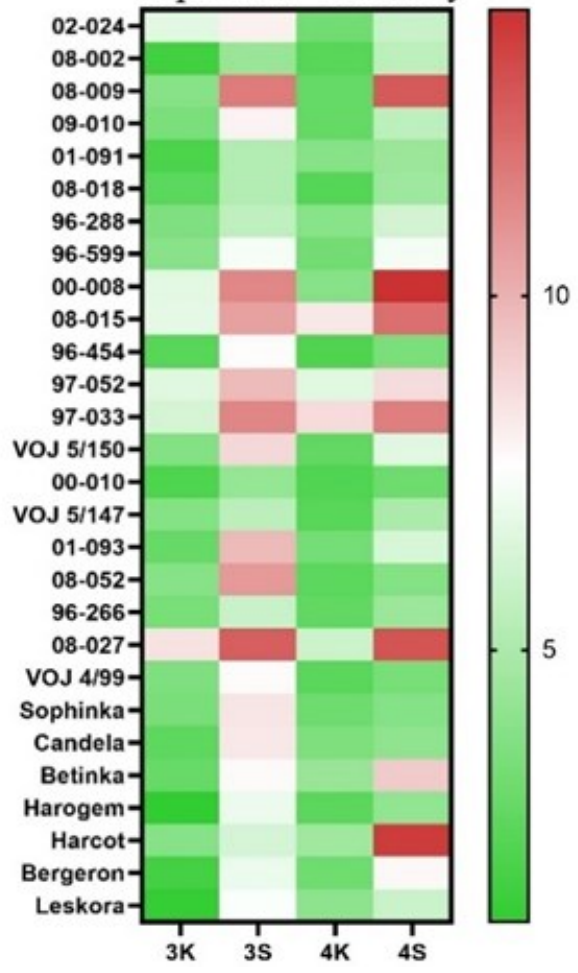
(ROS) a osmoticky aktivní látky u meruněk

- **Reaktivní formy kyslíku (ROS):**
 - Nejvyšší hladiny **peroxidu vodíku (H_2O_2)** u genotypů 09-010 (67,3 $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2/\text{g}$) a VOJ 5/150 během sucha.
 - **Superoxidový radikál (O_2^-)** byl výrazně zvýšen u genotypů 08-009 a 96-288.
 - Citlivé genotypy, jako Leskora, vykazovaly extrémně vysoké hodnoty **ROS**, což vedlo k výraznému poškození pletiv.
- **Osmoticky aktivní látky:**
 - Akumulace **prolinu** a **cukrů** pomohla genotypům 09-010 a VOJ 5/150 udržet **turgor buněk** během sucha.

