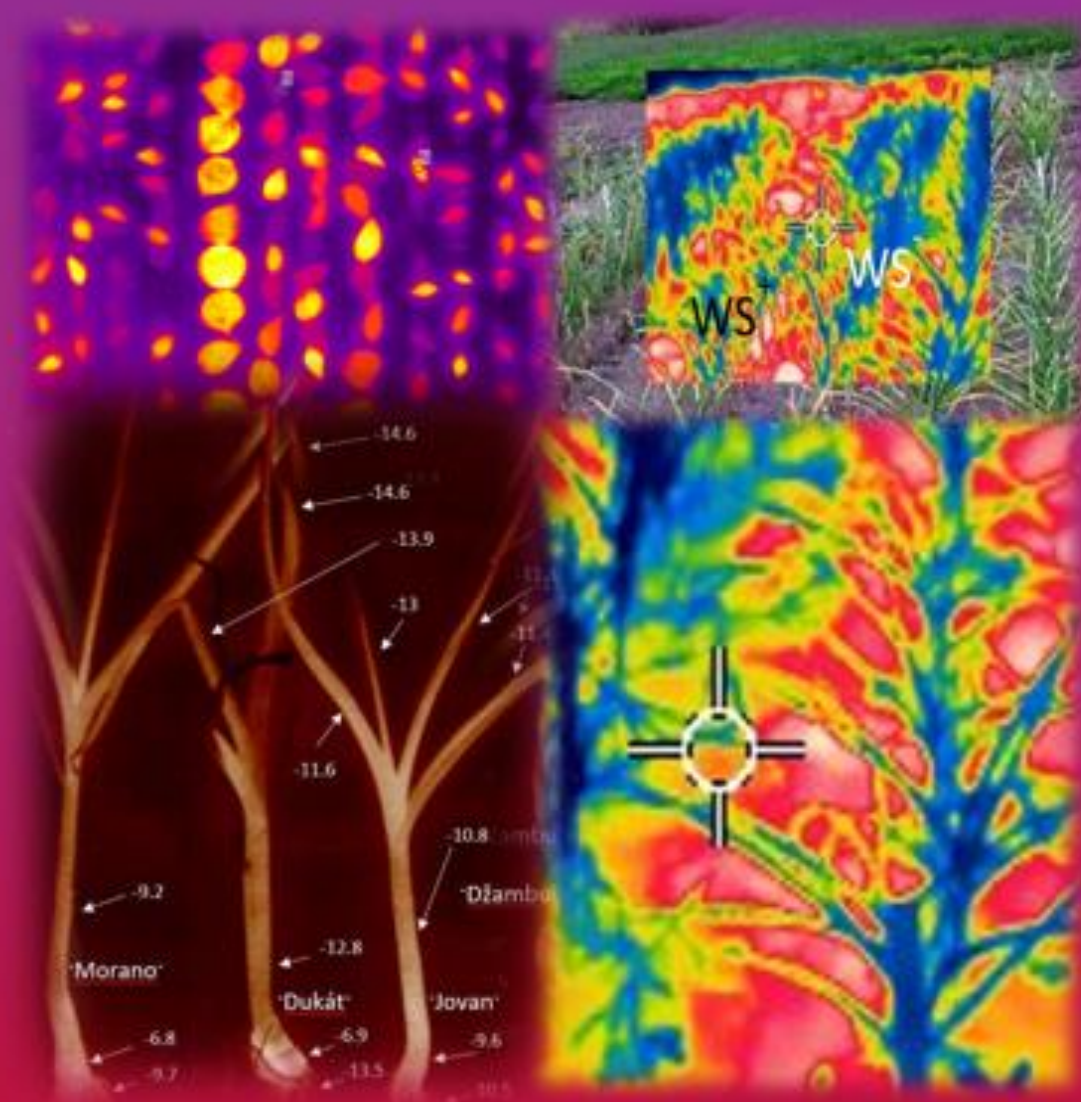


# Metodika testování odolnosti klonů česneku k abiotickým stresům

Certifikovaná metodika



Jiří Zámečník  
Alois Bilavčík  
Miloš Faltus  
Václav Kozák  
Helena Stavěliková

2023

Metodika vznikla za finanční podpory Ministerstva zemědělství a je výsledkem výzkumného projektu Národní agentury pro zemědělský výzkum, projekt **QK1910476** s názvem: „**Zvýšení výnosů a kvality produkce česneku výběrem suchovzdorných a chladuvzdorných klonů na základě molekulárně genetické analýzy.**“

Metodika je výstupem řešení výzkumného projektu NAZV QK1910476. Metodika prošla oponentním řízením. O uplatnění metodiky byla dne 29. 11. 2023 uzavřena smlouva (č. 4/2023, VÚRV, v.v.i.) podle ustanovení § 1746 odst. 2 zákona č. 89/2012 Sb., občanského zákoníku. MZe, jako certifikační orgán, vydal Osvědčení č.j. MZE-74579/2023-13123 o uznání metodiky dne 3.1. 2024.

*Autoři:*

Ing. Jiří Zámečník, CSc., VÚRV, v.v.i., Praha  
RNDr. Alois Bilavčík, Ph.D., VÚRV, v.v.i., Praha  
Ing. Miloš Faltus, Ph.D., VÚRV, v.v.i., Praha  
Ing. Václav Kozák, Česnek.cz  
Ing. Helena Stavělková, Ph.D., VÚRV, v.v.i., Olomouc

## Obsah

1. Úvod.....	5
2. Cíl metodiky.....	6
3. Vlastní popis metodiky.....	7
3.1 Mrazuvzdornost.....	7
3.1.1 Metodologie.....	7
3.1.2 Metoda ledové nukleace.....	7
<i>Rostlinný materiál</i> .....	7
<i>Přístrojové vybavení</i> .....	7
<i>Popis metody</i> .....	7
<i>Příklady využití metody</i> .....	8
3.1.3 Metoda mrazového testu.....	10
<i>Rostlinný materiál</i> .....	10
<i>Popis metody</i> .....	10
<i>Příklady využití metody</i> .....	12
3.2 Suchovzdornost.....	13
3.2.1 Metodologie.....	13
3.2.2 Metoda termického měření listů.....	13
<i>Rostlinný materiál</i> .....	13
<i>Přístrojové vybavení</i> .....	14
<i>Popis metody</i> .....	14
<i>Příklady využití metody</i> .....	14
3.2.3 Metoda diskriminace stabilního izotopu uhlíku.....	16
<i>Rostlinný materiál</i> .....	16
<i>Přístrojové vybavení</i> .....	16
<i>Popis metody</i> .....	16
<i>Příklady využití metody</i> .....	17
4. Srovnání novosti postupů.....	19
5. Popis uplatnění metodiky.....	20
6. Ekonomické aspekty.....	20
7. Seznam použité související literatury.....	21
8. Seznam publikací, které předcházely metodice.....	22
9. Jména oponentů.....	22
10. Dedikace.....	23

## 1. Úvod

S očekávanými změnami klimatu se dá předpokládat, že se projeví velké kolísání ve srážkách a i v teplotách. Vpád mas arktického vzduchu do střední Evropy většinou přinese mráz. Nebezpečné je pro mrazuvzdornost rostlin střídání teplot. Velmi nebezpečné je uprostřed zimy po periodě oteplení, charakterizované nad nulovými teplotami, náhlé ochlazení s hlubokými zápornými teplotami. Nedostatek vody způsobený nevyrovnaným rozdělením srážek během vegetačního období je limitní nejen v produkci plodin, ale také může dojít k plošným zaorávkám uhynulých rostlin. Jedním z neefektivnějších opatření v našich podmínkách je pěstovat plastické genotypy, tolerující krátkodobé přísušky a plně využívající fotosyntetický aparát při dostatku vody. Podobný požadavek je na genotypy tolerující nízké teploty, které se rychle adaptují na indukční podmínky (nízká teplota, krátký den) a zvyšují mrazuvzdornost a ta vede k zvýšené zimuvzdornosti.

Identifikace charakteristik rostlin přispívá k jejich popisu a tím i k lepšímu využití genofondu, což je důležitým krokem v managementu a využití genetických zdrojů rostlin (Bioversity 2009). Detailní popis vlastností uchovávaného genofondu je nejdůležitějším nástrojem pro výběr genotypu se specifickými vlastnostmi (Bioversity 2009). Velké množství genetických zdrojů rostlin se nachází v genových bankách a kryobankách. Genetické zdroje jsou přístupné pro šlechtitele, avšak nemohou být využity v plném rozsahu kvůli nedostatku fenotypových informací.

Pro popis vlastností skladovaných genetických zdrojů v genových bankách se používají deskriptory, specifické pro plodinu či pro skupinu rostlin. Podle doporučení IBGRI (1978) pod deskriptorem 2.3. Citlivost k abiotickým stresům, je deskriptor 2.3.3 Citlivost k suchu (Drought Susceptibility) s pětibodovou stupnicí. Data reakce plodin na suchu v popisné části informačního systému GRIN Czech (<https://www.gzr.cz/grin-czech/>) uložených genotypů v Genové bance v Ruzyni byly podrobeny analýze. Pro hodnocení reakce rostlin na suchu je připraveno k použití sedm deskriptorů hodnotících suchovzdornost u 19 druhů rostlin. Bohužel z více jak 53 000 položek uložených v genové bance je pomocí těchto deskriptorů zhodnoceno jen 1,3% . Z více jak 1 000 druhů rostlin uložených v genové bance je suchovzdornost zhodnocena jen u šesti z nich což je 0,5% a to pomocí pěti deskriptorů. V obou případech je to velmi malé procento zhodnoceného genofondu na reakci k suchu. Tato data stimulovala vytvoření metodiky hodnocení suchovzdornosti genofondu česneků.

Nedostatečné množství popsaných položek je možné zvýšit pomocí fenotypování. Termín fenotyp používaný od 50 let minulého století, se dnes hojně rozšířil jako fenotypování nebo jako fenomika patřící do rodiny -omik, které byly přijaty jako nové vědní kategorie a jsou běžně využívány ve vědecké literatuře. Fenotyp rostliny lze popsat na základě morfologických, biochemických, fyziologických a molekulárních charakteristik. Morfologické, fyziologické a biochemické vlastnosti jsou důležité pro vyšlechtění genotypů s lepším výnosem, kvalitou a tolerancí k biotickým a abiotickým stresům. Klíčové fyziologické charakteristiky reakce rostliny na suchu jsou: (i) maximalizace využití vody; (ii) maximalizace produkce v oblastech trpících nedostatečnou zásobeností vodou; (iii) adaptace na prostředí s limitní zásobeností vodou; (iv) produktivita rostlin v suchém prostředí prostřednictvím efektivního zachycení vody, zvýšené efektivity transpirace, růstu a výnosu; (v) šlechtění odrůd do prostředí s omezenou zásobeností vodou na bázi asistované genomiky a transgenních přístupů (Turner et al. 2014).

