

VÝZKUMNÝ A ŠLECHTITELSKÝ ÚSTAV OVOCNÁŘSKÝ HOLOVOUSY s.r.o.
UNIVERZITA HRADEC KRÁLOVÉ
ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE
PETR KAREŠ

Selekční metody genotypů jabloní podle požadavků na kvalitu plodů a odolnost k suchu



Pavol Suran a kol.



Univerzita
Hradec Králové
Přírodovědecká
fakulta

CERTIFIKOVANÁ METODIKA
2025

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

Univerzita Hradec Králové

Česká zemědělská univerzita v Praze

Petr Kareš

Selekční metody genotypů jabloní podle požadavků na kvalitu plodů a odolnost k suchu

Pavol Suran a kol.



**Univerzita
Hradec Králové
Přírodovědecká
fakulta**

CERTIFIKOVANÁ METODIKA

2025

Autorský kolektiv:

Pavol Suran¹, Zuzana Kovalíková², František Hnilička³, Aneta Bílková¹, Tomáš Rýgl³, Lukáš Maryška¹, Adéla Horčíčková¹, Lubor Zelený¹, Dáša Jiroušová¹, Jiří Sedlák¹, Boris Krška¹, Petr Kareš⁴

¹VÝZKUMNÝ A ŠLECHTITELSKÝ ÚSTAV OVOCNÁŘSKÝ HOLOVOUSY s.r.o., Holovousy 129, 508 01, Česká republika

²Univerzita Hradec Králové, Rokitanského 62, 50003 Hradec Králové, Česká republika

³Česká zemědělská univerzita v Praze, Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů, Kamýcká 129, 165 00 Praha – Suchbátka, Česká republika

⁴Petr Kareš, Starohorská 440, 50752 Ostroměř, Česká republika

Kontakt na vedoucího autorského kolektivu:

pavol.suran@vsuo.cz

Autoři fotografií a obrázkových schémat:

kolektiv autorů

Odborný oponent:

Ing. Tomáš Nečas, Ph.D., Mendelova univerzita v Brně, Zahradnická fakulta v Lednici, Ústav ovocnictví

Oponent ze státní správy:

Ing. David Beneš, ÚKZÚZ Oddělení trvalých kultur, ZS Přerov nad Labem

Název: Selektivní metody genotypů jabloní podle požadavků na kvalitu plodů a odolnost k suchu**Dedikace:**

Metodika je výsledkem řešení výzkumného projektu Národní agentury pro zemědělský výzkum (NAZV) č. QK21010200 s názvem „Šlechtění ovocných druhů na odolnost k abiotickým vlivům v kombinaci s vysokým obsahem antioxidantních látek v plodech“.

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

ISBN 978-80-88669-07-4 (online; pdf)

DOI: 10.60615/t5jb-h438



Obsah

1. ÚVOD	5
2. CÍLE METODIKY	5
3. VLASTNÍ POPIS METODIKY	6
3.1. Význam šlechtění odolných genotypů jabloní v kontextu změn klimatu	6
3.2. Odezva jabloní na vodní deficit	7
3.2.1. Morfologické modifikace	7
3.2.2. Fyziologické modifikace	8
3.2.3. Biochemické modifikace	8
3.2.4. Biochemické markery	8
3.3. Genetické aspekty a šlechtitelské možnosti	9
4. MATERIÁL A METODY	11
4.1. Popis použitého rostlinného materiálu	11
4.2. Experimentální design	11
4.3. Fenotypování rostlin	13
4.3.1. Pomologické znaky v polním experimentu	13
4.3.2. Fyziologické znaky v nádobovém experimentu	13
4.3.3. Biochemické parametry v polním a nádobovém experimentu	13
4.4. Parametry hodnocení odolnosti vůči suchu	14
4.4.1. Pomologické charakteristiky	14
4.4.2. Fyziologické charakteristiky	15
4.4.3. Biochemické charakteristiky	16
4.5. Evaluace charakteristik genotypů	17
4.5.1. Pomologické znaky plodů	17
4.5.2. Biochemické znaky plodů	20
4.5.3. Biochemické znaky listů	23
4.6. Fyziologické parametry hodnocení odolnosti k suchu	26
5. ZÁVĚREČNÉ SHRUTÍ DOPORUČENÍ	33
5.1. Doporučené markery	33
5.2. Třídění genotypů podle rozmezí hodnot	33
5.2.1. Řazení genotypů do kategorií	34

5.2.2.	Fyziologické a biochemické parametry s nejvyšší vypovídací schopností ...	35
5.3.	Postup selekce.....	38
5.3.1.	Harmonogram hodnocení v průběhu fenologických fází semenáčů	38
5.3.2.	Pravidla pro kontrolu zdravotního stavu a validaci dat	40
6.	SROVNÁNÍ NOVOSTI POSTUPŮ	42
7.	POPIS UPLATNĚNÍ CERTIFIKOVANÉ METODIKY	43
7.1.	Využití metodiky v rámci šlechtitelského procesu	43
7.1.1.	Začlenění výsledků do rutinní selekce.....	43
7.2.	Archivace dat a opakovaná validace	44
7.3.	Podpora rozhodování a snížení rizika výběru nevhodných genotypů	45
8.	EKONOMICKÉ ASPEKTY	45
9.	SEZNAM POUŽITÉ SOUVISEJÍCÍ LITERATURY	46
10.	SEZNAM PUBLIKACÍ, KTERÉ PŘEDCHÁZELY METODICE	50
11.	DEDIKACE	50

1. ÚVOD

Sucho představuje jednu z nejvýznamnějších limitujících podmínek pro produkci jaderovin, zejména jabloní, v podmínkách střední Evropy. V posledních desetiletích se v České republice stále častěji objevují období výrazného deficitu srážek, která negativně ovlivňují stabilitu výnosů i kvalitu produkce. Jablň (*Malus domestica* Borkh.) je přitom v ČR nejpěstovanějším ovocným druhem a tvoří základ domácí ovocnářské produkce. Vzhledem k měnícím se klimatickým podmínkám, rostoucí intenzitě výskytu suchých period a omezeným možnostem závlah je nezbytné zaměřit šlechtění na vyhledávání a využívání genotypů, které jsou schopny se s těmito stresovými faktory vyrovnat.

Metodika se proto soustředí na selekci genotypů jabloní podle parametrů kvality plodů a jejich schopnosti odolávat vodnímu deficitu. Cílem je poskytnout podrobný a prakticky využitelný postup, který pomůže šlechtitelům efektivně identifikovat perspektivní genotypy vhodné pro další šlechtění i pro pěstování v podmínkách, kde je sucho častým a závažným problémem.

Zvláštní důraz je kladen na spojení agronomicky významných znaků, jako je plodnost a kvalita plodů, s fyziologickými, biochemickými a genetickými ukazateli odolnosti k suchu. Spojení těchto hledisek umožní vytvářet nové odrůdy, které budou nejen konkurenceschopné na trhu díky atraktivním plodům, ale současně budou schopny udržet stabilní produkci i v letech s nepříznivými klimatickými podmínkami.

Metodika zároveň představuje praktický nástroj, který lze přímo využít v rámci šlechtitelských programů, a to jak při hodnocení rozsáhlých kolekcí genotypů, tak při výběru menších souborů vhodných k dalšímu křížení a selekci. Její přínos spočívá nejen v zajištění hospodářské stability a vyšší rentability produkce, ale i v širším kontextu ochrany vodních zdrojů a přizpůsobení českého ovocnářství na klimatické změny.

2. CÍLE METODIKY

- Vyvinout metodiku selekce genotypů jabloní odolných vůči suchu založenou na fenotypových i biochemických charakteristikách, aplikovatelnou v podmínkách českého ovocnářství.
- Podpořit výběr perspektivních genotypů s vysokým obsahem bioaktivních látek a zlepšenou kvalitou plodů, s využitím dlouhodobých šlechtitelských programů ve VŠÚO Holovousy.
- Zrychlit a efektivněji řídit šlechtitelský proces, aby bylo možné vyšlechtit nové komerčně hodnotné odrůdy s lepším přizpůsobením ke klimatickým stresům a zajistit stabilitu výnosů i rentabilitu produkce v ČR.

3. VLASTNÍ POPIS METODIKY

3.1. Význam šlechtění odolných genotypů jabloní v kontextu změn klimatu

Jabloně (*Malus domestica* Borkh.) představují jeden z nejdůležitějších ovocných druhů mírného pásma s dlouhou tradicí pěstování a vysokým hospodářským významem. Celosvětová produkce jablek dosahovala podle FAOSTAT (2022) v roce 2000 více než 55 milionů tun a v roce 2020 již přesáhla 86 milionů tun, což dokládá trvale rostoucí globální poptávku. Největšími producenty jsou Čína, Spojené státy americké a Polsko, které zajišťují významnou část celosvětové produkce. V České republice se v letech 2015–2021 sklídilo průměrně kolem 120 tis. tun jablek ročně (ČSÚ, 2022), což potvrzuje jejich postavení jako hlavního ovocného druhu.

Jablka se konzumují jak čerstvá, tak i zpracovaná na šťávy, mošty, džemy či sušené produkty a mají široké využití v potravinářství. Existují tisíce odrůd s velmi rozdílnými fenologickými i pomologickými vlastnostmi – například v databázích genetických zdrojů USDA je registrováno přes 2 500 položek jabloní (USDA, 2023). Šlechtění nových genotypů je nezbytné pro uspokojení požadavků pěstitelů, zpracovatelů a spotřebitelů a zaměřuje se na vlastnosti jako je velikost, pevnost a vybarvení plodů, obsah bioaktivních látek a především přizpůsobení k abiotickým stresům, zejména k suchu (Sansavini et al., 2004).

Současné šlechtitelské programy jabloní čelí komplexním výzvám, protože kromě zajištění vysoké a pravidelné plodnosti je cílem také vyšší tolerance k environmentálním stresům, nižší náchylnost k chorobám a delší skladovatelnost. Proces šlechtění je časově velmi náročný – od opylení až po registraci nové odrůdy může trvat více než 20 let (Brown a Maloney, 2003). Data z mezinárodních programů ukazují, že z tisíců provedených křížení vede k prakticky využitelným odrůdám pouze zlomkové procento hybridů (Sansavini et al., 2004).

V kontextu klimatických změn způsobují častější a intenzivnější epizody sucha jeden z nejvýznamnějších abiotických stresů ovlivňujících produkci jabloní ve střední Evropě (Trnka et al., 2018; Parra-Quezada et al., 2008). Podle dlouhodobých dat z České republiky klesl průměrný roční úhrn srážek v některých regionech o 10–15 % oproti dlouhodobému normálu a období s půdním suchem trvají o 20–30 dnů déle než před třiceti lety (Trnka et al., 2018). Jablonoň má vysoké nároky na vodu – deficit 100 mm srážek během vegetace může vést ke snížení výnosu o více než 20 % (Sadras and Calderni, 2014).

Kritická jsou zejména období kvetení, nasazování plodů a jejich růstu. Vodní deficit v těchto fázích způsobuje nejen redukci násady, ale i menší velikost a horší vybarvení plodů v konečné fázi dozrávání (Plavcová et al., 2023; Sadras and Calderni, 2014). Výsledky Suran a Fiala (2019) ukazují, že klíčovým obdobím pro stabilní výnos jabloní jsou jarní měsíce, zejména březen a duben. Autoři zjistili, že násada květů středně silně korelovala se sumou teplot v březnu a dubnu předešlého roku ($r = 0,443$) a slabě se srážkami květen–červen předešlého roku ($r = 0,282$). Začátek kvetení byl v pozitivní korelaci se srážkami březen–duben ($r = 0,370$). To znamená, že vyšší úhrn srážek v tomto období podporoval časnější a pravidelnější kvetení. Naopak byl v silné negativní korelaci s teplotami ve stejném období ($r = -0,870$). Vyšší jarní teploty tedy urychlovaly fenologický vývoj a vedly k dřívějšímu začátku kvetení, což však mohlo zvýšit riziko poškození pozdními mrazy.

Násada plodů byla významně ovlivněna srážkami v březnu a dubnu ($r = 0,620$), tedy vyšší srážky v raném jaře podporovaly lepší násadu. Důležitou roli hrály také teploty v květnu až srpnu ($r = 0,290$), kdy příznivější podmínky podporovaly udržení plodů. Samotná sklizeň vykazovala středně silný vztah jak s teplotami v období květen–srpen ($r = 0,511$), tak se srážkami v březnu–dubnu ($r = 0,534$).

Extrémně suchý rok 2018, kdy ve vegetačním období spadlo pouze 172,3 mm srážek, vedl k výrazně nižší sklizni oproti roku 2017 s 505,6 mm srážek. Tyto výsledky potvrzují, že stabilita výnosu jabloní v podmínkách ČR je závislá na dostatku srážek v raném jarním období a na průběhu teplot během letních měsíců. Pozitivní korelace znamenají, že s rostoucí hodnotou daného klimatického faktoru (např. srážky) roste i sledovaný znak (např. násada plodů). Negativní korelace naopak ukazují, že vyšší hodnota faktoru (např. teplota) vede ke snížení sledovaného znaku nebo k jeho posunu v čase (např. dřívější začátek kvetení). Takové vztahy umožňují lépe porozumět mechanismům reakce jabloní na podmínky prostředí.

Nedostatek vody v citlivých fázích vývoje vede také ke snížení obsahu cukrů a bioaktivních látek – například obsah vitamínu C může se při silném stresu snížit až o 30 % oproti kontrolním podmínkám (Lee a Kader, 2000; Davey et al., 2007). Dlouhodobý vodní deficit urychluje stárnutí stromů, oslabuje jejich obranyschopnost proti patogenům a snižuje jejich životnost, přičemž výnos může v extrémně suchých letech klesnout až o 40–50 % (Anders et al., 2014; Girona et al., 2025). Mezinárodní studie potvrzují, že projevy sucha se budou dále zintenzivňovat a podle zprávy IPCC (2021) se do roku 2050 očekává nárůst frekvence extrémních suchých period v Evropě o více než 30 %, což představuje zásadní hrozbu pro udržitelnost ovocnářství. FAO (2019) navíc uvádí, že nedostatek vody bude jedním z hlavních limitujících faktorů pro produkci ovoce globálně, přičemž regiony závislé na intenzivní produkci jablek budou patřit mezi nejohroženější.

Šlechtění proto musí cílit na identifikaci genotypů, které lépe hospodaří s vodou, vykazují vyšší účinnost využití vody (WUE) a dokážou udržet fotosyntetickou aktivitu i při nižší dostupnosti vody (Begna, 2022). Takové genotypy často akumulují osmoticky aktivní látky (prolin, polyoly, cukry), zpevňují buněčné stěny a vykazují zvýšenou aktivitu antioxidantních enzymů, čímž snižují poškození tkání reaktivními formami kyslíku (Mittler, 2002; Farooq et al., 2009). Genetické zdroje suchovzdornosti jsou u jabloní často spojovány se středoasijskými druhy (*Malus sieversii*, *Malus orientalis*), které rostou v oblastech s omezenými srážkami a tvoří cenný materiál pro šlechtění (Volk et al., 2014).

3.2. Odezva jabloní na vodní deficit

Reakce jabloní na vodní deficit se odehrává na několika úrovních:

3.2.1. Morfologické modifikace

Redukce listové plochy, silnější kutikula, změna architektury koruny a hlubší kořenový systém umožňující čerpání vody z hlubších vrstev půdy (Lauri, 2018). Například Yadollahi et al. (2011) popsali, že u tolerantnějších genotypů mandloní a jabloní se plocha listů v podmínkách sucha snižuje až o 35 %, což omezuje ztráty vody transpirací. U jabloní bylo rovněž pozorováno zahušťování kutikuly o 10–15 % a nárůst hustoty průduchů, které přispívají k regulaci výměny plynů (Viljevac et al., 2013). Významným přizpůsobením je i změna architektury kořenového

systému – hlubší kořeny mohou čerpat vodu z vrstev půdy pod 1 m, přičemž Kautz et al. (2015) ukázali, že u semenáčů jabloní vystavených suchu došlo k prodloužení hlavního kořene o více než 20 % oproti kontrolním rostlinám.

3.2.2. Fyziologické modifikace

Regulace průduchů a snížení transpirace, udržení vodního potenciálu listů, vyšší účinnost využití vody (Chaves et al., 2003; Medrano et al., 2002). Konkrétní měření ukázala, že u stresovaných stromů jabloní klesá relativní obsah vody v listech z hodnot okolo 85 % na méně než 70 % (Ping and Bai, 2015). Medrano et al. (2002) popsali, že stomatální vodivost se při suchu snižuje až o 60 %, což vede k redukci transpirace a ztrát vody, ale zároveň omezuje přísun CO₂. Begna, (2022) zaznamenal, že účinnost využití vody (WUE) se u tolerantních genotypů zvýšila o 15–20 % ve srovnání s citlivými. Praktickým příkladem je odrůda 'Golden Delicious', která si i při dlouhodobém deficitu vody udržela vyšší WUE a relativně stabilní fotosyntetickou aktivitu, zatímco u odrůdy 'Fuji' byl pokles výraznější. Tyto výsledky potvrzují, že sledování fyziologických parametrů, jako je vodní potenciál, stomatální vodivost a WUE, je klíčové při hodnocení odolnosti genotypů k suchu.

3.2.3. Biochemické modifikace

Akumulace osmotických látek (prolin, cukry, polyoly), zvýšená aktivita enzymů antioxidační obrany (superoxid dismutáza, kataláza, askorbát peroxidáza) a ochranných proteinů (Scandalios, 2005; Farooq et al., 2009). Konkrétní studie ukazují, že obsah prolinu u jabloní může při silném vodním deficitu vzrůst až stonásobně – například z 20–30 μmol/g sušiny na více než 2000 μmol/g (Jimenez et al., 2013). Současně bylo popsáno zvýšení obsahu sorbitolu o 40 % a glukózy o 25 % ve stresovaných rostlinách (Kautz et al., 2015). Antioxidační enzymy vykazují rovněž výrazné změny: aktivita superoxiddismutázy (SOD) se může zvýšit o 25–30 %, katalázy (CAT) o 15 % a askorbát peroxidázy (APX) i glutathion peroxidázy (GPX) až o 40 % při silném stresu (Sircelj et al., 2007; Wang et al., 2012). Tyto výsledky dokládají, že biochemické ukazatele poskytují citlivé a kvantitativně měřitelné markery, které mohou být využity při selekci genotypů tolerantních k suchu.

3.2.4. Biochemické markery

Identifikace donorů suchovzdornosti ve volně rostoucích populacích, využití marker-assisted selection (MAS), genotypizace a nové šlechtitelské techniky (Stankiewicz et al., 2002). Genetické zdroje tolerance k suchu byly nalezeny zejména u druhů *Malus sieversii* a *Malus orientalis*, pocházejících z aridních oblastí Střední Asie, které se vyznačují hlubším kořenovým systémem a efektivnějším hospodařením s vodou (Volk et al., 2014). U komerčních odrůd jabloní byly identifikovány QTL spojené s účinností využití vody (WUE), obsahem prolinu a stabilitou fotosyntetických parametrů (Wang et al., 2012). Moderní molekulární metody, jako je využití SNP markerů a genomické selekce, umožňují urychlit proces šlechtění a přesněji vybírat genotypy tolerantní k suchu již v raných fázích (Stankiewicz et al., 2002). Praktické příklady z posledních let ukazují, že genomická selekce může zkrátit dobu potřebnou k vytvoření nové odrůdy až o 20 %, přičemž se dosahuje vyšší přesnosti při predikci agronomicky významných znaků.

3.3. Genetické aspekty a šlechtitelské možnosti

Sucho zároveň ovlivňuje kvalitu plodů i samotné fyziologické a biochemické procesy v rostlině. Nedostatek vody obvykle vede ke snížení velikosti a hmotnosti plodů v důsledku omezeného příjmu vody, zatímco obsah sušiny, refraktometrické sušiny a celkových rozpustných látek často vzrůstá (Naor, 2006). Fyziologické studie ukazují, že vodní deficit snižuje relativní obsah vody v listech, rychlost fotosyntézy a stomatální vodivost (Ping and Bai, 2015; Medrano et al., 2002). Zajímavé je, že obsah chlorofylu bývá při suchu relativně stabilní, avšak dochází k poklesu fotochemických reakcí, aktivity RUBISCA a účinnosti PSII, což omezuje celkovou kapacitu fotosyntézy (Flexas et al., 2004; Li and Ma, 2012). Nadbytečná světelná energie, kterou rostlina nemůže využít, pak vede k oxidativnímu stresu a vzniku reaktivních forem kyslíku (ROS). Pokud tyto ROS nejsou účinně detoxikovány antioxidačními systémy, dochází k poškození fotosyntetického aparátu (Farooq et al., 2009; Wang et al., 2012). Například Ping a Bai (2015) zaznamenali, že u jabloní při silném suchu klesla rychlost fotosyntézy o více než 50 % ve srovnání s kontrolou a stomatální vodivost byla snížena téměř o 60 %. Flexas et al., (2004) popsali, že účinnost fotosystému II (Fv/Fm) klesá v podmínkách sucha o 10–20 %, což omezuje schopnost listů využívat absorbovanou světelnou energii. Li a Ma (2012) ukázali, že dehydratace listů jabloní vede k poklesu aktivity enzymu Rubisco o 30–40 % a ke zvýšenému riziku tvorby kavitací v cévních svazcích. Farooq et al. (2009) dále uvádějí, že akumulace ROS, jako je peroxid vodíku nebo superoxidový radikál, může při nedostatečné antioxidační ochraně snížit fotosyntetickou aktivitu až o 40 %. Tyto výsledky dokládají, že fotosyntetický aparát jabloní je jedním z nejcitlivějších ukazatelů vodního deficitu a jeho detailní hodnocení je klíčové při selekci tolerantních genotypů. Oxidativní stres způsobený akumulací ROS bývá doprovázen změnami v aktivitě antioxidačních enzymů. Například Sircelj et al. (2007) zaznamenali, že aktivita superoxid dismutázy (SOD) u stresovaných listů jabloní vzrostla o 25–30 % oproti kontrolním podmínkám, zatímco aktivita katalázy (CAT) byla zvýšena o 15 %. Wang et al. (2012) popsali, že hladina askorbát peroxidázy (APX) a glutathion peroxidázy (GPX) se při suchu významně zvyšuje, což pomáhá detoxikovat peroxid vodíku. Tyto změny ukazují, že antioxidační enzymy představují důležité markery odolnosti vůči suchu a jejich kvantitativní sledování může sloužit jako praktický nástroj pro identifikaci tolerantních genotypů.