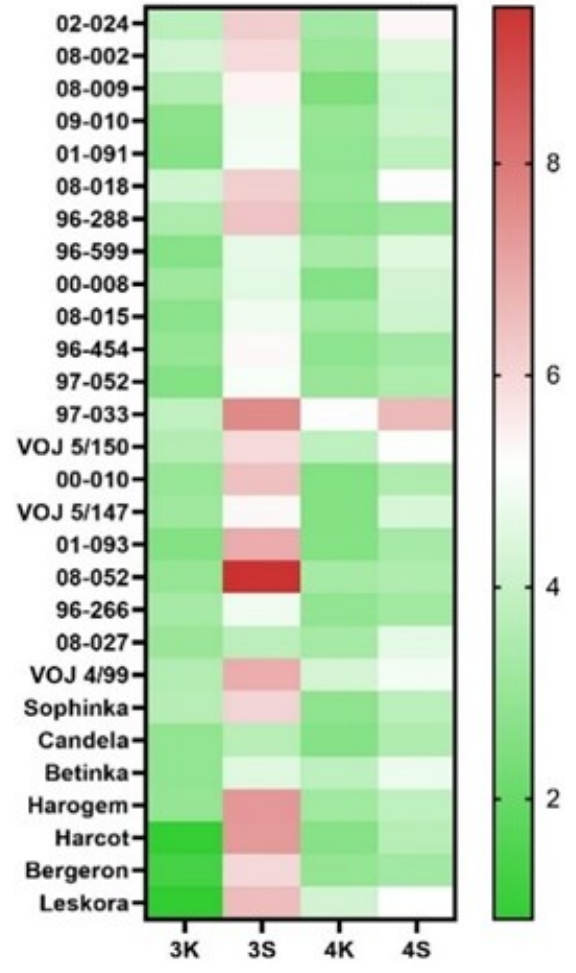
peroxid vodíku - meruňky



superoxid - meruňky



prolin - meruňky





Antioxidační aktivita, fotosyntéza a poškození membrán (MDA) u meruněk

- **Antioxidační aktivita:**
 - Nejvyšší obsah **polyfenolů** u genotypu 09-010 (107,1 mg GAE/100 g).
 - **Celková antioxidační aktivita** byla výrazně zvýšená u odolných genotypů, což přispělo k neutralizaci **ROS**.
- **Fotosyntéza:**
 - Genotypy 09-010 a VOJ 5/150 si udržely vyšší **obsah chlorofylu** a efektivní **transpiraci** během stresu.
- **Poškození membrán (MDA):**
 - Citlivé genotypy, jako Leskora, měly vysoké hodnoty **MDA**, což ukazuje na rozsáhlé poškození membrán během stresu.
- **Hormonální regulace:**
 - Zvýšené hladiny **kyseliny abscisové (ABA)** aktivovaly ochranné mechanismy u odolnějších genotypů.



Biochemické změny u meruněk: akumulace polyfenolů a antioxidantů

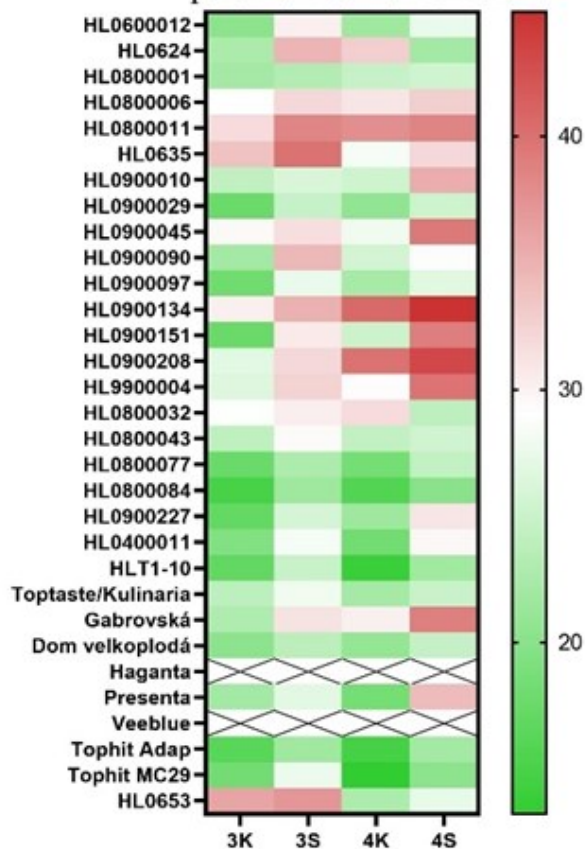
- Nejvyšší obsah polyfenolů byl zaznamenán u genotypů 09-010 (107,1 mg GAE/100 g) a 97-052 (102,4 mg GAE/100 g).
- Celková antioxidační aktivita byla nejvyšší u 09-010 (202,7 μ M Troloxu/100 g).
- Polyfenoly a antioxidanty hrály klíčovou roli při snižování oxidačního poškození během stresu.



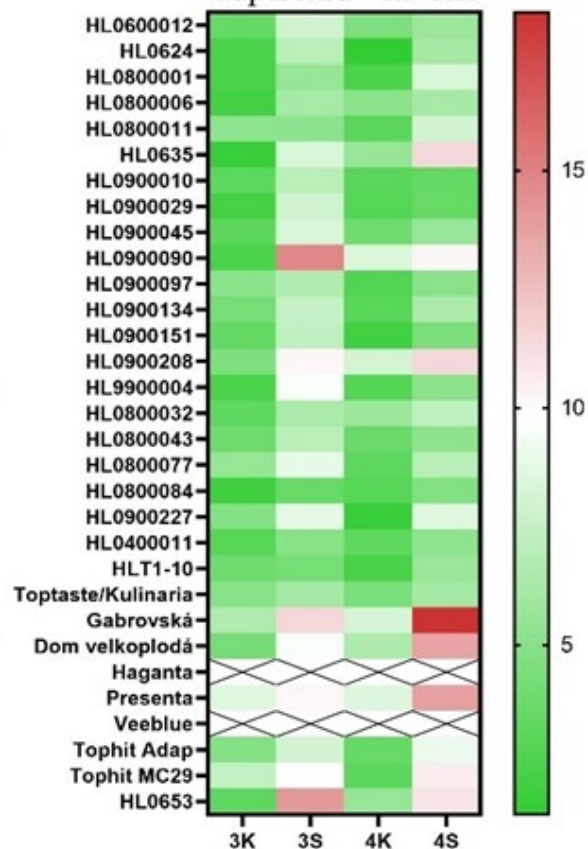
Nízké hladiny ROS a osmoticky aktivní látky u slivoní