Stanovují se kvantitativní parametry projevu genotypu u geneticky víceméně identického materiálu tak, aby se mohly popsat a uložit do popisné části. Bylo prokázáno, že řada vlastností není řízena pouze geneticky, ale fenotypová variace genotypu může zastínit fenotypové rozdíly mezi genotypy v geneticky identickém materiálu. Proto se používá statistické analýzy pro identifikaci fenotypových rozdílů mezi genotypy.

Rozvoj automatického fenotypování rostlin je umožněn díky rozvoji detekčních čidel, systémové technologii, automatizaci a matematické formalizaci výsledků v algoritmech. Tato nová koncepce popisu vlastností rostlin spojených s výnosem, kvalitou, tolerancí k biotickým a abiotickým stresům umožňuje posoudit řadu rozdílů ve fyziologických parametrech za pomoci automatického měření se zobecněním pomocí matematických modelů. Digitální báze fenotypování rostlin je nová dosud se rozvíjející oblast výzkumu. Výhody digitálního fenotypování je možné spatřovat v jednotné struktuře, nedestruktivním měření, přesném opakovaném měření a přímém uložení dat. Hyperspektrální spektrometrie a zobrazovací technologie se s výhodou používají v nových fenotypovacích platformách v polních i v řízených podmínkách.

Důležitou vlastností je, aby fenotypovací linka měla vysokou propustnost tak, aby bylo možné změřit co nejvíce parametrů u co možná největšího množství rostlin za využití nákladné měřicí techniky. Pomocí digitálního fenotypování se dá měřit řada fyziologických parametrů odrážejících fyziologické funkce spojené se suchovzdorností. Nejčastěji používané vlastnosti digitálního nedestruktivního fenotypování je teplota listů, teplota porostu, fluorescence chlorofylu, vodivost průduchů, obsah chlorofylu, listová plocha, stárnutí listového pokryvu a - kořenové soustavy. Z destruktivního fenotypování je možné jmenovat hlavně vodní potenciál listů a diskriminaci izotopu uhlíku. Teplota rostliny je důležitý parametr, který je detekován pomocí termického zobrazení. Během vodního stresu nedostatečná transpirace se projeví téměř okamžitě na zvýšené teplotě transpirujícího povrchu. Se zavřením průduchů dochází k poklesu výměny oxidu uhličitého a následně k poklesu fotosyntézy, což ovlivní i využití vody (Zámečník 2015).

Široké fenotypování má klíčový význam pro využití genotypů ve šlechtitelském procesu, zejména pro kvantitativní znaky, které jsou hlavními určujícími faktory odolnosti k suchu (Tuberosa 2012).

## 2. Cíl metodiky

Cílem metodiky je poskytnout metody šlechtitelům česneku, pomocí kterých budou schopni odlišit genotypové rozdíly v odolnosti klonů česneku k dvěma nejčastěji se vyskytujícím abiotickým stresům a to chladu a suchu.

Velmi často nízký výnos je velmi ovlivněn právě těmito dvěma stresory, nedostatkem vody a nízkou pod nulovou teplotou. Existují pěstitelská opatření, která se dají použít. Proti vymrzání či vyzimování zvýšení mrazuvzdornost jsou to různé způsoby mulčování, použití netkané textilie, pozdější sázení stroužků, do větší hloubky, pozdější sázení a do větší hloubky, tak aby se vyhnulo působení nízkých, podnulových teplot.

Vliv nedostatku vody lze omezit závlahou, ale i dalšími agrotechnickými opatřeními, pomocí kterých se uchovává vlaha v půdě. Nejčastěji používané jsou kypření povrchu půdy, při kterém se odstraňuje zároveň plevel, který je velkým konkurentem při přijímání vody kořeny česneku. Plevel, zvláště nízké kořenící, který mnohdy bere i vlahu rostlinám česneku.

Nejefektivnějším způsobem jak bránit negativním vlivům působení abiotických stresů je pěstovat odolné genotypy k oběma hlavním abiotickým stresům – nízkým podnulovým teplotám a nedostatku vody.

Cílem výběru metod bylo, aby byly odzkoušeny, aby byly expeditivní s co možná nejrychlejším získaným výsledkem. Přístroje, určené k tomuto účelu by měly být lehce dostupné a nízkonákladové. Na druhé straně, lze velmi jednoduchým způsobem testovat odolnost rostlin i za použití náročných a drahých zařízení, s tím, že měření jsou dostupná a dají se objednat na zakázku.

### 3. Vlastní popis metodiky

#### 3.1 Mrazuvzdornost

##### 3.1.1 Metodologie

Pro testování mrazuvzdornosti je třeba znát, či určit nukleační aktivitu, kritické orgány, v kterých vznikají krystalická jádra při nejvyšších záporných teplotách a změny v nukleační aktivitě během otužování.

Mrazuvzdornost je nejdůležitějším faktorem při přezimování rostlin. Další faktory zimy jako je vytahování rostlin česneku na povrch půdy při střídajících se periodách mrznutí a tání vrchní vrstvy půdy, nedostatek vody tzv. zimní sucho, vyležení rostlin pod vrstvou sněhové pokrývky, vymokání, kdy na poli leží v proláklínách vrstva vody vzniklá z tajícího ledu či sněhu, všechny tyto abiotické stresové faktory snižují v důsledku mrazuvzdornost jednotlivých rostlin s následným vymrznutím rostlin česneku.

Nejllepší vyjádření mrazuvzdornosti je pomocí letální teploty (LT50), která vyjadřuje teplotu, při které fungují fyziologické funkce z 50% nebo je 50% úhyn jedinců.

##### 3.1.2 Metoda ledové nukleace

Pomocí termické analýzy bylo sledováno časové a teplotní spouštění ledové nukleace v určitých nadzemních i podzemních orgánech česneku.

##### *Rostlinný materiál*

Rostliny česneku byly předpěstovány v semi-sterilních podmínkách v klimatizovaných boxech. Teplota 22 °C, vlhkost 55 %, délka dne 12/8 po dobu 4-5 týdnů podle velikosti narostlých rostlin. Rostliny byly předpěstovány v truhlíku, v pařeništní zemině, poté byly rostliny otužovány při nízké teplotě: 2-3 °C a krátkém dni 8/16 hod. Cibule česneku byly z ložské sklizně. Pacibulky byly sbírány v plné zralosti z palic česneků.

Pro metodu ledové nukleace byly použity klíčící rostliny vyrostlých z pacibulek česneku 'Djambul'. Rostliny česneku byly předpěstované z pacibulek v minipařnicích v zahradnickém substrátu za laboratorní teploty a 16/8 fotoperiody. Rostliny v minipařnicích byly otužovány při +4°C po dobu 1-4 týdnů, při ozáření 80  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , při krátkém dni a fotoperiodě den/noc 8/16 hodin. Pro měření byly celé rostliny včetně kořenů vyjmuty z minipařniců a vystaveny termografickému měření.

##### *Přístrojové vybavení*

Krystalizační procesy byly studovány pomocí infračervené kamery WICS («Workswell», Česká republika) v procesu chlazení průměrnou rychlostí 0,45 °C min<sup>-1</sup>.

##### *Popis metody*

Krystalizační procesy byly studovány pomocí infračervené kamery WIC 640 («Workswell», Česká republika) v procesu chlazení průměrnou rychlostí 0,45 °C min<sup>-1</sup>. Výsledky jsou uvedeny jako průměr +/- SD.

Pro vizualizaci průběhu nukleace ledu byly použito v průměru 20 jedinců. Rostliny byly umístěny na filtrační papír, položený na měděné podložce umístěné v pultovém mrazicím boxu s počítačem řízeným regulátorem s lineárním poklesem teploty přibližně 3 °C min<sup>-1</sup>. Přesná teplota na měděné podložce byla kontrolně zaznamenávána pomocí digitálního teploměru. Po umístění rostlinného materiálu do mrazicího boxu bylo spuštěno infračervené snímání pomocí stacionární LWIR termovizní

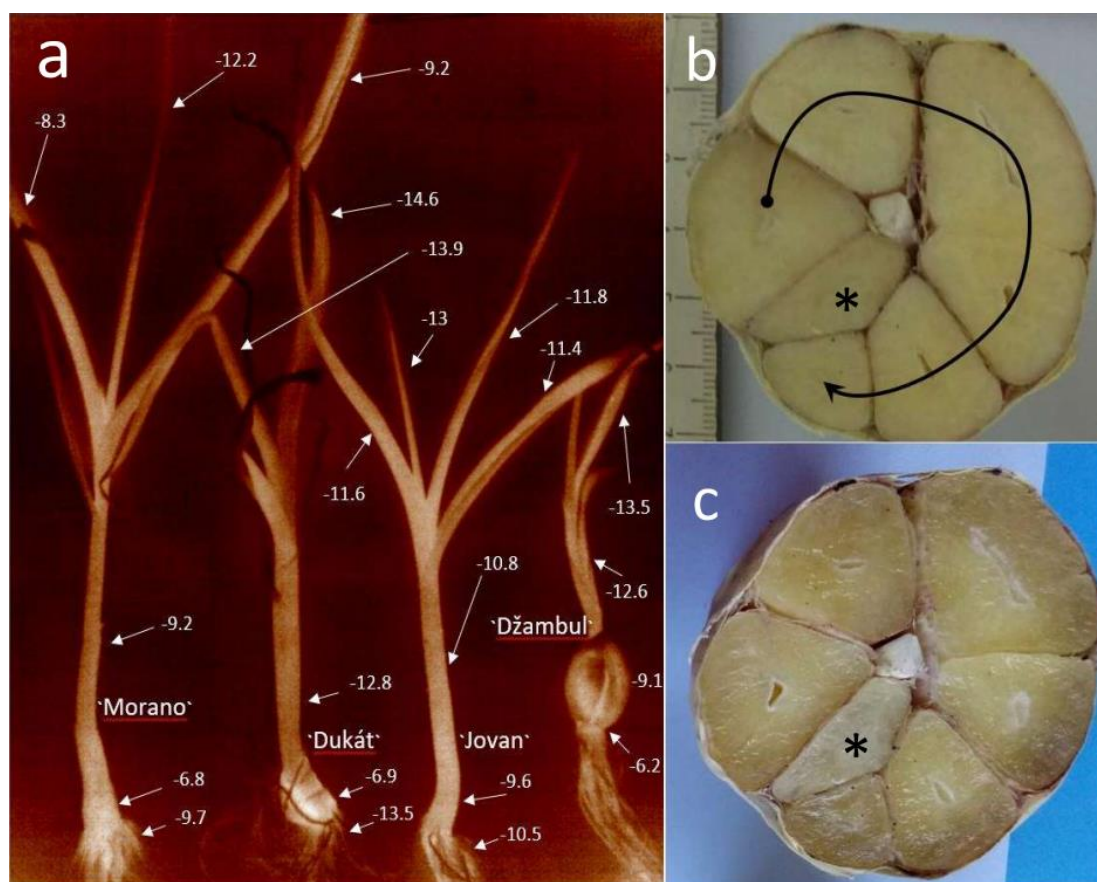
IR kamery Workswell WIC 640 (rozlišení 640x512px, vzorkovací frekvence 30 fps). Pomocí SW Workswell CorePlayer Beta byl poté vyhodnocen záznam IR kamery. Naměřená data teploty nukleace ledu, byla pomocí SW vizuálně odečtena a zpracována pomocí statistického software Statistica 7.0 (StatSoft).