Na biochemické úrovni se sucho projevuje akumulací osmoregulačních látek, zejména prolinu, jehož koncentrace může při poklesu vodního potenciálu až stonásobně vzrůst (Jimenez et al., 2013; Kautz et al., 2015). U jabloní byl při hodnotách vodního potenciálu kolem $-0,1$ MPa popsán nárůst prolinu z původních 20–30 $\mu\text{mol/g}$ sušiny na více než 2000 $\mu\text{mol/g}$ (Jimenez et al., 2013). Zvýšený obsah osmolytik, jako jsou sacharidy (glukóza, sacharóza), polyoly (sorbitol) a aminokyseliny, pomáhá buňkám udržet vodní bilanci a chránit proteiny i membrány. Například Kautz et al. (2015) popsali, že u semenáčů jabloní vystavených suchu stoupl obsah sorbitolu o 40 % a glukózy o 25 % ve srovnání s kontrolou. Současně stoupá hladina stresových hormonů, zejména kyseliny abscisové (ABA), která stimuluje uzavírání průduchů a aktivaci obranných genů (Dar et al., 2017; Kowitcharoen et al., 2015). U odrůdy 'Golden Delicious' bylo pozorováno, že koncentrace ABA v listech se při suchu zvýšila více než dvojnásobně (Kowitcharoen et al., 2015), což přímo souviselo s redukcí transpirace a zachováním vodního potenciálu listů.

Vliv vodního stresu se tak odráží i v kvalitě plodů: obsah bioaktivních látek, jako jsou polyfenoly, flavonoidy a vitamín C, může být v mírném stresu zvýšen, což zlepšuje antioxidační kapacitu plodů (Scalzo et al., 2005). Například u mírně stresovaných plodů odrůdy 'Florina' byl popsán vyšší obsah celkových polyfenolů, zatímco u citlivější odrůdy 'Fuji' byl nárůst méně výrazný (Scalzo et al., 2005). Při silném stresu však dochází k poklesu obsahu bioaktivních látek. Sircelj et al. (2007) zaznamenali snížení celkového obsahu polyfenolů a antioxidační aktivity u jablek vystavených výraznému suchu – např. hodnoty celkových polyfenolů se pohybovaly kolem 250–300 mg GAE/100 g čerstvé hmoty u kontrolních plodů, zatímco u stresovaných klesly na cca 200 mg GAE/100 g. Podobně antioxidační aktivita (vyjádřená jako DPPH inhibice) klesla o 10–15 %. Lee a Kader (2000) a Davey et al. (2007) dále popisují, že obsah vitamínu C se při silném vodním deficitu může snížit o 20–30 %, přičemž konkrétní hodnoty závisí na odrůdě a délce působení stresu.

Výzkumy prokázaly výrazný vliv genotypu na stabilitu obsahu vitamínu C a polyfenolů v plodech jabloní i dalších druhů. Například studie Scalzo et al. (2005) ukázala, že odrůdy jako 'Florina' nebo 'Golden Delicious' vykazují vyšší a stabilnější obsah polyfenolů a antioxidační aktivity napříč různými pěstitelskými roky, zatímco u odrůd 'Royal Gala' nebo 'Fuji' byly zaznamenány větší výkyvy. Tolerantnější genotypy si udržují vyšší stabilitu obsahu bioaktivních látek mezi roky, zatímco citlivější vykazují výraznější poklesy. Podobné závěry uvádí i Unuk et al. (2006), kteří popsali rozdíly v obsahu polyfenolů mezi odrůdami – např. 'Golden Delicious' 147–197 mg/kg, 'Gala' 132–205 mg/kg a 'Fuji' 144–178 mg/kg čerstvé hmoty. Stracke et al. (2009) dále prokázali, že ekologicky pěstovaná jablka měla až o 20 % vyšší obsah polyfenolů než jablka z konvenční produkce ($302 \pm 58 \mu\text{g/g}$ vs. $253 \pm 41 \mu\text{g/g}$). Studie tradičních odrůd pak ukázaly extrémně vysoký obsah polyfenolů u některých genotypů, například 'Bobovec' dosahoval až 13 265 mg/kg v sušině. Další studie dokládají, že kvalita plodů suchem stresovaných stromů, se může lišit i podle intenzity stresu a odrůdy. Iglesias a Alegre (2002) prokázali, že u odrůdy 'Mondial Gala' se při mírném suchu zvýšil obsah rozpustné sušiny o 1–2 °Brix, zatímco pevnost plodů vzrostla o 10 %, ale současně došlo ke zhoršení vybarvení slupky. Girona et al. (2025) popsali, že ve více evropských výsadbách vedlo suché léto k poklesu průměrné velikosti plodů o 15–20 % a ke zvýšení refraktometrické sušiny o 8–12 %. Tyto výsledky ukazují, že mírný deficit vody může v některých případech zlepšit nutriční hodnotu plodů, avšak silný a dlouhodobý deficit má negativní dopady jak na výnos, tak na kvalitu. Z hlediska selekce je proto důležité zohlednit jak stabilitu výnosu, tak i udržení vyvážené kvality plodů při různých úrovních vodního stresu.

Integrovaný přístup, který kombinuje hodnocení fenotypových znaků (plodnost, velikost a pevnost plodů), fyziologických ukazatelů (fotosyntéza, vodní potenciál, stomatální vodivost), biochemických markerů (vitamín C, polyfenoly, antioxidační kapacita, obsah prolinu) a genetických charakteristik, se ukazuje jako nejspolehlivější pro identifikaci tolerantních genotypů (Begna, 2022; Stankiewicz et al., 2002). Tento rámec tvoří základ moderního šlechtění jabloní a umožňuje vytvářet nové odrůdy, které budou schopné čelit výzvám klimatických změn bez ztráty kvality plodů.

4. MATERIÁL A METODY

4.1. Popis použitého rostlinného materiálu

V rámci metodiky byly pro hodnocení využity genotypy jabloně (*Malus domestica* Borkh.), pocházející výhradně ze šlechtitelských a sbírkových výsadeb Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského Holovousy s.r.o. (VŠÚO). Výběr zahrnoval jednak komerčně dostupné, standardní odrůdy sloužící jako referenční srovnávací soubor a dále perspektivní novošlechtění identifikovaná číselnými kódy. Tato kombinace umožnila zachytit určitý rozsah variability uvnitř druhu, zejména z pohledu tolerance k suchu.

Výsadby byly situovány v lokalitě Holovousy (50.383629°N, 15.576902°E, 360 m n. m.), kde dlouhodobý roční průměr teplot dosahuje 8,4 °C a srážkový úhrn činí přibližně 660 mm. Stromy byly vysazeny v roce 2012 ve sponu 4,0 × 1,2 m. Pěstební režim odpovídal běžné praxi bez využití závlah či krytí, s každoročním řezem a tvarováním stromů do volného štíhlého větve. Řady byly udržovány bez plevelů pomocí herbicidních pásů, zatímco meziřadí bylo zatravněno. Hnojení bylo zajištěno jak formou aplikace na půdu (LAV 27 – dusičnan amonný s vápencem), tak foliárně (DAM 390, STOPIT).

Pro očkování byla použita slabě rostoucí podnož M9, která se běžně využívá v intenzivních výsadbách jabloní a je ceněna pro svůj pozitivní vliv na ranost plodnosti, redukovaný růst stromu. V době zahájení hodnocení bylo stromům devět let.

Přehled hodnocených genotypů

- **Standardní odrůdy (referenční materiál):** ‘Gala’, ‘Idared’, ‘Rubinstep’, ‘Reluga’, ‘Frosta’
- **Genotypy novošlechtění (číselné označení):** ‘B11’, ‘HL32’, ‘HL53’, ‘HL1185’, ‘HL1194’, ‘HL1282’, ‘HL1311’, ‘HL1343’, ‘HL155-05’, ‘HL1579’, ‘HL1597’, ‘HL1651’, ‘HL2010’, ‘HL2350’, ‘HL308’, ‘HL601’, ‘HL827’

Výběr genotypů pokrýval široké spektrum znaků důležitých pro šlechtění – od fenologických vlastností (např. doba kvetení a zrání) přes pomologické ukazatele (hmotnost, rozměry a pevnost plodů, obsah rozpustných sušin, cukrů), až po hodnocení citlivosti k abiotickým stresovým faktorům, zejména suchu. Hodnocení bylo provedeno napříč více vegetačními sezónami a bylo doplněno meteorologickými záznamy, které umožnily interpretovat reakce genotypů na konkrétní klimatické podmínky. Takto sestavený soubor poskytuje komplexní základ pro identifikaci a další využití genotypů vhodných pro šlechtění odolných a kvalitních odrůd.

4.2. Experimentální design

Experimentální design vycházel z kombinace víceletého sledování v polních podmínkách a cílených testů v nádobové výsadbě. Tento přístup umožnil porovnat výkonnost jednotlivých genotypů jabloní v kontrolovaných stresových situacích zaměřených na vodní deficit.

Zdrojem dat charakteristik plodů byly polní výsadby jabloní založené ve standardním intenzivním sadu v areálu VŠÚO Holovousy, vedeném bez závlahy a bez použití krytí proti srážkám či radiaci. Tyto výsadby byly v provozu v letech 2021–2024. V průběhu sezón byly

hodnoceny především fenologické fáze (počátek rašení, kvetení, období sklizňové zralosti), násada a množství plodů, jejich hmotnost, pevnost a obsah rozpustných cukrů. Stromy byly vystaveny přirozeným klimatickým výkyvům, jejichž průběh byl detailně monitorován meteorologickou stanicí umístěnou přímo v areálu. Získaná data zahrnovala mimo jiné teplotu vzduchu, srážky, relativní vlhkost, rychlost větru a další parametry, které byly následně analyzovány ve vztahu k vegetačním projevům stromů.

Součástí metodiky byly nádobové pokusy, které probíhaly od jara 2023. Do této části byli zařazeni vybraní zástupci jak z řad standardních odrůd, tak z novošlechtění jabloní. Celkem bylo do experimentu zahrnuto 26 genotypů jabloní. Jednoleté stromky pocházely z ovocné školky a byly vysazeny do vegetačních nádob o objemu 30 litrů, umístěných ve fóliovníku o ploše přibližně 450 m². Všechny stromy byly očkovány na podnož M9 a tvarovány základním zakrácením postranních výhonů na délku maximálně 15 cm (obr. 1).

Každý hodnocený genotyp byl reprezentován deseti rostlinami, které byly rozděleny do dvou závlahových variant (po 5 rostlinách).

- První varianta simuloval plnou závlahu (15 l/15 min/den), zatímco
- Druhá varianta představoval stresovou variantu s poloviční dávkou (7,5 l/15 min/den).

V období navození stresu suchem byla u první a druhé varianty závlaha redukována na polovinu. Během fáze rehydratace i před zahájením pokusu byla závlaha sjednocena na plnou dávku 15 l/15 min/den. Závlahový systém byl řízen ručně a voda byla aplikována pomocí kapkové závlahy (60 l/hod).



Obrázek 1 Genotypy jabloní umístěné v krytu proti dešti.

Výživa byla podpořena na začátku vegetace jednorázovou dávkou 40 g granulovaného hnojiva NPK na nádobu. V průběhu sezóny byly (mimo období intenzivního měření) aplikovány zálivky s přípravkem Hycol jabloň (0,6 l koncentrovaného hnojiva na nádobu každých 14 dní).

Měření probíhala ve třech hlavních etapách:

- před termínem navození stresu suchem,
- po ukončení navození stresu suchem
- po následné dvoutýdenní rehydratační fázi.

Doba trvání navození stresu suchem byla stanovena na 2 týdny pro všechny druhy s počátkem ve fenologické fázi BBCH 32 (letorosty dosáhly asi 20 % konečné délky). Ve všech třech hlavních fázích byly zaznamenávány morfologické znaky, fyziologické parametry (např. vodní potenciál, transpirace) a biochemické vlastnosti (obsah antioxidačních látek, cukrů, chlorofylů), které byly následně laboratorně analyzovány. Metodický popis jednotlivých analýz je uveden v kapitolách 4.3–4.5.

4.3. Fenotypování rostlin

Charakterizace reakce jednotlivých genotypů jabloní na vodní deficit a další abiotické stresy vycházela z hodnocení souboru pomologických, fyziologických a biochemických parametrů. Výběr sledovaných znaků byl zvolen s ohledem na jejich význam pro produkční výkonnost, tržní uplatnění plodů i celkovou odolnost rostlin k nepříznivým podmínkám prostředí.

4.3.1. Pomologické znaky v polním experimentu

- **Hmotnost a velikost plodů** – základní ukazatele konzumní hodnoty a tržního uplatnění jablek. Dostupnost vody má přímý vliv na jejich rozvoj; za sucha dochází často k redukci těchto parametrů.
- **Barva slupky a dužniny** – významná jak z pohledu vzhledu plodů, tak nutriční kvality. Intenzita zbarvení souvisí s obsahem pigmentů, jako jsou antokyany a karotenoidy, které mají rovněž antioxidační funkci.
- **Pevnost dužniny** – ovlivňuje skladovatelnost a přepravní odolnost. Při omezeném přísunu vody dochází často ke snížení pevnosti v důsledku nedostatečné tvorby buněčných stěn a nižší hydratace pletiv.

4.3.2. Fyziologické znaky v nádobovém experimentu

- **Fotosyntetická aktivita a výměna plynů** – sledování asimilace CO₂, transpirace a vodivosti průduchů umožňuje hodnotit schopnost rostlin efektivně hospodařit s vodou. Při stresu suchem bývá fotosyntetická činnost potlačena v důsledku uzavírání průduchů.
- **Fluorescence chlorofylu** – indikátor stavu fotosyntetického aparátu, konkrétně efektivity fotosystému II. Pokles parametrů, jako je Fv/Fm, naznačuje poruchy způsobené stresem.
- **Obsah fotosyntetických pigmentů** – měření hladin chlorofylů a karotenoidů umožňuje sledovat vitalitu listů a schopnost odolávat fotoinhibici. Pokles obsahu pigmentů signalizuje oslabení rostlinného aparátu.
- **Vodní stav rostlin** – sledováním osmotického potenciálu a relativního vodního obsahu listů lze posoudit schopnost rostliny udržet turgor a přizpůsobit se na suché podmínky.

4.3.3. Biochemické parametry v polním a nádobovém experimentu

- **Kyselina askorbová (vitamin C)** – významný antioxidant chránící rostlinná pletiva před oxidačním poškozením. Její obsah souvisí s nutriční hodnotou a mírou stresové odpovědi.

- **Celkové polyfenoly** – představují integrovaný ukazatel schopnosti rostlin aktivovat antioxidační obranu. Jejich zvýšené množství signalizuje přizpůsobení na stres a pozitivně ovlivňuje nutriční kvalitu.
- **Antioxidační kapacita (TEAC)** – udává schopnost neutralizovat volné radikály. Slouží jako komplexní indikátor celkové obranyschopnosti rostlin i jakosti produkce.
- **Celková sušina** – vyjadřuje hustotu a obsah sušiny v plodech, která je klíčová pro skladovatelnost a zpracovatelské vlastnosti. Silné sucho může obsah sušiny negativně ovlivnit.
- **Stresové markery:**
 - *Peroxid vodíku (H_2O_2)* a *superoxidový radikál ($\bullet O_2^-$)* – signální molekuly oxidačního stresu.
 - *Prolin* – aminokyselina se silným osmoregulačním účinkem, akumulující se v reakci na sucho.

Tyto znaky společně tvoří komplexní rámec pro posouzení reakce jednotlivých genotypů jabloní na deficit vody. Umožňují podrobné pochopení fyziologických i biochemických mechanismů tolerance k stresu suchem a představují důležitý nástroj pro selekci odolných materiálů ve šlechtitelských programech zaměřených na klimatické přizpůsobení.

4.4. Parametry hodnocení odolnosti vůči suchu

4.4.1. Pomologické charakteristiky

4.4.1.1. Velikost a pevnost plodů

Hodnocení bylo provedeno na 5 plodech každého genotypu bezprostředně po sklizni, při teplotě 20 ± 2 °C. Velikost plodu (šířka v mm) byla změřena v nejsilnější části plodu pomocí posuvného měřidla. Pevnost dužniny (g/mm) byla stanovena pomocí penetrometru Fruit Texture Analyzer (Agro Technologie, Francie) s hrotem o průměru 10 mm. Měření bylo provedeno ze dvou protilehlých stran každého plodu po odstranění slupky. Výsledky byly uvedeny jako průměr $\pm$ směrodatná odchylka.

4.4.1.2. Barva slupky a dužniny

Barva plodů byla hodnocena vizuálně jako podpůrný ukazatel konzumní zralosti a celkové atraktivity plodů. Sloužila zejména ke stanovení optimálního termínu sklizně, aby následná měření probíhala na plodech srovnatelné zralosti napříč genotypy. U odrůd s krycí barvou (např. 'Gala', 'Rubinstep') byla posuzována intenzita a plošný rozsah vybarvení slupky. V případě potřeby byly pro orientační porovnání použity referenční barevné stupnice (RHS Colour Chart). Barva dužniny byla sledována pouze orientačně jako znak případných genetických odlišností, bez nároku na standardizované měření. Jelikož se jednalo o kvalitativní a subjektivní hodnocení, výsledky nebyly zaznamenávány v číselné podobě a nebyly zahrnuty do statistických analýz. Přesto tento znak plnil důležitou roli při určení správného stádia sklizně a celkovém popisu konzumní kvality jednotlivých genotypů.

4.4.2. Fyziologické charakteristiky

4.4.2.1. Fotosyntetická aktivita a výměna plynů

Parametry fotosyntézy a výměny plynů, konkrétně rychlost asimilace CO₂ (A), transpirace (E), průduchová vodivost (gs) a koncentrace CO₂ v mezofylu (Ci), byly sledovány na plně vyvinutých listech ve střední části koruny za využití přenosného analyzátoru plynů LCpro+ (ADC BioScientific, UK). Měření probíhala ve třech časových bodech (před navozením stresu suchem, po jeho skončení a po fázi rehydratace), jak je popsáno v kapitole 4.2. Pro každý genotyp byly analyzovány tři stromy, na každém ve třech opakováních. Po stabilizaci hodnot byly výsledky zprůměrovány pro každou závlahovou variantu.

4.4.2.2. Fluorescence chlorofylu

Účinnost fotosyntetického aparátu byla posuzována prostřednictvím parametrů Fv/Fm a Plabs, které byly měřeny fluorimetrem OS1-fl (Opti-Sciences, USA). Listy byly před měřením přizpůsobeny na tmu po dobu cca 30 minut pomocí stínících klipsů. Hodnocení bylo prováděno na třech stromech každého genotypu a ve třech opakováních. Získané OJIP křivky byly zpracovány pomocí softwaru FluorWin. Tento přístup umožnil kvantifikovat změny v efektivitě fotosystému II v průběhu experimentu.

4.4.2.3. Obsah fotosyntetických pigmentů

Z každého genotypu byly odebrány listové vzorky (1 cm², cca 0,2 g) z plně vyvinutých listů střední části koruny ve všech třech fázích sledování. Pigmenty byly extrahovány ve tmě po dobu 24 hodin v 1 ml rozpouštědla N,N-Dimethylamid kyseliny mravenčí. Poté byl obsah pigmentů spektrofotometricky vyhodnocen přístrojem UV-Vis Evolution 2000 (ThermoScientific) ve vlnových délkách: 480; 648,8; 663,8 a 710 nm. Obsah chlorofylu a, b a karotenoidů byl vypočten podle metodiky Porra et al. (1989). Každý biologický vzorek byl hodnocen ve třech opakováních, každé měřeno dvakrát technicky. Výsledky byly vyjádřeny jako průměr ± SD.

4.4.2.4. Vodní potenciál listů

Vodní stav rostlin byl stanoven na základě stanovení hodnot osmotického potenciálu, kdy byly do injekčních stříkaček odebrány vzorky listů o max. objemu 1 ml. Píst injekčních stříkaček byl následně stlačen a utěsněn parafilmem. Takto připravené vzorky byly umístěny do chladicího boxu v teplotě -20 °C. Odběry listů probíhaly ve fázi před navozením stresu suchem, po suchu a po rehydrataci v ranních hodinách (8:00–10:00), kdy jsou hodnoty nejstabilnější. U každého genotypu bylo hodnoceno pět listů ze tří různých stromů ve třech opakováních. Osmotický potenciál jednotlivých vzorků byl měřen přístrojem WP4C (Potenciometr WP4C, Decagon Devices, Inc., USA).