- **Reaktivní formy kyslíku (ROS):**
 - Hladiny **peroxidu vodíku (H₂O₂)** a **superoxidového radikálu (O₂⁻)** byly u většiny genotypů nižší než u jiných ovocných druhů.
 - Nejnižší hodnoty **ROS** byly zaznamenány u genotypů HL0900097 a HLT1-10 i během stresu sucha.
- **Osmoticky aktivní látky:**
 - **Sorbitol** a **prolin** hrály významnou roli v odolnosti vůči suchu.
 - Zvýšené hladiny **prolinu** u odolných genotypů podporovaly udržení **turgoru buněk**.

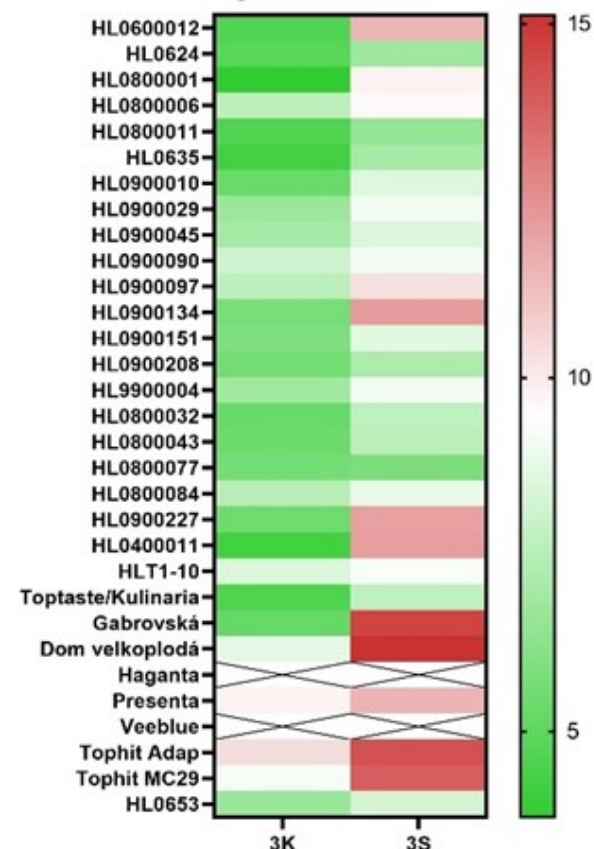
peroxid vodíku - slivoně



superoxid - slivoně



prolin - slivoně





Antioxidační aktivita, fotosyntéza a regenerace slivoní po suchu

- **Antioxidační aktivita:**
 - Nejvyšší obsah **polyfenolů** byl zaznamenán u genotypu HLT1-10 (152,6 mg GAE/100 g).
 - **Flavonoidy** přispívaly k neutralizaci **ROS** a ochraně buněčných membrán.
- **Fotosyntéza:**
 - Odolné genotypy si udržely vyšší **obsah chlorofylu** během stresu.
- **Rehydratace:**
 - Regenerace po suchu byla pomalejší, pravděpodobně kvůli nižší aktivitě **antioxidačních systémů** u většiny genotypů.
- **Poškození membrán (MDA):**
 - Nižší hodnoty **lipidové peroxidace** u odolných genotypů naznačují menší poškození membrán.
- **Hormonální regulace (ABA):**
 - Zvýšené hladiny **kyseliny abscisové** aktivovaly ochranné mechanismy, zejména u genotypů s rychlou **regenerací**.