Měření ledové nukleace s nelineárním poklesem teploty. Měřený rostlinný materiál byl umístěn na kancelářský papír, který byl položen na měděnou podložku umístěnou v mrazicím boxu nastaveném na teplotu  $-16\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Přesná teplota na měděné podložce byla kontrolně sledována pomocí digitálního teploměru. Bezprostředně po umístění rostlinného materiálu do mrazicího boxu bylo spuštěno infračervené snímání pomocí stacionární LWIR termovizní kamery Workswell WIC 640 s rozlišením 640x512px o vzorkovací frekvenci 15 fps. Záznam termokamery a následné vyhodnocení bylo provedeno pomocí SW Workswell CorePlayer Beta.

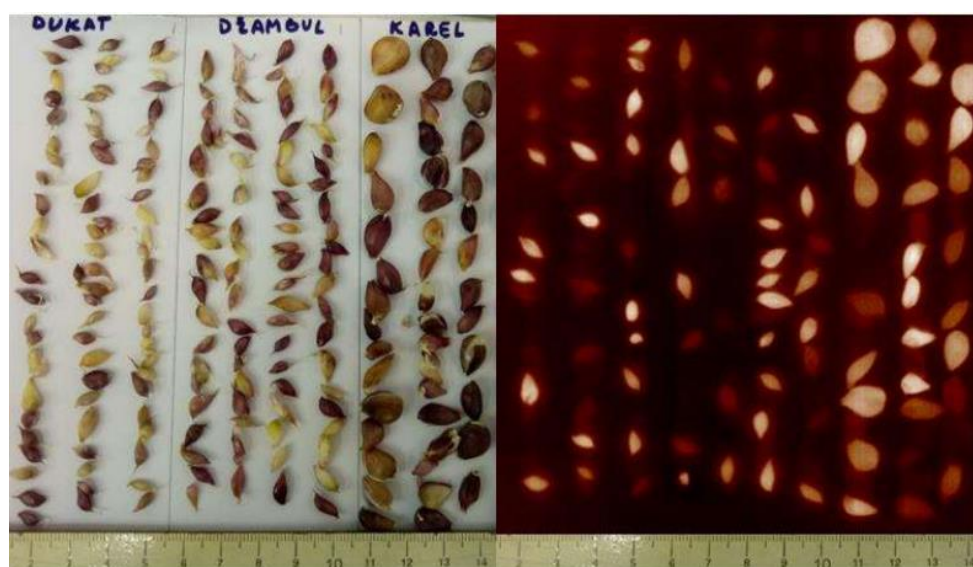
### *Příklady využití metody*

U celých rostlin byla sledovaná nukleace ledu pomocí IR kamery- Na obrázku (Obr. 1a) jsou hodnoty nukleace ledu jednotlivých částí zaznamenány tak, jak postupně nastávaly při poklesu teploty rychlosti  $3\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ . Nejdříve docházelo k nukleaci ledu ve stroužcích  $-6,9$  až do  $-9,6\text{ }^{\circ}\text{C}$ , pak s výjimkou klonu `Džambul`, (u kterého byla nukleace ledu nižší u kořenů než u stroužku) docházelo k nukleaci kořenů v oblasti, kde vyrůstají z podpučí od  $-6,2\text{ }^{\circ}\text{C}$  (`Džambul`) až do  $-13,5\text{ }^{\circ}\text{C}$  (`Dukát`). Dále se led šířil v nadzemních částech, kdy nejdříve byla pozorovaná nukleace ledu v pochvách listů, až pak docházelo k nukleaci ledu v čepelích nejstarších listů. U nejmladších listů byla nalezena nejvyšší teplota nukleace ledu od  $-12,2\text{ }^{\circ}\text{C}$  (`Morano`) až do  $-14,6\text{ }^{\circ}\text{C}$  (Dukát). Hodnoty nukleace ledu jsou spíše pro porovnání místa nukleace ledu, než pro jejich absolutní hodnoty, ovlivněné stochastickými vlastnostmi nukleace ledu. Klon `Morano` pochází ze Španělska, a tak se dá předpokládat, že bude náchylnější na teploty klesající pod bod mrazu, než například klon `Dukát`, který pochází z Českých podmínek.

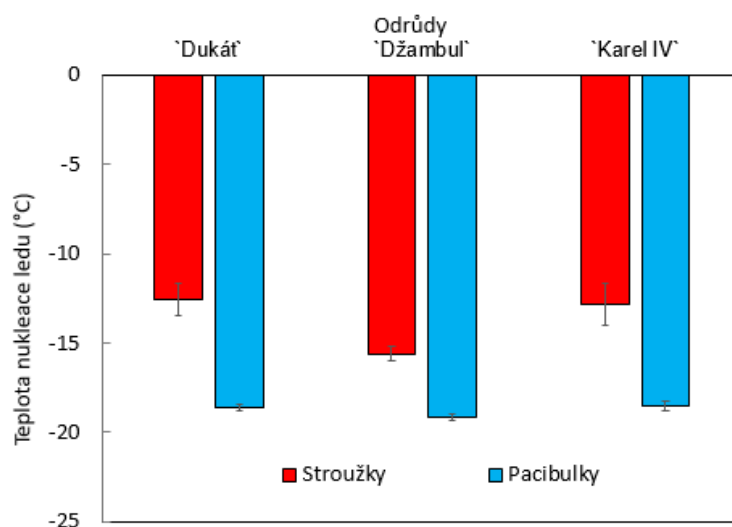
Mrznutí jednotlivých stroužků v cibuli česneku probíhalo podle ontogenetické spirály (Obr. 1b). Nejprve mrzly nejdříve založené stroužky a pak postupně mladší až nejmladší. Po odtátí bylo patrné, že nezmrzlý stroužek, ve stavu podchlazení, nebyl poškozen nízkou teplotou (Obr. 1e). Zhodnocení teploty nukleace ledu jednotlivých stroužků a pacibulek je prezentováno ve sloupcovém grafu (Obr. 3). U tří klonů byly sledovány u stroužků a pacibulek teploty nukleace ledu. Nukleace ledu byla nalezena u stroužků při vyšší teplotě než nukleace ledu u pacibulek. Nebyly nalezeny statistické rozdíly v nukleaci ledu mezi genotypy u stroužků ani u pacibulek. Rozmezí nukleace ledu u stroužků (Obr. 3) bylo ve shodě s publikovanými hodnotami  $-7,7$  až  $-14,6\text{ }^{\circ}\text{C}$  (James et al. 2009). Hodnoty nukleace ledu u pacibulek nebyly dosud publikovány.



**Obr. 1.** (a) Termografický snímek rostlin česneku čtyř klonů 'Morano', 'Dukát', 'Jovan' a 'Džambul'. Teploty nukleace ledu, zjištěné IR analýzou jsou uvedeny u jednotlivých částí rostliny ve stupních Celsia, (b) Postup mrznutí v příčném řezu stroužků Česneků v ontogenetické spirále v neloupané cibuli česneku, (c) Stejná cibule česneku po odtátí. Poslední stroužek (\*), u kterého neproběhla nukleace ledu, při odtátí nebyl poškozený, což je patrné podle neměnné světlé barvy jako před mrznutím.



**Obr. 2.** Test nukleace ledu u různě velikých pacibulek klonu 'Dukát', 'Džambul' a 'Karel IV'. Při nukleaci ledu se v termogramu jednotlivé pacibulky zbarví světle, což odpovídá následně zvýšené teplotě vlivem uvolněného specifického tepla krystalizace ledu.



**Obr. 3.** Nukleace ledu změřená na základě IR spektra. Počty sledovaných stroužků byly  $n=12-28$  a pacibulek  $n=45-82$ . Úsečky vyjadřují standardní chybu průměrných hodnot. Mezi odrůdami nebyly statisticky významné rozdíly ( $p < 0.01$ ).

Obecně lze shrnout, že nejvyšší teplotu nukleace ledu měl klon 'Morano' a nejnižší Dukát. Většinou byla nalezena šířící se ledová; zóna od podpučí k nejmladším listům. V méně častých případech byla nalezena místa spontánní nukleace ledu, v částech rostliny nesouvisející s šířící se ledovou zónou. Nukleace ledu u stroužků v cibuli Česneku nastala po ontogenetické spirále vývoje stroužků, při nejvyšších teplotách nastala nukleace ledu u nejdříve založených stroužků až po nejmladší stroužky. Nebyly nalezeny rozdíly v nukleaci ledu u stroužků tří klonů ani u pacibulek, nehledě na jejich velikost. Jako kritický orgán lze označit stroužek s nejvyšší teplotou nukleace, ale stroužek je zpravidla v půdě 4-10 cm což při holomrazech může být kritické. V jarním období může být kritickým orgánem nadzemní část — listy. Poškození částí rostliny, orgánů či pletiva může sloužit jako kritický indikátor poškození česneku nízkými teplotami.

