

**Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta**

Studijní program: Biologie
Studijní obor: Experimentální biologie rostlin



Bc. Lenka Svitáková

Studium odpovědi fazolu obecného na stres suchem s využitím
optických vlastností listu

Study of common bean drought response with the use of leaf optical
properties

Diplomová práce

Školitelka: **Mgr. Zuzana Lhotáková, Ph.D.**
Konzultanti: **Ing. Milan O. Urban, DiS, Ph.D.**
prof. RNDr. Jana Albrechtová, Ph.D.

Praha, 2022

Charles University
Faculty of Science

Study programme: Biology
Branch of study: Experimental Plant Biology



Bc. Lenka Svitáková

Study of common bean drought response with the use of leaf optical properties

Studium odpovědi fazolu obecného na stres suchem s využitím optických vlastností listu

Diploma thesis

Supervisor: **Mgr. Zuzana Lhotáková, Ph.D.**
Consultants: **Ing. Milan O. Urban, DiS, Ph.D.**
prof. RNDr. Jana Albrechtová, Ph.D.

Prague, 2022

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci vypracovala samostatně pod vedením Mgr. Zuzany Lhotákové, Ph.D. a za konzultace Ing. Milana O. Urbana, Dis, Ph.D. a prof. RNDr. Jany Albrechtové, Ph.D., že jsem řádně citovala všechny použité prameny a literaturu a že práce nebyla využita v rámci jiného vysokoškolského studia či k získání jiného nebo stejného titulu. Prohlašuji také, že souhlasím se zveřejňováním této práce.

V Praze, dne 9. srpna 2022

Lenka Svitáková

Poděkování

Především bych ráda poděkovala své školitelce Mgr. Zuzaně Lhotákové, Ph.D. za skvělé a laskavé vedení v průběhu celého procesu tvorby této práce. Za veškerou trpělivost, ochotu nalézat (nápaditá) řešení a také za veškerý čas věnovaný konzultacím a zaškolování do metodických přístupů. Stejně tak velké díky patří i mému konzultantovi Ing. Milanu O. Urbanovi, DiS, Ph.D. za poskytnutí této jedinečné příležitosti podílet se na výzkumu v prostředí světově významného institutu v oblasti studia fazolu – Alliance of Biodiversity International a CIAT. Také za veškeré odborné konzultace a přispění jeho znalostmi v oblasti problematiky fazolu obecného při pokusech i při psaní diplomové práce. A v neposlední řadě za jeho vedení, pomoc a trpělivost v průběhu polních experimentů v Kolumbii. Především mu však děkuji za lidský přístup a za poskytnutí rodinného zázemí spolu s RNDr. Janou Krtkovou, Ph.D. s jejich synem Matyáškem během mých pobytů v Kolumbii, jejichž společnost mi byla velkou oporou obzvláště během nepokojů způsobených stávkami v Kolumbii. Moje poděkování patří také celému týmu techniků a pracovníků CIATu, jejichž pomocné ruce a zkušenosti přispěly hladkému průběhu polních experimentů, jmenovitě děkuji hlavně Bc. Jonatanovi Stivens Soto Bermeovi, který byl velkou podporou během polních experimentů a při kompletaci nasbíraných dat.

Velké díky patří také celému týmu laboratoře 207 v čele s mou konzultantkou paní prof. RNDr. Janou Albrechtovou, Ph.D., která svou vstřícností, nápady a znalostmi přispěla ke zdárnému dokončení této práce. Poděkovat bych chtěla také Mgr. Evě Neuwirthové, Ph.D., bez jejíž znalostí a úžasné pomoci se zpracováním dat by tato práce nespátřila světlo světa. Stejně tak děkuji Mgr. Drahomíře Bartákové, která mne detailně provedla technikami zpracování vzorků. A také Miroslavovi Bartákovi a Mgr. Josefovi Šonkovi za pomoc během skleníkových experimentů.

Moje velká vděčnost patří také Nadačnímu fondu PřF UK a Fondu mobility UK, které se podílely na financování mých cest do Kolumbie, kde jsem se díky tomu mohla intenzivně věnovat polním experimentům na půdě světově proslulého mezinárodního institutu pro tropické zemědělství. Tyto pokusy jsou stěžejní částí této diplomové práce, ale jsou také podkladem pro budoucí vědecké publikace. Děkuji Univerzitě Karlově, že v takové míře podporuje své studenty a jejich výzkumnou činnost.

Chci také poděkovat své rodině, Přátelům i Komunitě, kteří stáli po celou dobu tvorby této práce po mém boku a byli mi velkou oporou. Bez jejich povzbuzení, laskavosti a modliteb by to nešlo.

Velké díky množství dalších lidí, kteří mě provázeli během magisterského studia.

Abstrakt

V důsledku klimatické změny dochází v zemědělských oblastech ke zhoršování podmínek pro pěstování mnoha plodin, včetně fazolu obecného. Tyto změny v podobě teplotních výkyvů a zhoršené dostupnosti vody v půdě budou znamenat velkou výzvu pro zemědělství ve snaze zajistit potravinovou bezpečnost lidstva.

Cílem této práce bylo studium většího počtu genotypů fazolu obecného za účelem kvantifikace jejich resistance vůči snížené dostupnosti vody v půdě a také pro zavedení nových přístupů pro indikaci stresu suchem za využití optických vlastností listu. Z metodického hlediska tato práce propojuje optické vlastnosti listu s anatomickými a biofyzikálními vlastnostmi listu.

Modelovou rostlinou v této práci byla jednoletá rostlina fazol obecný (*Phaseolus vulgaris*) a fazol ostrolistý (*Phaseolus acutifolius*). Rostliny byly pěstované ve dvou odlišných podmínkách kultivace – ve skleníku PřF UK v Praze a na poli v rámci pokusů prováděných v Kolumbii v mezinárodním institutu pro tropické zemědělství – Alliance of Biodiversity International a CIAT. Do polních pokusů v Kolumbii bylo zahrnuto 48 genotypů fazolu se zastoupením genotypů z Mezoamerického i Andského genového poolu. Pro skleníkové pokusy a většinu analýz z polních pokusů byly vybrány čtyři genotypy fazolu obecného a jeden genotyp fazolu ostrolistého s různou citlivostí k suchu.

Z agronomických parametrů měřených v polních podmínkách byla do této práce zahrnuta hmotnost nadzemní biomasy a výsledný výnos semen. Primárním materiálem pro studium byl list, na kterém byly měřeny optické vlastnosti ve viditelném a infračerveném spektru a sloužily i pro stanovení relativního obsahu vody (RWC) a specifické listové plochy (SLA). U skleníkových experimentů bylo kromě hmotnosti nadzemní biomasy, RWC a SLA provedeno stanovení obsahu fotosyntetických pigmentů a anatomických parametrů z příčných řezů listu (tloušťka celého listu a jeho jednotlivých vrstev).

Na základě výsledků analýzy hlavních komponent provedené zvláště na spektrech měřených na adaxiální a abaxiální straně listu bylo vyhodnoceno, že trendy v rozdílech mezi jednotlivými skupinami rostlin fazolu (vlivem ošetření, genotypů nebo termínu měření) jsou shodné při využití spekter z obou stran listu. Tyto výsledky jsou pro výzkum fazolu zásadní, protože při využití metod dálkového průzkumu vstupují do odrazivosti snímaného porostu jak spektrální data adaxiální, tak částečně i abaxiální strany listu.

RWC a SLA se ukázaly jako vhodné indikátory reakce fazolu na suchu. U skupiny ošetřené suchem došlo u rezistentních genotypů k výraznějšímu poklesu RWC oproti kontrolní skupině, u citlivých genotypů byl pokles oproti kontrolní skupině méně kontrastní. Reakcí na suchu byl u senzitivních genotypů pokles v SLA. Odolné genotypy reagovaly různorodě – v některých případech nedošlo ke změně v podmínkách sucha oproti kontrole. Pokles SLA v podmínkách sucha potenciálně ukazuje na senzitivitu genotypu vůči stresu suchem.

Ze spekter měřených na listech byly odvozeny vegetační indexy a korelovány k výslednému výnosu semen. Nejvyšší hodnoty R^2 (0,36-0,47) byly dosaženy pro poslední termín měření odrazivosti listu (62. den po vysetí). S výsledným výnosem nejlépe korelovaly vegetační indexy GNDVI, BNDVI, NDRE, NDVI a NDREI. Tyto vegetační indexy se z velké části překrývají s těmi, které u skleníkového experimentu nejlépe korelovaly s hmotností nadzemní biomasy.

Z hyperspektrální odrazivosti listu byly úspěšně modelovány pomocí částečné regrese nejmenších čtverců biofyzikální a anatomické znaky listu fazolu, které byly u fazolu modelovány pravděpodobně vůbec poprvé.

Abstract

The negative effects of climate change have affected the conditions of agriculture areas, which leads to hampered cultivation of crops, including the common bean's cultivation. Changes, such as extreme temperature swings and lowered water availability in soil create a big challenge for today's agriculture in seeking solutions for safeguarding the food security for all people on our planet.

The aim of this thesis was to study a wider range of genotypes of common bean to quantify their resistance against lowered water availability in soil, and to establish new approaches for detecting drought stress with the use of leaf optical properties. From the methodological point of view, this thesis connects the leaf optical properties with anatomical and biophysical leaf traits.

The common bean (*Phaseolus vulgaris*) and the tepary bean (*Phaseolus acutifolius*) were employed as the model organisms. Plants were cultivated in two differing environments – in a greenhouse setting at the Faculty of Science of the Charles University in Prague and on the experimental fields in Colombia at the international research institute for tropical agriculture – Alliance of Biodiversity International and CIAT. There were 48 genotypes included into the field experiments in Colombia. These included genotypes from both Mesoamerican and Andean gene pools. For the greenhouse experiment and for most of the data analysis, four genotypes of common bean and one genotype of tepary bean differing in sensitivity to drought were selected.

From the agronomical parameters measured during the field experiments, the above ground biomass (AGB) and the final yield were included into this thesis. The focus was mainly on the leaf which was used to acquire its optical properties in the visible and the infrared spectra. Leaves served also to determine the relative water content (RWC) and the specific leaf area (SLA). In the greenhouse experiment apart from the AGB, RWC and SLA, content of photosynthetic pigments and anatomical parameters based on leaf cross-sections (total leaf thickness and the thickness of individual layers) were measured.

Based on the results of the principal component analysis applied separately on the spectra measured on the adaxial and abaxial leaf side, it was concluded that the trends in the differences between the groups of plants (factor of treatment, genotypes, or the date of measurement) are the same when using spectra from either of the two sides of the leaf. These results are fundamental for common bean research as the use of remote sensing methods perceive the reflectance of vegetation which includes spectral data from the adaxial and partially the abaxial sides of the leaves.

RWC and SLA turned out to be suitable indicators of common bean's response to drought stress. In the group with drought treatment, the resistant genotypes showed a more significant decrease of RWC compared to the control group. In case of the sensitive genotypes, the reaction to drought stress also caused a decline in RWC, but it was less contrasting in comparison to the control group.

The sensitive genotypes reacted to drought stress by decreasing their SLA. The reaction of the resistant genotypes varied – in some cases there was no difference between the treatment and control conditions. Decrease of the SLA when drought is present could potentially indicate the sensitivity to drought stress of the given genotype.

Vegetation indices derived from the spectra measured on leaves were correlated with the final yield. The highest values of R^2 (0,36-0,47) were reached from the latest measurements of leaf reflectance (62nd day after planting). The best correlating vegetation indices with the final yield were GNDVI, BNDVI, NDRE, NDVI and NDREI. These vegetation indices greatly overlap with those which best correlated with AGB measured during the greenhouse experiment.

The anatomical and biophysical leaf traits of the bean were successfully modeled using the partial least square regression applied on the hyperspectral leaf reflectance. These parameters were modeled for bean most likely for the first time ever.

1. Obsah

1. ÚVOD	1
1.1 FAZOL OBECNÝ A JEHO VÝZNAM PRO VÝŽIVU POPULACE	1
1.1.1 Klimatická změna.....	1
1.1.2 Vliv sucha na růst a produkci fazolu obecného.....	1
1.2 HYPOTÉZY A CÍLE PRÁCE.....	2
2. LITERÁRNÍ PŘEHLED	2
2.1 PŮVOD A VYUŽITÍ FAZOLU OBECNÉHO.....	2
2.1.1 Hospodářský význam fazolu obecného.....	3
2.1.2 CIAT – význam genové banky fazolu.....	3
2.2 ABIOTICKÝ STRES SUCHEM.....	4
2.2.1 Vliv sucha na výsledný výnos plodin.....	5
2.2.2 Způsoby resistance vůči stresu suchem u rostlin a fazolu obecného.....	6
2.2.3 Paraheliotropický pohyb listů fazolu.....	8
2.2.4 Indikátory stresu suchem u fazolu obecného.....	10
2.2.5 Fotochemické zhášení fluorescence.....	11
2.2.6 Nefotochemické zhášení fluorescence chlorofylu.....	12
2.2.7 Relativní obsah vody (RWC).....	12
2.2.8 Anatomické a morfologické parametry v reakci na stres suchem.....	13
2.2.9 Kořenový systém.....	14
2.3 OPTICKÉ VLASTNOSTI LISTU.....	15
2.3.1 Faktory ovlivňující optické vlastnosti listu.....	16
2.3.2 Vegetační indexy.....	17
2.3.3 Dálkový průzkum vegetace.....	19
3. MATERIÁL A METODY	19
3.1 MODELOVÉ ROSTLINY.....	19
3.1.1 Fazol obecný (<i>Phaseolus vulgaris</i>).....	19
3.1.2 Fazol ostrolistý (<i>Phaseolus acutifolius</i>).....	20
3.1.3 Mezidruhová kříženci fazolu obecného a ostrolistého.....	20
3.2 METODICKÉ PŘÍSTUPY.....	20
3.2.1 Měření spektrálních vlastností listu.....	20
3.2.2 Výpočet vegetačních indexů.....	21
3.2.3 Stanovení specifické listové plochy.....	22
3.2.4 Stanovení relativního obsahu vody listu.....	23
3.2.5 Biochemické stanovení obsahu fotosyntetických pigmentů listu.....	23
3.2.6 Data měřená kapesním fluorimetrem MultispeQ.....	23
3.2.7 Anatomická analýza listů ze skleníkového pokusu.....	25
3.2.8 Výnosové a růstové parametry rostlin.....	26
3.2.9 Stupnice BBCH.....	27
4. EXPERIMENTÁLNÍ DESIGN SKLENÍKOVÝCH A POLNÍCH POKUSŮ	28
4.1 SKLENÍKOVÉ POKUSY GH1 A GH2 V ROCE 2020.....	29
4.2 POLNÍ EXPERIMENTY.....	30
4.2.1 Polní experiment BASE100 (rok 2019).....	33
4.2.2 Polní experiment BASE48 (rok 2021).....	33
5. ZPRACOVÁNÍ DAT	34
5.1 HYPERSPEKTRÁLNÍ DATA.....	34
5.1.1 PCA – analýza hlavních komponent.....	35
5.1.2 PLSR – částečná regrese nejmenších čtverců.....	35
5.2 BIOFYZIKÁLNÍ A STRUKTURÁLNÍ ZNAKY LISTU – ANALÝZA ROZPTYLU.....	35
6. VÝSLEDKY	36

6.1	GH2 – SKLENÍKOVÝ POKUS S POSTUPNÝM VYSYCHÁNÍM SUBSTRÁTU A NAVOZENÍM VODNÍHO STRESU	36
6.1.1	<i>Navození vodního stresu – průběh obsahu vody v substrátu</i>	36
6.1.2	<i>PCA spektrálních dat z experimentu GH2</i>	37
6.1.3	<i>PLSR modelování dat z experimentu GH2</i>	42
6.1.4	<i>Lineární regrese suché nadzemní biomasy a vegetačních indexů</i>	45
6.1.5	<i>Obsah fotosyntetických pigmentů v listech</i>	46
6.1.6	<i>Anatomické vlastnosti listu</i>	49
6.1.7	<i>Biofyzikální vlastnosti listu – RWC a SLA</i>	53
6.2	BASE100 – POLNÍ POKUS V R. 2019	54
6.2.1	<i>BASE100 – index intenzity sucha</i>	54
6.2.2	<i>PCA spektrálních dat BASE100</i>	55
6.2.3	<i>PLSR modelování biofyzikálních vlastností listoví z reflektance listů (polní pokus BASE100)</i>	59
6.2.4	<i>Lineární regrese suché nadzemní biomasy a vegetačních indexů</i>	61
6.2.5	<i>Lineární regrese finálního výnosu a vegetačních indexů</i>	62
6.2.6	<i>Biofyzikální vlastnosti listu – RWC a SLA</i>	64
6.2.7	<i>PCA dat z kapesního fluorimetru MultispeQ</i>	67
6.2.8	<i>ANOVA vegetačních indexů</i>	68
6.3	BASE48 – POLNÍ POKUS V R. 2021	69
6.3.1	<i>BASE48 – index intenzity sucha a průběh půdní vlhkosti</i>	69
6.3.2	<i>PCA spektrálních dat BASE48</i>	71
6.3.3	<i>PLSR modelování dat polního pokusu BASE48</i>	72
6.3.4	<i>Biofyzikální vlastnosti listu – RWC a SLA</i>	75
6.3.5	<i>PCA dat z kapesního fluorimetru MultispeQ</i>	77
7.	DISKUSE	80
7.1	DISKUSE POUŽITÝCH METODICKÝCH PŘÍSTUPŮ	80
7.1.1	<i>Navození vodního stresu ve skleníkových a polních podmínkách</i>	80
7.1.2	<i>Srovnání polních pokusů BASE100 a BASE48</i>	81
7.1.3	<i>Popis anatomických struktur pomocí kvantitativní metody</i>	81
7.2	DISKUSE EXPERIMENTÁLNÍCH VÝSLEDKŮ	82
7.2.1	<i>RWC a jeho vztah ke stresu suchem u fazolu obecného</i>	82
7.2.2	<i>Obsah chlorofylu</i>	83
7.2.3	<i>Anatomická struktura listu</i>	84
7.2.4	<i>Optické vlastnosti listu ve vztahu k suchu</i>	85
7.2.5	<i>PCA analýza</i>	86
7.2.6	<i>PLSR modelování ze spekter</i>	87
7.2.7	<i>Lineární regrese nadzemní biomasy a vegetačních indexů</i>	89
7.2.8	<i>Lineární regrese výsledného výnosu s vegetačními indexy</i>	90
7.2.9	<i>Data z MultispeQ kapesního fluorimetru</i>	90
7.2.10	<i>Vztah mezi vegetačními indexy a výnosovými parametry – celková biomasa a výnos zrna (lineární regrese)</i> 91	
7.2.11	<i>Vliv výběru listu a jeho strany na analýzy</i>	92
7.3	ZHODNOCENÍ PŘÍNOSU PŘEDKLÁDANÉ PRÁCE	92
8.	ZÁVĚRY	94
9.	SEZNAM LITERATURY	97
10.	PŘÍLOHY	114

Seznam zkratk

- ABA – abscisic acid – kyselina abscisová
AGB – above ground biomass – nadzemní biomasa rostliny
ATP – adenosin triphosphate – adenosintrifosfát
BBCH – Biologische Bundesanstalt, Bundessortenamt und Chemische Industrie; stupnice BBCH pro identifikaci fenologických fází vybraných plodin
CGIAR Alliance of Biodiversity International
CIAT – International center of tropical agruiculture – Mezinárodní institut tropického zemědělství
CSWI – Crop Water Stress Index
DAP – days after planting – dny po vysetí
DII – drought intensity index – index intenzity sucha
DMF – N,N-dimethylformamid – dimethylamid kyseliny mravenčí
EVI – enhanced vegetation index
FS4 – spectroradiometer FieldSpec4 – spektrometr FieldSpec4
GH1 (GH2) – Greenhouse experiment 1 (2) – skleníkový experiment 1 (2)
gH⁺ – electron flow through ATP synthase in chloroplasts – tok elektronů ATP syntázou v chloroplastech
HI – harvest index – sklizňový index
chl *a*, chl *b* – chlorophyll *a*, chlorophyll *b* – chlorofyl *a*, chlorofyl *b*
ID – intermittent drought – přerušované sucho
IF – impact factor – impakt faktor
IR – infra red radiation – infračervené záření
LA – leaf area – listová plocha
LDM – leaf dry mass – suchá hmotnost listu
LEF – linear electron flow – lineární tok elektronů
LHC – light harvesting complex – světloběrný komplex
LHCII – light harvesting complex of photosystem II – světloběrný komplex fotosystému II
LMA – Leaf dry mass per unit area – suchá hmotnost listu na jednotku plochy listové
LTD – Leaf temperature differential – rozdíl teploty listu a okolního vzduchu
MSPQ – Multispeq pocket fluorimeter – Multispeq kapesní fluorimetr
NDVI – normalized difference vegetation index – normalizovaný diferenční vegetační index
NIR – near infra red – blízké infračervené (záření)
NPQ – non-photochemical chlorophyll fluorescence quenching – nefotochemické zhášení fluorescence chlorofylu
NPQt – estimate of the total non-photochemical quenching – odhad celkového nefotochemického zhášení
PAR – photosynthetically active radiation – fotosynteticky aktivní záření
PC – pot capacity – kapacita květníku
PCA – principal component analysis – analýza hlavních komponent
PFD – photon flux density – hustoty dopadajících fotonů
PHI – pod harvest index – sklizňový index lusků
PhiNO – energy released by non-regulated processes – energie uvolněná skrze neregulované procesy
PhiNPQ – parameter measured by Multispeq fluorimeter – měřený kapesním fluorimetrem
MultispeQ – energie uvolněná nefotochemickou cestou
Phi2 – ΦPSII parameter measured by Multispeq fluorimeter – parametr ΦPSII měřený kapesním fluorimetrem MultispeQ
PLSR – partial least squares regression – regrese dílčích nejmenších čtverců
PPI – pod partitioning index – index alokace asimilátů do lusků
PQ – photochemical quenching – fotochemické zhášení
PRI – photochemical radiation index – fotochemický radiační index
PřF UK – Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy
PSII – photosystem II – fotosystém II
R² – coefficient of determination – koeficient determinace
RCII – reaction centre of photosystem II – reakční centrum fotosystému II
RGB – red, green, blue radiation – červené, zelené a modré záření

RH – relative humidity – relativní vlhkost vzduchu
RMSE – root mean square error – střední kvadratická chyba
ROS – reactive oxygen species – reaktivní formy kyslíku
RWC – relative water content – relativní obsah vody
SAVI – Soil-Adjusted Vegetation Index
SLA – specific leaf area – specifická listová plocha
SOD – superoxid dismutase – superoxid dismutáza
SPAD chlorofylmetr – soil plant analysis development (content of relative chlorophyll estimation – odhad relativního obsahu chlorofylu
SPLSR – sparse partial least squares regression – typ regrese dílčích nejmenších čtverců
SR – Simple Ratio
SWIR – short wave infrared – krátkovlnné infračervené (záření)
SY – seed yield – výnos semen
TBMPF – total above ground dry biomass at mid-pod filling – celková nadzemní biomasa uprostřed období plnění lusků
TD – terminal drought – terminální sucho
UAV – unmanned aerial vehicles – bezpilotní letoun (dron)
UV – ultra violet radiation – ultrafialové záření
VIs – vegetation indices – vegetační indexy
VNIR – visible near infrared spectra – viditelné a blízké infračervené spektrum
WBI – Water Band Index
WUE – water use efficiency – efektivita využití vody
ΦPSII – photochemical yield of PSII – kvantový výtěžek fotosystému II

1. Úvod

1.1 Fazol obecný a jeho význam pro výživu populace

Fazol obecný je nejdůležitější luštěninou pro lidskou výživu, obzvláště pro obyvatele rozvojových zemí. Je totiž levným zdrojem bílkovin (je relativně bohatý na esenciální aminokyselinu lysin), složených cukrů, vitamínů (např. vitaminu B1 významného pro energetické zásobení buněk a kyseliny listové, která je důležitá pro tvorbu krve a vývoj plodu), jakož i minerálů (Ca, Cu, Fe, Mg, Mn, Zn) a vlákniny. Konzumace fazolu snižuje díky přítomnosti antioxidantů riziko onemocnění, jako jsou srdeční choroby, cukrovka nebo obezita. Zároveň mají fazole nízký obsah tuků a neobsahují cholesterol. V budoucnu bude konzumace fazolu obecného pravděpodobně vzrůstat nejen kvůli zvětšující se populaci, ale také díky většímu zájmu lidí o zdravé stravování, do kterého luštěniny neodmyslitelně patří (Hayat *et al.*, 2014).

Všechny tyto výhody fazolu obecného přispívají jako argumenty pro zintenzivnění jeho výzkumu ve snaze zlepšovat jeho odolnost vůči abiotickým stresům, které budou výzvou pro zemědělství v budoucích letech. Jednou z výzev jsou stále se zvyrazňující sucha a nepravidelná distribuce srážek, které patří k projevům klimatické změny (Stocker, 2014).

Sucho je aktuálním problémem, který se s postupující klimatickou změnou prohlubuje a má veliký dopad na zemědělství po celém světě. Výrazně zemědělství ovlivňuje v oblastech, kde jsou plodiny zavlažovány pouze srážkami bez přidané závlahy. Celosvětově se jedná přibližně o 80 % zemědělské půdy (FAO, 2020). Z tohoto důvodu mají sucha velký vliv na globální ekonomiku a obchod, ale hlavně na potravinovou bezpečnost na naší planetě. Dopady sucha mají největší vliv na samozásobitelské zemědělce a drobné zemědělce¹ v rozvojových zemích, a to hlavně v tropických oblastech, kde jsou sucha častější. Zároveň jejich prostředky pro adaptaci na změny jsou značně omezené, proto jsou klimatickou změnou a jejími dopady nejvíce ohroženi právě oni (Morton, 2008). Přibližně 1,2 miliardy lidí žije v oblastech, kde nedostatek vody komplikuje produkci plodin (FAO, 2020). V rámci celého světa je stresu suchem vystaveno přibližně 60 % půdy, na které je pěstován fazol obecný (Rao, 2001; Beebe *et al.*, 2008), přičemž zemědělské plochy vhodné pro pěstování fazolu obecného s postupujícím vývojem klimatické změny ubývá (Beebe *et al.*, 2011).

1.1.1 Klimatická změna

Nynější odhady dopadů klimatické změny předpovídají nárůst globální teploty mezi 1,4 °C a 3 °C do roku 2050 (Allen a Dube, 2018). Zároveň predikce sdělují nadcházející změny i v množství srážek (pokles či nárůst) v závislosti na oblasti (Fowler *et al.*, 2021). To nevyhnutelně ovlivní rozložení zemědělských oblastí, což povede k narušení systémů, které nyní slouží pro pěstování plodin. Zvýšené teploty a změny v distribuci srážek ovlivní obzvláště plodiny, které jsou více citlivé k abiotickému stresu, mezi něž patří i fazol obecný. Nárůst sucha by mohl zasáhnout až dvě třetiny oblastí, kde je nyní pěstován fazol obecný. Zlepšení jeho odolnosti vůči sníženému obsahu vody v půdním profilu (pro stručnost bude dále v textu užíváno vyjádření odolnost vůči suchu) by proto mohlo rozšířit vhodné oblasti pro jeho pěstování nebo zachovat možnost pěstování v oblastech, jejichž podmínky se vlivem klimatické změny budou výrazně proměňovat.

1.1.2 Vliv sucha na růst a produkci fazolu obecného

Klimatická změna přinese změny v intenzitě a četnosti abiotických stresorů, což v kombinaci s biotickými stresy vede k tomu, že rostlina musí vhodně reagovat na komplexní směsici stresorů. Přesto stres suchem zůstává jedním z nejvíce limitujících faktorů pro růst rostlin, protože i v podmínkách kombinace stresorů, jako jsou sucha a vysoké teploty, rostlina často preferuje reakci, kterou vyvolává stres suchem (Kramer, 1983; Rivero *et al.*, 2022). Efekt stresu sucha na fazol obecný

¹ Překlad termínu „smallholders“ z angličtiny užívaný pro označení lokálních pěstitelů, kteří hospodaří na malé výměře půdy a jejichž výnosy jsou pro soukromé potřeby a nejsou součástí globálního trhu.

je různý v závislosti na intenzitě, typu a délce trvání stresových podmínek, avšak obecně ve všech případech dochází ve výsledku ke snížení výnosu (Beebe *et al.*, 2013). Všechny popsání kombinace stresu negativně ovlivňují produkci fazolu obecného, a tím i potravinovou bezpečnost pro lidi, jejichž obživa je na této plodině závislá. Předpokládá se, že velikost populace na planetě naroste do roku 2050 až na 9,8 miliard. To vyžaduje nejen udržení stejné produkce plodin navzdory klimatické změně a s ní spojenými negativními vlivy na zemědělství a produkci, ale také potřebu exponenciálního nárůstu produkce plodin (Karthikeyan, Chawla a Mishra, 2020). Proto je Organizací Spojených Národů zahrnuta do cílů udržitelného rozvoje i potravinová bezpečnost populace (United Nations, 2015). Vzhledem k tomu, že je fazol obecný jednou z klíčových plodin pro výživu lidí v rozvojových oblastech, je výzkum rezistence vůči suchu u fazolu obecného velmi důležitou oblastí výzkumu.

1.2 Hypotézy a cíle práce

Hlavním cílem práce bylo otestovat, jak se vybrané fyziologické, strukturální a biofyzikální znaky listové fazolu mění při nedostatku vody a zda lze tuto reakci detekovat v optických vlastnostech listu na vybraném souboru genotypů fazolu. Dalším cílem bylo otestovat možnost odhadu strukturálních a biofyzikálních znaků listu z optických vlastností. Pro splnění těchto cílů byly formulovány následující tři hypotézy a k nim dílčí cíle.

1. Na základě optických vlastností listu lze odhalit vodní stres u fazolu obecného.
 - a. Z odrazivosti listu pomocí analýzy hlavních komponent celého spektra lze stanovit, zda je možné odlišit kontrolní skupinu od skupiny vystavené vodnímu stresu.
 - b. Vybrat časové období (DAP – anglicky „days after planting“ – dny po vysetí), ve kterém spektrální informace nejlépe vypovídá o rozdílu mezi kontrolní a suchem stresovanou skupinou rostlin, a tedy aby toto období nejefektivněji sloužilo pro odhalení vodního deficitu.
 - c. Vizualizovat spektrální křivky odrazivosti listu fazolu a popsat, ve kterých jeho oblastech se rozdíl mezi skupinami nejvíce projevuje.
 - d. Stanovit, zda měřená strana listu (adaxiální vs. abaxiální) má vliv na výslednou kvalitu výsledků analýz prováděných na celém spektru, a tedy zda efekt paraheliotropických pohybů může mít zásadní vliv na měření porostu dálkovým průzkumem.
2. Genotypy fazolu reagují odlišně na stres suchem a rezistentní genotypy fazolu lze rozpoznat pomocí vybraných fyziologických a biofyzikálních indikátorů.
 - a. Identifikovat, zda se u vybraných parametrů (RWC, SLA, anatomické parametry listu) projeví rozdíly mezi kontrolní a stresovanou skupinou u vybraných genotypů fazolu.
 - b. Určit, zda se vybrané genotypy fazolu mezi sebou navzájem liší v daném parametru a zda je parametr vhodný pro identifikaci rezistentních genotypů.
3. Optické vlastnosti listu mohou sloužit k odhadu biofyzikálních a anatomických parametrů listové (RWC, SLA, obsah chlorofylu, anatomické vlastnosti listu) a výnosových parametrů rostlin (nadzemní biomasa, výnos zrna).
 - a. Pomocí PLSR (regrese nejmenších dílčích čtverců) z reflektance listu vytvořit modely pro odhad vybraných biofyzikálních parametrů listové, které mohou sloužit jako indikátory reakce na suchu.
 - b. S využitím vegetačních indexů otestovat nepřímý vztah optických vlastností na úrovni listu a výnosových parametrů (nadzemní biomasa, výnos zrna).

2. Literární přehled

2.1 Původ a využití fazolu obecného

Fazol obecný je hospodářsky významná plodina, jak již bylo v úvodu zmiňováno. Je pěstován v širokém rozpětí prostředí od tropických oblastí až po místa s mírnějším podnebím. Ideální teploty pro růst fazolu se pohybují mezi 15 a 23 °C. Fazol roste i v nadmořských výškách nad 3000 m n. m. Díky těmto

vlastnostem je fazol velmi univerzální plodinou pro pěstování. Nevýhodou však je, že je to plodina citlivá na vysokou koncentraci hliníku a sodíku v půdě (Serraj, Vasquez-Diaz a Drevon, 1998; Rangel, Rao a Horst, 2007). Délka vegetativní fáze životního cyklu fazolu se pohybuje mezi 70 až více než 200 dny. Původem pochází fazol ze Střední a Jižní Ameriky. Jsou známy 2 genové pooly (zdroje) planých fazolů (Beebe *et al.*, 2013), které se vytvořily na základě dvou známých center domestikace planého fazolu. Tato centra domestikace dala název dvěma genovým poolům fazolu obecného: i) Mezoamerickému (oblast sahající od Mexika po Kolumbii) a ii) Andskému genovému poolu (oblast Peru, Bolívie a Argentiny) (Gepts, 1998). Genotypy fazolu obsažené v těchto dvou genových poolech se od sebe dají odlišit na základě jejich vlastností. Liší se od sebe typem skladovaného proteinu fazeolinu (Gepts, 1988), morfologií (Singh *et al.*, 1991), izozymy (Singh, Nodari a Gepts, 1991), DNA markery (Nodari *et al.*, 1992) a dalšími vlastnostmi (Beebe *et al.*, 2013). Mezoamerický a Andský genový pool se dále dělí na rasy na základě morfologických a agronomických charakteristik.

Do Mezoamerického poolu patří rasa Mezoamerika (druhy s malými zrny, keříčkovitého vzrůstu, původně z oblasti Mexika a z nížin Střední Ameriky), Durango (druhy keříčkovitého vzrůstu se středně velkými zrny pocházející ze sušších oblastí Mexika), Jalisco (druhy ovíjivé formy růstu z vlhkých oblastí Mexika) a Guatemala (převážně ovíjivé druhy) (Beebe *et al.*, 2000).

Andský pool se dělí na rasu Nueva Granada (středně vysokého keříčkovitého vzrůstu), Peru (hlavně ovíjivého typu) a Chile (poléhavé keříčkovité rostliny) (Beebe *et al.*, 2013). Z těchto ras nejlépe odolává suchu rasa Durango, která ve velké míře slouží jako zdroj pro šlechtění genotypů odolných na sucho (Terán a Singh, 2002). Genotypy Andského genového poolu farmáři pěstují pro trh (obsahuje odrůdy s atraktivními zrny – jsou barevná a velká), Mezoamerické odrůdy jsou spíše pěstovány pro domácí konzumaci. Rasa Durango je považována za největší zdroj na sucho odolných genotypů pro tropické podnebí. Jednotlivé rasy dále obsahují jednotlivé genotypy fazolu – v další části práce se bude převážně mluvit o jednotlivých genotypech fazolu.

2.1.1 Hospodářský význam fazolu obecného

Fazol obecný je hospodářsky nejvýznamnější luštěninou konzumovanou lidmi. Je důležitým zdrojem bílkovin, vitamínů a minerálů pro lidskou výživu, zejména v rozvojových zemích. Je často pěstován sociálně slabšími zemědělci s omezenými možnostmi vstupů do procesu pěstování. Zároveň je také fazol obecný oproti jiným luštěninám více náchylný na extrémní podmínky jako jsou nedostatečná zvlaha, vysoké teploty a půda chudá na živiny (Yadav *et al.*, 2011).

2.1.2 CIAT – význam genové banky fazolu

„Genetická knihovna“ fazolu obecného fungovala již od roku 1973 v Kolumbii, v Palmiře, v Mezinárodním centru pro tropické zemědělství – dříve CIAT (Centro Internacional de Agricultura Tropical), dnes Alliance of Biodiversity International a CIAT (Debouck, Santaella a Santos, 2021). V roce 2022 byla inaugurována její moderní verze nazvaná „Future Seeds bank“ vybudovaná na tomtéž místě. Tuto genetickou banku spravuje CIAT spolu s institucí „Alliance of Biodiversity International“ (CGIAR), jejímž úkolem je pečovat o sbírku s více než 37 tisíc vzorků fazolu obecného (spolu s dalšími plodinami jako jsou např. rýže) a tím i o diverzitu zemědělských plodin. S pomocí umělé inteligence toto moderní pracoviště umožňuje také rychlejší analýzu genotypů fazolu obecného pro jejich výběr k dalšímu šlechtění genotypů odolnějších vůči extrémním podmínkám. Cílem je tak podpořit potravinovou bezpečnost ve světě. Semena, informace a technologie sdílí CIAT se svými partnery a farmáři z celého světa (*Future Seeds*, 2022).

V nynější době je na vzestupu snaha o šlechtění nových genotypů fazolu obecného za využití genové variability příbuzných druhů jako jsou fazol měsíční (*P. lunatus* L., anglicky „Lima bean“) a fazol ostrolistý (*P. acutifolius* L., anglicky „Tepary bean“), které jsou již nyní využívány v sušších oblastech Brazílie, střední Ameriky či Keni (Shisanya, 2002; Mwale *et al.*, 2020).

2.2 Abiotický stres suchem

Stres suchem lze definovat jako suboptimální zásobení vodou rostliny v průběhu jejího vývoje. Jak velký bude dopad sucha na rostlinu, záleží na intenzitě a délce jeho trvání, ale také na vývojové fázi rostliny a jejím celkovém fitness. Pokud rostlina nemá dostatek vody, který potřebuje pro pokrytí všech fyziologických procesů pro optimální růst a plnou expresi svého genetického potenciálu, vyvolává spuštění obranných fyziologických odpovědí, které pak ve výsledku způsobují snížení výnosu plodin. Těmito rostlinnými odpověďmi mohou být například regulace primární a sekundární fáze fotosyntézy, změny v míře transpirace a chlazení listů, ve složení pigmentů obsažených v pletivech a kompatibilních solutů. Detailní schéma fyziologických, biochemických a molekulárních odpovědí rostlin na stres suchem shrnuje Obrázek 1. Rostlina v reakci na sucho upravuje svou rychlost a míru růstu tak, aby dopady stresu na její vývoj byly co nejmenší. Podrobněji se této problematice konkrétně u fazolu obecného věnuje kapitola 2.2.2.

Intenzitu sucha způsobující pokles výnosu plodin lze vyjádřit pomocí indexu intenzity sucha (DII – anglicky „drought intensity index“). Jeho výpočet je možný pomocí vzorce v Rovnici 1:

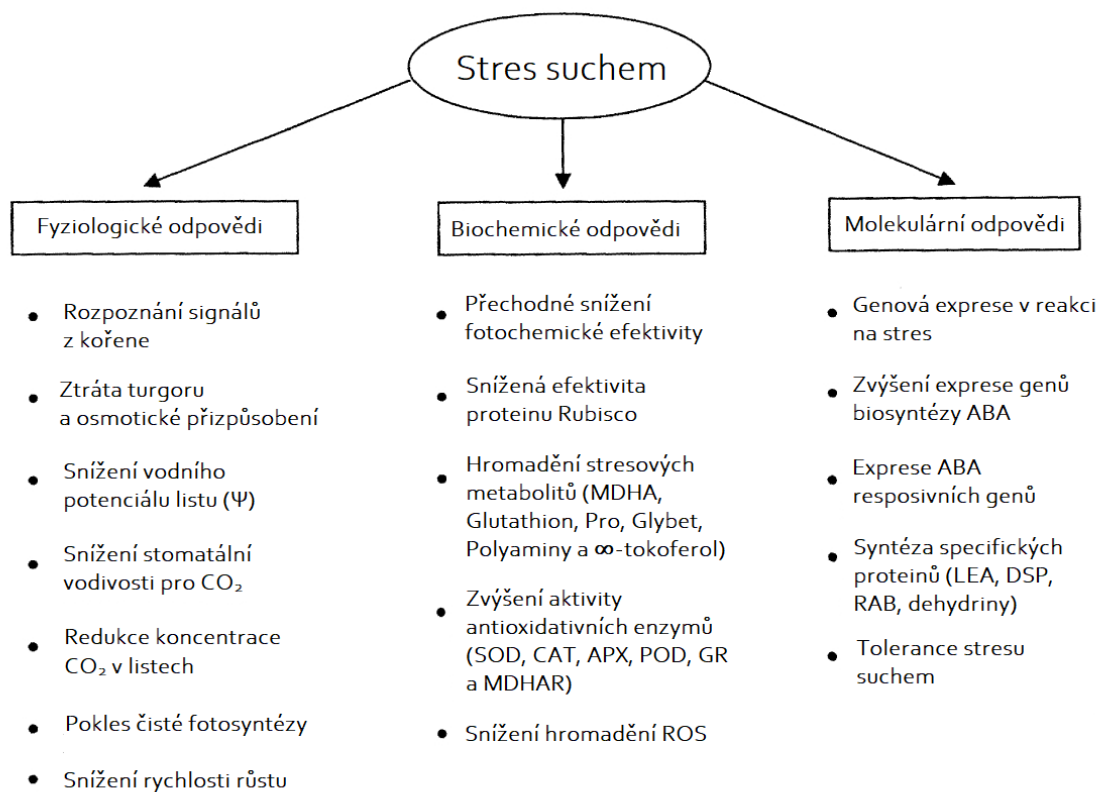
$$DII = 1 - \frac{X_d}{X_p}$$

Rovnice 1 – Výpočet indexu intenzity sucha (DII – drought intensity index); X_d – průměrný výnos suchem stresované skupiny, X_p – průměrný výnos kontrolní skupiny.

Kde X_d a X_p jsou průměrem výnosu všech genotypů zahrnutých do experimentu. X_d je průměr výnosu rostlin vystavených vlivu sucha a X_p značí rostliny kontrolní skupiny bez působení stresoru. (Ramirez-Vallejo a Kelly, 1998)

Obecně se většinou rozlišují dva základní typy stresu suchem podle toho, ve které vývojové fázi stres nastává. Prvním typem je terminální sucho (TD – anglicky „terminal drought“), kdy se během reproduktivní fáze vývoje rostlin zcela přerušuje přísun vody a rostlina je odkázána pouze na vodu dostupnou v půdě a na mechanismy, které jí dovolují efektivně tuto vodu čerpat a zároveň s ní šetrně hospodařit (Pang *et al.*, 2017). V podmínkách s limitovanou dostupností vody rostlina následně (v ideálním případě) dokončí svůj životní cyklus. Druhým typem je přerušované sucho (ID – anglicky „intermittent drought“), během kterého intervaly s nedostatečnou dostupností vody přicházejí nepravidelně v různých fázích vývoje rostlin a jsou přerušované obdobími s dostupností vody. Jedná se o odlišný typ stresu, kdy je velmi důležitá rychlá přizpůsobivost rostlin na změny v dostupnosti vody (Neumann, 2008). Jednoleté rostliny jsou často odolnější vůči ID než TD. Fazol je jednoletá rostlina, a tudíž lépe odolává přerušovaným intervalům sucha než TD.

Délka vegetativní fáze a reprodukční fáze během vývoje fazolu jsou z velké části ovlivněny dostupností vody v jednotlivých fázích životního cyklu (Ramirez-Vallejo a Kelly, 1998). Dalšími faktory ovlivňujícími vývoj fazolu jsou také teplota a fotoperioda (Acosta-Gallegos a White, 1995; Yan a Wallace, 1998).



Obrázek 1 – Rostlinné odpovědi na stres suchem, upraveno podle (Ramachandra Reddy, Chaitanya a Vivekanandan, 2004); MDHA – monodehydroaskorbát, Pro – prolin, GlyBet – glycin betain, SOD – superoxid dismutáza, CAT – kataláza, APX – askorbátperoxidáza, POD – peroxidáza, GR – glutation reduktáza, MDHAR – monodehydroaskorbát reduktáza, ROS (reactive oxygen species) – reaktivní formy kyslíku, ABA (abscisic acid) – kyselina abscisová, LEA (late embryogenesis abundant protein) – protein hojný ve fázi pozdní embryogeneze, DSP (deseccation stress protein) – protein stresu vysycháním, RAB (Ras-associated binding protein) – protein asociovaný s Ras.

2.2.1 Vliv sucha na výsledný výnos plodin

Fazol obecný při vystavení stresu suchem během jeho vývoje, a to obzvláště v reprodukční fázi, podléhá negativnímu vlivu stresu, který vede až k 47% poklesu celkového počtu květů, ke snížení počtu lusků a počtu semen na lusk. Vlivem sucha může následně docházet také k aborcii již založených lusků, což vede ještě k výraznějšímu poklesu výnosu (Nunez-Barrios, NeSmith a Hoogenboom, 2005). Nejcitlivější k suchu u fazolu je fáze kvetení, kdy nedostatek vody může způsobit i 70% ztráty na výnosu, v závislosti na intenzitě a trvání sucha (Lopez, Johansen a Chauhan, 1996).

Rostliny vykazující vyšší rezistenci k suchu mají i v podmínkách nízké dostupnosti vody tendenci akumulovat větší hmotnost biomasy v nadzemní části ve srovnání s genotypy, které jsou vůči suchu citlivější. Avšak jak velký výnos bude ve výsledku fazol mít, závisí ve velké míře na jeho schopnosti redistribuovat skladované asimiláty z vegetativních částí rostliny – převážně stonků, listů a kořenů – do sinkových částí, které jsou centrem zájmu pěstitelů – tedy do lusků a zrn. (Rosales-Serna *et al.*, 2004). Pro měření této vlastnosti u fazolu byly vyvinuty indexy, které pomáhají identifikovat míru této tendence u jednotlivých genotypů a tím identifikovat ty, které si ve stresových podmínkách vedou lépe a dopady stresu u nich nemají tak výrazný vliv na výsledný výnos.

Sklizňový index (HI – anglicky „harvest index“) je bezrozměrná hodnota, která vyjadřuje poměr výsledného výnosu suché hmotnosti zrn při sklizni (SY – anglicky „seed yield“) a suché hmotnosti celkové nadzemní biomasy uprostřed období plnění lusků (TBMPF – anglicky „total above ground dry biomass at mid-pod filling“). HI se mění v závislosti na tom, v jaké míře byla rostlina schopna své asimiláty z vegetativních částí přesunout do semen. Pro výpočet HI slouží vzorec v Rovnici 2:

$$HI = \frac{SY}{TBMPF} \cdot 100 \%$$

Rovnice 2 – Výpočet sklizňového indexu (HI), SY – výnos zrn (seed yield), TBMPF – suchá hmotnost celkové nadzemní biomasy uprostřed období plnění lusků (total above ground dry biomass at mid-pod filling).

Přesun větší části biomasy do zrn z ostatních částí rostliny při snížené dostupnosti vody bylo dokumentováno i u dalších luštěnin, například u cizrny (Davies *et al.*, 2000; Turner, Wright a Siddique, 2001).

Sklizňový index lusků (PHI – anglicky „pod harvest index“) vyjadřuje, jak velká část asimilátů ve formě suché biomasy lusků je alokována do zrn. PHI má vysokou korelaci s výsledným výnosem v podmínkách nízké dostupnosti vody. Výsledky studie autorů Assefa *et al.* (2013) naznačují, že PHI by mohl sloužit jako dobré selekční kritérium při výběru genotypů rezistentních k suchu, díky silné korelaci s výsledným výnosem a také díky silné míře dědivosti této vlastnosti. V podmínkách snížené dostupnosti vody dochází u senzitivních genotypů k poklesu PHI a ke vzrůstu u rezistentních genotypů. To nasvědčuje tomu, že remobilizace asimilátů ze stěn lusků do zrn hraje důležitou roli pro hodnoty výsledného výnosu. (Assefa *et al.*, 2013).

PHI je vypočítán pomocí vzorce v Rovnici 3 (Assefa *et al.*, 2013; Beebe *et al.*, 2013):

$$PHI = \frac{SY}{\text{suchá hmotnost lusků a semen při sklizni}} \cdot 100 \%$$

Rovnice 3 – Výpočet sklizňového indexu lusků (PHI – pod harvest index), SY – výnos zrn (seed yield).

Indexem, který popisuje jakou měrou rostlina remobilizuje uhlíkaté látky z vegetativních částí do zrn, je anglicky tzv. „pod partitioning index“ (PPI – index alokace asimilátů do lusků) (Rosales-Serna *et al.*, 2004; Beebe *et al.*, 2013) určený vzorcem v Rovnici 4:

$$PPI = \frac{SY}{TBMPF} \cdot 100 \%$$

Rovnice 4 – Výpočet indexu alokace asimilátů do lusků (PPI – anglicky „pod partitioning index“), SY (seed yield) – výnos zrn, TBMPF (total above ground dry biomass at mid-pod filling) – suchá hmotnost celkové nadzemní biomasy uprostřed období plnění lusků.

PPI se u skupiny, která je vystavena stresu suchem snižuje oproti kontrolní skupině, což svědčí o tom, že při suboptimální zásobenosti vodou nejsou rostliny schopny udržovat stejnou míru remobilizace uhlíkatých látek z vegetativních částí (PPI) nebo ze stěn lusků (PHI) do semen, jako je tomu u kontrolní skupiny (Smith *et al.*, 2019).

2.2.2 Způsoby resistance vůči stresu suchem u rostlin a fazolu obecného

Vodní stres v rostlině spouští mechanismy pro aklimaci, a to i na úrovni listu. Příkladem mohou být změny v genové expresi, modifikace fyziologických procesů rostliny, jakož i její morfologické a anatomické stavby. Tyto změny vedou k homeostatické kompenzaci rostliny v reakci na nastalý výkyv od optimálních podmínek. (Flexas *et al.*, 2006).

Ze zemědělského hlediska je resistance plodiny vůči suchu definována jako relativní výnos jednoho genotypu rostliny v porovnání s jiným genotypem, který byl vystaven stejnému stresu suchem (Hall, 1993). Veškeré mechanismy, které přispívají k přežití rostliny v podmínkách snížené dostupnosti vody nebo při zvýšené míře nároků na transpiraci, mohou být považovány za mechanismy tolerance k suchu (Bacon, 2009).

Citlivost daného genotypu na stres suchem je většinou měřena jako funkce redukce výnosu pod vlivem stresu suchem (Blum, 1988). Dalším parametrem resistance k suchu založeném na výnosu je geometrický průměr výnosů (Fernandez, 1993). Mírný až výrazný stres suchem má u fazolu za následek snížení nadzemní biomasy, výnosu zrn, HI, počtu lusků a zrn, hmotnosti zrn a také počtu dnů potřebných pro dosažení zralosti (Nunez-Barrios, NeSmith a Hoogenboom, 2005; Beebe *et al.*, 2013).

Rostliny mohou na nastalý stres suchem reagovat a odpovídat pomocí adaptačních mechanismů, které umožňují do jisté míry odolávat stresu suchem. Tyto reakce se dají obecně rozdělit do tří skupin: a) únik (escape), b) vyhnutí se stresu (avoidance), c) tolerance stresu. V následujících podkapitolách jsou popsány jednotlivé skupiny spolu s popisem mechanismů, které z dané skupiny využívá pro odolávání stresu suchem fazol obecný.

2.2.2.1 Mechanismus úniku

Mechanismus úniku je založen na přizpůsobení fenologie rostliny, načasování a rychlosti životního cyklu tak, aby rostlina dokončila svůj životní cyklus předtím, než se projeví výrazný nedostatek vody. Závisí na rychlosti klíčení, na raném nástupu kvetení a dokončení reprodukční fáze do plné zralosti plodů. Urychlením životního cyklu spolu s fenologickou plasticitou (mechanismem, který přispívá k úniku před suchem) rostlina docílí rychlejší maturace. Důležitým faktorem na výsledný výnos je i míra remobilizace uskladněných asimilátů z vegetativní části rostliny do zrn, která může zmírnit snížení výsledného výnosu plodin (Beebe *et al.*, 2013; Berger, Palta a Vadez, 2016).

Při stresu suchem dochází u fazolu ke změnám v délce trvání některých fenologických fází. Životní cyklus fazolu může být vlivem stresu sucha urychlen (Rosales-Serna *et al.*, 2004; Acosta-Díaz *et al.*, 2009; Darkwa *et al.*, 2016). Výhoda urychlení životního cyklu je obzvláště zřetelná u genotypů, které regulují nástup do generativní fáze fotoperiodicky (Acosta-Gallegos a White, 1995). Ve studii autorů Terán a Singh (2002) rostliny vystavené suchu vykazovaly v průměru o 3 % kratší dobu potřebnou pro dosažení zralosti semen. Raná zralost semen je výhodou při stresu TD (Terán a Singh, 2002). Výsledky dalších experimentů na fazolu obecném poukazují i na to, že u genotypů rezistentních k suchu je přítomna efektivnější remobilizace asimilátů z vegetativních částí do lusků a zrn, což vede k vyšším výnosům (Klaedtke *et al.*, 2012; Rosales *et al.*, 2012; Beebe *et al.*, 2013; Rao *et al.*, 2013; Polania *et al.*, 2016).

2.2.2.2 Mechanismus vyhnutí se stresu suchem

Mechanismy avoidance (oddálení/vyhnutí se stresu) hrají roli během celého období růstu fazolu. Vyhnutí se stresu suchem je možno dosáhnout buď maximalizací příjmu vody anebo minimalizováním ztrát vody, a tím udržovat relativně vysoký vodní potenciál v pletivech i navzdory nedostatku vody.

Maximalizace příjmu vody je v největší míře ovlivňována změnami architektury a kvality kořenového systému. Jednou z možných změn na úrovni kořenového systému je kořenění do hlubších vrstev půdy, což je mechanismus, který využívají i rezistentní genotypy fazolu obecného (Frahm *et al.*, 2004; Hall, 2004; Beebe *et al.*, 2013; Rao *et al.*, 2013). Zvýšení efektivity kořenového systému je další možností a lze jí dosáhnout například zvýšením hydraulické vodivosti kořenů. Míra hydraulické vodivosti kořene hraje také u fazolu důležitou roli v rezistenci k suchu. Ve své studii Sanders a Markhart (1992) zjistili, že k suchu rezistentní fazol ostrolistý má vyšší hydraulickou vodivost kořenů než *P. vulgaris*. Rostlina může také regulovat množství přítomných akvaporinů na plazmatické membráně buněk kořenového systému, i u fazolu se tato regulace objevuje (Zupin *et al.*, 2017; Wu *et al.*, 2021). Reakcí rostliny (i fazolu) na suchu bývá také změna poměru sušiny biomasy kořen:prýt, kdy je více biomasy investováno do kořenů pro zvýšení dostupného objemu půdy pro získávání vody (Sofi *et al.*, 2018; Widuri *et al.*, 2018; Asfaw a Blair, 2012). Dochází také k celkové redukci vzrůstu rostlin v podmínkách stresu suchem a ke snížení biomasy kořenů i prýtu (Abass a Mohamed, 2011).

Další strategií rostliny pro vyhnutí se stresu suchem je snaha minimalizovat ztráty vody. Tato snaha má za cíl udržovat relativně vysoký vodní potenciál v pletivech tak, aby mohly být zachovány důležité fyziologické procesy v buňkách. Jednou z možností pro rostlinu je modifikovat velikost plochy listů. V krátkodobém časovém horizontu je možné snížit absorpci slunečního záření listy tzv. paraheliotropickým pohybem listů nebo rolováním listů. Fazol využívá paraheliotropických pohybů listů (viz kapitola 2.2.3), které mají okamžitý vliv na ztrátu vody. Naproti tomu existují způsoby, jak je možné v delším časovém horizontu regulovat ztrátu vody snížením velikosti listové plochy (zmenšením listové plochy nebo senescencí listů) nebo dočasným vadnutím. Fazol při stresu suchem také využívá snížení indexu listové plochy, čímž docílí redukce ztrát vody na dlouhodobější rovině (Smith *et al.*, 2019), ve studii autorů Nunez-Barrios, NeSmith a Hoogenboom (2005) naměřili snížení velikosti plochy listů na větvích až o 60 % a na hlavním stonku o 10 %.

Další možností zabránit odparu vody z listů je modifikace složení jejich pokožky a kutikuly, která vede ke snížení epidermální vodivosti. Přibližně 90 % ztrát vody rostlinou je spojováno se stomatální transpirací, za zbylou část je ve velké míře zodpovědná transpirace skrze kutikulu, která tvoří vrstvu na povrchu pokožky listu. Míra ztráty vody přes kutikulu závisí na její tloušťce, na složení vosků a dalších komponent, které ji tvoří (Stenglein *et al.*, 2004; Kerstiens, 2006).

Regulace stomatální vodivosti umožňuje rostlině precizní kontrolu toho, kolik vody vydá skrze transpiraci (Agurla *et al.*, 2018). U fazolu dochází během stresu suchem u rezistentních i citlivých kultivarů fazolu ke snížení průduchové vodivosti, čímž se sníží míra transpirace a zamezí se ztrátě vody (Acosta-Díaz *et al.*, 2009). Proces uzavírání průduchů je komplexně regulován mnoha faktory, ale primárně ho řídí zvýšená hladina fytohormonu kyseliny abscisové (Omasa a Takayama, 2003; Agurla *et al.*, 2018). Částečné nebo úplné uzavření průduchů omezuje transpiraci, což má za následek snížení příjmu vody, ale zároveň s tím i živin. Zavírání průduchů v reakci na sucho má u fazolu za následek pokles rychlosti fotosyntézy a v důsledku toho zpomalení růstu (Reynolds-Henne *et al.*, 2010).

Je-li rostlina schopna zaregistrovat nástup stresových podmínek záhy po jejich vychýlení z optima, může spustit výše jmenované mechanismy již v raných fázích nástupu stresu. V tomto případě mohou rostliny na jílovitých půdách, které dobře zadržují vlhkost, úspěšně čelit i TD (terminálnímu suchu) snížením transpirace během vegetativní fáze. Tím rostlina docílí toho, že má během generativní fáze plnění lusků stále dostatek dostupné vody v půdě, jak bylo zjištěno např. u cizrny (Berger, Palta a Vadez, 2016). Avšak omezení transpirace v raných fázích stresu může být v odlišných podmínkách nevýhodou, např. u propustnějších půd, kde zásoba dostupné vody rychle klesá (Berger, Palta a Vadez, 2016).