4.4.3. Biochemické charakteristiky

4.4.3.1. Vitamin C

Stanovení obsahu vitaminu C v plodech jabloní bylo provedeno metodou HPLC-DAD (Agilent 1260 Infinity) s využitím chromatografické kolony Kinetex C18 (150 × 4,6 mm, 5 μm). Pro stabilizaci vitaminu C se homogenizovaný vzorek o váze přibližně 1 kg) bezprostředně po sklizni homogenizoval pomocí vysokorychlostního homogenizátoru (Retsch GM 200). Poté byl vzorek ihned přenesen do odměrné baňky s roztokem 3% kyseliny metafosforečné. Byl proveden redukční krok přidáním roztoku L-cysteinu a pH upraveno pomocí Na₃PO₄ a zpětně sníženo kyselinou metafosforečnou. Po vakuové filtraci přes filtrační papír č. 389 a 0,45 μm PTFE membránu byly vzorky převedeny do vialek. Separace probíhala při 25 °C, byla využita izokratická eluce s mobilní fází, kterou tvořil pufr KH₂PO₄ při průtoku 1 ml/min. Detekce byla prováděna při 265 nm, identifikace a kvantifikace probíhala pomocí externí kalibrace s kyselinou L-askorbovou (Sigma-Aldrich, čistota ≥99 %). Kalibrační křivky vykazovaly R² = 0,9991–1,0000. Každý vzorek byl analyzován ve třech technických opakováních, limit kvantifikace činil 2,5 mg/l.

4.4.3.2. Celkové polyfenoly

Obsah celkových polyfenolů byl stanoven kolorimetrickou metodou podle Folin-Ciocalteu. Vzorky (2 g plodů nebo 0,2–0,3 g listů) byly extrahovány v 15 ml okyseleného methanolu (HCOOH) s následným třepáním po dobu 60 minut při laboratorní teplotě. Folin-Ciocalteuovo činidlo bylo nejprve zředěno v poměru 1/4 destilovanou vodou a poté bylo 100 μl činidla a 20 μl extraktu z ovoce napipetováno do mikrotitrační destičky. Mikrotitrační destička s napipetovanými roztoky byla třepána na třepačce po dobu 1 minuty. Poté byla ponechána 4 minuty stát při laboratorní teplotě. Následně bylo přidáno 75 μl uhličitanu sodného (100 g/l) a destička byla znovu třepána na třepačce po dobu 1 minuty. Destička byla poté zakryta a ponechána ve tmě při laboratorní teplotě po dobu 2 hodin, načež byla provedena měření absorbance při 750 nm.

(UV-Vis spektrofotometr Thermo Scientific). Kalibrace byla provedena s použitím kyseliny gallové v koncentračním rozmezí c = 10–500 mg/l. Výsledky byly vyjádřeny v mg ekvivalentů kyseliny gallové (GAE) na 100 g FW. Pro každou sérii byla sestrojena kalibrační křivka (R² = 0,9933–0,9985). Každý vzorek byl hodnocen ve třech biologických opakováních.

4.4.3.3. Antioxidační kapacita (TEAC, DPPH test)

Celková antioxidační kapacita plodů byla stanovena podle modifikovaného DPPH testu (Pulido et al., 2000). Vzorky (2 g) byly homogenizovány a extrahovány v 10 ml 80% methanolu. Po promíchání a 60 minutové inkubaci ve tmě následovala centrifugace (4000 ot./min, 10 minut). Alikvota 200 μl extraktu byla smíchána s 800 μl DPPH roztoku (0,1 mM) v mikrotitrační destičce. Absorbance byla měřena při 515 nm. Hodnoty byly vyjádřeny jako μmol Trolox ekvivalentu na 100 g FW.

4.4.3.4. Obsah sušiny

Gravimetrické stanovení sušiny bylo provedeno ze 5 g čerstvé hmoty plodů. Vzorky byly sušeny v laboratorní sušárně (Memmert, Německo) při 105 °C až do dosažení konstantní hmotnosti. Obsah sušiny (%) byl vypočten jako podíl sušené a původní čerstvé hmotnosti. Výsledky byly vyjádřeny jako průměr ± směrodatná odchylka.

4.4.3.5. Reaktivní formy kyslíku (ROS)

Listové vzorky (0,3 g) byly odebrány ze střední části koruny ve třech fázích experimentu (před navozením stresu suchem, po suchu a po rehydrataci), zmrazeny v tekutém dusíku a skladovány při –80 °C do doby analýzy. Homogenizace probíhala v 50 mM fosfátovém pufru, následovala centrifugace. H₂O₂ byl stanoven reakcí s TiCl₄ a měřen spektrofotometricky při 410 nm. Superoxidový radikál ($\bullet\text{O}_2^-$) byl stanoven nepřímo na základě uvolněného nitrátu reakcí s hydroxylaminem (měřeno při 530 nm).

4.4.3.6. Prolin

Obsah prolinu byl stanoven z listových vzorků (0,2 g) odebraných ve třech fázích pokusu. Po extrakci ethanolem (2× 80 %, 1× 50 %) byl kombinovaný supernatant podroben reakci s ninhydrinem v kyselém prostředí. Po 20 minutách inkubace při 95 °C byla měřena absorbance při 520 nm. Výsledky byly vyjádřeny jako $\mu\text{mol/g FW}$.

4.5. Evaluace charakteristik genotypů

4.5.1. Pomologické znaky plodů

Hodnocení kvality plodů jabloní bylo zaměřeno na klíčové pomologické ukazatele charakterizující variabilitu mezi jednotlivými genotypy. Cílem bylo posoudit rozdíly v základních morfologických znacích, jejich vzájemné vztahy a potenciální využitelnost hodnoceného materiálu při selekci genotypů s vysokou tržní kvalitou a stabilní plodností. Základní sledované parametry zahrnovaly velikost a hmotnost plodů, pevnost dužniny a násadu plodů. Tyto znaky představují spolehlivé indikátory fyziologické stability, transportních vlastností i přizpůsobivosti na rozdílné pěstitelské podmínky. Rozložení genotypů do kategorií (graf 1) potvrdilo vyrovnaný charakter kolekce, přičemž většina sledovaných znaků spadala do střední kategorie hodnot.

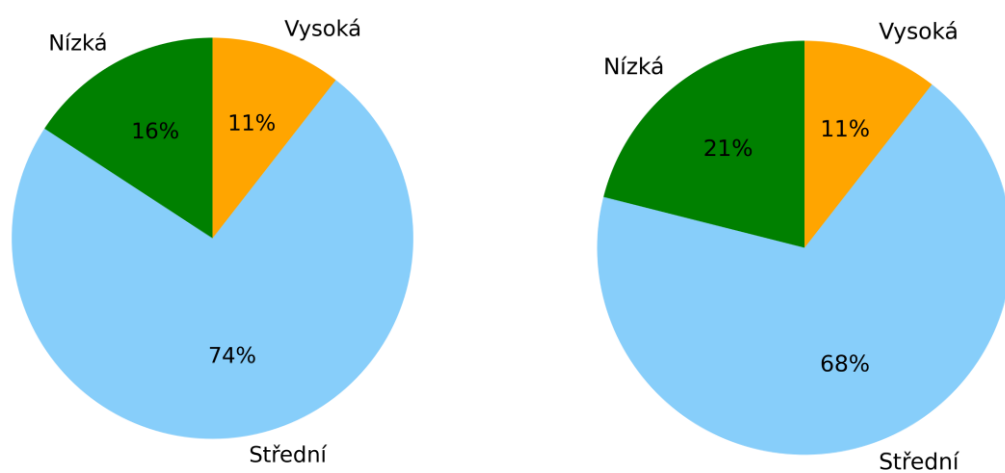
U velikosti a hmotnosti plodů spadalo přibližně 68 a 74 % genotypů do střední skupiny, zatímco 11 % vykazovalo vyšší hodnoty odpovídající nadprůměrné velikosti a hmotnosti. Nižší hodnoty byly zaznamenány u 16–21 % genotypů. Střední kategorie odpovídala průměrné velikosti 70–80 mm a hmotnosti 160–240 g, zatímco vyšší kategorie zahrnovala plody nad 240 g.

U pevnosti dužniny se většina genotypů (63 %) nacházela ve střední kategorii, zatímco 26 % genotypů vykazovalo vyšší pevnost (nad 6 b.) a pouze 11 % spadalo do nižší kategorie (pod 5 b.).

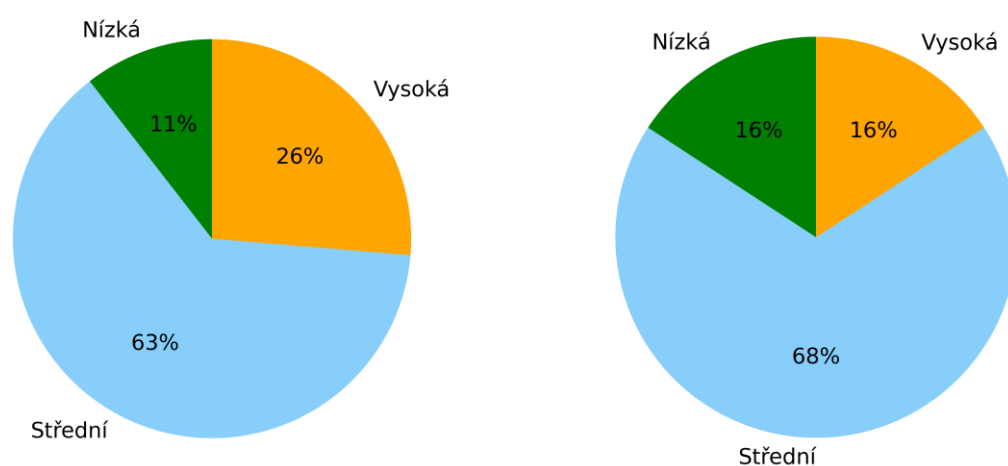
Násada plodů se vyznačovala obdobným rozložením – 68 % genotypů spadalo do střední kategorie (4–6 b.), zatímco 16 % dosáhlo vyšších hodnot (nad 6 b.) a stejný podíl vykazoval nižší násadu (pod 4 b.).

Výsledky potvrzují, že sledovaná kolekce jabloní zahrnuje dostatečně variabilní, avšak vyrovnané genotypy s rovnoměrným rozložením hodnot sledovaných znaků. Vyšší podíl středních kategorií odráží stabilitu fyziologických vlastností, zatímco menší skupina genotypů s nadprůměrnými parametry představuje výběrový materiál vhodný pro následnou šlechtitelskou práci a testování přizpůsobivosti.

Rozdělení genotypů podle Hmotnost (g) Rozdělení genotypů podle Velikost plodu (mm)



Rozdělení genotypů podle Pevnost plodu (1-9) Rozdělení genotypů podle Násada plodů (1-9)



Graf 1 Rozdělení genotypů do 3 kategorií podle hodnot pomologických vlastností

Podrobnější vyhodnocení výsledků jednotlivých genotypů jabloní potvrdilo vyrovnaný charakter kolekce a zároveň odhalilo výrazné rozdíly v základních pomologických znacích mezi hodnocenými typy (graf 2).

U hmotnosti a velikosti plodů se většina genotypů pohybovala ve středním až vyšším rozmezí sledovaných hodnot. Průměrná hmotnost plodů se u většiny genotypů pohybovala mezi 170–210 g, přičemž nadprůměrných hodnot nad 230 g dosahovaly genotypy 'HL 1282' (230,4 g), 'Reluga' (276,9 g) a 'HL 1343' (295,3 g). Tyto genotypy se vyznačovaly zároveň větší velikostí plodů (78–90 mm) a patří mezi nejperspektivnější materiály z hlediska tržní kvality. Naopak nejnižší hmotnost byla zaznamenána u genotypu 'HL 1311' (137,5 g), který však dosahoval nejvyšší násady plodů (7 b.). Standardní odrůda 'Gala' (174,3 g; 66,5 mm) byla potvrzena jako vyrovnaný referenční typ se střední velikostí a výbornou uniformitou plodů.

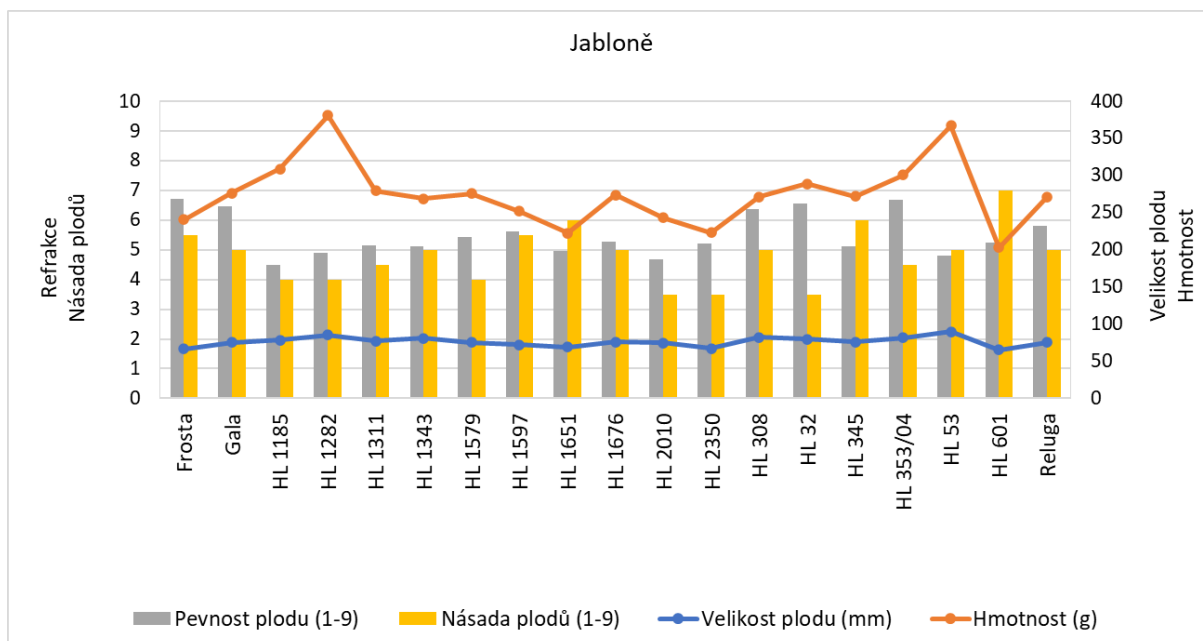
V pevnosti dužniny (hodnocené devítibodovou škálou) se většina genotypů nacházela ve střední kategorii (5–6 b.). Nejvyšší hodnoty pevnosti vykazovaly genotypy 'Gala' (6,7 b.), 'HL 601' (6,69 b.), 'HL 353/04' (6,55 b.), 'HL 1185' (6,47 b.) a 'HL 345' (6,35 b.), které lze označit za genotypy s pevnější dužninou. Nižší hodnoty (pod 5 b.) byly zjištěny u genotypů 'HL 1282', 'HL 308' a 'Reluga', což může souviset s vyšší velikostí plodů.

Násada plodů se u většiny genotypů pohybovala ve středním pásmu (4–6 b.), přičemž nejvyšší hodnoty byly zaznamenány u genotypů 'HL 1311' (7 b.), 'HL 53' (6 b.) a 'HL 2010' (6 b.). Tyto genotypy se vyznačovaly vysokou plodností, která může být výhodná v intenzivních pěstitelských systémech. Naopak nižší násadu (3–3,5 b.) měly genotypy 'HL 308', 'HL 32' a 'HL 353/04', což může být důsledkem nižšího přizpůsobení či střídavé plodnosti.

Získané výsledky potvrzují vysokou variabilitu v kvalitativních znacích mezi hodnocenými genotypy jabloní, přičemž nejlepší kombinaci hmotnosti, pevnosti a vyrovnané násady vykazovaly 'HL 601', 'HL 1185' a 'HL 345'. Tyto genotypy lze považovat za perspektivní pro další selekční práce zaměřené na kombinaci tržní kvality a fyziologické stability.

Standardní odrůdy všech hodnocených jabloní potvrdily svou stabilitu a použitelnost jako referenční materiál. Odrůda 'Gala' dosáhla pevnosti dužniny 6,7 b. a vyznačovala se vyrovnanou velikostí a pravidelným výnosem, zatímco 'Reluga' se zařadila mezi velkoplodé typy s hmotností 276,9 g, průměrnou pevností 4,8 b. a vyrovnanou násadou (5 b.). Odrůda 'Frosta' vykazovala střední hmotnost (195 g) a pevnost 5,8 b., což ji řadí mezi typy s dobrou tržní kvalitou. Tyto výsledky potvrzují stabilní kvalitu standardních odrůd a jejich vhodnost pro dlouhodobé srovnávací testování novošlechtění.

Celkově pomologická data jabloní potvrzují přítomnost širokého spektra genotypů s vyváženými kvalitativními vlastnostmi. Vybrané genotypy s nadprůměrnou velikostí a pevností plodů představují cenný zdroj materiálu pro následné fyziologické a biochemické analýzy a pro šlechtitelské využití při tvorbě nových, kvalitních a stabilních odrůd jabloní.



Graf 2 Srovnání genotypů podle pomologických vlastností

4.5.2. Biochemické znaky plodů

Biochemická analýza plodů jabloní doplnila pomologické hodnocení a umožnila komplexně posoudit nutriční a antioxidační profil sledovaných genotypů. Hodnoceny byly klíčové kvalitativní ukazatele — obsah celkové sušiny, vitamínu C, celkových polyfenolů a celková antioxidační kapacita. Tyto parametry společně poskytují důležitý obraz o chemickém složení plodů a jejich potenciální nutriční hodnotě.

Rozložení genotypů do kategorií (graf 3) ukázalo, že převažovala střední kategorie hodnot, což odráží vyrovnanost souboru a stabilní fyziologický stav hodnocených odrůd.

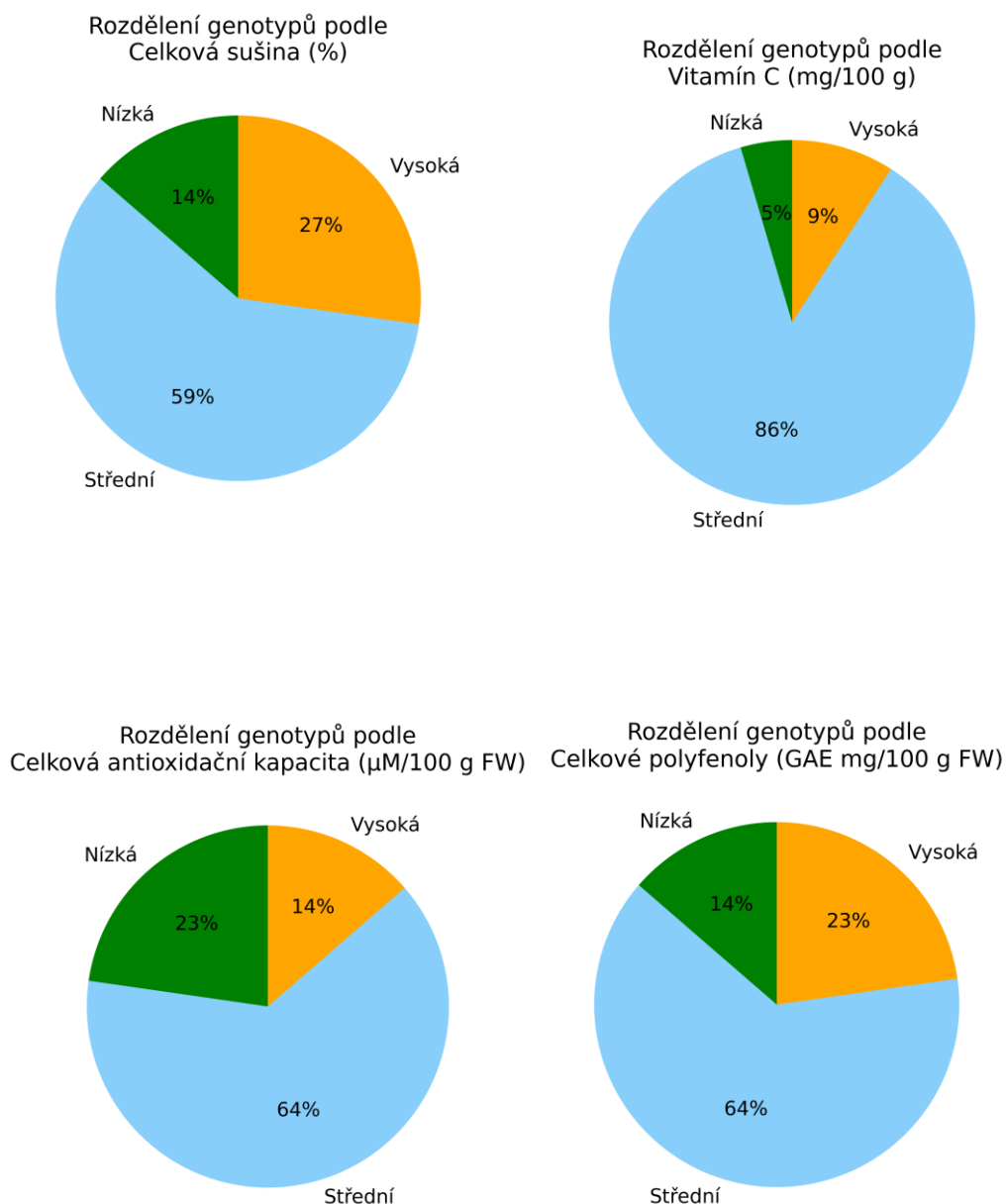
U celkové sušiny spadala většina genotypů (62 %) do střední kategorie s průměrnými hodnotami v rozmezí 12–16 %, zatímco 17 % typů vykazovalo vyšší obsah přesahující 16 %. Nižší obsah sušiny (< 12 %) byl zjištěn u 14 % genotypů.