Porovnání mezi druhy - celková odolnost na základě ROS a osmotik

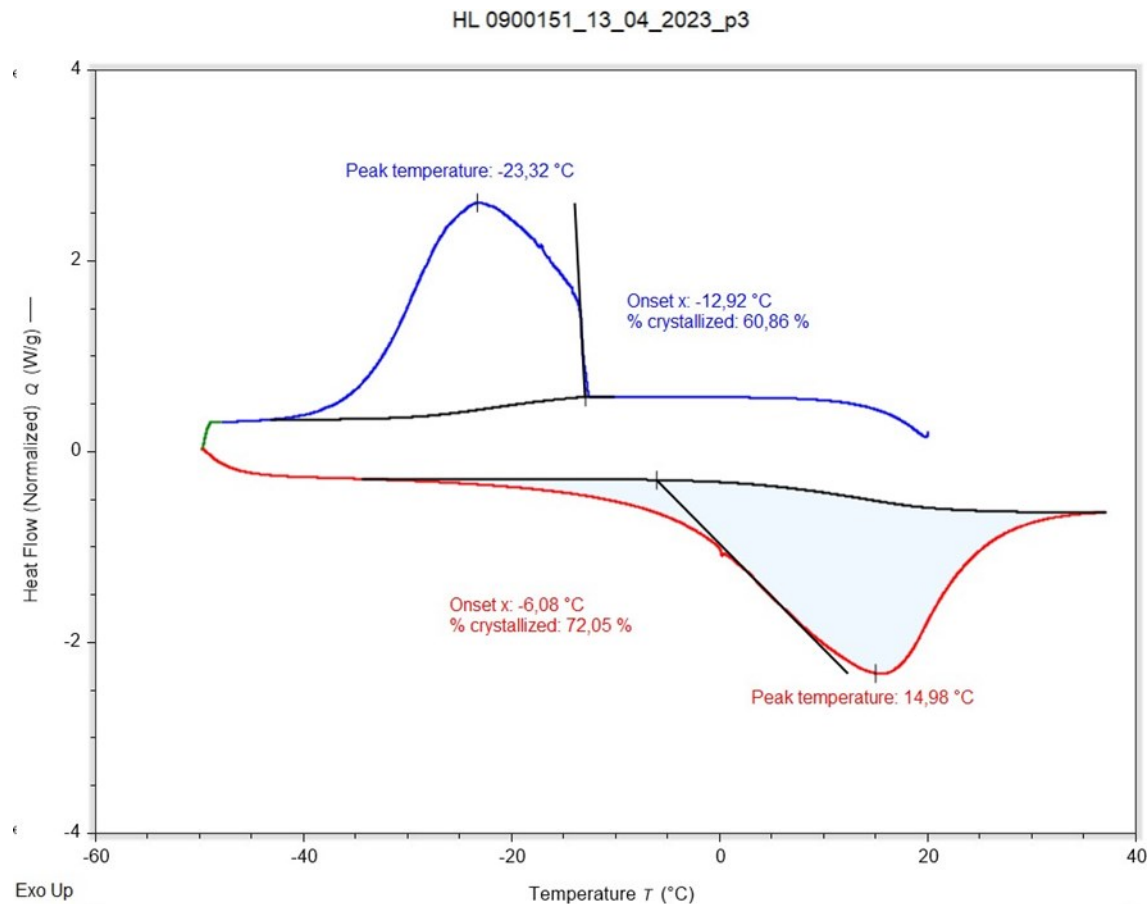
- Třešně vykazovaly nejvyšší hladiny ROS, což naznačuje intenzivní obrannou reakci.
- Jabloně měly nejnižší hodnoty ROS díky silnější anatomické ochraně (tlustší listy, trichomy).
- Osmolytika: Nejvyšší akumulace prolinu byla u meruněk a třešní, což podporuje jejich adaptaci na sucho.