### 3.1.3 Metoda mrazového testu

Metoda mrazového testu byla zavedena pro zjišťování letální teploty po vystavení rostlin odstupňovaným záporným teplotám. Mrazuvzdornost rostlin se vyjadřuje v letální teplotě, která vyjadřuje teplotu, kterou přežije právě 50 % zkoumaných jedinců.

#### Rostlinný materiál

Rostliny pro testování byly vypěstovány ze stroužků česneku během 14 dní v klimatizovaném boxu při teplotě 22°C, při ozáření 80  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , při dlouhém dni a fotoperiodě den/noc 16/8 hodin, v pařeništní zemině v květináčích 6x6 cm, po 4-5 rostlinách v každém květináčku. Bylo otestováno 74 klonů česneku na mrazuvzdornost.

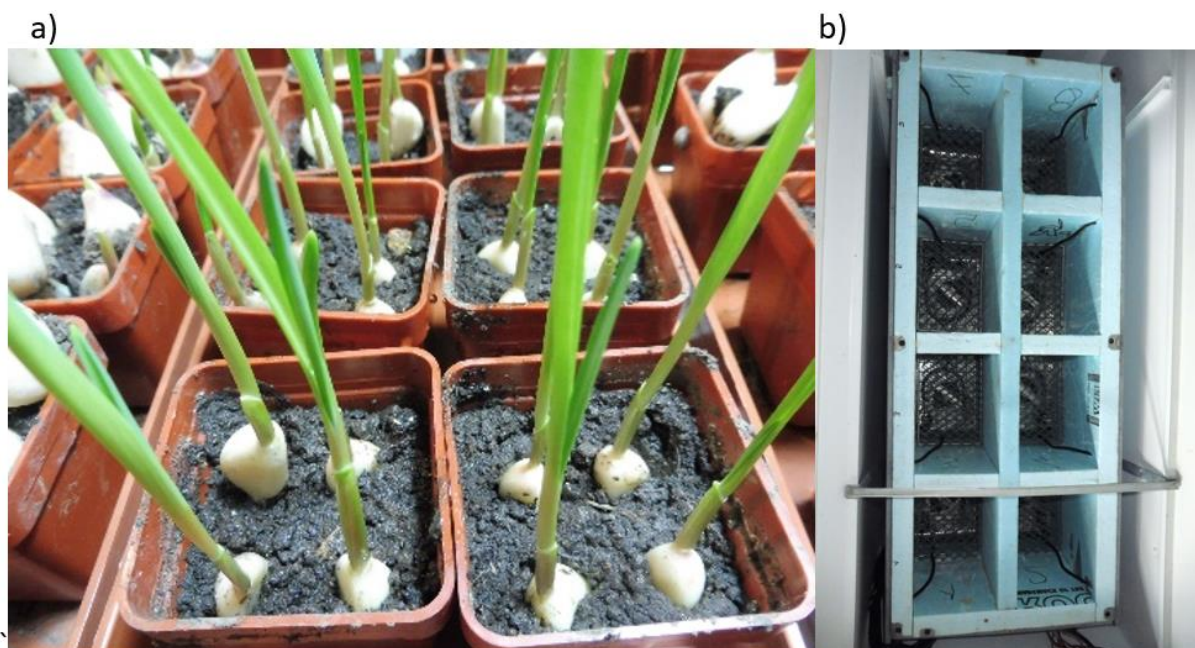
#### Přístrojové vybavení

Hlubokomrazicí box -60°C – Arctiko by Dairei, řízení teploty poklesu teploty pomocí počítače a umístění otopné spirály v každém boxu (Obr. 4b)

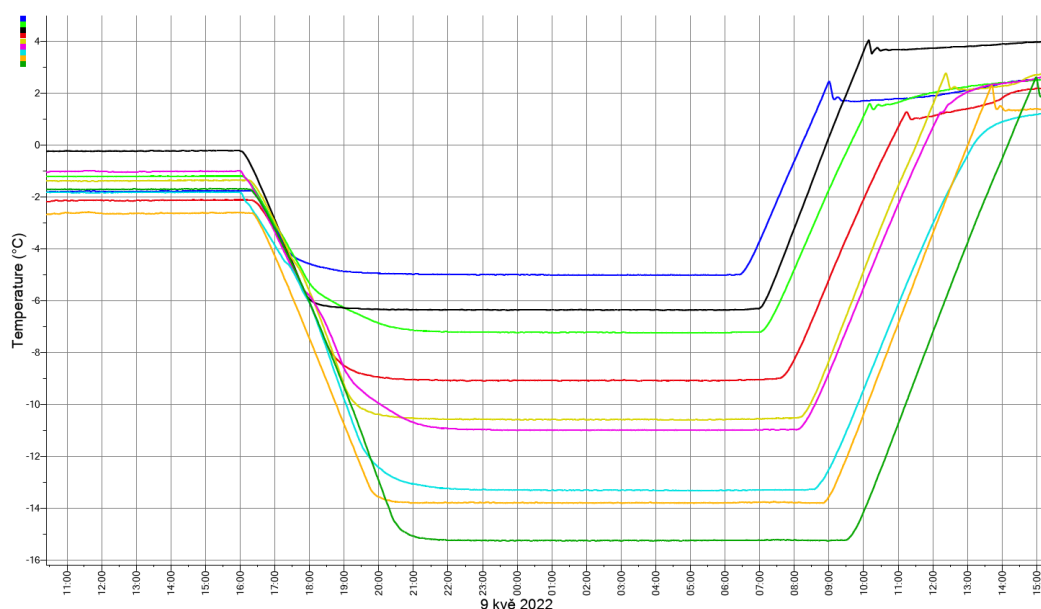
#### Popis metody

Rostliny byly otužovány po dobu 4 týdnů v klimatizovaném boxu při teplotě 4°C, při ozáření 80  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , při krátkém dni a fotoperiodě den/noc 8/16 hodin. Po otužování byly rostliny (Obr. 4a)

vloženy do 8 komor (Obr.4b) po 4 květináčích s různými 4 testovanými odrůdami. Každá komora měla samostatně řízenou teplotu pomocí ohřevu topné spirály a pronikajícího chladu z okolí mrazicího pultu. Program byl následující.



**Obr. 4.** a) Rostliny předpěstované před mrazovým testem 14 dní při 22 °C. b) Pohled do mrazicího boxu, v každé komoře byla programově snižována, udržována a zvyšována programově teplota



**Obr. 5.** Příklad průběhu osmi teplot mrazového testu. Po úvodní 35 hodinovém pobytu rostlin na -2°C proběhla tzv. první fáze mrazového testu. Druhá fáze mrazového testu spočívala v řízeném poklesu teplot do žádané teploty, pobyt 12 hodin na žádané teplotě a poté ohřev stejnou rychlostí do nad nulové teploty.

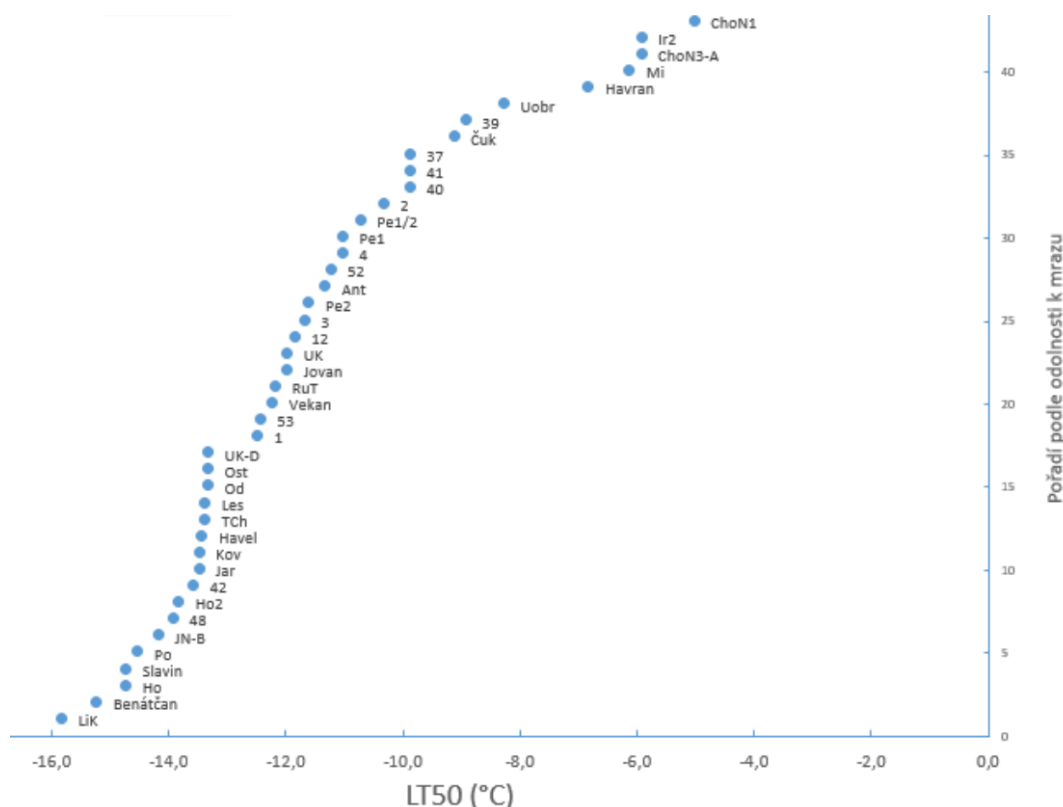
### *Příklady využití metody*

Na Obr. 6 jsou rostliny česneku po mrazovém testu. Rostliny z nejvyšší teploty (-5,5 °C) nebyly poškozené touto teplotou, o tom svědčí jejich růst. Rostliny z nejnižší teploty nerostou, protože byly jejich buňky poškozené mrazem. Růst byl hodnocen po 21 dnech růstu při 22°C.

Na Obr. 7 jsou seřazené testované jednotlivé klony novošlechtění podle letální teploty (LT50). Odolnost jednotlivých klonů se pohybovaly od -4 °C do -15,9 °C. Mezi nejméně odolným klonem k mrazu a nejvíce odolným klonem je rozdíl více jak 11 °C.



**Obr. 6** Regenerace česneků po mrazovém testu. Čísla reprezentují nejnižší teploty v °C, kterým byly vystaveny rostliny česneku po dobu 12 hodin.