Obsah vitamínu C byl vyrovnaný napříč kolekcí – 86 % genotypů spadalo do střední kategorie (6–13 mg/100 g FW), zatímco 9 % genotypů dosáhlo vyšších hodnot přesahujících 13 mg/100 g FW. Pouze jediný genotyp ('HL 53') vykazoval nižší obsah vitamínu C (< 6 mg/100 g FW). Celkově lze říci, že rozdíly mezi genotypy nebyly výrazné a většina vykazovala stabilní hladiny kyseliny askorbové.

V parametru celkové antioxidační kapacity převažovaly opět střední hodnoty (60–120 $\mu\text{M}/100 \text{ g FW}$), které zahrnovaly 64 % genotypů. Vyšší aktivitu (> 120 $\mu\text{M}/100 \text{ g FW}$) vykazovalo 14 % genotypů, zatímco 23 % genotypů bylo zařazeno do nižší kategorie (< 60 $\mu\text{M}/100 \text{ g FW}$). Tato distribuce naznačuje mírně užší rozsah variability, ale stále dostatečný potenciál pro selekci typů s vyšší antioxidační aktivitou.

U celkových polyfenolů byl zjištěn obdobný trend. 64 % genotypů spadalo do střední kategorie (75–160 mg GAE/100 g FW), zatímco 23 % bylo zařazeno do vysoké kategorie (> 160 mg GAE/100 g FW). Nižší hodnoty (< 75 mg GAE/100 g FW) byly zaznamenány u 14 % genotypů.

Hodnocený soubor jabloní byl biochemicky vyrovnaný, přičemž převážná část genotypů vykazovala střední úroveň všech sledovaných parametrů. Vyšší hodnoty celkové sušiny, polyfenolů a antioxidační aktivity se soustřeďovaly u menší části genotypů, které představují perspektivní materiál pro šlechtění odrůd se zvýšeným obsahem bioaktivních látek. Stabilita většiny parametrů napříč genotypy zároveň potvrzuje vhodnost hodnoceného materiálu pro dlouhodobé srovnávací studie kvality plodů.



Graf 3 Rozdělení genotypů jabloní do 3 kategorií podle hodnot biochemických vlastností plodů

Podrobnější vyhodnocení biochemických ukazatelů potvrdilo rozdíly mezi hodnocenými genotypy jabloní a umožnilo identifikovat typy s nadprůměrnými hodnotami sledovaných parametrů, zejména v obsahu celkové sušiny, vitamínu C, polyfenolických látek a antioxidační kapacity (graf 4).

Většina sledovaných genotypů vykazovala střední úroveň těchto znaků, což potvrzuje vyrovnanost kolekce, avšak u některých typů byly zaznamenány výrazně vyšší hodnoty, které poukazují na jejich zvýšený nutriční potenciál.

V parametru celkové sušiny dosahovaly nejvyšších hodnot genotypy 'HL 1185' (16,1 %), 'HL 32' (16,1 %), 'HL 1597' (15,1 %) a 'B 11' (15,1 %), zatímco standardní odrůda 'Frosta' vykazovala rovněž vysoký obsah (14,1 %) (graf 4). Tyto genotypy lze označit za nadprůměrné z hlediska koncentrace sušiny, která je významným ukazatelem tržní kvality. Střední hodnoty (12–14 %) se objevovaly u většiny sledovaných typů (např. 'HL 1311', 'HL 1343', 'HL 2350' a 'Reluga'), zatímco nižší obsah sušiny (< 11 %) byl zjištěn u 'HL 1194' a 'HL 308', které se vyznačovaly nižšími hodnotami i v dalších parametrech.

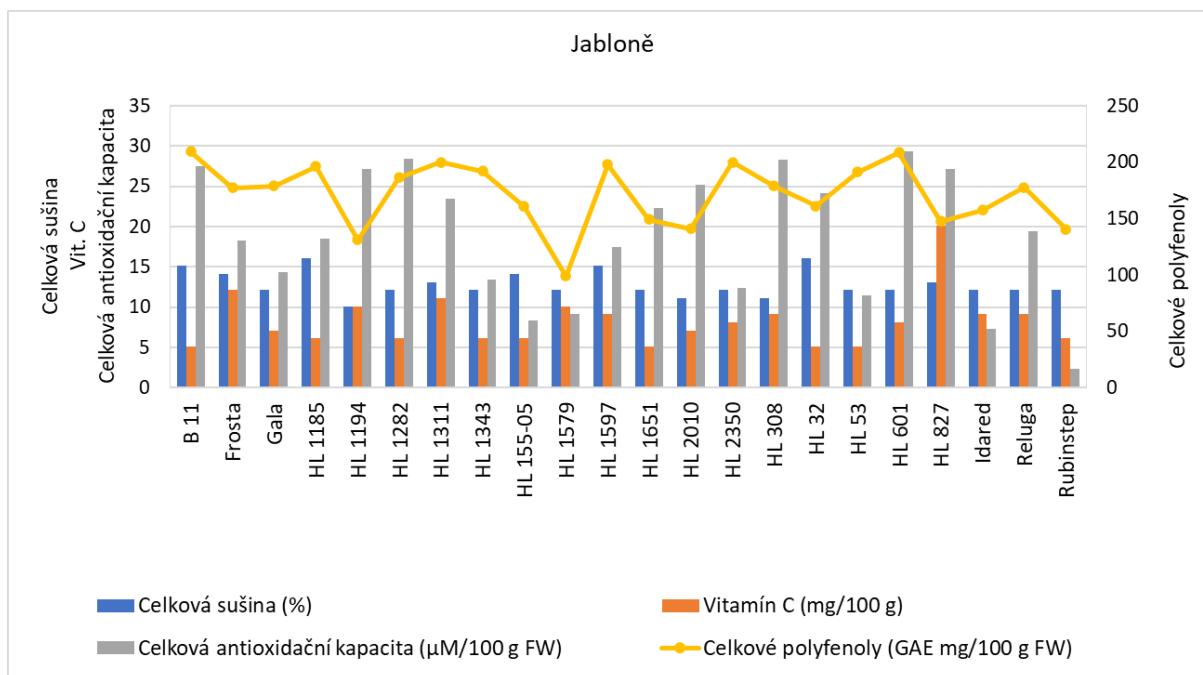
Obsah vitamínu C kolísá mezi genotypy v širším rozmezí, přičemž nejvyšší hodnoty dosáhly 'HL 827' (20,1 mg/100 g), 'HL 1311' (11,1 mg/100 g) a 'HL 1597' (9,1 mg/100 g). Tyto genotypy lze označit za nutričně nejvýznamnější. Odrůdy 'Reluga' a 'Idared' vykazovaly rovněž zvýšený obsah vitamínu C (9,1 mg/100 g), zatímco nižší hladiny (< 6 mg/100 g) byly zjištěny u 'HL 53', 'HL 1651' a 'HL 32'. Většina hodnocených typů se však soustředila do střední kategorie (6–12 mg/100 g), což naznačuje stabilní metabolismus askorbátu i dobrý potenciál pro skladovatelnost plodů.

Výsledky celkové antioxidační kapacity ukázaly výraznější rozptyl hodnot mezi genotypy. Nejvyšší aktivitu vykazoval 'HL 601' (29,4 μ M/100 g FW), následovaný 'HL 1282' (28,4 μ M/100 g FW), 'HL 308' (28,3 μ M/100 g FW) a 'B 11' (27,5 μ M/100 g FW). Tyto genotypy dosahovaly vysokých hodnot i v parametru polyfenolů, což potvrzuje silnou souvislost mezi obsahem fenolických látek a antioxidační aktivitou. Naopak nízké hodnoty (< 12 μ M/100 g FW) byly zjištěny u 'HL 53', 'HL 2350' a 'Idared'. Většina genotypů se pohybovala ve středním intervalu (13–25 μ M/100 g FW), který odpovídá vyváženému antioxidačnímu profilu typickému pro konzumní jablka.

Z hlediska celkového obsahu polyfenolů dosahovaly nejvyšších hodnot genotypy 'B 11' (209,2 mg GAE/100 g FW), 'HL 601' (208,5 mg GAE/100 g FW), 'HL 2350' (200 mg GAE/100 g FW) a 'HL 1311' (199,8 mg GAE/100 g FW). Tyto genotypy se vyznačovaly vyšším obsahem fenolických antioxidantů, které významně přispívají ke zdravotní hodnotě plodů. Vysoké koncentrace polyfenolů byly pozorovány i u 'HL 1597' a 'HL 1185'. Naopak nižší hodnoty (< 120 mg GAE/100 g FW) byly zjištěny u 'HL 1579' (99,0 mg GAE/100 g FW) a 'Rubinstep' (140,6 mg GAE/100 g FW). Střední kategorie zahrnovala převážnou část hodnocených genotypů (60–70 %), které vykazovaly vyrovnaný fenolický profil.

U standardních odrůd byla potvrzena očekávaná stabilita a vhodnost pro srovnávací hodnocení. Odrůda 'Frosta' vykazovala vyšší hodnoty vitamínu C (12,1 mg/100 g) a celkových polyfenolů (177,3 mg GAE/100 g FW) při vyrovnaném obsahu sušiny, zatímco 'Idared' byla charakteristická středními hodnotami všech sledovaných parametrů a dobrou rovnováhou mezi fenolickými látkami a antioxidační aktivitou. Tyto odrůdy tak mohou sloužit jako referenční standard pro hodnocení nových genotypů.

Získané výsledky potvrzují vysokou variabilitu sledovaných biochemických znaků mezi genotypy jabloní a zároveň poukazují na stabilní chemický profil většiny z nich. Genotypy s vyšším obsahem sušiny, vitamínu C a polyfenolů vykazují zvýšenou antioxidační aktivitu, což je důležité z hlediska výběru rodičovských komponentů při šlechtění odrůd s vyšší nutriční kvalitou a lepším přizpůsobením na stresové podmínky.



Graf 4 Srovnání genotypů podle biochemických vlastností plodů

4.5.3. Biochemické znaky listů

Průběh změn sledovaných biochemických ukazatelů v listech jabloní odrážel reakci rostlin na opakované střídání stresu suchem a následné rehydratace. Měření bylo provedeno v pěti termínech, přičemž první odběr představoval kontrolní stav plně zavlažovaných stromů. Termíny 2S a 4S odpovídaly dvoutýdennímu vystavení suchu, zatímco termíny 3R a 5R představovaly dvoutýdenní období rehydratace po obnovení zálivky. Celkový průběh změn jednotlivých ukazatelů je znázorněn v grafu 5.

Hladina peroxidu vodíku (H_2O_2), který je klíčovým indikátorem oxidačního stresu a signálním molekulárním regulátorem obranných reakcí, se postupně zvyšovala v průběhu sledování. Výchozí hodnota $41,5 \mu\text{mol/g FW}$ zaznamenaná u kontrolních rostlin vzrostla po první fázi stresu suchem na $66,7 \mu\text{mol/g FW}$. Po přechodném poklesu během rehydratace ($51,8 \mu\text{mol/g FW}$) následoval další nárůst při druhé stresové fázi ($63,9 \mu\text{mol/g FW}$) a maximum bylo dosaženo po druhé rehydrataci ($112,9 \mu\text{mol/g FW}$). Tento postupný nárůst signalizuje kumulativní efekt opakovaného stresu a pouze částečnou obnovu antioxidační rovnováhy po návratu k plné závlaze.

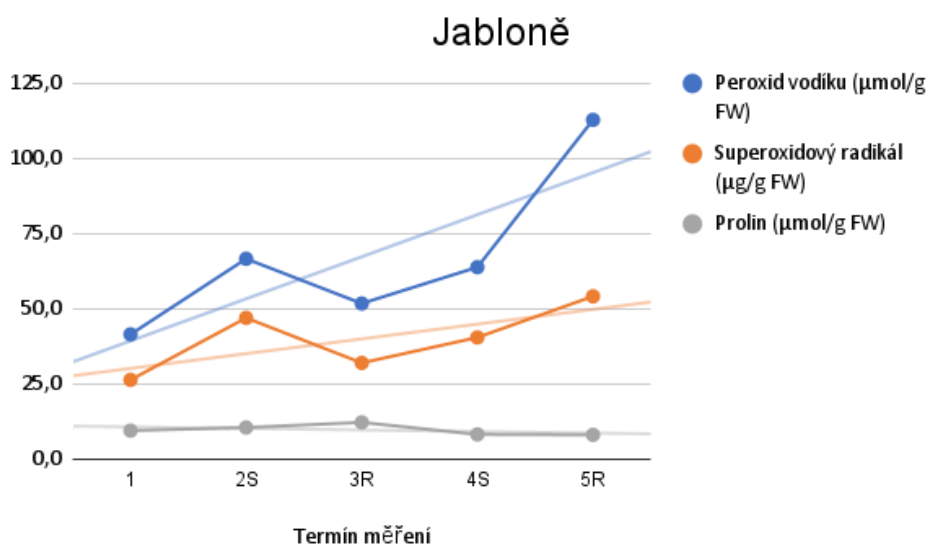
Podobný vývoj byl zaznamenán i u superoxidového radikálu (O_2^-), jehož koncentrace stoupala z $26,4 \mu\text{g/g FW}$ na počátku na $47,0 \mu\text{g/g FW}$ po prvním vystavení stresu suchem. Po mírném poklesu během rehydratace ($32,0 \mu\text{g/g FW}$) následovalo opětovné zvýšení ($40,5 \mu\text{g/g FW}$) a hodnoty dosáhly maxima v závěrečném odběru ($54,2 \mu\text{g/g FW}$). Průběh ukazuje, že systém produkce reaktivních forem kyslíku byl aktivován již při prvním navození stresu suchem a jeho aktivita dále rostla při opakovaném stresu, pravděpodobně v souvislosti se zhoršenou rovnováhou mezi oxidačními procesy a antioxidační ochranou v listech.

Odlíšný trend byl pozorován u prolinu, který je považován za hlavní osmotický regulátor a stresový marker. Jeho hladiny zůstaly po celou dobu experimentu relativně stabilní (8–12

$\mu\text{mol/g FW}$) a výrazně nerostly ani při stresu suchem. Nejvyšší hodnoty byly zaznamenány po první fázi rehydratace ($12,2 \mu\text{mol/g FW}$), což může souviset s obnovou buněčné aktivity a syntézou prolinu při rehydrataci pletiv. V závěru sledování však jeho obsah klesl ($8,1 \mu\text{mol/g FW}$), což naznačuje efektivní fyziologickou stabilizaci a možnou modifikaci listového aparátu na opakovaný stres.

Relativně nízká akumulace prolinu, navzdory působení vodního deficitu, může souviset s morfologickými a fyziologickými vlastnostmi listů jabloní. Listy mají výrazně vyvinuté trichomy a silnou voskovou kutikulu, které přispívají ke snížení transpirace a efektivní regulaci vodního režimu (Goncharovska and Szot, 2023). Tyto anatomické znaky mohou omezovat potřebu masivní osmotické kompenzace prostřednictvím prolinu. Zároveň jsou listy jabloní charakteristické vysokou aktivitou enzymatických antioxidantů (např. katalázy, peroxidázy), které účinně odbourávají reaktivní formy kyslíku (Abassi et al., 1998). Morfologické přizpůsobení, jako hustota trichomů a variabilita tvaru listu, jsou geneticky podmíněné a mohou významně přispívat k celkové odolnosti rostlin vůči abiotickému stresu (Migicovsky et al., 2018). V důsledku těchto morfologicko-fyziologických mechanismů zůstával metabolismus prolinu vyrovnaný a jeho zvýšená syntéza nebyla nezbytná pro udržení osmotické rovnováhy.

Celkově lze konstatovat, že sledované biochemické parametry reagovaly citlivě na střídání stresu suchem a rehydratace, přičemž nejvýraznější změny byly zaznamenány u oxidačních ukazatelů (H_2O_2 a O_2^-). Stabilní hladiny prolinu a postupné přizpůsobení rostlin naznačují účinné fyziologické mechanismy obrany, které jsou podmíněny jak funkční antioxidační kapacitou, tak morfologickými přizpůsobeními listového pletiva. Tyto výsledky potvrzují, že listy jabloní vykazují komplexní a stabilní reakci na periodický vodní stres, v níž se kombinuje biochemická regulace s morfologickou odolností.



Graf 5 Průběh zjištěných hodnot peroxidu vodíku, superoxidového radikálu a prolinu v listech jabloní v jednotlivých termínech měření. Termín 1 – počáteční stav (zavlažované rostliny); 2S a 4S – po dvoutýdenním období stresu suchem; 3R a 5R – po dvoutýdenní rehydrataci (závluka po navození stresu suchem)

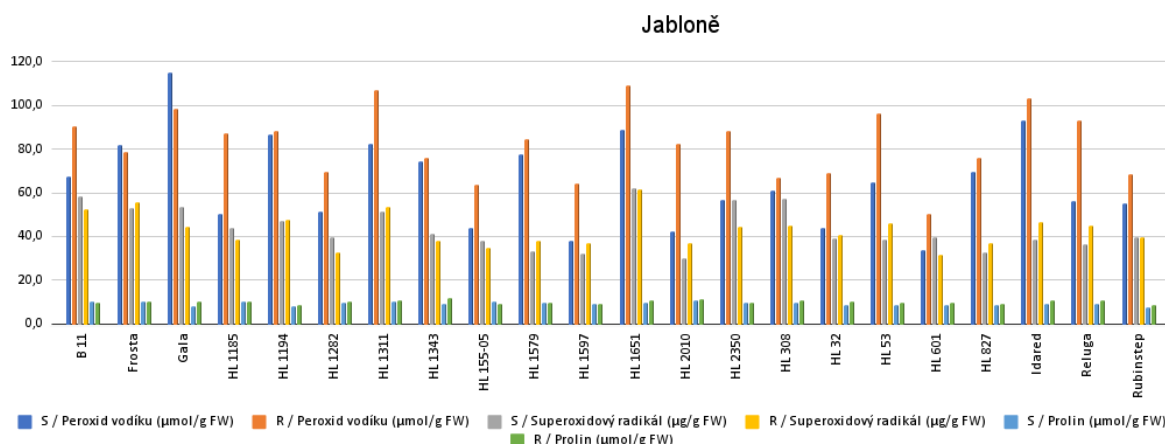
Podrobnější analýza mezi genotypy (graf 6) prokázala výraznou variabilitu v hladinách všech tří sledovaných biochemických parametrů, a to jak v podmínkách vystavení stresu suchem, tak v následném období rehydratace. Rozsah hodnot ukazuje rozdílnou intenzitu stresových reakcí i rozdíly ve schopnosti antioxidačního systému jednotlivých genotypů reagovat na vodní deficit.

V obsahu peroxidu vodíku byly patrné zřetelné rozdíly mezi genotypy. Nejvyšší hodnoty po vystavení stresu suchem dosáhl genotyp 'Gala' (115,1 $\mu\text{mol/g FW}$), následovaný 'HL 1651' (89,1 $\mu\text{mol/g FW}$) a 'Frosta' (82,1 $\mu\text{mol/g FW}$). Zvýšené hladiny byly rovněž pozorovány u 'Idared' a 'HL 1311', které si udržely vysoký obsah i v následné rehydrataci (nad 100 $\mu\text{mol/g FW}$). Naopak nižší hodnoty vykazovaly 'HL 601' a 'HL 1597', které reagovaly na stres pozvolněji a jejich akumulace peroxidu vodíku zůstala omezená. Po obnovení zálivky většina genotypů vykazovala opětovný nárůst obsahu H_2O_2 , což může odrážet sekundární aktivaci obranných mechanismů spojených s reparačními procesy buněčných struktur.

Také v případě superoxidového radikálu byly rozdíly mezi genotypy zřetelné. Nejvyšší hodnoty během navození stresu suchem dosáhl 'B 11' (58,6 $\mu\text{g/g FW}$), následovaný 'HL 1651' (62,1 $\mu\text{g/g FW}$) a 'Frosta' (53,1 $\mu\text{g/g FW}$). U většiny genotypů docházelo k mírnému snížení po rehydrataci, s výjimkou 'Frosta' a 'HL 1651', které si udržely vyšší úroveň i po návratu zálivky. Vyšší akumulace superoxidového radikálu může naznačovat intenzivnější aktivitu oxidáz a přechodné přetížení antioxidačního systému, zatímco nižší hodnoty u genotypů jako 'HL 1282' či 'HL 1311' ukazují na stabilnější regulaci redoxního metabolismu.