2.2.2.3 Tolerance ke sníženému obsahu vody v půdě

Tolerance sucha je schopnost plodiny ustát sníženou dostupnost vody s nízkým vodním potenciálem v pletivech bez zásadního omezení fyziologických pochodů. Toho je dosaženo spouštěním procesů, které rostlině do jisté míry umožní tolerovat nedostatek vody v půdě a ve svých pletivech. Tyto procesy udržují turgor v buňkách přizpůsobováním elasticity buněčné stěny změnou jejího složení, snižují osmotický potenciál v buňce akumulací osmoticky aktivních látek nebo produkcí chaperonů a také mají buňky tendenci zmenšovat se. To vše přispívá k zadržování vody v buňkách, k udržování stability proteinů a integrity membrán, k umožnění průběhu metabolických aktivit a k zajištění integrity buňky během snížené dostupnosti vody (Berger, Palta a Vadez, 2016).

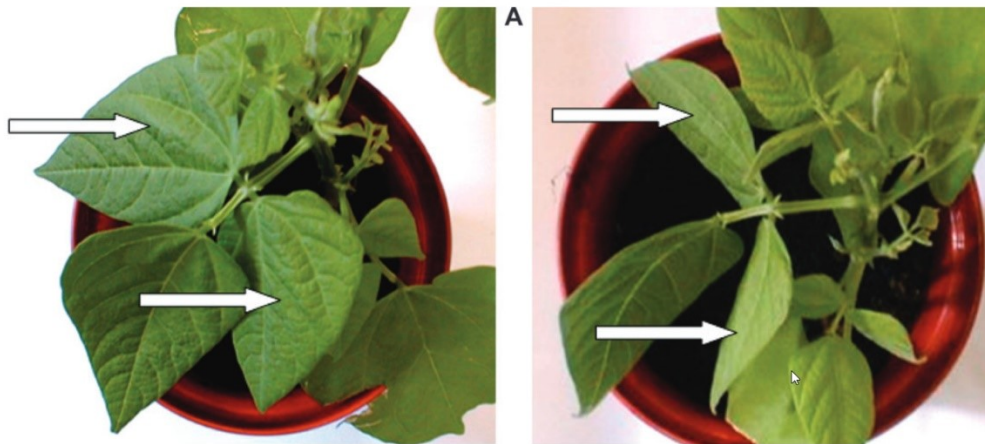
Stresem nedostatku vody může být u některých rostlin spuštěn mechanismus osmotického přizpůsobení, při kterém dochází k akumulaci kompatibilních solutů (rozpuštěných cukrů, prolinu a glycin betainu (Agurla *et al.*, 2018), volných aminokyselin, antioxidantů a iontů) (Güler *et al.*, 2012; Smith *et al.*, 2019). Tyto látky nejsou pro buňku toxické ani ve vyšších koncentracích a mají ochrannou funkci před poškozením způsobeným vysušením (Ramachandra Reddy, Chaitanya a Vivekanandan, 2004). Ve studii autorů Abass a Mohamed (2011) se u fazolu obecného obsah rozpuštěných cukrů významně zvýšil ve skupině, která byla vystavena stresu suchem, oproti kontrolní skupině. Zároveň rozpustné sacharidy slouží jako osmoprotektanty, které obklopují makromolekuly a enzymy, a tím je chrání a stabilizují (Bohnert, Nelson a Jensen, 1995). V některých studiích (Amede a Schubert, 2005; Martínez *et al.*, 2007) se však uvádí, že osmotické přizpůsobení u fazolu obecného pravděpodobně patrně není důležitým mechanismem pro rezistenci ke stresu suchem. Ve studii autora Martínez *et al.* (2007) se pouze u jednoho ze šesti použitých kultivarů během experimentu projevil změny v osmotickém přizpůsobení mezi kontrolní a stresu vystavenou skupinou. Avšak tento výsledek mohl být ovlivněn výběrem kultivarů pro pokusy.

2.2.3 Paraheliotropický pohyb listů fazolu

Heliotropické pohyby listů jsou aktivní odpovědí rostliny na pohyb slunce, přesněji na polohu zdroje modrého světla. Rozlišují se dva typy heliotropických pohybů – diaheliotropický, kdy rostlina udržuje plochu svých listů kolmo k dopadajícímu slunečnímu záření a paraheliotropický, při kterém rostlina orientuje své listy tak, aby byly šikmo nebo paralelně vůči dopadajícím paprskům světelného záření (Ehleringer a Forseth, 1980).

Listy fazolu obecného využívají celkových fototropických pohybů pro orientaci listů tak, aby během poledních hodin došlo ke snížení náporu slunečního záření (Fu a Ehleringer, 1991). Tím se zabráni

poškození pletiv listů vysokým ohřevem a lze tak i dosáhnout maximalizace rychlosti čisté fotosyntézy díky udržování teploty listů v optimálním rozsahu pro fotosyntézu (Ogg, Brick a Abebe, 1996; Pastenes *et al.*, 2004). Nastavením listů také fazol redukuje ztrátu vody sníženou potřebou transpirace (Yu a Berg, 1994). Paraheliotropické pohyby jsou posilovány nízkým vodním potenciálem v pletivech rostliny, vysokou ozářeností a vysokou teplotou (Yu a Berg, 1994).



Obrázek 2 – Paraheliotropický pohyb listů fazolu obecného v reakci na sníženou dostupnost vody. Levá strana – rostlina před navožením sucha, pravá strana – suchem indukovaný pohyb listů. (Lizana *et al.*, 2006).

Za pohyb listu je zodpovědný „pulvinus“ na vrcholu řapíku fazolu obecného tím, že díky změnám turgoru reverzibilně mění objem motorových buněk protilehlých stran (expanzí/kontrakcí) a tak docílí ohybu (Koller, 1986). Tento ohyb rostlina provádí v reakci na zvýšenou teplotu (Fu a Ehleringer, 1989) a/nebo na míru osvětlení bílým či modrým světlem (Koller, 1986). Míra ohybu v oblasti pulvinu je závislá na míře hustoty dopadajících fotonů (PFD – anglicky „photon flux density“) modrého světla. Dopadající světlo v červené a ve žluté oblasti spektra může ohyb ovlivňovat pouze způsobem změny teploty pulvinu. Avšak zvýšení teploty pulvinu nedocílí ohybu ve tmě (Fu a Ehleringer, 1989), minimální PFD modrého světla je tedy nezbytné pro paraheliotropický pohyb listů fazolu obecného (Yu a Berg, 1994).

Orientace centrální části trojčetného listu fazolu obecného u mnoha genotypů nekoreluje s orientací paraheliotropického pohybu postranních částí listu (Kao, Comstock a Ehleringer, 1994). Tento faktor může komplikovat měření polohy listů, což ve výsledku brání efektivnímu využití informace o paraheliotropickém pohybu listů. Jednotlivé genotypy fazolu obecného se mohou lišit v krátkodobém i dlouhodobém pohybu listy, částečně v závislosti na zeměpisném původu genotypu (Kao, Comstock a Ehleringer, 1994; Ogg, Brick a Abebe, 1996). *Phaseolus acutifolius*, který je původem ze sušších oblastí, vykazuje větší paraheliotropické pohyby listy než *Phaseolus vulgaris* při vystavení stejným podmínkám (Yu a Berg, 1994; Bielenberg, Miller a Berg, 2003). Jedná se tedy zřejmě o adaptivní vlastnost pro suchá prostředí. Energetické náklady těchto pohybů jsou zanedbatelné a navíc podstatnou měrou zvyšují efektivitu využití vody (WUE – anglicky „water use efficiency“) (Bielenberg, Miller a Berg, 2003). Měření paraheliotropických pohybů by mohlo být užitečným nepřímým selekčním kritériem pro vyšší WUE u fazolu (Ogg, Brick a Abebe, 1996). Recentní studie Lizana *et al.* (2006), která zkoumá vliv sucha na paraheliotropické pohyby listů fazolu zjistila, že jak odolný, tak citlivý genotyp fazolu reagoval stejnou mírou rotace listů v reakci na sníženou dostupnost vody. Rozdíl byl v časování nástupu tohoto mechanismu – citlivý genotyp začal rotovat listy o 24 h dříve než odolný genotyp. Téma paraheliotropických pohybů listů u fazolu obecného je jevem, který by se mohl opět vrátit do pozornosti výzkumu v návaznosti na dálkový průzkum, jak bude podrobněji rozebráno v kapitole 2.3.3.

2.2.4 Indikátory stresu suchem u fazolu obecného

V úvodu bylo zmíněno, že fazol obecný je důležitou plodinou a pro mnoho lidí je primárním zdrojem bílkovin a minerálů. Výnosy této plodiny jsou však na místech pěstování, kde je závlaha zajišťována pouze spadem srážek, snižovány suchem, a to o 10 až 100 % (Polania *et al.*, 2016). Pro selekci rezistentních genotypů jsou potřebné spolehlivé indikátory rezistence k suchu. Krom problémů ohledně dědivosti vlastností, které podporují tuto rezistenci, je šlechtění fazolu pro rezistenci limitováno nedostatečností parametrů, které by umožnily efektivní výběr odolných genotypů. Vlastnosti, které nejspolehlivěji udávají míru rezistence k suchu u daného genotypu, jsou spojeny s výnosovými parametry, jako jsou hmotnost zrn a lusků. Má to však nevýhodu v tom, že získání těchto dat je zdoluhavé a zpomaluje to efektivitu a rychlost šlechtění (Rosales *et al.*, 2012). V následujících podkapitolách jsou popsány některé fyziologické, biochemické a strukturální znaky listové spojované s rezistencí k suchu u fazolu obecného. Jsou potenciálními indikátory pro výběr a selekci odolných genotypů. Spolehlivý indikátor rezistence k suchu by měl mít vysokou dědivost, dostatek genetické variability i korelaci s výnosem, a jeho vyhodnocení by mělo být jednoduché, rychlé a levné (Polania *et al.*, 2016).

2.2.4.1 Obsah chlorofylu a karotenoidů

Chlorofyly *a* a *b* jsou pigmenty obsažené v listech rostlin, které zprostředkovávají přeměnu světelné energie na energii vázanou v chemických vazbách. Tyto pigmenty jsou proto stěžejní pro fotosyntézu. Nacházejí se v tylakoidní membráně chloroplastů ve fotosystémech (PS – anglicky „photosystems“) a v jejich okolí v rámci světlo sběrných komplexů (LHC – anglicky „light harvesting complex“). Funkcí molekul chlorofylu je absorpce světelného záření, přenos absorbované energie na chlorofyly v reakčním centru PS, které energii následně předají další části PS v podobě elektronu o vysoké energii. Tento elektron poté putuje elektron-transportním řetězcem dále a chlorofyl přechází do redukovaného stavu přijetím elektronu získaného štěpením molekuly vody.

Množství listem pohlceného záření přímo závisí na obsahu těchto pigmentů v pletivech, a tedy obsah chlorofylu může přímo určovat fotosyntetickou kapacitu listu (Fathi a Tari, 2016). Zároveň může obsah chlorofylu sloužit pro odhad výživového statusu rostliny, protože velká část dusíku obsažená v listech je součástí molekul chlorofylu. V neposlední řadě může být obsah chlorofylu v listech indikátorem stresu nebo míry senescence listu (Jenkins, Baker a Woolhouse, 1981; Hendry, Houghton a Brown, 1987; Gitelson, Gritz a Merzlyak, 2003).

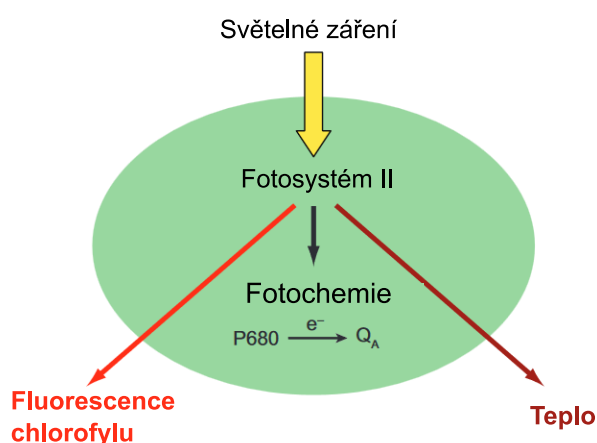
Stres suchem způsobuje degradaci chlorofylu a tím celkové snížení jeho obsahu. To vede ke snížení schopnosti rostliny pohlcovat energii ze světelného záření, a tím dochází k redukci fotosyntézy (Fathi a Tari, 2016). Efekt sucha na snížení obsahu chlorofylu u fazolu obecného byl signifikantní jak u chlorofylu *a*, tak u chlorofylu *b*, a také u celkového obsahu chlorofylu (Terzi *et al.*, 2010). Tento pokles je převážně způsobován poškozením chloroplastů reaktivními formami kyslíku (ROS) (Smirnoff, 1995). Pokles v obsahu chlorofylu je méně výrazný u genotypů pšenice, které jsou rezistentní vůči stresu suchem (Kraus, McKersie a Fletcher, 1995; Sairam, Deshmukh a Shukla, 1997). Podobný princip se dá předpokládat i u fazolu. Obsah chlorofylu vykazuje pozitivní korelaci s výnosem semen, výškou rostliny, počtem lusků na rostlinu a biomasou u fazolu obecného (Rosales-Serna *et al.*, 2004; Darkwa *et al.*, 2016). Obsah chlorofylu vykazuje vysokou dědivost a je možným indikátorem pro nepřímou selekci při snaze o zlepšení odolnosti genotypů na stres suchem (Mwale *et al.*, 2020).

Karotenoidy jsou důležitými fotosyntetickými pigmenty pro rostliny (Demmig-Adams, Gilmore a Iii, 1996). Mají několik fyziologických funkcí spojených s fotosyntézou, jako je strukturální role v organizaci fotosyntetických membrán, účast na sběru záření, přenos energie, zhášení excitovaných stavů chlorofylu a fotoprotekce skrze xantofylový cyklus (Yi *et al.*, 2014). Při stresu suchem se u fazolu projeví pokles celkového obsahu karotenoidů převážně z důvodu poškození chloroplastů působením ROS (Abass a Mohamed, 2011; Saglam *et al.*, 2011). Tento pokles je však výraznější u citlivých genotypů (Mombeni a Abbasi, 2019). Karotenoidy hrají roli v rezistenci ke stresu suchem, kdy se podílejí na zneškodnění a zamezení škod způsobených oxidativním stresem, který působí stres suchem. Jsou důležitými antioxidanty v buňkách (Jaleel *et al.*, 2009).

2.2.5 Fotochemické zhášení fluorescence

Různé parametry odvozené z intenzity fluorescence chlorofylu mají potenciál poskytnout cenné informace ohledně efektivity primární fáze fotosyntézy. Proto se analýza fluorescence chlorofylu stala jednou z nejpoužívanějších technik v rostlinné fyziologii (Maxwell a Johnson, 2000).

Princip této metody je založen na tom, že část světla, které dopadá na list, je absorbována LHC. Světlosběrné komplexy obsahují fotosyntetické pigmenty (chl *a* a *b*, karotenoidy – xantofyly), které absorbují světelné záření pro fotosyntézu (Horton, Ruban a Walters, 1996; Green, 2003). Po pohlcení energie ze slunečního záření má světelná energie tři možná využití (viz Obrázek 3). První možností je, použít ji k fotochemickým reakcím na tylakoidní membráně předáním přijaté energie do reakčního centra fotosystému II (PSII), v jehož okolí se nacházejí LHCII (LHC fotosystému II). Druhou cestou je uvolnění této přebytečné energie v podobě tepla (pokud energii nelze využít fotochemicky, např. v případě oxidace reakčních center většiny fotosystémů), a jako třetí možnost se nabízí opětovné



Obrázek 3 – Jednoduchý model možných cest využití energie, které bylo absorbováno fotosystémem II. Upraveno dle Baker (2008).

maximální kapacitu PSII, které je schopen. V některých případech je potřebné zjišťovat parametry rostlin adaptovaných na světlo, když probíhá fotosyntéza (např. u polních experimentů).

U temnotně adaptovaných rostlin dochází k maximální oxidaci akceptoru elektronu z PSII a reakční centra PSII jsou v tzv. „otevřeném stavu“. Stav, kdy jsou všechny akceptory elektronů RC PSII redukovány, se říká „uzavřený“ (Baker, 2008). Intenzita fluorescence chlorofylu závisí na tom, do jaké míry jsou reakční centra PSII (RCII) „otevřené“ nebo „uzavřené“, zda jsou následné procesy primární fáze saturované, ale také na intervalech mezi saturačními pulzy. V momentě, kdy jsou akceptory elektronu (nebo některé komponenty elektrontransportního řetězce) fotochemické fáze fotosyntézy redukovány (přijaly elektron a nemohou tedy přijmout další, dokud ten přijatý nepředají dál) a dojde k jejich „nasycení“, jsou RCII „uzavřena“. To vede k celkovému snížení efektivity fotochemické cesty a odpovídajícímu nárůstu intenzity fluorescence. U rostliny přesunutá na světlo, která byla předtím po určitou dobu ponechána ve tmě, dochází k postupnému uzavírání reakčních center PSII tím, že dochází k nasycení některého z kroků elektrontransportního řetězce. To má za následek výrazné zvýšení kvantového výtěžku fluorescence chlorofylu v první vteřině osvětlení. V následujících minutách však toto zvýšení opět poklesá. Tomuto fenoménu se říká fluorescenční zhášení. Sestává ze dvou faktorů – fotochemického (PQ – anglicky „photochemical quenching“) a nefotochemického zhášení (NPQ – anglicky „non-photochemical chlorophyll fluorescence quenching“). PQ je způsobeno zvýšenou mírou transportu elektronů pryč z PSII pomocí světlem indukovaných procesů. NPQ probíhá zvýšenou mírou efektivity, se kterou je energie přeměňována na teplo. (Maxwell a Johnson, 2000)

2.2.6 Nefotochemické zhášení fluorescence chlorofylu

NPQ hraje důležitou roli v ochraně reakčního centra PSII (RCII) a před fotoinhibicí. Umožňuje dynamickou kontrolu využití absorbované energie, která by mohla vést k nevratnému poškození podjednotky RCII (D1 proteinu) (Horton, Ruban a Walters, 1996; Ruban a Wilson, 2021). NPQ je spouštěno zvýšeným protonovým gradientem (ΔpH), který je výsledkem fotochemických reakcí (Horton, Ruban a Walters, 1996). NPQ je proto negativní zpětnovazebnou reakcí odpovídající na energetickou poptávku světelné fáze fotosyntézy. Pro funkci NPQ *in vivo* je zapotřebí ΔpH , LHCI a PsbS proteinu (Ruban, 2016). Funkcí NPQ je přebytečnou energii uvolnit v podobě neškodné tepelné energie (Ruban a Wilson, 2021). Hodnotu NPQ je možné vypočítat pomocí vzorce v Rovnici 5:

$$\text{NPQ} = \frac{(F_m - F_m')}{F_m'}$$

Rovnice 5 – Výpočet nefotochemického zhášení fluorescence chlorofylu (NPQ – non-photochemical chlorophyll fluorescence quenching); F_m – temnotně adaptovaný list vystavený saturačnímu pulzu – maximální fluorescence, F_m' – maximální fluorescence na světlo adaptovaného listu vystaveného saturačnímu pulzu.

F_m značí míru fluorescence, kdy jsou všechna RCII uzavřena, a F_m' je zhášené F_m , které se po určité době osvětlení stabilizovalo (Ruban, 2016).

Pigmenty xantofylového cyklu vyšších rostlin plní ochrannou funkci před negativními dopady nadměrného světelného záření. Děje se tak třemi mechanismy – disipací přebytečné energie v podobě tepla (NPQ) (Ort a Baker, 2002), zhášením reaktivních forem kyslíku (ROS – anglicky „reactive oxygen species“) a stabilizací lipidické fáze tylakoidní membrány (Demmig-Adams a Adams, 1996; Goss a Latowski, 2020). Tento cyklus sestává z deepoxidace violaxantinu na anteraxantin a zeaxantin, a to hlavně v obdobích vysoké ozáření. Při nízké ozáření nebo za tmy probíhá zpětná epoxidace na výchozí violaxantin. Tento proces probíhá v tylakoidní membráně a tyto pigmenty jsou v propojení s LHCI a PSII (Bassi *et al.*, 1993). Zeaxantin není přímo molekulou, která zháší excitovaný chlorofyl, ale hraje spíše strukturální roli pro přechod LHCI do stavu, ve kterém dochází k uvolnění nadbytečné energie v podobě neškodné tepelné energie (Horton, Ruban a Walters, 1996; Holzwarth *et al.*, 2009). Ve studii na fazolu autoři Omasa a Takayama (2003) hodnotili závislost NPQ a kvantového fotochemického výtěžku PSII (ΦPSII) na průduchové vodivosti. Při snížení průduchové vodivosti se NPQ a ΦPSII měnily v závislosti na intenzitě ozáření, kdy při vysoké ozáření došlo ke zvýšení NPQ a snížení ΦPSII . Při nedostatku CO_2 se lineární elektrontransportní řetězec nasýtí přijatými elektrony a dojde ke zvýšení ΔpH a k přeměně energie na teplo skrze xantofylový cyklus (Ort a Baker, 2002; Omasa a Takayama, 2003).

Pastenes *et al.* (2004) ve své studii na fazolu naměřili v PQ a NPQ změny během dne pouze v malé míře a tyto změny byly obdobné jak u zalévané, tak u suchem stresované skupiny. Změny NPQ a PQ jsou během dne dynamické a zůstává otázkou, jestli mohou být indikátory stresu suchem u fazolu obecného.

Z intenzity fluorescence listu adaptovaného na světlo a vystaveného saturačním pulzům lze různými modely spočítat řadu odvozených parametrů, které vypovídají o dílčích procesech primární fáze fotosyntézy. Tyto parametry lze měřit pomocí speciálního kapesního fluorimetru MultispeQ, více do detailu jsou parametry měřené tímto přístrojem popsány v kapitole 3.2.6.

2.2.7 Relativní obsah vody (RWC)

Voda je nejhojnější molekulou v listech a její dostupnost je pro život a růst rostlin naprosto zásadní. Obsah vody v listech je proto dobrým ukazatelem fyziologického stavu rostliny a indikátorem toho, zda je rostlina ve vodním stresu či nikoliv. Relativní obsah vody (RWC – anglicky „relative water content“) je považován za poměrně dobrou hodnotu vypovídající o vodním statutu rostliny (podle některých autorů dokonce lepší než je vodní potenciál, turgorový tlak a osmotický potenciál) (Korir, Nyabundi a Kimurto, 2006). RWC je definován jako poměr rozdílu čerstvé a suché hmotnosti ku rozdílu hmotnosti listu po nasycení a suché hmotnosti (viz Rovnice 9). V podmínkách, kdy rostlina není ve stresu suchem, by bylo možné očekávat hodnotu RWC blízkou 80-95 % (Rosales-Serna *et al.*, 2004;

Karimzadeh Soureshjani *et al.*, 2019). Ze studií na fazolu obecně vyplývá (Korir, Nyabundi a Kimurto, 2006; Rosales *et al.*, 2012), že rezistentní kultivary si ve stresových podmínkách většinou udržují vyšší RWC oproti citlivým genotypům (Korir, Nyabundi a Kimurto, 2006). Tyto rozdíly v RWC mohou být pravděpodobně přisuzovány adaptacím, které rostlině dovolují efektivněji přijímat vodu z půdy, nebo které zajišťují lepší kontrolu množství ztrát vody skrze stomata. Rezistentní genotyp ve studii autora Rosales *et al.* (2012) kontroloval obsah vody tak, že v podmínkách sucha i přes pokles naměřeného RWC v odpoledních hodinách oproti kontrolní skupině, dokázal přes noc obnovit RWC do srovnatelných hladin, jako měla kontrolní skupina. Oproti tomu kultivar, který je na suchu citlivý, byl schopen udržovat stejnou hodnotu RWC v průběhu celého dne, ale nebyl schopen obnovit RWC během nočních hodin (Rosales *et al.*, 2012). Nedostatek vody v pletivech má vliv na vývoj rostliny a výsledné výnosy. Pokles RWC v listech vede k poklesu obsahu CO₂ v listech, a v důsledku toho i k poklesu fotosyntetické aktivity (Lawlor a Cornic, 2002).

To vše nasvědčuje tomu, že by se RWC dal použít jako indikátor pro rezistenci k suchu u fazolu obecného.

2.2.8 Anatomické a morfologické parametry v reakci na stres suchem

2.2.8.1 Specifická listová plocha (SLA)

Jedním z faktorů spojovaných s mnoha důležitými aspekty rostlinného růstu a vývoje je specifická listová plocha (SLA – anglicky „specific leaf area“). SLA je poměrem plochy čepele čerstvého listu (LA – anglicky „leaf area“) ku suché hmotnosti listu (LDM – anglicky „leaf dry mass“) (Shingley, 2002). SLA je poměrem, který ukazuje, kolik listové plochy rostlina vytvoří na danou hmotnost biomasy a je často pozitivně korelována s možnou relativní rychlostí růstu semenáčků (Muller a Garnier, 1990). SLA je ovlivněna mnoha faktory, jako jsou intenzita světla (Shingley, 2002), teplota (Nautiyal, Rachaputi a Joshi, 2002), poměr sink/zdroj (počet plodů) a koncentrací CO₂ (Enoch, 1990; Marcelis, Heuvelink a Goudriaan, 1998). V podmínkách snížené dostupnosti vody vodní stres nepřímo vede ke snížení SLA z důvodu poklesu zásob asimilátů v listech, které jsou primárně investované do kořenového systému (Marcelis, Heuvelink a Goudriaan, 1998; Liu a Stützel, 2004), a zároveň četnost výskytu sucha ovlivňuje SLA výrazněji, než míra intenzity stresoru (Zhou *et al.*, 2020 – studie na kukuřici). Rovnice 6 prezentuje vzorec pro výpočet SLA:

$$SLA = \frac{LA}{LDM}$$

Rovnice 6 – Výpočet specifické listové plochy (SLA); LA (leaf area) – listová plocha, LDM (leaf dry mass) – suchá hmotnost listu.

2.2.8.2 Tloušťka listu

Tloušťka listu má vztah k rozložení biomasy, čisté produktivitě a odpovědi rostliny na sníženou dostupnost vody (Pauli *et al.*, 2017). Existuje velmi důležitý „trade-off“ mezi rozložením biomasy v rámci listu, buď je preferencí tvorba tenkých listů s větší plochou nebo tlustších listů s menší plochou (Poorter a Remkes, 1990). Vodní deficit je často spojován s větší tloušťkou listů spolu s dalšími faktory, jako jsou nízké teploty, vysoká ozářenost nebo vysoká koncentrace CO₂ (Pauli *et al.*, 2017). Studie na 16 genotypech fazolu obecného (9 genotypů z Andského a 7 genotypů z Mezoamerického genového poolu) ukázala, že andské genotypy, které měly nižší relativní rychlost růstu, měly i tenčí listy a menší povrch mezofylu vystavený mezibuněčným prostorám na jednotku plochy listu než mezoamerické genotypy (Sexton *et al.*, 1997). Menší vnitřní povrch tenčích listů může vést k pomalejší difúzi CO₂ do místa karboxylace v chloroplastech (Sexton *et al.*, 1997). Tloušťka listu a vnitřní buněčný povrch jsou spojovány s fotosyntetickou kapacitou listu (Lynch *et al.*, 1992). Genetické korelace ukázaly signifikantní negativní korelaci mezi tloušťkou listu a diskriminací izotopu uhlíku a pozitivní korelaci s obsahem chlorofylu (Pauli *et al.*, 2017).

2.2.8.3 Vodivost průduchů a transpirační chlazení listů

Uzavírání průduchů je jednou z odpovědí rostlin na stres suchem, která může podmiňovat odolnost k tomuto stresu (Saglam *et al.*, 2011). U fazolu obecného bylo zjištěno, že průduchová vodivost je užitečným parametrem, na jehož základě se dají rozlišit rezistentní a citlivé genotypy při TD. Odpovědí rezistentních genotypů na stres suchem je zvýšená míra uzavírání průduchů a tím snížení průduchové vodivosti. U senzitivních genotypů se jejich rozdíly mezi kontrolní a suchem ošetřenou skupinou téměř neprojeví (Rosales *et al.*, 2012). Rezistentní genotypy dovedou v podmínkách optimální závlahy zvýšit svou průduchovou vodivost tak, že je ve výsledku vyšší oproti té u senzitivních genotypů. Větší míra otevřenosti průduchů navyšuje kapacitu příjmu CO₂, což může souviset s vyššími hodnotami výnosů těchto genotypů. Skutečnost, že si některé genotypy udržují vyšší hodnoty výnosu i při nízké průduchové vodivosti, nasvědčuje tomu, že velmi precizně regulují otevírání stomat tak, aby přijímaný CO₂ byl optimálně využíván pro tvorbu asimilátů a následně semen. Při limitované dostupnosti vody rezistentní genotypy reagují uzavíráním průduchů a je pravděpodobné, že osmotické přizpůsobení během nočních hodin podporuje obnovení obsahu vody v pletivech u rezistentních genotypů (Rosales *et al.*, 2012).

Průduchová vodivost je u *P. vulgaris* pozitivně korelována s výnosem, počtem lusků na rostlinu, počtem semen na lusk a celkovou výslednou biomasou ve stresových podmínkách způsobených nedostatkem vláhy. Je také poměrně dobře korelována s výnosem na rostlinu, se suchou hmotností na 100 semen, nadzemní biomasou, počtem semen na lusk a HI v podmínkách stresu suchem. Zároveň průduchová vodivost vykazuje vysokou dědivost (0,84) (Langat *et al.*, 2019). Selektce genotypů rezistentních k suchu za použití stomatální vodivosti se proto jeví jako relativně dobrý způsob pro výběr vhodných genotypů pro oblasti se sníženou dostupností vody. Fazol ostrolistý dokáže rychle regulovat míru otevřenosti průduchů při vzrůstajícím vodním deficitu v půdě, což vede k vyšší efektivitě využití vody a karboxylace (Mwale *et al.*, 2020).

Zvýšená vodivost průduchů a spolu s ní zvýšená míra transpiračního chlazení vede k většímu ochlazení listů u genotypů fazolu obecného rezistentních k vysokým teplotám oproti senzitivním genotypům (Deva *et al.*, 2020). Transpirační chlazení je mechanismem avoidance teplotního stresu, který dovoluje rostlinám udržovat teplotu listu v optimálním rozmezí pro udržení fyziologických funkcí nebo udržuje teploty pod hodnotami, které by vedly k jeho nezvratnému poškození (Porch a Hall, 2013). Vzhledem k tomu, že stres vysokými teplotami a stres sníženou dostupností vody se často na stanovištích vyskytují společně, rostlina se často dostává do situace, kdy díky vyšší otevřenosti průduchů pro možnost fotosyntetické aktivity povede k ochlazení listů nebo naopak kvůli uzavřeným průduchům bude kritická hranice RWC v listu udržena, ale bude tím omezena fotosyntéza a teplota listu se bude zvyšovat. Jedná se o nutný „trade-off“, který zvyšuje komplexitu výběru vhodného genotypu pro konkrétní stanoviště (Deva *et al.*, 2020).

2.2.9 Kořenový systém

Kořeny hrají zásadní roli v absorpci vody a živin rostlinami. Přestože se tato práce detailněji nezabývá problematikou kořenového systému a jeho vlivu na rezistenci k suchu u fazolu obecného, je důležité zmínit některé aspekty kořenového systému pro pochopení souvislostí. Rostliny se mohou lišit typem kořenového systému nejen mezi jednotlivými druhy, ale také v rámci jednoho druhu v závislosti na genotypu (Polania *et al.*, 2017). Pro efektivní přijímání vody v suchých podmínkách je ideální hluboce kořenící kořenový systém, který dovoluje rostlině čerpat vodu z hlubších vrstev půdy. K tomu přispívají vlastnosti jako raný vývoj kořenového systému, jeho vitalita a velká biomasa, efektivnější příjem vody a tendence kořenů růst do hloubky. Pro rezistenci k suchu musí být tyto výhodné vlastnosti kořenového systému však doprovázeny i zlepšeným sklizňovým indexem. Zvýšená remobilizace fixovaného uhlíku z vegetativních částí rostliny do lusků a následně do semen (PPI) i v podmínkách snížené dostupnosti vody jsou důležitou vlastností rezistentního genotypu. Například genotyp DOR 390, jehož kořenový systém roste do hloubky a je vitální, alokuje velkou část biomasy do kořenového systému na úkor produkce semen (Polania *et al.*, 2017). DOR 390 je proto, i přes svůj pro suché podmínky vhodný kořenový systém, genotypem, který nemá vysoké výnosy v podmínkách snížené dostupnosti vody (Sofi *et al.*, 2018).

Existují typově dvě odlišné skupiny rostlin: 1) rostliny, které vodou šetří – izohydrický typ (anglicky „water savers“) a 2) rostliny, které nemají tendenci s vodu tolik šetřit – anizohydrický typ (anglicky

„water spenders“). Anizohydrické typy mají vitálnější kořenový systém v podmínkách sucha oproti izohydrickému typu (Polania *et al.*, 2017). Přesto genotypy, které mají nejvyšší výnosy v podmínkách sucha, jsou řazeny do skupiny izohydrického typu a vyznačují se průměrnou vitalitou pomalu rostoucích povrchových kořenů a vývojem kořenového vlášení (Polania *et al.*, 2016). Genotypy izohydrického typu volí strategii uchovávání vody s vyšší WUE v kombinaci s efektivní remobilizací asimilátů do semen, a zároveň uzpůsobují svou nadzemní část tak, aby šetřily vodou (malá listová plocha, nižší LAI). Tyto genotypy jsou vhodné pro oblasti, kde převládá terminální sucho (Polania *et al.*, 2016). Genotypy anizohydrického typu (s hlubokým kořenovým systémem a schopností remobilizovat asimiláty) jsou na druhou stranu vhodnější do podmínek, kde převládají přerušovaná období sucha během vývoje rostlin (Beebe *et al.*, 2014). Nejen ze studie Polania *et al.* (2017) vyplývá, že je nutné při výběru vhodného genotypu pro konkrétní oblast brát v úvahu souhrn mnoha faktorů (typ sucha, podnebí, půdní typ, atd.) a je potřeba uvažovat kombinaci vlastností daného genotypu při jeho selekci.

2.3 Optické vlastnosti listu

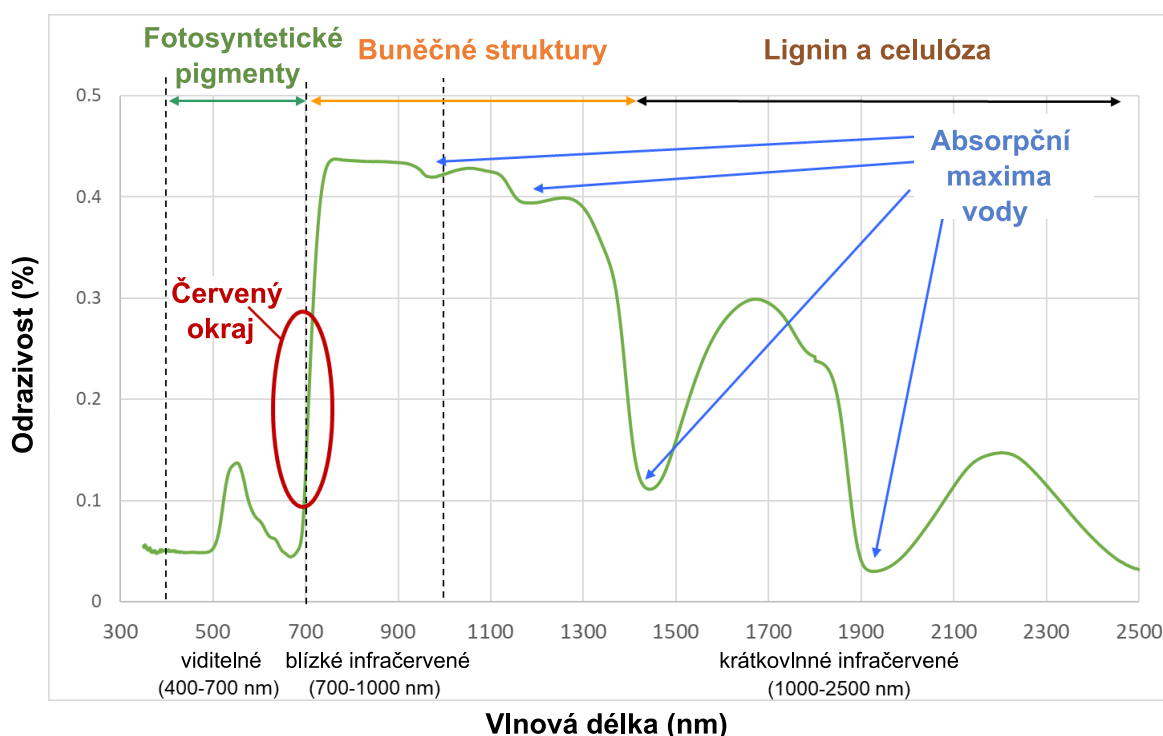
Optické vlastnosti materiálu popisují, jakým způsobem daný materiál interaguje s dopadajícím elektromagnetickým zářením. Optické vlastnosti se využívají i v rámci fyziologie rostlin, zejména díky pigmentům a dalším látkám v rostlinných pletivech, které absorbují záření v konkrétních intervalech vlnových délek (Gates *et al.*, 1965). Měření optických vlastností listu umožňuje sledovat, jakým způsobem rostlina pohlcuje či odráží světlo, a na základě těchto informací lze vyvozovat závěry o stavu dané rostliny či celé vegetace (Knipling, 1970; Pasqualotto Vicente *et al.*, 2018; Boshkovski *et al.*, 2021).

Světlo dopadající na list s ním má několik možností interakce – část světla se od povrchu listu odrazí, aniž by do listu proniklo, část světla se odrazí od vnitřních struktur listu (obě zmíněné části dohromady se nazývají odrazivostí, neboli reflektancí), část světla listem projde (jedná se o propustnost neboli transmitanci) a část světla je rostlinou pohlcena (absorbovaná část světelného záření) (Gates *et al.*, 1965; Neuwirthová, 2022). Absorbované záření využívá rostlina pro své vnitřní procesy. Záření v oblasti viditelného světla (známé také jako fotosynteticky aktivní záření (PAR – anglicky „photosynthetically active radiation“) je rostlinou pohlcováno zejména v červené a modré oblasti. Pohlcují je převážně fotosyntetické pigmenty, které absorbují záření ve specifických vlnových délkách (Asrar *et al.*, 1984; Grant, 1997; Ustin *et al.*, 2009).

Záření odražené od povrchu vegetace jakožto funkce vlnové délky se nazývá vegetační křivkou (viz Obrázek 4) (Gates *et al.*, 1965). Vyjadřuje míru odraženého záření v jednotlivých vlnových délkách v určitém rozmezí – často je měřena od 350 nm do 2500 nm. V tomto případě se jedná o tzv. hyperspektrální data, ale existují i senzory, které měří pouze vybraná pásma elektromagnetického spektra, pak jsou to tzv. multispektrální data. Vegetační křivka je specifická pro různé druhy rostlin a liší se i pro jednotlivé rostliny a jejich části (Gates *et al.*, 1965; Knapp a Carter, 1998). Je mnoho faktorů, které mají vliv na výslednou podobu křivky odrazivosti listu – patří mezi ně například obsah pigmentů, vody, ligninu a dalších látek, jakož i vnitřní struktura listu (Albrechtová, Kupková a Campbell, 2017; Neuwirthová, 2022). V následujících kapitolách jsou tyto jednotlivé parametry podrobněji diskutovány.

Výzvou při užívání hyperspektrálních dat je jejich zpracování, protože je potřeba nakládat s daty, která jsou multikolineární, a je potřeba zredukovat jejich dimenzionalitu. K tomu bylo vyvinuto několik přístupů: 1) parametrické regresní modely (kam patří i vegetační indexy – viz kapitola 2.3.2), kdy se předpokládá přímý vztah biofyzikální vlastnosti povrchu ke spektrálním datům, obvykle s reflektancí; 2) neparametrické regresní modely, které přímo definují regresní funkci vyplývající ze spektrální informace a studovaného parametru; 3) metody založené na fyzikálních modelech průchodu záření listem či porostem – typickým příkladem jsou modely přenosu záření (radiative transfer models); a 4) hybridní regresní modely – kombinace neparametrického regresního modelu s fyzikálně založenými metodami (Verrelst *et al.*, 2019). Neparametrické regresní modely (některé z nich byly použity při analýze dat této práce) používají lineární transformace spolu s krokem, kdy je redukována dimenzionalita dat. Neparametrické metody optimalizují algoritmus regrese tak, že obsahují fázi, kdy se učí na tréninkových datech. Vytváří koeficienty tak, aby chyba odhadu parametrů byla co nejmenší. S tímto přístupem je možné využít informaci celého spektra, jehož jednotlivé vlnové délky nesou velmi vysoce interkorelovanou informaci (Verrelst *et al.*, 2019).

Příkladem je analýza hlavních komponent (PCA – anglicky „principal component analysis“) (Wold, Esbensen a Geladi, 1987) nebo regrese dílčích nejmenších čtverců (PLSR – anglicky „partial least squares regression“) (Geladi a Kowalski, 1986). Tyto dva přístupy byly aplikovány i na data v této diplomové práci.



Obrázek 4 – Spektrální křivka odrazivosti vegetace. Odrazivost (v %) je zobrazena ve vlnových délkách od 350 nm do 2500 nm. Jaké faktory výrazně ovlivňují některé oblasti spektra je naznačeno v horní části grafu. Červený okraj odpovídá prudkému vzrůstu odrazivosti na hranici červené části viditelného spektra. Upraveno dle Gates et al. (1965) a převzato z Neuwirthová (2022).

2.3.1 Faktory ovlivňující optické vlastnosti listu

Optické vlastnosti se mění v závislosti na druhu rostliny, straně listu, je-li dorzoventrální s odlišnou adaxiální a abaxiální stranou, obsahu vody a dalších opticky aktivních látek v pletivech a dalších vnitřních, strukturálních a biofyzikálních faktorech měřené rostliny (Chang, Peng-Sen a Shi-Rong, 2016).

Vodní stres, který vyvolá změny na fyziologické, morfologické a anatomické úrovni, ovlivní stav turgoru a také biochemický obsah listu. Všechny tyto změny ovlivňují přímo nebo nepřímo naměřené odražené záření. Rozdílnost vlastností měřeného materiálu je zásadním výchozím bodem pro veškeré studie založené na přístupu měření spektrálních dat (Vergara-Díaz et al., 2018).

2.3.1.1 Struktura a strana listu

Tloušťka listu ve velké míře určuje délku optické dráhy záření skrz list a také počet anatomických struktur (např. buněčných stěn, chloroplastů...), které světlo buď odrazí, absorbují nebo propustí (Knapp a Carter, 1998; Pauli et al., 2017). Ve studii autora Pauli et al. (2017) byla také tloušťka listu silně negativně korelována s vegetačním indexem NDVI – normalizovaný diferenční vegetační index (Normalized Difference Vegetation Index), přičemž hodnota NDVI klesala se zvětšující se tloušťkou listu. Další oblastí spektra, ve které odrazivost silně pozitivně koreluje s tloušťkou listu, je blízká infračervená oblast spektra – NIR (near infrared; 750–1350 nm) (Zhang et al., 2012). Odrazivost listu závisí i na mocnosti vnitřních pletiv – zejména mezofylu. To dokládá práce Neuwirthová et al. (2021), v níž byly u vybraných druhů rodu jeřábáčníku (*Hieracium*) z odrazivosti modelovány tloušťky celého listu a palisádového i houbovitého parenchymu.

Existence rozdílů mezi adaxiální a abaxiální stranou listu, hlavně v tloušťce epidermis, velmi ovlivňuje odrazivost listu v NIR oblasti spektra (Vergara-Díaz *et al.*, 2018). Odrazivost v NIR části spektra je vyšší v plochých a tlustých listech, které mají tenkou epidermální a epikutikulární vrstvu a dlouhé palisádové buňky (Knapp a Carter, 1998; Johnson *et al.*, 2005), což je v souladu s tím, že odrazivost v oblasti NIR je vyšší na abaxiální straně než na straně adaxiální (Vergara-Díaz *et al.*, 2018). Rozdílnost mezi adaxiální a abaxiální stranou listu hraje také roli při studiu porostu pomocí odrazivosti listů, protože ne vždy je možno aplikovat např. vegetační indexy (VIs) na adaxiální i abaxiální stranu se stejným výsledkem pro odhad některých parametrů, např. chlorofylu (Lu a Lu, 2015). Oblast NIR je také ovlivňována vlastnostmi listu, které jsou spojovány se stářím listu – např. distribucí mezibuněčných prostor v parenchymatických vrstvách listu, které se s postupující maturací listu většinou zvětšují (Rapaport *et al.*, 2014).

2.3.1.2 Biochemické vlastnosti

Voda pohlcuje záření v rámci celého spektra, ale v blízké infračervené (750-1300 nm) a krátkovlnné infračervené oblasti má absorpční maxima – konkrétně ve vlnových délkách 970, 1200, 1450, 1940 a 2500 nm (Knipping, 1970; Tucker, 1980). Spektrální informace odrazivosti listu může sloužit jako nedestruktivní odhad i obsahu vody v listech (Inoue, Morinaga a Shibayama, 1993).

Obsah chlorofylu a antokyanů také výrazně ovlivňuje odrazivost listu zejména ve viditelné části spektra elektromagnetického záření. Chlorofyl a antokyaniny jsou důležitými nespecifickými indikátory stresu (Albrechtová, Kupková a Campbell, 2017). Pro stanovení obsahu chlorofylu je běžně používána metoda extrakce organickými rozpouštědly a následné měření pomocí spektrofotometru (Gitelson, Gritz a Merzlyak, 2003). Tato metoda je však destruktivní, a proto se jako alternativa nabízí změřit odrazivost listu (bez nutnosti jeho destrukce) pomocí spektrometru. Je to rychlý a snadný způsob, ze kterého lze následně odhadnout pomocí regresního vztahu obsah chlorofylu (Ustin *et al.*, 2009), a to za použití hodnot odrazivosti ve vlnových délkách v oblasti modrého a červeného záření, které odpovídají absorpci chlorofylu. Odrazivost listu tedy může být využita jako indikátor stavu vegetace, protože odražené záření přímo závisí na obsahu chlorofylu v listech. Obsah těchto pigmentů v listu vypovídá o fyziologickém stavu rostliny (Jones a Vaughan, 2010).

Kromě fotosyntetických pigmentů mají na odrazivost listu vliv i v listech obsažené minerály (Boshkovski *et al.*, 2020). Pomocí hyperspektrálních dat lze vyvozovat závěry o fotosyntetické aktivitě u fazolu obecného, méně přesný je odhad enzymové aktivity a obsahu vody v nadzemní části rostliny (Boshkovski *et al.*, 2021).

2.3.2 Vegetační indexy

Vegetační indexy (VIs) patří mezi parametrické regresní modely a jsou nejjednodušší a nejběžnější cestou, jak vyhodnocovat spektrální data. VIs jsou konstruovány tak, aby na základě vstupujících hodnot z naměřeného spektra bylo co nejpřesněji možno nedestruktivní metodou odhadnout sledované parametry vegetace. Výpočtem vegetačního indexu ze spektrálních dat lze zredukovat jejich dimenzionalitu. Tímto přístupem se také lze vyhnout komplikaci při zpracování spektrálních dat způsobené multikolinearitou, která je přítomná mezi sousedícími vlnovými délkami. VIs jsou založeny na hodnotách odrazivosti v oddělených spektrálních pásmech či bodech, ze kterých se matematickou operací tvoří vegetační index. Velikou výhodou VIs je jednoduchost jejich výpočtu, jako například jednoduchý poměr odrazivosti ve dvou vlnových délkách (užších pásmech) nebo jejich normalizovaný rozdíl (Verrelst *et al.*, 2019).

VIs jsou efektivním algoritmem pro kvantitativní a kvalitativní hodnocení porostu, jeho vitality a růstové dynamiky s využitím jeho odrazivosti (Xue a Su, 2017).

VI jsou odvozovány ze spektrální křivky odrazivosti listů či odraženého záření z celého porostu za použití specifických oblastí spektra. Těmito oblastmi jsou nejčastěji oblast viditelného záření (RGB; R – červená, G – zelená, B – modrá), infračerveného záření (IR – anglicky „infrared“), případně ultrafialového světla (UV) a dalších, jejichž hodnoty se používají pro výpočet indexů. Nejběžněji využívaný vegetační index je dříve již zmíněný NDVI (Blackburn, 1998) – normalizovaný rozdíl mezi červenou a blízkou infračervenou oblastí spektra (Xue a Su, 2017). Pro výpočet slouží vzorec v Rovnici 7:

$$NDVI = \frac{IR - R}{IR + R}$$

Rovnice 7 – Výpočet normalizovaného diferenčního vegetačního indexu (NDVI); IR (infrared) – odrazivost v oblasti infračerveného záření, R (red) – odrazivost v oblasti červeného záření.

Pro IR se používají spektrální pásy přibližně kolem 800 nm a pro červenou oblast R kolem 680 nm dle typu senzoru. Tento vegetační index je obecně využíván v dálkovém průzkumu pro detekování vegetace, při spektrálním měření na úrovni listu je využíván pro odhad obsahu chlorofylu (Chen, Zhen a Sun, 2021). Vegetační index NDVI byl ve studii autora Trapp *et al.* (2016) použit pro odhad SY – vyšší hodnoty NDVI pozitivně korelovaly s vyššími výnosy napříč genotypy a ošetřeními, kdy byla stresovaná skupina vystavena terminálnímu suchu (TD). Dalšími VIs, které byly označeny za vhodné pro indikaci stresu suchem u fazolu, jsou kromě NDVI i WBI (Water Band Index), SAVI (Soil-Adjusted Vegetation Index), SR (Simple Ratio) a CSWI (Crop Water Stress Index) snímané na úrovni porostu (Camoglu a Genc, 2013). VIs byly u fazolu, také aplikovány na studium obsahu živin v podmínkách zasolení a při snížené dostupnosti vody (Boshkovski *et al.*, 2020).

Příklady dalších typů VIs, dělené podle způsobu jejich výpočtu jsou shrnuty v Tabulka 1. Přestože VIs jsou užitečným přístupem pro práci se spektrálními daty, jejich použitím dochází k výrazné redukci informace obsažené v celé délce spektra. Použitím pouze několika úzkých pásů elektromagnetického spektra není možné obsáhnout komplexitu hyperspektrálních dat, měřených pomocí spektrometru (Verrelst *et al.*, 2019).

Český název	Anglický název	Vzorec	Příklad výpočtu	Citace
Odrazivost v konkrétní vlnové délce nebo rozdíl odrazivosti ve dvou různých vlnových délkách.	Single-band reflectance or single-difference index between the reflectance of two bands	RX; 1/RX-1/RY	(např. R680 nebo 1/R515-1/R550)	Blackburn (1998), Yi <i>et al.</i> (2014)
Prostý poměr odrazivosti ve dvou vlnových délkách/vlnových pásmech.	Simple-ratio index (ratio of reflectance in two wavelengths / wavebands)	RX/RY	(např. R672/R550)	Datt (1998)
Normalizovaný rozdíl odrazivosti	Normalized difference of reflectance	(RX-RY)/ (RX+RY)	(např. PSNDb: (R800-R650)/(R800+R650))	Blackburn (1998)
Derivační indexy	Indices using reflectance derivatives	DRX	(např. D730)	Richardson <i>et al.</i> (2002)
Další formy VIs	Other forms of indices	RX/ (RY+RZ)	(např. R705/ (R717+R491))	Tian <i>et al.</i> (2011)

Tabulka 1 – Příklady vegetačních indexů a jejich výpočtů, RX, RY – reflektance ve vlnové délce X nm, Y nm; DRX – derivace reflektance ve vlnové délce X nm. Upraveno podle (Neuwirthová, 2022).

2.3.3 Dálkový průzkum vegetace

Dálkový průzkum využívá snímání spektrální odrazivosti zemského povrchu včetně vegetace. Hraje důležitou a jedinečnou roli pro monitoring plodin přímo v polním prostředí díky svému prostorovému a časovému rozlišení (Gago *et al.*, 2015). Senzory, které snímají povrch Země, jsou nesené na různých nosičích – mohou jimi být UAV (anglicky „Unmanned aerial vehicles“) neboli bezpilotní letouny (drony), letadla nebo vesmírné družice. Výhodou UAV je detailní rozlišení povrchu v řádu cm. Letadla jsou schopna měřit povrch s rozlišením v řádu metrů. Družice mívají rozlišení snímaného povrchu na desítky nebo stovky metrů, jejich výhodou je ale pravidelné měření v časových řadách. Výhodou těchto přístupů je, že slouží ke snadnému sběru dat z větší plochy za kratší čas, přestože některé přístupy mohou být finančně náročné. Tato data mohou při konstrukci kvalitní kalibrace vypovídat o stavu vegetace s podobnou přesností jako biochemická data sbíraná přímo v terénu. Příkladem může být hodnota aktuálního obsahu chlorofylu (Gitelson *et al.*, 2005) nebo vody v listech (Pasqualotto Vicente *et al.*, 2018). Obsah vody se většinou určuje stanovením RWC (podrobněji popsáno v kapitole 2.2.7). Jedná se o časově náročný postup. Pomocí dálkového průzkumu země lze data obsahu vody v porostu (g/m^2) získat za výrazně kratší dobu za použití UAV, na které jsou připevněny speciální senzory (Inoue, Morinaga a Shibayama, 1993; Pu *et al.*, 2003; Pasqualotto Vicente *et al.*, 2018).

Při dálkovém měření od porostu odraženého záření senzorem je potřeba kalibrace a pouze v některých případech jsou potřebné i atmosférické korekce pro získání pravdivé informace o povrchu porostu. Obsah vodní páry v atmosféře ovlivňuje kvalitu odraženého záření vnímané senzorem a tento krok je v některých případech zásadní pro upřesnění získané informace (Pasqualotto Vicente *et al.*, 2018). Dálkový průzkum Země bude hrát důležitou roli i v otázce potravinové bezpečnosti planety, protože ho lze využít pro sledování růstu plodin a jejich výnosu, mapování míry závlahy a vlhkosti a také pro identifikaci ztrát plodin působením stresorů, nicméně stále je ještě potřeba tuto metodu optimalizovat (Karthikeyan, Chawla a Mishra, 2020). Měření biofyzikálních znaků listu a také reflektance na úrovni listu během polních pokusů nashromáždila pozemní podklady („ground truth data“) pro interpretaci multispektrální odrazivosti ze senzorů nesených na dronu.

3. Materiál a metody

Experimentální část diplomové práce proběhla na dvou lokalitách v odlišných systémech – v terénu na experimentálních polích a ve skleníku. Polní experimenty probíhaly v Mezinárodním centru tropického zemědělství (dříve CIAT – anglicky „International Centre for Tropical Agriculture“, dnes Alliance of Biodiversity International a CIAT) v Kolumbii, v Palmiře ($3^{\circ} 29'$ severní šířky, $76^{\circ} 21'$ západní délky) v nadmořské výšce 965 m, kde také došlo ke zpracování odebraných vzorků. Skleníkové pokusy byly provedeny ve skleníku Katedry experimentální biologie rostlin, na okraji Botanické zahrady Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy (PřF UK), na Slupi v Praze. V laboratořích PřF UK byly provedeny následné analýzy a zpracování vzorků ze skleníkových pokusů.

Celkem byly provedeny tři polní pokusy v CIAT v letech 2018, 2019 a 2021 a dva skleníkové pokusy na PřF UK v rozmezí květen-září 2020. Polní pokus v CIAT v roce 2018 byl pilotním pokusem pro následné dva polní experimenty, přičemž tento pokus sloužil pro ustanovení metodiky a spolupráce v rámci několika týmů v CIAT a také s PřF UK. Skleníkový pokus GH1 (Greenhouse 1) byl pilotním pokusem pro navazující skleníkový pokus GH2. Data z GH1 z pokusu byla využita pro výběr vhodné metodiky pro skleníkový experiment GH2.

3.1 Modelové rostliny

3.1.1 Fazol obecný (*Phaseolus vulgaris*)

Jako modelový organismus byl zvolen fazol obecný (*Phaseolus vulgaris*). Mezi vybrané genotypy byly zařazeny také genotypy fazolu ostrolistého (*Phaseolus acutifolius*) a mezidruhová kříženci (s *P. acutifolius* nebo *P. coccineus*). Do všech polních pokusů byly zařazeny genotypy fazolu z obou genových poolů (zdrojů), Mezoamerického a Andského.

Fazol obecný je jednoletá dvouděložná rostlina z čeledi bobovitých (*Fabaceae*). Fazol má dva typy růstu. Buď se může jednat o tzv. keříčkové formy růstu (většinou s ukončeným, determinovaným růstem), které dosahují výšky 20-60 cm nebo typ s neukončeným růstem – tzv. ovíjivé formy růstu, které mohou dosahovat délky 2 až 7 m. Ze stonku vyrůstají trojčetné listy umístěné střídavě na prýtu. Fazol tvoří květenství s dlouze stopkatými květy různého zbarvení. Po vnitřním opylení jeden květ dává vznik jednomu lusku, plodu fazolu. Právě lusk je ústředním zájmem pěstitelů. V lusku se nachází několik zrn, která jsou bohatá na bílkoviny, vápník, železo a další výživově hodnotné látky (Hayat *et al.*, 2014).

Pro experimenty popisované v této práci byl použit výběr genotypů, které obsahovaly genotypy ze všech genových zdrojů (poolů). A to z důvodu pokrytí variability odpovědí obou genových poolů na stres suchem.

3.1.2 Fazol ostrolistý (*Phaseolus acutifolius*)

Fazol ostrolistý (*P. acutifolius*), byl zařazen zejména proto, že se jeví být slibným genetickým zdrojem vlastností přispívajících k odolnosti vůči suchu, horku a některým onemocněním (Rao *et al.*, 2013). Fazol ostrolistý se proto kříží s fazolem obecným, ve snaze přispět ke šlechtění odolného genotypu vůči suchu s vysokou produktivitou (Mwale *et al.*, 2020).