**Obr. 7** Testované klony česneku, registrované odrůdy a novošlechtění seřazené podle odolnosti k mrazu.

Závěrem lze konstatovat, že infračervená spektroskopie odhalila kritické orgány - cibule česneku a podpučí z hlediska lokalizace nukleace ledových krystalů. Na základě měření byly odhaleny i bariéry k mrznutí - v kořenech a listech. Na základě mrazových testů je možné hodnotit klony a novošlechtění s odolností vůči mrazu v rozsahu až 10°C rozdílu v letální teplotě.

## 3.2 Suchovzdornost

### 3.2.1 Metodologie

Pro stanovení genotypových rozdílů v suchovzdornosti byla použita nedestruktivní, bezdotyková metoda měření teploty listů. Na základě tohoto měření, je možné usuzovat okamžitě, jak dalece jsou fotosyntetizující listy ovlivněny nedostatkem vody. Druhá metoda je destruktivní a integrální. V sušině listů se detekuje pomocí diskriminační analýzy stabilní izotop  $^{13}\text{C}$ , který je integrální hodnou otevřenosti průduchů.

### 3.2.2 Metoda termického měření listů

Pro měření teploty listů je důležité vědět, že listy, které mají při oslunění vysokou teplotu ve srovnání s kontrolními rostlinami pro bezdotykové měření teploty. Je důležité vědět, že intenzita vyzařování z povrchu těles roste s jejich povrchovou teplotou. Tento fakt je možné využít právě při bezdotykovém, vzdáleném měření teploty listů.

### Rostlinný materiál

Rostliny v polních podmínkách. Parcelkové pokusy genofondu se výzkumné stanici VÚRV, v.v.i. Olomouc a rostliny zavlažované a nezavlažované ve foliových krytech v Poběžovicích.

## Přístrojové vybavení

Moderní termokamery využívají obrazové senzory a jsou schopny změřit povrchovou teplotu v 640x512 i více bodech. Tento údaj zároveň udává rozlišení výsledného termogramu. Čím větší je rozlišení termogramu, tím větší lze získat prostorové rozlišení při měření povrchové teploty.

Nejčastěji používané termokamery snímají tepelné záření ve vlnovém pásmu přibližně 8 až 14  $\mu\text{m}$ . Termokamery, které pracují v tomto vlnovém pásmu, se označují jako LWIR (Long Wave InfraRed). Při měření teploty s pomocí termokamery je třeba vždy pamatovat na to, že termokamerou není přímo měřena (skutečná) absolutní teplota povrchu. Absolutní teplota může být termokamerou pro zemědělské účely stanovena po specifikaci parametrů měření - emisivity a odražené zdánlivé teploty (Lukáš 2021). Prezentovaná měření byla použita FLIR F6 camera (FLIR Systems, USA).

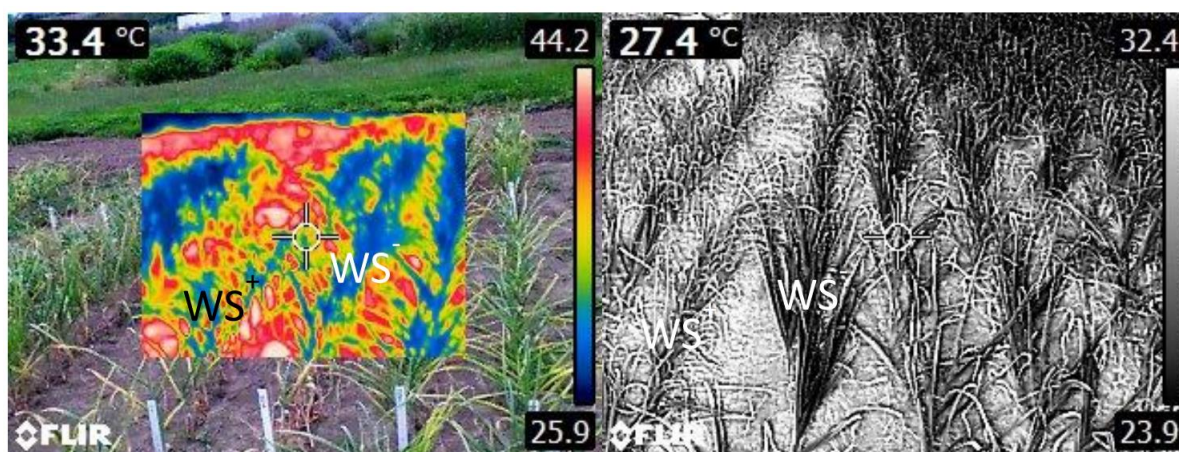
## Popis metody

Infračervené snímání teplot genotypů česneku v polních podmínkách odhaluje, do jaké míry rostliny trpí nedostatkem vody. Transpirace rostlin je fyziologická funkce listů na jejich ochlazování při vystavení slunci. V případě nedostatku vody, kdy rostlina česneku trpí suchem, není transpirace tak účinná pro ochlazování povrchu rostliny a dochází ke zvýšení teploty listů. Zvýšená teplota způsobí v listech zastavení fyziologických, ale i biochemických podchodů a může dojít až ke kolapsu a uhybnutí listů a v důsledku i rostliny.

Nejčastěji používané termokamery snímají tepelné záření ve vlnovém pásmu přibližně 8 až 14  $\mu\text{m}$ . Termokamery, které pracují v tomto vlnovém pásmu, se označují jako LWIR (Long Wave InfraRed). Při měření teploty s pomocí termokamery je třeba vždy, pamatovat na to, že termokamerou není přímo měřena (skutečná) absolutní teplota povrchu. Absolutní teplota může být termokamerou pro zemědělské účely stanovena po specifikaci parametrů měření - emisivity a odražené zdánlivé teploty (Lukáš 2021).

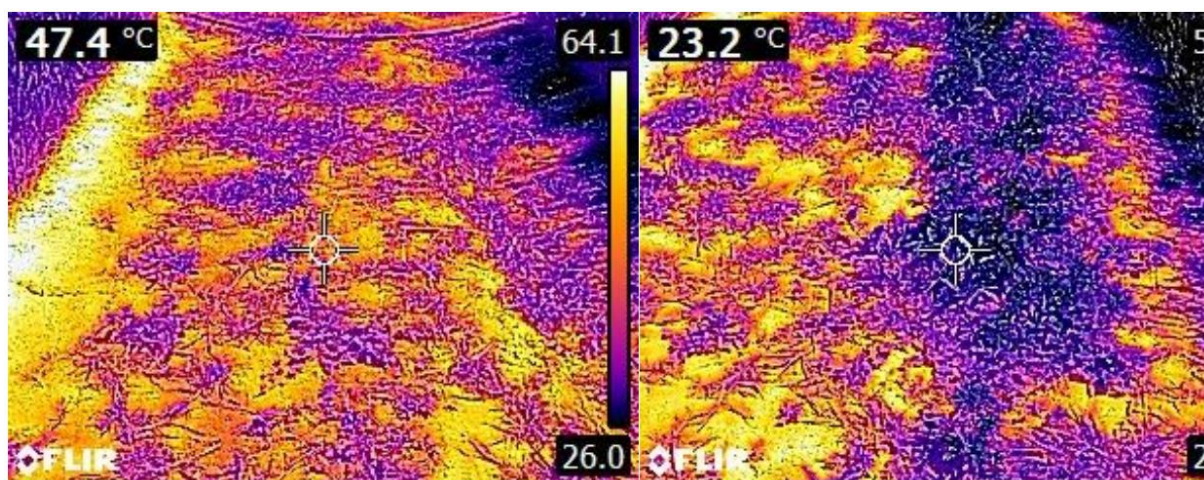
## Příklady využití metody

Metoda snímání teploty listů pomocí IR kamery v polních podmínkách, kdy jsou porovnávány genotypy s rozdílnou intenzitou transpirace listů projevující se v různé teplotě listů. Genotyp na Obr. 8 levý obrázek, v levém řádku trpí suchem (vodním stresem) (WS+) podle vyšší teploty listů, genotyp v pravém řádku (WS-) má chladnější listy, odolává nedostatku vody zvýšenou intenzitou transpirací a tím probíhá vyšší chlazením listů. Snímání provedeno 16. 6. 2022 v poledních hodinách. Na Obr. 8 na pravém obrázku je podobná situace vizualizovaná černobíle.



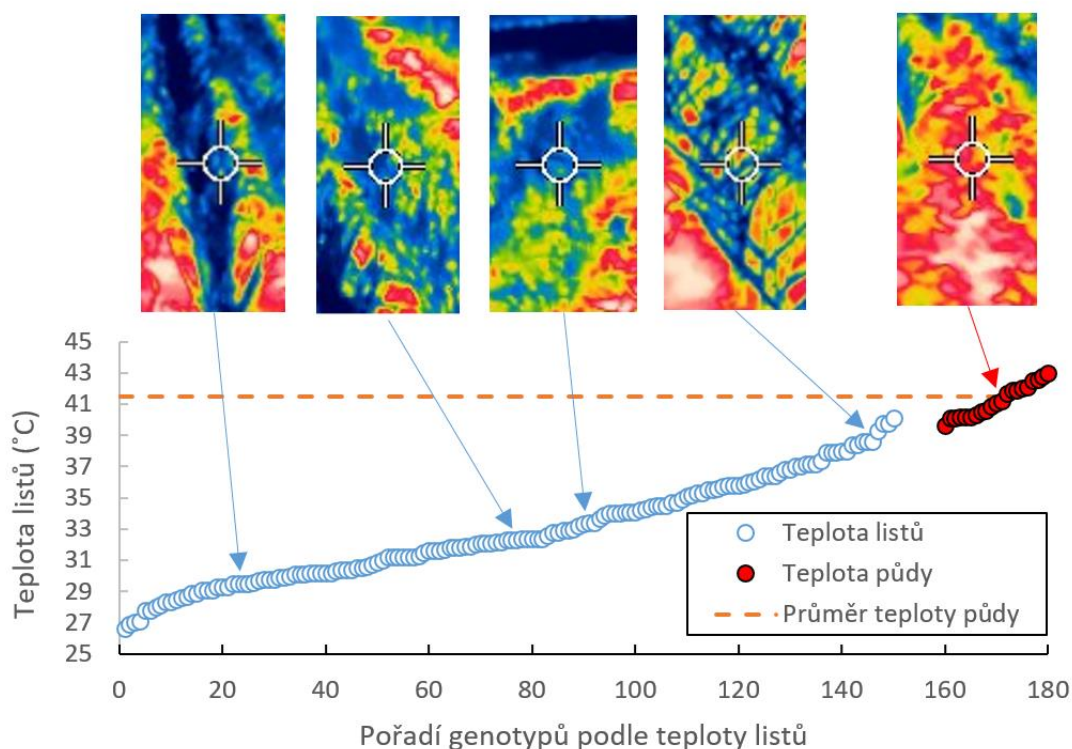
**Obr. 8** Příklad rostlin česneku z polního genofondu česneků ve výzkumné stanici VÚRV, v.v.i. Olomouc.