Obsah prolinu vykazoval na rozdíl od oxidačních ukazatelů pouze mírné odchylky mezi genotypy. Nejvyšší koncentrace byly naměřeny u 'HL 1651' (11,0 $\mu\text{mol/g FW}$), 'HL 1343' (12,2 $\mu\text{mol/g FW}$) a 'HL 2010' (11,4 $\mu\text{mol/g FW}$). U většiny genotypů zůstaly hladiny prolinu během vystavení stresu suchem relativně stabilní a po rehydrataci nedošlo k výraznému zvýšení, což potvrzuje, že tento metabolit nebyl hlavním mechanismem osmotického přizpůsobení.

Mezi sledovanými genotypy se projevila široká variabilita v intenzitě oxidačního stresu i v míře jeho kompenzace. Vyšší hodnoty oxidačních markerů během vystavení stresu suchem naznačují rozdíly ve schopnosti regulovat rovnováhu mezi tvorbou a odbouráváním reaktivních forem kyslíku, zatímco stabilní úroveň prolinu odráží účinné fyziologické mechanismy ochrany listů typické pro jabloně.



Graf 6 Rozdíly v koncentraci peroxidu vodíku, superoxidového radikálu a prolínu mezi genotypy jabloní v podmínkách navození stresu suchem (S) a rehydratace (R). Hodnoty představují průměry z víceletých měření

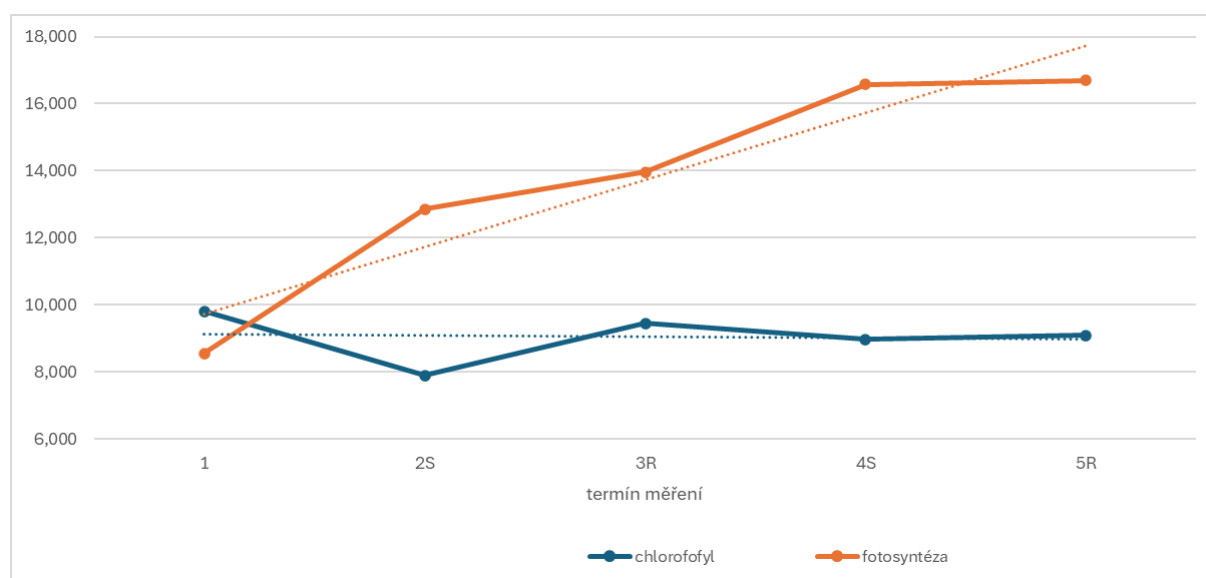
4.6. Fyziologické parametry hodnocení odolnosti k suchu

Hodnocení fyziologických parametrů se zaměřilo na charakterizaci genotypů jabloně v rámci působení vodního deficitu a následné rehydratace. Jednalo se o sledování rychlosti výměny plynů – fotosyntéza a transpirace, obsah chlorofylů a jejich fluorescence (Fv/Fm) a vodního potenciálu. Uvedené parametry jsou vhodnými indikátory působení stresoru na rostliny, a to zejména fluorescence chlorofylů a v případě vodního stresu také vodní potenciál. Dále se jedná o parametry, které odrážejí schopnost genotypů přizpůsobit se měnícím se podmínkám klimatu. Cílem proto bylo identifikovat rozdíly mezi genotypy, které mohou odrážet jejich odolnost vůči abiotickým stresům, zejména vodnímu deficitu (viz obr. 2) a následné rehydratace.



Obrázek 2 Reakce jabloní na postupný vodní deficit. Vlevo plně zavlažované rostliny, vpravo rostliny s omezenou závlivkou.

Změny vybraných fyziologických parametrů jabloní jsou uvedeny v grafech 7-9, V uvedených grafech je zaznamenána reakce rostlin na krátkodobé čtrnáctidenní vystavení stresu suchem (2S a 4S), které bylo vystřídáno stejně dlouhým obdobím rehydratace, v důsledku obnovení závlivky (3R a 5R). První kontrolní měření se uskutečnilo u plně zavlažovaných rostlin.



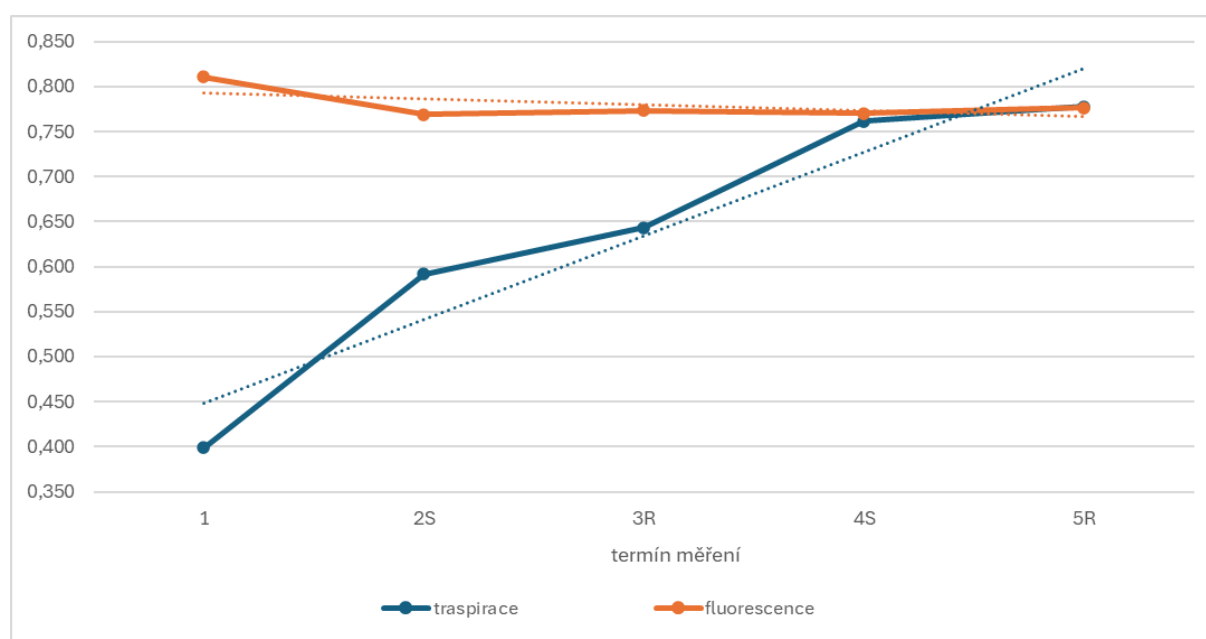
Graf 7 Změny hodnot obsahu chlorofylů (nM/cm²) a rychlosti fotosyntézy (mmol CO₂/m²/s). Termín 1 – počáteční stav (zavlažované rostliny); 2S a 4S – po dvoutýdenním vystavení stresu suchem ; 3R a 5R – po dvoutýdenní rehydrataci (závlivka po vystavení stresu suchem)

Jedním z fyziologických parametrů vlivu stresu na rostliny je obsah fotosynteticky aktivních pigmentů, kdy dochází především ke změnám na úrovni tvorby chlorofylů a ke změnám v koncentraci jednotlivých karotenoidů, jako významných antioxidačních látek. Vlivem stresu dochází k poklesu obsahu chlorofylů u rostlin stresovaných, v porovnání s obdobím plné rehydratace (9,80 nM/cm²), viz graf 7. U jabloní byl nižší obsah chlorofylů zjištěn u prvního vystavení stresu suchem (7,90 nM/cm²) ve srovnání s termínem druhým, kdy se obsah pigmentů zvýšil na hodnotu 8,96 nM/cm². Podobně bylo zvýšení zaznamenáno po následné rehydrataci (9,09 nM/cm²), avšak obsah pigmentů i po dodání závlahové vody byl nižší než u kontrolních rostlin. Jabloně lépe reagovaly zvýšením pigmentů v případě prvního období rehydratace (9,44 nM/cm²).

Vlivem nižšího obsahu chlorofylů dochází k omezování tvorby asimilátů, snížení velikosti listové plochy a následně fotosyntézy a transpirace. V tomto případě se jedná o nestomatální inhibici výměny plynů, kdy z výsledků je patrné, že stres snižuje rychlost fotosyntézy. Na počátku sledované periody působení stresoru byla rychlost fotosyntézy 8,54 mmol CO₂/m²/s. Po prvním období vystavení stresu suchem se rychlost fotosyntézy zvýšila vlivem ontogenetického vývoje rostlin na úroveň 12,86 mmol CO₂/m²/s. V důsledku opětovné rehydratace (3R) se fotosyntéza zvýšila na hodnotu 13,96 mmol CO₂/m²/s. Po opětovném působení stresu (4S) se fotosyntéza opět zvýšila, v důsledku ontogenetického vývoje, kdy stres byl navozen v době zvětšování plodů 16,257 mmol CO₂/m²/s a v následné rehydrataci je

možné zaznamenat její opětovný nárůst $16,70 \text{ mmol CO}_2/\text{m}^2/\text{s}$. Trend nárůstu rychlosti fotosyntézy v závislosti na zálivce ukazuje na postupnou obnovu buněčného napětí v buňkách, otevření průduchů (stomatální vodivost) a obnovení aktivity zejména enzymu RUBISCO. Obdobný trend je možné zaznamenat také u rychlosti transpirace, jak dokládá graf 8.

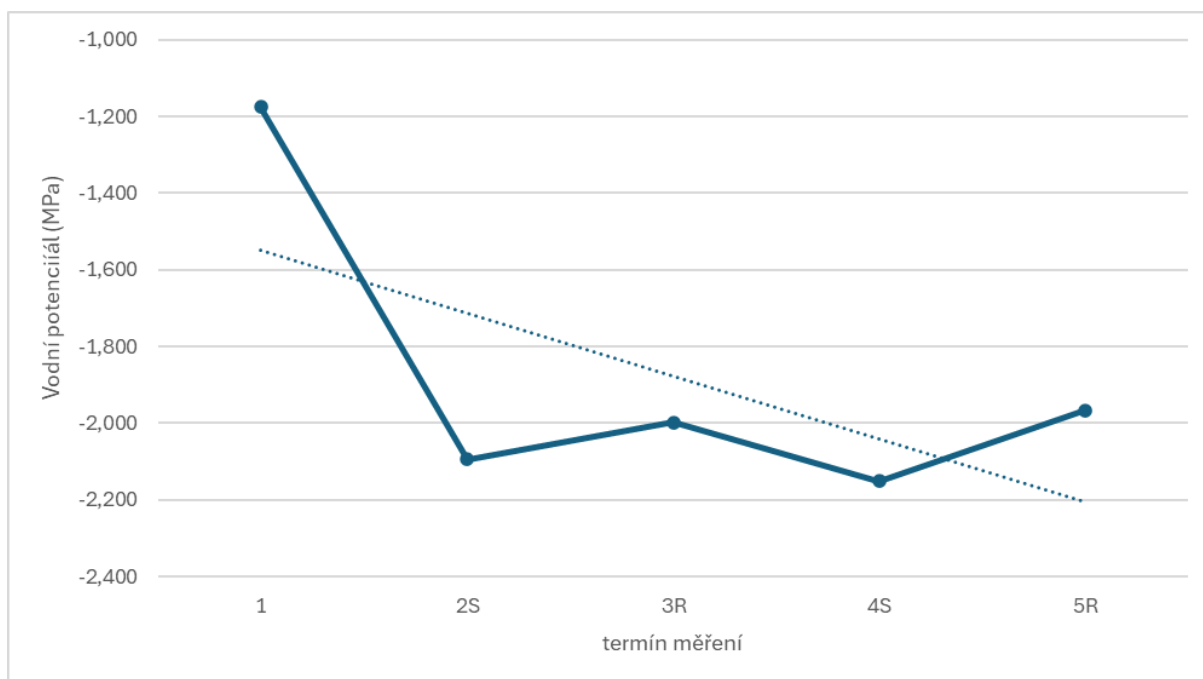
Významným fyziologickým parametrem, kterým je možné detekovat míru odolnosti rostlin vůči stresu je nedestruktivní měření fluorescence chlorofylů. Tento parametr detekuje ztráty funkce reakčních center PSII pomocí poměru F_v/F_m (variabilní fluorescence ku fluorescenci maximální), který představuje odhad maximální fotochemické účinnosti. Hodnoty F_v/F_m se obvykle pohybují mezi 0,75 a 0,85, což je úměrné kvantovému výtěžku fotochemie. Pokles těchto hodnot je brán jako dobrý ukazatel fotoinhibice, která může být důsledkem poklesu rychlostní konstanty fotochemie PSII způsobeného poškozením reakčních center PSII. Tento poměr však s rostoucím stresem klesá. Výsledky poměru F_v/F_m prokázaly pokles u rostlin stresovaných v prvním (2S) a druhém období stresu (4S), kdy naměřené hodnoty fluorescence byly 0,769 a 0,770, neboť na počátku sledovaného období byl poměr F_v/F_m 0,811. Naopak v období obnovení zálivky se hodnoty fluorescence zvýšily na 0,773 (3R) a 0,777 (5R). Z těchto hodnot je patrné, že u rostlin jabloní byl detekován spíše mírný vodní deficit.



Graf 8 Změny hodnot rychlosti transpirace ($\text{mmol H}_2\text{O}/\text{m}^2/\text{s}$) a fluorescence chlorofylu (F_v/F_m). Termín 1 – počáteční stav (zavlažované rostliny); 2S a 4S – po dvoutýdenním vystavení stresu suchem; 3R a 5R – po dvoutýdenní rehydrataci (zálivka po vystavení stresu suchem)

Vodní potenciál listů popisuje stav vody v rostlině a jejím okolí, viz graf 9. Uvedená charakteristika nás informuje o tom, zda a v jaké míře rostlina trpí stresem. U zavlažovaných rostlin se vodní potenciál obvykle pohybuje od $-0,2$ do $-0,6 \text{ MPa}$, kdežto u rostlin, které rostou v podmínkách stresu se vodní potenciál snižuje. Vlivem snížení vodního potenciálu nejen v rostlině, ale také v půdě dochází k horšímu zásobování vodou v nadzemních orgánech, čímž se

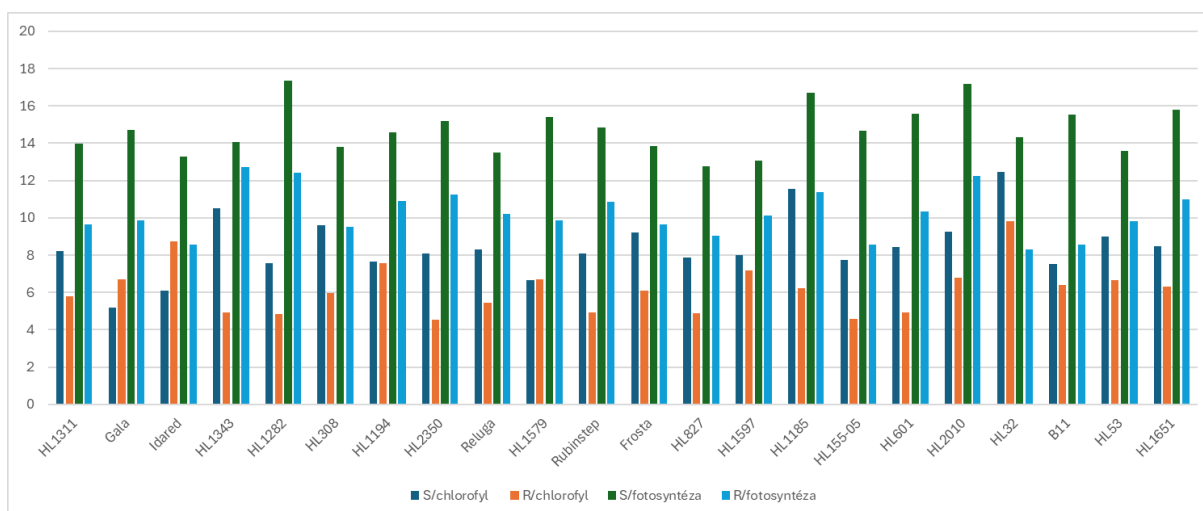
sníží také buněčné napětí. Z naměřených hodnot vodního potenciálu je patrné, že u plně zavlažovaných rostlin byla hodnota vodního potenciálu ve výši $-1,18$ MPa. Po navození vodního deficitu, termíny 2S a 4S, a to v obou případech je patrný výrazný pokles vodního potenciálu na úroveň $-2,09$ a $-2,15$ MPa, což signalizuje spíše mírný až středně silný stres. Ani po opětovné rehydrataci nebyla dosažena hodnota kontrolních rostlin, neboť naměřené hodnoty vodního potenciálu byly v termínu 3R $-2,00$ MPa a 5R $-1,97$ MPa. Uvedené hodnoty signalizují mírný stres, který je způsoben postupnou obnovou buněčného napětí a rehydratace jednotlivých pletiv a orgánů.



Graf 9 Změny hodnot vodního potenciálu (MPa). Termín 1 – počáteční stav (zavlažované rostliny); 2S a 4S – po dvoutýdenním vystavení stresu suchem; 3R a 5R – po dvoutýdenní rehydrataci (zálivka po vystavení stresu suchem)

Je možné konstatovat, že sledované fyziologické charakteristiky jsou ovlivněny nejen vodním deficitem a následným obnovením zálivky, ale také ontogenetickým vývojem, který se výrazně projevuje především u rychlosti fotosyntézy a transpirace. Trendy u jednotlivých fyziologických parametrů vykazují shodu v reakci na vodní stres, kdy se snížily. V případě rehydratace dochází k nárůstu hodnot, avšak po obnovení zálivky není dosaženo hodnot plně zavlažovaných rostlin. Pro detekci míry poškození fotosyntetického aparátu rostlin v důsledku vodního stresu je vhodným parametrem fluorescence chlorofylů, vyjádřená poměrem F_v/F_m a vodní režim rostlin.

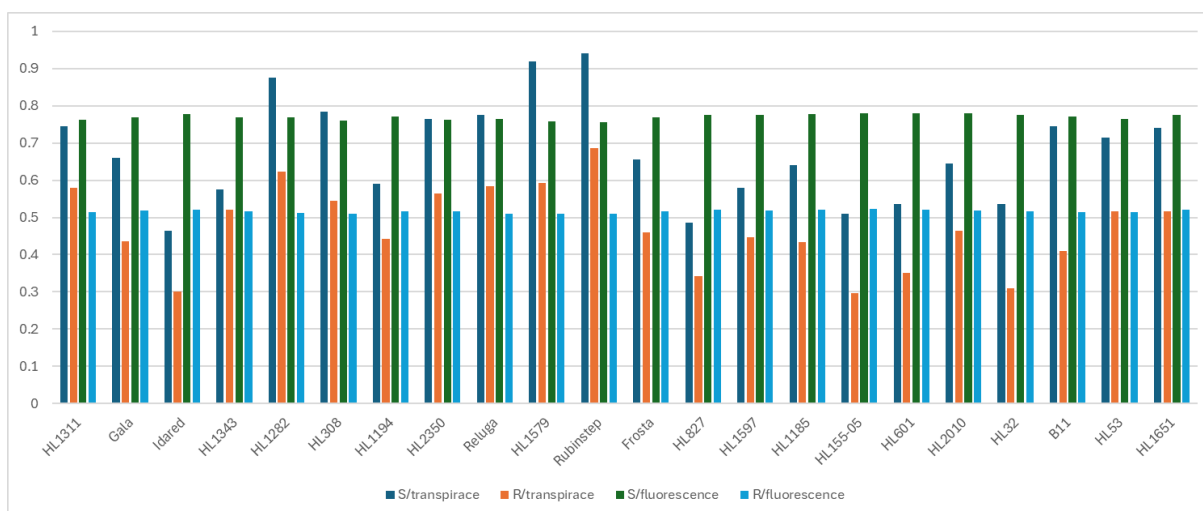
V rámci jednotlivých genotypů byly nalezeny rozdíly v hodnotách jednotlivých charakteristik v závislosti na působení stresoru a rehydratace, jak dokládá graf 10. Uvedené změny demonstrují schopnost fotosyntetického aparátu se přizpůsobit stresu v důsledku spuštění obranných reakcí, včetně změny v množství fotosynteticky aktivních pigmentů a obnovení turgoru.



Graf 10 Změny hodnot obsahu chlorofylů (nM/cm^2) a rychlosti fotosyntézy ($\text{mmol CO}_2/\text{m}^2/\text{s}$) jednotlivých genotypů ovlivněných stresem (S) a následnou rehydratací (R). Hodnoty představují průměry z víceletých měření.