Fazol ostrolistý (*Phaseolus acutifolius*, anglicky „teparty bean“) je jednoletý samosprašný diploid, který je pěstován převážně v odlehlých oblastech subsaharské Afriky farmáři s omezenými prostředky (Mwale *et al.*, 2020). Fazol ostrolistý je často pěstován v suchých oblastech díky své schopnosti tolerovat stres suchem a stres vysokými či nízkými teplotami (Porch *et al.*, 2013; Rao *et al.*, 2013). Je také odolný vůči chorobám a patogenům (Mwale *et al.*, 2020) – jako například vůči zrnokazu fazolovému (*Acanthoscelides obtectus*) (Jiménez *et al.*, 2017), obecné spále fazolu (*Xanthomonas axonopodis* pv. *Phaseoli*) (Marquez, Terán a Singh, 2007; Shi, Navabi a Yu, 2011) nebo virové zlaté mozaice fazolu (Miklas a Santiago, 1996). Fazol ostrolistý je široce využívaným zdrojem genetické variability pro šlechtitelské programy (Beebe *et al.*, 2013; Rao *et al.*, 2013). Původem pochází z teplých a suchých oblastí (severní oblasti Mexika a jih USA), což přispělo k vývoji adaptací, které mu umožňují oddálit negativní dopady sucha na jeho vývoj (Thomas, Manshardt a Waines, 1983). Mezi tyto mechanismy patří výraznější paraheliotropické pohyby listů, které umožňují šetřit vodou při nízkém vodním potenciálu v pletivech, malé listy, menší celková listová plocha, větší poměr kořen:prýt a velmi jemné kořeny snadno prorůstající půdu (Yu a Berg, 1994; Butare *et al.*, 2011). Fazol ostrolistý také dosahuje vyšších hodnot čisté fotosyntézy díky rychlému uzavírání průduchů při nástupu stresu suchem, čímž dosahuje vyšší WUE (Castonguay a Markhart, 1992).

3.1.3 Mezidruhový kříženci fazolu obecného a ostrolistého

Do pokusů byly zahrnuty také genotypy mezidruhových kříženců (například genotypy značené INB, SEF nebo SIN, které vznikly křížením *P. vulgaris* × *P. acutifolius*, některé SEF křížené navíc i s *P. coccineus*, ALB značené genotypy jsou kříženci *P. vulgaris* × *P. coccineus* × *P. acutifolius*) (Suárez Salazar *et al.*, 2020).

3.2 Metodické přístupy

3.2.1 Měření spektrálních vlastností listu

Spektrální (optické) vlastnosti listu byly během polních pokusů měřeny spektrometrem ASD FieldSpec® 4 Standard-Res Spectroradiometer a během skleníkových pokusů byl použit ASD FieldSpec® 4 Wide-Res Field Spectroradiometer. Oba spektrometry jsou od téhož výrobce (Malvern Panalytical Ltd, Cambridge, UK). ASD FieldSpec® 4 Standard-Res má rozlišení 3 nm ve viditelném a blízkém infračerveném spektru (VNIR – anglicky „visible near infrared“) a 10 nm v krátkovlnném infračerveném spektru (SWIR – anglicky „short wave infrared“). ASD FieldSpec®4 Wide-Res má rozlišení 3 nm v VNIR a 30 nm ve SWIR.

Rozsah jejich měření od 350 nm do 2500 nm pokrývá vlnové délky viditelného světla, červeného okraje, VNIR a SWIR oblastí spektra. V polních i skleníkových podmínkách byla ke spektrometru

připojena kontaktní sonda (ASD Plant Probe) s vlastním zdrojem světla pro měření odrazivosti listu přiložením k jedné z jeho stran (viz Obrázek 5). Pro přesnost měřené odrazivosti listu byla k sondě připevněna svorka pro jednodušší uchycení listu, která těsně přiléhala k jeho povrchu. Tím bylo zamezeno vstupu světla z okolí. V místě měření odrazivosti byl list podložen černým terčíkem, který pohlcoval veškeré světelné záření prošlé listem. To sloužilo tomu, aby se tato část světla – tzv. transmitance, propustnost – neodrazila zpět od pozadí a neprošla opět listem nazpět. Tím by se snížila přesnost naměřené reflektance (odražené části záření).

Měření byla ukládána v DN (anglicky „digital number“) hodnotách. Každá naměřená spektrální křivka vznikla průměrováním 50 křivek již v průběhu snímání odrazivosti listu. Spektroradiometr byl kalibrován každých 10-15 minut pomocí Spektralonu – bílého panelu s 99% odrazivostí záření v celém rozsahu spektra měřeného spektrometrem. V polních experimentech byl pro zaznamenávání křivek použit program IndicoPro a během skleníkových experimentů byl použit program RS³.

Pro měření byl vybrán nejmladší, avšak plně vyvinutý list na rostlině, který se nacházel na povrchu porostu. Měřena byla centrální část trojčetného listu z adaxiální (AD) i abaxiální (AB) strany v určitém místě plochy listu tak, aby se vyhnulo oblasti s centrální žilnatinou (ve všech případech, kdy to bylo možné). Během jednoho termínu měření byly pořízeny spektrální křivky tří listů (individuálních rostlin) od každého genotypu, a to jak z AD, tak z AB strany listu. Tyto křivky odrazivosti byly pomocí programu ASD ViewSpecPro převedeny z DN na reflektanci. Následně byly naměřené hodnoty odrazivosti jednotlivých genotypů zprůměrovány a výsledná křivka odrazivosti byla použita pro analýzy. Pro účely některých analýz byl tento krok vynechán.



Obrázek 5 – Kontaktní měření odrazivosti listu v experimentálním poli pomocí spektrometru ASD FieldSpec® 4 Standard-Res s připojenou kontaktní sondou a svorkou na list. Foto: L. Svitáková.

3.2.2 Výpočet vegetačních indexů

Pro výpočet vegetačních indexů jednotlivých genotypů byl využit software R. Z vybraných pásem křivky odrazivosti (viz Tabulka 2) byla pro každý genotyp vypočtena průměrná hodnota odrazivosti oblasti daného pásma. Umístění a šířka pásem v rámci spektra byly zvoleny tak, aby odpovídaly pásmům měřeným multispektrální kamerou nesenou UAV (bezpilotním letounem – dronem). A to proto, aby byly vypočtené VIs z dat měřených spektrometrem FS4 i z dronu vzájemně porovnatelné. S využitím vypočtené průměrné hodnoty jednotlivých pásem byly následně stanoveny hodnoty devíti vegetačních indexů (seznam VIs v Tabulka 3).

Název pásma	Anglický název	Šířka (nm)
Modré	Blue	465-485
Zelené	Green	550-570
Červené	Red	663-673
Blízké infračervené	Near infrared	820-860
Červený okraj	Red-edge	712-722

Tabulka 2 – Seznam pásem měřených multispektrální kamerou připevněnou na UAV (dronu). Šířka pásem je v nm.

Anglický název vegetačního indexu	Zkratka	Vzorec
Normalized Difference Red-Edge	NDRE	$(\text{NIR-RE}) / (\text{NIR+RE})$
Normalized difference vegetation index	NDVI	$(\text{NIR-Red}) / (\text{NIR+Red})$
Green Normalized Difference Vegetation Index	GNDVI	$(\text{NIR-Green}) / (\text{NIR+Green})$
Blue Normalized Difference Vegetation Index	BNDVI	$(\text{NIR-Blue}) / (\text{NIR+Blue})$
Normalized Difference Vegetation Red-Edge Index	NDREI	$(\text{RE-Red}) / (\text{RE+Red})$
Normalized Pigment Chlorophyll Index	NPCI	$(\text{RE-Blue}) / (\text{RE+Blue})$
Green-Red Vegetation Index	GRVI	$(\text{Green-Red}) / (\text{Green+Red})$
Normalized Green-Blue Difference Index	NGBDI	$(\text{Green-Blue}) / (\text{Green+Blue})$
Water Index	WI	900 nm / 970 nm

Tabulka 3 – Seznam nejběžněji používaných vegetačních indexů, které lze vypočítat na základě multispektrální informace průměrovaných pásem (viz Tabulka 2); NIR (near infrared) – reflektance v oblasti blízkého infračerveného záření, RE (red-edge) – reflektance v oblasti červeného okraje, Red, Blue, Green – reflektance v červené, modré, zelené oblasti.

3.2.3 Stanovení specifické listové plochy

Odběry pro stanovení specifické listové plochy (SLA) proběhly během všech experimentů. V roce 2019 v polním experimentu BASE100 v Kolumbii (bude popsán v kapitole 4.2.1) bylo pro každý genotyp vybráno 15 trojčetných listů (nejmladších, avšak plně vyvinutých), které byly následně rozděleny do tří repetič po pěti listech. Každý trojčetný list byl rozdělen na postranní a centrální části. Ty byly následně měřeny zvlášť, aby bylo možno porovnat rozdíly SLA postranních listů a centrálních listů. Pro každou repetiči byla listová plocha (LA – anglicky „leaf area“) měřena zvlášť zařízením určeným pro měření LA – pro první měření v kontrolní skupině byl použit LI-3100C (LI-COR Biosciences) a během všech následných odběrů byl využit LI-3000C (LI-COR Biosciences) připojený k LI-3050C „transparent belt conveyor accessory“ (LI-COR Biosciences) – k transparentnímu posuvnému pásu pro snadnější měření listů. Na obou přístrojích byly listy měřeny s rozlišením na 1 mm². Po získání hodnot LA byly listy vysušeny za teploty 60 °C po dobu 3-4 dnů do dosažení jejich konstantní hmotnosti. Bylo zachováno oddělení centrální části trojčetného listu od jeho postranních částí. Bylo tomu tak z důvodu možnosti získání hodnot suché hmotnosti listů (LDM – anglicky „leaf dry biomass“) pro obě části listu zvlášť pro porovnání hodnot SLA centrální a postranních částí listu. Ze získaných dat byla vypočítána hodnota SLA podle vzorce v Rovnici 8.

Během skleníkových pokusů na PřF UK a polního experimentu BASE48 v Kolumbii (bude popsán v kapitole 4.2.2) během roku 2021 byl zvolen přístup, který propojil odběry a měření SLA a relativního obsahu vody (RWC) (viz kapitola 3.2.4) tak, aby byly obě hodnoty získány z totožného listu. Pro měření LA byla použita mobilní aplikace LeafByte (Getman-Pickering *et al.*, 2020), která měří plochu listu v mobilu s využitím fotografie listu na bílém pozadí ve čtverci o známé délce strany. Tato metoda byla

zvolena pro svou jednoduchost a technickou nenáročnost. Následný postup byl identický s tím v roce 2019. Byly však měřeny pouze centrální části trojčetného listu a listy byly měřeny a váženy jednotlivě.

$$SLA = \frac{LA}{LDM} m^2 \cdot kg^{-1}$$

Rovnice 8 – Vzorec pro výpočet specifické listové plochy (SLA) v m^2/kg ; LA (leaf area) – listová plocha, LDM (leaf dry matter) – hmotnost suché biomasy listů.

3.2.4 Stanovení relativního obsahu vody listu

Během skleníkového experimentu i polních pokusů byly provedeny odběry pro stanovení relativního obsahu vody (RWC). Odběry probíhaly vždy v dopoledních hodinách. Odebráno bylo 5 mladých, avšak plně vyvinutých listů z apikální části rostliny (podobného stáří jako listy pro měření odrazivosti listu). A to pro každý genotyp v obou variantách ošetření a celkem ve dvou termínech během polních pokusů. U skleníkového experimentu byl odebrán jeden mladý, avšak plně vyvinutý list z každé rostliny (n=3-5 listů na genotyp) ve dvou termínech. Listy byly v podobném stádiu vývoje jako ty, které posloužily pro měření optických vlastností listu. Listy byly nejčastěji umístěny na třetím nodu od apikálního vrcholu rostliny. List byl okamžitě po odebrání umístěn do uzavíratelného plastového pytlíku, na papírový ubrousek mírně navlhčený destilovanou. Ubrousek zabráňoval výparu vody z listu. Během odběru byly vzorky schraňovány v chladicím boxu s ledem. Listy byly do 1 h po odběru v laboratoři zpracovány. Každý list byl v případě potřeby opatrně ubrouskem osušen, samostatně zvážen na analytických vahách a vložen do falkony s 5-10 ml destilované vody tak, aby byl řapík listu zcela ponořen. Listy byly ponechány ve vodě 24 h v chladném (cca 3 °C) a temném prostředí lednice pro dosažení jejich maximální rehydratace. Po rehydrataci byl každý list opět zvážen na analytických vahách a umístěn do sušárny (na 3-4 dny), kde se za teploty 60 °C nechal vysušit do konstantní hmotnosti. Poté byl opět každý list zvážen na analytických vahách. Z naměřených hodnot byl stanoven RWC pro každý list pomocí Rovnice 9:

$$RWC = \frac{\text{čerstvá hmotnost} - \text{hmotnost sušiny}}{\text{hmotnost po rehydrataci} - \text{hmotnost sušiny}} \cdot 100 \%$$

Rovnice 9 – Vzorec pro výpočet relativního obsahu vody (RWC – relative water content).

3.2.5 Biochemické stanovení obsahu fotosyntetických pigmentů listu

Během skleníkového experimentu GH2 na PřF UK byl odebrán jeden terčík o ploše 83,74 mm² ze stejné pozice na listu kde byly měřeny spektrální vlastnosti listu. Tyto terčíky byly použity pro spektrofotometrické stanovení obsahu fotosyntetických pigmentů v listech. Jednalo se o obsah chlorofylu *a*, chlorofylu *b* a celkový obsah karotenoidů.

Terčík byl po odběru vložen do uzavíratelné zkumavky a uchováván v mrazáku při teplotě -20°C. Zmražené vzorky byly později pro extrakci jednotlivě vloženy do skleněné lahvičky a zality 5 ml dimethylamidu kyseliny mravenčí (DMF – dimetylformamid) a zakryty víčkem s teflonovou ochranou. Extrakce pigmentů trvala 1 týden v úplné tmě při teplotě 4 °C (aby došlo ke kompletní extrakci pigmentu z terčíku). Výsledné extrakty byly měřeny pomocí spektrofotometru Evolution 201 (ThermoFisher Scientific, Waltham, MA USA) a v programu Thermo Insight byly zaznamenávány hodnoty absorbance ve vlnových délkách 480, 647, 664 a 750 nm. Rovnice pro výpočet koncentrací fotosyntetických pigmentů byly použity z práce autora Wellburn (1994). Obsah fotosyntetických pigmentů byl vztažen na plochu terčíku ($\mu g/mm^2$). Ze získaných dat o obsahu celkového chlorofylu a karotenoidů v listu byl dopočítán i jejich poměr.

3.2.6 Data měřená kapesním fluorimetrem MultispeQ

MultispeQ (MSPQ) plní funkci kapesního fluorimetru spolu s měřením dalších parametrů. Výhodou MSPQ je jeho neinvazivní snímání parametrů, které vypovídají o fyziologickém stavu rostliny – obsah pigmentů (chlorofyl, antokyany), tloušťku a teplotu listu a fotosyntetické parametry na základě změn v absorbanci listu a změn fluorescenčního výtěžku PSII na světle v ustáleném stavu (Kuhlgert *et al.*,

2016). Zároveň měří některé parametry prostředí přímo v okolí listu – teplotu vzduchu, relativní vlhkost vzduchu (RH – anglicky „relative humidity“), místo a čas měření a množství dopadajícího fotosynteticky aktivního záření v době měření (PAR). Obsah chlorofylu měří na základě propustnosti listu pro červené a NIR záření. Je vhodný pro použití jak v terénu na poli, tak i ve skleníku díky svému snadnému ovládní. Každé měření trvá v řádu sekund. Všechna naměřená data jsou zaznamenávána pomocí mobilní aplikace, odkud jsou data následně nahrána na platformu PhotosynQ (www.photosynq.org) (Kuhlgert et al., 2016).

Seznam MSPQ měřených parametrů, které vypovídají o fyziologickém stavu rostliny:

- Relativní obsah chlorofylu – poměr transmitance v červené a blízké infračervené oblasti spektra. Vyjadřuje se v relativních jednotkách poměru transmitance – proto „relativní obsah chlorofylu“ neboli SPAD. Toto měření je ve studiích často korelováno s obsahem dusíku v listech.
- Tloušťka listu – je měřena pomocí senzorů umístěných ve svorce MSPQ, které zachycují deformace mikro-siločar magnetického pole neboli tzv. Hallův efekt.
- Teplotní rozdíl listu (LTD – anglicky „leaf temperature differential“) – je vypočítán jako rozdíl teploty listu a teploty okolního prostředí. Pokud je výsledek negativní, je list chladnější než okolní vzduch a vice versa (Deva *et al.*, 2020).

Seznam parametrů měřených MSPQ, které souvisí s primární fází fotosyntézy (Baker, 2008):

- Phi2 – hodnota vypovídá o aktuálním kvantovém výtěžku fotosystému II (anglicky „photochemical yield of PSII“ – ΦPII) – tedy kolik procent dopadajícího světla excitujícího elektrony vstupuje do PSII, a tím pádem je využito pro fotosyntézu.
- PhiNPQ – značí poměr dopadajícího světla, které je uvolněno rostlinou ve formě tepla či jinou nefotochemickou cestou. Rostlina tímto mechanismem může zabránit poškození pletiv způsobeného přílišným ozářením.
- NPQt – je odhad absolutní hodnoty nefotochemického zhášení. Značí odhad množství světla, které je rostlinou přijato a uvolněno skrze nefotochemické procesy (většinou skrze uvolnění tepla), aby se tím zabránilo poškození pletiv rostliny (Tietz *et al.*, 2017).
- PhiNO – poměr dopadajícího světla, které je ztraceno skrze neregulované (blíže nespecifikované) procesy. Je kombinací několika rostlinou neregulovaných procesů, jejichž vedlejší produkty mohou snižovat fotosyntézu nebo mohou být pro rostlinu škodlivé (Kuhlgert *et al.*, 2016).
- Phi index – je vypočítán na základě tří proměnných – Phi2, PhiNPQ a PhiNO. Výsledkem součtu Phi2, PhiNPQ a PhiNO je vždy 1 a společně vysvětlují, jakým způsobem je dopadající světlo proporčně rozděleno do těchto tří procesů, jimiž jsou čistá fotosyntéza (Phi2), nefotochemické zhášení (PhiNPQ) a jiné procesy uvolňování energie (PhiNO). Vyjadřuje tedy podíl čisté fotosyntézy a ostatních disipačních procesů. Phi index je vypočítán pomocí vzorce v Rovnice 10. Když je hodnota Phi indexu vyšší než 1, znamená to, že dopadající světlo je z větší části využito pro fotosyntézu, pokud je nižší než 1, převládá nefotosyntetické uvolňování energie pomocí PhiNPQ a PhiNO. Je-li hodnota Phi indexu 1, znamená to, že 50 % PAR je využito pro fotosyntézu a 50 % je uvolněno nefotochemickými procesy.

$$\text{Phi index} = \frac{\text{Phi2}}{\text{PhiNPQ} + \text{PhiNO}}$$

Rovnice 10 – Vzorec pro výpočet Phi indexu; Phi2 – aktuální kvantový výtěžek fotosystému II, PhiNPQ – poměr dopadajícího světla uvolněného nefotochemickou cestou a formou tepla, PhiNO – další neregulované a blíže nespecifikované procesy disipace energie.

- gH+ – značí míru toku elektronů ATP syntázou v chloroplastech (Kanazawa *et al.*, 2017).
- LEF (anglicky „linear electron flow“) – je lineárním tokem elektronů, kdy PSII oxiduje H₂O a předává elektrony na plastochinon. Tato hodnota vypovídá o množství energie, které je využito chloroplasty po vystavení světlu. Měření bere v úvahu i absorbitivitu listu (extinkční koeficient, jehož jednotkou je m²·mol⁻¹). Vzorec pro výpočet LEF je v Rovnice 11:

$$LEF = Phi2 \cdot PAR \cdot 0,45$$

Rovnice 11 – Vzorec pro výpočet lineárního toku elektronů (LEF – linear electron flow), Phi2 – aktuální kvantový výtěžek fotosyntému II, PAR (photosynthetically active radiation) – fotosynteticky aktivní záření (Kuhlgert et al., 2016).

Parametry z MSPQ, které vypovídají o prostředí v okolí měřeného listu:

- PAR (anglicky „photosynthetically active radiation“) – fotosynteticky aktivní záření, které je pouze zlomkem celkového dopadajícího světla ve vlnových délkách od 400 nm do 700 nm. Dopadající světlo těchto vlnových délek může být rostlinou využito pro fotosyntézu. Jednotkami PAR jsou $\mu\text{mol fotonů} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$.
- Vlhkost a teplota vzduchu, ale i barometrický tlak, GPS souřadnice, přesný čas měření apod.

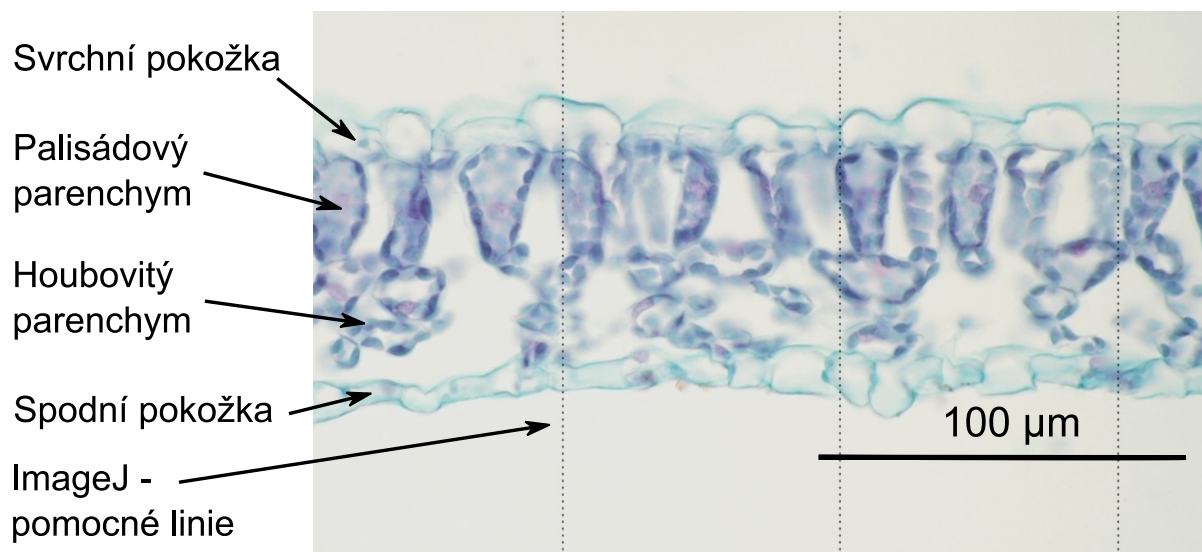
3.2.7 Anatomická analýza listů ze skleníkového pokusu

V průběhu skleníkových pokusů na PřF UK byly ve třech termínech (ve většině případů identických s měřením spektrálních vlastností listu) odebrány vzorky pro zpracování anatomické analýzy listu. Čtverečky o velikosti 0,5 x 0,5 cm byly vyříznuty z listu na stejné pozici, kde proběhlo měření odrazivosti. Vzorky byly ihned ponořeny do 70% FAA fixačního roztoku (70% FAA je v poměru 18:1:1 složeno z 38% formalinu, 100% kyseliny octové a 70% ethanolu) a následně byly vzorky skladované ve tmě. Z těchto vzorků pro anatomickou analýzu byly vybrány dva listy od každého genotypu v rámci každé skupiny (kontrolní a s ošetřením). Byly vybrány vzorky, jejichž tloušťka změřená pomocí MSPQ se nejvíce blížila průměrné hodnotě tloušťky listu pro daný genotyp ve skupině kontrolní nebo stresované. Dva segmenty byly zalaty do parafínu dle postupu uvedeném ve skriptech *Botanická mikrotechnika* (Pazourková, 1986). Z těchto segmentů byly zhotoveny příčné řezy (přibližně 15-20 μm tlusté) za použití elektrického mikrotomu Leica RM 2155 (© Leica Microsystems Nussloch GmbH). Řezy listů byly po odstranění parafínu obarvené safraninem (96% ethanol, safranin O, octan sodný, 40% formaldehyd – tato směs je před použitím naředěna v poměru 1:1 s 50% ethanolem) a poté zalité do pryskyřice (Pazourková, 1986). S použitím světelného mikroskopu a fotoaparátu byly pořízeny snímky řezů při zvětšení 60x, které byly předem vybrány systematicky rovnoměrně náhodným vzorkováním (SRN), které slouží pro kvantitativní stanovení počtu objektů u biologického materiálu (viz kapitola 3.2.7.1). Ze snímků (z každého vzorku jich bylo pořízeno celkem pět) byly pomocí softwaru ImageJ naměřeny hodnoty celkové tloušťky listu a jeho jednotlivých vrstev (v pixelech) – svrchní pokožky; celkové tloušťky mezofylu, palisádového parenchymu a houbovitého parenchymu; a spodní pokožky. Pomocí bodové mřížky byl v ImageJ změřen a vypočítán i poměr mezibuněčných prostor v mezofylu. Naměřené hodnoty celkové tloušťky listu a jeho jednotlivých vrstev byly pomocí kalibrace převedeny z pixelů na μm . Následně byly vytvořeny grafy a data byla analyzována použitím vícefaktorového ANOVA testu (viz kapitola 6.1.6).

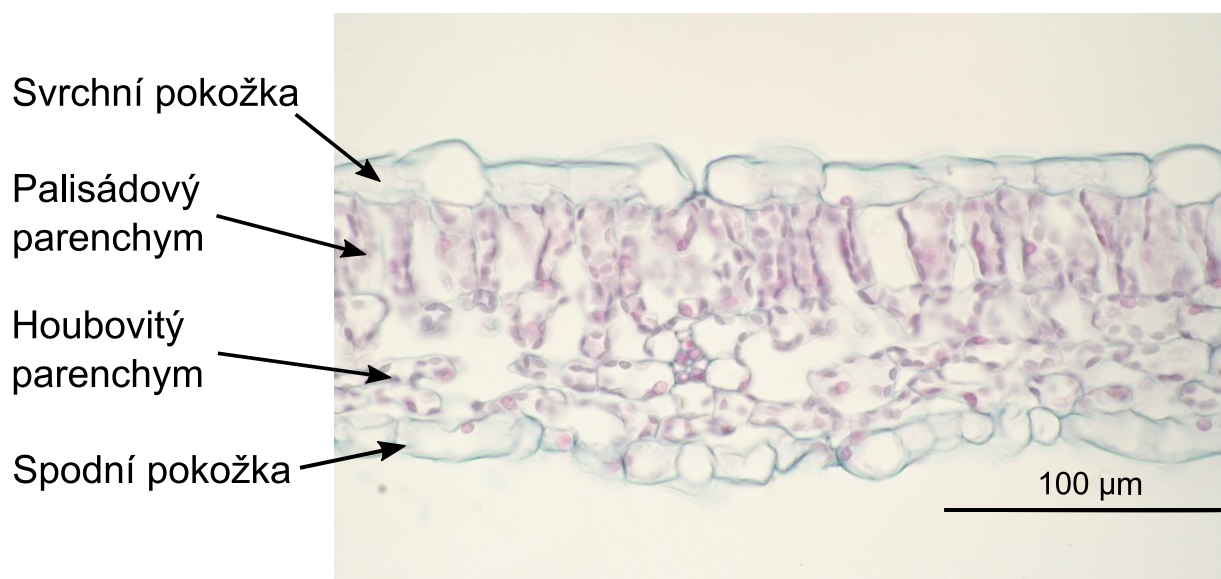
3.2.7.1 Systematicky rovnoměrné náhodné vzorkování

Pro nevychýlený odhad strukturálních parametrů je využíváno stereologických metod založených na systematicky rovnoměrném náhodném (SRN) vzorkování a stochastické geometrii (Kubínová a Albrechtová, 1999; Kubínová *et al.*, 2017). Slouží pro optimalizaci počítání sledovaných objektů tak, aby bylo dosaženo co nejpřesnějšího nevychýleného odhadu počtu objektů ve sledované struktuře. Pro výběr místa měření anatomických vlastností byly nejprve vybrány řezy určené pro nasnímaní na mikroskopu podle svého pořadí na sklíčku pomocí náhodně generovaných čísel (Kubínová a Albrechtová, 1999; Kubínová *et al.*, 2017). Následně bylo náhodně generováno číslo, které určovalo, v jaké vzdálenosti od svého počátku bude řez snímán. Na nasnímanou fotografii byla v ImageJ použita maska, která na fotografii řezu aplikovala systém kolmic s náhodným horizontálním posunem od okraje fotografie. K tomu byl použit plugin „LinSys Cycloids“. Linie určovaly místa měření tloušťky listu a jeho jednotlivých vrstev v pravidelných intervalech. Dále byly pomocí SRN vzorkování vybrány čtyři čtvercové výseky podél řezu, na které byla náhodně umístěna bodová mřížka. Z počtu bodů, které zasáhly buněčnou strukturu, a těch, které zasáhly mezibuněčný prostor, byl odvozen poměr mezibuněčných prostor. Jelikož body mřížky jsou rovnoměrně rozmístěny a každému bodu odpovídá stejná plocha testovacího systému, je možno z prostého poměru počtu průsečíků získat plošné zastoupení dané struktury na řezu listem, tedy hustotu mezibuněčných prostor v mezofylu. Pro ilustraci

jsou zde prezentovány řezy listem dvou kontrastních genotypů – DICTA 17 (viz Obrázek 6 s pomocnými liniemi) a SCR9 (viz Obrázek 7).



Obrázek 6 – Příčný řez listem citlivého genotypu DICTA 17, odběr ze skleníkového experimentu GH2 v termínu DAP 18; DICTA 17 – název genotypu, DAP (days after planting) – dny po vysetí; barveno pomocí safraninu a foceno ve světelném mikroskopu, světlé pole při zvětšení 60x; tloušťka řezu cca 15-20 μm. Podél pomocných linií byla měřena tloušťka pletiv listu.



Obrázek 7 – Příčný řez listem odolného genotypu SCR9, odběr ze skleníkového experimentu GH2 v termínu DAP 32; SCR 9 – název genotypu, DAP (days after planting) – dny po vysetí; barveno pomocí safraninu a foceno ve světelném mikroskopu, světlé pole při zvětšení 60x; tloušťka řezu cca 15-20 μm.

3.2.8 Výnosové a růstové parametry rostlin

3.2.8.1 Skleníkové pokusy

Během skleníkových pokusů na PřF UK proběhly v několika termínech sklizně rostlin. Vždy byly vybrány rostliny ($n = 3-4$) od každého genotypu z obou skupin, které sloužily pro zpracování jejich částí. Získaná data z rozboru obsahovala listovou plochu (LA), suchou biomasu nadzemní části (listů a prýtu), v pozdějších termínech i počet květů a lusků. Veškerý materiál byl vysušen v sušárně při teplotě 60 °C do konstantní hmotnosti.

3.2.8.2 Polní pokusy

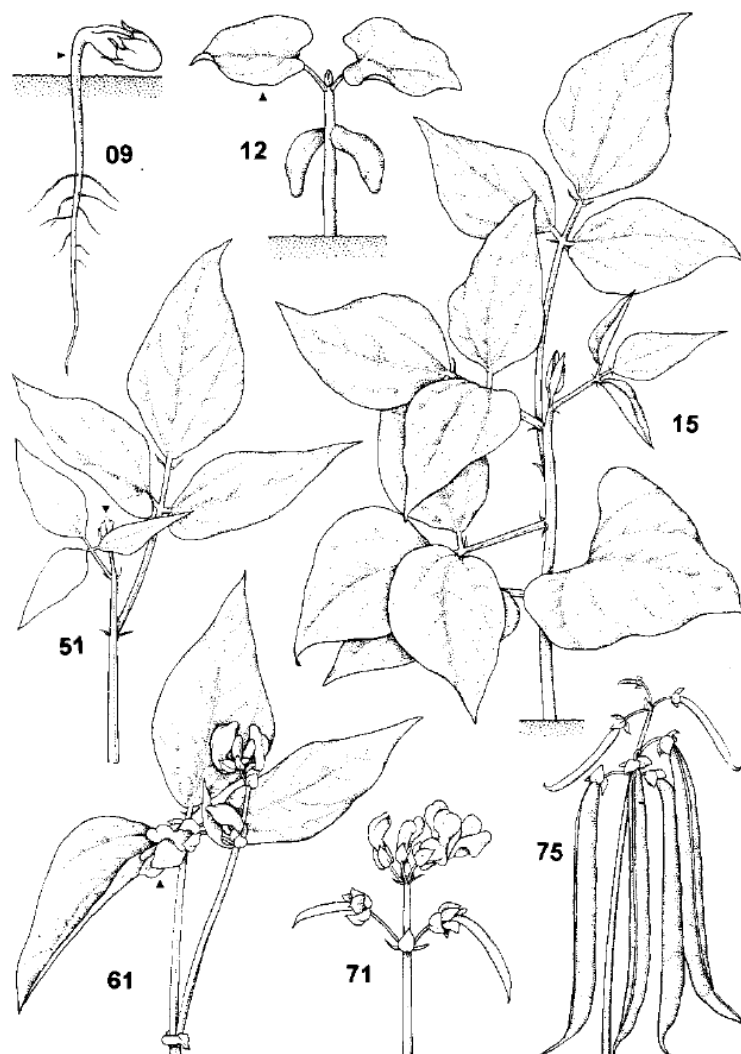
Pro získání přesných informací o růstu a vývoji jednotlivých genotypů byly v několika termínech v průběhu polních pokusů v Kolumbii sklizeny rostliny pro detailní zpracování a rozbor. Na poli byly rostliny z jednotlivých parcel sklizeny z úseku řádku o délce 50 cm a zároveň byl zaznamenán počet sklizených rostlin z těchto 50 cm. Výsledný výnos pro každý genotyp byl vypočítán ze dvou řádků, každého o délce 2 m, v případě pokusů BASE100 a u BASE48 se u kontrolní skupiny jednalo o 50cm úsek jednoho řádku a pro stresovanou skupinu byla sklizena celá plocha experimentálního pole (celkový součet délek řádků jednoho genotypu se pohyboval okolo 7 m). Ze známé hmotnosti zrn na danou sklizenou plochu (šířka řádku byla 0,6 m) byl dopočítán odhad výsledného výnosu v tunách na hektar.

Získaná data ze sklizni obsahovala také počet rostlin, počet listů, listovou plochu (LA), výpočet indexu listové plochy (LAI – anglicky „leaf area index“), počet květů, počet lusků a ve finální sklizni i počet a celkovou hmotnost zrn. Po vysušení všech vzorků v sušárně při teplotě 60 °C do konstantní hmotnosti byla získána suchá hmotnost prýtlů, listů, květů, semen a stěn lusků (anglicky „pod walls“).

3.2.9 Stupnice BBCH

Zkratka BBCH („Biologische Bundesanstalt, Bundessortenamt und Chemische Industrie“) označuje stupnici, která byla vyvinuta pro sjednocení identifikace jednotlivých fenologických fází rostlin v průběhu jejich vývoje (Meier, 2001). Tato stupnice byla vyvinuta pro širokou škálu kulturních plodin včetně fazolu obecného. Jednotlivé fáze vývoje fazolu obecného jsou k vidění na Obrázek 8, u každého schématu je uvedeno i příslušné číslo dané fáze vývoje.

V průběhu polních experimentů byla hodnota BBCH jednotlivým genotypům přiřazována na základě pozorování rostlin na poli. Hodnota BBCH byla průměrnou hodnotou 10 rostlin pro každý genotyp přibližně každé 4 dny. Na základě těchto hodnot lze jednotlivá měření během experimentů přiřadit k fenologické fázi, ve které se fazol v daný termín nacházel.



Obrázek 8 – Schéma jednotlivých fenologických fází fazolu obecného (*P. vulgaris*) s příslušnými čísly ze stupnice BBCH odpovídající danému stádiu. Číslo stádií: 09 – klíčící rostlina, 12 – rostlina s rozvinutými děložními listy, 15 – rostlina se čtyřmi rozvinutými pravými listy, 51 – rostlina s prvními viditelnými pupeny, 61 – začátek kvetení (10 % otevřených květů), 71 – rostlina s prvními luskami, 75 – 50 % lusků na rostlině dosáhlo své plné délky. Převzato z Meier (2001).

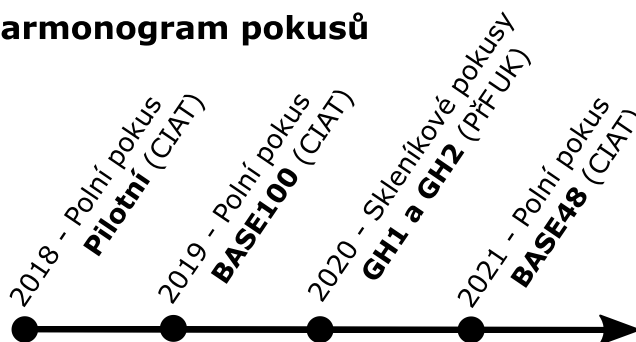
4. Experimentální design skleníkových a polních pokusů

Pro účely této diplomové práce byla data sbírána během 3 polních pokusů v Kolumbii a dvou skleníkových experimentů na PřF UK. Tento experimentální design byl zvolen tak, aby se dvě rozdílná prostředí kultivace fazolu doplňovala a poskytla co možná největší škálu informací z analýz, které se daly na dané lokalitě experimentu udělat. Navíc výzkum probíhal v době covidu a nebylo zřejmé, zda bude možné vycestovat znovu do Kolumbie a pokračovat tam v experimentální práci a sběru dat. Na rostlinách pěstovaných v polních pokusech byla pozorována jejich reakce na sníženou dostupnost vody v terénních podmínkách v jejich indigenním prostředí (podnebí Jižní Ameriky – Kolumbie) na vysoce kvalifikované mezinárodní instituci CIAT, která je světově vedoucím vědeckým pracovištěm ve výzkumu fazolu obecného a vývoji metod pro jeho pěstování. Skleníkové pokusy situované ve skleníku a laboratořích na pracovišti Katedry experimentální biologie rostlin PřF UK v Praze sloužily pro měření a analýzu parametrů, které byly pro polní pokusy doplňující a jejichž stanovení nebylo možné provést v prostředí výzkumného institutu CIAT, jako např. anatomická analýza listu. Obě části (polní i skleníkové experimenty – jejich harmonogram viz Obrázek 9) se vzájemně doplňovaly a měly za cíl společně zodpovědět vytyčené cíle této diplomové práce.

Pro sběr dat během polních pokusů v Kolumbii mi byla k ruce skupina fyziologů a techniků z týmu Ing. Milana O. Urbana, DiS, Ph.D., kteří pod mým vedením asistovali při sběru a analýze velkého množství vzorků z tisíců rostlin, které byly pro tento pokus na polích pěstovány.

Za pomoc během skleníkových pokusů vděčím několika kolegům z laboratoře prof. RNDr. Jany Albrechtové, Ph.D., mé školitelce Mgr. Zuzaně Lhotákové, Ph.D. a dalším, kteří mi pomáhali při časově náročnějších fázích skleníkových pokusů.

Harmonogram pokusů



Obrázek 9 – Harmonogram experimentální práce pro účely této diplomové práce. CIAT (Alliance of Biodiversity International a CIAT) – Mezinárodní institut tropického zemědělství v Kolumbii, PřF UK – Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy, názvy polních experimentů – BASE100, BASE48, názvy skleníkových experimentů – GH1 a GH2.

4.1 Skleníkové pokusy GH1 a GH2 v roce 2020

V roce 2020 byl 16. června ve skleníku Přírodovědecké fakulty UK vyšet nádobový experiment GH1. Pro tento pokus byly vybrány dva kontrastní genotypy fazolu obecného lišící se ve své reakci na abiotický stres suchem – SEF 16 (k suchu více odolný genotyp) a DICTA 17 (k suchu více citlivý genotyp). Genotypy byly vybrány na základě předchozích pokusů (Dr. M. Urban, osobní sdělení). Výraz genotyp v kontextu této diplomové práce není myšlen jakožto klonální materiál (nebyla stanovována genová sekvence). Jedná se o vybrané genotypy, kde je přítomná genetická variabilita a každý z nich je definován jako jedna linie fazolu. V textu této práce je užíváno slovo genotyp jakožto synonymum slova linie fazolu.

Květníky použité ve skleníkovém experimentu měly rozměry 19 x 19 cm a objem přibližně 5,4 l. V experimentu GH1 byly celkem 4 varianty ošetření. Rozděleny byly na suchou (suchem stresovanou) a kontrolní skupinu, z nichž každá byla vyseta ve dvou typech substrátů. Substráty se od sebe lišily poměrem písek:organický substrát. Byly zvoleny dva různé poměry – 1:1 a 2:1 v daném pořadí. Tento pilotní pokus GH1 byl určen ke zjištění, zda a jak tropické genotypy fazolu obecného porostou v českých skleníkových podmínkách. Pokus také sloužil pro výběr vhodnějšího substrátu pro následný skleníkový experiment GH2.

Po pokusu GH1 byl 3. srpna 2020 zahájen nádobový experiment GH2 se stejným umístěním ve skleníku. Květníky s rostlinami byly náhodně uspořádány do bloku. Pro tento pokus byly ke genotypům SEF 16 a DICTA 17 přidány další 3 genotypy – SCR 9 (k suchu více odolný genotyp), DOR 390 (k suchu více citlivý genotyp) a Tepary 32 (suchu odolný genotyp, *P. acutifolius*) – viz Tabulka 4.

Pro tento pokus byly vytvořeny dvě varianty ošetření – kontrolní skupina (kontrola) a skupina ošetřená omezenou zálivkou (sucho). Do každé varianty ošetření bylo zařazeno 5 rostlin od každého genotypu (s výjimkou Tepary 32, od kterého byly v každé skupině pouze 4 rostliny). Na základě výsledků předešlého skleníkového experimentu GH1 byl vybrán substrát s poměrem písek:organický substrát 1:1, který snadněji a rychleji vysychal. Do porostu byl mezi rostliny umístěn senzor (Dostmann Electronic LOG32TH) pro zaznamenávání teploty vzduchu a vzdušné vlhkosti. Teplota se během celého experimentu pohybovala mezi 15,1 °C a 44,0 °C, s průměrnou hodnotou 23,5 °C. Relativní vlhkost vzduchu (% RH) dosahovala minima při hodnotě 18,6 % RH a maxima při 92,0 % RH. Průměrná relativní vlhkost vzduchu během celého experimentu byla 64,7 % RH. Sluneční záření bylo jediným zdrojem světla v průběhu celého experimentu. Ve snaze zamezit navlhnutí rostlin skapem z oken skleníku a srážkami byla nad nádobový experiment umístěna transparentní plachta.

Název genotypu	Odolnost vůči suchu	Genový pool	Křížení
DICTA 17	senzitivní	Mezo	
DOR 390	senzitivní	Mezo	
SCR 9	odolný	Mezo	
SEF 16	odolný	Intersp	<i>P. vulgaris</i> × <i>P. acutifolius</i>
Tepary 32	odolný	Tepary	

Tabulka 4 – Seznam genotypů fazolu použitých během skleníkového pokusu GH2. Meso – Mezoamerický genový pool, Intersp – mezidruhový kříženec fazolu, Tepary – fazol ostrolistý (*P. acutifolius*).

Cílem skleníkového pokusu GH2 bylo navodit u ošetřené skupiny rostlin vodní stres způsobený omezením závlivky podle již předem vypracovaného protokolu (ICRISAT, 2020), který byl vyvinutý Mezinárodním institutem pro výzkum plodin polosuchých tropů (ICRISAT – anglicky „International crops research institute for the semiarid tropics“). Tento protokol byl původně demonstrován na prosu, proto byly některé jeho parametry modifikovány pro pěstování fazolu. Během obou experimentů GH1 a GH2 byla podle protokolu měřena přesná denní transpirace jednotlivých rostlin gravimetrickou metodou vážením celých květníků se substrátem a rostlinou. Během prvních několika týdnů po vysetí byly všechny rostliny v dostatečné míře zavlažovány, 14 dní po vysetí (DAP – anglicky „days after planting“) bylo stanoveno, jakou má květník kapacitu (PC – anglicky „pot capacity“) pojmout objem vody. Bylo to zjišťováno tím způsobem, že v předvečer termínu DAP 14 byly květníky přelity a přes noc byly ponechány, aby z nich odtekla gravitačně vázaná voda a následující den (DAP 14) byly květníky zváženy. Tím byla stanovena hmotnost systému při 100% PC pro každý květník. Aby se zabránilo ztrátám vody ze substrátu evaporací, byla v tomto termínu také každá nádoba zakryta potravinářskou fólií a veškeré spáry byly zalepeny izolepou. Díky tomu bylo možné sledovat u každé rostliny přesné množství vydané vody skrze transpiraci listů. Každá jednotlivá rostlina byla spolu s květníkem v ranních hodinách zvážena, byla zaznamenána hmotnost květníku s rostlinou a dle výpočtů v protokolu jí bylo dolito potřebné množství vody. Dolévané množství se lišilo v závislosti na tom, zda rostlina patřila do skupiny kontrolní nebo skupiny s ošetřením. Tento proces snižování závlivky u ošetřené skupiny byl zahájen 17 dní po zasazení klíčících rostlin (DAP 17). Postupný nárůst biomasy rostliny byl při vážení zanedbán. Pro rostliny v kontrolní skupině byla udržována vlhkost 80 % PC a rostliny s ošetřením byly zalévány méně, aby byl pokles % PC výraznější, přičemž záměrem bylo postupně navodit stres sníženou dostupností vody.

4.2 Polní experimenty

Celkem proběhly 3 polní pokusy na fazolu – v roce 2018, 2019 a 2021 – na experimentálních polích v Mezinárodním centru pro tropické zemědělství – dříve známý pod názvem CIAT, dnes Alliance of Biodiversity International a CIAT v Palmiře (Kolumbie, Jižní Amerika). Přesné umístění experimentu bylo 3°29' severní zeměpisné šířky a 76°21' západní zeměpisné délky v nadmořské výšce 965 m. Půda experimentálních polí, podrobněji popsána ve studii autora Beebe *et al.* (2008), je mollisol bez výraznějších problémů s úrodností (pH = 7.7). Podmínky na stanovišti byly během všech polních experimentů monitorovány malou meteorologickou stanicí WatchDog 1000 Mini Station (Spectrum Technologies, Inc., Plainfield, IL), která zaznamenává teplotu okolního vzduchu a jeho vlhkost (viz Tabulka 5).

První dva experimenty (2018 – pilotní pokus a 2019 – BASE100) byly zasazeny do suchého období roku (červen-září) a třetí pokus (2021) probíhal ve vlhkém období roku (únor-květen).

Do všech tří polních experimentů byl zařazen identický výběr základních genotypů z Andského a Mezoamerického genového poolu, několik genotypů fazolu ostrolistého (*P. acutifolius*) a také několik genotypů mezidruhových kříženců fazolu. Celkem bylo použito 100 genotypů, které se mezi sebou liší svou odolností vůči abiotickému stresu (viz Tabulka 6). Ve třetím experimentu bylo použito 48 genotypů, které byly podrobněji studovány v roce 2019 (více viz kapitola 4.2.1). Experimenty

sestávaly vždy ze dvou skupin lišících se rozdílnou mírou dostupnosti vody v půdě. Obě skupiny byly identické svým složením genotypů. První skupina („kontrola“) sloužila jako kontrolní a byla ošetřena optimální mírou závlahy. Druhá skupina („sucho“) byla pěstována bez závlahy na otevřeném poli, pouze v prvních několika dnech po zahájení experimentu bylo pole zavlažováno, aby se rostliny uchytily.

Ve všech třech experimentech byl každý genotyp vyset na standardní parcelu o šesti řádcích, každý o délce 4,9 m a se vzdáleností 0,6 m mezi sebou. Okrajové řádky na obou stranách parcely sloužily pro odstínění okrajového efektu na ostatní rostliny a nebyly využity pro odběry vzorků ani pro měření. Rozložení genotypů v kontrole a suchu bylo identické, kromě pokusu v roce 2021 (BASE48), kdy z důvodu limitovaného prostoru pod mobilním přístřeškem měla suchá varianta ošetření jiné rozložení. Experimentální pole byla na okrajích ohraničena segmenty, které bránily okrajovému efektu, který by mohl ovlivnit rostliny zahrnuté do experimentu.

Všechny tři experimenty byly ošetřovány standardními agronomickými postupy včetně postřiků pesticidy a herbicidy.

	Skupina	BASE100		BASE48		
		průměr	sd	průměr	sd	
Relativní vlhkost vzduchu (%)	AM	K	49,6	8,5	49,7	4,7
		S	46,2	8,5	47,1	7,9
	PM	K	39,8	8,5	42,8	4,6
		S	37,7	8,5	37,8	7,4
Teplota vzduchu (°C)	AM	K	33,1	2,6	32,3	1,8
		S	34,4	2,6	32,4	3,0
	PM	K	36,2	2,6	34,5	1,8
		S	37,0	2,6	35,4	2,9

Tabulka 5 – Průměrné hodnoty teploty a relativní vlhkosti vzduchu během polních experimentů BASE100 a BASE48 pomocí přístroje MultispeQ. Rozdělení dle denní doby na ranní a odpolední měření a na kontrolní a suchem ošetřené skupiny. AM – dopolední měření, PM – odpolední měření, K – kontrolní skupina, S – stresovaná skupina.

Název genotypu	Odolnost vůči suchu	Genový pool	Křížení
A 55		Meso	
ALB 74	střední	Intersp	<i>P. vulgaris</i> x <i>P. coccineus</i>
ALB 88		Intersp	<i>P. vulgaris</i> x <i>P. coccineus</i>
BFS 10	odolný	Meso	
BFS 29	odolný	Meso	
BFS 142	odolný	Meso	
CAL 143	senzitivní	Andean	
CALIMA	senzitivní	Andean	
CARIOCA	senzitivní	Meso	
Colorado 1; Croissant	senzitivní	Meso	
Colorado 4; CO91212-4		Meso	
DICTA 17	senzitivní	Meso	
DOR 390	senzitivní	Meso	
FEB 226		Meso	
INB 834		Intersp	<i>P. vulgaris</i> x <i>P. acutifolius</i>
INB 837		Intersp	<i>P. vulgaris</i> x <i>P. acutifolius</i>
INB 841	odolný	Intersp	<i>P. vulgaris</i> x <i>P. acutifolius</i>
Indeterminate Jamaica Red	senzitivní	Andean	
JAMAPA	senzitivní	Meso	
NCB 280	odolný	Meso	
PR0806-84		Meso	
PR9745-232		Meso	
RCB 593	odolný	Meso	
Rosetta	senzitivní	Meso	
SAB 560	střední	Andean	
SAB 618	odolný	Andean	
SAB 659	střední	Andean	
SAB 686	odolný	Andean	
SAP 1	odolný	Andean	
SB-DT-1	odolný	Meso	
SCR 2	odolný	Meso	
SCR 9	odolný	Meso	
SEF 14		Meso	
SEF 16	odolný	Meso	
SEF 17	odolný	Meso	
SEF 60	odolný	Meso	
SEN 46	střední	Meso	
SIN 526		Meso	
SMC 143	odolný	Meso	
SXB 405	odolný	Meso	
SXB 412		Meso	
TARS-LFR1 (10IS-2423)	odolný	Meso	
Tepary 22	odolný	Tepary	
Tepary 23	odolný	Tepary	
Tepary 29	odolný	Tepary	
Tepary 32	odolný	Tepary	
TIO CANELA 75	střední	Meso	
VAX 1	senzitivní	Meso	

Tabulka 6 – Seznam vybraných 48 genotypů podrobněji analyzovaných v polních experimentech v letech 2019 a 2021. Tabulka obsahuje název genotypu, informaci o míře odolnosti genotypu vůči snížené dostupnosti vody v půdě na základě výsledků předchozích studií, do jakého genového poolu patří (Andean – Andský genový pool, Meso – Mezoamerický genový pool, Intersp – mezidruhový kříženec fazolu, Tepary – fazol ostrolistý (*P. acutifolius*)), v případě, že se jedná o mezidruhového křížence, je uvedeno, o jaké křížení se jedná.

4.2.1 Polní experiment BASE100 (rok 2019)

Polní pokus BASE100 byl proveden v termínu od července do září v roce 2019 na experimentálních polích v CIAT (Palmira, Kolumbie). Přesná poloha experimentu, informace o půdě a přesný seznam genotypů viz kapitola 4.2.

Experiment BASE100 probíhal během období sucha (červen–září) v Kolumbii. Během pokusu se teplota pohybovala v rozmezí od 24 °C do 43 °C, s průměrnou relativní vlhkostí vzduchu od 21,7 do 74 % RH (viz Tabulka 5). V dopoledních hodinách se pohybovala teplota vzduchu mezi 24–38 °C s průměrnou hodnotou 34 °C a relativní vlhkost vzduchu (RH) mezi 33 % RH a 74 % RH s průměrnou hodnotou 48 % RH. V odpoledních hodinách se teplota pohybovala mezi 26–43 °C (s průměrnou hodnotou 37 °C) a RH v rozmezí 22–68 % RH (s průměrem 39 % RH). Ve skupině bez přidané závlahy se během celého experimentu naměřily hodnoty teploty vzduchu vyšší a hodnoty relativní vlhkosti vzduchu nižší oproti kontrolní skupině, pravděpodobně kvůli omezenému evapotranspiračnímu chlazení odpařováním vody z porostu a půdy.

Kontrolní skupina byla vyseta 11. července 2019 na pole s automatizovanou závlahou. Optimální míra závlahy byla zajištěna pomocí pojízdných zavlažovacích konstrukcí umístěných nad porostem. Skupina se sníženou dostupností vody v půdě („sucho“) byla pěstována bez automatizované závlahy na otevřeném poli od 17. července 2019 a zahrnovala genotypy v identickém genotypovém složení a pořadí jako skupina kontrolní. Pole bylo zavlažováno pouze do fáze kvetení (DAP 30). Šlo tedy o aplikaci terminálního sucha, které nastupuje po odkvětu rostlin a kulminuje na konci vegetace.

Do pokusu BASE100 bylo zahrnuto 100 různých genotypů *P. vulgaris*, *P. acutifolius*, a mezidruhových kříženců vysetých ve třech repeticích v rámci každé skupiny. Na základě fyzického rozmístění genotypů v rámci pole byla vybrána jedna část, která zahrnovala 48 genotypů (viz Tabulka 6). Tento úsek byl vybrán tak, aby byl kompaktní a zahrnoval mj. Co možná nejvyšší počet genotypů fazolu ostrolistého (*P. acutifolius*, anglicky „teparty bean“). Na těchto 48 genotypech byla během pokusu prováděna hlubší analýza a podrobnější měření. Tabulka 6 obsahuje jejich výčet spolu s příslušností do genového poolu a také informaci o míře rezistence daného genotypu vůči suchu. V případě, že se jedná o mezidruhové křížence, je v tabulce také uvedeno, o jaké křížení se jedná.

Během tohoto pokusu probíhala měření odrazivosti listu z jeho adaxiální i abaxiální strany pomocí ASD FieldSpec® 4 Standard-Res Spektrometru (s rozlišením 3 nm v oblasti VNIR a 10 nm v oblasti SWIR), který byl sestaven dle popisu viz kapitola 3.2.1. Snímání celkové plochy porostu bylo provedeno přelety dronu UAV (S1000 DJI) (dron), který měl na sobě připevněnou kameru RGB (Sony Alpha 5000), multispektrální kameru (MicaSense RedEdge-MX) a termální kameru (FLIR vue pro R). Data měřená drony budou v budoucnu publikována v článkách, v této práci uvedena nejsou. Zmíněna jsou hlavně pro nastínění komplexity a šíře celého experimentálního projektu BASE100. Pro sběr dat vypovídajících o fyziologickém stavu rostlin a environmentálních podmínkách na daném stanovišti byl použit kapesní fluorimetr MultispeQ (PhotosynQ LLC, USA). Bylo také odebráno mnoho vzorků (listy) pro stanovení specifické listové plochy (SLA) ve dvou termínech v odlišné fenologické fázi rostlin a také pro analýzu relativního obsahu vody (RWC) v listech, rovněž ve dvou termínech v odlišné fenologické fázi vývoje rostlin. Přesné termíny odběrů jsou uvedeny v sekci 10. Přílohy v Tabulka 19 a Tabulka 20.

4.2.2 Polní experiment BASE48 (rok 2021)

Polní pokus BASE48 byl vysazen v roce 2021 na experimentálních polích v CIAT v Kolumbii. Přesné podrobnosti o lokalitě jsou popsány viz kapitola 4.2.

Tento pokus byl započat na přelomu suchého (prosinec–únor) a vlhkého (březen–květen) období a obzvláště v druhé polovině experimentu se počasí vyznačovalo vysokou mírou spadu srážek. Hodnoty teploty se během celého experimentu pohybovaly v ranních hodinách mezi 25–39 °C (s průměrnou hodnotou 32 °C) a RH mezi 31–66 % RH (průměr = 48 % RH). V odpoledních hodinách byly teploty mezi 26–39 °C s průměrem 35 °C a s relativní vlhkostí vzduchu od 30 % do 57 % RH (s průměrem 40 % RH). Hodnoty pro teplotu vzduchu byly u kontrolní a stresované skupiny stejné pro obě denní doby a hodnoty RH vzduchu byly dopoledne i odpoledne vyšší u kontrolní skupiny. Tento rozdíl v RH vzduchu mezi skupinami je způsoben rozdílnou dostupností vody v půdě.

Tento pokus sestával ze 48 genotypů, které byly podrobněji analyzovány v předchozím pokusu v roce 2019 (BASE100) (viz Tabulka 6) a zahrnoval dvě skupiny – kontrolní skupinu vysetou 17. února 2021 na otevřeném poli ve dvou opakováních (blok I a II – pro odběry a měření byl využit pouze blok II) a skupinu s ošetřením („sucho“). Kontrolní skupina byla zavlažována srážkami a skupina „sucho“ byla vyseta pod mobilním přístřeškem (rain shelter) 19. února 2021. Mobilní přístřešek byl ponechán zcela otevřený do 9. března 2021 (DAP18), poté se dle povětrnostních podmínek otevíral a uzavíral tak, aby se zabránilo spadu srážek na rostliny, ale aby zároveň rostliny nebyly, pokud možno, jinak ovlivněny, např. prouděním vzduchu, ozářeními atd. Také na noc byl uzavřen. Podobně jako u experimentu BASE100 v roce 2019 bylo cíleno na terminální sucho.