Rostliny česneku ve foliovém krytu Ing. Václava Kozáka, Chvojenec jsou na Obr. 9, vlevo je varianta nezavlažovaná s průměrnou teplotou 47,4 °C, vpravo je varianta zavlažovaná s průměrnou teplotou 23,2 °C. Snímání provedeno 28. 6. 2022 v popoledních hodinách.



**Obr. 9** Příklad rostlin z experimentu simulace nedostatku vody u rostlin novošlechtění ve foliovém krytu Ing. Václava Kozáka, Chvojenec.

Na Obr. 10 je prezentovaná teplota listů u 150 genotypů česneku seřazená podle naměřené teploty. Některé listy genotypů vykazovaly vysokou teplotu, ta odpovídala vadnutí listů. Příčinou vadnutí byl nedostatek vody na uchlazení listů vlivem absorpce dopadajícího slunečního záření. Rozsah teplot listů v polních podmínkách je od 26 °C do 39,5 °C.



**Obr. 10** Příklad teploty listů u 150 genotypů česneku v polních podmínkách, jako pozadí byla měřena teplota půdy.

### 3.2.3 Metoda diskriminace stabilního izotopu uhlíku

Vedle řady tzv. indexů tolerance k suchu (např. Blum et al. 1983) je měření fyziologických charakteristik a molekulárních markerů (Ipek et al. 2008) rozšířené pro testování suchovzdornosti. Trochu v ústraní je měření primárních fyziologických parametrů a to transpirace a fotosyntézy na místě jejich primární regulace průduchy a z nich stanovené efektivity využití vody. K vnitřní efektivitě využití vody byla s výhodou použita analýza diskriminace izotopu  $^{13}\text{C}$ . Výsledky této analýzy odpovídají délce zavření průduchů a tím i době, kdy rostliny česneku trpěly nedostatkem vody. Hodnoty diskriminace izotopu uhlíku jsou integrální, tj. vypovídají o reakci listu na nedostatek vody od začátku jeho vývinu po jeho odběry.

Plně vyvinuté listy byly odebírány před kvetením. Standardizace a optimalizace byla provedena minimálně na 10 plně vyvinutých listech. Homogenizace sušiny listů byla prováděna na kulovém mlýnu Pulverisette 0 Fretsch. Pevný vzorek sušiny listu byl pak spálen v kyslíkové atmosféře, vzniklé spalné plyny ( $\text{CO}$ ,  $\text{N}$  či  $\text{S}$ ) byly analyzovány na přístroji EA EuroEA 3028-HT (EuroVectro. Italy) a IRMS Isoptime (GV Instrument, UK). Vše bylo řízeno počítačovým programem Masslinx.

Ve vzorcích byl stanoven celkový obsah C a N a atom %C a % $^{15}\text{N}$ . Laboratorní standardy byly poměřeny proti mezinárodním standardům - PDB pro  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ . Farquhar et al. (1984, 1989) navrhli jednoduchý fyziologický model jak ze změření diskriminace těžkého izotopu uhlíku stanovit vnitřní efektivitou využití vody (WUEi). Statistická významnost rozdílů byla hodnocena pomocí metody ANOVA a LSD testu s využitím programu Statistica 13.

Efektivita využití vody byla více efektivní u česneků, což svědčilo o reakci rostlin na nedostatek vody. Zatímco jiné genotypy měly nízkou efektivitu využití vody, svědčící o dostatečné dostupnosti pro využití vody rostlinami pro další růst a vývoj rostlin. Toto zjištění je ve shodě s Lipinski a Gaviola (2011), kteří našli větší WUE u nezavlažovaných genotypů česneků než u zavlažovaných. Hongyun et al. (1999) potvrdily i u česneků pokles rychlosti fotosyntézy při nedostatku vody, jedné z hodnot použitých při výpočtu efektivity využití vody.

#### Rostlinný materiál

Rostlinný materiál byl odebírán z polní sbírky genotypů česneků na stanici VÚRV, v.v.i. v Olomouci a v Chvojenci. Bylo zanalyzováno 224 klonů česneků na diskriminaci stabilního izotopu  $^{13}\text{C}$ . Z diskriminace  $^{13}\text{C}$  byla vyjádřena vnitřní efektivita využití vody (WUEi). Genetická analýza byla provedena u 679 klonů česneků z genofondové sbírky vedené v polních podmínkách v Olomouci. Byl vybrán nejnadějnější klon pod označením „Les“ z hlediska jeho mrazuvzdornosti a suchovzdornosti.

#### Přístrojové vybavení

Homogenizace sušiny listů byla prováděna na kulovém mlýnu Pulverisette 0 Fretsch. Pevný vzorek sušiny listu byl pak spálen v kyslíkové atmosféře. Vzniklé spalné plyny ( $\text{CO}_2$ ,  $\text{N}$  či  $\text{S}$ ) byly analyzovány na přístroji EA EuroEA 3028-HT (EuroVectro. Italy) a IRMS Isoptime (GV Instrument, UK). Vše bylo řízeno počítačovým programem Masslinx.

#### Popis metody

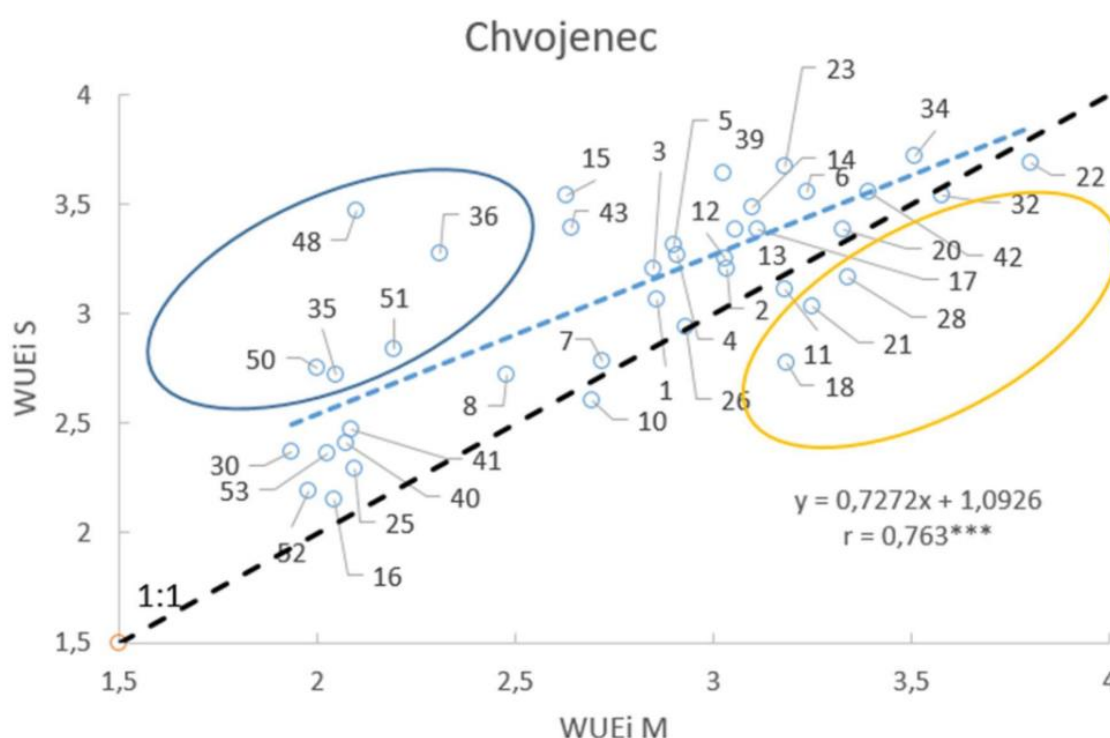
Ve vzorcích byl stanoven celkový obsah C a N a atom %C a % $^{15}\text{N}$ . Laboratorní standardy byly poměřeny proti mezinárodním standardům - PDB pro  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ . Farquhar *et al* (1984, 1989) navrhli jednoduchý fyziologický model jak ze změření diskriminace těžkého izotopu uhlíku stanovit vnitřní efektivitu využití vody (WUEi). Statistická významnost rozdílů byla hodnocena pomocí metody ANOVA a LSD testu s využitím programu Statistica 13.

Efektivita využití vody byla více efektivní u česneků, což svědčilo o reakci rostlin na nedostatek vody.

Zatímco jiné genotypy měly nízkou efektivitu využití vody, svědčící o dostatečné dostupnosti pro využití vody rostlinami pro další růst a vývoj rostlin. Toto zjištění je ve shodě s publikovanými daty Lipinski a Gaviola (2011), kteří našli větší WUE u nezavlažovaných genotypů česneků než u zavlažovaných Hongyun et al. (1999) potvrdily u česneků pokles rychlosti fotosyntézy při nedostatku vody, jedné hodnoty použitých při výpočtu efektivitu využití vody.

### Příklady využití metody

Bylo zhodnoceno 53 klonů nadějných novošlechtění na suchovzdornost. Z výsledků na Obr. 11 bylo možné rozlišit dvě skupiny novošlechtění. První skupina novošlechtění, které mají nízkou efektivitu využití vody při dostatku přístupné vody a naopak vysokou efektivitu využití vody za nedostatku přístupné vody lze označit za suchovzdorné novošlechtění označené čísly 35,36,48,50,51. Druhá skupina novošlechtění s nízkou suchovzdorností, které mají vysokou efektivitu využití vody při dostatku přístupné vody a vysokou efektivitu využití vody za nedostatku přístupné vody lze označit za méně suchovzdorné novošlechtění v rámci souboru testovaných novošlechtění označené čísly např.: 22,28,21,18.