Z uvedeného grafu 10 jsou patrné rozdíly v obsahu chlorofylů a rychlosti fotosyntézy u sledovaných genotypů. V průběhu působení vodního deficitu vykazují nejvyšší hodnoty obsahu chlorofylů v listech např. genotypy 'HL 32' ($12,47 \text{ nM}/\text{cm}^2$), 'HL 1185' ($11,56 \text{ nM}/\text{cm}^2$), 'Frosta' ($9,22 \text{ nM}/\text{cm}^2$), 'HL 1651' ($8,50 \text{ nM}/\text{cm}^2$) a 'HL 1311' ($8,23 \text{ nM}/\text{cm}^2$). Naopak na straně druhé nízký obsah chlorofylů byl detekován u genotypů 'HL 1597' ($7,99 \text{ nM}/\text{cm}^2$), 'Idared' ($6,08 \text{ nM}/\text{cm}^2$) a 'Gala' ($5,19 \text{ nM}/\text{cm}^2$). Po obnovení zálivky většina genotypů vykazovala pokles obsahu chlorofylů, což může souviset s postupnou a pozvolnou obnovou tvorby chlorofylů a s mírou poškození membrán chloroplastů v důsledku vzniklého oxidačního stresu. U genotypů 'Gala' a 'Idared' se obsah pigmentů po obnovení zálivky zvýšil v porovnání se stresovanými rostlinami o $1,49 \text{ nM}/\text{cm}^2$ a $2,64 \text{ nM}/\text{cm}^2$. U genotypu 'HL 1194' byl obsah pigmentů mezi variantami shodný. U genotypů 'HL 1343', 'HL 308' a 'HL 1185' byl zaznamenán nejvýraznější pokles obsahu chlorofylů u rehydratovaných rostlin o $5,60 \text{ nM}/\text{cm}^2$, $5,35 \text{ nM}/\text{cm}^2$ a $3,63 \text{ nM}/\text{cm}^2$.

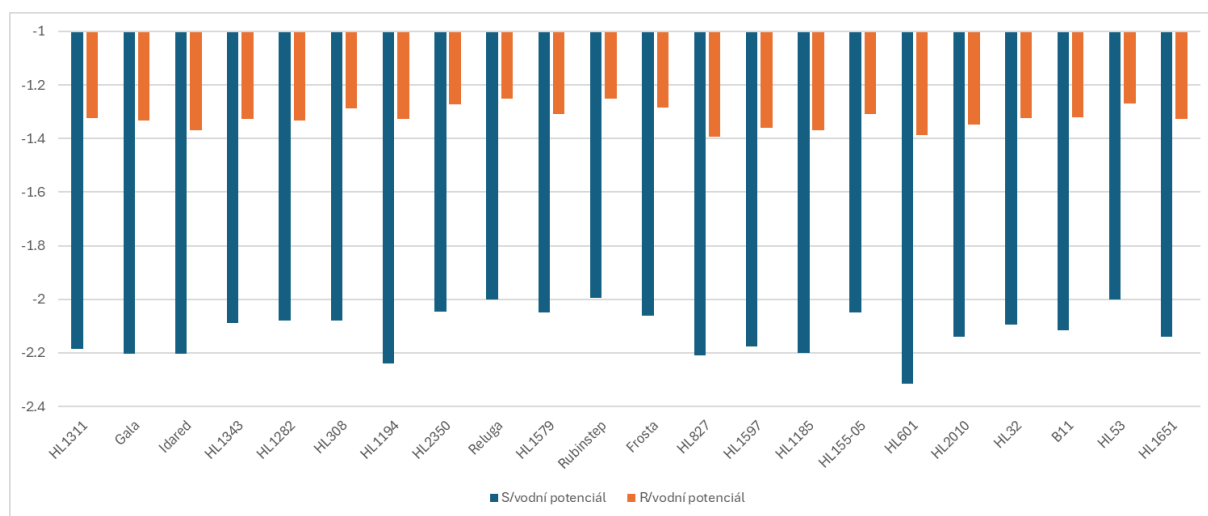
Rychlost fotosyntézy jabloní byla ovlivněna vývojovou fází, neboť v důsledku vývoje fotosyntetického aparátu její hodnoty narůstají, a to u obou variant. Vzhledem k poškození fotosyntetického aparátu, které souvisí s obsahem chlorofylů, ale také využitím slunečního záření, včetně transportu elektronů. Rychlost fotosyntézy stresovaných rostlin byla nejvyšší u genotypů 'HL 1282' ($17,36 \text{ mmol CO}_2/\text{m}^2/\text{s}$), 'HL 2010' ($17,19 \text{ mmol CO}_2/\text{m}^2/\text{s}$), 'HL 1185' ($16,71 \text{ mmol CO}_2/\text{m}^2/\text{s}$) a 'HL 601' ($15,58 \text{ mmol CO}_2/\text{m}^2/\text{s}$). Nejnižší průměrná rychlost fotosyntézy byla zaznamenána u genotypů 'Reluga' ($13,51 \text{ mmol CO}_2/\text{m}^2/\text{s}$), 'Idared' ($13,30 \text{ mmol CO}_2/\text{m}^2/\text{s}$), 'HL 1597' ($13,06 \text{ mmol CO}_2/\text{m}^2/\text{s}$) a 'HL 807' ($12,76 \text{ mmol CO}_2/\text{m}^2/\text{s}$). Rychlost transpirace se zvyšovala vlivem rehydratace v porovnání se stresovými rostlinami, ale nedosáhla hodnot plně zavlažovaných rostlin. Obdobný trend byl nalezen také v případě rychlosti transpirace, jak dokládá graf 11.



Graf 11 Změny hodnot rychlosti transpirace ($\text{mmol H}_2\text{O/m}^2/\text{s}$) a fluorescence chlorofylu (F_v/F_m) jednotlivých genotypů ovlivněných stresem (S) a následnou rehydratací (R). Hodnoty představují průměry z víceletých měření.

Hodnoty fluorescence byly v rámci jednotlivých genotypů jabloní poměrně vyrovnaná (graf 11). Fluorescence hodnocená poměrem F_v/F_m ukazuje na míru poškození transportu elektronů, který souvisí nejen s nedostatkem vody, ale také s oxidativním stresem. Naměřené hodnoty stresovaných rostlin ukazují spíše na mírný vodní stres, který odráží také hodnoty vodního potenciálu rostlin. Po navození rehydratace se sice hodnoty fluorescence zvyšují, ale v porovnání pouze se stresovanými rostlinami jsou hodnoty nižší, neboť rehydratací dochází k postupné obnově chlorofylů a transportu asimilátu a snížení disipace uvolněné tepelné energie.

Z grafu 12 jsou patrné rozdíly vodního režimu u sledovaných genotypů. V průběhu působení vodního deficitu vykazují nejnižší hodnoty vodního potenciálu listů např. genotypy 'HL 601' (-2,32 MPa); 'HL 1194' (-2,24 MPa); 'HL 827' (-2,21 MPa); 'HL 1311' (-2,19 MPa); 'Gala' a 'Idared' (-2,21 MPa). Naopak na straně druhé nízký vodní potenciál, blížíci se rostlinám plně zavlažovaným, byl detekován u genotypů 'Rubinstep' (-1,99 MPa); 'HL 53' a 'Reluga' (-2,00 MPa); 'HL 2350', 'HL 155-05' a 'HL 1579' (-2,05 MPa). Po obnovení závlaky všechny genotypy vykazovaly nárůst vodního potenciálu, což může souviset s postupnou rehydratací a obnovou turgoru. Nejvyšší nárůst vodního potenciálu byl zjištěn u genotypů 'HL 1311' (-1,32 MPa); 'HL 827' (-1,39 MPa) a 'HL 601' (-1,39 MPa); 'Idared' a 'HL 1185' (-1,37 MPa). Na straně druhé nejnižší nárůst vodního režimu byl stanoven u genotypů 'Rubinstep' a 'Reluga' (-1,25 MPa); 'HL 53' a 'HL 2350' (-1,27 MPa); 'Frosta' (-1,28 MPa). Na rehydrataci nejlépe reagovaly genotypy 'HL 1311'; 'HL 601'; 'HL 1194' a 'Gala'. Naopak nejnižší nárůst vodního potenciálu u rostlin rehydratovaných byl změřen u genotypů 'Reluga', 'Rubinstep', 'HL 53'; 'HL 1579' a 'HL 155-05'.



Graf 12 Změny hodnot vodního potenciálu (MPa) jednotlivých genotypů ovlivněných stresem (S) a následnou rehydratací (R). Hodnoty představují průměry z víceletých měření.

5. ZÁVĚREČNÉ SHRNUÍ DOPORUČENÍ

5.1. Doporučené markery

Integrované hodnocení reakce genotypů jabloní na vodní deficit prokázalo, že míra tolerance k suchu je výsledkem koordinace několika klíčových fyziologických a biochemických mechanismů. Z testovaného souboru ukazatelů se jako nejvhodnější pro popis suchovzdornosti ukázaly:

- koncentrace reaktivních forem kyslíku – peroxid vodíku (H_2O_2) a superoxidový radikál ($\bullet\text{O}_2^-$),
- rychlost fotosyntézy,
- fluorescence chlorofylu (F_v/F_m),
- vodní potenciál listů.

Tyto parametry nejlépe vystihují funkční stav fotosyntetického aparátu, účinnost antioxidační ochrany a schopnost udržet vodní bilanci během vystavení stresu suchem (S) i následné rehydratace (R). V metodice jsou proto považovány za primární markery odolnosti k suchu.

Tolerantní genotypy by se měly vyznačovat mírnou až střední akumulací reaktivních forem kyslíku v období vystavení stresu suchem a jejich výrazným poklesem po rehydrataci, udržením relativně vysoké rychlosti fotosyntézy a jen omezeným poklesem fluorescence chlorofylu. Vodní potenciál by se u nich po zálivce měl rychle vrátit k hodnotám blízkým kontrolnímu stavu.

Citlivé genotypy naopak by měly vykazovat výraznou a přetrvávající akumulaci reaktivních forem kyslíku, hlubší a déletrvající pokles fotosyntézy a fluorescence chlorofylu a pomalou či neúplnou obnovu vodního potenciálu.

Prolin, obsah chlorofylů a transpirace se ukázaly jako ukazatele s podpůrným (doplňkovým) významem – měly by pomáhat zpřesnit interpretaci hlavních markerů, ale samy o sobě nedokážou spolehlivě odlišit tolerantní a citlivé genotypy. Z pohledu praktické selekce jsou proto za nejrelevantnější považovány koncentrace peroxidu vodíku a superoxidového radikálu, rychlost fotosyntézy, fluorescence chlorofylu a vodní potenciál, které jsou dále podrobně charakterizovány v následujících podkapitolách.

5.2. Třídění genotypů podle rozmezí hodnot

Na základě víceletých výsledků lze genotypy jabloní orientačně rozdělit do kategorií podle toho, zda v období vystavení stresu suchem (S) a následné rehydratace (R) splňují následující kritéria. Hodnoty jsou uvedeny jako orientační intervaly pro hlavní markery:

Tolerantní genotypy zpravidla vykazují:

- vodní potenciál v období vystavení stresu suchem okolo $-2,0$ až $-2,2$ MPa a po rehydrataci návrat k hodnotám zhruba $-1,3$ až $-1,5$ MPa, přičemž amplituda mezi S a

R je relativně malá,

- koncentrace peroxidu vodíku v období vystavení stresu suchem přibližně 60–90 $\mu\text{mol/g FW}$ s výrazným poklesem po rehydrataci na cca 50–70 $\mu\text{mol/g FW}$,
- koncentrace superoxidového radikálu v období vystavení stresu suchem zhruba 35–50 $\mu\text{g/g FW}$ a hodnoty $< 40 \mu\text{g/g FW}$ po rehydrataci,
- relativně stabilní fluorescenci chlorofylu – ve stresu hodnoty $F_v/F_m \geq 0,77$ a po rehydrataci návrat k intervalu 0,78–0,80,
- rychlost fotosyntézy v období vystavení stresu suchem v horní části spektra pozorovaných hodnot (cca 15–17 $\mu\text{mol CO}_2/\text{m}^2/\text{s}$) a zřetelnou obnovu na úroveň kontrol po rehydrataci.

Citlivé genotypy se naopak vyznačují:

- hlubokým poklesem vodního potenciálu v období vystavení stresu suchem (často pod $-2,3 \text{ MPa}$) a velkou amplitudou mezi stresem a rehydratací,
- vysokými koncentracemi peroxidu vodíku v období vystavení stresu suchem (často $> 100 \mu\text{mol/g FW}$) i po rehydrataci (nad 80 $\mu\text{mol/g FW}$),
- trvale zvýšenými koncentracemi superoxidového radikálu s omezeným poklesem po zálivce,
- poklesem fluorescence chlorofylu ve stresu na hodnoty $\approx 0,75$ a méně a neúplnou obnovou po rehydrataci,
- výrazným útlumem fotosyntézy (hodnoty v období vystavení stresu suchem v dolní části spektra, kolem 12–13 $\mu\text{mol CO}_2/\text{m}^2/\text{s}$) a pomalým návratem k výchozím hodnotám.

Tato rozmezí slouží jako praktický rámec pro orientační zařazení genotypů. Jednotlivá pracoviště mohou pro interní účely použít bodové nebo vážené schéma; metodika však pro popis výsledků pracuje s hodnotovými rozmezími a kategoriemi tolerance.

5.2.1. Řazení genotypů do kategorií

Na základě souhrnu fyziologických a biochemických parametrů a jejich chování v průběhu sucha a rehydratace lze uvést typické zástupce tolerantních a citlivých genotypů jabloní (tabulka 1).

Tabulka 1 Kategorizace genotypů jabloní podle odolnosti k suchu

Kategorie	Charakteristika fyziologické a biochemické odpovědi	Genotypy
Tolerantní	Mírná až střední akumulace H_2O_2 v období vystavení stresu suchem (cca 60–90 $\mu\text{mol/g FW}$) s poklesem po rehydrataci na přibližně 50–70 $\mu\text{mol/g FW}$; superoxidový radikál po rehydrataci obvykle pod 40 $\mu\text{g/g FW}$; zachování střední až vyšší rychlosti fotosyntézy během období vystavení stresu suchem (většinou $\geq 15 \mu\text{mol CO}_2/\text{m}^2/\text{s}$) a její dobrá obnova; jen mírný pokles fluorescence chlorofylu (F_v/F_m ve stresu kolem nebo nad 0,77) a její úplná nebo téměř úplná regenerace; rychlá normalizace vodního potenciálu po zálivce.	HL 2010 HL 1343 HL 1282 HL 1579 Rubinstep HL 1311
Citlivé	Vysoké koncentrace H_2O_2 v období vystavení stresu suchem (často $> 100 \mu\text{mol/g FW}$) i po rehydrataci; trvale zvýšený superoxidový radikál; výrazný útlum fotosyntézy (hodnoty ve stresu v dolní části range, kolem 12–13 $\mu\text{mol CO}_2/\text{m}^2/\text{s}$) a jen částečná obnova; hlubší pokles fluorescence chlorofylu a její neúplná regenerace; výraznější pokles vodního potenciálu a pomalý návrat k příznivým hodnotám.	HL 827 HL 32 HL 2350 HL 308 Gala HL 1651

Toto rozdělení je výsledkem kombinovaného hodnocení jednotlivých parametrů v rámci uvedených hodnotových rozmezí.

5.2.2. Fyziologické a biochemické parametry s nejvyšší vypovídací schopností

5.2.2.1. Primární markery suchovzdornosti

Vodní potenciál

Vodní potenciál je přímým ukazatelem vodního režimu rostliny. U zavlažovaných rostlin by se měl pohybovat zhruba kolem $-1,1$ až $-1,3$ MPa. Během vystavení stresu suchem by měl klesat na hodnoty přibližně $-2,0$ až $-2,3$ MPa, u nejcitlivějších genotypů až kolem $-2,3$ až $-2,4$ MPa.

Tolerantní genotypy by se měly po rehydrataci vrátit k hodnotám zhruba $-1,3$ až $-1,5$ MPa, přičemž rozdíl mezi obdobími vystavení stresu suchem a rehydratace zůstává relativně malý. Menší amplituda mezi fázemi vystavení stresu suchem a rehydratace signalizuje efektivní regulaci vodní bilance a dobrou funkci kořenového systému i stomatální regulace.

Citlivé typy by měly vykazovat větší kolísání vodního potenciálu a hlubší pokles během vystavení stresu suchem, často k hodnotám pod $-2,3$ MPa. Obnova vodního potenciálu po

rehydrataci by měla být pomalejší a neúplná – hodnoty zůstávají relativně nízké (více záporné), což svědčí o omezené schopnosti udržet vodu v pletivech a o vyšší zranitelnosti vůči dehydrataci.

Reaktivní formy kyslíku (peroxid vodíku a superoxidový radikál)

Reaktivní formy kyslíku indikují míru oxidativního poškození a zátěž antioxidačních systémů. Na základě analýz lze charakterizovat tyto orientační intervaly:

Peroxid vodíku (H_2O_2)

- výchozí stav (1) – v průměru kolem 40–45 $\mu\text{mol/g FW}$,
- první stres (2S) – nárůst k cca 65–70 $\mu\text{mol/g FW}$,
- první rehydratace (3R) – pokles na cca 50–55 $\mu\text{mol/g FW}$,
- u některých genotypů při opakovaném zatížení by mohly být dosaženy hodnoty přes 90–100 $\mu\text{mol/g FW}$, zejména u citlivých typů.

Tolerantní genotypy v období vystavení stresu suchem obvykle by měly dosahovat koncentrace H_2O_2 v rozmezí zhruba 60–90 $\mu\text{mol/g FW}$ a po rehydrataci výrazný pokles přibližně na 50–70 $\mu\text{mol/g FW}$. Citlivé genotypy by měly v období vystavení stresu suchem mít hodnoty > 100 $\mu\text{mol/g FW}$ a po zálivce jejich hodnoty by měly zůstat zvýšené nad cca 80 $\mu\text{mol/g FW}$.

Superoxidový radikál ($\bullet O_2^-$)

- ve období stresu by se v průměru měl pohybovat kolem 45–50 $\mu\text{g/g FW}$,
- po rehydrataci by měl klesat na hodnoty okolo 32–40 $\mu\text{g/g FW}$.

U tolerantních genotypů by se koncentrace superoxidového radikálu v období vystavení stresu suchem měl pohybovat v rozmezí 35–50 $\mu\text{g/g FW}$ a po rehydrataci by měl klesat pod 40 $\mu\text{g/g FW}$. U citlivých genotypů by se hodnoty měly držet na vyšší úrovni a jejich pokles po rehydrataci by měl být omezený – rozdíl mezi S a R je malý a absolutní hodnoty zůstávají vyšší než u tolerantních typů.

Rozsah snížení koncentrací reaktivních forem kyslíku mezi fázemi vystavení stresu suchem a rehydratací patří k nejcitlivějším ukazatelům odolnosti, protože přímo odráží účinnost antioxidačních mechanismů.

Fluorescence chlorofylu a fotosyntetická aktivita

Obsah chlorofylů souvisí s integritou chloroplastů, ale ještě citlivějším ukazatelem funkčního stavu fotosystému II je fluorescence chlorofylu (F_v/F_m) v kombinaci s rychlostí fotosyntézy.

V průměru by měl být u jabloní zaznamenán pokles F_v/F_m z počátečních hodnot kolem 0,81 na 0,769–0,770 během vystavení stresu suchem a následný nárůst na 0,773–0,777 po rehydrataci. Tolerantní genotypy by si měly udržet i v období vystavení stresu suchem hodnoty

Fv/Fm většinou $\geq 0,77$ a po rehydrataci by se tyto hodnoty měly vrátit k intervalu 0,78–0,80. Citlivé genotypy by měly vykazovat silnější pokles Fv/Fm (často k hodnotám $\leq 0,75$) a po rehydrataci by se k výchozím hodnotám neměly vracet nebo pouze částečně.

Rychlost fotosyntézy by se u stresovaných rostlin jednotlivých genotypů měla pohybovat přibližně v intervalu 13–17 $\mu\text{mol CO}_2/\text{m}^2/\text{s}$. Za tolerantnější lze považovat genotypy, u nichž rychlost fotosyntézy ve stresu zůstává v horní části tohoto intervalu (cca 15–17 $\mu\text{mol CO}_2/\text{m}^2/\text{s}$) a po rehydrataci se vrací na úroveň nebo nad úroveň kontrolních rostlin. Citlivé genotypy by měly mít hodnoty klesající ve stresu do dolní části spektra (≈ 12 –13 $\mu\text{mol CO}_2/\text{m}^2/\text{s}$) a po rehydrataci dosahovat pouze částečné obnovy.

Fluorescence chlorofylu tak společně s rychlostí fotosyntézy poskytuje spolehlivý obraz o stabilitě fotosystému II a odolnosti listového aparátu vůči vodnímu stresu a řadí se mezi primární markery suchovzdornosti.

5.2.2.2. Doplnkové fyziologické a biochemické ukazatele

Prolin

Prolin je hlavním osmoticky aktivním metabolitem, jehož akumulace může signalizovat obranu vůči dehydrataci. U hodnocených genotypů jabloní však prolin nevykazoval výrazné rozdíly mezi genotypy a neukázal se jako dominantní mechanismus osmotického přizpůsobení.