Design na experimentálním poli co do kontroly identický s rokem 2019 – parcela o 6 řádcích po 4,9 m s rozestupy 0,6 m, okolo speciální řádky rostlin pro odstínění okrajového efektu. V suchu pod mobilním přístřeškem bylo nutno zvolit odlišné rozložení kvůli limitovanému prostoru. Stejně genotypy jako v kontrolní skupině byly vysety do tří po sobě jdoucích bloků (I-III). Pořadí genotypů bylo v každém bloku náhodné. Jednotlivé řádky sestávaly ze tří segmentů a každý segment obsahoval rostliny jednoho genotypu. Vzdálenost mezi jednotlivými řádky byla 0,6 m.

Během pokusu BASE48 probíhala měření odrazivosti listu z obou stran (adaxiální – AD i abaxiální – AB) za použití ASD FieldSpec® 4 Standard-Res Spektrometru (s rozlišením 3 nm v oblasti VNIR a 10 nm v oblasti SWIR), jehož sestavení je podrobněji popsáno v kapitole 3.2.1. Celková plocha porostu byla snímána přelety dronem UAV (S1000 DJI). Ke dronu byly připevněny kamera RGB (Sony Alpha 5000), multispektrální kamera (MicaSense-Altum) a termální kamera (FLIR vue pro R). Kapesní fluorimetr MultispeQ (PhotosynQ LLC, USA) sloužil během experimentu ke sběru dat vypovídajících o fyziologickém stavu listu (rostliny) a environmentálních podmínkách na místě pokusu. Ve dvou termínech (viz Tabulka 21 Tabulka 22 v sekci 10. Přílohy) byly odebrány listy pro stanovení specifické listové plochy (SLA) pro všech 48 genotypů a tyto listy byly zároveň využity i pro stanovení relativního obsahu vody (RWC) v listech. V pravidelných intervalech byla sledována a zaznamenávána fenologická fáze rostlin BBCH stupnicí (viz kapitola 3.2.9). Půdní vlhkost byla měřena v průběhu celého experimentu vlhkoměrem PR2 Profile Probe (Delta-T Devices). Vlhkoměr byl zasouván do tubusů, které byly pravidelně rozmístěny v rámci experimentálního pole a dosahovaly do hloubky 0,5 m. Na poli skupiny s ošetřením byla půdní vlhkost měřena na více bodech v rámci pole (21 umístění) a také v častějších intervalech pro lepší mapování změn půdní vlhkosti. Na poli kontrolní skupiny bylo rozmístěno 12 tubusů v rámci celé plochy experimentu.

5. Zpracování dat

5.1 Hyperspektrální data

Spektrální data měřená pomocí spektrometru Fieldspec4 (viz kapitola 3.2.1) jsou hyperspektrálního charakteru. Oproti senzorům, které zaznamenávají multispektrální data (pouze vybrané pásy spektra v určitých vlnových délkách), snímají hyperspektrální senzory stovky až tisíce na sebe navazujících úzkých pásů vlnových délek. Jednotlivé hodnoty odrazivosti v určitých částech hyperspektrální křivky spolu korelují a nejsou na sobě nezávislé. Jedná se proto o multikolineární data. Tuto skutečnost je potřeba brát v úvahu při jejich analýze. Je také zapotřebí volit přístupy, které zredukovat dimenzionalitu dat, a které vyloučí nadbytečné informace v datech (Verrelst *et al.*, 2019).

Jedním z přístupů může být selekce zprůměrovaných hodnot některých pásů naměřeného spektra či výběr jednotlivých vlnových délek, které odpovídají absorpčním maximům látek obsažených v listech. Na jejich základě je následně možné vypočítat vegetační indexy (viz kapitola 2.3.2).

Dalším přístupem vyhodnocování hyperspektrálních dat mohou být různé vícerozměrných statistických analýz (Li *et al.*, 2020) jako jsou například analýza hlavních komponent (PCA – anglicky „principal component analysis“) nebo regresní metody, například v této práci použitá metoda regrese nejmenších dílčích čtverců (PLSR) (Verrelst *et al.*, 2019). Existují i další způsoby analýz (viz přehled Neuwirthová, 2022), které ale nebyly využity pro analýzu dat této práce.

5.1.1 PCA – analýza hlavních komponent

Analýza hlavních komponent (PCA) je metodou, kterou lze zredukovat dimenzionalitu vícerozměrných kolineárních dat (jako jsou např. hyperspektrální data) (Li *et al.*, 2020). PCA umožňuje také nalézt v hyperspektrálních datech základní vzorce jejich průběhu. Pro PCA byl využit software Unscrambler 11 (CAMO Analytics, Oslo, Norway) a v této práci byla použita PCA založená na NIPALS algoritmu (Esbensen *et al.*, 2018). Vstupem do PCA jsou naměřená spektra odrazivosti listu/porostu (rozsah spektra 350-2500 nm). Následně jsou v procesu analýzy vybrány ty komponenty, které nejlépe vysvětlují co největší míru variability v datech. Tyto komponenty jsou následně využity pro další analýzu. PCA je možné použít pro potvrzení či vyvrácení výchozích předpokladů o zkoumaných datech, nalézt v nich nové souvislosti a identifikovat přirozeně se vyskytující skupiny nebo vzory v datovém souboru. Ke třídění PCA výsledných grafů sloužily kategorické proměnné – kontrolní/suchem stresovaná skupina, 5 genotypů fazolu nebo termíny měření.

5.1.2 PLSR –regrese dílčích nejmenších čtverců

Modely odhadu pro vybrané biofyzikální a anatomické vlastnosti listu byly vytvořeny pomocí modelování částečnou regresí nejmenších čtverců (PLSR) (s použitím stejného NIPLAS algoritmu jako u PCA v softwaru Unscrambler 11 (CAMO Analytics, Oslo, Norway)). Vstupem pro tvorbu modelu byla celá spektra, která byla pro jednotlivé genotypy a odhadovaný parametr před modelováním zprůměrována ($n=2-3$, rozsah spektra 350-2500 nm). PLSR využívá celého spektra a transformuje je do hlavních komponent, čímž se docílí zredukování dimenzionality v hyperspektrálních datech (Boshkovski *et al.*, 2021). Je tím vytvořen nový dataset ortogonálních základních vektorů, které odpovídají největší variabilitě v původních datech. Tím se vytvoří lineární model, který se skládá z koeficientů škálovacích vlnové délky tak, aby byla transformována data celého spektra (Crusiol *et al.*, 2021). Nezávislou proměnnou vstupující do modelu jsou celá spektra. Závislou proměnnou jsou jednotlivé biofyzikální a anatomické vlastnosti listu. V některých případech bylo nutné z dat vyřadit odlehlá pozorování a PLSR modelování zopakovat. Pro konstruování modelu a jeho křížovou validaci byla data rozdělena do náhodně seskupených segmentů ($n=7-10$ vzorků na segment). Část segmentů byla vždy použita pro trénink modelu a další část pro jeho validaci.

Výsledky PLSR modelování byly posuzovány na základě nejnižšího možného dosaženého počtu komponent (vypovídá o robustnosti modelu), hodnot střední kvadratické chyby (RMSE – anglicky „root mean square error“), RMSE% (RMSE v %, která je vztažena k průměrné hodnotě rozpětí hodnot daného parametru) a koeficientu determinace (R^2). Pro výpočet RMSE% bylo nejprve vypočítáno rozpětí mezi minimem a maximem modelovaného parametru (od maximální hodnoty byla odečtena minimální hodnota). Tato hodnota sloužila jako 100 % pro následný výpočet RMSE% na základě hodnoty RMSE modelu pro hodnotu daného parametru. Oproti RMSE, která je v jednotkách modelovaného parametru je RMSE% v procentech. Díky tomu je možné porovnat RMSE% i mezi parametry, jejichž hodnoty nejsou ve stejných jednotkách. Vyhodnocení funkčnosti modelů bylo provedeno na základě výše popsaných parametrů – RMSE, RMSE%, R^2 a počtu faktorů vysvětlujících variabilitu v modelovaných parametrech. Odlehlé hodnoty a homogenita spektrálních dat byly posuzovány na základě váhy konkrétního vzorku v modelu a Hotellingova T^2 testu. V případě GH2 skleníkového experimentu byly modelovány biofyzikální vlastnosti (obsah pigmentů v listech – chlorofyl *a* a *b*, celkový obsah chlorofylu, karotenoidů, poměr karotenoidů a chlorofylu, dále RWC a SLA) a také anatomické vlastnosti listu (tloušťka listu a jeho jednotlivých vrstev). U polních experimentů byly odebrány vzorky pro RWC a SLA, jejichž odhad byl modelován pomocí PLSR.

5.2 Biofyzikální a strukturální znaky listu – analýza rozptylu

Bylo provedeno statistické porovnání vybraných biochemických, biofyzikálních a strukturálních vlastností listu (obsah chlorofylu *a+b*, obsah karotenoidů, anatomické parametry listu –tloušťka příčného řezu listem a tloušťky dílčích částí pletiv na řezu, SLA a RWC). Pro tento účel byl využit software R, v němž byla data testována pomocí vícefaktorové analýzy rozptylu (ANOVA test). V případě GH2 experimentu, kdy byly opakovaně měřeny parametry stejné rostliny, byl použit pro analýzu dat hierarchický ANOVA test. Ten se aplikuje v případech, kdy alespoň jeden z faktorů je

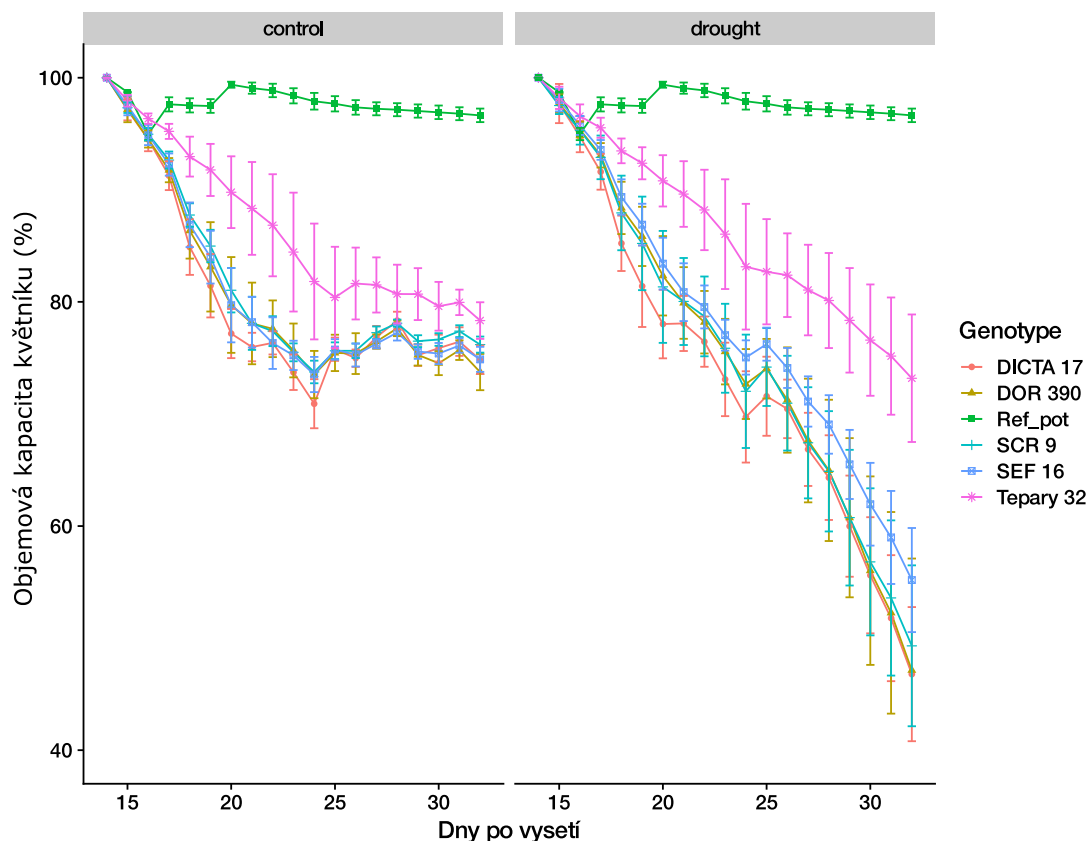
podřízený jinému faktoru, tedy kdy jeden model je podskupinou jiného. V případě dat z GH2 se v jednotlivých termínech opakovaně měřily stejné rostliny náležící ke stejnému genotypu. U faktorů, které se ukázaly jako signifikantní, byl dále testován rozdíl mezi skupinami (genotypy, ošetření) pomocí vícenásobných srovnávacích testů. V případě normálního rozdělení byl aplikován Tukey–Kramerův vícenásobný srovnávací test. Pokud se jednalo o nenormální rozdělení, byl použit Wilcoxonův test. Ve všech grafech, kde byly srovnávány genotypy v případě, že vícenásobný srovnávací test vyhodnotil, že jsou mezi genotypy rozdíly, byly od sebe navzájem se lišící genotypy odlišeny rozdílnými písmeny. V případě nesignifikantních rozdílů nebylo kódování písmeny využito. Rozdíly byly vyhodnoceny jako signifikantní na hladině $\alpha = 0,05$.

6. Výsledky

6.1 GH2 – skleníkový pokus s postupným vysycháním substrátu a navozením vodního stresu

6.1.1 Navození vodního stresu – průběh obsahu vody v substrátu

Ve skleníkovém pokusu bylo cílem testovat reakci pěti vybraných genotypů fazolu obecného na sníženou dostupnost vody v substrátu. Tento stres měl být navozen u stresované skupiny postupným snižováním závlivky, které mělo za výsledek postupné vysychání substrátu. Kontrolní skupině byla udržována konstantní míra vláh (80 % PC) doléváním vody v míře, která kompenzovala ztráty vody transpirací. Obrázek 10 ukazuje průběh průměrných hodnot (a směrodatné odchylky) obsahu vody v procentech objemové kapacity květníku (PC) pro jednotlivé genotypy. Obrázek je rozdělený na dvě části podle skupin. Hodnoty obsahu vody v květnících kontrolní skupiny se podařilo podle plánu udržovat v rozmezí mezi 70-80 % PC. Hodnoty % PC suchem ošetřené skupiny ke konci experimentu poklesly u všech genotypů kromě Tepary 32 pod hodnotu 60 % PC. U genotypu Tepary 32 se hodnota PC na konci experimentu pohybovala ve srovnatelné hodnotě, v jaké byla udržována kontrolní skupina (okolo 75 %). To bylo zapříčiněno nízkou mírou transpirace listů (Tepary 32 má malé listy s malou LA). Transpirace listů byla jedinou cestou ztrát vody ze substrátu. Květníky označené „Pot_reference“ obsahovaly pouze samotný substrát zakrytý potravinářskou fólií. Sloužily pro monitorování odparu vody ze substrátu. Z naměřených dat je vidět, že použití potravinářské fólie bylo efektivní zábranou odparu vody. U skupiny s omezenou závlivkou sice docházelo k poklesu obsahu vody v substrátu, ale rychlost poklesu obsahu vody v květníku nebyla dostatečná pro vyvolání vodního stresu v rámci doby průběhu experimentu. Ve studii autora Rosales *et al.* (2012), kde byl fazol vystaven vodnímu stresu, se hodnoty nasycenosti substrátu vodou pohybovaly okolo 30 % FC u stresované skupiny. Proto lze usuzovat, že rostliny v experimentu GH2 z ošetřené skupiny nebyly vystaveny dostatečně silnému vodnímu deficitu po dostatečně dlouhou dobu. To mohlo mít za důsledek, že nebyly pozorovatelné změny v parametrech, které na rostlinách byly měřeny. Bohužel z důvodu omezeného prostoru ve skleníku a rychlého růstu rostlin (což komplikovalo bezpečnou manipulaci) nebylo možné pokus prodlužovat. Proto již nemohlo být dosaženo výraznějšího stresu suchem u ošetřené skupiny. Tyto skutečnosti pravděpodobně způsobily, že výsledky analýz dat z pokusu GH2 ukazují nesignifikantní rozdíly mezi kontrolní a stresovanou skupinou.

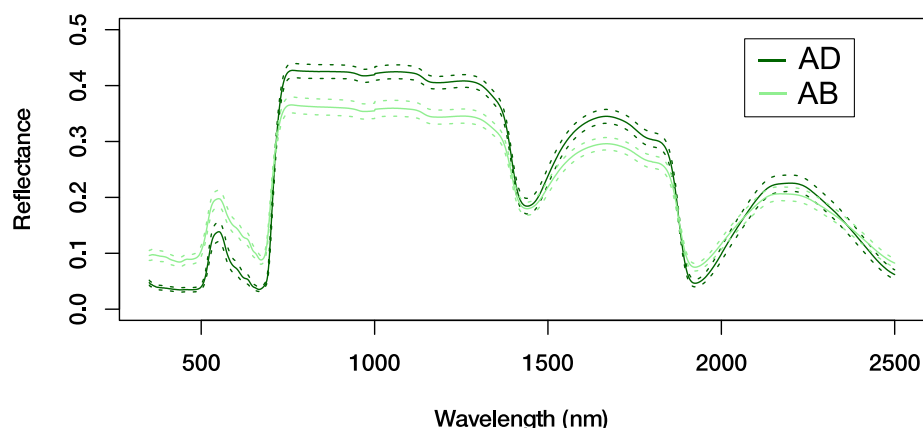


Obrázek 10 – Průběh obsahu vody během dnů po vysetí v procentech objemové kapacity květníku (PC) u jednotlivých genotypů v průběhu experimentu GH2, rozdělení do dvou grafů dle skupiny: levý obrázek (control) – kontrolní skupina; pravý obrázek (drought) – skupina s omezenou závlivkou; DICTA 17, DOR 390, SCR 9, SEF 16, Tepary 32 – názvy genotypů; Pot_reference – kontrolní nádoba se substrátem, n = 6-10.

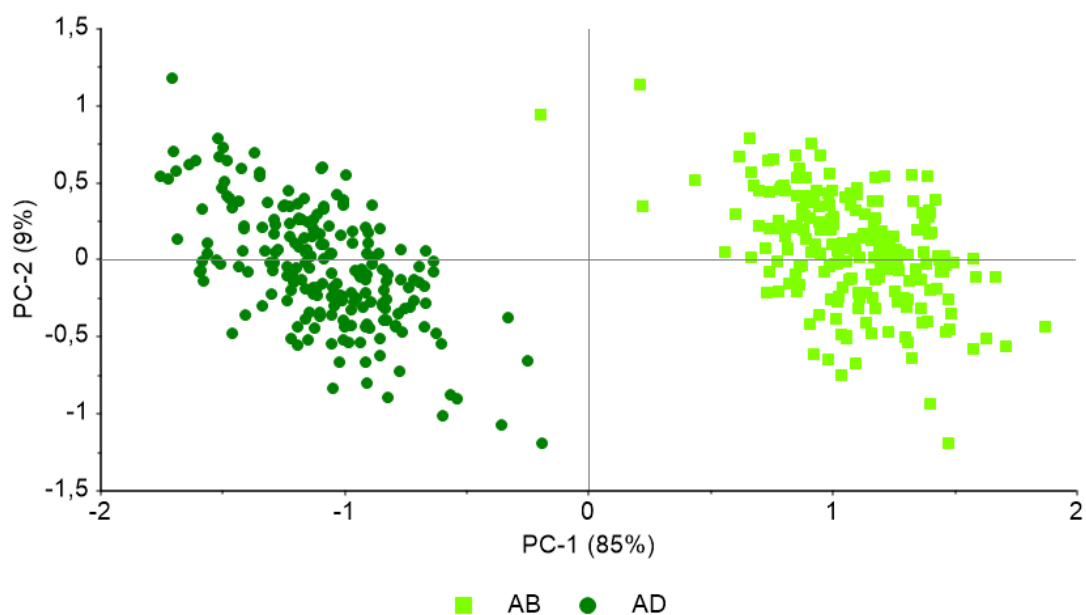
6.1.2 PCA spektrálních dat z experimentu GH2

Během skleníkového experimentu GH2 byla v několika termínech vyjádřených jako počet dní po vysetí (DAP 19, DAP 23 a DAP 32) provedena měření hyperspektrální reflektance listů. Naměřená data byla analyzována pomocí PCA podle postupu popsáném v kapitole 5.1.1.. Na Obrázek 11 je zobrazena vizualizace průměrné vegetační křivky odrazivosti ze skleníkového experimentu GH2 pro abaxiální a adaxiální stranu spolu se směrodatnými odchylkami. Je zřetelně viditelný rozdíl mezi AD a AB stranou listu téměř v celém rozsahu spektra (350-2500 nm). Abaxiální strana odráží záření ve viditelném spektru více než strana adaxiální, ale ve zbylých částech spektra (NIR a SWIR) má naopak adaxiální strana větší míru reflektance. Tyto rozdíly v odrazivosti AD a AB stran se projeví i při aplikaci PCA na hyperspektrální data (viz Obrázek 12). Po barevném rozlišení bodů reprezentujících měřená spektra jednotlivých stran je vidět oddělení vzorků do dvou seskupení. Strany listu lze tedy odlišit na základě spektrálních dat. První komponenta (PC-1) vysvětluje až 85 % variability v datech a druhá komponenta (PC-2) vysvětluje 9 % zbylé variability, spolu tak dosahují vysvětlení 94 % variability. Z důvodu shlukování jednotlivých vzorků (spekter) na základě měřené strany listu byly následně veškeré PCA provedeny zvlášť pro adaxiální a pro abaxiální stranu.

GH2 experiment



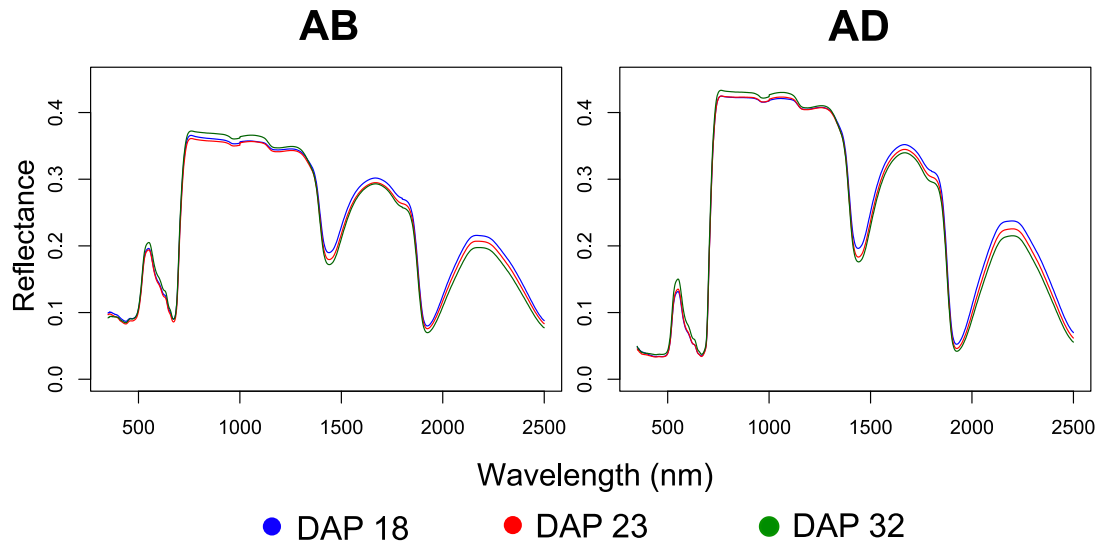
Obrázek 11 – Průměrná křivka odrazivosti ze všech naměřených spekter skleníkového experimentu GH2. Rozdělení dle měřené strany listu (AD nebo AB). Reflectance – odrazivost listu, Wavelength (nm) – vlnová délka v nm, AD – adaxiální strana listu, AB – abaxiální strana listu. Plná čára odpovídá průměrné hodnotě odrazivosti v celé délce měřeného spektra, přerušované čáry odpovídají \pm směrodatné odchylce reflektance ve všech vlnových délkách. Obě ošetření a všechny genotypy dohromady, $n = 413$.



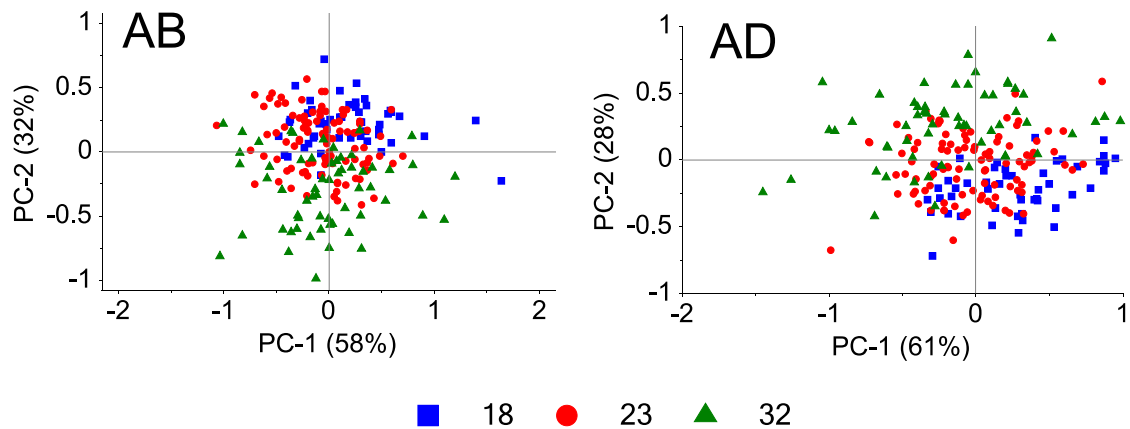
Obrázek 12 – Analýza hlavních komponent (PCA) s použitím všech spekter (v rozsahu 350-2500 nm) měřených během GH2 skleníkového pokusu (DAP – dny po vysetí – 18, 23, 32). AB – abaxiální strana listu, AD – adaxiální strana listu; PC (principal component) – hlavní komponenta, DAP (days after planting) – dny po vysetí. Obě ošetření a všechny genotypy dohromady, $n = 413$.

Dalším krokem bylo vyhodnocení vlivu stáří rostlin na odrazivost listu. Bylo provedeno srovnání spekter v závislosti na termínu měření – pro spektra AD i AB strany listu zvlášť. Již při vizualizaci spektrálních křivek (viz Obrázek 13) pro jednotlivé termíny bylo vidět jak u AD, tak u AB strany listu, že mezi reflektancemi jednotlivých termínů existují mírné rozdíly. Tento mírný posun ve spektrální informaci potvrdila i PCA, která ukázala, že se naměřená spektra v různých termínech (DAP) od sebe navzájem mírně liší – body odpovídající měření různě starých rostlin vytvářely shluky, které se částečně překrývaly. Tento posun v odrazivosti pro jednotlivé DAP je zřejmý jak z AB, tak i z AD strany listu. Nejedná se však o efekt způsobený postupným vývojem měřeného listu, protože pro všechny tři termíny (DAP 18, 23 i 32) byl vždy zvolen nejmladší, avšak plně vyvinutý list na rostlině. Nejčastěji se jednalo o 2. – 3. list od vzrostného vrcholu rostliny. Je proto možné předpokládat, že v rostlině dochází během

jejího vývoje ke změnám, které jsou detekovatelné v optických vlastnostech listu. Tento posun spektrální informace je měřitelný nezávisle na straně listu. U jednotlivých stran listu se sice mírně liší podíl vysvětlené variability v datech první a druhou komponentou (viz Obrázek 14), ale jejich společná výsledná hodnota se u AB a AD strany výrazně neliší (AB 90 % a AD 89 %).



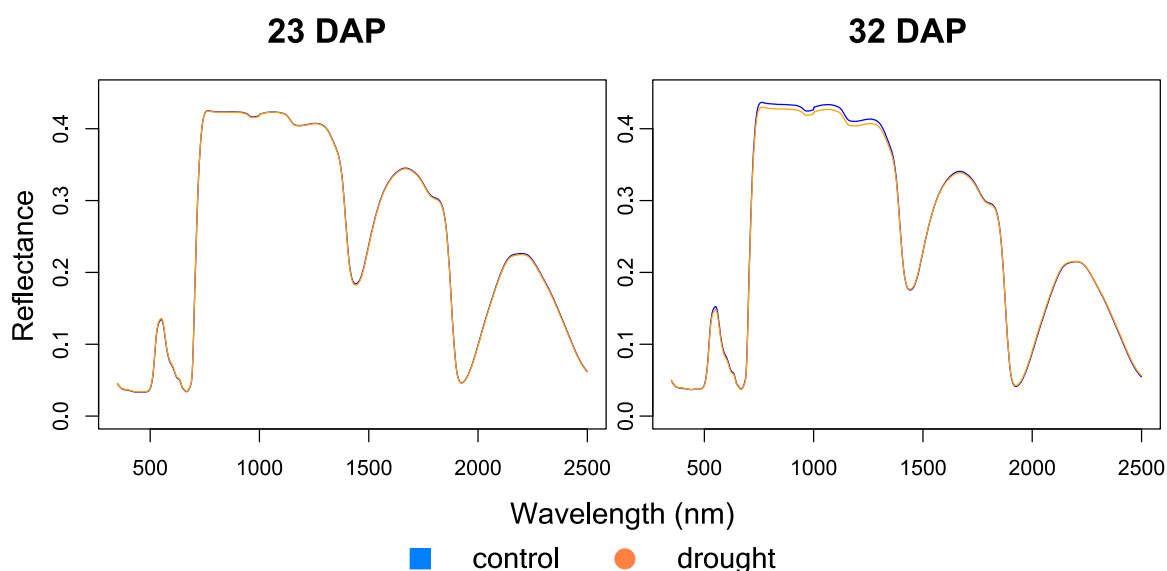
Obrázek 13 – Průměrná křivka odrazivosti ze všech naměřených spekter skleníkového experimentu GH2, rozdělení dle termínu měření (DAP – dny po vysetí – 18, 23, 32) a dle měřené strany listu (AD nebo AB). Reflectance – odrazivost listu, Wavelength (nm) – vlnová délka v nm, AD – adaxiální strana listu, AB – abaxiální strana listu. Plná čára odpovídá průměrné hodnotě odrazivosti v celé délce měřeného spektra. Obě ošetření a všechny genotypy dohromady, $n(AB) = 207$, $n(AD) = 205$.



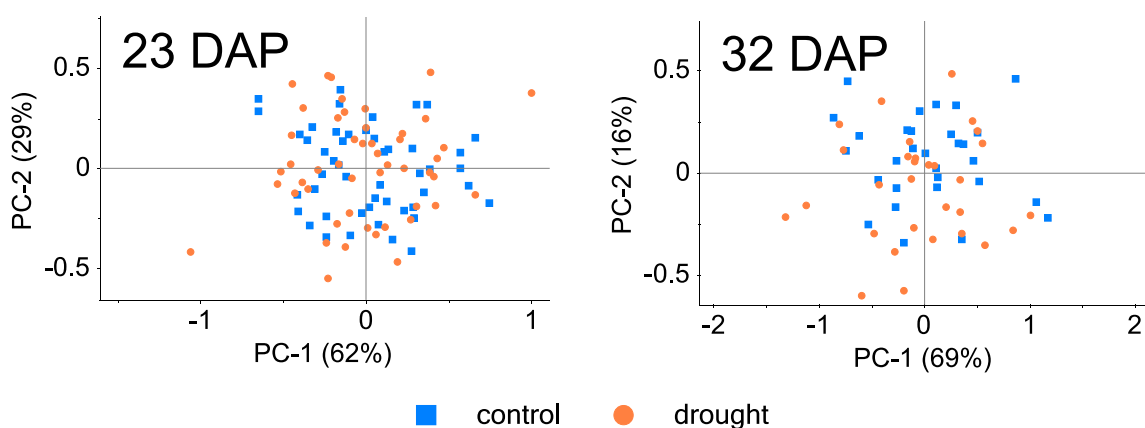
Obrázek 14 – Analýza hlavních komponent (PCA) s použitím všech spekter (v rozsahu 350-2500 nm) měřených během GH2 skleníkového pokusu ve třech termínech (DAP – dny po vysetí – 18, 23, 32). Spektra pro AB a AD stranu listu zvlášť. Termíny: 18 – DAP 18; 23 – DAP 23; 32 – DAP 32; AB – abaxiální strana listu, AD – adaxiální strana listu, DAP (days after planting) – dny po vysetí, PC (principal component) – hlavní komponenta; $n(AB) = 207$, $n(AD) = 205$.

Veškeré následné analýzy byly provedeny na spektrech pro spektra měřená na každé straně listu zvlášť. Vzhledem k tomu, že výsledky analýz obou stran se vzájemně výrazně nelišily a byly srovnatelné, jsou dále prezentovány a diskutovány výsledky PCA provedených na spektrálních datech AD strany listů. Vizualizace spekter jednotlivých skupin (kontrolní a stresované) pro každý termín měření zvlášť ukázala, že rozdíl mezi skupinami v termínu DAP 23 není viditelný a v termínu DAP 32 je vidět rozdíl pouze v rozmezí spektra od 700 až 1300 nm (viz Obrázek 15). Graf PCA jednotlivých DAP (viz Obrázek 16) neodhalil žádné tendence seskupování vzorků kontrolní ani suchem ošetřené skupiny.

PCA termínu DAP 18 (před započítáním omezení závlivky) sloužilo jako ověření, že do experimentu vstupují homogenní skupiny rostlin. Výsledky PCA tomuto předpokladu odpovídaly (PC-1 vysvětlila 77 % variability a PC-2 14 %). Tento Obrázek 55 je k nahlédnutí v sekci 10. Přílohy. V PCA spekter měřených v následujících dvou termínech nebylo vidět žádné odlišení skupin na základě rozdílné závlivky. Rozmístění vzorků obou skupin je homogenní. To může být způsobeno tím, že v GH2 se nepodařilo vytvořit podmínky dostatečně silného vodního stresu pro stresovanou skupinu. Přestože spolu PC-1 a PC-2 vysvětlují u DAP 23 celkem 91 % a u DAP 32 celkem 85 % variability v datech, nejedná se o variabilitu, která by vznikla na základě rozdílnosti způsobené stresem sucha. Stejná nulová reakce na snížený obsah vody byla pozorovatelná i u spekter měřených na AB straně listu.



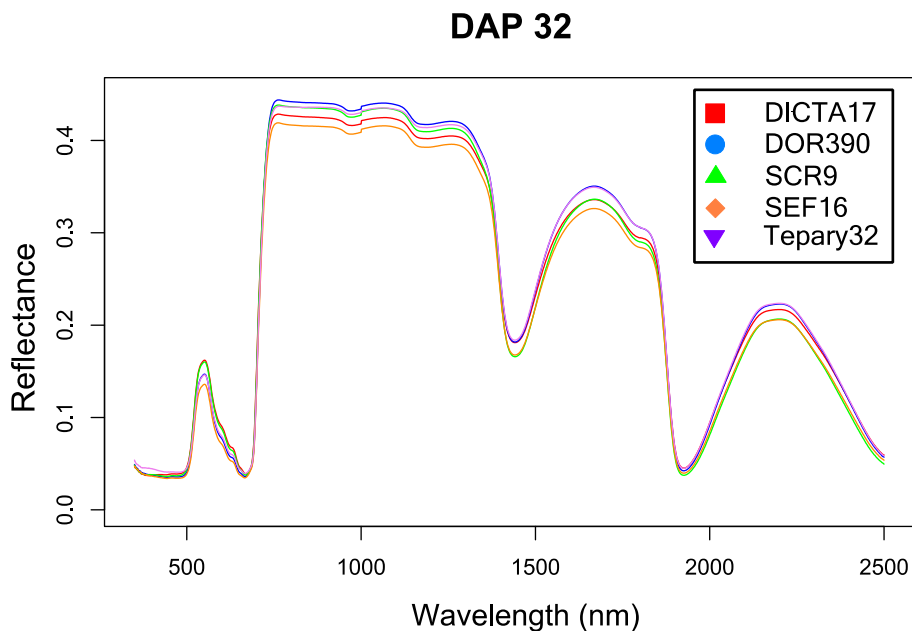
Obrázek 15 – Průměrná křivka odrazivosti měřených na adaxiální straně listu ve dvou termínech po vysetí (DAP 23 a DAP 32) během skleníkového experimentu GH2. DAP (days after planting) – dny po vysetí, Reflectance – odrazivost listu, Wavelength (nm) – vlnová délka v nm, control – kontrolní skupina, drought – skupina s omezenou závlivkou; n (DAP 23) = 98, n (DAP 32) = 60.



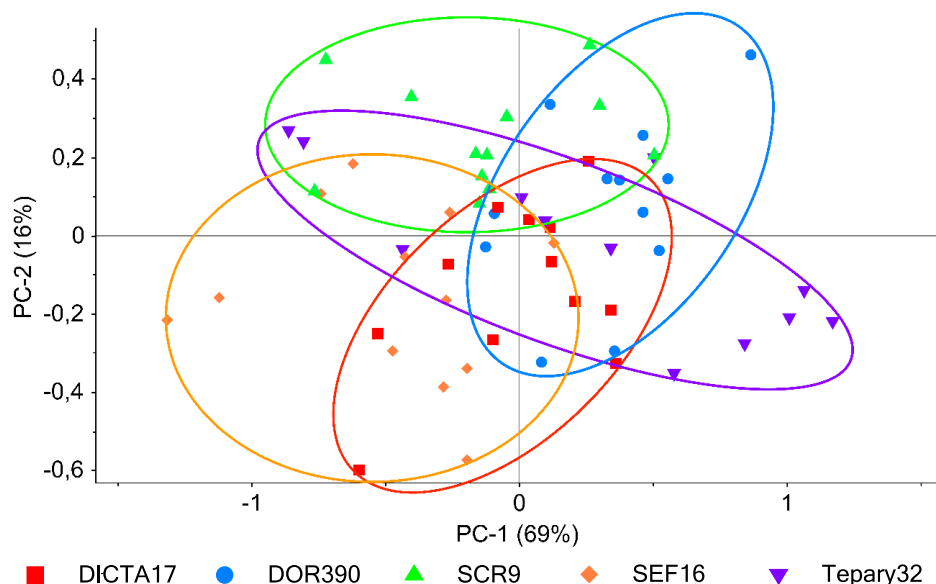
Obrázek 16 – Analýza hlavních komponent (PCA) spektrálních dat měřených na adaxiální straně listu během pokusu GH2 ze dvou termínů – DAP 23 a DAP 32; DAP (days after planting) – dny po vysetí, control – kontrolní skupina; drought – skupina ošetřena suchem, PC (principal component) – hlavní komponenta; n (23 DAP) = 98, n (32 DAP) = 60.

Na spektrech byla provedena analýza PCA i pro srovnání optických vlastností jednotlivých genotypů. Pro výchozí situaci v DAP 18 nebyly pozorovatelné žádné výrazné rozdíly mezi genotypy, situace zůstala podobná i v termínu DAP 23 (pět dní s omezenou závlivkou) – Obrázek 56 v sekci Přílohy. Až

u dat z DAP 32 (viz Obrázek 18) byl pozorovatelný náznak rozdělení genotypů do skupení. Přestože se nejedná o jasné klastrování genotypů na základě spektrální informace, lze z výsledku PCA posledního měřeného termínu (DAP 32) usuzovat, že některé kontrastnější genotypy je možné odlišit na základě odrazivosti listu. Pro vizualizaci těchto rozdílů ve spektrální křivce byl vytvořen Obrázek 17, na kterém je jasné vidět, že rozdíly v odrazivosti listů mezi genotypy jsou přítomné.



Obrázek 17 – Průměrná křivka odrazivosti ze spekter měřených na adaxiální straně listu během skleníkového experimentu GH2 v termínu DAP 32. Reflectance – odrazivost listu, Wavelength (nm) – vlnová délka v nm, DAP (days after planting) – dny po vysetí, DICTA 17, DOR 390, SCR 9, SEF 16, Tepary 32 – názvy genotypů, $n = 60$.



Obrázek 18 – Analýza hlavních komponent (PCA) spektrálních dat měřených na adaxiální straně listu během skleníkového experimentu GH2 v termínu DAP 32. Barevné rozdělení skupin dle genotypu. DICTA 17, DOR 390, SCR 9, SEF 16, Tepary 32 – názvy genotypů, DAP (days after planting) – dny po vysetí, PC (principal component) – hlavní komponenta; Barevné elipsy sdružují body náležící jednomu genotypu a slouží pro jasnější vizualizaci seskupování genotypů. $N = 60$.

6.1.3 PLSR modelování dat z experimentu GH2

Pro PLSR modelování byla použita spektrální data ze všech termínů měření. V případě anatomických parametrů a fotosyntetických pigmentů byla spektrální data použita pro PLSR ze všech termínů dohromady. Pro modelování odhadu RWC a SLA byl model odhadu vytvořen odděleně pro DAP 23 i DAP 32. Z důvodu pravděpodobné chyby v procesu zpracování vzorků pro RWC v termínu DAP 32 byly výsledky PLSR modelu v tomto termínu pro RWC zcela vyřazeny. Je zde prezentován model z termínu DAP 23, kdy je předpokládána bezchybnost měření. Pro tvorbu všech PLSR modelů byla použita spektrální data bez předchozího průměrování – pro každou naměřenou spektrální křivku v daném termínu byla přiřazena hodnota biofyzikálního nebo anatomického parametru téže rostliny ze stejného termínu. Výsledky trénování a validace modelu (R^2 , RMSE a RMSE%) jsou k nahlédnutí v Tabulka 7 a v Tabulka 8. Levá strana obou tabulek obsahuje kalibraci a validaci PLSR modelů pro spektrální data z AD strany listů a pravá strana modely dělané na základě spekter z AB strany listů. Sloupce obsahují: DAP (termín odběru vzorků z listu), Faktory (počet komponent využitých pro tvorbu modelu), RMSE (střední kvadratickou chybu), RMSE% (střední kvadratickou chybu vztaženou k průměrné hodnotě parametru) a R^2 (koeficient determinace). Tyto výsledky jsou zobrazeny jak pro kalibraci, tak pro validaci modelu.

Ze všech modelovaných parametrů nejlépe fungovaly modely pro odhad obsahu chlorofylu, kdy pro celkový obsah chlorofylu a pro chlorofyl *a* i *b* dosahoval R^2 hodnot 0,66-0,8. Rozdíl hodnot R^2 mezi AD a AB stranou je zanedbatelný, spektrální informace z obou stran sloužila pro odhad obsahu chlorofylu velmi obstojně v obou případech. Model odhadu karotenoidů měl hodnoty R^2 v rozmezí 0,38-0,46 a i v tomto případě strana listu nezpůsobovala výrazné rozdíly výsledných hodnot, přestože ve většině případů si model vedl o trochu lépe, když do modelu vstupovala spektra měřená na AD straně listu. Tento rozdíl je však zanedbatelný.

Model odhadu RWC pro termín měření DAP 25 dosahoval hodnot $R^2 = 0,06-0,21$. Strana listu na odhad modelů neměla výrazný vliv, přestože výsledky většiny modelů z AB strany dosahovaly mírně vyšších hodnot R^2 .

V případě SLA model odhadu vylepšilo oddělení měření na jednotlivé termíny. Po odstranění odlehklých hodnot dosahovaly výsledky R^2 hodnot 0,41-0,73 v termínu DAP 25. Oproti tomu výsledky PLSR modelu pro termín DAP 32 byly velmi nízké jak pro AD stranu ($R^2 = 0,04$ nebo se model vůbec nepodařilo natrénovat), tak pro AB stranu ($R^2 = 0,14-0,33$). Na model odhadu SLA měla mírný vliv strana listu – spektra měřená na AB straně byla pro odhad PLSR modelem lepší vstupní informací. Jedním z relativně úspěšných PLSR modelů odhadu anatomických parametrů listu byl model odhadu celkové tloušťky listu, kdy jak z AD, tak z AB spektrálních dat vycházely podobné hodnoty R^2 (0,33-0,6). Relativně vysoké hodnoty R^2 vyšly i pro kalibraci odhadu tloušťky palisádového parenchymu ($R^2 = 0,63$ a 0,50) a výrazně lépe se dal odhad tohoto parametru modelovat pomocí spekter z AD strany listu. Naproti tomu pro houbovitý parenchym měly vyšší R^2 modely trénované na spektrálních datech měřených na AB straně listu ($R^2 = 0,14-0,47$). Nejnižší hodnoty R^2 vyšly pro odhad tloušťky svrchní pokožky, a to nezávisle na měřené straně listu ($R^2 = 0,07-0,2$). U spodní pokožky se závislost na měřené straně listu projevila. V případě AD strany bylo R^2 v rozmezí 0,12-0,37 a u AB strany nabýval R^2 hodnot 0,24-0,52. Pravděpodobně to bude způsobeno tím, že spodní pokožka je blíže k senzoru spektrometru při měření AB strany listu, a tím může být spektrální informace přesnější pro odhad tloušťky spodní pokožky. Zda je pro odhad anatomických parametrů vhodnější použít spektrální data z AD nebo z AB strany listu nelze z výsledků tohoto experimentu jednoznačně určit.

AD											AB								
DAP	Bez odlehlých hodnot		Faktory	n	Kalibrace			Validace			Bez odlehlých hodnot	Faktory	n	Kalibrace			Validace		
					RMSE	RMSE%	R ²	RMSE	RMSE%	R ²				RMSE	RMSE%	R ²	RMSE	RMSE%	R ²
Biofyzikální parametry listu																			
Chlorofyl a	vše	bOH	7	203	1.17	8.80	0.80	1.43	10.73	0.69	bOH	4	206	1.42	10.65	0.68	1.47	11.08	0.66
Chlorofyl a+b	vše		7	204	1.79	10.07	0.73	1.99	11.20	0.67		4	206	1.89	10.60	0.71	1.94	10.92	0.70
Chlorofyl b	vše	bOH	7	200	0.49	9.83	0.74	0.55	11.01	0.68	bOH	4	204	0.53	10.65	0.71	0.56	11.07	0.69
Karotenoidy	vše	bOH	4	203	0.27	13.22	0.46	0.28	13.76	0.43	bOH	4	205	0.29	13.83	0.43	0.31	14.61	0.38
Poměr karotenoidů chlorofylu	a	vše	4	203	0.02	13.71	0.19	0.02	14.36	0.12	bOH	4	207	0.02	13.97	0.20	0.02	14.53	0.14
RWC	25	bOH	2	36	2.24	21.48	0.14	2.37	22.72	0.06	bOH	3	36	2.15	20.57	0.21	2.35	22.53	0.10
SLA	vše	bOH	3	93	10.03	19.22	0.08	10.36	19.85	0.04	bOH	5	94	8.64	16.55	0.31	9.92	19.02	0.12
SLA	25	bOH	4	35	6.17	15.51	0.65	8.27	20.77	0.41	bOH	4	35	5.42	13.63	0.73	7.24	18.20	0.53
SLA	32	bOH	4	57	9.24	19.42	0.04	9.96	20.93	NA	bOH	4	58	8.38	17.62	0.33	9.69	20.37	0.14

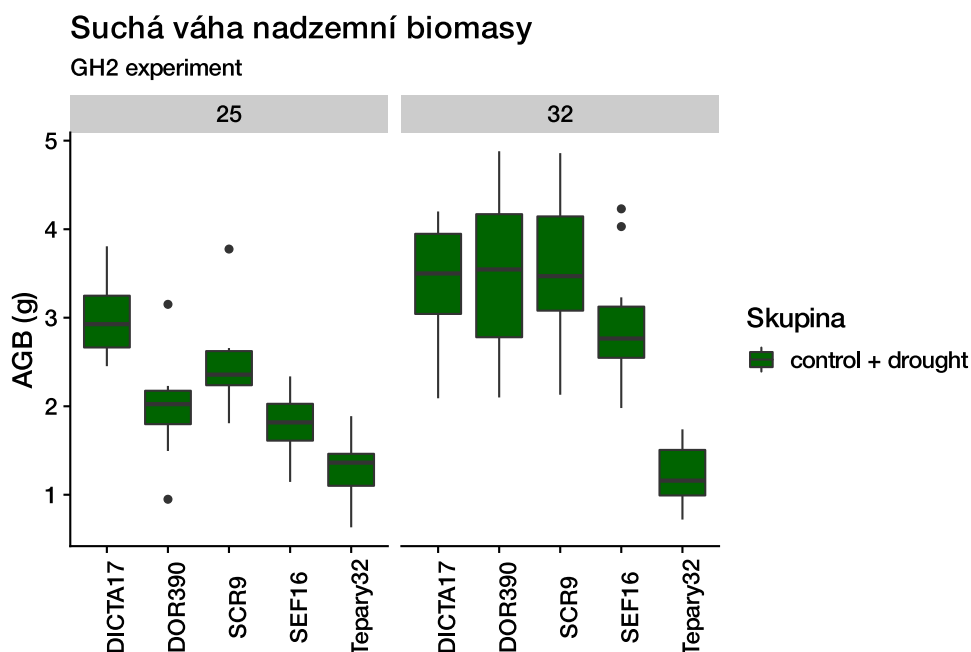
Tabulka 7 – Výsledky PLSR (partial least squares regression) modelování, data ze skleníkového experimentu GH2. Vstupy pro tvorbu PLSR modelu byla neprůměrovaná spektrální data a biochemické vlastnosti obou stran listů (AB a AD strany odděleně) – kontrolní i suchem stresované skupiny byly modelovány dohromady, AD – adaxiální strana listu; AB – abaxiální strana listu; DAP (days after planting) – dny po vysetí, RWC (relative water content) – relativní obsah vody v listu, SLA (specific leaf area) – specifická listová plocha, Faktory – počet faktorů, které byly použity pro tvorbu PLSR modelu, bOH – do modelu vstupovala data bez odlehlých pozorování, n – počet vzorků vstupujících do modelu, RMSE – střední kvadratická chyba, RMSE% – střední kvadratická chyba v procentech, R² – koeficient determinace.

	AD									AB									
	DAP	Bez odlehlých hodnot	Faktory	n	Kalibrace			Validace			Bez odlehlých hodnot	Faktory	n	Kalibrace			Validace		
					RMSE	RMSE%	R ²	RMSE	RMSE%	R ²				RMSE	RMSE%	R ²	RMSE	RMSE%	R ²
Anatomické parametry listu																			
Celková tloušťka listu	vše	bOH	4	58	8.70	16.10	0.52	9.92	18.37	0.39	bOH	6	58	7.61	14.09	0.60	10.32	19.10	0.33
Houbovitý parenchym	vše	bOH	4	59	5.82	18.74	0.35	6.60	21.24	0.20	bOH	6	57	5.28	17.02	0.47	6.84	22.03	0.14
Palisádový parenchym	vše	bOH	5	58	2.82	11.31	0.63	3.44	13.79	0.44	bOH	5	58	3.27	13.11	0.50	4.32	17.32	0.18
Podíl mezibuněčných prostor	vše	bOH	5	57	0.05	14.29	0.41	0.07	18.47	0.08	bOH	3	57	0.06	16.49	0.31	0.07	17.92	0.19
Spodní pokožka	vše	bOH	4	57	1.16	19.74	0.37	1.42	24.08	0.12	bOH	7	57	0.98	16.56	0.52	1.24	20.97	0.24
Svrchní pokožka	vše	bOH	2	59	1.40	21.00	0.17	1.53	22.93	0.09	bOH	4	57	1.35	20.25	0.20	1.47	22.07	0.07

Tabulka 8 – Výsledky PLSR (partial least squares regression) modelování, data ze skleníkového experimentu GH2. Vstupy pro tvorbu PLSR modelu byla neprůměrovaná spektrální data a anatomické vlastnosti obou stran listů (AB a AD strany odděleně) – kontrolní i suchem stresované skupiny byly modelovány dohromady, AD – adaxiální strana listu; AB – abaxiální strana listu; DAP (days after planting) – dny po vysetí, bOH – do modelu vstupovala data bez odlehlých pozorování, Faktory – počet faktorů, které byly použity pro tvorbu modelu, n – počet vzorků vstupujících do modelu, RMSE – střední kvadratická chyba, RMSE% – střední kvadratická chyba v procentech, R² – koeficient determinace.

6.1.4 Lineární regrese suché nadzemní biomasy a vegetačních indexů

Během skleníkového experimentu GH2 byly celkem ve 3 termínech sklizeny od každého genotypu rostliny, pro které byla stanovena hmotnost suché biomasy nadzemní části (AGB – anglicky „above ground biomass“). Tyto odběry proběhly v termínech DAP 14, DAP 25 a DAP 32. Graf s hodnotami AGB pro termíny DAP 25 a 32 je na Obrázek 19. Hodnoty AGB byly použity pro lineární regresi s VIs, které byly vypočítány ze spekter vždy pro konkrétní rostlinu. Lineární regrese byla provedena zvlášť se spektry naměřenými na AD a na AB straně listu. AGB ze sklizně v termínu DAP 25 byla korelována se spektry měřenými v DAP 23 a v termínu DAP 32 byla pořízena jak spektrální data, tak i hodnoty AGB. Výběr VIs, se kterými byla AGB korelována, je sestaven na základě multispektrálních dat měřených v polních experimentech senzorem umístěným na UAV (viz kapitola 3.2.2), ze kterých se VIs počítají. Stejně VIs byly použity pro analýzu dat v polních experimentech. Kontrolní a stresovaná skupina nebyla pro lineární regresi oddělována (vzhledem k výsledkům průběhu obsahu vody v substrátech obou skupin viz kapitola 6.1.1). V ošetřené skupině nebyl dosažen dostatečný pokles obsahu vody pro navození stresu suchem. Výsledky lineárních regresí s nejvyššími dosaženými hodnotami R^2 jsou prezentovány v Tabulka 9, která obsahuje výsledky těch lineárních regresí, kdy R^2 byl vyšší než 0,4. V termínech DAP 23 a 32 byla AGB data korelována přímo se spektry konkrétní rostliny. Větší zastoupení výsledků R^2 pro AB stranu v Tabulka 9 poukazuje na to, že lineární regrese AGB a VIs lépe fungovala pro odrazivost listu měřenou na jeho AB straně.



Obrázek 19 – Hmotnost suché nadzemní biomasy pro jednotlivé genotypy skleníkového experimentu GH2 ve dvou termínech odběrů: 25 – DAP 25; 32 – DAP 32; DAP (days after planting) – dny po vysetí; AGB (above ground biomass) – suchá biomasa nadzemní části rostliny; control – kontrolní skupina; drought – skupina ošetřena suchem; názvy genotypů – DICTA 17, DOR 390, SCR9, SEF16, Tepary 32; $n(25) = 38$, $n(32) = 60$;

Rozdíly byly testovány vícefaktorovým ANOVA testem a nebyly shledány signifikantní. Horizontální přímka v boxech značí medián, střední krabicová část je shora ohraničena 3. kvartilem, zespodu 1. kvartilem. Vertikální úsečky vyjadřují variabilitu dat pod prvním a nad třetím kvartilem. Tečky slouží pro zobrazení odlehlých hodnot.

Experiment	Závislá proměnná	Termín měření spekter	Strana listu	VI	R ²
GH2	AGB	DAP 23	AB	GNDVI	0,58
GH2	AGB	DAP 23	AB	NDVI	0,52
GH2	AGB	DAP 23	AB	BNDVI	0,46
GH2	AGB	DAP 23	AB	NDRE	0,44
GH2	AGB	DAP 23	AB	NDREI	0,43
GH2	AGB	DAP 32	AD	NDVI	0,55
GH2	AGB	DAP 32	AD	BNDVI	0,42
GH2	AGB	DAP 32	AB	NDRE	0,40
GH2	AGB	DAP 32	AD	NDVI	0,40

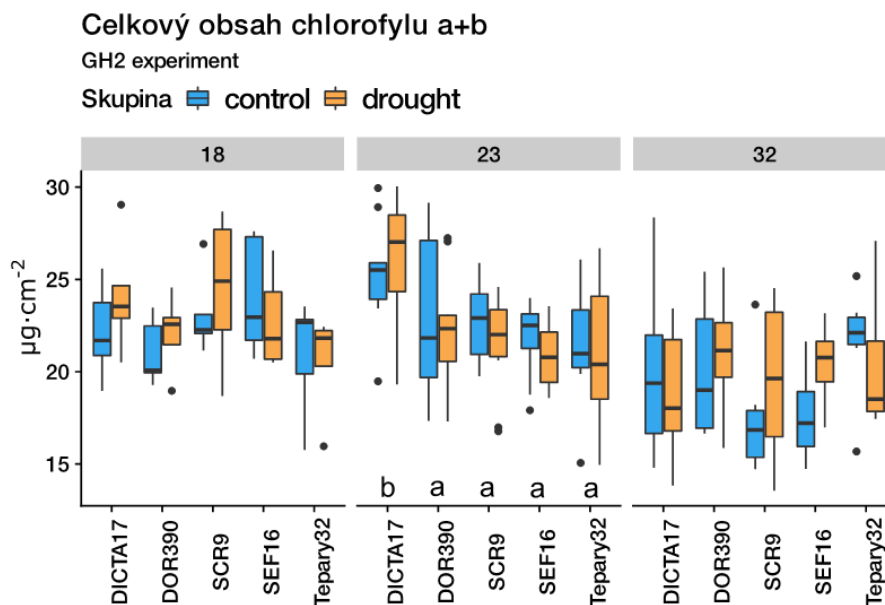
Tabulka 9 – Výsledky lineárních regresí AGB s VIs měřenými během skleníkového experimentu GH2. AGB (above ground biomass) – hmotnost suché nadzemní biomasy rostliny, DAP (days after planting) – dny po vysetí, AD – adaxiální strana listu, AB – abaxiální strana listu, R² – koeficient determinace, VI – vegetační index, názvy jednotlivých VIs viz Tabulka 3 – Seznam nejběžněji používaných vegetačních indexů; n (DAP 23) = 38, n (DAP 32) = 60.