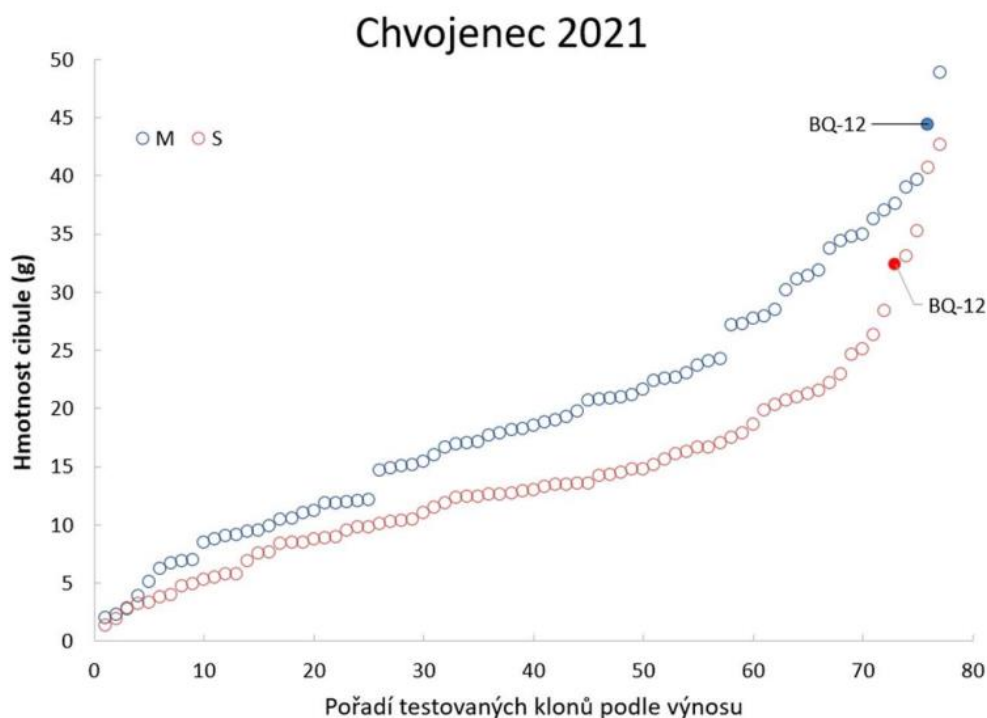


**Obr. 11** Zhodnocení 53 položek novošlechtění česneku pěstovaných při plné závlaze ( $WUE_i M$ ) a při snížené závlaze ( $WUE_i S$ ) na stanovišti Chvojenec. V modré elipse jsou genotypy, které šetří vodou při nedostatku dostupné vody a naopak v oranžové elipse jsou genotypy, které šetří i při dostatku vody.

Výsledky z testovaných jednotlivých klonů na odolnost k nedostatku vody byly porovnávány s výsledky příbuznosti testovaných klonů, získané molekulární metodou. Pro hodnocení vnitřní efektivitu využití vody. Ke změně došlo u 22 z 58 sledovaných genotypů, což je u jedné třetiny. Pouze u jednoho genotypu byla zaznamenána změna ob kategorií. Změny byly zaznamenány u 19 klonů do nižší kategorie a jen u tří genotypů do vyšší kategorie  $WUE_i$ . Tyto změny byly pravděpodobně způsobeny vlivem ročníku, kdy srážkově byl ročník 2021 bohatší než rok 2020.

## Výnos

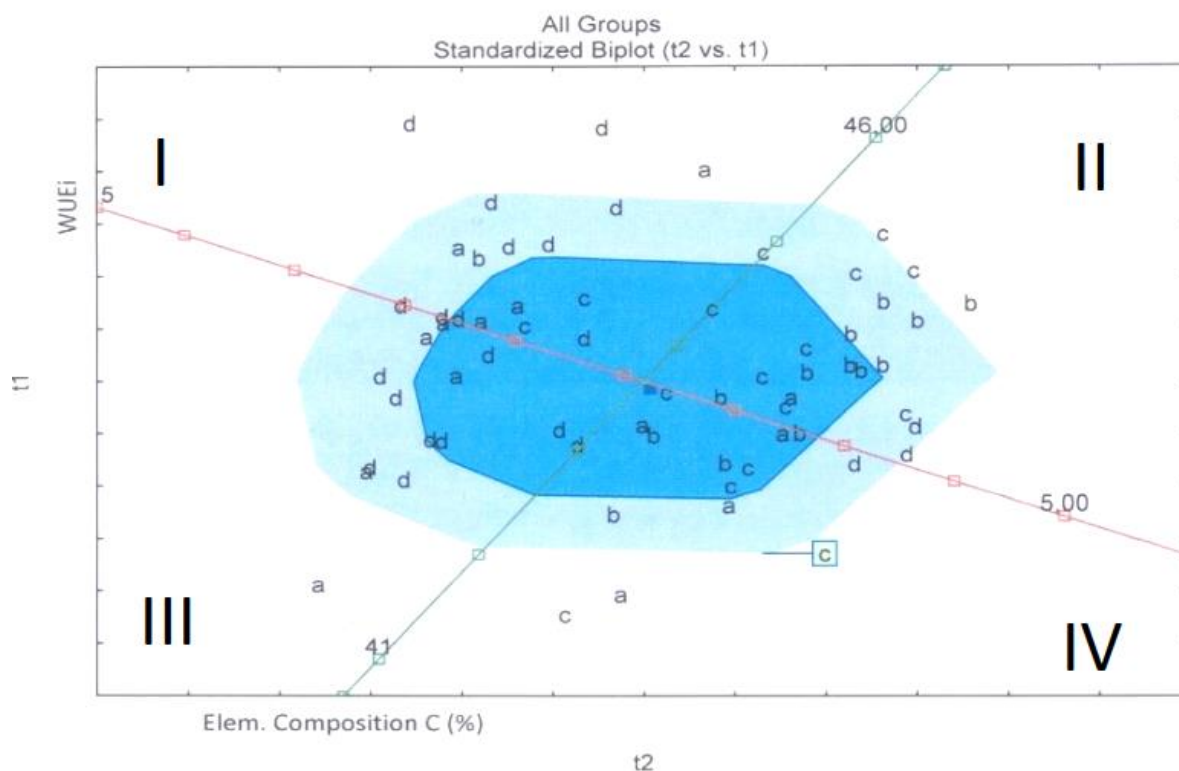
Testované klony česneku měly nižší hmotnost cibulí až na výjimky na začátku a na konci pořadí klonů při závlaze (Obr. 13). Z grafu je patrné, že testovaný klon BQ-12 patřil ke klonům s vysokou hmotností cibule pod závlahou a bez závlahy se držel také mezi klony s největší hmotností cibulí. Přesahoval tak v hmotnosti cibule řadu klonů, které i pod závlahou měly nižší hmotnost.



**Obr. 12** Hmotnost cibule v závislosti na pořadí testovaných klonů podle hmotnosti cibule. Modře a červeně je označeno postavení testovaného klonu BQ-12. M – modře, testované klony byly pod závlahou, S – červeně, bez závlahy.

Výsledky výzkumu prvních dvou let, třetího a čtvrtého roku řešení projektu se promítly do vybraných nových klonů česneku s přidáním vlastností suchovzdornosti, mrazvzdornosti a s vysokým výnosem. Na základě diskriminační analýzy izotopu uhlíku je chráněn vybraný genotyp BQ-12, který je v +2 sigma oblasti se zvýšenou efektivitou využití vody a patří mezi čtyři nejlépe hodnocené genotypy v suchovzdornosti, je výnosnější minimálně o 5% oproti průměru a zároveň má vhodné konzumní vlastnosti. Efektivita využití vody byla stanovena pomocí diskriminační analýzy stabilního izotopu  $^{13}\text{C}$ . Integrovaná hodnota diskriminace stabilního izotopu v listech vyjadřovala míru zavřenosti a otevřenosti průduchů. Tento klon byl vybrán z 66 testovaných klonů v roce 2019, z 58 testovaných klonů v roce 2020 a 71 klonů v roce 2021. Efektivita využití vody je největší v případě menší dostupnosti vody rostlinou. V takovém případě rostlina šetří sice s vodou, ale dochází ke snížení výnosu. Zaměření se na nízkou efektivitu vody, znamená, že rostlina dobře reguluje výdej vody a má při tom více otevřené průduchy, které regulují též příjem oxidu uhličitého a tím je podpořena i vyšší fotosyntéza a vyšší výnos. Rostliny s vysokou efektivitou vody sice na jednotku spotřebované vody dosáhnou vyššího výnosu, ale výnos je relativně malý. Což není případ BQ-12 viz Obr. 12.

Na základě polních pokusů a pokusů ve foliových krytech bylo zhodnoceno 66 nejnadějnějších položek novošlechtění a genofondových položek. Rozdělení klonů podle WUEi (vnitřní efektivita využití vody) a celkového obsahu C (Obr. 13).



**Obr. 13** Rozdělení genotypů podle WUEi (vnitřní efektivity využití vody) a celkového obsahu C (%), na základě vyhodnocení pomocí statistické analýzy Principal Component Analysis (PCA).

Oblast grafu (Obr. 13): I. Znamená vysoké WUEi a vysoký obsah C. II. Znamená nízké WUEi a vysoký obsah C. III. Znamená vysoké WUEi a nízký obsah C. IV. Znamená nízké WUEi a nízký obsah C. Skupina klonů označená a), tyto klony se vyskytují spíše v části s vysokým WUEi a vysokým obsahem uhlíku v sušině v I. a III. oblasti. Skupina klonů označená b), klony se vyskytují spíše v části s nízkým WUEi a vysokým obsahem uhlíku v sušině v II. a IV. oblasti. Skupina c), klony se vyskytují spíše v II. a IV. oblasti a s vysokým obsahem uhlíku v sušině v části s nízkým WUEi v II. a IV. oblasti. Skupina d), klony se vyskytují spíše v části s vysokým WUEi v I. a III. oblasti.