Hodnoty se v období vystavení stresu suchem pohybovaly zpravidla v rozmezí cca 8–12 $\mu\text{mol/g}$ čerstvé hmoty, s mírnými rozdíly mezi genotypy. Nejvyšší koncentrace byly naměřeny přibližně u genotypů 'HL 1651', 'HL 1343' a 'HL 2010' (cca 11–12 $\mu\text{mol/g FW}$), zatímco většina ostatních genotypů se pohybovala v užším rozpětí kolem 9–11 $\mu\text{mol/g FW}$ a po rehydrataci nedošlo k výraznému zvýšení.

Prolin je proto považován za doplnkový marker – jeho zvýšená hladina může podpořit interpretaci fyziologické odpovědi, ale sama o sobě nestačí k jednoznačné klasifikaci genotypů z hlediska suchovzdornosti.

Obsah chlorofylů

Obsah chlorofylů souvisí s integritou chloroplastů a celkovým stavem fotosyntetického aparátu. U jabloní byl prokázán pokles obsahu pigmentů u stresovaných rostlin, zatímco po rehydrataci docházelo k částečné obnově; i po rehydrataci však býval obsah chlorofylů mírně nižší než u plně zavlažovaných rostlin.

U tolerantních genotypů by mělo docházet v období vystavení stresu suchem obvykle jen k mírnému poklesu obsahu chlorofylů (cca o 10–15 % oproti kontrolním hodnotám), zatímco u citlivých typů by měl být pokles výraznější (často > 25 –30 %). Obsah chlorofylů tak napomáhá upřesnit míru poškození fotosyntetického aparátu, ale vzhledem k částečné obnově a překryvu hodnot mezi genotypy slouží spíše jako podpůrný parametr.

Transpirace

Rychlost transpirace odráží výpar vody z listů a je nepřímě spojena s vodním režimem a účinností využití vody. U jabloní se transpirace pohybovala typicky v rozmezí cca 1,5–2,5 $\text{mmol H}_2\text{O}/\text{m}^2/\text{s}$, přičemž po rehydrataci vzrůstala oproti hodnotám ve stresu, ale nedosahovala plně úrovně plně zavlažovaných rostlin.

U tolerantních genotypů je transpirace mírně snížena, ale nikoliv tak, aby výrazně omezila příjem CO₂; výsledkem je relativně příznivý poměr mezi fotosyntézou a výparem. Citlivé genotypy mohou vykazovat kombinaci výraznějšího útlumu fotosyntézy a méně efektivní regulace transpirace, což vede k nižší účinnosti využití vody a rychlejšímu poklesu vodního potenciálu.

Transpirace je proto využívána jako doplňkový ukazatel k vyhodnocení vodního režimu v kontextu hlavních markerů (vodní potenciál, H₂O₂, •O₂⁻, fotosyntéza, Fv/Fm).

5.3. Postup selekce

Metodika je určena pro selekci genotypů jabloní ve šlechtitelských programech. Hodnocení by mělo probíhat na rostlinách pěstovaných v nádobách v kontrolovaných podmínkách (pod krytem, s řízenou závlahou). Při interpretaci výsledků se klade největší důraz na primární markery (peroxid vodíku, superoxidový radikál, rychlost fotosyntézy, fluorescence chlorofylu, vodní potenciál). Prolin, transpirace a obsah chlorofylů slouží jako doplňkové ukazatele pro ověření konzistence hodnocení a zpřesnění celkového obrazu.

5.3.1. Harmonogram hodnocení v průběhu fenologických fází semenáčů

Ve všech fázích se měří jako primární markery (vodní potenciál, H₂O₂, •O₂⁻, rychlost fotosyntézy, fluorescence chlorofylu), tak doplňkové ukazatele (prolin, transpirace, obsah chlorofylů); při závěrném hodnocení mají rozhodující váhu primární markery.

Fáze 1 – 2–4 pravé listy (1)

Stanoví se základní úroveň fyziologických a biochemických parametrů před zavedením stresu. Měří se zejména:

- vodní potenciál,
- fluorescence chlorofylu (Fv/Fm),
- rychlost fotosyntézy,
- transpirace,
- koncentrace peroxidu vodíku a superoxidového radikálu,
- obsah prolinu.

Tyto hodnoty slouží jako referenční základ pro výpočet relativních změn v následujících fázích.

Fáze 2 – první vodní stres (2S)

Po ukončení pravidelné závlahy se semenáče udržují s výrazně omezeným přísunem vody po dobu přibližně 14 dní. V závěru této fáze se opakovaně měří primární a doplňkové parametry. Hodnotí se velikost odchylky od výchozího stavu a rozdíly mezi genotypy.

Fáze 3 – rehydratace I (3R)

Po obnovení plné závlahy se semenáče ponechají přibližně 14 dní v rehydratačním režimu. Po uplynutí této doby se opět měří všechny sledované parametry a posuzuje se:

- rychlost návratu vodního potenciálu k výchozím hodnotám,
- pokles koncentrace reaktivních forem kyslíku,
- obnova fluorescence chlorofylu, rychlosti fotosyntézy a transpirace,
- změny v obsahu prolinu.

Tolerantní genotypy vykazují rychlou a téměř úplnou obnovu, citlivé genotypy obnovu pomalou a neúplnou.

Fáze 4 – druhá stresová vlna (4S)

Po první rehydrataci se znovu zavede vodní stres v trvání dalších cca 14 dní. Cílem je ověřit stabilitu reakce semenáčů a schopnost opakovaně regulovat oxidativní zátěž a udržet základní fotosyntetickou aktivitu. Opět se měří všechny výchozí parametry, sleduje se:

- konzistence reakce genotypů při opakovaném zatížení,
- opakovaná akumulace či regulace H_2O_2 a $\bullet O_2^-$,
- schopnost udržet fotosyntézu a F_v/F_m v akceptovatelných mezích.

Fáze 5 – rehydratace II (5R)

Po druhé stresové periodě následuje druhá rehydratační fáze (opět přibližně 14 dní). Stanovují se všechny sledované parametry a hodnotí se, zda se:

- vodní potenciál,
- fluorescence chlorofylu,
- rychlost fotosyntézy,
- koncentrace reaktivních forem kyslíku

vracejí k úrovni blízké výchozímu stavu (fáze 1). Zvláštní pozornost se věnuje tomu, zda rehydratační schopnost zůstává zachována i po opakovaném stresovém zásahu.

Fáze 6 – zařazení semenáčů

Jednotlivé semenáče se zařadí do kategorií tolerantní, středně odolné a citlivé podle toho, jak se jejich hodnoty v průběhu fází vystavení stresu suchem a rehydratace pohybují vůči orientačním rozmezím stanoveným pro tolerantní a citlivé typy.

Tolerantní jedinci, kteří opakovaně splňují většinu kritérií pro odolnou reakci (omezená akumulace reaktivních forem kyslíku, stabilnější vodní potenciál, menší pokles a rychlá obnova

fotosyntézy a fluorescence chlorofylu), jsou doporučeni k dalšímu testování v polních podmínkách. Tento harmonogram umožňuje během jediné vegetační sezóny spolehlivě vyhodnotit reakci semenáčů jabloní na vodní deficit.

5.3.2. Pravidla pro kontrolu zdravotního stavu a validaci dat

Správnost a informační hodnota výsledků hodnocení jabloňových semenáčků závisí především na zdravotním stavu rostlin, rovnoměrnosti jejich růstu a konstantnosti environmentálních podmínek. Pro spolehlivé oddělení geneticky podmíněné tolerance k suchu od nespecifických stresových projevů je nutné dodržovat tyto klíčové požadavky:

Zdravotní stav rostlin

- Do testování se zahrnují výhradně semenáče bez projevů onemocnění patogeny (zejména *Venturia inaequalis*, *Podosphaera leucotricha*, *Erwinia amylovora*, *Nectria galligena*) či škodami od škůdců (zejména mšice, svilušky, obaleči).
- Jakékoli patrné projevy poškození (nekrózy, chlorózy, deformace, žloutnutí nebo předčasný opad listů) musí být před zahájením měření ověřeny a rostliny postižené vyloučeny z hodnocení.
- Monitoruje se celková vitalita rostlin – barva listů, turgor a intenzita růstu. Před zahájením stresu musí mít všechny semenáče srovnatelnou velikost, počet listů a fenologickou fázi.
- Preventivní aplikace (např. měďnaté přípravky proti bakteriím, síra proti padlí) je přípustná pouze před startem experimentu a nesmí zasahovat do měřicího období, aby nedošlo k falzifikaci fyziologických údajů.

Podmínky prostředí a výživa

- Substrát musí být homogenní, středně těžký a dobře propustný, například směs rašeliny, perlitu a písku v poměru 2:1:1 s pH 6,2–6,8 a vhodnou vododržností.
- Před nastavením stresu se aplikuje rovnoměrná výchozí výživa (např. NPK 15–15–15 v množství 0,4–0,5 g/l substrátu). Během stresových fází se hnojení pozastavuje, aby nedošlo k narušení výsledků.
- Nádobý se semenáči musí být umístěny ve stejné výšce a orientaci k osvětlení, čímž se snižuje variabilita expozice světla a teploty.
- Během stresu se doporučují denní teploty 25–30 °C a noční 18–22 °C, při rehydrataci lze snížit o 2–3 °C, při relativní vlhkosti vzduchu nad 60 %.

Měření a validace dat

- Každé měření se provádí na stejných listech, případně na listech shodného stáří a postavení na výhonu, aby byla zachována maximální srovnatelnost výsledků. U každého genotypu se hodnotí minimálně tři biologické replikace.
- Naměřená data se následně posuzují z hlediska vnitřní konzistence:
- Pokles vodního potenciálu musí být provázen zvýšením koncentrace reaktivních forem kyslíku (H_2O_2 , $-\text{O}_2^-$),
- zlepšení vodního potenciálu po rehydrataci by se mělo projevit poklesem H_2O_2 a obnovou fluorescence chlorofylu i rychlosti fotosyntézy.
- Extrémní či zjevně nelogické hodnoty (např. vysoký obsah prolinu bez zlepšení vodního potenciálu nebo vysoká fotosyntéza při trvale vysoké oxidativní zátěži) je nutné ověřit opakovaným měřením. Výsledky mezi ročníky se porovnávají podle toho, zda jednotlivé genotypy opakovaně splňují rozsahové limity pro tolerantní či citlivé chování, přičemž za stabilně tolerantní je genotyp považován teprve tehdy, pokud si příznivý profil hlavních parametrů (vodní potenciál, H_2O_2 , $-\text{O}_2^-$, fotosyntéza, F_v/F_m) udrží ve více vegetačních obdobích.

Archivace a kontrola dat

- Veškerá měření se zapisují do jednotné elektronické šablony (např. tabulkový editor nebo interní databázový systém), která umožňuje sledovat vývoj každého genotypu napříč fázemi 2S–3R–4S–5R.
- U každého záznamu se uvádí datum, identifikace genotypu, hodnocená fáze, teplota, relativní vlhkost a osoba odpovědná za měření.
- Před sestavením souhrnných tabulek se provádí interní kontrola dat – odstranění duplicit, prázdných polí a logických nesouladů.
- Datové soubory z jednotlivých ročníků se ukládají do centrální databáze šlechtitelského pracoviště, aby byly k dispozici pro dlouhodobé analýzy a ověřování stability výsledků.

Důsledné dodržování těchto zásad zajišťuje, že hodnocení genotypů probíhá v co nejvíce srovnatelných podmínkách a že naměřené hodnoty skutečně odrážejí geneticky podmíněnou odolnost k suchu, nikoli vlivy prostředí či náhodné odchylky. Metodika tím vytváří robustní rámec pro dlouhodobé sledování, validaci a archivaci dat, která následně slouží jako podklad pro výběr genotypů s vyšší suchovzdorností.

6. SROVNÁNÍ NOVOSTI POSTUPŮ

Představená metodika nabízí ucelený systém pro hodnocení tolerance jabloní k suchu, který integruje fyziologické, biochemické a fenotypové ukazatele do společného selekčního rámce použitelného v počátečních etapách šlechtění. V globálním měřítku vychází z existujících zjištění o odpovědích jabloní (*Malus domestica* Borkh.) a jejich podnoží na vodní deficit, přičemž tyto poznatky nyní strukturovaně upravuje a přizpůsobuje pro potřeby rané selekce semenáčků v domácích šlechtitelských programech. Globální výzkumy demonstrují, že sucho u ovocných stromů, včetně jabloní, vede k poklesu vodního potenciálu, omezení fotosyntézy, změnám v obsahu chlorofylů a k akumulaci osmoticky aktivních látek, zejména prolinu, doprovázené zvýšenou oxidační zátěží ve formě reaktivních forem kyslíku (Farooq et al., 2009; Wang et al., 2012; Du et al., 2022).

Studie soustředěné na jabloně a jejich podnože ověřují, že souhrn vodního režimu, fotosyntetické aktivity, chlorofylové fluorescence a biochemických ukazatelů tvoří efektivní prostředek k hodnocení tolerance k suchu. Na různých genotypech bylo prokázáno, že akumulace prolinu v listech a kořenech při suchu souvisí se snížením osmotického potenciálu a zvýšením účinnosti využití vody, přičemž tyto změny se mezi genotypy výrazně liší a mohou sloužit jako kritérium pro výběr tolerantních jedinců (Jimenez et al., 2013; Mihaljević et al., 2021; Du et al., 2022). Na podnožích M9 T337 a podobných klonech se ukázalo, že kombinace vodního stavu, fluorescence chlorofylu (Fv/Fm), obsahu peroxidu vodíku, lipidové peroxidace a koncentrace prolinu umožňuje rozlišit tolerantní a citlivé genotypy k suchu (Colpo et al., 2024; Wright et al., 2019). Genotypy s vyšší účinností fotosystému II, nižším obsahem peroxidu vodíku a vyšším obsahem prolinu vykazují lepší reakci na vodní deficit (Mihaljević et al., 2021; Du et al., 2022; Soleymani et al., 2025).

Prezentovaná metodika se od těchto výzkumů odlišuje především tím, že zmíněné parametry nejsou určeny jen k vědeckému popisu reakcí rostlin, ale jsou cíleně začleněny do selekčního systému pro hodnocení genotypů v počátečních fázích šlechtění. Obsahuje systematický sled měření v opakovaných stresových a rehydratačních fázích, který umožňuje zjistit schopnost rehydratace. Zatímco většina zahraničních studií se soustředila na dospělé stromy v polních podmínkách nebo na testování podnoží v nádobách (Wright et al., 2019; Girona et al., 2025), tato metodika směřuje k semenáčkům a mladým stromům, kde se rozdíly v odpovědi na sucho projevují výrazně a lze je použít k ranému výběru slibných genotypů.

Dalším prvkem originality představuje způsob hodnocení výsledků. Zahraniční práce obvykle analyzují jednotlivé parametry izolovaně – například pokles obsahu chlorofylu či Fv/Fm, zvýšení obsahu peroxidu vodíku, lipidové peroxidace nebo nárůst prolinu (Mihaljević et al., 2021; Du et al., 2022; Colpo et al., 2024). V této metodice se tyto stejné nebo analogické ukazatele aplikují v kontinuální časové sekvenci (vystavení stresu suchem – rehydratace – opakované vystavení stresu suchem – rehydratace) a vyhodnocují v jejich vzájemných souvislostech. Zaměření spočívá na směr a rozsah změn mezi fázemi, nikoli pouze na absolutní hodnoty; tím se lépe zachycuje regenerační potenciál a stabilita vodního režimu, fotosyntetického aparátu i oxidační rovnováhy. Tento procesní pohled je ve fyziologické selekci ovocných stromů, zejména jabloní, méně běžný a přenáší metodu od popisného k aplikačnímu hodnocení (Girona et al., 2025; Wheeler et al., 2023).

Benefitem metodiky je její zaměření na aplikaci v šlechtění. Zatímco zahraniční výzkumy bývají koncipovány jako jednorázové pokusy s malým počtem genotypů a zaměřují se hlavně na objasnění mechanismů odpovědi na stres (Mihaljević et al., 2021; Du et al., 2022; Giuliani et al., 2025), tato metodika vytváří reprodukovatelný a provozně zvládnutelný postup vhodný pro začlenění do běžného šlechtitelského procesu. Pracuje s parametry laboratorně i časově zpracovatelnými, umožňuje souběžné testování většího množství jedinců a stanovuje jednoznačné hranice hodnot pro klasifikaci genotypů do skupin tolerantní, středně odolné a citlivé.

V podmínkách střední Evropy se stávající postupy hodnocení tolerance jabloní k suchu opíraly převážně o morfologické a fyziologické znaky, jako je vodní potenciál, vodivost pletiv či viditelné projevy poškození. Aplikace biochemických indikátorů, jako prolin, antioxidanty či peroxid vodíku, se objevovala jen sporadicky bez následné unifikace (Sircelj et al., 2007; Wang et al., 2012). Ani lokální studie (např. ve střední Evropě či severní Itálii) dosud nespojily monitorování fyziologických, biochemických a rehydratačních fází (Giuliani et al., 2025; Wheeler et al., 2023). Tato metodika umožňuje začlenit víceúrovňové hodnocení (vodní potenciál, ROS, prolin, fotosyntetická aktivita, fluorescence chlorofylu, rychlost fotosyntézy) do standardizovaného selekčního schématu a podpořit rozhodování o dalším využití genotypů v šlechtění (Girona et al., 2025; Soleymani et al., 2025; Geng et al., 2018).

7. POPIS UPLATNĚNÍ CERTIFIKOVANÉ METODIKY

7.1. Využití metodiky v rámci šlechtitelského procesu

Výsledky zhodnocení fyziologických a biochemických vlastností jabloňových genotypů by měly umožnit přesný a opakovatelný výběr jedinců se zvýšenou schopností odolávat suchu. Předložená metodika může poskytnout šlechtitelům účinný prostředek, který rozšiřuje tradiční posuzování fenotypu rostlin o objektivní fyziologické údaje a tímto způsobem podstatně zvyšuje úspěšnost výběru tolerantních genotypů k suchu.

7.1.1. Začlenění výsledků do rutinní selekce

Fyziologické a biochemické testy se mohou aplikovat v selekci semenáčů, dříve než se sady vysadí do sadů nebo také na finalizaci šlechtitelského procesu. Tento postup nabízí několik výhod:

Výhody včasného testování:

Eliminace nevhodného materiálu: Jedinci, kteří se neztotožňují s požadovanými standardy (např. hluboký pokles vodního potenciálu, vysoký peroxid vodíku po regeneraci, nízká fotosyntetická aktivita), jsou vyřazeni před dalším investováním do jejich péče.

Zpřesnění volby rodičovských rostlin: Pro další opakování křížení se doporučují pouze genotypy, které prokázaly odolnost v několika po sobě jdoucích sezónách.

Rozdělení genotypů do tří skupin po skončení testu:

Po ukončení testování se testované genotypy rozdělí podle výsledků do tří kategorií:

Odolné genotypy – jedinci, u kterých naprostá většina sledovaných vlastností (vodní potenciál, peroxid vodíku, superoxidový radikál, fluorescence chlorofylu, rychlost fotosyntézy) spadá do charakteristických rozmezí odolných rostlin. Změny mezi obdobím navození stresu suchem a rehydratací dokládají účinnou přizpůsobivost k suchu.

Středně odolné genotypy – rostliny, které splňují některá, ale ne všechna kritéria (např. stabilní vodní potenciál při vyšší oxidativní zátěži nebo dobrá regenerace fotosyntézy při nižší obnově fluorescence).

Citlivé genotypy – jedinci s výraznými problémy: se silným poklesem vodního potenciálu, vysokými koncentracemi reaktivních forem kyslíku po regeneraci a výrazným útlumem fotosyntézy i fluorescence chlorofylu.

Postup zařazení a navazující kroky:

Rozdělení semenáčků do skupin se provádí poté, co skončí druhá regenerační fáze (R_2), a vychází z porovnání naměřených údajů s orientačními hranicemi pro odolné a citlivé rostliny.

7.2. Archivace dat a opakovaná validace

Každý šlechtitelský cyklus zahrnuje soustavné zaznamenávání všech získaných informací, které slouží k pozdějšímu ověření dosažených výsledků a dlouhodobému sledování spolehlivosti jednotlivých genotypů.

Ukládání měření: Všechny naměřené hodnoty (vodní potenciál, fluorescence chlorofylu, fotosyntéza, transpirace, peroxid vodíku, superoxidový radikál, obsah prolinu) se zapisují do jednotného elektronického formuláře. Každý zápis obsahuje označení genotypu, čas měření, příslušnou fázi (2S, 3R, 4S, 5R) a jméno osoby, která měření provedla.

Opakovaná ověřování: V následujících sezónách se vybrané tolerantní genotypy znovu hodnotí, aby se ověřila stabilita projevu reakce na suchu. Pokud se výsledky mezi jednotlivými roky podstatně liší, je to signálem k obezřetnosti při budoucím rozhodování o použití daného genotypu.

Trvalé uchovávání: Po skončení testování se veškerá data předávají do archivu šlechtitelské instituce.

Takovýmto způsobem se vytváří kompletní přehled ověřených poznatků, který umožňuje sledovat vývoj v čase, poznat, které genotypy se chovají stabilně, a pochopit, jak reagují na kolísavé klimatické vlivy.