6.1.5 Obsah fotosyntetických pigmentů v listech

Během skleníkového experimentu GH2 byly ve třech termínech (DAP 18, 23 a 32) odebrány vzorky pro analýzu obsahu fotosyntetických pigmentů v listech (chlorofylů a karotenoidů). Způsob odběru a analýzy jsou podrobněji popsány v kapitole 3.2.5. Výsledné hodnoty obsahu pigmentů pro jednotlivé termíny jsou prezentovány na Obrázek 20. Také byl vypočítán poměr celkového obsahu karotenoidů s celkovým obsahem chlorofylu, graf ke k vidění na Obrázek 22. Pro jednotlivé parametry (chlorofyl a, chlorofyl b, celkový obsah chlorofylu, celkový obsah karotenoidů a poměr celkového obsahu karotenoidů a celkového obsahu chlorofylu a+b) byl použit hierarchický ANOVA test a také byl proveden vícefaktorový ANOVA test pro zjištění efektu ošetření a efektu genotypu (podrobněji viz kapitola 5.2). Také byl pro každý termín zvlášť proveden vícefaktorový ANOVA test pro zjištění efektu ošetření a efektu genotypu. Byl-li efekt genotypu signifikantní, byl následně aplikován srovnávací test pro stanovení signifikantních rozdílů mezi genotypy. V termínech, kdy srovnávací test vyhodnotil přítomnost signifikantních rozdílů mezi nimi, byly od sebe navzájem se lišící genotypy odlišeny rozdílnými písmeny. V případě nesignifikantních rozdílů nebylo kódování písmeny využito.

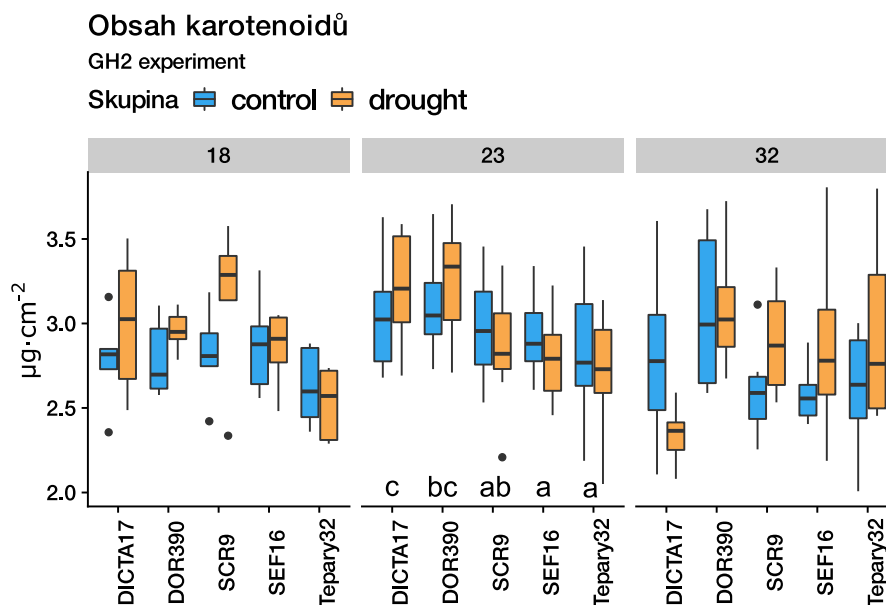
Celkový obsah chlorofylu se v průběhu experimentu příliš neměnil, rozdíly mezi skupinami nevyšly signifikantní ani pro jeden z termínů, jak je vidět na Obrázek 20. Signifikantní rozdíly mezi genotypy byly přítomné pouze pro termín DAP 23, kde měl genotyp DICTA 17 průkazně vyšší hodnoty celkového obsahu chlorofylu oproti zbylým genotypům. Grafy, které prezentují obsah chlorofylu a (viz Obrázek 57) a chlorofylu b (viz Obrázek 58) jsou k nahlédnutí v sekci 10. Přílohy na konci práce. Obsah karotenoidů se také v průběhu experimentů neměnil a ani v jednom termínu nebyl rozdíl mezi skupinami vyhodnocen jako průkazný. Rozdíly mezi genotypy byly signifikantní pouze v termínu DAP 23, kdy dva senzitivní genotypy (DICTA 17 a DOR 390) měly vyšší obsah karotenoidů oproti zbylým rezistentním genotypům (viz Obrázek 21). Poměr obsahu karotenoidů a celkového obsahu chlorofylu se postupně během vývoje rostlin zvyšoval u všech genotypů. Ani v jednom z termínů nebyly rozdíly v tomto parametru mezi skupinou kontrolní a skupinou s omezenou záhlívkou signifikantní. Rozdíly

mezi genotypy byly průkazné pouze pro termín DAP 23, kdy citlivý genotyp měl buď vyšší poměr (DOR 390) nebo nižší poměr (DICTA 17) oproti odolným genotypům (viz Obrázek 22).



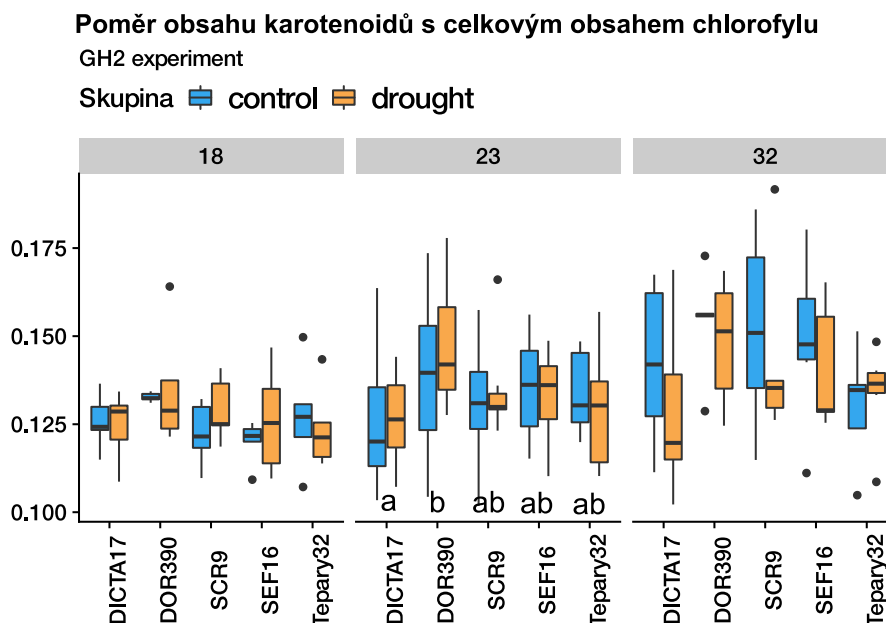
Obrázek 20 – Celkový obsah chlorofylu (a+b) v listech ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) ve třech termínech měření během skleníkového experimentu GH2: 18 – DAP18, 23 – DAP 23, 32 – DAP 32; DAP (days after planting) – dny po vysetí, control – kontrolní skupina, drought – skupina ošetřena suchem, názvy genotypů – DICTA 17, DOR 390, SCR 9, SEF 16, Tepary 32; $n(18) = 50$, $n(23) = 99$, $n(32) = 60$;

V případě průkazného efektu genotypu (vicefaktorovým ANOVA testem) byly rozdíly mezi nimi testovány pomocí vícenásobných srovnávacích testů. V případě normálního rozdělení byl aplikován Tukey–Kramerův test, v případě nenormálního rozdělení Wilcoxonův test. V termínu DAP 23 jsou vyznačeny od sebe navzájem se lišící genotypy pomocí rozdílných písmen, pokud písmena chybí, rozdíly mezi genotypy nejsou signifikantní. Rozdíly byly hodnoceny jako průkazné na hladině $\alpha = 0,05$. Horizontální příčka v boxech značí medián, střední krabicová část je shora ohraničena 3. kvartilem, zespodu 1. kvartilem. Vertikální úsečky vyjadřují variabilitu dat pod prvním a nad třetím kvartilem. Tečky slouží pro zobrazení odlehých hodnot.



Obrázek 21 – Obsah karotenoidů v listech ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) ve třech termínech měření během skleníkového experimentu GH2: 18 – DAP18, 23 – DAP 23, 32 – DAP 32; DAP (days after planting) – dny po vysetí, control – kontrolní skupina, drought – skupina ošetřena suchem, DICTA 17, DOR 390, SCR9, SEF16, Tepary32 – názvy genotypů; $n(18) = 50$, $n(23) = 99$, $n(32) = 60$;

V případě průkazného efektu genotypu (vícefaktorový ANOVA test) byly rozdíly mezi nimi testovány pomocí vícenásobných srovnávacích testů. V případě normálního rozdělení byl aplikován Tukey–Kramerův test, v případě nenormálního rozdělení Wilcoxonův test. V termínu DAP 23 jsou vyznačeny od sebe navzájem se lišící genotypy pomocí rozdílných písmen, pokud písmena chybí, rozdíly mezi genotypy nebyly signifikantní. Rozdíly byly hodnoceny jako průkazné na hladině $\alpha = 0,05$. Horizontální příčka v boxech značí medián, střední krabicová část je shora ohraničena 3. kvartilem, zespodu 1. kvartilem. Vertikální úsečky vyjadřují variabilitu dat pod prvním a nad třetím kvartilem. Tečky slouží pro zobrazení odlehlých hodnot.



Obrázek 22 – Poměr obsahu karotenoidů a celkového obsahu chlorofylu v listech stanovených během GH2 skleníkového experimentu ve třech termínech: 18 – DAP18, 23 – DAP 23, 32 – DAP 32; DAP

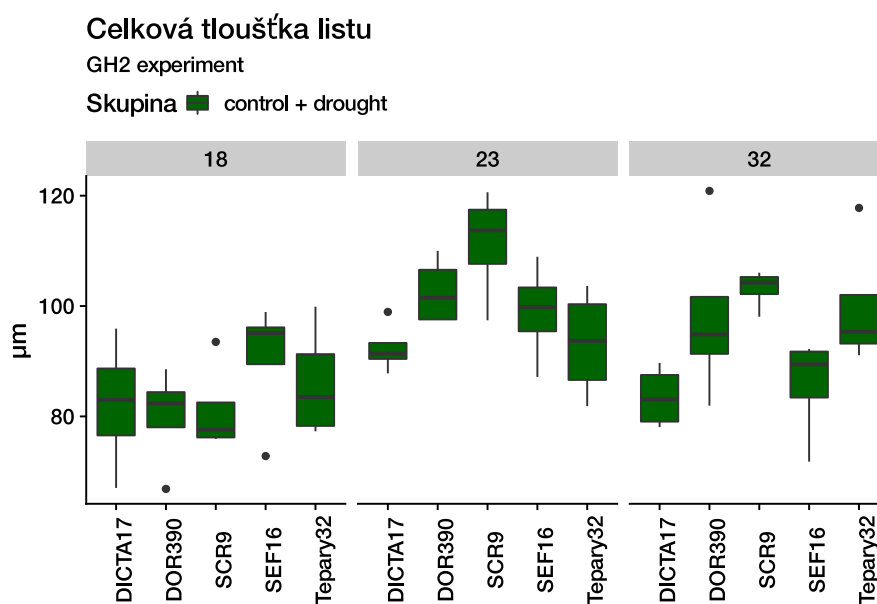
(days after planting) – dny po vysetí, control – kontrolní skupina, drought – skupina ošetřena suchem, Názvy genotypů – DICTA 17, DOR 390, SCR 9, SEF 16, Tepary 32; n (18) = 50, n (23) = 99, n (32) = 60

V případě průkazného efektu genotypu (vícefaktorový ANOVA test) byly rozdíly mezi nimi testovány pomocí vícenásobných srovnávacích testů. V případě normálního rozdělení byl aplikován Tukey–Kramerův test, v případě nenormálního rozdělení Wilcoxonův test. V termínu DAP 23 jsou vyznačeny od sebe navzájem se lišící genotypy pomocí rozdílných písmen, pokud písmena chybí, rozdíly mezi genotypy nejsou signifikantní. Rozdíly byly hodnoceny jako průkazné na hladině $\alpha = 0,05$. Horizontální příčka v boxech značí medián, střední krabicová část je shora ohraničena 3. kvartilem, zespodu 1. kvartilem. Vertikální úsečky vyjadřují variabilitu dat pod prvním a nad třetím kvartilem. Tečky slouží pro zobrazení odlehých hodnot.

6.1.6 Anatomické vlastnosti listu

Vzorky pro analýzu anatomických vlastností listu byly odebrány ve třech termínech během skleníkového experimentu GH2. Po zpracování vzorků a změření celkové tloušťky příčných řezů jednotlivých listů (dle postupu viz kapitola 3.2.7) bylo v grafech vizualizováno rozložení pozorování pro jednotlivé termíny. Z důvodu nepřítomnosti vodního stresu u ošetřené skupiny a také kvůli nízkému počtu pozorování na genotyp u každého termínu byly vytvořeny grafy slučující skupinu kontrolní a stresovanou. Pro každý parametr v každém termínu zvlášť byla provedena vícefaktorová ANOVA pro ověření efektu ošetření a efektu genotypu. Rozdíly byly hodnoceny jako průkazné na hladině $\alpha = 0,05$. Pokud byl efekt genotypu průkazný, bylo použito srovnávacích testů pro stanovení, zda jsou mezi genotypy rozdíly.

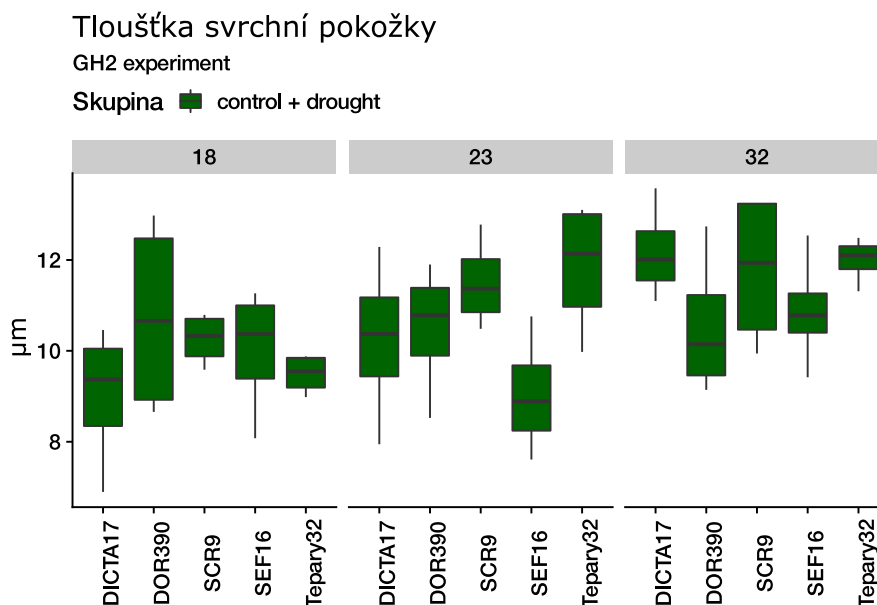
Anatomické parametry listu se v průběhu sezóny neměnily, změny v celkové tloušťce listu během sezóny nebyly signifikantní (viz Obrázek 23) a ani rozdíly mezi kontrolní skupinou a skupinou s omezenou záhlvkou nebyly průkazné. Při aplikaci repeated measures (RM) ANOVA testu byl vyhodnocen rozdíl celkové tloušťky listu genotypů jako signifikantní. Stejně tak tomu bylo u tloušťky palisádového (viz Obrázek 25) a houbovitého parenchymu (viz Obrázek 26). Tloušťka spodní pokožky (viz Obrázek 27) vykazovala také signifikantní rozdíly mezi genotypy ať už při aplikaci RM ANOVA testu nebo při testování jednotlivých termínů odděleně. Při testování rozdílů mezi genotypy vícenásobnými srovnávacími testy nebyla jejich průkaznost vždy potvrzena nebo byla zjištěna pouze v některých termínech. Rozdíly mezi genotypy byly potvrzeny pro tloušťku palisádového parenchymu a tloušťku spodní pokožky v termínu DAP23. Podíl mezibuněčných prostor se v průběhu sezóny neměnil (viz Obrázek 28).



Obrázek 23 – Celková tloušťka příčného řezu listem (μm) rostlin skleníkového experimentu GH2 ve třech termínech měření: 18 – DAP 18; 23 – DAP 23; 32 – DAP 32; DAP (days after planting) – dny po

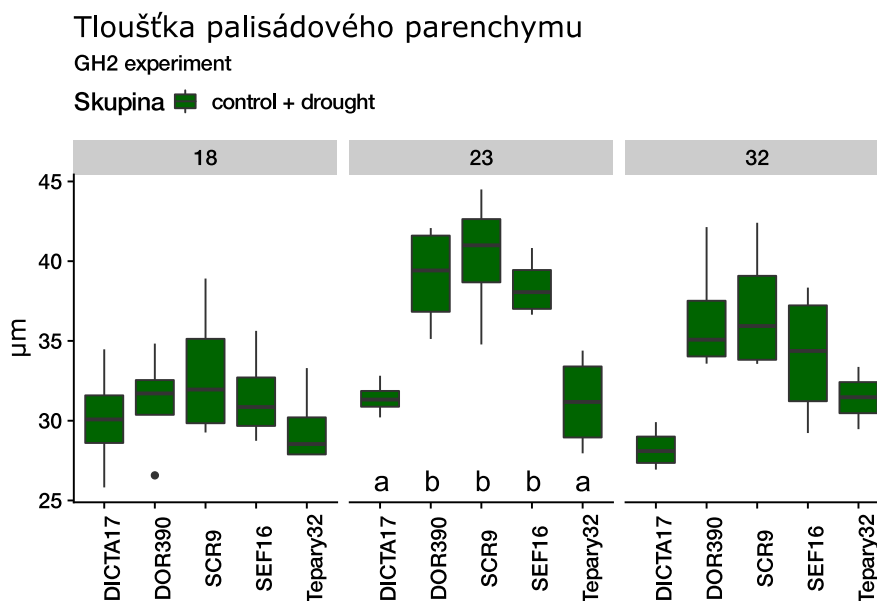
vysetí; control – kontrolní skupina, drought – skupina s omezenou závlivkou, názvy genotypů – DICTA 17, DOR 390, SCR9, SEF16, Tepary32; n (18) = 20, n (23) = 20, n (32) = 20;

Rozdíly byly testovány vícefaktorovým ANOVA testem a nebyly shledány signifikantní. Horizontální přímka v boxech značí medián, střední krabicová část je shora ohraničena 3. kvartilem, zespodu 1. kvartilem. Vertikální úsečky vyjadřují variabilitu dat pod prvním a nad třetím kvartilem. Tečky slouží pro zobrazení odlehých hodnot.



Obrázek 24 – Tloušťka svrchní pokožky (µm) rostlin ze skleníkového experimentu GH2 ve třech termínech měření: 18 – DAP 18; 23 – DAP 23; 32 – DAP 32; DAP (days after planting) – dny po vysetí; control – kontrolní skupina, drought – skupina ošetřena suchem, názvy genotypů – DICTA 17, DOR 390, SCR9, SEF16, Tepary32; n (18) = 20, n (23) = 20, n (32) = 20;

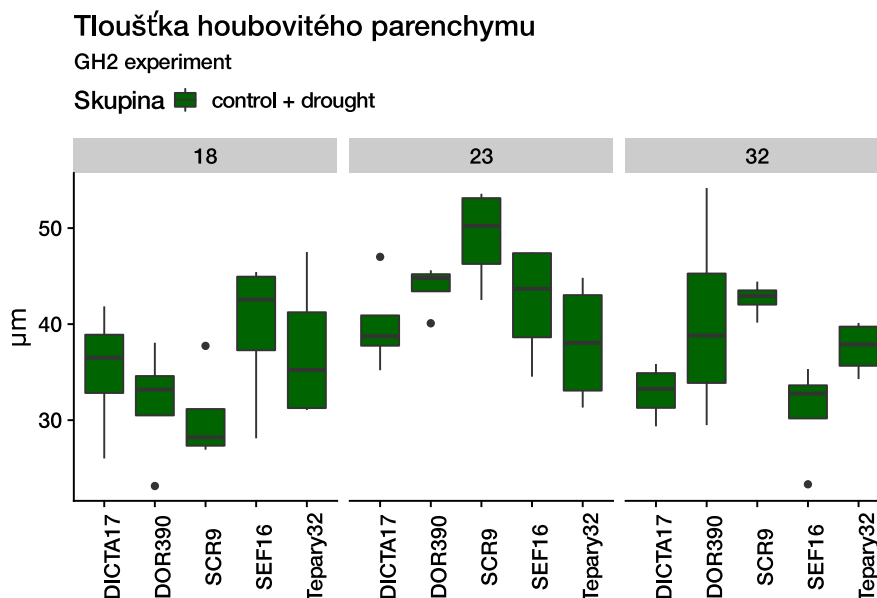
Rozdíly byly testovány vícefaktorovým ANOVA testem a nebyly shledány signifikantní. Horizontální přímka v boxech značí medián, střední krabicová část je shora ohraničena 3. kvartilem, zespodu 1. kvartilem. Vertikální úsečky vyjadřují variabilitu dat pod prvním a nad třetím kvartilem.



Obrázek 25 – Tloušťka palisádového parenchymu (µm) rostlin skleníkového experimentu GH2 ve třech termínech měření: 18 – DAP 18; 23 – DAP 23; 32 – DAP 32; DAP (days after planting) – dny po vysetí;

control – kontrolní skupina, drought – skupina s omezenou závlivkou, názvy genotypů – DICTA 17, DOR 390, SCR9, SEF16, Tepary32; n (18) = 20, n (23) = 20, n (32) = 20;

V případě průkazného efektu genotypu (vícefaktorový ANOVA test) byly rozdíly mezi nimi testovány pomocí vícenásobných srovnávacích testů. V případě normálního rozdělení byl aplikován Tukey–Kramerův test, v případě nenormálního rozdělení Wilcoxonův test. V termínu DAP 23 jsou vyznačeny od sebe navzájem se lišící genotypy pomocí rozdílných písmen, pokud písmena chybí, rozdíly mezi genotypy nejsou signifikantní. Rozdíly byly hodnoceny jako průkazné na hladině $\alpha = 0,05$. Horizontální příčka v boxech značí medián, střední krabicová část je shora ohraničena 3. kvantilem, zespodu 1. kvantilem. Vertikální úsečky vyjadřují variabilitu dat pod prvním a nad třetím kvantilem.



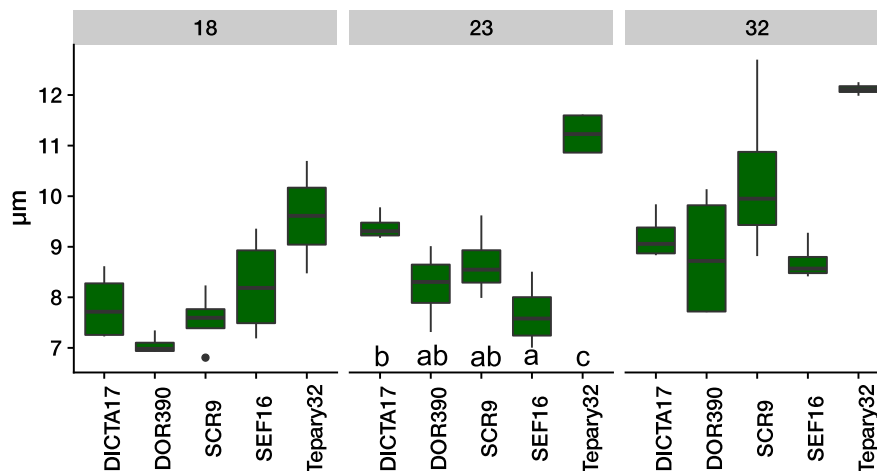
Obrázek 26 – Tloušťka houbovitého parenchymu (μm) rostlin skleníkového experimentu GH2 ve třech termínech měření: 18 – DAP 18; 23 – DAP 23; 32 – DAP 32; DAP (days after planting) – dny po vysetí, názvy genotypů – DICTA 17, DOR 390, SCR9, SEF16, Tepary32; n (18) = 20, n (23) = 20, n (32) = 20;

Rozdíly byly testovány vícefaktorovým ANOVA testem a nebyly shledány signifikantní. Horizontální příčka v boxech značí medián, střední krabicová část je shora ohraničena 3. kvantilem, zespodu 1. kvantilem. Vertikální úsečky vyjadřují variabilitu dat pod prvním a nad třetím kvantilem. Tečky slouží pro zobrazení odlehých hodnot.

Flouška spodní pokožky

GH2 experiment

Skupina ■ control + drought



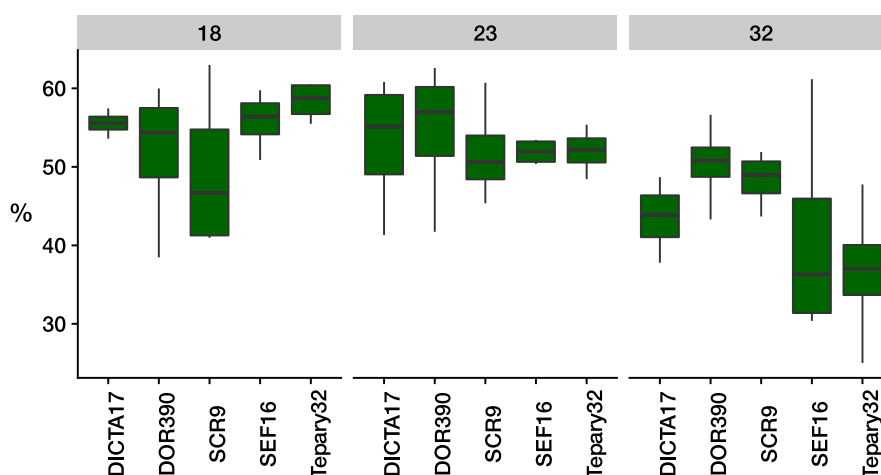
Obrázek 27 – Flouška spodní pokožky (μm) rostlin skleníkového experimentu GH2 ve třech termínech měření: 18 – DAP 18; 23 – DAP 23; 32 – DAP 32; DAP (days after planting) – dny po vysetí; control – kontrolní skupina, drought – skupina s omezenou závlahou, názvy genotypů – DICTA 17, DOR 390, SCR9, SEF16, Tepary32; $n(18) = 20$, $n(23) = 20$, $n(32) = 20$;

V případě průkazného efektu genotypu (vícefaktorový ANOVA test) byly rozdíly mezi nimi testovány pomocí vícenásobných srovnávacích testů. V případě normálního rozdělení byl aplikován Tukey–Kramerův test, v případě nenormálního rozdělení Wilcoxonův test. V termínu DAP 23 jsou vyznačeny od sebe navzájem se lišící genotypy pomocí rozdílných písmen, pokud písmena chybí, rozdíly mezi genotypy nejsou signifikantní. Rozdíly byly hodnoceny jako průkazné na hladině $\alpha = 0,05$. Horizontální příčka v boxech značí medián, střední krabicová část je shora ohraničena 3. kvantilem, zespodu 1. kvantilem. Vertikální úsečky vyjadřují variabilitu dat pod prvním a nad třetím kvantilem. Tečky slouží pro zobrazení odlehých hodnot.

Podíl mezibuněčných prostor

GH2 experiment

Skupina ■ control + drought

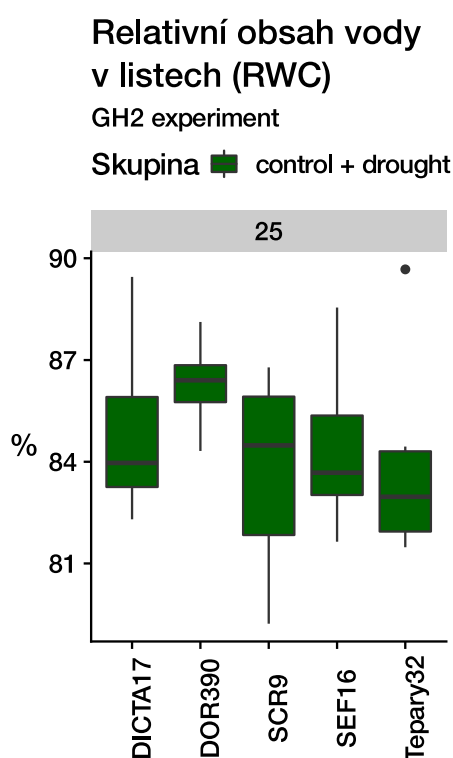


Obrázek 28 – Podíl mezibuněčných prostor rostlin skleníkového experimentu GH2 ve třech termínech měření: 18 – DAP 18; 23 – DAP 23; 32 – DAP 32; DAP (days after planting) – dny po vysetí; control – kontrolní skupina, drought – skupina s omezenou závlahou, názvy genotypů – DICTA 17, DOR 390, SCR9, SEF16, Tepary32; $n(18) = 20$, $n(23) = 20$, $n(32) = 20$;

Rozdíly byly testovány vícefaktorovým ANOVA testem a nebyly shledány signifikantní. Horizontální příčka v boxech značí medián, střední krabicová část je shora ohraničena 3. kvantilem, zespodu 1. kvantilem. Vertikální úsečky vyjadřují variabilitu dat pod prvním a nad třetím kvantilem.

6.1.7 Biofyzikální vlastnosti listu – RWC a SLA

Hodnoty RWC byly během GH2 skleníkového experimentu měřeny ve dvou termínech – DAP 25 a DAP 32. V termínu DAP 32 byla během měření nepřesnost, jak ukazují výsledky. U 18 z 60 odebraných listů přesahovaly hodnoty RWC 100 %. Z tohoto důvodu byl termín DAP 32 vyloučen. Na Obrázek 29 jsou vidět hodnoty pro termín DAP 25. Rozdíly mezi ošetřeními ani mezi genotypy nebyly signifikantní. Rozdíly v SLA mezi skupinami nebyly průkazné ani v jednom z termínů (viz Obrázek 30). Ale pro termín DAP 25 vyšel jako průkazný rozdíl mezi genotypy. Rezistentní genotypy měly podobné hodnoty SLA, citlivé genotypy se od nich lišily – DICTA 17 měl nižší SLA a DOR 390 naopak vyšší SLA oproti odolným genotypům.



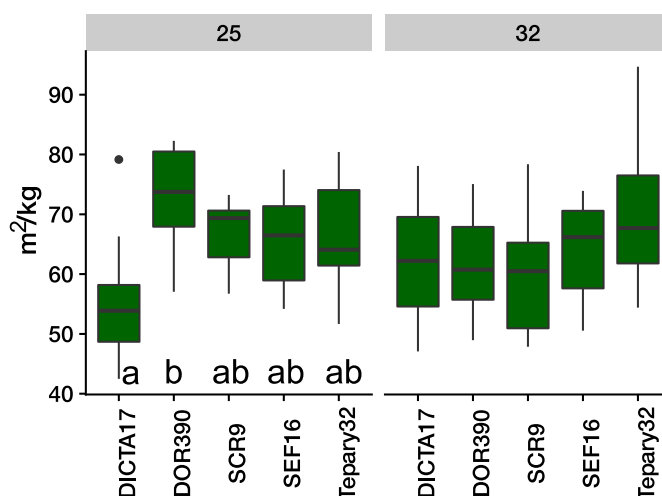
Obrázek 29 – Relativní obsah vody (RWC) rostlin skleníkového experimentu GH2 v termínu: 25 – DAP 25; DAP (days after planting) – dny po vysetí; control – kontrolní skupina, drought – skupina ošetřena suchem, názvy genotypů – DICTA 17, DOR 390, SCR9, SEF16, Tepary32; n (25) = 37;

Rozdíly byly testovány vícefaktorovým ANOVA testem a nebyly shledány signifikantní. Horizontální příčka v boxech značí medián, střední krabicová část je shora ohraničena 3. kvantilem, zespodu 1. kvantilem. Vertikální úsečky vyjadřují variabilitu dat pod prvním a nad třetím kvantilem.

Specifická listová plocha (SLA)

GH2 experiment

Skupina ■ control + drought



Obrázek 30 – Specifická listová plocha (SLA) rostlin skleníkového experimentu GH2 ve dvou termínech měření: 25 – DAP 25; 32 – DAP 32; DAP (days after planting) – dny po vysetí; control – kontrolní skupina, drought – skupina ošetřena suchem, názvy genotypů – DICTA 17, DOR 390, SCR 9, SEF 16, Tepary 32; $n(25) = 32$, $n(32) = 60$;

V případě průkazného efektu genotypu (vícefaktorový ANOVA test) byly rozdíly mezi nimi testovány pomocí vícenásobných srovnávacích testů. V případě normálního rozdělení byl aplikován Tukey–Kramerův test, v případě nenormálního rozdělení Wilcoxonův test. V termínu DAP 25 jsou vyznačeny od sebe navzájem se lišící genotypy pomocí rozdílných písmen, pokud písmena chybí, rozdíly mezi genotypy nejsou signifikantní. Rozdíly byly hodnoceny jako průkazné na hladině $\alpha = 0,05$. Horizontální příčka v boxech značí medián, střední krabicová část je shora ohraničena 3. kvantilem, zespodu 1. kvantilem. Vertikální úsečky vyjadřují variabilitu dat pod prvním a nad třetím kvantilem.

6.2 BASE100 – polní pokus v r. 2019

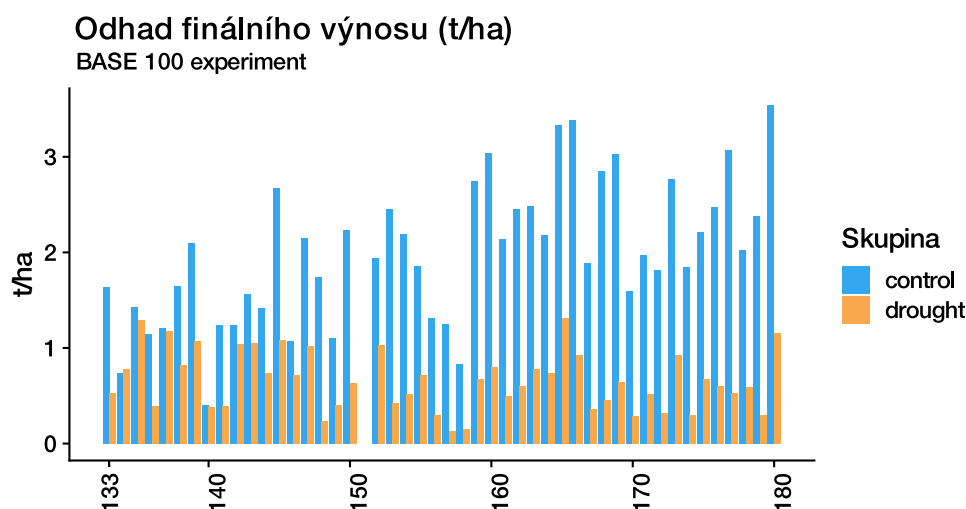
6.2.1 BASE100 – index intenzity sucha

Pro stanovení intenzity sucha u polních pokusů je vhodné využít index intenzity sucha (DII), který je odvozen z hodnot průměrného výnosu kontrolní skupiny a průměrného výnosu stresované skupiny (viz Rovnice 1) – nejčastěji se jedná o pokles výnosu u skupiny vystavené stresu. Intenzita sucha byla v případě BASE100 reprezentována hodnotou $DII = 0,65$. Míra navozeného stresu je srovnatelná, a dokonce mírně vyšší, v porovnání se studií prováděnou na fazolu v polních podmínkách, kdy skupina s ošetřením byla také pěstována bez přidání závlahy ($DII = 0,48$, Rosales-Serna *et al.*, 2004). Navozený stres v BASE100 byl tedy dostatečně silný, a díky tomu se jeho vliv projevil i změnami biofyzikálních parametrů skupiny vystavené suchu. Výsledky analýz těchto parametrů jsou prezentovány níže v této kapitole.

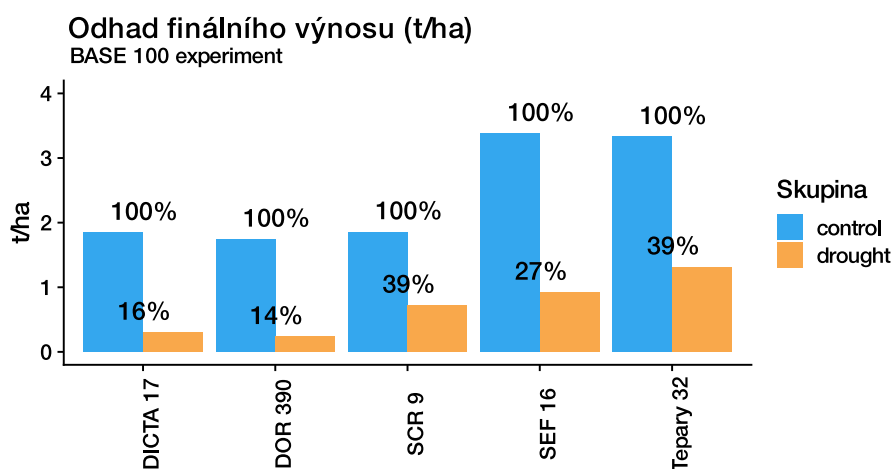
Odhad výsledného výnosu byl vypočítán na základě výnosu dvou sklizených řádků parcely o známé ploše a tyto výnosy byly přepočítány na odhad výnosu v tunách na hektar. Vizualní srovnání (bez statistického hodnocení) výnosů kontrolní a stresované skupiny pro 48 sledovaných genotypů ze souboru BASE100 znázorňuje Obrázek 31. Pokles výnosu u stresované skupiny nastal u všech genotypů kromě genotypu SAB 659 (pod číslem 134).

Pro vybraných pět genotypů (shodných s genotypy použitými ve skleníkovém experimentu GH2) jsou na Obrázek 32 prezentovány odhady jejich výsledných výnosů a také rozdíly mezi kontrolní a stresovanou skupinou. Je zde vidět výrazný pokles výnosu u skupiny vystavené vodnímu deficitu. Odhad výsledného výnosu kontrolní skupiny byl brán jako 100 % a na základě této hodnoty bylo dopočítáno, kolika procent z této hodnoty dosáhl výnos u skupiny. U vybraných pěti genotypů došlo ke

snížení výnosů o 60-87 %, což odpovídá spíše průměrnému a vyššímu poklesu výnosu ve srovnání s průměrným poklesem (65 %) pro celý soubor BASE100.



Obrázek 31 – Odhad výsledného výnosu (t/ha) pro všech 48 genotypů polního experimentu BASE100; control – kontrolní skupina, drought – skupina bez přidané závlahy; osa X obsahuje čísla genotypů (133-180) – vlevo je zobrazen odhad výnosu pro kontrolní skupinu a vpravo pro stresovanou skupinu; genotyp 151 – nehodnoceno. Čísla vybraných genotypů: 148 – DOR 390; 155 – SCR 9; 165 – Tepary 32; 166 – SEF 16; 174 – DICTA 17.



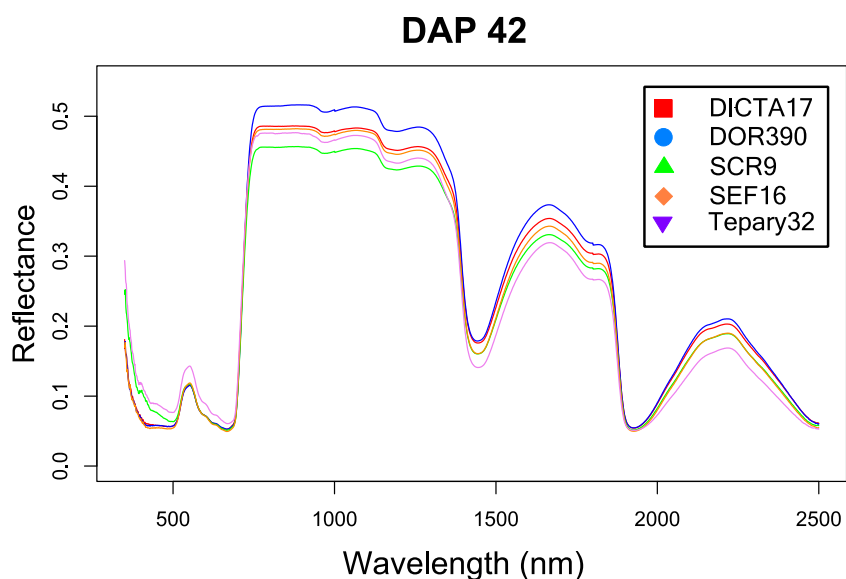
Obrázek 32 – Odhad výsledného výnosu (t/ha) polního experimentu BASE100 pro vybraných pět genotypů, control – kontrolní skupina, drought – skupina bez závlahy, názvy genotypů – DICTA 17, DOR 390, SCR9, SEF16, Tepary32.

6.2.2 PCA spektrálních dat BASE100

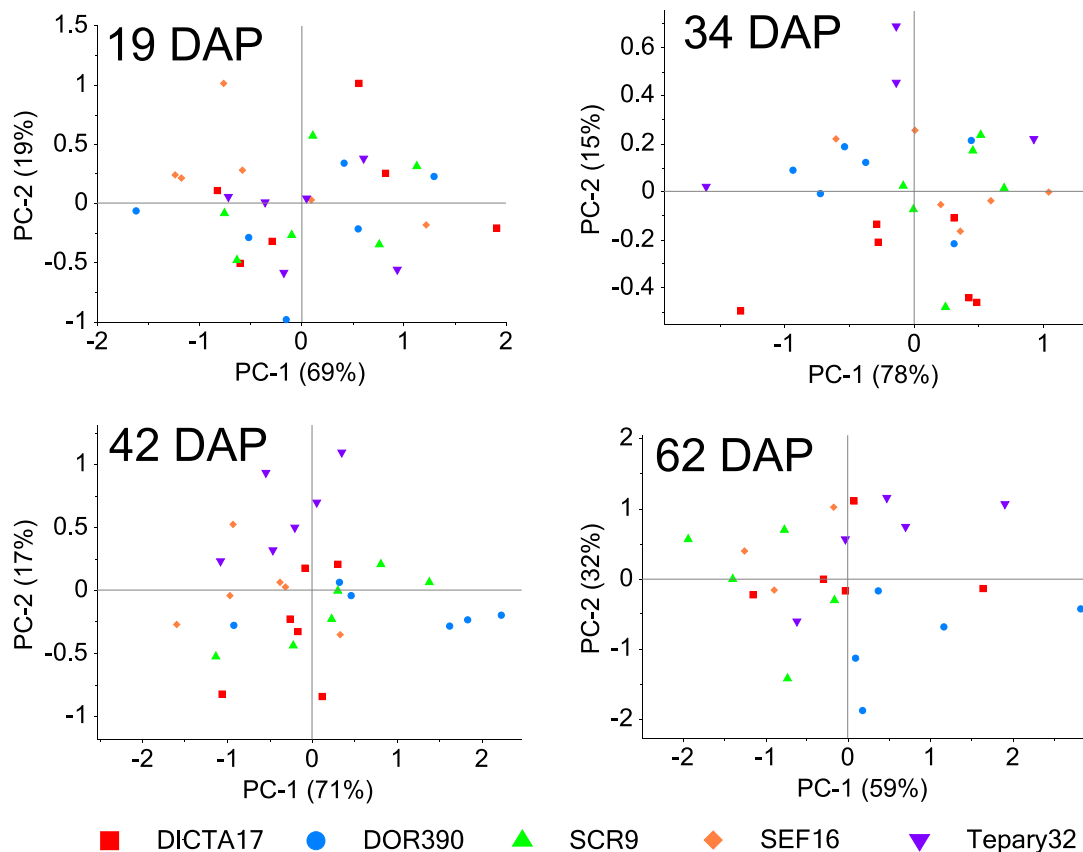
Pro srovnání genotypů a jejich reakce na sucho v polních podmínkách byla provedena PCA i na spektrálních datech naměřených během experimentu BASE100 u vybraných 5 genotypů. Tento experiment proběhl v roce 2019 v období sucha. Oproti skleníkovému experimentu v polním pokusu nemají rostliny limitovaný prostor pro růst kořenového systému. Zároveň v pokusu BASE100 byla s jistotou rozdílná dostupnost vody mezi rostlinami v kontrolní (zalévané) a rostlinami ponechanými bez závlahy.

Pro PCA byla z BASE100 vyselektována spektrální data příslušící pěti vybraným genotypům (shodných s genotypy skleníkového experimentu GH2). Vybrána byla spektra měřená na adaxiální straně listu (AD) v odpoledních hodinách (PM). Adaxiální strana listu byla vybrána na základě výsledků

PCA skleníkového experimentu – výsledky AD a AB strany byly obdobné. Odpolední termíny byly zvoleny tak, aby rozdíly mezi kontrolní a suchem ošetřenou skupinou byly výraznější. Na základě těchto dat (AD, PM) byla provedena PCA a výsledky jsou prezentovány v následujících grafech. Pro vizualizaci spektrálních dat jsou na Obrázek 33 zobrazeny vegetační křivky pro jednotlivé genotypy měřené na AD straně v termínu DAP 42. Jsou mezi nimi viditelné rozdíly, zejména v NIR a SWIR oblasti spektra. Obrázek 34 prezentuje výsledky PCA těchto spektrálních dat a srovnává výsledky z několika termínů měření. Jak již bylo zmíněno výše – polní a skleníkové experimenty nejsou v mnoha směrech srovnatelné. Přesto je zde viditelná obdobná tendence postupného zvyrazňujícího se odlišení genotypů na základě optických vlastností listu. Na začátku vývoje (DAP 18 a 19) se reflektance studovaných genotypů prolíná, jednotlivé skupiny genotypů nejsou od sebe navzájem v rámci grafu odlišitelné. Teprve v pozdějších fázích vývoje (DAP 32 – GH2 (viz Obrázek 18) a DAP 34 – BASE100 (viz Obrázek 34)) je vidět, že se jednotlivé genotypy v rámci grafu více sdružují. V BASE100 jsou v termínu DAP 42 kontrasty mezi jednotlivými genotypy podobné (viz Obrázek 33) zrovna tak je tomu i u termínu DAP 62 (viz Obrázek 34). Spektrální signál by mohl sloužit k lepšímu odlišení genotypů v pozdější fázi vývoje rostlin, rozdílnost optických vlastností není však ani jednoznačná, ani konzistentní (ve smyslu, že by genotypy ve všech termínech měření tvořily stejné skupiny). Odlišnosti spektrálních vlastností rostlin budou pravděpodobně záviset na podmínkách, ve kterých jsou pěstovány. Výsledky mohou být také ovlivněny velikostí souboru vzorků vstupujícího do analýzy. V BASE100 bylo pro každý genotyp naměřeno 5-6 spektrálních křivek odrazivosti. Pro hlubší analýzu rozdílnosti genotypů na základě spektrálních vlastností by bylo vhodné analyzovat ještě větší množství naměřených vzorků.

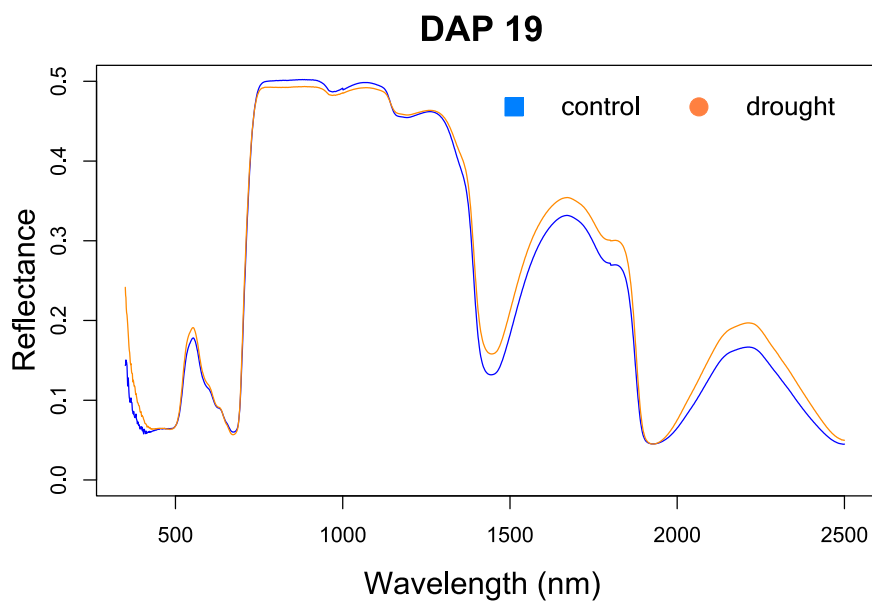


Obrázek 33 – Průměrná křivka odrazivosti listu spekter měřených na AD straně listu z termínu DAP 42 během polního experimentu BASE100. Vybraných 5 genotypů (DICTA 17, DOR 390, SCR 9, SEF 16, Tepary 32). Reflectance – odrazivost listu, Wavelength (nm) – vlnová délka v nm, AD – adaxiální strana listu, DAP (days after planting) – dny po vysetí.

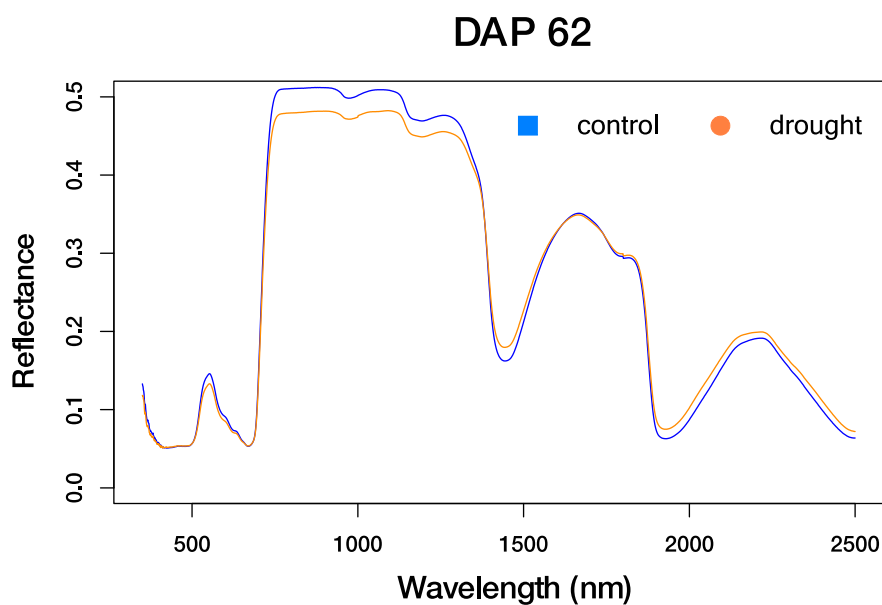


Obrázek 34 – Analýza hlavních komponent (PCA) spekter měřených na AD straně listu během polního experimentu BASE100 (vybraných pět genotypů); DAP (days after planting) – dny po vysetí, AD – adaxiální strana listu, PC (principal component) – hlavní komponenta, názvy genotypů – DICTA17, DOR 390, SCR 9, SEF 16, Tepary 32; n (DAP 19) = 30, n (DAP 34) = 28, n (DAP 42) = 30, n (DAP 62) = 23.

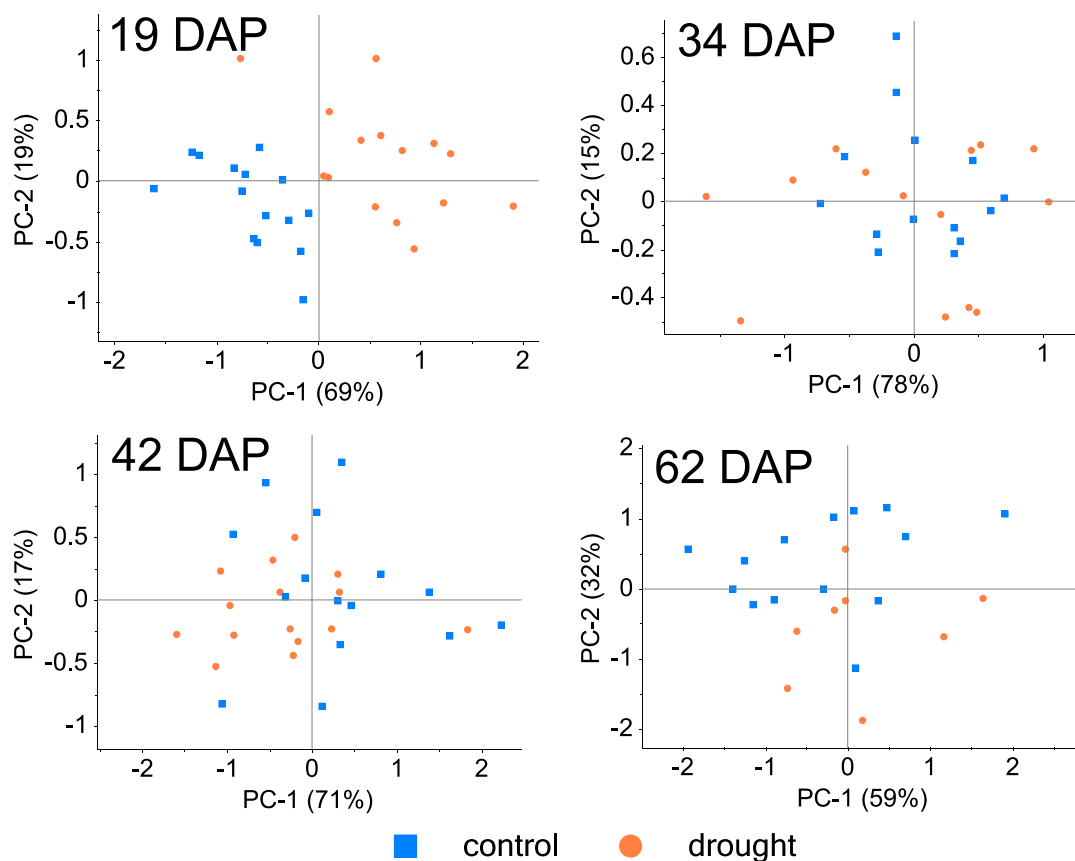
Byla provedena také vizualizace spekter pro kontrolní a stresovanou skupinu v termínu DAP 19 (viz Obrázek 35) a DAP 62 (viz Obrázek 36). Na základě PCA analýzy hlavních komponent celého spektra byla viditelná rozdílnost spektrálních informací jednotlivých skupin s nejvýraznějšími rozdíly mezi kontrolní a stresovanou skupinou v termínu DAP 19 (viz Obrázek 37). V pozdějších termínech se tyto rozdíly stírají, až v terminálních fázích (DAP 62) se opět objevuje náznak dvou oddělených klastrů dle ošetření skupin. Výsledky PCA analýzy naznačují, že v rané fázi vývoje rostlin působil na obě skupiny nějaký faktor, který způsobil odlišení skupin ve spektrální informaci. V této době však stres suchem nebyl ještě dostatečně výrazný (i stresovaná skupina byla ze začátku zavlažována do DAP 30, stres suchem nastoupil až okolo fáze kvetení). Tímto faktorem, který způsobil rozdíl mezi skupinami, nebude nedostatečná dostupnost vody v půdě. Zaznamenané rozdíly mohou souviset s odlišností půdního profilu v lokalitě výsevu jednotlivých skupin nebo jiného blíže nespecifikovaného faktoru souvisejícího s místem výsevu kontrolní skupiny a skupiny ošetřené suchem.



Obrázek 35 – Průměrná křivka odrazivosti ze spekter AD strany listu měřených v termínu DAP 19 během polního experimentu BASE100. Vybraných pět genotypů (DICTA 17, DOR 390, SCR 9, SEF 16, Tepary 32). Reflectance – odrazivost listu, Wavelength (nm) – vlnová délka v nm, AD – adaxiální strana listu, DAP (days after planting) – dny po vysetí, control – kontrolní skupina, drought – skupina ošetřená suchem.



Obrázek 36 – Průměrná křivka odrazivosti ze spekter AD strany listu měřených v termínu DAP 62 během polního experimentu BASE100. Vybraných pět genotypů (DICTA 17, DOR 390, SCR 9, SEF 16, Tepary 32). Reflectance – odrazivost listu, Wavelength (nm) – vlnová délka v nm, AD – adaxiální strana listu, DAP (days after planting) – dny po vysetí, control – kontrolní skupina, drought – skupina ošetřená suchem.



Obrázek 37 – Analýza hlavních komponent (PCA) spekter měřených na AD straně listu během polního experimentu BASE100 (vybraných pět genotypů – DICTA17, DOR390, SCR9, SEF16, Teparý32); DAP (days after planting) – dny po vysetí, AD – adaxiální strana listu, PC (principal component) – hlavní komponenta; n (DAP 19) = 30, n (DAP 34) = 28, n (DAP 42) = 30, n (DAP 62) = 23.

6.2.3 PLSR modelování biofyzikálních vlastností listů z reflektance listů (polní pokus BASE100)

Modelování odhadu biofyzikálních parametrů bylo provedeno pomocí PLSR modelování, kdy vstupem do modelu byla spektrální data a biofyzikální parametry listů (RWC a SLA) měřené během polního pokusu BASE100. Pro modelování bylo vybráno 5 genotypů (které figurovaly ve skleníkovém pokusu GH2). Hodnoty vlastností listu (RWC a SLA) průměrovány nebyly ($n=5$). Pro každou hodnotu RWC byla pro tvorbu PLSR modelu přiřazena průměrná křivka odrazivosti listu pro každý genotyp. Termín měření spektrálních vlastností byl vybrán tak, aby se co nejvíce blížil termínu odběru RWC a SLA (± 7 dní). Výběr DAP je zobrazen v Tabulka 10 – sloupcem Y a spektra.

Na přesnost odhadu RWC pomocí PLSR modelu měl jednoznačně vliv stres suchem. Pro kontrolní skupinu se hodnoty R^2 pohybovaly v rozmezí 0,61-0,84, bez většího rozdílu mezi AD a AB stranou. V dřívějším termínu bylo možné odhadnout RWC lépe než z dat pozdějšího termínu. U kontrolní skupiny byl také viditelný malý pokles v přesnosti odhadu – RMSE% se pohybovala pro RWC v rozmezí 13-17 % pro kontrolní skupinu. U suchem stresované skupiny se model téměř nepodařilo natrénovat (hodnoty kalibrační $R^2=0-0,08$) a už vůbec ne validovat (R^2 – NA), což platilo pro oba termíny odběrů.