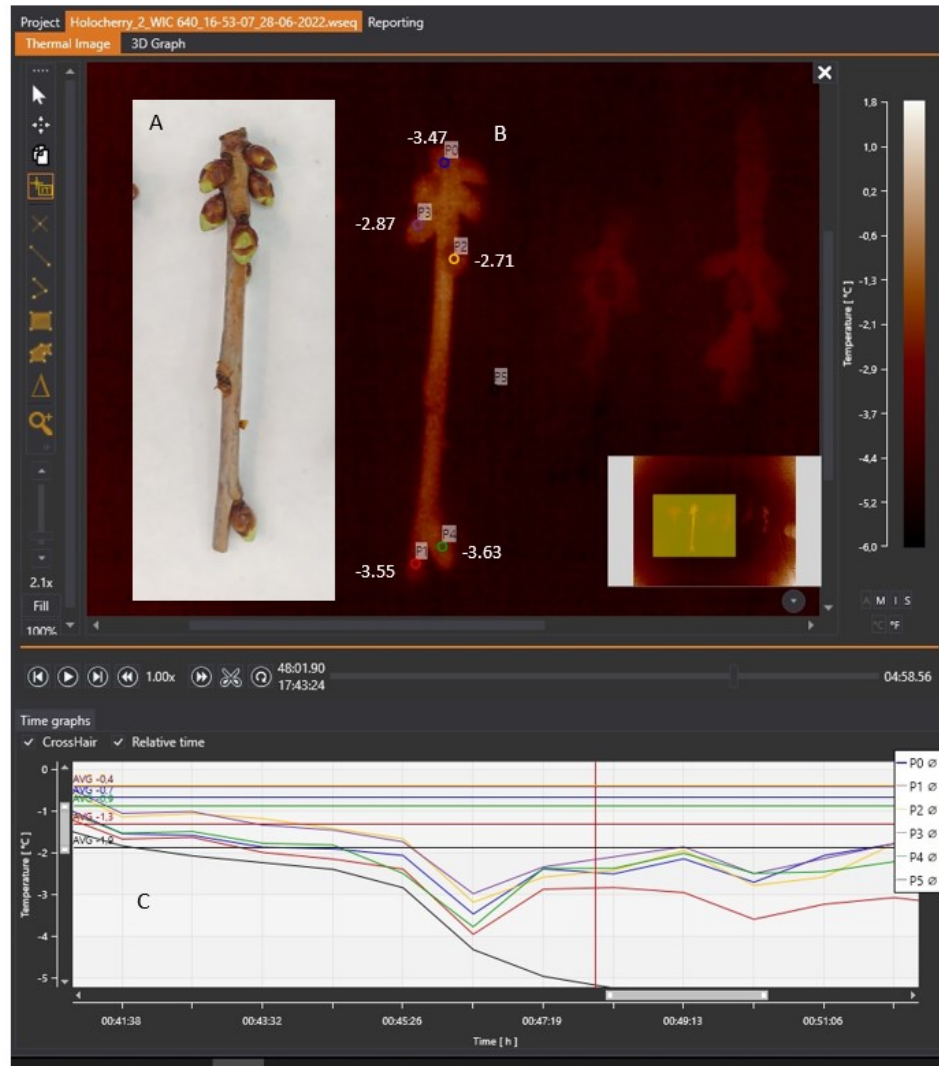
Metodologie a analyzované parametry mrazové odolnosti

- **Metodologie:**
 - Měření termických vlastností generativních pupenů pomocí DSC.
 - Gravimetrická analýza obsahu vody a aktivity vody.
- **Analyzované parametry:**
 - Onset krystalizace a tání.
 - Množství krystalizované vody během chlazení a ohřevu.
 - Obsah vody (WC) a aktivita vody (a_w).
- **Význam:**
 - Parametry reflektují schopnost odolnosti pletiv vůči nízkým teplotám.

DSC termogram generativního pupene slivoně HL0900151 s vyhodnocení onsetů krystalizace, tání a plochy píku krystalizované vody při chlazení a ohřevu. V horní části křivky je výrazný pík krystalizace během chlazení s vyznačenými krystalizačními onsety a v dolní části křivky je pík tání během ohřevu. Rychlost chlazení a ohřevu byla 10 °C min^{-1} .



Charakterizace **teplotních změn** u generativních pupenů třešně 'Kordia' (A), **infračervený snímek krystalizačních procesů výhonu** (B) a teplotní změny různých bodů zájmu (C, barevné linie). **Černá čára** znázorňuje průběh změny teploty pozadí. Čísla na obrázku ukazují teploty v různých částech výhonu v době začátku krystalizace ($^{\circ}\text{C}$)





Výsledky mrazové odolnosti u meruněk

- **Onset krystalizace a tání (°C):**
 - Nejvyšší onset krystalizace: 01-091 (-7,4 °C), Bergeron (-7,7 °C).
 - Nejnižší onset krystalizace: 96-288 (-12,0 °C), 00-018 (-11,4 °C).
 - Nejvyšší onset tání: 08-002 (-2,5 °C), 09-010 (-2,9 °C).
- **Rozdíl onsetu (Δ):**
 - Nejvyšší rozdíl: 08-002 (7,4 °C), 02-024 (7,2 °C).
 - Nejnižší rozdíl: Candela (1,5 °C), Leskora (2,3 °C).
- **Množství krystalizované vody (%):**
 - Nejvyšší během chlazení: 00-008 (86,4 %), Leskora (77,4 %).
- Nejvyšší během ohřevu: PL 3/242 (89,2 %), 08-009 (89,2 %).