7.3. Podpora rozhodování a snížení rizika výběru nevhodných genotypů

Použití kombinace fyziologických a biochemických parametrů umožňuje přejít od subjektivního vizuálního hodnocení ke kvantitativnímu a reprodukovatelnému systému založenému na procesních ukazatelích. Tento přístup:

- snižuje riziko chybného výběru,
- omezuje vliv ročníkových extrémů,
- umožňuje rozhodování na základě relativních změn mezi stresem suchem a rehydratací,
- zvyšuje transparentnost a věrohodnost selekčního procesu, což je klíčové při schvalování odrůd a archivaci výsledků.

Předložená metodika pro jabloně představuje pomocný nástroj pro hodnocení suchovzdornosti na fyziologické a biochemické úrovni. Díky jasně definovaným rozsahům hlavních markerů, opakované validaci dat a jednotnému postupu měření umožňuje srovnatelnost výsledků mezi ročníky, lokalitami i pracovišti. Metodika vytváří jednotný rámec pro dlouhodobé sledování suchovzdornosti v podmínkách měnícího se klimatu a zároveň poskytuje šlechtitelům praktický nástroj pro efektivní výběr genotypů s vysokou přizpůsobivostí k stresu suchem.

8. EKONOMICKÉ ASPEKTY

Tradičním přístupem ve šlechtění je dlouhodobé čekání na projevení fenotypových vlastností, což trvá obvykle několik let. Zavedení biochemických a fyziologických markerů (např. fotosyntetická aktivita, vodní potenciál, fluorescence chlorofylu, reaktivní formy kyslíku, obsah prolinu) představuje kvalitativní zlepšení tohoto postupu. Tyto markery umožňují rozpoznat perspektivní genotypy s lepší odolností vůči suchu a současně vyřadit málo slibné jedince, aniž by se na ně dál vynakládaly prostředky. Přestože se takto nezkrátí doba, než stromy začnou plodit, výrazně se eliminuje péče o nevhodné rostliny. Tím se šetří zejména prostor, pracovní kapacita a čas.

Údržba rostlin vyžaduje dvojí druh nákladů. Materiálové výdaje zahrnují nákup substrátu, sadbovačů, hnojiv a ochranných prostředků pro pěstování ve skleníku, amortizaci skleníkových staveb, podnože a materiál do školky, výsadbu a údržbu genotypů v selekčním sadu (opěrné konstrukce, zavlažování, mechanizace). Personální náklady představují podstatnou složku rozpočtu, protože péče o rostliny od jejich vzniku až do začátku plodnosti je pracovně velmi náročná, stejně jako jejich následné několikaleté hodnocení v produkční fázi a nakonec likvidace porostů.

Náklady na pěstování tisíce rostlin z řízeného křížení v jednom cyklu (cca 12 let) se v České republice pohybuje okolo tří milionů korun, tedy přibližně 250 tisíc korun za rok. Zavedení biochemických a fyziologických markerů může v rámci stejného počtu rostlin snížit roční náklady o desítky až přibližně 200 tisíc korun. Tato úspora vychází z toho, že selekcí odpadá dlouhodobá péče o nevhodné jedince. Skutečná výše úspory se liší v závislosti na procentu vyřazených rostlin.

Tento přístup také lépe reaguje na tržní poptávku po odolnějších odrůdách. Ekonomické přínosy se neomezují jen na přímé úspory – dosahují i růstu příjmů skrze prodej licencí na nové odrůdy. Příklad VŠÚO v Holovousích ukazuje, že úspěšná odrůda může během platnosti práv na zlepšení genů přinést okolo jednoho milionu eur, což podtrhuje ekonomický potenciál zavedených metod.

Měření jednotlivých parametrů je relativně rychlé: výměna plynů trvá asi 30 minut, fluorescence chlorofylu a vodní potenciál asi 20 minut, obsah pigmentů nejvýše 10 minut. Kombinováním fyziologických ukazatelů s morfologicko-anatomickými a biochemickými daty se zvyšuje jejich informační obsah a přesnost výběru.

Laboratorní vybavení (pipety, laboratorní sklo, mrazák, váhy a injekční stříkačky) je v hodnotě za cca 25 tisíc Kč. Potřebné jsou běžné chemikálie (dimethylamid mravenčanu cca 450 Kč/l na ~1000 vzorků, sorbenty cca 3100 Kč/kg). K analýzám je potřeba zařízení pro sledování výměny plynů a stomatální vodivosti (gazometrické analyzátory), přístroje pro měření fluorescence chlorofylu, vodního potenciálu a spektrofotometry, tabulkový editor a statistický software.

Provozní náklady na biochemickou laboratoř jsou především spojeny s nákupem spotřebního materiálu. Hlavní výdaje představuje pořízení přístrojového vybavení – chladicí centrifugy, spektrofotometru, blokového termostatu a hlubokomrazicí box. Pro samotné analýzy postačuje základní laboratorní vybavení s automatickými pipetami, laboratorním sklem a vahami – kterého hodnota se pohybuje kolem 40 tisíc Kč. Používanými chemikáliemi jsou soli fosforu (K_2HPO_4 , KH_2PO_4), titaničitan ($TiCl_4$), kyselina sírová (H_2SO_4), hydroxylamin, sulfanilamid, naftylaminu, ethanol, prolin, kyselina octová ledová a ninhydrín. Odhadovaný náklad na 1000 vzorků pro stanovení peroxidu vodíku, superoxidového radikálu a prolinu činí přibližně 850 Kč. Software pro základní vyhodnocení dat nevyžaduje speciální nákup; dostačuje standardní tabulkový editor a program určený pro statistické zpracování.

Zavedení biochemických a fyziologických přístupů tedy přináší ekonomické úspory v nákupech a personálu a zvýšení efektivity. Naplňuje tak cíl inovativního, udržitelného a finančně efektivního šlechtění odrůd schopných zajistit stabilní výnosy a kvalitu v měnícím se klimatu.

9. SEZNAM POUŽITÉ SOUVISEJÍCÍ LITERATURY

Abassi, N. A., Kushad, M. M., and Endress, A. G. (1998). Active oxygen-scavenging enzyme activities in apple (*Malus domestica* Borkh. cv. Red Delicious) fruits during maturation and ripening. *Scientia Horticulturae*, 76(3), 179–191. [https://doi.org/10.1016/S0304-4238\(98\)00077-6](https://doi.org/10.1016/S0304-4238(98)00077-6)

Anders, Ivonne and Stagl, Judith and Auer, Ingeborg and Pavlik, Dirk. (2014). Climate Change in Central and Eastern Europe. 10.1007/978-94-007-7960-0_2.

Begna, T. (2022). Breeding Strategies for Improvement of Drought Tolerant in Crops. 177-184. 10.5829/idosi.wjas.2022.177.184.

Brown, S. K., and Maloney, K. E. (2003). Genetic improvement of apple: Breeding, markers, mapping and biotechnology. *Apples: botany, production and uses*, 31–59. doi:10.1079/9780851995922.0031

Colpo, A., Perin, C., Vuković, D., Mihaljević, I., and Dugalić, K. (2024). Drought-stressed apple tree grafted onto different rootstocks: Chlorophyll fluorescence as a comparative tool. *Agronomy*, 14(6), 1304. <https://doi.org/10.3390/agronomy14061304>

Český statistický úřad (ČSÚ). (2022). Statistika sklizně ovoce v České republice 2015–2021. Český statistický úřad.

Davey, M. W., Van Montagu, M., Inzé, D., Sanmartin, M., Kanellis, A., Smirnoff, N., Benzie, I. J. J., Strain, J. J., Favell, D., and Fletcher, J. (2000). Plant L-ascorbic acid: Chemistry, function, metabolism, bioavailability and effects of processing. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(7), 825–860. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0010\(20000515\)80:7<825::AID-JSFA598>3.0.CO;2-6](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(20000515)80:7<825::AID-JSFA598>3.0.CO;2-6)

Du, P., Cao, Y., Yin, B., Zhou, S., Li, Z., Zhang, X., Xu, J., and Liang, B. (2022). Improved tolerance of apple plants to drought stress and nitrogen utilization by modulating the rhizosphere microbiome via melatonin and dopamine. *Frontiers in microbiology*, 13, 980327. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.980327>

Edge-Garza, D.A., Rowland, T., Sandefur, P. et al. (2014). Routine marker-assisted seedling selection focused on fruit quality improves breeding efficiency in three tree fruit programs. Program and Abstracts of 7th International Rosaceae Genomics Conference; 24–26. June 2014; Seattle, USA; pp. 116.

FAO. (2019). The State of the World's Biodiversity for Food and Agriculture. FAO Commission on Genetic Resources for Food and Agriculture Assessments, Rome. ISBN 978-92-5-131270-4.

FAOSTAT. (2022). Crops and livestock products dataset. Food and Agriculture Organization of the United Nations. <https://www.fao.org/faostat/>

Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D., and Basra, S. M. A. (2009). Plant drought stress: Effects, mechanisms and management. *Agronomy for Sustainable Development*, 29(1), 185–212. <https://doi.org/10.1051/agro:2008021>

Flexas, J., Bota, J., Loreto, F., Cornic, G., and Sharkey, T. D. (2004). Diffusive and metabolic limitations to photosynthesis under drought and salinity in C₃ plants. *Plant Biology*, 6(3), 269–279. <https://doi.org/10.1055/s-2004-820867>

Geng, D., Chen, P., Shen, X., Zhang, Y., and Li, Y. (2018). MdMYB88 and MdMYB124 Enhance Drought Tolerance by Modulating Root Vessels and Cell Walls in Apple. *Plant Physiology*, 178(3), 1296–1309, <https://doi.org/10.1104/pp.18.00502>

Girona, J., Mata, M., del Campo, J., Biru, A., Paris, C., and Blanco, V. (2025). Apple trees' behavior to a single-season megadrought stress. *Irrigation Science*, 43(5), 871–886. <https://doi.org/10.1007/s00271-025-01017-w>

Giuliani, N., Andreotti, C., and Tagliavini, M. (2025). Impact of soil water availability on apple tree physiology under combined heat and drought stress. *Environmental and Experimental Botany*, Volume 235, 106161. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2025.106161>.

Goncharovska, I., and Szot, P. (2023). Anatomical and morphological structure of the leaf of the genus *Malus* spp. *Nature and Science of Biology*, 2023(1), 43–54.

<https://distantreader.org/stacks/journals/nsb/nsb-11449.pdf>

Chaves, M. M., Maroco, J. P., and Pereira, J. S. (2003). Understanding plant responses to drought—from genes to the whole plant. *Functional Plant Biology*, 30(3), 239–264.. doi: 10.1071/FP02076.

IPCC. (2021). *Climate Change 2021: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Sixth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Cambridge University Press.

Jiménez, S., Dridi, J., Gutiérrez, D., Moret, D., Irigoyen, J. J., Moreno, M. A., and Gogorcena, Y. (2013). Physiological, biochemical and molecular responses in four *Prunus* rootstocks submitted to drought stress. *Tree Physiology*, 33(10), 1061–1075.

<https://doi.org/10.1093/treephys/tpt074>

Kautz, B., Noga, G., and Hunsche, M. (2015). PEG and drought cause distinct changes in biochemical, physiological and morphological parameters of apple seedlings. *Acta Physiologiae Plantarum*, 37, 162.

Kowitcharoen, L., Wongs-Aree, C., Setha, S., Komkhuntod, R., Srilaong, V., and Kondo, S. (2015). Changes in abscisic acid and antioxidant activity in sugar apples under drought conditions. *Scientia Horticulturae*, 193, 1–6.

Lauri, P-E. (2018). Training and pruning the apple tree according to the SALSA System. 13. SENAFRUT – Seminario nacional sobre fruticultura de clima temperado, Jun 2018, Sao Joaquim, Brazil. fahal-01819733f

Lee, S. K., and Kader, A. A. (2000). Preharvest and postharvest factors influencing vitamin C content of horticultural crops. *Postharvest Biology and Technology*, 20(3), 207–220. [https://doi.org/10.1016/S0925-5214\(00\)00133-2](https://doi.org/10.1016/S0925-5214(00)00133-2)

Li, P. M., and Ma, F. W. (2012). Different effects of light irradiation on the photosynthetic electron transport chain during apple tree leaf dehydration. *Plant Physiology and Biochemistry*, 55, 16–22. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2012.03.007>

Ma, P., Bai, T., and Ma, F. (2015). Effects of progressive drought on photosynthesis and partitioning of absorbed light in apple trees. *Journal of Integrative Agriculture*, 14(4), 681–690. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(14\)60871-6](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(14)60871-6)

Medrano, H., Escalona, J. M., Bota, J., Gulías, J., and Flexas, J. (2002). Regulation of photosynthesis of C3 plants in response to progressive drought: Stomatal conductance as a reference parameter. *Annals of Botany*, 89(7), 895–905. <https://doi.org/10.1093/aob/mcf079>

Migicovsky, Z., Li, M., Chitwood, D. H., and Myers, J. R. (2018). Morphometrics reveals complex and heritable apple leaf shape. *Frontiers in Plant Science*, 8, 2185.

<https://doi.org/10.3389/fpls.2017.02185>

Mihaljević, I., Viljevac Vuletić, M., Šimić, D., Horvat, D., Josipović, M., Zdunić, Z., and Vuković, D. (2021). Comparative study of drought stress effects on traditional and modern apple cultivars. *Plants*, 10(3), 561. <https://doi.org/10.3390/plants10030561>

Mittler, R. (2002). Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in Plant Science*, 7(9), 405–410. doi: 10.1016/s1360-1385(02)02312-9.

Naor, A. (2006). Irrigation scheduling and evaluation of tree water status in deciduous orchards. *Horticultural Reviews*, 32, 111–165. <https://doi.org/10.1002/9780470767986.ch3>

Parra-Quezada, Rafael and Robinson, T.L. and Osborne, J. and Parra-Bujanda, L.B.. (2008). Water deficit and crop load effects on yield and fruit quality of apple. *Revista Chapingo, Serie Horticultura*. 14. 49-54.

Peace, C. (2017). DNA-informed breeding of rosaceous crops: promises, progress and prospects. *Hortic Res*, 4, 17006.

Plavcová, L., Jupa, R., Mészáros, M., Scháňková, K., Kovalíková, Z., and Náměstek, J. (2023). Stem water potential, stomatal conductance and yield in irrigated apple trees. *Plant, Soil and Environment*, 69(7), 303-313. doi: 10.17221/160/2023-PSE

Sadras, Victor and Calderni, D.F.. (2014). *Crop Physiology: Applications for Genetic Improvement and Agronomy: Second Edition*. 1-551.

Sansavini, Silviero and Donati, F. and Costa, Fabrizio and Tartarini, S.. (2004). Advances in apple breeding for enhanced fruit quality and resistance to biotic stresses: New varieties for the European market. *J. Fruit Ornam. Plant Res.*. 12. 13-52.

Scalzo, J., Politi, A., Pellegrini, N., Mezzetti, B., and Battino, M. (2005). Plant genotype affects total antioxidant capacity and phenolic contents in fruit. *Nutrition*, 21(2), 207–213. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2004.03.025>

Scandalios, J. G. (2005). Oxidative stress: Molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defenses. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 38(7), 995–1014. DOI: 10.1590/s0100-879x2005000700003

Sebolt, A.M. (2011). Breeder profile: Nnadozie Oraguzie. *RosBREED Newslett*, 2: 5–6.

Sircelj, H., Tausz, M., Grill, D., and Batič, F. (2007). Detecting different levels of drought stress in apple trees (*Malus domestica* Borkh.) with selected biochemical and physiological parameters. *Scientia Horticulturae*, 113(4), 362–369. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2007.04.012>

Soleymani, S., Piri, S., Aazami, M. A., and Karami, A. (2025). Cerium oxide nanoparticles alleviate drought stress in apple seedlings by regulating ion homeostasis, antioxidant defense, gene expression, and phytohormone balance. *Scientific Reports*, 15, 11805.

<https://doi.org/10.1038/s41598-025-96250-w>

Stankiewicz, M., Pitera, E., and Gawroński, S. W. (2002). The use of molecular markers in apple breeding for disease resistance. *Cellular and molecular biology letters*, 7(2A), 445–448.

Stracke, B. A., Rufer, C. E., Bub, A., Seifert, S., Weibel, F. P., and Kunz, C. (2009). Three-year comparison of the polyphenol contents and antioxidant capacities in organically and conventionally produced apples (*Malus domestica* Borkh.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(11), 4598–4605. DOI: 10.1021/jf803961f

Suran, P., and Fiala, J. (2019). Zhodnocení proměnlivosti podmínek prostředí na produkční vlastnosti jaderovin. *Vědecké práce ovocnářské*, 26, 161–175.

Trnka, M., Ružička, M., Olesen, J. E., Balek, J., and Hlavinka, P. (2018). Drought trends over Central Europe between 1961 and 2014. *Climatic Change*, 151, 509–525. doi: 10.3354/cr01420

United States Department of Agriculture (USDA). (2023). Germplasm Resources Information Network (GRIN-Taxonomy). Agricultural Research Service. <https://npgsweb.ars-grin.gov/gringlobal/taxon/taxonomysearch>

Unuk, T., Tojnko, S., Čmelik, Z., and Stopar, M. (2006). Polyphenol content in apple fruits as affected by crop load and rate of applied nitrogen. *Acta Horticulturae*, 721, 173–176.

<https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2006.721.22>

Volk, Gayle and Chao, C. and Norelli, Jay and Brown, Susan and Fazio, Gennaro and Peace, Cameron and McFerson, Jim and Zhong, Gan-Yuan and Bretting, Peter. (2014). The

vulnerability of US apple (*Malus*) genetic resources. *Genetic Resources and Crop Evolution*. 62. 765-794. 10.1007/s10722-014-0194-2.

Wang, S., Liang, D., Li, C., Hao, Y., Ma, F., and Shu, H. (2012). Influence of drought stress on the cellular ultrastructure and antioxidant system in leaves of drought-tolerant and drought-sensitive apple rootstocks. *Plant physiology and biochemistry : PPB*, 51, 81–89. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2011.10.014>

Wheeler, W. D., Johnson, C. M., Thompson, D. S., and Morales, M. (2023). Assessing water stress in a high-density apple orchard using trunk circumference variation, sap flow index and stem water potential. *Frontiers in Plant Science*, 14, 1214429. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1214429>

Wright, D. E. J., Haynes, W., and Patel, M. (2019). Physiological responses of four apple (*Malus × domestica* Borkh.) rootstock genotypes to soil water deficits. *Canadian Journal of Plant Science*, 99(4), 540–549. <https://doi.org/10.1139/cjps-2018-0276>

10. SEZNAM PUBLIKACÍ, KTERÉ PŘEDCHÁZELY METODICE

Hnilička, F., Rýgl, T., Česká, J. and Kudrna, J. (2024). Citlivost fotosyntetického aparátu jabloní při působení vodního deficitu. *Vědecké práce ovocnářské*. 30(2): 98–110. <https://doi.org/10.60702/s0f6-yp50>

Suran, P. (2024). Vliv klimatu na hospodářské vlastnosti jabloní. *Zahradnictví*, 23(3), 10–15. ISSN 1213-7596.

Suran, P. and Plecitá, L. (2024). Typy školkařských výpěstků do sadů bez závlahového systému. *Zahradnictví*, 23(6), 5–9. ISSN 1213-7596.

Suran, P. and Pravcová, G. (2023). Drought stress affects productivity and fruit size of new apple cultivars. *Acta Hortic*. 1372, 149-154. DOI: 10.17660/ActaHortic.2023.1372.20

11. DEDIKACE

Metodika je výsledkem řešení výzkumného projektu Národní agentury pro zemědělský výzkum (NAZV) č. QK21010200 s názvem „Šlechtění ovocných druhů na odolnost k abiotickým vlivům v kombinaci s vysokým obsahem antioxidačních látek v plodech“.

v y d á v á

OSVĚDČENÍ

UKZUZ 203273/2025

o uznání metodiky v souladu s podmínkami Metodiky hodnocení výzkumných organizací a programů účelové podpory výzkumu, vývoje a inovací, schválené usnesením vlády dne 8. února 2017, číslo 107 a její samostatné přílohy č. 4 schválené usnesením vlády dne 29. listopadu 2017 č. 837.

Název metodiky: Selekční metody genotypů jabloní podle požadavků na kvalitu plodů a odolnost k suchu

Autor / autoři: Pavol Suran, Zuzana Kovalíková, František Hnilička, Aneta Bílková, Tomáš Rýgl, Lukáš Maryška, Adéla Horčíčková, Lubor Zelený, Dáša Jiroušová, Jiří Sedlák, Boris Krška, Petr Kareš

Název organizace/cí: VÝZKUMNÝ A ŠLECHTITELSKÝ ÚSTAV OVOCNÁŘSKÝ HOLOVOUSY s.r.o.

Univerzita Hradec Králové, Přírodovědecká fakulta

Česká zemědělská univerzita v Praze, Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Petr Kareš

Metodika byla vypracována v rámci výzkumného projektu/podpory na rozvoj výzkumné organizace č. **QK21010200**.

Místo vydání: **Holovousy**

Rok vydání: **2025**

Brno 17. 12. 2025

Ing. Daniel Jurečka

ředitel ústavu

.....
podpis/elektronický podpis
zástupce odborného útvaru státní správy

Selekční metody genotypů jabloní podle požadavků na kvalitu plodů a odolnost k suchu

Vydal:

VÝZKUMNÝ A ŠLECHTITELSKÝ ÚSTAV OVOCNÁŘSKÝ HOLOVOUSY s.r.o. Holovousy 129, 508 01

1. vydání, 2025

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

ISBN 978-80-88669-07-4 (online; pdf)

DOI: 10.60615/t5jb-h438