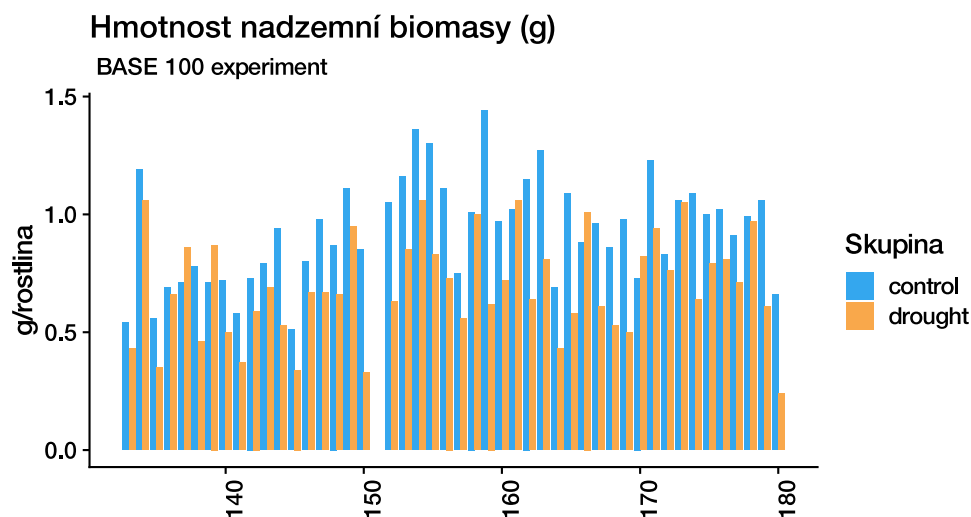
Modely pro odhad SLA fungovaly velmi dobře, a to jak u kontrolní, tak i u stresované skupiny. Model vysvětloval u kontrolní skupiny 60-88% variability v datech ($R^2= 0,6 - 0,88$) a u stresované 54–77 % ($R^2= 0,54-0,77$). Vliv strany listu na kvalitu odhadu RWC i SLA byl zanedbatelný. U PLSR modelů odhadu SLA je vidět malý pokles v přesnosti odhadu parametru v pozdějším termínu odběru/měření. RMSE% nabývalo hodnot 2,5-21,8 % pro obě skupiny.

DAP Y spektra		Skupina	AD									AB								
			bez OH	Faktory	n	Kalibrace			Validace			bez OH	Faktory	n	Kalibrace			Validace		
						RMSE	RMSE%	R ²	RMSE	RMSE%	R ²				RMSE	RMSE%	R ²	RMSE	RMSE%	R ²
RWC																				
49	42	K		4	25	1.5	12.7	0.84	2.0	16.4	0.74		4	25	1.5	12.8	0.83	1.9	15.9	0.75
56	62	K		4	25	2.2	14.4	0.67	2.5	16.0	0.64		4	25	2.4	15.6	0.61	2.6	16.8	0.61
41	42	S		4	25	4.7	15.1	0.00	5.2	16.6	NA		4	25	5.0	15.9	0.00	5.5	17.5	NA
48	42	S		4	25	4.6	26.1	0.06	5.7	31.8	NA		4	25	4.6	25.8	0.08	5.0	28.1	NA
SLA																				
38/39	42	K	bOH	7	42	0.3	2.5	0.85	2.1	21.0	0.60	bOH	7	44	1.1	11.0	0.88	1.6	16.1	0.75
58/60	62	K		7	45	1.3	15.6	0.67	1.8	21.5	0.36		7	45	1.3	15.4	0.67	1.8	21.8	0.38
38/39/40	42	S		7	45	0.8	14.3	0.77	1.1	20.3	0.58		7	45	0.8	14.9	0.76	1.0	19.5	0.61
58	62	S		7	36	3.9	15.0	0.70	4.4	16.8	0.65		7	36	4.1	15.5	0.69	5.1	19.3	0.54

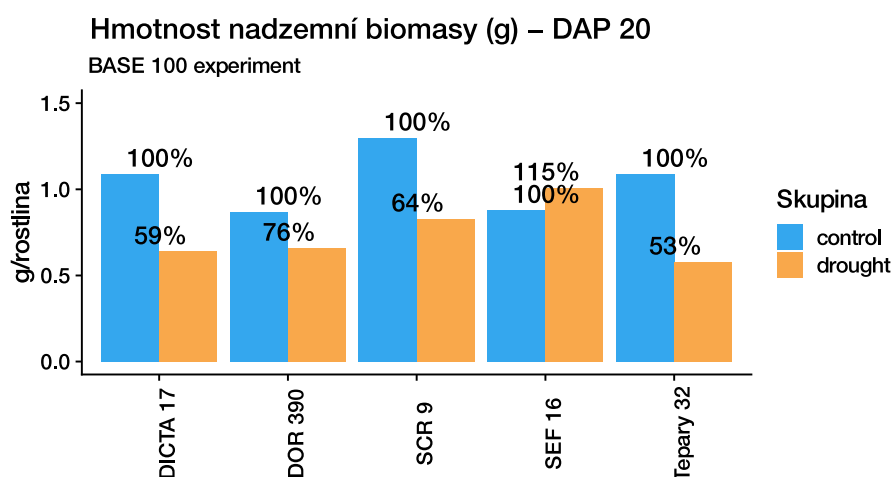
Tabulka 10 – Výsledky PLSR (partial least squares regression) modelování dat z polního experimentu BASE100. Vstupujícími daty do modelu byla průměrná spektrální informace odrazivosti listu jednotlivých genotypů a jejich biofyzikální vlastnosti listu (RWC a SLA). Modelování bylo provedeno pro suchem ošetřenou skupinu a kontrolní skupinu zvlášť. Levá strana tabulky obsahuje výsledky modelu na základě spektrálních dat AD strany listu, pravá strana z AB strany listu; K – kontrolní skupina, S – skupina ošetřená bez přidané zálivky, AD – adaxiální strana listu, AB – abaxiální strana listu; DAP (days after planting) – dny po vysetí, RWC (relative water content) – relativní obsah vody, SLA (specific leaf area) – specifická listová plocha, Faktory – počet faktorů, které byly použity pro tvorbu modelu, n – počet vzorků vstupujících do modelu, RMSE – střední kvadratická chyba, RMSE% – střední kvadratická chyba v procentech, R² – koeficient determinace, NA – hodnota není dostupná (model se nepodařilo zkonstruovat či validovat).

6.2.4 Lineární regrese suché nadzemní biomasy a vegetačních indexů

Během pokusu BASE100 byly vždy následný den po měření spektrálních vlastností provedeny destruktivní odběry pro všechny genotypy. Byly sklizeny rostliny z 50 cm řádku každé parcely (tedy přibližně 7 rostlin na genotyp) a rostliny byly dále zpracovány (viz kapitola 4.2.1). Jednou z výsledných hodnot byla hmotnost suché nadzemní biomasy (AGB) sklizených rostlin. Díky informaci o počtu sklizených rostlin bylo možné dopočítat průměrnou hodnotu AGB pro jednu rostlinu genotypu (Obrázek 38 – všechny genotypy a Obrázek 39 – vybraných 5 genotypů). Z naměřených spekter odrazivosti listů byly na základě vybraných pásem spektra vypočítány vegetační indexy (viz kapitola 3.2.2). Pomocí programu R byla provedena lineární regrese průměrné AGB jedné rostliny na genotyp s 9 vegetačními indexy, a to v termínech DAP 19 a DAP 34. Lineární regrese byla použita pro všechny genotypy (ne pouze pro 5 vybraných) a zvlášť byla provedena pro dopolední a odpolední měření spektrální informace a také odděleně pro AB a AD strany listu. Výsledky lineárních regresí s nejvyššími hodnotami R^2 jsou prezentovány níže (viz Tabulka 11). Hodnoty R^2 pro termín DAP 34 byly všechny nižší než 0,25 a vysvětlovaly nejvíce 14 % variability v datech. I v termínu DAP 19 je míra vysvětlené variability v datech relativně nízká (max. 0,35 R^2). Tyto nízké hodnoty R^2 mohou být způsobeny také tím, že při této analýze dochází k míchání dvou úrovní – měřená spektra na úrovni listu jsou korelována s hodnotou AGB na úrovni celé rostliny. Dalším aspektem je, že spektrální data nebyla měřena na konkrétních rostlinách, které by byly následně sklizeny pro stanovení AGB. Data proto nemají dostatečnou míru přesnosti pro dobrý odhad AGB s pomocí vegetačních indexů. Nejvyšší hodnoty R^2 vycházely u skupiny vystavené vodnímu stresu.



Obrázek 38 – Hmotnost nadzemní biomasy na rostlinu (AGB v g) z termínu DAP 20 polního experimentu BASE100. Průměrná hmotnost v g na rostlinu. Osa X obsahuje čísla genotypů – 133-180, genotyp 151 – NA; control – kontrolní skupina, drought – skupina ošetřená suchem, n (počet genotypů) = 47, n (počet rostlin na genotyp) = 6-12.



Obrázek 39 – Hmotnost nadzemní biomasy na rostlinu (AGB v g) z termínu DAP 20 polního experimentu BASE100 pro vybraných pět genotypů. Průměrná hmotnost v g na rostlinu; control – kontrolní skupina, drought – skupina ošetřená suchem, n (počet rostlin na genotyp) = 6-12.

Experiment	Termín měření	Strana listu	Čas měření	Skupina	Závislá proměnná	VI	R ²
BASE100	DAP 19	AD	AM	sucho	AGB	GRVI	0,35
BASE100	DAP 19	AD	PM	sucho	AGB	GRVI	0,31
BASE100	DAP 19	AD	PM	sucho	AGB	NGBDI	0,3
BASE100	DAP 19	AB	AM	sucho	AGB	NDRE	0,25

Tabulka 11 – Výsledky lineárních regresí hmotnosti suché nadzemní biomasy (AGB) s vegetačními indexy (VI) měřenými během polního experimentu BASE100. DAP (days after planting) – dny po vysetí, AD – adaxiální strana listu, AB – abaxiální strana listu, AM – ranní měření spektrální informace, PM – odpolední měření spektrální informace, AGB (above ground biomass) – hmotnost suché nadzemní biomasy rostlin, VI (vegetation index) – vegetační index, konkrétní názvy VIs viz Tabulka 3, R² – koeficient determinace, n (DAP19) = 48.

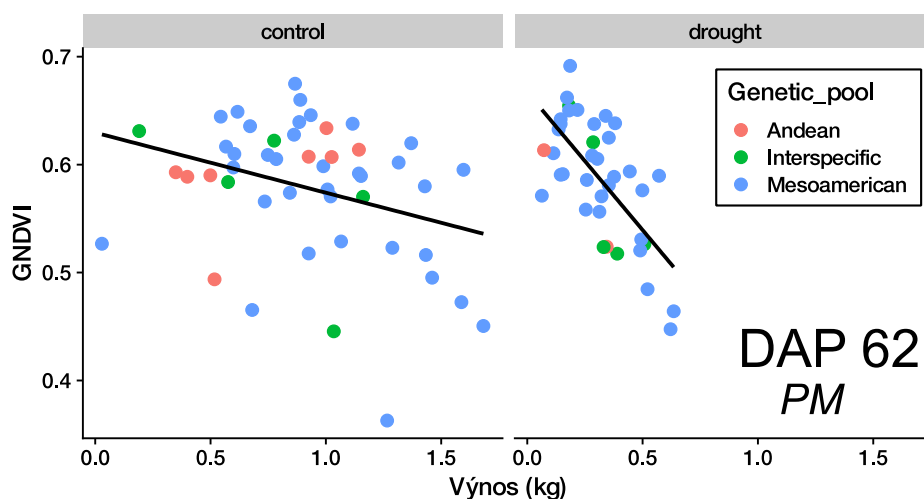
6.2.5 Lineární regrese finálního výnosu a vegetačních indexů

V pokusu BASE100 rostliny dosáhly finální fáze svého vývoje. Byly sklizeny, když lusky dosáhly zralosti, a po jejich sklizni byl stanoven výsledný výnos (SY – anglicky „seed yield“) jednotlivých parcel (rozdíly jednotlivých genotypů mezi kontrolní a stresovanou skupinou jsou k prohlédnutí viz kapitola 6.2.1). Výsledná hmotnost semen ze dvou řádků parcely, na které byla měřena i odrazivost listů, byla použita pro lineární regresi s VI (seznam VIs v Tabulka 3) vypočítanými ze spekter měřených v termínech DAP 19, DAP 34, DAP 42 a DAP 62. Hodnoty R² v případě termínu DAP 19 byly velmi nízké, ale u zbylých termínů jsou některé hodnoty R² vyšší než 0,35. Výsledky, které dosahovaly vyšší míry vysvětlení variability v datech SY a jsou obsaženy v Tabulka 12. VI vypočítané ze spekter naměřených na AD straně listu systematicky odhadovaly SY lépe než VI ze spekter získaných z AB strany listu. Avšak i pro lineární regresi provedenou s VI z AB strany vycházely vegetační indexy GNVDI, NDRE a NGBDI s nejvyšším R². Jedná se o stejné VIs, které měly největší úspěch v odhadu SY na AD straně listu. Podobně jako u lineární regrese AGB v předchozí kapitole 6.2.4 skupina vystavená stresu suchem měla obecně vyšší hodnoty R² ve srovnání s kontrolní skupinou. Největší potenciál pro odhad SY ze spekter má GNDVI, který v případě dopoledního (AM) i odpoledního (PM) měření dosahoval nejvyšších hodnot R², a to i přestože podobně jako v případě lineární regrese AGB dochází k mixování úrovní – optické vlastnosti na úrovni listu s výsledným výnosem na úrovni celého porostu/parcely.

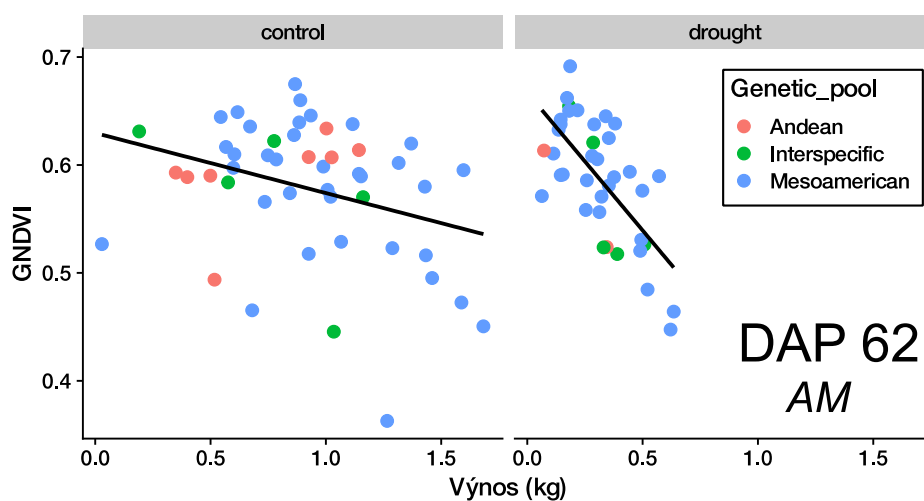
Experiment	Termín měření	Strana listu	Čas měření	Skupina	Závislá proměnná	VI	R ²
BASE100	DAP 62	AD	AM	sucho	SY	GNDVI	0,43
BASE100	DAP 62	AD	AM	sucho	SY	BNDVI	0,43
BASE100	DAP 62	AD	AM	sucho	SY	NDRE	0,42
BASE100	DAP 62	AD	AM	sucho	SY	NDVI	0,42
BASE100	DAP 62	AD	PM	sucho	SY	GNDVI	0,47
BASE100	DAP 62	AD	PM	sucho	SY	NDRE	0,36
BASE100	DAP 62	AD	PM	sucho	SY	NGBDI	0,36
BASE100	DAP 42	AD	PM	sucho	SY	NDVI	0,40
BASE100	DAP 42	AD	PM	sucho	SY	BNDVI	0,35
BASE100	DAP 34	AD	PM	sucho	SY	NDVI	0,39
BASE100	DAP 34	AD	PM	sucho	SY	NDREI	0,38
BASE100	DAP 34	AD	PM	sucho	SY	BNDVI	0,36

Tabulka 12 – Výsledky lineárních regresí finálního výnosu (SY) s vegetačními indexy (VI) měřenými během polního experimentu BASE100. DAP (days after planting) – dny po vysetí, AD – adaxiální strana listu, AM – ranní měření spektrální informace, PM – odpolední měření spektrální informace, SY (seed yield) – finální výnos, VI (vegetation index) – vegetační index, konkrétní názvy VIs viz Tabulka 3, R² – koeficient determinace; n (DAP34) = 48, n (DAP42) = 48, n (DAP62) = 38.

Proč odhad výnosu pomocí GNDVI funguje lépe pro skupinu vystavenou vodnímu stresu (R²=0,47) než pro kontrolní skupinu (R²=0,1) dává lépe pochopit Obrázek 40, kde je vidět rozdílné rozložení hodnot výsledného výnosu všech 48 genotypů. U kontrolní skupiny je v hodnotách SY větší rozptyl, než je u stresované skupiny. U vegetačního indexu GNDVI denní doba měření spektrálních vlastností rostlin nehrála roli, hodnota R² konzistentně dosahovala nejvyšších hodnot v rámci všech testovaných VIs. V kontrolní skupině je větší variabilita ve výsledném výnosu. Jednotlivé genotypy nebyly limitovány dostupností vody, proto dosahoval finální výnos většiny genotypů vyšších hodnot SY než stejný genotyp v suchem stresované skupině. Všechny genotypy (kromě SAB 659 – genotyp 134) reagovaly na stres snížením SY. V termínu DAP 62 u skupiny vystavené stresu suchem došlo u 10 genotypů k úplnému seschnutí všech listů (počet genotypů – n (kontrola) = 48, n (sucho) = 38). Proto chybí pro DAP 62 spektrální data pro 10 genotypů ve stresované skupině. Ve skupině těchto genotypů, které nejrychleji dozrály a dokončily svůj životní cyklus dříve než většina ostatních genotypů, obsahovala převážně genotypy z andského genového poolu (jak je možné vidět na Obrázek 40 a Obrázek 41). Pro vegetační index NDVI vycházely hodnoty R² vyšší než 0,3 v několika termínech měření. Pro porovnání jsou tyto grafy vloženy do sekce 10. Přílohy na konci této práce (viz Obrázek 59, Obrázek 60 a Obrázek 61).



Obrázek 40 – Lineární regrese finálního výnosu (SY) a vegetačního indexu GNDVI z polního experimentu BASE100 v termínu DAP 62. Spektrální data PM měření na AD straně listu, porovnání kontrolní ($R^2=0,1$) a stresované skupiny ($R^2=0,47$); GNDVI – anglicky „Green Normalized Difference Vegetation Index“, control – kontrolní skupina, drought – skupina vystavená stresu suchem, DAP (days after planting) – dny po vysetí, PM – odpolední měření spektrální informace, Genetic_pool (GP) – genový zdroj (pool), Andean – andský GP, Mesoamerican – mezoamerický GP, Interspecific – mezidruhový kříženci, R^2 – koeficient determinace, n (kontrola) = 48, n (sucho) = 38.



Obrázek 41 – Lineární regrese finálního výnosu (SY) a vegetačního indexu GNDVI z polního experimentu BASE100 v termínu DAP 62, spektrální data AM měření na AD straně listu, porovnání kontrolní ($R^2 = 0,09$) a stresované skupiny ($R^2 = 0,43$); GNDVI – anglicky „Green Normalized Difference Vegetation Index“, control – kontrolní skupina, drought – stresovaná skupina, DAP (days after planting) – dny po vysetí, AM – dopolední měření spektrální informace, Genetic_pool (GP) – genový zdroj (pool), Andean – andský GP, Mesoamerican – mezoamerický GP, Interspecific – mezidruhový kříženci, R^2 – koeficient determinace, n (kontrola) = 48, n (sucho) = 38.

6.2.6 Biofyzikální vlastnosti listu – RWC a SLA

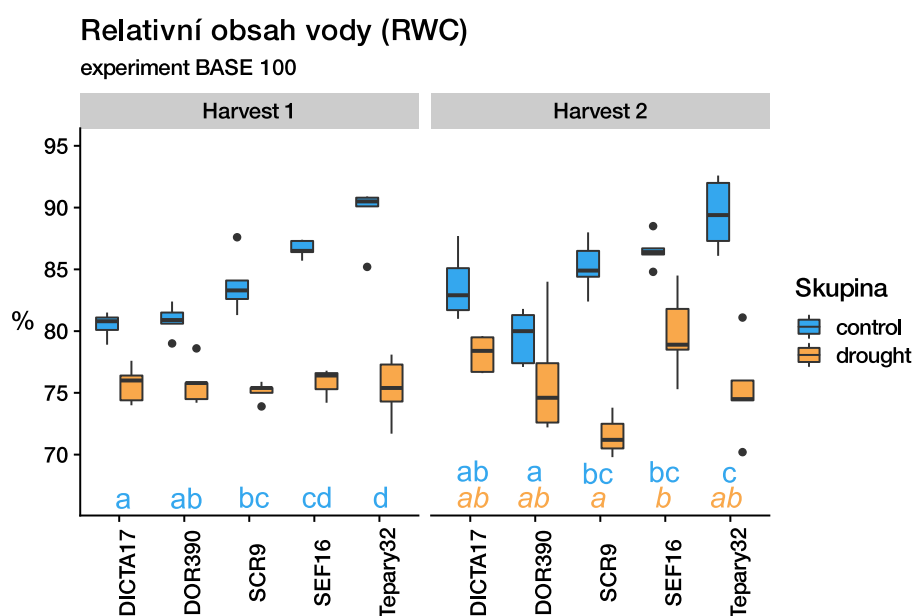
Během experimentu BASE100 proběhly odběry pro stanovení RWC ve dvou termínech (DAP 41 a DAP 48 pro sucho a DAP 49 a DAP 56 pro kontrolu). Pro vybraných pět genotypů rozdíly mezi kontrolní a stresovanou skupinou vyšly pro oba termíny signifikantní. Ve skupině ošetřené suchem u všech sledovaných genotypů došlo k poklesu hodnoty RWC oproti stejnému genotypu v kontrolní skupině. U senzitivních genotypů (DICTA 17 a DOR 390) byly rozdíly mezi hodnotami kontrolní

a stresované skupiny menší (v průměru 5,2 % a 4,2 %, v daném pořadí) než u rezistentních genotypů (SCR 9, SEF 19 a Tepary 32), kdy byl rozdíl hodnot RWC mezi kontrolní a stresovanou skupinou výraznější (rozdíly mezi skupinami: 10,7 %, 8,3 % a 14,2 %, v daném pořadí genotypů).

V případě, že vícefaktorový ANOVA test prokázal signifikantní rozdíl v RWC mezi pěti vybranými genotypy v některém z termínů, byly rozdíly dále testovány pomocí vícenásobných srovnávacích testů (v případě normálního rozdělení byl použit Tukey-Kramerův test, když bylo rozdělení nenormální, byl aplikován Wilcoxonův test). Rozdíly mezi genotypy byly signifikantní u kontrolní skupiny v obou termínech a u stresované skupiny pro pozdější termín (DAP 48) – viz Obrázek 42. V případě experimentu BASE100 měly rezistentní genotypy vždy vyšší průměrné hodnoty RWC v kontrolní skupině, tato tendence se však vytratila, pokud byly genotypy vystaveny suchu.

	DAP	<i>DICTA</i> <i>17</i>	<i>DOR</i> <i>390</i>	SCR9	SEF 16	Tepary 32
Control	avrg	82,1	80,2	84,5	86,6	89,5
Harvest 1	49	80,5	80,9	83,8	86,7	89,5
Harvest 2	56	83,7	79,5	85,2	86,5	89,5
Drought	avrg	76,9	76,0	73,8	78,3	75,3
Harvest 1	41	75,7	75,8	75,1	75,8	75,4
Harvest 2	48	78,2	76,2	71,6	79,8	75,2

Tabulka 13 – Průměrné hodnoty relativního obsahu vody (RWC) z polního experimentu BASE100. Odběry ze dvou termínů: kontrola – DAP 49 a 56, sucho – DAP 41 a 48; RWC (relative water content) – relativní obsah vody, Control – kontrolní skupina, Drought – skupina ošetřená suchem, Harvest – odběr, avrg – průměrná hodnota za skupinu z obou odběrů, názvy genotypů – *DICTA* 17, *DOR* 390, SCR 9, SEF 16, Tepary 32; názvy genotypů jsou označeny dle odolnosti vůči suchu – kurzívou červeně senzitivní genotypy a modře odolné genotypy; n (kontrola) = 240, n (sucho) = 288.



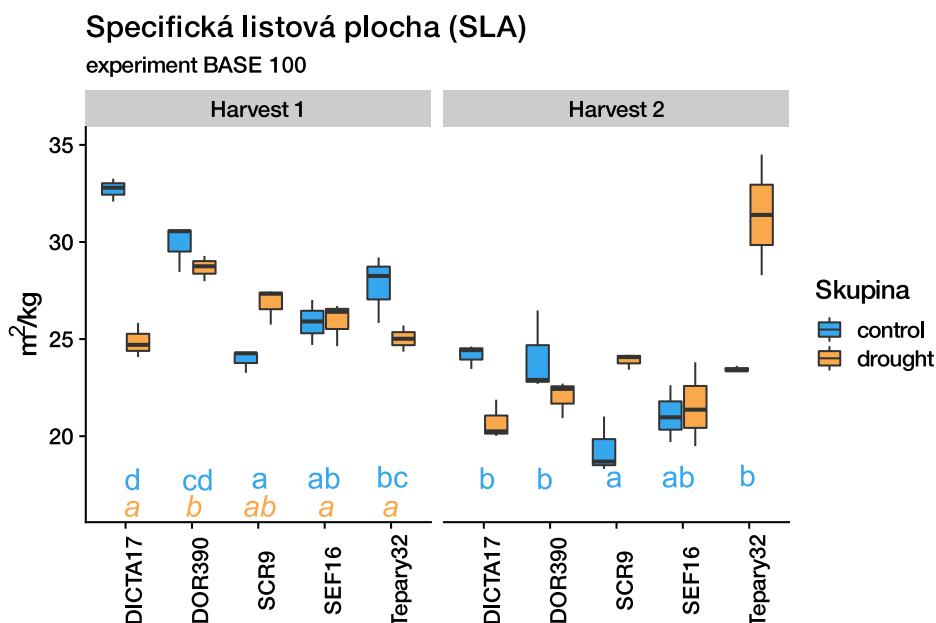
Obrázek 42 – Relativní obsah vody (RWC) měřený ve dvou termínech během experimentu BASE100: Harvest 1 – DAP 41 (drought) a DAP 49 (control); Harvest 2 – DAP 48 (drought) a DAP 56 (control); DAP (days after planting) – dny po vysetí; control – kontrolní skupina, drought – skupina s ošetřením (bez závlivky), názvy genotypů – *DICTA* 17, *DOR* 390, SCR9, SEF16, Tepary32; n (Harvest 1) = 48, n (Harvest 2) = 48;

V případě průkazného efektu genotypu (vícefaktorový ANOVA test) byly rozdíly mezi nimi testovány pomocí vícenásobných srovnávacích testů. V případě normálního rozdělení byl aplikován Tukey–Kramerův test, v případě nenormálního rozdělení Wilcoxonův test. V grafu jsou pro oba termíny odběrů vyznačeny od sebe navzájem se lišící genotypy pomocí rozdílných písmen, pokud písmena chybí, rozdíly mezi genotypy nejsou přítomny. Kontrolní skupina je značena modrými písmeny a skupina ošetřená suchem je značena oranžovými písmeny kurzívou. Rozdíly byly hodnoceny jako průkazné na hladině $\alpha = 0,05$. Horizontální příčka v boxech značí medián, střední krabicová část je shora ohraničena 3. kvantilem, zespodu 1. kvantilem. Vertikální úsečky vyjadřují variabilitu dat pod prvním a nad třetím kvantilem. Tečky zobrazují odlehlá pozorování.

Odběry pro analýzu SLA byly provedeny také ve dvou termínech (DAP 39 & 40 a DAP 58 pro sucho a DAP 38 & 39 a DAP 58 & 60 pro kontrolní skupinu). Podobně jako u RWC i pro SLA vyšly rozdíly mezi kontrolní a stresovanou skupinou v obou termínech signifikantní. Na základě vícefaktorového ANOVA testu vyšel rozdíl mezi genotypy signifikantní pro oba termíny. Dále byly rozdíly mezi nimi testovány odděleně pro skupiny v jednotlivých termínech pomocí vícenásobných srovnávacích testů. Rozdíly mezi genotypy se ukázaly být signifikantní pro první odběrový termín u obou skupin a pro druhý termín pouze pro kontrolní skupinu (viz Obrázek 43). Senzitivní genotypy (DICTA 17 a DOR 390) reagovaly poklesem průměrné hodnoty SLA v podmínkách snížené dostupnosti vody (pokles o 1,2-7,8 m²/kg oproti kontrolní skupině) v obou termínech, tedy na jednotku hmotnosti suché biomasy tvořily citlivé genotypy menší listovou plochu. Odolné genotypy SCR 9 a SEF 16 buď neměly reakci na sucho žádnou, nebo se naopak s nastoupeným vodním stresem průměrná hodnota SLA zvýšila, tedy vytvářely listy o větší ploše na jednotku hmotnosti suché biomasy listu. Reakcí Tepary 32 byl pokles SLA při prvním odběru, ale ve druhém termínu se hodnota SLA výrazně zvýšila, a to o 12,9 m²/kg. Tento výrazný rozdíl mezi skupinami u genotypu Tepary 32 je viditelný na Obrázek 43.

	DAP	<i>DICTA 17</i>	<i>DOR 390</i>	SCR 9	SEF 16	Tepary 32
Control	avrg	28.4	27.0	21.6	23.5	25.6
Harvest 1	38 & 39	32.7	29.9	23.9	25.9	27.8
Harvest 2	58 & 60	24.2	24.0	19.3	21.1	23.4
Drought	avrg	22.8	25.3	25.4	23.7	30.7
Harvest 1	39 & 40	24.9	28.7	26.8	25.9	25.0
Harvest 2	58	20.7	22.0	23.9	21.6	36.3

Tabulka 14 – Průměrné hodnoty specifické listové plochy (SLA) z polního experimentu BASE100. Odběry ze dvou termínů: kontrola – DAP 38 & 39 a DAP 58 & 60, sucho – DAP 39 & 40 a DAP 58; SLA (specific leaf area) – specifická listová plocha, control – kontrolní skupina, drought – skupina bez závlahy, Harvest – odběr, avrg – průměrná hodnota za skupinu z obou odběrů, názvy genotypů – DICTA 17, DOR 390, SCR 9, SEF 16, Tepary 32; Názvy genotypů jsou označeny dle odolnosti vůči suchu – kurzívou červeně senzitivní genotypy a modře odolné genotypy; n (kontrola) = 30, n (sucho) = 30.



Obrázek 43 – Specifická listová plocha (SLA) měřená ve dvou termínech během polního experimentu BASE100; Harvest 1 – DAP 39 & 40 (drought) a DAP 38 & 39 (control); Harvest 2 – DAP 58 (drought) a DAP 58 & 60 (control); DAP (days after planting) – dny po vysetí; control – kontrolní skupina, drought – skupina ošetřena suchem, názvy genotypů – DICTA 17, DOR 390, SCR9, SEF16, Tepary32; n (Harvest 1) = 30, n (Harvest 2) = 29;

V případě průkazného efektu genotypu (vícefaktorový ANOVA test) byly rozdíly mezi nimi testovány pomocí vícenásobných srovnávacích testů. V případě normálního rozdělení byl aplikován Tukey–Kramerův test, v případě nenormálního rozdělení Wilcoxonův test. V obou termínech jsou vyznačeny od sebe navzájem se lišící genotypy pomocí rozdílných písmen, pokud písmena chybí, rozdíly mezi genotypy nejsou přítomny. Kontrolní skupina je značena modrými písmeny a skupina ošetřená suchem je značena oranžovými písmeny kurzívou. Rozdíly byly hodnoceny jako průkazné na hladině $\alpha = 0,05$. Horizontální příčka v boxech značí medián, střední krabicová část je shora ohraničena 3. kvartilem, zespodu 1. kvartilem. Vertikální úsečky vyjadřují variabilitu dat pod prvním a nad třetím kvartilem. Tečky zobrazují odlehlá pozorování.

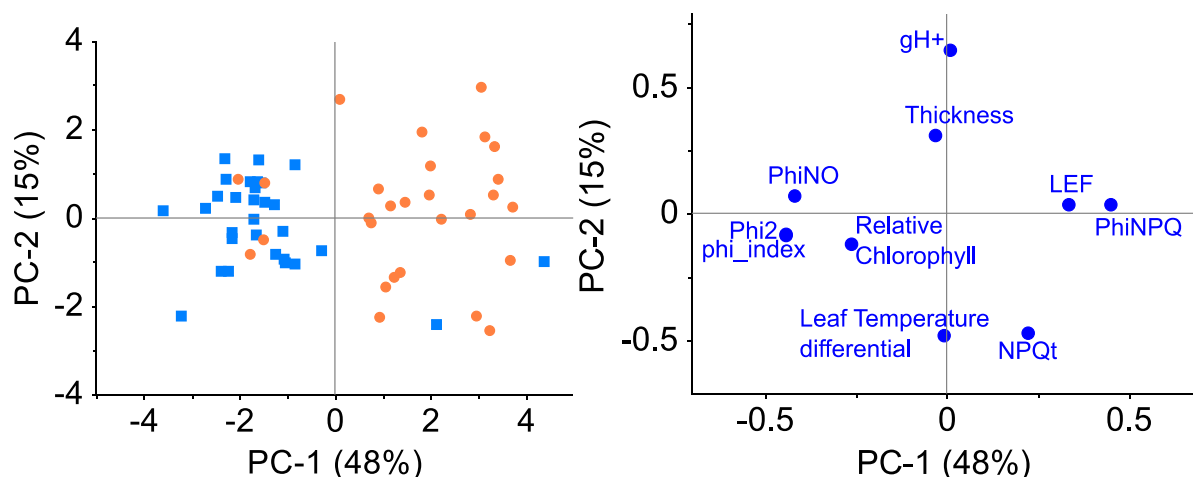
6.2.7 PCA dat z kapesního fluorimetru MultispeQ

Pro vybrané parametry měřené pomocí kapesního fluorimetru MultispeQ – Phi2, Phi index, PhiNO, NPQt, PhiNPQ, gH+, LEF, relativní obsah chlorofylu, tloušťka listu a rozdíl teploty měřeného listu a okolního vzduchu (LTD – anglicky „leaf temperature differential“). Pro PCA těchto dat byl vybrán termín, u kterého PCA spektrálních dat nejlépe odlišila kontrolní a suchem stresovanou skupinu – termín DAP 19. Přestože v tuto chvíli ještě u ošetřené skupiny nebyl přítomný stres suchem. Bylo tomu tak ve snaze odhalit, zda některý z parametrů měřený MSPQ nejlépe vysvětluje tuto výraznou rozdílnost mezi spektrálními informacemi skupin. Pro porovnání byla zahrnuta data z dopoledního (AM) i odpoledního (PM) měření. Pro analýzu byly vyselektovány genotypy DOR 390, DICTA 17, SCR 9, SEF 16 a Tepary 32. Na grafu PCA z AM měření (viz Obrázek 44) je viditelné oddělení jednotlivých ošetření (kontrola a sucho) podél PC1, která vysvětluje 48 % variability v datech. Právě grafy na Obrázek 44Obrázek 45 zobrazují pozice jednotlivých parametrů, z nichž lze vidět, jak který z nich přispívá ke shlukování měřených vzorků. K oddělení skupin vzorků příslušících ke kontrolní a ke stresované skupině nejvíce přispívají parametry Phi2, Phi index, PhiNO, LEF a PhiNPQ.

Na Obrázek 45 se skupiny v PCA během PM měření částečně překrývají a nejsou jasně oddělitelné na základě parametrů měřených přístrojem MSPQ. Nejvíce však k oddělení přispěly PhiNPQ a NPQt spolu s relativním chlorofylem a LEF.

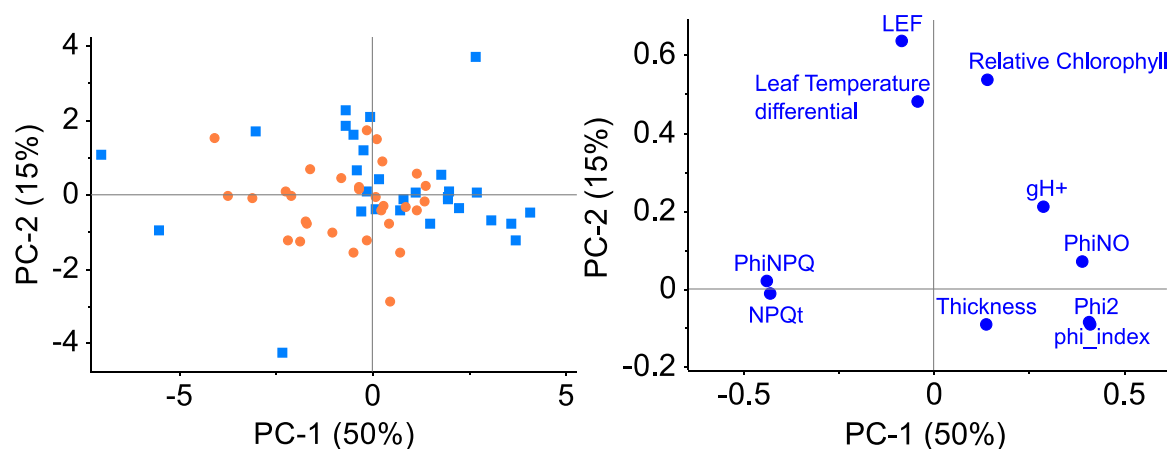
Na těchto parametrech by se dalo dále provést testování vícefaktorovým ANOVA testem, zda jsou rozdíly mezi skupinami signifikantní. Analýzy vícenásobnými srovnávacími testy by byly schopny odhalit rozdíly mezi genotypy v těchto parametrech. Tyto analýzy by mohly přispět k lepšímu pochopení reakce na faktor působící rozdílně na obě skupiny. Bohužel z časových a prostorových

důvodů tyto analýzy provedeny nebyly, přestože tato data mají potenciál rozvíjet nástroje pro výzkum reakcí u fazolu.



Obrázek 44 – Analýza hlavních komponent (PCA) dat měřených pomocí kapesního fluorimetru MultispeQ během polního experimentu BASE100 dopoledne (AM) v termínu DAP 19; graf vlevo – PCA měřených pozorování, graf vpravo – „loadings“ vstupujících parametrů; $n = 50$.

PC (principal component) – hlavní komponenta, DAP (days after planting) – dny po vysazení, control – kontrolní skupina, drought – skupina s ošetřením (bez závlahy), gH+ – protonová vodivost ATP syntázy, Leaf Temperature differential (LTD) – rozdíl teploty listu a okolního vzduchu, LEF (linear electron flow) – lineární tok elektronů, NPQt – odhad nefotochemického zhášení, Phi2 – kvantový výtěžek PSII, PhiNO – poměr vstupujícího světla ztraceného skrze neregulované procesy, PhiNPQ – část pohlceného světla, které je nefotochemicky zhášeno, Relative Chlorophyll – relativní obsah chlorofylu (SPAD), Thickness – tloušťka listu, phi_index – index Phi.



Obrázek 45 – Analýza hlavních komponent (PCA) dat měřených pomocí kapesního fluorimetru MultispeQ během polního experimentu BASE100 odpoledne (PM) v termínu DAP 19; graf vlevo – PCA měřených pozorování, graf vpravo – „loadings“ vstupujících parametrů; $n = 50$.

PC (principal component) – hlavní komponenta, DAP (days after planting) – dny po vysazení, control – kontrolní skupina, drought – skupina s ošetřením (bez závlahy), gH+ – protonová vodivost ATP syntázy, Leaf Temperature differential (LTD) – rozdíl teploty listu a okolního vzduchu, LEF (linear electron flow) – lineární tok elektronů, NPQt – odhad nefotochemického zhášení, Phi2 – kvantový výtěžek PSII, PhiNO – poměr vstupujícího světla ztraceného skrze neregulované procesy, PhiNPQ – poměr absorbovaného světla, které je nefotochemicky zhášeno, Relative Chlorophyll – relativní obsah chlorofylu (SPAD), Thickness – tloušťka listu, phi_index – index Phi.

6.2.8 ANOVA vegetačních indexů

Výsledky lineárních regresí hmotnosti suché nadzemní biomasy a lineární regrese výsledného výnosu s devíti vybranými VIs (viz kapitoly 6.2.4 a 6.2.5) byly podkladem pro další analýzy. V případech, kdy

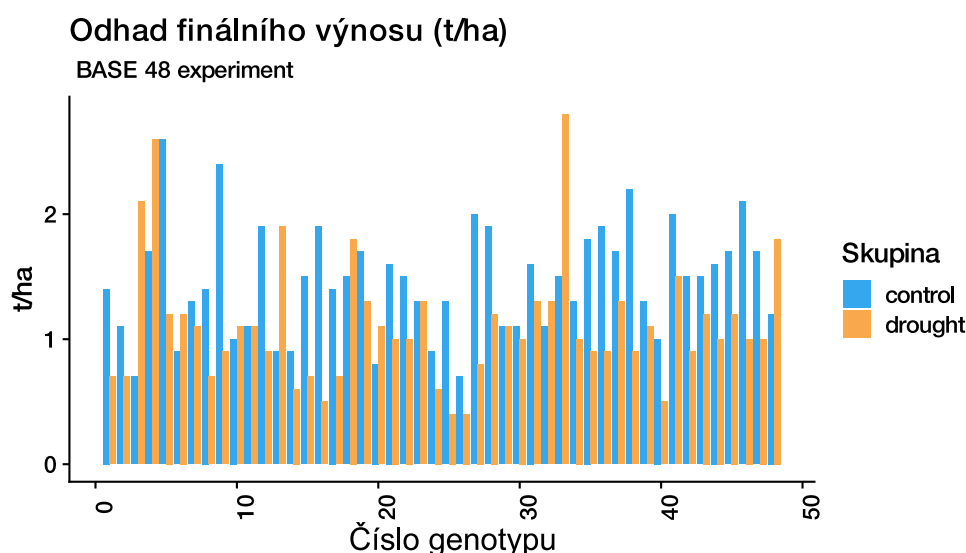
agronomické parametry (AGB nebo SY) dobře korelovaly s VI, byl aplikován vícefaktorový ANOVA test pro stanovení, zda jsou přítomny rozdíly mezi skupinami kontrolní a stresovanou, a také zda byly průkazné rozdíly mezi genotypy. Celkový seznam provedených testování je k nalezení v sekci 10. Přílohy (viz Tabulka 23). Rozdíly byly hodnoceny jako průkazné na hladině $\alpha = 0,05$.

6.3 BASE48 – polní pokus v r. 2021

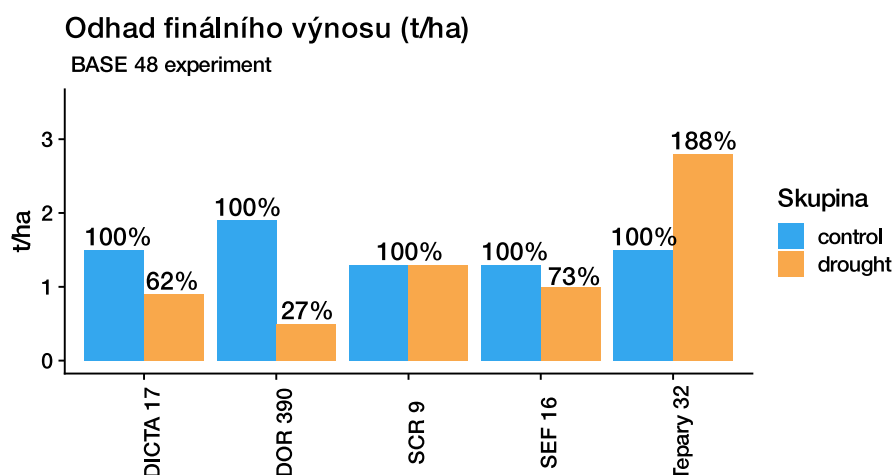
6.3.1 BASE48 – index intenzity sucha a průběh půdní vlhkosti

V pokusu BASE48 se jednalo o vlhké období roku, proto byla skupina ošetřená suchem umístěna pod mobilní přístřešek. Index intenzity sucha (DII) byl stanoven i pro experiment BASE48 (DII = 0,24). Tato hodnota naznačuje, že během experimentu BASE48 vodní stres u skupiny vystavené snížené dostupnosti vody nebyl velmi silný. Hodnoty DII, které byly o něco vyšší (bylo dosaženo větší intenzity sucha), bylo zaznamenáno v jiných experimentech (také situovaných na poli pod přístřeškem) – například ve studiích na fazolu Acosta-Díaz *et al.* (2009) (DII = 0,5) nebo Ramirez-Vallejo a Kelly (1998) (DII = 0,63). U stresované skupiny nedošlo k velkému poklesu obsahu vody v půdě. O tom svědčí i Obrázek 48, který ukazuje průběhy půdní vlhkosti z hodnot naměřených na kontrolním poli i na poli pod mobilním přístřeškem. Pokles vody v půdě u stresované skupiny byl však dostatečně silný, aby navodil signifikantní změny v měřených parametrech (RWC a SLA). Výsledky těchto analýz jsou prezentovány v následujících podkapitolách.

Odhad výsledného výnosu v tunách na hektar byl vypočítán na základě sklizené plochy o velikosti 0,3 m² u kontrolní skupiny a u stresované skupiny se jednalo o plochu v průměru o velikosti 4,4 m² v závislosti na délce sklizeného řádku (viz Obrázek 46 – všech 48 genotypů a Obrázek 47 – vybraných pět genotypů). Zároveň během experimentu působily na kontrolní skupinu zavlažovanou spadem srážek meteorologické podmínky daného ročního období, které bylo v roce 2021 neobyčejně vlhké. Často docházelo k zaplavování půdy na kontrolním poli. Vysoký obsah vody v půdě pravděpodobně negativně působil na kořenový systém rostlin v kontrolní skupině tvorbou hypoxického až anoxického prostředí. To vedlo až ke žloutnutí listů u některých genotypů. Z toho důvodu odhady výsledného výnosu nemusí být zcela vypovídající, vzhledem k tomu, že kontrolní skupina nerostla ve zcela vhodných podmínkách pro růst fazolu. Je možné, že u genotypů, které snáší zaplavení hůře, toto vedlo k poklesu výnosu i u rostlin v kontrolní skupině (viz Obrázek 47 – Tepary 32).

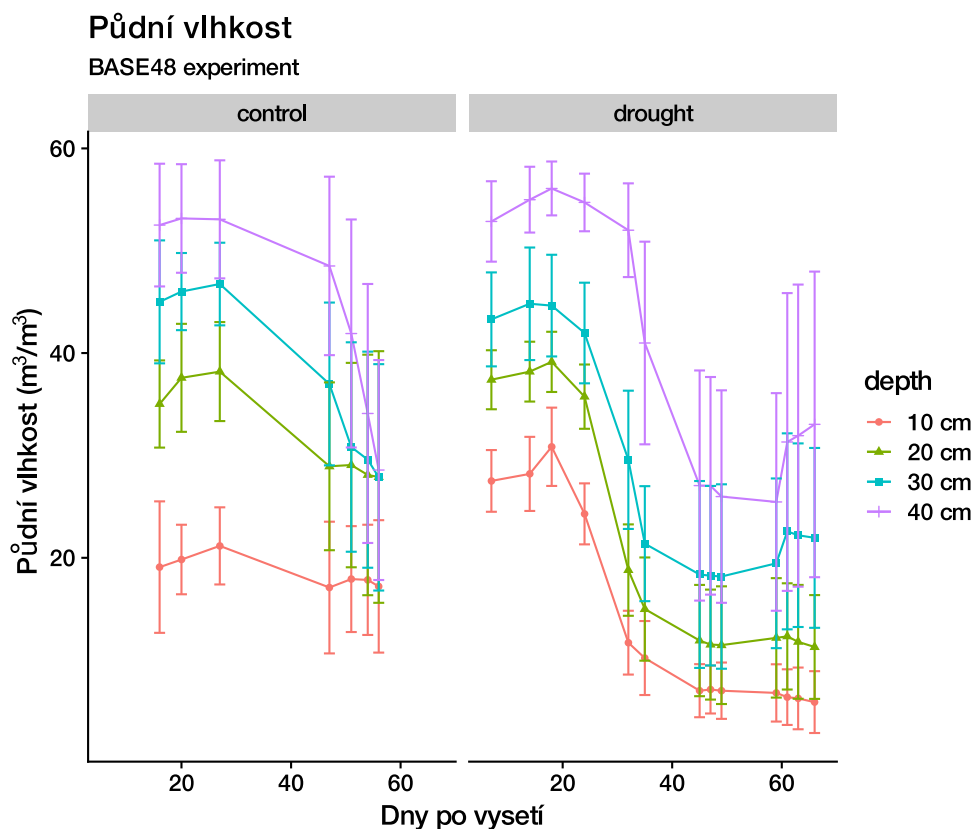


Obrázek 46 – Odhad výsledného výnosu (t/ha) polního experimentu BASE48 pro všech 48 genotypů; control – kontrolní skupina, drought – skupina bez závlahy pod mobilním přístřeškem; osa X obsahuje čísla genotypů – vlevo je zobrazen odhad výnosu pro kontrolní skupinu a vpravo pro stresovanou skupinu, 10 genotypů mělo vyšší odhad výnosu ve stresované skupině oproti kontrolní skupině. Číslo vybraných genotypů: 16 – DOR 390; 23 – SCR 9; 33 – Tepary 32; 34 – SEF 16; 42 – DICTA 17.



Obrázek 47 – Odhad výsledného výnosu (t/ha) polního experimentu BASE48 pro vybraných pět genotypů, control – kontrolní skupina, drought – skupina bez závlahy pod mobilním přístřeškem, názvy genotypů – DICTA 17, DOR 390, SCR9, SEF16, Tepary32.

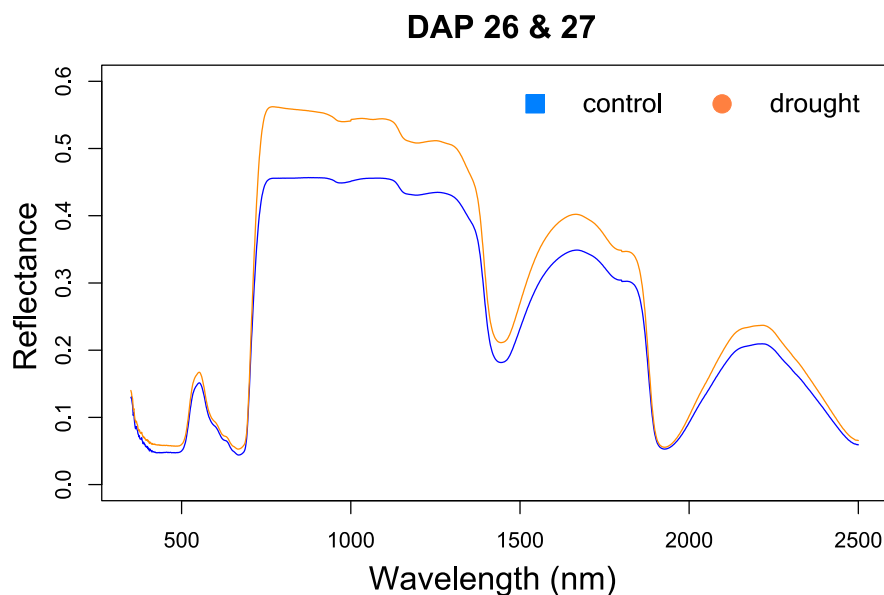
Půdní vlhkost byla zaznamenávána v průběhu celého experimentu podle postupu viz kapitola 4.2.2 pomocí PR2 Profile Probe půdního vlhkoměru. Na Obrázek 48 je vidět, jaký byl průběh změn v půdní vlhkosti pro kontrolní a stresovanou skupinu během celého experimentu v několika úrovních půdního profilu (10, 20, 30 a 40 cm). Počáteční vysoká půdní vlhkost u stresované skupiny byla způsobena zavlažováním během několika prvních dnů po vysetí (do DAP 18). To bylo zajišťováno automatickým zavlažovacím systémem nainstalovaným v mobilním přístřešku. Po DAP 18 byla skupina s ošetřením ponechána bez jakéhokoliv přísunu vody a na grafu je viditelný výrazný pokles půdní vlhkosti, zejména v horních 20 cm půdního horizontu, kde se nachází nejvíce kořenové hmoty fazolů. V posledních dnech experimentu (po DAP 60) došlo opakovaně k výraznému spadu srážek, který mohl způsobit mírný nárůst půdní vlhkosti v hlubších vrstvách půdního horizontu prosakováním vody z okolí mobilního přístřešku. Přestože půdní vlhkost postupně klesala i u kontrolní skupiny (jde o normální proces poklesu závlah kvůli zdárnému ukončení vegetační doby a zrání semen), nedošlo k tak výraznému poklesu, který by navodil vodní stres. V kontrolní skupině nedošlo k poklesu vlhkosti půdy až do dne DAP 50. V této době mají rostliny již vyvinuté lusky. Oproti tomu u ošetřené skupiny pod mobilním přístřeškem signifikantně klesla půdní vlhkost již mezi 20 a 30 dnem po vysetí, tedy těsně před kvetením. U stresované skupiny byl přítomný výrazný vliv poklesu dostupnosti vody v půdě, a to, přestože pokus probíhal v období roku, kdy je vlhko. To mohlo zapříčinit dosycování půdní vlhkosti z okolního promáčeného prostředí. Přesto okolo DAP 40 ve svrchních vrstvách půdy klesla vlhkost pod 10 % půdní vlhkosti, což je v kontextu podmínek CIAT považováno za velmi silný vodní stres. Co se výsledného výnosu a nekonzistentního rozdílu mezi skupinami týče (některé genotypy v ošetřené skupině měly vyšší výnos než ty v kontrolní skupině) – fazol je citlivý na zaplavení (Ntukamazina *et al.*, 2017). Proto rostliny v tzv. kontrolní skupině mohly být ve stresu způsobeném nadměrnou vlhkostí půdy. Lze díky tomu chápat, že to mohlo u některých genotypů zapříčinit pokles výsledného výnosu, který byl ve výsledku nižší než výnos stejného genotypu v ošetřené skupině.



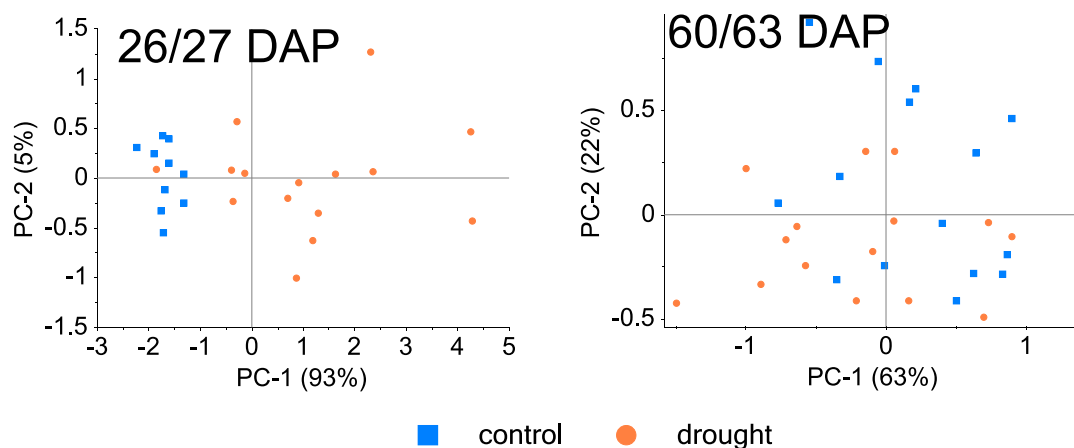
Obrázek 48 – Průběh půdní vlhkosti (m^3/m^3) u kontrolní a ošetřené skupiny během experimentu BASE48 v různých úrovních půdního horizontu (10 cm, 20 cm, 30 cm a 40 cm), rozdělení do grafů dle ošetření: levý obrázek – control (kontrolní skupina); pravý obrázek – drought (skupina ošetřena suchem); n (kontrola) = 333, n (sucho) = 1052.

6.3.2 PCA spektrálních dat BASE48

Obdobně jako u dat z experimentu BASE100 byla vyselektována spektrální data pěti vybraných genotypů (stejných jako u skleníkového pokusu GH2). Obrázek 49 ukazuje podobu průměrné spektrální křivky měřenou v termínu DAP 26/27, spektra jsou rozdělena na základě příslušnosti ke skupině (kontrola a sucho). Na spektrálních datech byla provedena analýza hlavních komponent (PCA). Na výsledcích PCA spekter měřených v prvním termínu (DAP 26/27) je pozorovatelné jasné klastrování vzorků na základě jejich příslušnosti ke kontrolní či stresované skupině. Tento termín měření byl týden po započatí navozování stresu suchem u ošetřené skupiny. Na Obrázek 50 jsou vidět výrazné rozdíly mezi kontrolní a stresovanou skupinou v jejich spektrální informaci. V případě DAP 26/27 je pomocí PC-1 vysvětleno 93 % variability v datech. Z grafu je zřejmé, že se na základě této komponenty tvoří v datech dvě jasné odlišitelné skupiny odpovídající rozdělení na skupiny s odlišnou dostupností vody v půdě. Na Obrázek 50 nejsou v případě DAP 60/63 viditelné žádné tendence k seskupování vzorků podle ošetření, a to ani v náznavu. Experiment BASE48 a BASE100 nejsou zcela srovnatelné, protože každý z nich byl proveden v jiném období roku, s odlišnými charakteristikami meteorologických podmínek. V roce 2019 (BASE100) byly rostliny pěstovány v suchém období roku. Oproti tomu experiment v roce 2021 (BASE48) byl zasazen do přechodné fáze roku, kdy panovalo zpočátku sucho, postupně se však zvyšoval přísun srážek a ke konci panovalo velmi vlhké klima. Suchem ošetřené rostliny pěstované pod mobilním přístřeškem byly ale chráněny před spadem srážek. Na základě naměřené vlhkosti vzduchu během polních experimentů (viz Tabulka 5) se dá usuzovat, že vlhkost vzduchu v období obou experimentů se výrazně nelišila, a tedy by rozdílná roční období a s ní spojené rozdíly ve vlhkosti vzduchu neměly mít vliv na rozdílnost stresu suchem těchto dvou experimentů.