#### 4. Srovnání novosti postupů

Pro testování odolnosti česneků k abiotickým stresům, hlavně suchu a mrazu byl dosud používáno stanovení výnosu resp. jeho poklesu. Navržená metodika je zaměřená na zkrácení šlechtitelského procesu a zacílení na dva abiotické stesy, které mohou významně snížit výnos. Redukce výnosu vlivem abiotických stresů je ovlivněna omezením fyziologických funkcí, které mají v důsledku vliv na hmotnost a počet stroužků v česnekové cibuli. Proto je tato metodika zaměřena na klíčové fyziologické procesy, které jsou redukovány při působení abiotických stresů a mohou tyto dva výnosové parametry významně snížit a tím i celková redukce výnosu. Cílem je odhalit náchylné jedince a odolné jedince pomocí této metodiky při působení abiotických stresů. Při šlechtění česneků odolných k abiotickým stresům bude urychlen výběr odolných klonů za použití této metodiky. Při testech na mrazuvzdornost byly testovány desítky jedinců a při testech na suchovzdornost byly testovány stovky jedinců k výběru nejodolnějších k abiotickým stresům. Tyto testy rozlišily celou škálu genotypů od méně odolných k nejvíce odolným a na tomto základě bylo možné vybrat tři klony jako odolné k abiotickým stresům, na které byly testovány. Ze tří nejnadějnějších klonů byly následně registrovány dvě odrůdy, registrace další odrůdy se očekává. Metodika je založena na zjišťování odolnosti rostlin k abiotickým stresům pomocí nových fyziologických metod založených na použití nejnovějších přístrojů. Metodika byla vyvinuta v rámci výzkumného projektu a byla podpořena

aplikovaným výzkumem teoretické a experimentální povahy, který byl zaměřen na získání nových poznatků a dovedností pro vývoj nových postupů ve šlechtění odolných česneků k abiotickým stresům. Pokud je nám známo, metodika testování odolnosti klonů česneků k abiotickým stresům dosud neexistuje a tedy nelze ji s ničím srovnávat.

## 5. Popis uplatnění metodiky

Metodika je určena šlechtitelům a šlechtitelským pracovištím, které se zabývají rezistentním šlechtěním na odolnost rostlin česneku k abiotickým stresovým faktorům. Metodika může sloužit k otestování odolnosti genotypů česneků pro státní správu, zabývající se registrováním nových odrůd. Jednotlivé části metodiky mohou být vhodným pracovním nástrojem pro studenty VŠ laboratoří ke studiu a praktickému výcviku v používaných technikách. Metodika může být modifikovaná pro příbuzné druhy rostlin rodu *Allium* jako například cibuli, šalotku, pažitku a další.

## 6. Ekonomické aspekty

Odhad ekonomického přínosu zavedením metodiky pro uživatele.

Vycházíme z porovnání dvou posledních ročníků. Rok 2022 byl srážkově chudý a je možné ho označit jako suchý rok. Rok 2021 byl bohatý na srážky. Celková produkce česneku za posledních 6 let byla v průměru 2306 t (Český statistický úřad). Ve srážkově chudém roce 2022 byl průměrný výnos česneku 3,8 t ha<sup>-1</sup> a v srážkově bohatém roce 2021 byl průměrný výnos 4,26 t ha<sup>-1</sup>. Rozdíl ve výnosu v těchto dvou po sobě jdoucích letech byl 0,46 t ha<sup>-1</sup>, což je přibližně propad výnosu o 11% srážkově bohatého roku. Když porovnáme například jiné dva srážkově rozdílné roky (2018 a 2020), tak je to propad výnosu už o přibližně 26% roku 2018 bohatého na srážky.

Průměrná cena za 1 kg česneku byla 114 Kč. Kdyby vyšlechtěná odrůda česneku odolná k suchu měla vyšší výnos jen o 5 % (nízký odhad), pak by to znamenalo na 114 tis. Kč x 2306 x 0,05 = 13 452 tis. Kč, to je přínos zavedením nové odolné odrůdy k nedostatku vody. Je ještě řada hodnot, které nebyly ve výpočtu zohledněny, jako jsou náklady na sadbu česneku, zastoupení pěstované nové odrůdy, náklady na vstupy (ochrana, výživa, sklizeň, sušení atd.). Z těchto důvodů je propočet ekonomického přínosu orientační. Jestliže dochází k propadům ve výnosech v suchých letech, tak na produkci nově zavedené odolné odrůdy česneku a za průměrnou tržní cenu by bylo možné zvýšit zisk o cca 5%.

Odhad nákladů na zavedení postupů uvedených v metodice:

Zavedení této metodiky by bylo jednoznačně velmi nákladné, protože jsou používány nákladné přístroje, pro přístroje pro stanovení koncentrace stabilního izotopu a další laboratorní nákladné laboratorní přístrojové vybavení. Navrhuje se, než vybavovat jednotlivá pracoviště nákladnou přístrojovou technikou tak používat jednotlivé techniky jako servis. Například jeden vzorek pro stanovení koncentrace stabilního izotopu uhlíku je přibližně 400 Kč za vzorek. Pořízení termické kamery je v řádu 70 tis. Kč.

Nezanedbatelné je i časové hledisko při šlechtění odrůd česneků. S využitím fyziologických znalostí o reakci novošlechtění česneku se umožní již v prvním roce šlechtění dosáhnout odlišení odolných a náchylných genotypů k abiotickým stresům, což zjednoduší a zlevní celý šlechtitelský proces.

## 7. Seznam použité související literatury

Bioversity (2009) Coping with climate change: the use of agrobiodiversity by indigenous and rural communities. Bioversity International: Rome.

Přístupné na: <http://www.agrobiodiversityplatform.org/blog/?p=2505>

Blum A., Poyarkova. H., Golan. G, & Mayer. J. (1983) I. Effects of translocation and kernel growth. *Field Crops Research* 6. 51-58.

Farquhar, G. D., Hubick, K. T., Condon, A. G., & Richards, R. A. (1989). Carbon isotope fractionation and plant water-use efficiency. In *Stable isotopes in ecological research* (pp. 21-40). New York, NY: Springer New Yor

Farquhar, G. D., Richards R. A. (1984) Isotopic composition of plant carbon correlates with water-use efficiency of wheat genotypes, *Funcional Biol.* 11: 539-552.

Farquhar. G. D., Ehleringer L. R., Hubick, K. T. (1989) Carbon isotope discrimination and photosynthesis. *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol* 40: 503-537

Hongyun. G. Zhicheng. F.. Jirong. L. & Lianhai. F. (1999) The tussue culure of garlic anther (J). *Journal of Shandong Agricultural University* 2. 6

IBPGR (1978) A Minimum List, International Board for Plant Genetic Resources and Information Sciences/Genetic Resources Program. AGPE: IBPGR/77/20,IBPGR Secretariat Rome

Ipek. M., Ipek. A. Simon. P. W. (2008) Rapid characterization of garlic clones with locus-specific DNA markers. *Turk. J. Agric. For.,* 32: 357-362.

James, C, Seignemartin, V., & James, S. J. (2009) The freezing and supercooling of garlic (*Allium sativum* L.). *International Journal of Refrigeration*, 32(2), 253-260.

Lipinski. V. M.. Gaviola. S. (2011) Optimizing water use efficiency on violet and white garlic types through regulated deficit irrigation. *Acta Horticulturae.* 889: 459-468

Lukáš, J. 2021 Senzory bezpilotních platforem pro DPZ v zemědělství Česká technologická platforma pro zemědělství (ČTPZ).

Tuberosa, R. (2012) Phenotyping for drought tolerance of crops in the genomics era. *Frontiers in physiology*, 3, 347.

Turner, N. C., Blum, A., Cakir, M., Steduto, P., Tuberosa, R., Young, N. (2014) Strategies to increase the yield and yield stability of crops under drought – are we making progress?. *Functional Plant Biology*, 41(11), 1199-1206.

Yamaguchi. M. (1983) Solanaceons fruts. *World vege:ables Pnneiples. producuon numtive values* AVI Publishing Company. INC. Westport. Connecticut 298-304.

Zámečník, J. (2015) Fyziologické parametry a fenotypové charakteristiky suchovzdorné plodiny pro pěstování v našich podmínkách v souvislosti se změnou klimatu. In *Sborník Genetické zdroje rostlin a změna klimatu.* (ed. V. Zedek *et al.*) Praha, MZe, 31-36.

## 8. Seznam publikací, které předcházely metodice

Bilavčík, A., Faltus, M., Zámečník, J. (2019) Characterisation of plant viability – An important factor for survival at low temperatures, Europe Biobank Week, Lubeck 2019, 26.

Hammond Hammond S. D., Zamecnik J., Faltus M., (2021) Effects of water stress on garlic under in vitro conditions for drought resistance assessment: Response to osmotics In: Book of abstracts. 2nd Multidisciplinary conference of young researches. P. 24

Leišová-Svobodová, L., Stavěliková, H., & Zámečník, J. (2024) Evaluation of genetic diversity and phenotypic description of garlic (*Allium sativum* L.) from the Czech field collection. *Scientia Horticulturae*, 323, 112506.

Leišová-Svobodová L., Stavěliková H., Zámečník J. (2021) Identifikace odrůd česneku pomocí analýzy mikrosatelitů. *Úroda* 12 (věd. p.):205- 210

Zámečník, J.; Faltus, M. (2021) Physiological and Biophysical Responses of Plants under Low and Ultralow Temperatures In: *Handbook of Plant and Crop Physiology*, (ed.) Pessarakli, CRC Press, Boca Raton, 669-690

Zámečník J.; Faltus, M.; Bilavcik, A. (2021) Vitrification Solutions for Plant Cryopreservation: Modification and Properties. *Plants*, 10, 2623.

## 9. Jména oponentů

Prof. Ing. Václav Hejnák, Ph.D.

Česká zemědělská univerzita v Praze Fakulta agrobiologie,  
potravinových a přírodních zdrojů Katedra botaniky a fyziologie  
rostlin, hejnak@af.czu.cz, tel. 224382514, 734360884

Ing. Lenka Lefnerová

Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský; Sekce rostlinné výroby,  
Národní odrůdový úřad, Oddělení zkoušek odlišnosti, uniformity a stálosti;  
lenka.lefnerova@ukzuz.cz, tel.: 543 548 227; 737 267 235

## 10. Dedikace

Dedikace: Metodika vznikla za finanční podpory Ministerstva zemědělství a je výsledkem výzkumného projektu Národní agentury pro zemědělský výzkum, projekt **QK1910476** s názvem: **„Zvýšení výnosů a kvality produkce česneku výběrem suchovzdorných a chladuvzdorných klonů na základě molekulárně genetické analýzy.“**

Název: Metodika testování odolnosti klonů česneku k abiotickým stresům  
Autoři: Jiří Zámečník, Alois Bilavčík, Miloš Faltus, Václav Kozák,  
Helena Stavělíková  
Vydavatel: Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i.  
Vydání: první, 2023  
Počet stran: 24  
ISBN 978-80-7427-414-5 (online; pdf)

Tato publikace neprošla jazykovou úpravou. Za věcnou a jazykovou správnost díla odpovídají autoři. Metodika je poskytována bezplatně.