Výsledky mrazové odolnosti u slivoní

- **Onset krystalizace a tání (°C):**
 - Nejvyšší onset krystalizace: HL 0900090 (-7,7 °C), Gabrovská (-8,2 °C).
 - Nejnižší onset krystalizace: HL 0800032 (-19,1 °C), HL 0900097 (-17,3 °C).
 - Nejvyšší onset tání: HLT 1-10 (-1,5 °C), HL 0635 (-3,8 °C).
- **Rozdíl onsetu (Δ):**
 - Nejvyšší rozdíl: HL 0800032 (14,7 °C), HL 0900045 (10,0 °C).
 - Nejnižší rozdíl: Domácí velkoplodá (2,2 °C), Gabrovská (3,1 °C).
- **Množství krystalizované vody (%):**
 - Nejvyšší během ohřevu: HL 0900151 (90,4 %), HL 0800032 (86,5 %).



Porovnání fyziologických parametrů meruněk a slivoní

- **Aktivita vody (a_w):**

- Nejvyšší: 97-052 (0,966), 01-091 (0,965) u meruněk.
- Nejnižší: HLT 1-10 (0,957), HL 0635 (0,956) u slivoní.

- **Obsah vody (WC):**

- Meruňky: PL 3/242 (78,4 %), 08-009 (73,9 %).
- Slivoně: HL 0900151 (90,4 %), HL 0800032 (86,5 %).



Praktické využití výsledků

- Identifikace odolných genotypů pro šlechtění:
 - Meruňky: Leskora, 00-008, 00-018, 00-010.
 - Slivoně: Presenta, HL 0635, HL 0900045.
- Korelace laboratorních a polních výsledků.
- Doporučení pro šlechtitelské programy.



Klíčové parametry odolnosti vůči mrazu

- **Onset krystalizace a tání:**
 - Nejvyšší odolnost u genotypů s nízkým onsetem krystalizace (např. 09-010: -12,0 °C, HLT1-10: -19,1 °C).
 - **Význam:** Schopnost odolávat nižším teplotám bez poškození pletiv.
- **Obsah vody a aktivita vody:**
 - **Meruňky:** Nejvyšší WC u PL 3/242 (78,4 %) a 08-009 (73,9 %).
- **Slivoně:** HLT1-10 dosáhl nejnižší aktivity vody (a_w 0,957), což podporuje toleranci mrazu.



Klíčové parametry odolnosti vůči stresu sucha

- **Reaktivní formy kyslíku (ROS):**
 - **Zvýšení:** Intenzivní akumulace ROS (H_2O_2 , O_2^-) u stresovaných genotypů (např. 16736, 09-010).
 - **Kontrola:** Nižší hladiny ROS u odolných genotypů, jako HL1282 a HLT1-10, díky účinným antioxidačním systémům.
 - **Význam:** Ukazatel oxidačního stresu a efektivity obranných mechanismů.
- **Osmoticky aktivní látky:**
 - **Prolin:** Nejvyšší akumulace u HL1282 (jabloně, 2,6 mg/g) a 16862 (třešně, 3,1 mg/g).
 - **Cukry:** Zvýšení glukózy a fruktózy u meruněk (09-010, až 40 mg/g).
 - **Význam:** Stabilizace buněčných membrán a udržení turgoru během dehydratace.



Klíčové parametry odolnosti vůči stresu sucha

- **Poškození membrán (MDA):**

- Nejnižší hodnoty u HL1282 (1,8 $\mu\text{mol/g}$) a HLT1-10, což naznačuje minimální lipidovou peroxidaci.
- **Význam:** Menší poškození membrán u odolných genotypů.

- **Polyfenoly a antioxidanty:**

- Nejvyšší obsah u meruněk (09-010: 107,1 mg GAE/100 g) a slivoní (HLT1-10: 152,6 mg GAE/100 g).
- **Význam:** Ochrana buněk před oxidačním stresem způsobeným nízkými teplotami.



Srovnání změn parametrů během stresu

- **ROS:**
 - Nejvyšší nárůst: Třešně (16736) a meruňky (09-010).
 - Nejnižší nárůst: Slivoně (HLT1-10).
- **Osmotika:**
 - Největší akumulace prolinu: HL1282 (jabloně), 16862 (třešně).
 - Významný nárůst cukrů: Meruňky (09-010).
- **Antioxidační aktivita:**
 - Nejvyšší polyfenoly: HLT1-10 (152,6 mg GAE/100 g).
 - Význam: Ochrana buněk během obou stresů.
- **Poškození membrán (MDA):**
 - Nejvyšší u citlivých genotypů: Kordia (třešně), Leskora (meruňky).
 - Nejnižší u odolných: HL1282, HLT1-10.



Děkuji Vám za pozornost

suran@vsuo.cz