Obrázek 49 – Průměrná křivka odrazivosti listu vytvořené ze spekter AD strany listu měřených v termínu DAP 26/27 během polního experimentu BASE48. Vizualizace spekter pro vybraných pět genotypů (DICTA 17, DOR 390, SCR 9, SEF 16, Tepary 32). Reflectance – odrazivost listu, Wavelength (nm) – vlnová délka v nm, AD – adaxiální strana listu, DAP (days after planting) – dny po vysetí, control – kontrolní skupina, drought – skupina ošetřená suchem. $n = 25$.



Obrázek 50 – Analýza hlavních komponent (PCA) spekter měřených na AD straně listu během experimentu BASE48 (pro vybraných pět genotypů); DAP (days after planting) – dny po vysetí, AD – adaxiální strana listu, PC (principal component) – hlavní komponenta, názvy genotypů – DICTA17, DOR390, SCR9, SEF16, Tepary32; $n(\text{DAP } 26/27) = 25$, $n(\text{DAP } 63/60) = 30$.

6.3.3 PLSR modelování dat polního pokusu BASE48

Pro data z experimentu BASE48 bylo pro modelování odhadu RWC a SLA na základě ranního měření spektrální informace použito PLSR modelování. Do modelu vstupovala data pěti vybraných genotypů (zahrnutých do skleníkového experimentu GH2). Spektrální data v tomto případě průměrována nebyla, ale ke každé hodnotě měřeného parametru listu (RWC a SLA) byla přiřazena všechna opakování měření spektrální křivky pro daný genotyp. Termín odběrů vzorků (pro RWC a SLA) a měření spekter se lišil o ± 7 dní (sekce 10. Přílohy Tabulka 21 a Tabulka 22). Model odhadu RWC fungoval nejlépe pro skupinu vystavenou suchu ($R^2 = 0,42-0,57$), a to v pozdějším termínu (DAP 47/46), jak pro AD, tak pro

AB stranu listu. To může souviset s faktem, že časový odstup odběrů vzorků pro RWC a měření spektrálních dat byl pouze 1 den (oproti tomu v BASE100 tam byl 6denní odstup). Pro odhad RWC kontrolní skupiny v ranějším termínu nevycházely hodnoty R^2 modelu tak dobře jako u BASE100, ale i tak dosahovaly rozmezí $R^2 = 0,28-0,51$. Časový posun byl mezi odběry a měřením spektrálních dat v tomto případě větší (9 dní), což mohlo mít za následek nižší úspěšnost odhadu PLSR modelem. Odhad specifické listové plochy (SLA) pomocí PLSR modelování vyšel obstojně pouze v případě pozdějšího termínu (DAP 50/48) u kontrolní skupiny ($R^2 = 0,36-0,57$). Zbylé odhady SLA ve většině případů nedosahovaly ani 10% vysvětlené variability v datech ($R^2 < 0,1$). To, zda byla spektra měřená na AD či AB straně listu, mělo na odhad modelu zanedbatelný vliv.

DAP		AD										AB								
		Skupina	Faktory	n	Kalibrace			Validace			Faktory	n	Kalibrace			Validace				
					RMSE	RMSE%	R2	RMSE	RMSE%	R2			RMSE	RMSE%	R2	RMSE	RMSE%	R2		
Y	spektra																			
RWC																				
36	27	K	7	50	1.91	15.89	0.50	2.36	19.59	0.28	7	50	1.89	15.73	0.51	2.33	19.31	0.28		
50	48	K	7	50	3.20	23.58	0.13	3.34	24.58	0.08	7	50	3.24	23.89	0.11	3.35	24.70	0.05		
33/35	40	S	7	60	2.78	18.57	0.37	3.32	22.18	0.13	7	60	2.89	19.26	0.32	3.37	22.47	0.13		
47	46	S	7	60	2.23	14.63	0.57	2.58	16.91	0.44	7	60	2.31	15.14	0.54	2.63	17.26	0.42		
SLA																				
36	27	K	7	50	3.77	21.80	0.02	3.83	22.15	NA	7	50	3.79	21.93	0.00	3.89	22.50	NA		
50	48	K	7	50	4.00	19.08	0.57	4.93	23.53	0.36	7	50	4.03	19.25	0.56	4.61	22.04	0.45		
33/35	40	S	7	60	4.25	24.91	0.00	4.37	25.61	NA	7	60	4.25	24.89	0.00	4.37	25.56	NA		
47	46	S	7	60	4.04	24.62	0.07	4.48	27.26	NA	7	60	3.78	23.00	0.19	4.08	24.87	0.11		

Tabulka 15 – Výsledky PLSR (partial least squares regression) modelování, data z polního experimentu BASE48. Vstupními daty do modelu byla spektrální informace odrazivosti listu pro jednotlivé genotypy a jejich biofyzikální vlastnosti listu (RWC a SLA). Modelování bylo provedeno pro suchem ošetřenou skupinu a kontrolní skupinu zvlášť. Levá strana tabulky obsahuje výsledky modelu na základě spektrálních dat z AD strany listu, pravá strana z AB strany listu. K - kontrolní skupina, S – skupina s ošetřením suchem, AD – adaxiální strana listu, AB – abaxiální strana listu, DAP (days after planting) – dny po vysetí, RWC (relative water content) – relativní obsah vody, SLA (specific leaf area) – specifická listová plocha, Faktory – počet faktorů, které byly použity pro tvorbu modelu, n – počet vzorků vstupujících do modelu, RMSE – střední kvadratická chyba, RMSE% – střední kvadratická chyba v procentech, R² – koeficient determinace, NA – hodnota není dostupná.

6.3.4 Biofyzikální vlastnosti listu – RWC a SLA

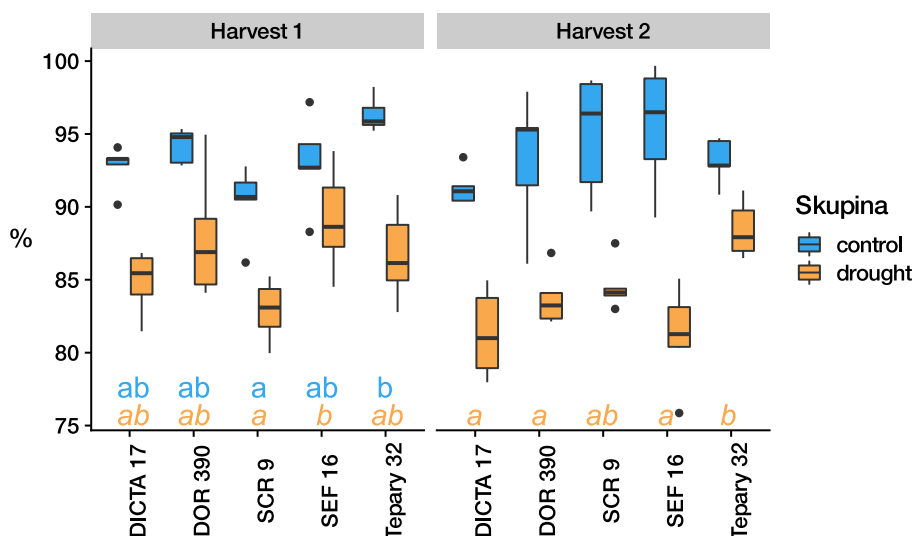
Relativní obsah vody (RWC) byl zároveň se specifickou listovou plochou (SLA) měřen pro obě skupiny ve dvou termínech (sucho – DAP 33/35 a DAP 47, kontrola – DAP 36 a DAP 50). Pro účely této práce bylo pro analýzu použito pět vybraných genotypů (viz Tabulka 4). Rozdíly mezi skupinami vyšly signifikantní jak pro RWC, tak i pro SLA ve všech odběrových termínech. Rozdíly v RWC mezi genotypy byly testovány zvlášť pro kontrolní a pro suchem stresované rostliny. Po aplikaci vícenásobného srovnávacího Tukey–Kramerova testu (pro normální rozdělení dat) nebo Wilcoxonova testu (pro data s nenormálním rozdělením) se rozdíly mezi genotypy projevily jako signifikantní pro kontrolní i stresované rostliny v prvním termínu; v druhém termínu už pouze pro rostliny stresované (viz Obrázek 51). RWC v kontrolní skupině se v průměru pohyboval mezi 91,3- 96,3 %. Pro suchem ošetřenou skupinu nabýval RWC celkově nižších průměrných hodnot od 81,2- 88,4 (viz Tabulka 16). Nebyl přítomen konzistentní vzorec reakcí senzitivních a odolných genotypů, jako tomu bylo v experimentu BASE100. Během prvních odběrů (Harvest 1) rozdíl mezi kontrolní a suchem ošetřenou skupinou vyšel u senzitivních genotypů DICTA 17 a DOR 390 jako 6,4 a 7,8 %, v daném pořadí, avšak odolné genotypy nereagovaly na rozdíl od senzitivních genotypů jednotně. Rozdíl průměrné hodnoty RWC kontrolní a stresované skupiny byl po SCR 9 obdobný jako u senzitivních (7,5 %), u SEF 16 byl rozdíl menší (3,9 %) a pro Tepary 32 se jednalo o výraznější kontrast mezi skupinami (9,6 %). Během druhého odběru (Harvest 2) odolný genotyp SCR 9 reagoval obdobně jako senzitivní genotypy, kdy rozdíl průměrných hodnot RWC byl 10,5 % (DICTA 17 – rozdíl 10 % a DOR 390 – rozdíl 9,6 %), ale u genotypu SEF 16 se průměrný rozdíl vyšplhal na 14,3 % a naopak u Tepary 32 klesl na 4,7 %.

	DAP	<i>DICTA 17</i>	<i>DOR 390</i>	SCR 9	SEF 16	Tepary 32
Control	avrg	92,0	93,7	92,7	94,3	94,7
Harvest 1	33/35	92,7	94,2	90,4	93,0	96,3
Harvest 2	47	91,3	93,2	95,0	95,5	93,1
Drought	avrg	83,1	85,7	83,7	85,2	87,5
Harvest 1	36	84,9	87,8	82,9	89,1	86,7
Harvest 2	50	81,3	83,6	84,5	82,3	88,4

Tabulka 16 – Průměrné hodnoty relativního obsahu vody (RWC) z polního experimentu BASE48. Odběry ze dvou termínů: kontrola – DAP 33/35 a 47, sucho – DAP 36 a 50; RWC (relative water content) – relativní obsah vody, control – kontrolní skupina, drought – skupina ošetřená suchem, Harvest – odběr, názvy genotypů – DICTA 17, DOR 390, SCR 9, SEF 16, Tepary 32, avrg – průměrná hodnota z obou odběrů za skupinu; Názvy genotypů jsou označeny dle odolnosti vůči suchu – kurzívou červeně senzitivní genotypy a modře odolné genotypy; n (kontrola) = 240, n (sucho) = 288.

Relativní obsah vody (RWC)

experiment BASE 48



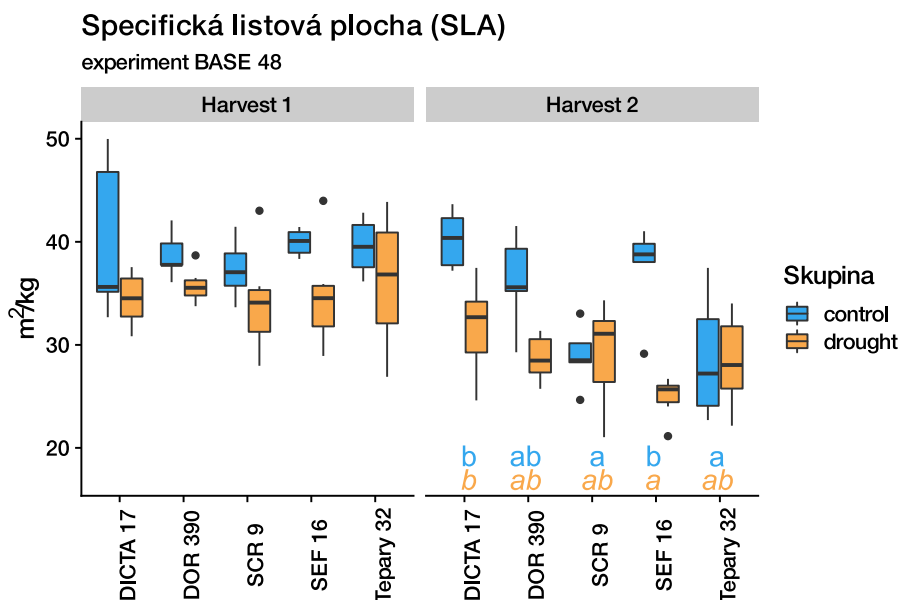
Obrázek 51 – Relativní obsah vody (RWC) měřený ve dvou termínech během experimentu BASE48; Odběry ze dvou termínů: kontrola – DAP 33/35 a 47, sucho – DAP 36 a 50, control – kontrolní skupina, drought – skupina ošetřena suchem, Harvest – odběr, DAP (days after planting) – dny po vysetí, názvy genotypů – DICTA 17, DOR 390, SCR9, SEF16, Tepary32; n (Harvest 1) = 55, n (Harvest 2) = 55;

V případě průkazného efektu genotypu (vícefaktorovým ANOVA testem) byly rozdíly mezi nimi testovány pomocí vícenásobných srovnávacích testů. V případě normálního rozdělení byl aplikován Tukey–Kramerův test, v případě nenormálního rozdělení Wilcoxonův test. V grafu jsou pro oba termíny odběrů vyznačeny od sebe navzájem se lišící genotypy pomocí rozdílných písmen, pokud písmena chybí, rozdíly mezi genotypy nejsou přítomny. Kontrolní skupina je značena modrými písmeny a skupina ošetřená suchem je značena oranžovými písmeny kurzívou. Rozdíly byly hodnoceny jako průkazné na hladině $\alpha = 0,05$. Horizontální přímka v boxech značí medián, střední krabicová část je shora ohraničena 3. kvartilem, zespodu 1. kvartilem. Vertikální úsečky vyjadřují variabilitu dat pod prvním a nad třetím kvartilem. Tečky zobrazují odlehlá pozorování.

Specifická listová plocha (SLA) byla během BASE48 měřena na stejných listech, které sloužily i pro stanovení RWC. Výsledky vícefaktorového ANOVA testu ukazují, že rozdíly mezi skupinami byly signifikantní pro oba termíny odběrů. Rozdíl SLA mezi genotypy byl signifikantní pouze pro pozdější termín odběrů (sucho – DAP 47 a kontrola – DAP 50) a po aplikaci vícenásobných srovnávacích testů vyšel signifikantní rozdíl mezi genotypy v obou skupinách (viz Obrázek 52). Rozdíly byly vyhodnoceny jako průkazné na hladině $\alpha = 0,05$. U senzitivních genotypů poklesla hodnota SLA o 7,5–8,5 m²/kg, což vypovídá o tom, že v reakci na sníženou dostupnost vody tvořily rostliny listy o menší listové ploše na jednotku suché biomasy (tedy tlustší listy s menšími mezibuněčnými prostory). U rezistentních genotypů SCR 9 a Tepary 32 se rozdíl mezi skupinami téměř neprojevil (rozdíl hodnot SLA kontrolní a stresované skupiny byl -0,1 – 0,4 m²/kg). To nasvědčuje tomu, že byla zachována u obou skupin obdobná tloušťka listu. Z rezistentních genotypů měl pouze SEF 16 v reakci na sucho (ve 2. termínu odběrů) výrazně nižší SLA než kontrolní skupina (rozdíl byl 12,5 m²/kg).

	DAP	<i>DICTA</i> 17	<i>DOR</i> 390	SCR 9	SEF 16	Tepary 32
control	avrg	40,1	37,4	33,1	38,7	34,2
Harvest 1	36	40,0	38,7	37,4	39,9	39,5
Harvest 2	50	40,2	36,2	28,9	37,4	28,8
drought	avrg	33,1	32,2	31,9	29,9	32,3
Harvest 1	35	34,4	35,8	34,2	34,8	36,2
Harvest 2	47	31,7	28,7	29,0	24,9	28,4

Tabulka 17 – Průměrné hodnoty specifické listové (SLA) z polního experimentu BASE48. Odběry ze dvou termínů: kontrola – DAP 36 a 50, sucho – DAP 35 a 47; SLA (specific leaf area) – specifická listová plocha, control – kontrolní skupina, drought – skupina ošetřená suchem, Harvest – odběr, názvy genotypů – *DICTA* 17, *DOR* 390, SCR 9, SEF 16, Tepary 32, avrg – průměrná hodnota z obou odběrů za skupinu; Názvy genotypů jsou označeny dle odolnosti vůči suchu – kurzívou červeně senzitivní genotypy a modře odolné genotypy; n (kontrola) = 50, n (sucho) = 60.



Obrázek 52 – Specifická listová plocha (SLA) měřená ve dvou termínech během experimentu BASE48; Odběry ze dvou termínů: kontrola – DAP 33/35 a 47, sucho – DAP 36 a 50, control – kontrolní skupina, drought – skupina ošetřená suchem, DAP (days after planting) – dny po vysetí, názvy genotypů – *DICTA* 17, *DOR* 390, SCR9, SEF16, Tepary32; n (Harvest 1) = 55, n (Harvest 2) = 55;

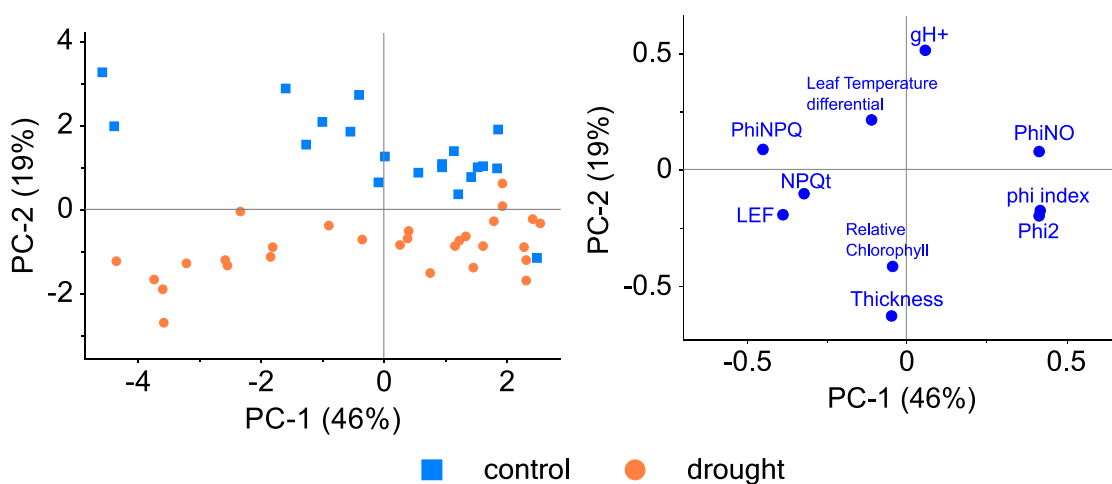
V případě průkazného efektu genotypu (vícefaktorový ANOVA test) byly rozdíly mezi nimi testovány pomocí vícenásobných srovnávacích testů. V případě normálního rozdělení byl aplikován Tukey–Kramerův test, v případě nenormálního rozdělení Wilcoxonův test. V termínu 2. odběru jsou vyznačeny od sebe navzájem se lišící genotypy pomocí rozdílných písmen, pokud písmena chybí, rozdíly mezi genotypy nejsou přítomny. Kontrolní skupina je značena modrými písmeny a skupina ošetřená suchem je značena oranžovými písmeny kurzívou. Rozdíly byly hodnoceny jako průkazné na hladině $\alpha = 0,05$. Horizontální příčka v boxech značí medián, střední krabicová část je shora ohraničena 3. kvartilem, zespodu 1. kvartilem. Vertikální úsečky vyjadřují variabilitu dat pod prvním a nad třetím kvartilem. Tečky zobrazují odlehlá pozorování.

6.3.5 PCA dat z kapesního fluorimetru MultispeQ

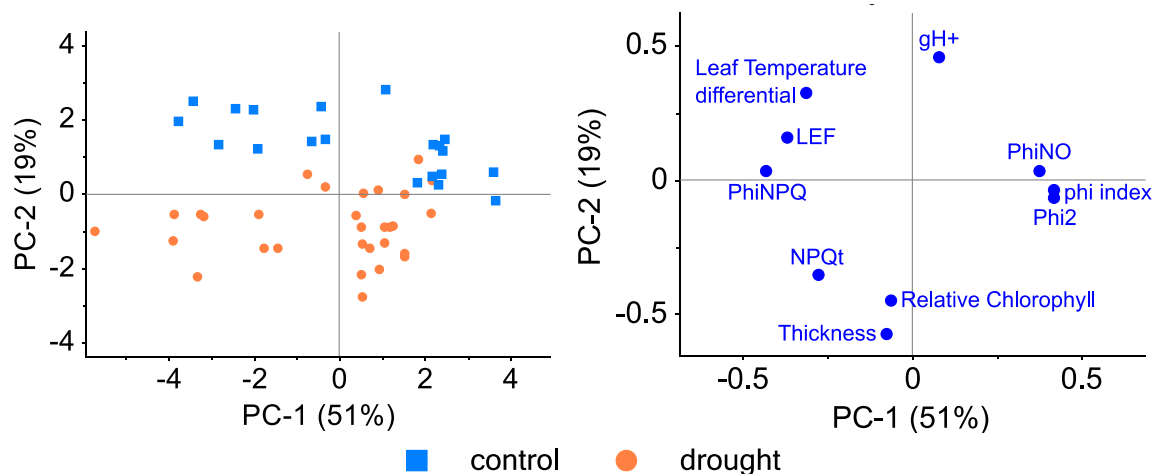
Během experimentu BASE48 proběhlo v několika termínech měření fyziologického stavu porostu pomocí kapesního fluorimetru MultispeQ. Toto zařízení sdružuje data nejen o stavu fotosyntetického

aparátu rostliny a jeho funkcích, ale také informace o tloušťce listu, klimatických podmínkách v dané lokalitě a LTD. Měření MSPQ byla opakována v ranním (AM) a odpoledním (PM) čase. Pro PCA byly vyselektovány genotypy ze skleníkového experimentu (DOR 390, DICTA 17, SCR 9, SEF 16 a Teparý 32) a byla analyzována data měřená v termínu DAP 27/26 (viz Obrázek 53 – AM a Obrázek 54 – PM). V tomto termínu došlo na základě PCA spektrálních dat k nejlepšímu odlišení kontrolní a stresované skupiny. Všechna pozorování byla před vstupem do analýzy standardizována vydělením směrodatnou odchylkou pro jejich porovnatelnost. PCA byla provedena jako pro AM, tak i pro PM měření. PCA AM dat ukázala, že PC1 vysvětluje 46 % variability v datech, ale takto komponenta nepřispívá k odlišení skupin. Oproti tomu došlo k jasnému oddělení jednotlivých skupin podél PC2, která vysvětluje 19 % variability. Tomuto rozlišení nejvíce přispívaly parametry gH⁺, relativní chlorofyl a tloušťka listu, do menší míry i LTD. Podobně se chovala PM data, kdy PC1 vysvětlovala 51 % variability v datech, ale nepřispěla k odlišení skupin. To se podařilo až pomocí PC2, která vysvětlovala opět 19 % variability. Nejvíce k tomuto oddělení přispívaly parametry gH⁺, relativní obsah chlorofylu a tloušťka listu. V menší míře i LTD a NPQt.

Vzhledem k tomu, že se na základě PCA těchto dat vzorky jednotlivých skupin zřetelně oddělily v AM i PM měření, nasvědčuje to tomu, data měřená MSPQ mají společně potenciál rozlišit přítomnost rozdílů způsobených suchem. Stejně jako s MSPQ daty z experimentu BASE100, i v tomto případě by bylo zajímavé dále se s nimi dále zabývat srovnat skupiny a genotypy vícefaktorovým ANOVA testem pro odhalení průkazných rozdílů mezi nimi a také využít vícenásobných srovnávacích testů pro případy, kdy by rozdíly mezi genotypy byly průkazné. Také by bylo možné parametry vizualizovat pomocí krabicových grafů.



Obrázek 53 – PCA dat měřených pomocí kapesního fluorimetru MultispeQ během polního experimentu BASE48 dopoledne (AM) v termínu DAP 27 (kontrola) a DAP 25 (sucho)., graf vlevo – PCA měřených pozorování, graf vpravo – „loadings“ vstupujících parametrů. PC – hlavní komponenta (principal component), DAP – dny po vysazení (days after planting), control – kontrolní skupina, drought – skupina s ošetřením suchem, gH⁺ – protonová vodivost ATP syntázy, Leaf Temperature differential – rozdíl teploty listu a okolí, LEF – lineární tok elektronů, NPQt – odhad nefotochemického zhášení, Phi2 – kvantový výtěžek PSII, PhiNO – poměr vstupujícího světla ztracený skrze neregulované procesy, PhiNPQ – poměr vstupujícího světla, které je nefotochemicky zhášeno, Relative Chlorophyll – relativní obsah chlorofylu (SPAD), Thickness – tloušťka listu, phi_index – index Phi. N = 50.



Obrázek 54 – PCA dat měřených pomocí kapesního fluorimetru MultispeQ během polního experimentu BASE48 odpoledne (PM) v termínu DAP 27 (kontrola) a DAP 25 (sucho). $N = 50$, graf vlevo – PCA měřených pozorování, graf vpravo – „loadings“ vstupujících parametrů. PC – hlavní komponenta (principal component), DAP – dny po vysazení (days after planting), control – kontrolní skupina, drought – skupina bez závlivky, gH⁺ – protonová vodivost ATP syntázy, Leaf Temperature differential (LTD) – rozdíl teploty listu a okolí, LEF (linear electron flow) – lineární tok elektronů, NPQt – odhad nefotochemického zhášení, Phi2 – kvantový výtěžek PSII, PhiNO – poměr absorbovaného světla uvolněný skrze neregulované procesy, PhiNPQ – poměr pohlceného světla, které je zhášeno nefotochemickou cestou, Relative Chlorophyll – relativní obsah chlorofylu (SPAD), Thickness – tloušťka listu, phi_index – index Phi.

Skupina		gH ⁺	LTD	Thickness	LEF	NPQt	Phi2	PhiNO	PhiNPQ	Relativní chlorofyl	phi_index
K	avrg	238.2	-6.3	0.6	133.6	1.3	0.5	0.2	0.3	34.4	1.0
S	avrg	202.4	-6.9	1.3	164.9	1.3	0.5	0.2	0.3	37.0	1.1
K	<i>sd</i>	23.0	1.8	0.2	41.8	0.6	0.1	0.1	0.1	4.9	0.3
S	<i>sd</i>	19.4	1.3	0.2	114.9	0.8	0.1	0.0	0.1	3.8	0.2

Tabulka 19 – Průměrné hodnoty a směrodatné odchylky parametrů měřených MSPQ kapesním fluorimetrem během experimentu BASE48 v termínu DAP 25/27 v dopoledních hodinách (AM); K – kontrolní skupina, S – skupina bez závlahy, avrg – průměrná hodnota za skupinu z obou odběrů, gH⁺ – protonová vodivost ATP syntázy, Leaf Temperature differential – rozdíl teploty listu a okolí, LEF (linear electron flow) – lineární tok elektronů, NPQt – odhad nefotochemického zhášení, Phi2 – kvantový výtěžek PSII, PhiNO – poměr vstupujícího světla ztracený skrze neregulované procesy, PhiNPQ – poměr vstupujícího světla, které je nefotochemicky zhášeno, Relative Chlorophyll – relativní obsah chlorofylu (SPAD), Thickness – tloušťka listu, phi_index – index Phi.

Skupina		gH+	LTD	Thickness	LEF	NPQt	Phi2	PhiNO	PhiNPQ	Relativní chlorofyl	phi_index
K	avrg	239.7	-7.4	0.7	136.8	0.6	0.5	0.2	0.3	37.2	1.1
S	avrg	241.4	-7.4	0.7	138.9	0.6	0.5	0.2	0.3	37.6	1.1
K	<i>sd</i>	21.1	2.3	0.2	98.5	0.1	0.1	0.1	0.2	3.7	0.4
S	<i>sd</i>	21.1	2.3	0.2	98.5	0.1	0.1	0.1	0.2	3.7	0.4

Tabulka 18 – Průměrné hodnoty měřené MSPQ kapesním fluorimetrem a jejich směrodatné odchylky z experimentu BASE48 v termínu DAP 25/27 v odpoledních hodinách (PM); K – kontrolní skupina, S – skupina vystavená vodnímu deficitu, avrg – průměrná hodnota, gH+ – protonová vodivost ATP syntázy, LTD (Leaf Temperature differential) – rozdíl teploty listu a teploty okolního vzduchu, LEF (linear electron flow) – lineární tok elektronů, NPQt – odhad nefotochemického zhášení, Phi2 – kvantový výtěžek PSII, PhiNO – poměr absorbovaného světla uvolněného skrze neregulované procesy, PhiNPQ – poměr pohlceného světla, které je zhášeno nefotochemickou cestou, Relative Chlorophyll – relativní obsah chlorofylu (SPAD), Thickness – tloušťka listu, phi index – index Phi.

7. Diskuse

V této kapitole věnované diskusi budou nejdříve probrány experimentální design a použité metodické přístupy. V další části se budou diskutovat vlastní výsledky práce a jejich možná aplikace pro zemědělství a pro detekci stresu suchem u fazolu obecného. Ústředním zájmem a materiálem všech pokusů byly listy fazolu obecného (nebo ostrolistého), na kterých byly studovány jejich optické vlastnosti a další biofyzikální a anatomické parametry, které vypovídají o stavu vegetace a o schopnostech rostliny odolávat stresovým podmínkám, včetně snížené dostupnosti vody v půdě.

7.1 Diskuse použitých metodických přístupů

Ve většině případů byly zvoleny shodné metodické přístupy pro studium odpovědi na suchu u fazolu obecného (*P. vulgaris*) a fazolu ostrolistého (*P. acutifolius*), jak ve skleníkových, tak v polních podmínkách. V některých případech byly metody aplikovány pouze ve skleníkových podmínkách, které dovozovaly podrobnější analýzu anatomických vlastností listu. Ve studii byl stěžejní důraz kladen na optické vlastnosti listu (reflektanci) jako možný zdroj informace o odolnosti fazolu vůči vodnímu stresu při použití metod dálkového průzkumu a také pro propojení spektrální informace listu s ostatními měřenými biochemickými a anatomickými parametry, které mají potenciál sloužit jako indikátory negativního efektu vodního stresu na fazol.

7.1.1 Navození vodního stresu ve skleníkových a polních podmínkách

7.1.1.1 Skleníkový pokus GH2

Ve skleníkovém pokusu GH2 provedeném v České republice na PřF UK během letních měsíců nebylo dosaženo dostatečného poklesu obsahu vody pro navození vodního deficitu, který by měl signifikantní vliv na parametry skupiny ošetřené omezenou záhlvkou. Ve studii autora Rosales *et al.* (2012) substrát rostlin vystavených vodnímu stresu obsahovaly 30 % kapacity květináče (PC), což je výrazně nižší hodnota, než se podařilo dosáhnout během GH2 experimentu (nejníže okolo 60 % po nedostatečně dlouhou dobu). Tato skutečnost se promítla i ve výsledcích vícefaktorového ANOVA testu pro jednotlivé měřené parametry, kdy ani v jednom případě nevyšly rozdíly mezi skupinami signifikantní. V případě nového opakování pokusu by bylo vhodné 100 % PC květináčů se substrátem stanovit již před vysazením klíčících rostlin. Klíčící rostliny by se poté daly zasadit do květníků se substrátem nasyceným na 70-80 % PC, a tím by se ušetřil čas nutný pro vysychání substrátu a tím navození dostatečně silného vodního stresu u skupiny s omezenou záhlvkou. Pro kontrolní skupinu by byla udržována PC na této

hladině nasycenosti (70-80 %). Přestože by bylo vhodné pokus opakovat a získat data z rostlin pěstovaných v prostředí skleníku, kdy by byl signifikantní rozdíl mezi skupinami, z časových a covidových důvodů pokus nebyl opakován.

7.1.1.2 Polní pokus BASE100 a BASE48

Jak bylo prezentováno v kapitolách 6.2.1 a 6.3.1, v obou polních pokusech se podařilo navodit dostatečný vodní stres, který způsobil pokles výsledného výnosu. V experimentu BASE100 téměř všechny genotypy ve skupině bez závlahy vykazovaly statisticky signifikantní pokles ve výsledném výnosu semen v porovnání s kontrolní skupinou. Výjimkou byl genotyp SAB 659 (viz Obrázek 31), jehož výnos byl u stresované skupiny mírně vyšší oproti kontrolní. V experimentu BASE48 se do výsledných výnosů promítly i ne zcela ideální podmínky na poli v období dešťů s vysazenou kontrolní skupinou, kde bylo často pole silně podmačeno silnými dešti, které jsou v tomto období roku v Kolumbii hojné. Je možné, že důsledkem toho byl kořenový systém rostlin v hypoxické či anoxickém prostředí, což mělo negativní vliv na jejich růst a vývoj (Ntukamazina *et al.*, 2017). Vizuálně se dalo pozorovat na rostlinách žloutnutí listů. Zároveň za takovýchto meteorologických podmínek nebylo zcela snadné navodit výrazný a silný vodní stres u skupiny bez závlahy umístěné pod mobilním přístřeškem. Přesto DII mělo hodnotu 0,24, což svědčí o mírném vodním stresu, který byl ale dostačující pro způsobení signifikantních rozdílů mezi skupinami.

7.1.2 Srovnání polních pokusů BASE100 a BASE48

Protože byly polní pokusy zasazeny do odlišných období roku, je vhodné porovnat podmínky, ve kterých každý experiment na poli v Kolumbii probíhal. Zejména je pro srovnání důležitá okolní teplota vzduchu a relativní vlhkost vzduchu. Z údajů měřených pomocí MultispeQ kapesního fluorimetru, který obsahuje i senzor pro snímání teploty a relativní vlhkosti vzduchu (RH) v okolí listu, byly vypočítány průměrné hodnoty pro dopolední i odpolední hodiny ze všech dat nasbíraných během polních experimentů. Pro lepší srovnání byla průměrná hodnota teploty a RH vypočítána zvlášť pro kontrolní skupiny a zvlášť pro skupiny ošetřené suchem (viz Tabulka 5). Ani v jednom případě se průměrné teploty a RH mezi experimenty výrazně nelišily, přestože teplota během experimentu BASE100 byla ve všech případech mírně vyšší oproti BASE48. Z dat o teplotě a RH měřených přímo v poli se dá předpokládat, že typ a míra stresu suchem byly v obou pokusech srovnatelné. U experimentu BASE100 chybí data půdní vlhkosti na kontrolním a stresovaném poli, které tím pádem není možné porovnat s výsledky půdní vlhkosti naměřených během experimentu BASE48. Běžnou praxí v CIAT je pěstovat pokusy zaměřené na výzkum rezistence vůči suchu v polních podmínkách v období sucha (červen-září) (Beebe *et al.*, 2008; Klaedtke *et al.*, 2012; Polania *et al.*, 2016; Polania *et al.*, 2016), to mělo za výsledek očekávaný výsledný rozdíl výnosů skupin v pokusu BASE100 (pokles u stresované skupiny oproti kontrolní), který ale u experimentu BASE48, provedeném v období dešťů, nebyl přítomný u všech genotypů.

7.1.3 Popis anatomických struktur pomocí kvantitativní metody

Jak již bylo v kapitole Materiál a metody nastíněno, pro kvantitativní určení popisu objektů je potřeba využít metod, které zajistí přesný a nevychýlený odhad sledovaného parametru. Pro kvantifikaci vzorků odebíraných pro anatomické analýzy byl použit systematicky rovnoměrný výběr pozorovaného pole na řezu listem, který zajišťuje reprezentativnost výběru tím, že umožňuje, aby každá částice měla stejnou pravděpodobnost, že bude vybrána (Kubínová a Albrechtová, 1999).

V této práci byla využita náhodně generovaná čísla určující počátek výběru segmentů a také bodová mřížka, která sloužila pro stanovení odhadu poměru mezibuněčných prostor, bodová mřížka pro určení vnitřního povrchu mezofylu byla použita na fazolu ve studii autorů Castonguay a Markhart (1992). Avšak využití tohoto přístupu není vždy pravidlem – například ve studii autorů White a Montes-R (2005) bylo měřeno celkem 14 parametrů, které souvisí s tloušťkou listu – včetně listové optické hustoty (měřené v 670 nm), celkové koncentrace chlorofylu v listu na listovou plochu, hustotu pletiva listu, koncentraci dusíku a další. Výše citovaná práce poukazuje na některá úskalí při určování tloušťky listu, na kterou mají vliv i aktuální obsah vody nebo pozice, na které se list měří.

7.2 Diskuse experimentálních výsledků

7.2.1 RWC a jeho vztah ke stresu suchem u fazolu obecného

Relativní obsah vody (RWC) je hodnota, která se liší v závislosti na pozici listu v rámci rostliny, mění se během dne a sezóny v závislosti na míře transpirace rostliny a zásobenosti půdy vodou a také se odvíjí od schopnosti rostliny vodu z půdy získávat (Rosales-Serna *et al.*, 2004). V experimentech této práce byl RWC měřen pouze v jednom časovém bodu během dne (v ranních hodinách, kdy rostliny měly možnost zregenerovat obsah vody v listech z půdy během předešlé noci), proto není možné z výsledků vyvozovat závěry ohledně denní dynamiky RWC v listech u fazolu obecného. Ze studie Rosales-Serna *et al.* (2004), však vyplývá, že pro použití RWC jako indikátoru odpovědi fazolu obecného na stres suchem je nejvhodnější použít RWC měřené na listu odebraném v ranních hodinách (Rosales-Serna *et al.*, 2004).

Vodní stres vede k poklesu RWC v listech u fazolu obecného (Torabian *et al.*, 2018). To výsledky této práce potvrzují, rozdíly mezi ošetřeními byly signifikantní pro všechny termíny měření v polních experimentech (u obou se podařilo navodit dostatečně silný vodní stres). Výsledky prezentované v této práci však nejsou zcela konzistentní s výsledky jiných studií. V polním experimentu BASE100 (období sucha) vykazovaly citlivější genotypy menší pokles RWC oproti těm odolným. V polním experimentu BASE48 (vlhké období) byl průměrný pokles RWC při stresu suchem téměř shodný u citlivých a odolných genotypů. Oproti tomu většina studií provedených na fazolu uvádí, že rezistentní genotypy měly menší rozdíly v hodnotách RWC mezi kontrolní a stresovanou skupinou oproti senzitivním genotypům, kde byly rozdíly mezi skupinami v hodnotách RWC výraznější (Rosales-Serna *et al.*, 2004; Korir, Nyabundi a Kimurto, 2006; Karimzadeh Soureshjani *et al.*, 2019).

V experimentu BASE48 byly rozdíly mezi kontrolní a ošetřenou skupinou u citlivých genotypů podobné jako u odolných genotypů (rozdíly průměrných hodnot z obou odběrů – DICTA 17 – 8,9 %, DOR 390 – 8 % a SCR 9 – 9 %, SEF 19 – 91 %), pouze Tepary 32 měl tento rozdíl v RWC o trochu nižší než zbylé genotypy (7,2 %). Pokud se podíváme na jednotlivé termíny odděleně, genotypy se nechovaly konzistentně v rámci rozdílných úrovní rezistence vůči suchu, ale ani v rámci dvou časových termínů.

Zajímavý je i celkový rozdíl v průměrných hodnotách RWC mezi experimenty. Během experimentu BASE100 byla průměrná hodnota RWC pro vybraných pět genotypů v kontrolní skupině 93,5 % a ve skupině ošetřené suchem 85,1 %. Naproti tomu v experimentu BASE48 byla průměrná hodnota RWC pro kontrolní skupinu (pro pět vybraných genotypů) 84,6 %, což je hodnota obdobná jako u sucha v BASE100. Skupina vystavena vodnímu stresu v BASE48 měla průměrný RWC 76,1 %. Tento rozdíl mezi stejnými skupinami dvou polních experimentů (řádově o 10 %) je způsobený buď rozdílnými podmínkami sezón pěstování, avšak ani lidský faktor v přístupech odběrů a zpracování vzorků nelze zcela vyloučit, vzhledem k tomu, že se jedná o techniku citlivou na manipulaci s listy, obzvláště v horkém podnebí Kolumbie a odběry byly prováděny několika pracovníky najednou.

RWC byl použit jako užitečný indikátor pro výběr rezistentních genotypů i v případě fazolu ostrolistého (Mwale *et al.*, 2020). Schopnost genotypu udržovat si vysoké hodnoty RWC i během stresu suchem bude pravděpodobně souviset s vlastnostmi kořenového systému, který koření do větší hloubky a efektivněji přijímá vodu (Korir, Nyabundi a Kimurto, 2006). Fazol ostrolistý se v rámci dvou experimentů nechoval zcela konzistentně. V BASE100 byl rozdíl mezi skupinami v průměru o 14 % (tedy se jednalo o největší rozdíl ze všech pěti genotypů) a u BASE48 měl genotyp Tepary 32 průměrný rozdíl mezi skupinami pouze 7,2 %, což byl zase nejnižší rozdíl v rámci pěti genotypů. Pravděpodobně se u Tepary 32 mění reakce v RWC v závislosti na období roku, ve kterém je pěstován. V BASE48 se jednalo o pokus, kdy skupina ošetřena suchem byla umístěna pod mobilním přístřeškem a kořeny mohly prorůst do větší hloubky než u ostatních genotypů.

RWC také hraje významnou roli v rozložení biomasy v rámci rostliny. A to tak, že části rostliny s vyšším relativním obsahem vody mají tendenci akumulovat více biomasy, jak bylo zjištěno např. ve studii autora Ramirez-Vallejo a Kelly (1998). Do částí rostliny, kde je udržován vyšší RWC dochází k přednostní alokaci biomasy v nadzemních částech rostliny. Proto je vhodné tento parametr do studií o rezistenci fazolu obecného či ostrolistého zahrnout, ale neopomíjet ani další parametry. Jak ukazují i data prezentovaná v této práci, hodnoty RWC nejsou vždy jasným ukazatelem na rezistenci genotypu vůči suchu.

RWC byl ve studii autora Seelig *et al.* (2008) korelován s některými vodními indexy obsahující vlnové délky NIR a SWIR oblasti. Nejlépe ze všech koreloval poměr vlnových délek R1300/R1450. Vzhledem k tomu, že proces stanovování RWC je zdlouhavý, je vhodné hledat jednodušší a rychlejší metody stanovení obsahu vody v listech. Takovým přístupem by mohlo být použití odrazivosti listů a pomocí vegetačních indexů odhadnout obsah vody v listech ze spektrálních dat (Seelig *et al.*, 2008). Na odhad RWC v listech ze spektrálních dat metodou PLSR modelování jsem se zaměřila i ve své práci a výsledky jsou diskutovány v kapitolách 6.1.3 (GH2 skleníkový experiment), 6.2.3 (BASE100 polní experiment) a 6.3.3 (BASE48 polní experiment).

Kromě RWC je také vodní potenciál měřený před svítáním považován za užitečný indikátor vypovídající o zásobenosti vodou u fazolu a dalších plodin. Z důvodů technické náročnosti měření tohoto parametru do experimentu tato analýza zařazena nebyla, ale nabízí se jako další možnost pro doplnění informace o vodním statusu rostliny (Amede a Schubert, 2005; Santos *et al.*, 2009; Reddy *et al.*, 2021). Podle některých autorů je RWC vhodnějším indikátorem zásobenosti rostliny vodou než proměnné, které vypovídají o termodynamickém stavu vody, jako jsou vodní potenciál, turgor a osmotický potenciál (Korir, Nyabundi a Kimurto, 2006).

7.2.2 Obsah chlorofylu

Jak již bylo zmíněno v Diskusi 7.1.1, ve skleníkovém pokusu GH2 se nepodařilo navodit dostatečně silný vodní stres u skupiny s omezenou záhlvkou. Proto rozdíly měřených parametrů mezi skupinami nevyšly signifikantní. Z předešlých studií se dá předpokládat, že v případě úspěšného navození vodního stresu by se obsah chlorofylu snížil u ošetřené skupiny z důvodu degradace chlorofylu působením oxidativního stresu (Verma a Mishra, 2005; Anjum *et al.*, 2011). Míra poklesu obsahu chlorofylu v listech závisí na délce trvání stresu a jeho intenzitě (Kyparissis, Petropoulou a Manetas, 1995). Ve studiích na fazolu obecně jsou výsledky s tímto tvrzením konzistentní (Saglam *et al.*, 2011; Kusvuran a Dasgan, 2017; Egu a Tesfaye, 2018; Torabian *et al.*, 2018). Existují však i pokusy, kde u fazolu obecného pro některé fenologické fáze vyšly hodnoty obsahu chlorofylu vyšší pro suchou variantu než pro kontrolní skupinu (o 4%) (Asfaw, Blair a Struik, 2012). Tento nárůst byl přisuzován redukované ploše jednotlivých listů (Rosales-Serna *et al.*, 2004). Autoři pochybují o efektivitě selekce rezistentních genotypů na základě nepřímého odhadu obsahu chlorofylu pomocí SPAD měření (Rosales-Serna *et al.*, 2004). Přesto je u rostlin schopnost udržet vyšší obsah chlorofylu při stresu suchem spojován s rezistencí k suchu (Sairam, Deshmukh a Shukla, 1997; Saglam *et al.*, 2011). Obsah chlorofylu má totiž výrazný nepřímý pozitivní efekt na výsledný výnos zrn, protože je spojený s fotosyntetickou kapacitou rostliny a tudíž i její produktivitou (Gitelson *et al.*, 2005; Ambachew *et al.*, 2015). Data relativního obsahu chlorofylu z polních experimentů měřených MSPQ fluorimetrem by mohla být dále analyzována a výsledky by bylo zajímavé porovnat s výsledky zmiňovaných studií. Z časových důvodů již nebyla podrobná statistická analýza relativního obsahu chlorofylu u senzitivních a rezistentních genotypů v polních pokusech pro diplomovou práci provedena.

Obsah pigmentů, včetně chlorofylu, má vliv i na výslednou podobu reflektanční křivky. Odrazivost ve viditelném spektru vzrůstá s poklesem obsahu těchto pigmentů v listech (Carter, 1993). Tento vliv obsahu chlorofylu na podobu vegetační křivky lze pozorovat na Obrázek 49. V experimentu BASE48 v termínu DAP 26/27 je viditelná vyšší odrazivost ve VIS u skupiny bez závlahy.

Pro možnosti aplikace metod dálkového průzkumu na odhad chlorofylu v porostu je potřeba zohlednit některé faktory. Ve studii Lu a Lu (2015) bylo zjištěno, že strana listu má vliv na odhad chlorofylu pomocí vegetačních indexů (VIs). Vegetační indexy pro odhad chlorofylu jsou počítány z jednotlivých vlnových délek VIS a NIR oblastí spektra. Tedy pro odhad obsahu chlorofylu v porostu na základě dálkového snímání odrazivosti je potřeba volit VIs, jejichž odhad chlorofylu je dostatečně robustní pro AD i AB stranu listu. Zejména v některých oblastech (modré a červené) se totiž AD a AB strana od sebe výrazně liší (viz Obrázek 11). Použitím celého spektra pro odhad obsahu chlorofylu v porostu může zmírnit tuto rozdílnost. Skutečnost, že odhad chlorofylu z hyperspektrálních dat fungoval obdobně pro obě strany poukazuje na jejich potenciál. Zajímavé by bylo srovnání odhadu chlorofylu z VIs vypočítaných ze spektrálních dat měřených pro účely této práce, ke kterému z časových důvodů nedošlo. Avšak tuto tendenci k lepším výsledkům VIs jedné strany listu (u experimentu GH2 – AB a u experimentu BASE100 – AD) je vidět ve výsledcích lineární regrese VIs s AGB nebo s výsledným

výnosem (viz kapitola 6.1.4 – AGB ve skleníkovém experimentu GH2; kapitola 6.2.4 – AGB v polním experimentu BASE100 a kapitola 6.2.5 – výsledný výnos v polním pokusu BASE100).

Výše zmíněná studie byla prováděna na topolu (*Populus alba*) a jilmu (*Ulmus pendula*), které patří k představitelům typického dorzoventrálního uspořádání listu, podobně jako fazol. Pro fazol tento faktor strany listu však hraje ještě důležitější roli kvůli paraheliotropickým pohybům listu. Ty zajišťují během dne pohyb listů, takže při snímání porostu je částečně i abaxiální (spodní) strana listu otočena směrem k senzoru snímajícímu porost. Modelování obsahu chlorofylu z celého spektra pomocí PLSR však ukázalo, že strana listu nemá na model vliv a obě strany listu sloužily pro odhad obsahu chlorofylu velmi obstojně (viz kapitola 7.2.6 a Tabulka 7). Tento výsledek je překvapivý, protože byla očekávaná spíše rozdílná přesnost odhadu obsahu chlorofylu ze spekter pro jednotlivé strany listu. Je to však informace, která je příznivá pro dálkové snímání porostu. Vliv strany listu není výrazný a neměl by snižovat přesnost jeho odhadu obsahu chlorofylu v listech.

7.2.3 Anatomická struktura listu

Anatomická struktura listu fazolu obecného má bifaciální neboli dorzoventrální charakter (Nassar, Boghdady a Ahmed, 2010) s kompaktním palisádovým a rozvolněným houbovitým parenchymem. Vnitřní struktury listu se diferencují z horní (adaxiální) i spodní (abaxiální) části listového primordia (Fukushima a Hasebe, 2014). Dorzoventrální list obsahuje vrstvu mezofylu rozlišenou na palisádový a houbovitý parenchym. Listy jsou tenké a k získání anatomických parametrů bylo potřeba listy zalít do parafinu pro bezpečné zhotovení příčných řezů listu. Anatomická struktura se u fazolu obecného mění v závislosti na vnějších podmínkách (Sexton *et al.*, 1997) včetně zasolení – což je jednou z forem osmotického stresu, ke kterým se řadí i sucho (Wignarajah, Jennings a Handley, 1975). Rostliny skleníkového experimentu nebyly vystaveny dostatečnému vodnímu deficitu, aby se u nich projevil rozdíl mezi kontrolní a ošetřenou skupinou.

Anatomických studií týkajících se přímo fazolu je méně, proto do diskuse byly přidány také studie dělané na jiných druzích. Do jaké míry lze závěry těchto studií vztahovat i na fazol je otázkou. Avšak dávají obecnou představu o reakci anatomických vlastností listu rostlin na vodní deficit. Na tloušťku listu má vliv míra nasycenosti vodou (měřená například jako RWC) – s poklesem RWC (dochází k dehydrataci listu) tloušťka listu klesá (Seelig *et al.*, 2008). Avšak ze studií je známo, že vodní stres u rostlin působí změny, které se projeví i na strukturální úrovni listu. Změny mohou být patrné také jako zvýšená denzita listů (g/kg) (Bosabalidis a Kofidis, 2002 – olivovník; Torabian *et al.*, 2018 – fazol) nebo tlustší houbovitý a palisádový parenchym (Wignarajah, Jennings a Handley, 1975 – fazol; Ennajeh *et al.*, 2010 – olivovník). Větší tloušťka palisádového parenchymu může sloužit pro zvětšení kapacity fixace CO₂ a tlustší houbovitý parenchym může pomáhat snadnější difúzi CO₂ do místa karboxylace (Bosabalidis a Kofidis – olivovník, 2002; Ennajeh *et al.*, 2010 – olivovník; Torabian *et al.*, 2018 – fazol). Změna tloušťky listu byla pozorována u fazolu například ve studii autorů Wignarajah, Jennings a Handley (1975), kdy byl fazol vystaven vysoké míře zasolení (osmotickému stresu). Nárůst tloušťky listu pozorované v této studii byl způsoben zvýšením mocnosti houbovitého parenchymu. Palisádový parenchym byl oproti tomu u stresovaných rostlin vždy tenčí ve srovnání s palisádovým parenchymem kontrolních rostlin.

U suchem stresovaných rostlin dochází také ke zvýšení hustoty průduchů a zároveň jejich zmenšení (Bosabalidis a Kofidis, 2002 – olivovník; Ennajeh *et al.*, 2010 – olivovník; Torabian *et al.*, 2018 – fazol). Díky tomu může rostlina rychleji a efektivněji reagovat na nepříznivé podmínky snížením průduchové vodivosti (Torabian *et al.*, 2018). Ve studii autorů Castonguay a Markhart, (1992) byla srovnávána efektivita využití vody (WUE) a rychlost asimilace CO₂ u *P. vulgaris* a *P. acutifolius*. Ze studie vyplývá, že v těchto parametrech *P. acutifolius* předčil *P. vulgaris* i v podmínkách snížené dostupnosti vody. Avšak lepší výsledky *P. acutifolius* jsou připisovány spíše biochemickým vlastnostem mezofylu než anatomickým charakteristikám. Zároveň má *P. acutifolius* účinnější regulaci vodivosti průduchů, proto reaguje na pokles vodního potenciálu v půdě dříve. To fazolu ostrolistému dovoluje oddálit nástup stresu suchem, díky snížené transpiraci v rané fázi nástupu sucha (Castonguay a Markhart, 1992).

Vlivem vodního deficitu v půdě může dojít také ke zvýšení hustoty trichomů (Ennajeh *et al.*, 2010 – olivovník). Spodní a svrchní pokožka mají také tendenci při stresu suchem tloustnout (Ennajeh *et al.*, 2010 – olivovník). Dochází také ke zmenšení velikosti epidermálních a mezofylových buněk

(Bosabalidis a Kofidis, 2002). Všechny tyto reakce na stres suchem vedou k lepšímu hospodaření s dostupnou vodou a efektivnější regulaci výměny plynů vnitřního prostředí listu a okolí. Studie Sexton *et al.* (1997) uvádí, že mezi andským a mezoamerickým genovým poolem fazolu existují signifikantní rozdíly v tloušťce listu. V průměru měly genotypy mezoamerického poolu celkovou tloušťku listu 194 μm a andského 173 μm . Jiná studie toto zjištění také potvrdila (White a Montes-R, 2005). Z dat skleníkového pokusu se toto zjištění nedá ani potvrdit ani vyvrátit, protože pro GH2 experiment byly vybrány pouze genotypy mezoamerického poolu a jeden genotyp fazolu ostrolistého.

Specifická listová plocha (SLA) se u skleníkového experimentu GH2 v průběhu neměnila (viz Obrázek 30). Je překvapivé, že s narůstající tloušťkou listu a snižujícím se podílem mezibuněčných prostor zůstává SLA neměnná. U polního pokusu BASE100 se SLA měla tendenci v průběhu vývoje rostlin spíše snižovat, kromě výrazného nárůstu SLA u Tepary 32 ve skupině stresované suchem (viz Obrázek 43). Rozdíly mezi kontrolní a stresovanou skupinou jsou signifikantní pro oba termíny měření, kdy rostliny vystavené vodnímu stresu měly nižší SLA, což mohlo být zapříčiněno buď tvorbou tlustších listů, menšími mezibuněčnými prostory nebo kombinací těchto dvou faktorů. Během experimentu BASE48 je také vidět mírný pokles v hodnotách SLA (viz Obrázek 52). Signifikantní vyšší rozdíly mezi skupinami, tedy u stresované skupiny došlo ke snížení SLA oproti kontrole a opět lze předpokládat reakci rostlin na sucho tvorbou tlustších a kompaktnějších listů s menšími mezibuněčnými prostory. Ve studii na kultivarech podzemnice olejné lišících se svými hodnotami SLA bylo zjištěno, že kultivary s nižší hodnotou SLA byly schopny udržovat vyšší RWC v listech a vyšší míru stomatální vodivosti (Nautiyal, Rachaputi a Joshi, 2002). Nižší SLA bylo také uvedeno jako jedna z možných adaptací u genotypů s vyšší mírou tolerance k horku (Deva *et al.*, 2020).

7.2.4 Optické vlastnosti listu ve vztahu k suchu

Odrzivost listu se při poklesu obsahu vody v pletivech způsobeném vodním stresem zvýší. Největší nárůst v odrazivosti listu se projeví v oblasti SWIR (Aldakheel a Danson, 1997). V této oblasti jsou umístěna absorpční maxima vody v následujících vlnových délkách: 970, 1200, 1450, 1940 a 2500 nm (Carter, 1993). Z PCA spektrálních dat měřených v BASE100 v termínu DAP 19 (viz Obrázek 37) je viditelné oddělení kontrolní a stresované skupiny podél PC1. Do PC1 přispívají výše zmíněné oblasti spektra. V PCA spektrálních dat BASE48 byly skupiny nejlépe odlišitelné v termínu DAP 26/27 (viz Obrázek 50) podél PC1. Do této komponenty také výrazně přispívaly některé oblasti absorpčního maxima vody, ale pouze ve vlnových délkách 970, 1200 a 1450 nm. Vlnové délky 1940 a 2500 nm přispívaly do výsledné analýzy minimálně. Jistý pokles RWC v průběhu BASE48 byl také pozorovatelný.

Přestože bylo rozdělení skupin v PCA patrné v raných termínech měření odrazivosti listů (viz kapitola 7.2.5) u obou polních experimentů, u každého experimentu se jednalo o jiné změny v rozdílnosti vegetační křivky jednotlivých skupin. V experimentu BASE100 se v termínu DAP 19 odrazivost u stresované skupiny v oblasti viditelného spektra s průměrnou vegetační křivkou kontrolní skupiny překrývá. V NIR oblasti spektra došlo ke snížení odrazivosti a přibližně od vlnové délky 1450 nm je viditelný opět nárůst v reflektanci. V experimentu BASE48 v termínu DAP 27/26, kde byly skupiny v PCA jasně rozlišitelné, došlo k výraznému nárůstu odrazivosti u suchem stresovaných rostlin oproti kontrole v rámci celého spektra, tedy včetně NIR oblasti. To naznačuje, že v experimentu BASE100 se pravděpodobně v dřívějším DAP 19 ještě nestihlo tolik projevit působení sucha na vnitřní strukturu listu, o kterých ve velké míře absorbance a odrazivost NIR oblasti vypovídá. Je možné, že by se rozdíly v odrazivosti mezi skupinami zvýraznily a dosáhly podobného rozdílu jako u BASE48 v termínu DAP 27/26, které bylo měřeno o 7/8 dní později.

Tyto změny v NIR oblasti jsou nejvíce ovlivňovány vnitřní strukturou listu (Gates *et al.*, 1965). Jak již bylo diskutováno v sekci o anatomii, SLA se snižuje u rostlin vystavených stresu suchem oproti kontrolní skupině. To by mohlo vysvětlovat odlišnost odrazivosti v NIR oblasti. SLA stanovené během pokusu BASE100 bylo měřeno až o 22 dní později, než proběhlo měření odrazivosti v DAP 19. Nelze tedy zjistit, jakou měrou se hodnoty SLA lišily pro kontrolu a sucho. Z odrazivosti v NIR se dá usuzovat, že by se v SLA výrazné rozdíly v tomto termínu ještě neprojevily.

7.2.5 PCA analýza

Analýza hlavních komponent (PCA) je velmi efektivní statistickou metodou pro redukci dimenzionality spektrálních dat (Verrelst *et al.*, 2019). Díky tomu se často využívá pro analýzu hyperspektrálních dat, aby byla snížena míra dimenzionality, ale zároveň bylo zachováno co možná největší množství informace obsažené v celém měřeném spektru.

PCA byla použita v této práci pro vizualizaci rozložení vzorků v rámci grafů PCA, ze kterých lze vysledovat vzorce v rozložení dat, které mohou ale nemusí vždy odpovídat faktorům plánu pokusu. PCA byla aplikována na hyperspektrální data měřená ve skleníkovém pokusu i polních experimentech. PCA ukázala, že data měřená na AD a AB straně listu se dají zcela jasně na základě odrazivosti listu odlišit (viz Obrázek 12), což je v souladu s předchozími studiemi (Walter-Shea *et al.*, 1991; Wan *et al.*, 2021). PCA také odpověděla na otázku, zda se spektra liší pro jednotlivé termíny v průběhu experimentů, kdy bylo vidět, že se spektra jednotlivých termínů liší, ale jsou mezi nimi výrazné překryvy (viz Obrázek 14). Odrazivost listů se mění během jejich vývoje a stárnutí (Walter-Shea *et al.*, 1991), kdy hlavně dochází ke snížení odrazivosti a zvýšení absorpce v oblasti viditelného spektra (z důvodu změny v obsahu pigmentů) a také v oblasti NIR (což svědčí o změnách ve vnitřní struktuře listu). V pozdější fázi vývoje listu jsou změny patrné převážně v NIR oblasti, jak bylo zjištěno v několika studiích (Roberts *et al.*, 1998; Rapaport *et al.*, 2014). Změny spojené se stárnutím listu by však neměly být důvodem tohoto posunu v rozložení vzorků PCA jednotlivých termínů. A to z důvodu výběru listu pro všechna měření, kdy byl zvolen list v přibližně stejné fázi vývoje (nejmladší, avšak plně vyvinutý list, který ale nedosahoval plné velikosti, tedy listy, které se nejčastěji nachází na povrchu zkoumaného porostu). Studie, která by se zabývala posunem ve spektrální informaci listů v rámci fenologického vývoje rostliny pro účely této diskuse nalezena nebyla.

Dalším kritériem pro třídění jednotlivých pozorování v PCA grafu byl efekt genotypu. Ve skleníkovém experimentu GH2 byla v termínu DAP 32 vidět mírná tendence k jejich seskupování do klastrů (viz Obrázek 18) a také u polního experimentu BASE100 je v grafech PCA pro pozdější termíny viditelná tendence k seskupování (viz Obrázek 34). PCA analýza byla ve studii autora Crusiol *et al.* (2021) aplikována na hyperspektrální data na úrovni listu z experimentů na sóji. V této studii bylo cílem klasifikovat jednotlivé genotypy sóji na základě spektrální informace. Experimenty zahrnovaly několik skupin, které byly vystaveny různě intenzitě vodního stresu. Výsledky studie naznačují, že u sóji mají spektrální data potenciál pro klasifikaci genotypů sóji bez ohledu na fázi vývoje sóji anebo na vodním stresu, kterému jsou rostliny vystaveny. Hyperspektrální data fazolu obecného byla použita ve studii autora Rajah *et al.* (2015) pro odlišení genotypů fazolu pomocí PLSR diskriminační analýzy (PLSR-DA). Studie ukázala, že je možné se 100% přesností odlišit jednotlivé genotypy ve fázi kvetení a plnění lusků na základě odrazivosti porostu. Avšak i v dřívějších fázích vývoje bylo odlišení kultivarů poměrně přesné (60-67 %). V polních experimentech je tendence odlišení genotypů na základě odrazivosti v grafu PCA vidět hlavně v grafu PCA pokusu BASE100 v termínu DAP62 (viz Obrázek 34), v grafu PCA experimentu BASE48 žádné rozdíly vidět nebyly. Výsledné grafy v této práci tudíž prezentovány nejsou.

PCA ukázala také rozdíly mezi kontrolní a stresovanou skupinou v polních pokusech. Rozdíl mezi nimi byl však patrný pouze v některých termínech (BASE100 – DAP 19 a BASE48 – DAP 27/26). V obou případech byla PC1 komponentou, podél jejíž osy se skupiny rozdělovaly, a která vysvětlovala velký podíl variability v datech (BASE100 – 69 % a BASE48 – 93 %). Výsledky PCA těchto dat jsou velmi zajímavé, protože je v nich viditelné jasné oddělení kontrolní skupiny a skupiny bez závlivky. Přestože tento rozdíl není způsoben vodním stresem (rostliny ve variantě „sucho“ nebyly ještě vystaveny dostatečnému vodnímu deficitu), data ukazují na přítomnost nějakého faktoru, nebo kombinaci několika faktorů, které vytváří dostatečně výrazný rozdíl na úrovni listu mezi skupinami. Tyto rozdíly jsou pozorovatelné v odrazivosti listu. Toto zjištění je důležité brát v potaz pro správnou interpretaci budoucích pokusů. Rozdíly viditelné mezi jednotlivými skupinami mohou být způsobené jinými faktory než pouze nedostatečnou zásobeností vodou.

V experimentu BASE100, který byl situován do suchého období roku, byla skupina bez přidané závlivky (stresovaná skupina) na poli odkázána na spad srážek během trvání experimentu. Závlaha byla rostlinám poskytována pouze ve vegetativní fázi – tedy do kvetení (DAP 30). Rostliny experimentu BASE48 byly zasazeny na přelomu suchého a deštivého období roku v Kolumbii, proto byla skupina ošetřena omezenou závlivkou umístěna pod mobilní přístřešek. Mobilní přístřešek byl od termínu DAP 18 (sucho)

uzavírán na noc a také v případě srážek během dne. Týden po přerušení závlivky a zahájení aplikace ošetření suchem byl ve spektrech patrný výrazný rozdíl mezi skupinami (PC1 93 %). Bohužel nejsou dostupná hyperspektrální data o výchozím stavu obou skupin před aplikací ošetření. Z těchto dat by bylo zřejmé, zda se v této rané fázi zahájení sucha nejedná o reakci na jiný aspekt růstových podmínek jednotlivých skupin. Obě skupiny byly vysety na rozdílných místech. Nejde proto vyloučit možný efekt rozdílného rozložení vody v půdním profilu nebo jiných aspektů konkrétního místa. Tento rozdíl mezi skupinami se v následných fázích vývoje stírá, a to jak v pokusu BASE48, tak i BASE100. V BASE100 v DAP 34 viditelné rozdíly nejsou a u experimentu BASE48 také není jasné odlišení skupin, přestože jistá tendence k seskupování je v termínu DAP 40 patrná.

Ve studii autora Burnett *et al.* (2021) se autoři zabývali otázkou, zda je možné detekovat metabolické indikátory stresu suchem za použití odrazivosti listů. Metabolické změny se objevují před fyziologickými změnami. Neinvazivním měřením odrazivosti listu a následnou detekcí metabolitů spojených se stresem sucha by bylo možné identifikovat vodní stres rostlin ještě před nástupem změn, které by byly pozorovatelné pouhým okem. Z výsledků pokusů na devíti zemědělsky významných rostlinách (mezi nimiž fazol bohužel zařazen nebyl) vyšlo, že je s relativní přesností možné predikovat vodní stres před jeho viditelnými známkami na fyziologii rostlin. V experimentu BASE48 v DAP 27 byly rostliny ve skupině s ošetřením již 9 dní (od DAP 18) bez přidané závlahy. Je možné, že již během těchto několika dní rostliny začaly vnímat pokles dostupné vody v půdě a mohly začít reagovat na metabolické úrovni. Tento pokles vody v půdě mohl způsobit změny, které ještě nejsou na rostlinách pozorovatelné pouhým okem. Do jaké míry tyto metabolické změny byly přítomny a jak velký vliv měly na rozdíl odrazivosti listů genotypů fazolu dvou skupin, je otázkou. Avšak výše zmiňovaná studie dává naději pro možnost detekce přítomnosti stresu suchem ještě před nástupem nevratných fyziologických změn v rostlině. Ve studii autora Zovko *et al.* (2019) provedené na vinné révě se autorům podařilo pomocí PLS-DA (anglicky „Partial Least Squares-Discriminant Analysis“ – analýza, která v jednom ze svých kroků obsahuje i PCA) rozlišit skupiny se závlahou a bez závlahy. Ve studii na fazolu autora Köksal (2011) byla aplikována PCA na studium podobností či rozdílností mezi různými skupinami na základě odrazivosti listu. Skupiny se mezi sebou lišily ošetřením – různou mírou vodního stresu.

PCA je možné použít nejen na spektrální data, ale na větší počet morfologických a fyziologických dat. Z výsledného grafu je možné pozorovat, jaké parametry nejvíce přispívají k seskupování jednotlivých genotypů do skupin. Studie na fazolu Rezene, Gebeyehu a Zelleke (2011) ukázala, že se na základě PCA fyziologických a výnosových dat dají odlišit skupiny genotypů podle jejich rezistence vůči suchu. Další PCA by se na základě tohoto přístupu daly aplikovat na data sesbíraná pro účely této práce. Avšak vzhledem k tomu, že hlavní zaměření práce bylo na reflektanci listu a její použití, byl tento typ analýzy použit jen v případě dat z kapesního fluorimetru MultispeQ.

7.2.6 PLSR modelování ze spekter

Regrese nejmenších dílčích čtverců (PLSR) využívá pro modelování různých biofyzikálních znaků z celého měřeného spektra odrazivosti listu. Modelování vlastností fazolu obecného ze spektrálních dat pomocí PLSR se ve výzkumu používá často pro klasifikaci či třídění zrn odlišných kultivarů a odhad jejich obsahu živin nebo dalších vlastností zrn (Mendoza *et al.*, 2014; Plans *et al.*, 2014; Wang, Liu a Ren, 2014; Sun *et al.*, 2016; Vranić *et al.*, 2019; Tormena *et al.*, 2021; Wafula *et al.*, 2021). Avšak studie, které by se zabývaly PLSR modelováním biofyzikálních a anatomických vlastností fazolu obecného na základě spekter měřených na listech se v literatuře vyskytuje pouze zřídka. Studie, kde se PLSR modelování používá pro odhad parametrů vegetace na základě spektrálních dat měřeným pomocí dálkového průzkumu vegetace jsou poměrně časté – například odhad LAI (Kiala, Odindi a Mutanga, 2017), biomasy (Cho *et al.*, 2007), obsahu dusíku ((Hansen a Schjoerring, 2003; Nguyen a Lee, 2006), výnosu (Elsayed, Elhoweity a Schmidhalter, 2015) nebo identifikace napadení patogeny (Huang a Apan, 2006).

Spektrální data měřená pro účely této práce byla využita pro PLSR modelování všech naměřených biofyzikálních a anatomických vlastností fazolu obecného. PLSR modelování RWC ze spektrálních dat nebylo v případě GH2 úspěšné – hodnoty R^2 byly nízké a dosahovaly maximální hodnoty 0,21. Oproti tomu výsledky PLSR modelů odhadu RWC ze spektrálních dat měřených během polních experimentů byly slibnější. V pokusu BASE100 se pro odhad RWC kontrolní skupiny hodnoty R^2 pohybovaly

v rozmezí 0,61- 0,84. Naproti tomu model pro suchou variantu měl velmi nízké hodnoty R^2 nebo se model ani nepodařilo natrénovat. Model pro RWC dat experimentu BASE48 nejlépe fungoval pro pozdější měření v suchu, pravděpodobně z důvodu větší blízkosti termínů měření odrazivosti listu a termínu odběru vzorků pro stanovení RWC. Přesnost PLSR modelů odhadu RWC byla v případě polních experimentů velmi limitována tím, že data nebyla měřena ve stejný den a zároveň nebyla spektrální data měřena na stejné rostlině a stejném listu, který byl odebrán pro stanovení RWC. Zároveň je RWC parametrem, který se dynamicky mění dle podmínek prostředí a vnitřních potřeb a vlastností rostliny. Pro porovnání, ve studii autora Boshkovski *et al.* (2021) byl měřen absolutní obsah vody v listech fazolu obecného. Odhad tohoto parametru ze spektrálních dat byl velmi nepřesný ($R^2 = 0,08$ a $RMSE\% = 3,39$). Je tedy otázkou, proč v některých termínech experimentů PLSR model funguje dobře a v jiných nikoliv. Prozatím není modelování RWC ze spekter zcela spolehlivou cestou pro získání odhadu skutečného obsahu vody v porostu.

Dalším parametrem modelovaným PLSR ze spekter byla SLA. Ve skleníkovém experimentu GH2 byl odhad SLA velmi dobrý pouze v termínu DAP 25 ($R^2 = 0,41-0,73$) (viz Tabulka 7). V polních experimentech se SLA podařilo modelovat pomocí PLSR ze spekter velmi dobře ($R^2 = 0,36-0,88$ pro kontrolní skupinu a pro stresovanou skupinu vyšlo $R^2 = 0,54-0,77$) (viz Tabulka 10). Ve studii Neuwirthová *et al.* (2021) fungovalo PLSR modelování odhadu SLA ze spekter s podobnou přesností ($R^2 = 0,27-0,91$ pro *A. thaliana* a $R^2 = 0,66-0,84$ pro druh *Hieracium*). Kromě této studie se v literatuře nevyskytuje mnoho dalších, které by se věnovaly PLSR modelování odhadu SLA ze spektrálních dat. Existuje studie na dubu cesmínovém (*Quercus ilex*), kde je pomocí PLSR modelována hodnota suchá hmotnost listu na jednotku plochy listové (LMA; $R^2 = 0,72-0,98$), což je převrácená hodnota SLA, která vypovídá o tom, kolik biomasy rostlina vytvoří na jednotku plochy listu (g/m^2) (Ourcival, Joffre a Rambal, 1999). Avšak vzhledem k tomu, že se ve studii jedná o dřevinu, pro srovnání s fazolem není zcela vhodné.

Odhad obsahu chlorofylu a karotenoidů byl modelován pouze pro rostliny ze skleníkového experimentu. PLSR model odhadu celkového obsahu chlorofylu nabýval hodnot R^2 mezi 0,67 a 0,73, což jsou hodnoty podobné ($RMSE\% = 8,8-11,2\%$), ale nižší, než byly získány u pšenice ($R^2 = 0,85$ a $RMSE\% = 10-20\%$) (Atzberger *et al.*, 2010) a vypovídají o velmi dobrém odhadu celkového obsahu chlorofylu na základě odrazivosti listu. Ve stejné studii porovnávali s PLSR modelováním i jiné přístupy – PCR (anglicky „principal component regression“) – regresi hlavních komponent a také korelaci celkového obsahu chlorofylu s NDVI indexem. Z porovnání těchto přístupů vyšel PLSR jako nejlepší nástroj pro odhad celkového obsahu chlorofylu u pšenice. Je otázka, zda se tyto závěry dají vztahovat i na odhad celkového obsahu chlorofylu u fazolu obecného. V další studii Neuwirthová *et al.* (2021) bylo použito PLSR modelování pro odhad celkového obsahu chlorofylu na huseníčku rolním (*A. thaliana*) ($R^2 = 0,83-0,93$) a jestřábníku (*Hieracium*) ($R^2 = 0,23-0,48$). Model lépe fungoval pro odhad u *A. thaliana*. Rozdíl mezi nimi byl výrazný i v hodnotě $RMSE\%$ (*A. thaliana* – 3,56-5,76 % a *Hieracium* – 15,9 – 18,64 %).

V PLSR modelování odhadu celkového obsahu karotenoidů měřených během skleníkového experimentu GH2 vyšla hodnota R^2 pro modely podobně jako u odhadu celkového obsahu chlorofylu také poměrně vysoká ($R^2 = 0,43-0,46$ pro měření na AD straně listu). Ve studii autora Yi *et al.* (2014) bylo PLSR modelování použito pro velmi dobrý odhad celkového obsahu karotenoidů, kdy byla hodnota R^2 na bavlíniku mírně vyšší než u fazolu ($R^2 = 0,56$). Oproti tomu přesnost modelu ($RMSE\%$) bylo u fazolu přesnější – $RMSE\%$ nabývala hodnoty 13 % oproti tomu $RMSE\%$ modelu na bavlíniku měla hodnotu 22 %. U *A. thaliana* fungoval PLSR model odhadu velmi dobře ($R^2 = 0,64-0,74$) s $RMSE\%$ do 8 %. Odhad karotenoidů nebyl u jestřábníku velmi přesný ($R^2 = 0,15-0,39$) (Neuwirthová *et al.*, 2021).

Dalšími parametry měřenými pouze v GH2 byly anatomické vlastnosti listu. Studie, které se věnují modelování tloušťky listu z optických vlastností je v literatuře málo. Z nalezených studií je však zřejmé, že tenčí listy vykazují vyšší transmitanci záření v porovnání s tlustšími listy. Anatomické vlastnosti listu mají vliv na míru odrazivosti listu bez ohledu na obsah pigmentů obsažených v listu (Falcioni *et al.*, 2020). Odrazivost listů v infračervené oblasti je ovlivněna mnoha vlastnostmi spojenými se složením listu (např. obsah vody, ligninu, celulózy, složením kutikuly), ale i strukturální a mikrostrukturální vlastnosti listu zanechávají otisk v infračervené oblasti spektra (Buitrago *et al.*, 2018). Struktura listu se projeví ve spektrální křivce vegetace a existují studie, kde byla snaha tloušťku listu, nebo jejich jednotlivých částí, odhadnout pomocí PLSR modelování. Existuje studie, kde se

pomocí PLSR modelu podařilo odhadnout tloušťku palisádového parenchymu na jestřábníku (Neuwirthová *et al.*, 2021) nebo na dubu cesmínovém (*Quercus ilex*) s koeficientem determinace 0,86-0,99 (Ourcival, Joffre a Rambal, 1999). Do jaké míry jsou výsledky PLSR modelů odhadu provedené na dřevinách možné spojovat s odhady u fazolu obecného je otázkou. Ale vzhledem k tomu, že v obou případech se jedná o stejný typ dorzoventrálního anatomického uspořádání listu, nemusí být rozdíly v závěrech tak velké. V jiné studii (Buitrago *et al.*, 2018), která zahrnovala 19 rostlinných druhů (od bylin po dřeviny), jsou prezentovány odhady tloušťky listu PLSR modelováním s koeficientem determinace pro křížovou validaci modelu vyšší než 0,8 při použití celého rozsahu infračerveného spektra záření. Nejlépe však pro odhad tloušťky listu sloužila oblast SWIR ($R^2 = 0,89$). Obrázek 4, na kterém je zobrazena vegetační křivka odrazivosti, ukazuje, že na oblast infračerveného (NIR) záření má primárně vliv anatomická struktura listu. Z hlediska využití hyperspektrální odrazivosti pro PLSR modelování anatomických znaků listu fazolu je diplomová práce pravděpodobně vůbec první a dosažené výsledky jsou srovnatelné s nalezenými pracemi u bylin. Úspěšné trénování a křížová validace PLSR modelů pro odhad anatomických vlastností listu fazolu jsou jedním z nových a originálních výsledků, které diplomová práce přináší.

Úloha, na kterou v této diplomové práci již nebyl vyhrazen prostor je odhad výsledného výnosu fazolu pomocí PLSR z optických vlastností listu, jako tomu bylo ve studii provedené na sóji (Crusiol *et al.*, 2021). PLSR model vykazoval u sóji vyšší přesnost odhadu výnosu u skupiny, která byla vystavena vodnímu deficitu. V budoucnu pro modelování výnosu z našich dat je vhodné pro tyto účely od sebe oddělit skupiny dle ošetření. Výsledky studie na sóji ukazují, že nejlepší odhad modelu vycházel pro pozdější termíny měření spektrální informace ($R^2 = 0,6-0,9$). Avšak v posledním termínu, kdy zrna dosáhla plné zralosti hodnota R^2 poklesla oproti předcházejícímu měření. Ve studii na fazolu obecném (Rajah *et al.*, 2017), kde byl aplikován SPLSR (sparse PLSR) model pro odhad výnosu, byla jako nejvhodnější doba pro odhad výnosu z reflektance vyhodnocena fáze plnění lusků. Na základě výsledků této studie však nelze jednoznačně říci, zda jsou odhady přesnější u skupiny kontrolní nebo stresované. Dalšími možnostmi pro budoucí PLSR modelování parametrů z dat použitých v této práci jsou například NPQ (Rapaport *et al.*, 2015) nebo transpirace listů, která byla precizně monitorována během skleníkových experimentů na fazolu (Wang a Jin, 2015).

7.2.7 Lineární regrese nadzemní biomasy a vegetačních indexů

Dosažené hodnoty R^2 pro lineární regrese suché hmotnosti nadzemní biomasy (AGB) s vegetačními indexy (VIs) z experimentu GH2 jsou výrazně vyšší oproti hodnotám R^2 , které byly získány z dat naměřených v polních experimentech. Přesnější odhad AGB pomocí VIs u GH2 je pravděpodobně také způsoben tím, že jsou AGB data konkrétní rostliny spojena přímo se spektry měřenými na též rostlině před jejím sklizením. Rostliny byly sklizeny buď ten samý den (DAP 32), nebo dva dny po měření spekter (DAP 25). U těchto dvou termínů se nejedná o lineární regresi průměrné hodnoty AGB na jednu rostlinu s průměrnou hodnotou VI měřených na více rostlinách pro každý genotyp. Tak tomu bylo během GH2 pouze v případě termínu DAP 14 a také u všech termínů polních experimentů. Vyšší přesnost měla lineární regrese AGB a VIs s daty ze dvou pozdějších termínů GH2 (DAP 23 a 32). Tato část analýz ve snaze propojit VIs s AGB (a také SY – viz následující kapitola 7.2.8) byla primárně zamýšlena jako první krok k možnosti využít multispektrální data měřená senzorem neseným na UAV pro odhad těchto parametrů porostu. Ze studie Sankaran, Quirós a Miklas (2019) vyplývá, že VIs měřených spekter měřených přelety drony nad porostem měly silný vztah s AGB a SY ve fázi vývoje lusků. Dá se proto usuzovat, že přístup dálkového průzkumu a využití VIs, má u fazolu velmi dobrý potenciál pro monitoring a analýzu porostu.

Ve skleníkovém experimentu s AGB nejlépe korelovaly vegetační indexy GNDVI, NDVI, BNDVI, NDRE a NDREI. Nejvyšší hodnoty R^2 , které jsou k vidění v Tabulka 9, se pohybovaly od 0,4 do 0,58. Ve studii autora Gutierrez *et al.* (2005) na fazolu byly z odrazivosti listu vypočítány vegetační indexy NDVI, GNDVI a PRI (anglicky „photochemical radiation index“). Tyto tři VIs byly následně korelovány s AGB, pro jejich stanovení byly rostliny sklizeny ve fázi fyziologické zralosti. Korelační koeficient dosahoval u NDVI hodnoty 0,98 a u GNDVI 0,68 – tedy oba VIs pozitivně korelovaly s AGB. U vegetačního indexu PRI byl korelační koeficient -0,76, což ukazuje relativně vysokou negativní korelaci s AGB. Ze studie vyplývá, že NDVI, GNDVI i PRI jsou indexy, které dobře korelují (ať již negativně nebo pozitivně) s hodnotou nadzemní biomasy u fazolu. Tyto výsledky jsou

konzistentní s výsledky skleníkového experimentu GH2, kde lineární regrese vyšla nejlépe právě pro NDVI a GNDVI.

VI, jimž v lineární regresi dat AGB z polního experimentu BASE100 vycházely nejvyšší hodnoty byly spíše odlišné – GRVI, NGBDI a NDRE. Ale vzhledem k poměrně nízké korelaci se nedá usuzovat, že by byly opravdu nevhodnějšími vegetačními indexy pro odhad AGB (R^2 dosahovalo maximálně hodnoty 0,35 – viz Tabulka 11). Tato nepřesnost bude pravděpodobně způsobena použitím průměrných parametrů na genotyp a nebyla propojena spektrální a agronomická data jedné konkrétní rostliny. Zároveň se jedná o míchání dvou úrovní informace – spektrální data, která jsou měřena na úrovni listu a hmotnost suché nadzemní biomasy na úrovni celé rostliny.

7.2.8 Lineární regrese výsledného výnosu s vegetačními indexy

Lineární regrese výsledného výnosu (SY) byla provedena na datech z polního experimentu BASE100. Jednalo se o výsledný výnos hmotnosti semen při finální sklizni na konci experimentu pro každý genotyp. Hodnoty SY byly korelovány s devíti vegetačními indexy (viz seznam v Tabulka 3), které byly vypočítány z průměrné spektrální křivky pro parcelu/genotyp. Lineární regrese byla udělána zvlášť pro všechny termíny měření v experimentu BASE100. Nejvyšší hodnoty R^2 (0,36-0,47) vycházely pro poslední termín měření odrazivosti listu (DAP 62). S výsledným výnosem nejlépe korelovaly vegetační indexy ze skupiny bez závlahy – konkrétně to byly GNDVI, BNDVI, NDRE, NDVI, NDREI. Tyto VIs se z velké části překrývají s těmi, které u skleníkového experimentu GH2 nejlépe korelovaly s AGB. NDVI je vegetačním indexem, který byl mnoha studiemi identifikován jako vhodný VI pro odhad výsledného výnosu u fazolu (Gonzalez, 2018; Nemeskéri, Molnár a Helyes, 2018; Lavrenko, 2022; Lipovac *et al.*, 2022). Podobně i GNDVI velmi dobře koreloval s výsledným výnosem u fazolu (Lipovac *et al.*, 2022) a také byl ve studii autora Zhou *et al.* (2018) označen jako vhodný index pro identifikaci sucha. Dalšími VIs, které byly ve studiích použity pro odhad SY u fazolu, a které nebyly v této práci využity, jsou MCARI1 (Lipovac *et al.*, 2022), EVI (anglicky „enhanced vegetation index“) (Gonzalez, 2018), PRI (Gutierrez *et al.*, 2005)

7.2.9 Data z MultispeQ kapesního fluorimetru

Kapesní fluorimetr MultispeQ se nabízí jako velmi užitečný a praktický nástroj, který je schopen neinvazivně měřit fyziologické parametry rostliny přímo na lokalitě kultivace rostlin. V následujících kapitolách jsou diskutovány některé z měřených parametrů a jakým způsobem tyto parametry reagují na stres suchem.

7.2.9.1 Parametry související s primární fází fotosyntézy

Hodnota Phi2 měřená MSPQ vypovídá o aktuálním kvantovém výtěžku PSII (Φ PSII), tedy o podílu absorbovaných fotonů pomocí LHCI z dopadajícího světla, které jsou využity pro fotochemické reakce (Kramer *et al.*, 2004). PhiNPQ je parametrem, který odhaduje kvantový výtěžek excitované energie proudící do nefotochemických procesů, které slouží pro disipaci energie ve formě tepla při snížené dostupnosti CO_2 způsobené uzavřením průduchů. Tento proces je rostlina schopna regulovat (Kramer *et al.*, 2004; Rapaport *et al.*, 2015). Hodnota PhiNPQ odráží distribuci a sílu intrathylakoidního pH gradientu a schopnost chloroplastů uvolňovat nadbytečnou energii ve formě tepla (Omasa a Takayama, 2003). NPQt je novým fluorescenčním parametrem, který slouží pro odhad NPQ bez nutnosti měření na temnotně adaptovaných rostlinách (Tietz *et al.*, 2017). PhiNO vypovídá o blíže nespecifikovaných procesech nefotochemického zhášení, které nejsou rostlinou regulovány a také slouží pro disipaci přijaté energie (Kramer *et al.*, 2004).

Již v jiné studii bylo zjištěno, že v podmínkách snížené dostupnosti vody u fazolu dochází k odlišné reakci citlivého a odolného genotypu v rychlosti fotosyntézy (Lizana *et al.*, 2006). U odolného genotypu se v podmínkách sucha udržuje vyšší maximální možná rychlost fotosyntézy oproti citlivému genotypu, a to až trojnásobně (Lizana *et al.*, 2006). Míra otevřenosti průduchů má vliv na to, jakým způsobem bude energie absorbovaná PSII využita. Pokud dojde k tomu, že sucho způsobí uzavření průduchů (za podmínek vysoké ozářenosti), dochází k poklesu kvantového výtěžku PSII a jsou aktivovány procesy, které vedou k nárůstu intrathylakoidálního pH gradientu. Tento nárůst poté spustí aktivaci procesů, které uvolňují nadbytečné množství přijaté energie ve formě tepla skrze xantofylový cyklus (a tedy dojde

k nárůstu PhiNPQ) (Omasa a Takayama, 2003). K tomu dochází ale pouze v případě, že průduchová vodivost klesne pod určitou hodnotu. Pokud se průduchy přizavrou, ale zároveň průduchová vodivost neklesne pod tuto hodnotu, nedochází k výraznému nárůstu PhiNPQ ani poklesu ΦPSII. To naznačuje, že je nadbytečná energie využita pro fotorespiraci (Omasa a Takayama, 2003).

Data vypovídající o primární fotosyntéze fazolu měřená pomocí MSPQ v polních experimentech, zejména v BASE100 jsou podkladem pro další zajímavé analýzy ohledně reakce fazolu obecného na sníženou dostupnost vody v půdě. Do rozsahu této práce již zahrnuta do většího detailu nejsou.

7.2.9.2 Změny SPAD hodnot při stresu suchem

Měření chlorofylmetrem SPAD slouží pro nepřímý odhad celkového obsahu chlorofylu v listu (Rosales-Serna *et al.*, 2004) a jeho hodnoty byly pro účely této práce měřeny pomocí MSPQ fluorimetru jako relativní propustnost červeného (650 nm) a infračerveného (950 nm) záření (Kuhlgert *et al.*, 2016). SPAD hodnoty jsou ovlivňovány mírou dostupnosti vody a při snižující se dostupnosti vody dochází také ke snižování hodnot odhadu relativního obsahu chlorofylu, a to až o 22 % při výrazném vodním stresu (Torabian *et al.*, 2018). Ale existuje i studie Asfaw, Blair a Struik (2012) na fazolu obecném, kdy u skupiny vystavené vodnímu stresu byly hodnoty SPAD průměrně o 4 % vyšší než u kontrolní skupiny. Více byl již vztah (relativního) obsahu chlorofylu ke stresu diskutován v kapitole 7.2.2.

7.2.9.3 Rozdíl teploty listu a teploty okolního vzduchu

Teplota listu se mění v závislosti na transpiraci listu. Když míra transpirace rostliny poklesne, teplota povrchu listů vzroste (Jones *et al.*, 2002). Když rostlina transpiruje, klesne teplota listu pod teplotu okolního vzduchu díky využití energie dopadající na list pro odpar vody (Camoglu a Genc, 2013). V podmínkách nízké dostupnosti vody rostlina sníží otevřenost průduchů a tím i míru transpirace a výměna latentního tepla mezi listem a atmosférou se zpomalí, což vede ke zvýšení teploty listu. Přesáhne-li teplota listu teplotu okolí, transpirace se velmi zpomalí (Camoglu a Genc, 2013). U fazolu bylo zjištěno, že je vysoce senzitivní na vysoké teploty a transpirační chlazení listů vede k poklesu teploty listu v průměru o 5°C oproti okolnímu vzduchu (Deva *et al.*, 2020). Tato studie ovšem byla provedena na rostlinách stresovaných horkem a ne suchem. V experimentu BASE100 sice rozdíl teploty listu a okolního vzduchu (LTD) výrazně nepřispíval k odlišení kontrolní a stresované skupiny v PCA, ale v pokusu BASE48 byl LTD jedním z faktorů, které přispívaly k tendenci seskupování skupin podél PC2, a to jako v dopoledním, tak odpoledním měření. Vzhledem k tomu, že zvýšení teploty porostu je výsledkem nejen vodního statutu rostliny, ale také interakcí půdy, biosféry a atmosféry, samotné LTD nemusí být dostačující pro stanovení vodního stresu u rostlin (Camoglu a Genc, 2013).

7.2.10 Vztah mezi vegetačními indexy a výnosovými parametry – celková biomasa a výnos zrna (lineární regrese)

7.2.10.1 Srovnání skleníkového a polního experimentu

Byly provedeny lineární regrese devíti vybraných VIs (viz Tabulka 3) s hodnotami hmotnosti suché nadzemní biomasy (AGB) ze skleníkového experimentu GH2 a polního experimentu BASE100. U polního experimentu BASE100 byla udělána lineární regrese i pro výsledný výnos (SY). V případě experimentu BASE48 se lineární regrese VIs s nadzemní biomasou nebo výsledným výnosem nepodařilo provést z důvodu nedostupnosti dat v období zpracovávání dat pro diplomovou práci. Výsledky tohoto experimentu budou v nejbližší době publikované ve vědeckých člancích.

Vztah mezi měřenou odrazivostí listu (a zní následně vypočítaného VI) a parametru AGB nebo SY je nepřímý, pokud je z odrazivosti měřené na úrovni listu modelován parametr, který se týká celé rostliny. Vhodnějším přístupem by bylo modelování těchto parametrů z odrazivosti měřené na úrovni celého porostu, ale pro účely této práce nebyly pro lineární regresi použita data měřená senzory umístěnými na UAV z úrovně porostu.

7.2.10.2 Rozdíly mezi genovými pooly – andským a mezoamerickým

V kapitole 6.2.5 byly prezentovány grafy lineárních regresí vybraných VIs a výsledného výnosu zrn pro polní experiment BASE100. Na grafech jsou barevně vyznačeny jednotlivé genové pooly fazolu – Andský a Mezoamerický. Při měření odrazivosti listu v posledních termínu (DAP 62) chyběla spektra pro 10 genotypů, které již v tomto termínu dosáhly maturace a jejich listoví bylo již zcela seschlé. Celkem 8 z těchto 10 genotypů patří do Andského genového poolu a tato data naznačují, že andské genotypy mají tendenci urychlovat svůj životní cyklus v podmínkách snížené dostupnosti vody více než ostatní genotypy Mezoamerického genového poolu. Zásadní roli také hraje lepší adaptace Mezoamerického poolu na klimatické podmínky Palmiry (Kolumbie), kde se pokusy prováděly. Andské genotypy se také vyznačují tím, že mají větší zrna. Velikost semen je běžně negativně korelována s výsledným výnosem (Sexton *et al.*, 1997). Tedy čím větší semena genotyp tvoří, tím jsou jeho výnosy nižší. Andský genový pool má nízkou produktivitu (Sexton *et al.*, 1997), což může souviset s jeho tendencí urychlovat svůj vývoj se zaměřením na minimální množství semen, nutných pro přežití genotypu.

7.2.11 Vliv výběru listu a jeho strany na analýzy

Při výběru listu pro měření spektrálních vlastností listu pomocí spektrometru bylo dbáno na to, aby se jednalo o nejmladší, avšak plně vyvinutý list, nehladě na jeho pozici na prýtu. Bylo tomu z toho důvodu, že působící vodní stres u stresované skupiny zpomaluje růstovou rychlost rostlin, a to vede k tomu, že listy různého stáří se vyskytují na stejné nodální pozici napříč oběma ošetřeními (Rapaport *et al.*, 2014).

Pro studium vlivu strany listu na spektrální analýzy byla na jejich počátku provedena PCA celých spekter pro vizualizaci rozdílnosti těchto dat u adaxiální a abaxiální strany, které ukázaly jasnou odlišitelnost strany na základě spektrální informace. Následně byla provedena PCA na naměřené odrazivosti listu na obou stranách odděleně. Výsledky svědčí o tom, že přestože se odrazivost listu AD a AB stran liší, na výsledky PCA nemá strana listu výrazný vliv a v datech jsou viditelné podobné trendy a seskupování skupin na základě termínu měření (viz Obrázek 14), ošetření a genotypu (grafy PCA těchto nejsou v práci prezentovány). Protože se výsledky analýz AD a AB stran výrazně nelišila, byly pro analýzy prezentované v této diplomové práci využity pouze spektra měřená na AD straně listu. Studie prováděná na sóji Walter-Shea *et al.* (1991) podporuje naše rozhodnutí výběru pouze AD, protože v ní bylo zjištěno, že odrazivost AD a AB strany se od sebe vzájemně liší max o 5 %.

7.3 Zhodnocení přínosu předkládané práce

Výsledky této práce zahrnují unikátní data sbíraná na fazolu obecném a ostrolistém, ve dvou odlišných podmínkách pěstování – ve skleníku PřF UK v Praze a v polních pokusech prováděných v Kolumbii. V obou prostředích bylo využito metodiky měření spektrálních vlastností listu u fazolu, která prozatím není v literatuře hojně dostupná. Studie na fazolu, které by obsáhly tak širokou škálu genotypů také nejsou běžnou záležitostí, díky tomu jsou data vysoce průkazná a lze z nich vyvodit obecnější závěry o chování různých genotypů fazolu v podmínkách snížené dostupnosti vody. Za kvalitu materiálu a možnosti použití sofistikovaných metod pro studium fazolu vděčím především spolupráci s mezinárodním výzkumným institutem CIAT v kolumbijské Palmiře. Zdejší tým fyziologů fazolu vedený Ing. Milanem O. Urbanem, DiS, Ph.D. (absolventem Ph.D. studia na PřF UK, obor anatomie a fyziologie rostlin) pomohl zdárnému průběhu sběru dat, který probíhal pod mým vedením a také mi jeho tým asistoval při zpracování velkého objemu odebraných vzorků. Moje účast na polních pokusech BASE100 a BASE48 byla možná i díky finanční podpoře Fondu mobility UK a Nadačního fondu Přírodovědecké fakulty UK, které významně podpořily mé dva tříměsíční pobyty v Kolumbii v letech 2019 a 2021. Za zahraniční pobyt vděčím také (finanční) podpoře přijímající výzkumné instituce CIAT, která zajistila bezpečné zázemí pro průběh experimentů i v neklidných podmínkách kolumbijského prostředí během pandemie.

Z vlastních analyzovaných výsledků diplomové práce je přínosným zejména PLSR modelování anatomických a biofyzikálních znaků listoví u fazolu z hyperspektrálních dat. Práce má také velký přínos pro monitorování fenotypového projevu různých genotypů fazolu lišících se v odolnosti ke snížené dostupnosti vody. Podařilo se přispět ke znalostem pro snadnější vytipování genotypů, což

může pomoci při výběru odolných genotypů. Díky podrobnějším znalostem reakcí jednotlivých genotypů fazolu na specifické podmínky prostředí lze s větší přesností volit vhodný genotyp fazolu pro konkrétní stanoviště se specifickými klimatickými a geografickými podmínkami. Výsadbou vhodného genotypu bude možné docílit co nejvyššího výnosu pro danou lokalitu. Vzhledem k aktuálnímu prohlubování klimatické změny a s ní spojeným výzvám i v oblasti kultivace fazolu, je tato práce jednou z mnoha, které se snaží přispět k hledání řešení pro potravinovou bezpečnost planety s využitím nejnovějších metodických přístupů, mezi které patří i měření hyperspektrálních dat.

Část dat naměřených během polních experimentů v roce 2019 v Kolumbii byla již opublikována ve studii autorů Deva, Urban, Challinor, Faloon a Svitáková (2020). Tato studie se věnuje transpiračnímu chlazení u fazolu jakožto mechanismu rezistence vůči vysokým teplotám. Konkrétně byla použita data SLA z experimentu BASE100. Spolu se závěrem této studie se dá říci, že SLA může spojována s rezistencí vůči několika abiotickým stresorům (sucha a vysokých teplot) u fazolu.

Data, která byla nashromážděna během polních experimentů v rámci několika týmů – tým fyziologie, tým operující s UAV nesoucí multispektrální a další senzory, tým agronomů – mají veliký publikační potenciál a v blízké době je plánováno jejich zveřejnění rozložené do několika článků. Tyto články budou obsahovat hlavně výsledky z hyperspektrálních a multispektrálních dat z úrovně listu i porostu (snímané bezpilotními letouny). Spektrální data v takovémto rozsahu na fazolu doposud měřena nebyla, bude se proto jednat o publikace zajímavé pro další vývoj studia fazolu obecného.

8. Závěry

Výsledky experimentů prezentované v rámci této diplomové práce měly za cíl zodpovědět otázky, které jsou zmíněny v úvodu. Cílem bylo přispět ke spolehlivějšímu a sofistikovanějšímu monitorování zemědělské produkce fazolu obecného spektroskopickými metodami (případně metodami dálkového průzkumu) v aktuálních podmínkách klimatické změny. K výzvám způsobeným klimatickou změnou patří i hojnější výskyt výkyvů teploty a dostupnosti vody v oblastech kultivace fazolu. Často jsou nejvíce ohroženi pěstitelé, kteří mají málo vstupních prostředků, a je proto vhodné vybírat genotypy fazolu, které budou v daných zcela jedinečných podmínkách vykazovat menší pokles výnosu nebo jeho kvality (pokud se jedná o tzv. biofortifikované odrůdy). Pro rychlejší, spolehlivější a velko-objemovou („high-throughput“) identifikaci takových genotypů slouží markery zjištěné s použitím optických vlastností listu, umožňující využití metod dálkového průzkumu vegetace, jejichž studiem se zabývala tato práce.

1. Prvním z cílů bylo zjistit, zda lze na základě optických vlastností listu kvantifikovat vodní stres u fazolu obecného. Na tuto otázku odpovídaly hlavně polní pokusy, kdy analýza hlavních komponent (PCA) celého spektra odrazivosti listu ukázala, že snížená dostupnost vody způsobovala rozdíl mezi skupinou kontrolní a stresovanou.
 - a. Výsledky ukázaly největší rozdíl mezi skupinami v rané fázi vývoje, kdy však ještě nebyl přítomný dostatečně silný vodní stres u ošetřené skupiny s jistotou v polním pokusu BASE100. Rozdíl mezi skupinami mohl být v tomto případě způsoben odlišnými půdními podmínkami na stanovištích pěstování. V případě BASE48 byl také nejvýraznější rozdíl mezi skupinami v PCA odrazivosti měřené v raném termínu, kde mohly rostliny již registrovat mírný pokles půdní vlhkosti, ale ani zde s jistotou nelze říci, že je rozdíl způsoben vodním stresem. U pozdějších termínů, kdy byl stres zaručeně přítomný, PCA neukázala tak výrazné rozdíly, ale náznak odlišení skupin na základě odrazivosti listu je patrný ve fázi plnění i zralosti lusků. Průběh dat analyzovaných pomocí PCA ukazuje prvotní velký rozdíl mezi skupinami v době nepřítomnosti sucha, který se postupně stírá a opět objevuje s nastupující intenzitou ošetření terminálním suchem u stresované skupiny.
 - b. Výběr časového období, kdy by bylo možné kvantifikovat přítomnost vodního stresu u fazolu, je problematické z tohoto důvodu, že rozdíly PCA odrazivosti listu mezi pozorovanými skupinami mohou být způsobeny i jinými faktory než pouze přítomností vodního deficitu. Nebo mohou změny způsobující rozdíly v odrazivosti být pouze na metabolické úrovni, které se ještě nepromítly do fyziologických změn rostlin.
 - c. Vizualizace spektrálních křivek odrazivosti listu fazolu ukázala, že se skupiny výrazněji liší v odlišných oblastech v závislosti na termínu měření. V období vegetativní fáze, kdy ještě nebyl přítomný stres terminálního sucha, byly největší odlišnosti odrazivosti listu viditelné v oblasti SWIR (1400-2500 nm). Do této oblasti se nevíce promítají obsahy celulózy a ligninu. Oproti tomu byly rozdíly mezi skupinou kontrolní a stresovanou v termínu maturity lusků viditelné spíše v NIR oblasti spektrální křivky (700-1400 nm). V tuto dobu lze změny ve stresované skupině přisuzovat vodnímu stresu. Na NIR oblast spektra mají nejvíce vliv strukturální vlastnosti listu a jeho buněčné struktury.
 - d. Na základě výsledků PCA provedené zvláště na spektrech měřených na adaxiální a abaxiální straně listu bylo vyhodnoceno, že přestože u každé strany dochází k jinému rozložení vzorků v rámci PC1 a PC2, jsou pozorovatelné stejné trendy v rozdílnostech pro jednotlivé skupiny (vlivem ošetření, genotypů nebo termínu měření). Tyto výsledky jsou pro výzkum fazolu zásadní, protože při využití metod dálkového průzkumu vstupují do odrazivosti snímaného porostu jak spektrální data adaxiální, tak i abaxiální strany listu. To je způsobeno paraheliotropickými pohyby listů fazolu, kterými je schopen regulovat míru slunečního záření, kterému jsou listy vystaveny. Tento efekt paraheliotropických pohybů by na základě našich výsledků neměl mít velmi zásadní vliv na parametry odrazivosti listu, což je velmi cenný poznatek pro další využití metod dálkového průzkumu pro monitorování vlivu sucha na fazol.

Na první hypotézu tedy můžeme odpovědět kladně: Na základě optických vlastností listu lze odhalit vodní stres u fazolu obecného. Nicméně bude ještě třeba se této problematice

experimentálně věnovat a prohloubit porozumění o změnách odrazivosti listu v rané fázi vývoje fazolu.

2. Dalším cílem této práce bylo zjistit, zda odolné a citlivé genotypy reagují odlišně na stres snížené dostupnosti vody v půdě a zda lze identifikovat parametry, které by byly vhodnými indikátory odolných genotypů fazolu obecného. V této práci byly vybrány: a) relativní obsah vody (RWC) a b) specifická listová plocha (SLA) pro studium odlišnosti reakcí různě citlivých genotypů na stres suchem.
 - a. RWC se v polním experimentu BASE100 lišil mezi genotypy v prvním termínu měření pouze v kontrolní skupině, kdy si rezistentní genotypy udržovaly vyšší hodnoty RWC (viz Obrázek 42). Stejný trend byl pozorovatelný u kontrolní skupiny v pozdějším odběru, ale tyto rozdíly se v podmínkách stresu vytratily. U skupiny ošetřené suchem došlo u rezistentních genotypů k výraznějšímu poklesu RWC oproti kontrolní skupině, u citlivých genotypů byl pokles oproti kontrolní skupině méně kontrastní v obou termínech měření. Rozdíly mezi kontrolní a stresovanou skupinou byly v obou termínech měření během BASE100 signifikantní. V BASE48 byla reakce různě citlivých genotypů méně jednoznačná a je možné, že meteorologické podmínky v tomto roce nebyly zcela vhodné pro optimální navození experimentálního designu ošetření skupin z důvodu extrémního množství srážek.
 - b. V parametru SLA se kontrolní a stresovaná skupina signifikantně lišily ve všech termínech odběrů (viz Obrázek 43). Rostliny reagují na sníženou dostupnost vody změnami SLA. Reakcí na sucho byl u senzitivních genotypů pokles v SLA. Odolné genotypy reagovaly různorodě – v některých případech nedošlo ke změně v podmínkách sucha oproti kontrole (v BASE100 – SEF 16, BASE48 SCR 9 a Tepary 32) jindy došlo k poklesu (BASE100 – Tepary32 (pouze v ranějším termínu), BASE48 – SEF 16) nebo ke zvýšení (BASE100 – SCR 9, Tepary 32). Tyto změny nebyly u rezistentních genotypů konzistentní napříč polními experimenty ani u jednoho z nich. Z výsledků by se dalo předpokládat, že pokles SLA v podmínkách sucha by mohlo poukazovat na senzitivitu genotypu vůči stresu suchem.

Na druhou hypotézu též můžeme odpovědět kladně: **Genotypy fazolu reagují odlišně na stres suchem a rezistentní genotypy fazolu lze rozpoznat pomocí vybraných fyziologických a biofyzikálních indikátorů.**

3. Třetím cílem bylo zjistit, zda optické vlastnosti listu mohou sloužit k odhadu biofyzikálních a anatomických parametrů listové a výnosových parametrů.
 - a. Pomocí PLSR modelování byly vytvořeny modely pro odhad vybraných parametrů na základě odrazivosti listů z celého spektra (350-2500 nm) pro experimenty GH2, BASE100 i BASE48.
 - i. V polních experimentech byly modelovány biofyzikální vlastnosti listu (RWC a SLA). V BASE100 modely odhadu RWC vycházely pro kontrolní skupinu v obou termínech velmi dobře ($R^2 = 0,61-0,84$), ale stres přesnost modelu negativně ovlivňoval a v obou termínech se nepodařilo data validovat ($R^2 = 0-0,08$ nebo NA). Oproti tomu PLSR modely odhadu SLA v BASE100 byly velmi dobré jak pro kontrolní, tak pro stresovanou skupinu. U kontrolní skupiny byl model odhadu SLA v dřívějším termínu přesnější ($R^2 = 0,6-0,88$). Pro stresovanou skupinu byly výsledky modelů odhadu SLA obdobné pro oba termíny ($R^2 = 0,54-0,77$). V polním experimentu BASE48 PLSR modely odhadu RWC ukázaly největší přesnost u kontrolní skupiny v raném termínu ($R^2 = 0,28-0,51$) a u stresované skupiny v pozdějším ($R^2 = 0,42-0,75$). PLSR modely odhadu SLA byl v případě BASE48 uspokojivý pouze v pozdějším termínu u kontrolní skupiny ($R^2 = 0,36-0,57$).
 - ii. Ve skleníkovém experimentu byl modelován jak odhad biofyzikálních, ale navíc i anatomických parametrů. Nejlepší modely odhadu vycházely pro obsah pigmentů v listech, zejména chlorofylů a i b bez ohledu na snímanou stranu listu ($R^2 = 0,66-0,8$). Dobrý odhad vyšel i pro SLA v ranějším termínu, z AB strany listu byl model přesnější ($R^2 = 0,53-0,73$). Z anatomických parametrů se podařilo dobře modelovat celkovou tloušťku listu, kdy snímaná strana listu nehrála roli ($R^2 = 0,33-0,6$). Tloušťka palisádového parenchymu byla také dobře odhadovaná pomocí PLSR modelu, obzvláště z odrazivosti AD strany listu ($R^2 = 0,44-0,63$). Odhad tloušťky spodní pokožky byl lépe modelován z AB strany listu ($R^2 = 0,24-0,52$).

- b. Obecně se dá říci, že na výsledky odhadu parametrů pomocí PLSR modelování neměla strana listu výrazný vliv. Tento poznatek je důležitým výstupem této práce pro výzkum fazolu, protože fazol využívá paraheliotropických pohybů listy. V důsledku toho je při monitorování porostu pomocí dálkového průzkumu země snímána smíchaná spektrální informace odrazivosti AD i AB stran listů. Na základě výsledků této práce by tato skutečnost nemusela být překážkou pro modelování odhadů parametrů snímaného porostu na základě jeho spektrální informace.
- c. Vegetační indexy (VIs) byly využity pro testování nepřímého vztahu optických vlastností na úrovni listu a výnosových parametrů. Pro skleníkový experiment GH2 byly pro lineární regresi využity hodnoty suché hmotnosti biomasy nadzemní části rostliny (AGB). Nejlépe korelovala AGB s vegetačními indexy GNDVI, NDVI, BNDVI, NDRE a NDREI (a často byla silnější korelace AGB s VIs vypočítaných ze spektrálních dat měřených na AB straně listu – viz Tabulka 9). Korelace AGB s VIs byla u GH2 lepší než u polních experimentů, pravděpodobně z důvodu propojení AGB a VIs měřených pro konkrétní rostlinu. Oproti tomu u polního experimentu BASE100 byla korelována průměrná hmotnost AGB s VIs z průměrných spektrálních dat. Lineární regrese byla na datech z BASE100 aplikována nejen na AGB s VIs, ale také pro hodnoty výsledného výnosu zrn (SY) pro všech 48 genotypů. Korelace AGB s VIs z pokusu BASE100 dosahovala maximální hodnoty R^2 0,35 v termínu DAP19, a to s vegetačním indexem GRVI. Výsledky lineární regrese SY s VIs ukázaly silnější korelaci SY s VIs než s AGB ($R^2 = 0,35-0,47$) – a to zejména s vegetačním indexem GNDVI, BNDVI, NDRE, NDVI, NDREI (Tabulka 12). Tyto VIs se překrývají s těmi, které nejlépe korelovaly u skleníkového experimentu s AGB. Proto lze soudit, že tyto VIs jsou z vybraných VIs nejvhodnějšími pro odhad AGB a SY u fazolu.

Na třetí hypotézu je možné odpovědět též kladně, ale rozhodně s další specifikací, resp. upřesněním: **Optické vlastnosti listu mohou sloužit k odhadu biofyzikálních a anatomických parametrů listoví (RWC, SLA, obsah chlorofylu, anatomické vlastnosti listu) a výnosových parametrů rostlin (nadzemní biomasa, výnos zrna).**

Jedním z výstupů mého výzkumného pobytu v CIAT je i spoluautorství na publikaci Deva *et al.* (2020), která vyšla v časopise *Frontiers in Plant Science* (IF = 5,75). Článek byl zaměřen na mechanismus chlazení listů jakožto důležitý aspekt rezistence vůči vysokým teplotám u fazolu.

9. Seznam literatury

Abass, S.M. and Mohamed, H.I. (2011) 'Alleviation of adverse effects of drought stress on common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) by exogenous application of hydrogen peroxide', *Bangladesh Journal of Botany*, 40(1), pp. 75–83. Available at: <https://doi.org/10.3329/bjb.v40i1.8001>.

Acosta-Díaz, E. *et al.* (2009) 'Adaptation traits in dry bean cultivars grown under drought stress', *Agricultura técnica en México*, 35(4), pp. 419–428.

Acosta-Gallegos, J.A. and White, J.W. (1995) 'Phenological Plasticity as an Adaptation by Common Bean to Rainfed Environments', *Crop Science*, 35(1). Available at: <https://doi.org/10.2135/cropsci1995.0011183X003500010037x>.

Agurla, S. *et al.* (2018) 'Mechanism of Stomatal Closure in Plants Exposed to Drought and Cold Stress', *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 1081, pp. 215–232. Available at: https://doi.org/10.1007/978-981-13-1244-1_12.

Albrechtová, J., Kupková, L. and Campbell, P.K.E. (2017) *Metody hodnocení fyziologického stavu smrkových porostů: případové studie sledování vývoje stavu smrkových porostů v Krušných horách v letech 1998-2013*. Česká geografická společnost.

Aldakheel, Y.Y. and Danson, F.M. (1997) 'Spectral reflectance of dehydrating leaves: Measurements and modelling', *International Journal of Remote Sensing*, 18(17), pp. 3683–3690. Available at: <https://doi.org/10.1080/014311697216883>.

Allen, M.R. and Dube, O.P. (2018) *Global Warming of 1.5°C. An IPCC Special Report on the impacts of global warming of 1.5°C above pre-industrial levels and related global greenhouse gas emission pathways, in the context of strengthening the global response to the threat of climate change, sustainable development, and efforts to eradicate poverty*. Available at: <https://www.ipcc.ch/sr15/chapter/chapter-1/> (Accessed: 2 May 2022).

Ambachew, D. *et al.* (2015) 'Trait associations in common bean genotypes grown under drought stress and field infestation by BSM bean fly', *The Crop Journal*, 3(4), pp. 305–316. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cj.2015.01.006>.

Amede, T. and Schubert, S. (2005) 'Mechanisms of drought resistance in grain: II Stomatal regulation and root growth', *SINET: Ethiopian Journal of Science*, 26. Available at: <https://doi.org/10.4314/sinet.v26i2.18209>.

Anjum, S.A. *et al.* (2011) 'Morphological, physiological and biochemical responses of plants to drought stress', *African Journal of Agricultural Research*, 6(9), pp. 2026–2032. Available at: <https://doi.org/10.5897/AJAR10.027>.

Asfaw, A. and Blair, M.W. (2012) 'Quantitative trait loci for rooting pattern traits of common beans grown under drought stress versus non-stress conditions', *Molecular Breeding*, 30(2), pp. 681–695. Available at: <https://doi.org/10.1007/s11032-011-9654-y>.

Asfaw, A., Blair, M.W. and Struik, P.C. (2012) 'Multienvironment Quantitative Trait Loci Analysis for Photosynthate Acquisition, Accumulation, and Remobilization Traits in Common Bean Under Drought Stress', *G3 Genes|Genomes|Genetics*, 2(5), pp. 579–595. Available at: <https://doi.org/10.1534/g3.112.002303>.

- Asrar, G. *et al.* (1984) 'Estimating Absorbed Photosynthetic Radiation and Leaf Area Index from Spectral Reflectance in Wheat1', *Agronomy Journal*, 76(2), pp. 300–306. Available at: <https://doi.org/10.2134/agronj1984.00021962007600020029x>.
- Assefa, T. *et al.* (2013) 'Pod harvest index as a selection criterion to improve drought resistance in white pea bean', *Field Crops Research*, 148, pp. 24–33. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2013.04.008>.
- Atzberger, C. *et al.* (2010) 'Comparative analysis of three chemometric techniques for the spectroradiometric assessment of canopy chlorophyll content in winter wheat', *Computers and Electronics in Agriculture*, 73, pp. 165–173. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.compag.2010.05.006>.
- Bacon, M. (2009) *Water Use Efficiency in Plant Biology*. John Wiley & Sons.
- Baker, N.R. (2008) 'Chlorophyll Fluorescence: A Probe of Photosynthesis In Vivo', *Annual Review of Plant Biology*, 59(1), pp. 89–113. Available at: <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.59.032607.092759>.
- Bassi, R. *et al.* (1993) 'Carotenoid-binding proteins of photosystem II', *European Journal of Biochemistry*, 212(2), pp. 297–303. Available at: <https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1993.tb17662.x>.
- Beebe, S. *et al.* (2011) 'Genetic Improvement of Common Beans and the Challenges of Climate Change', in *Crop Adaptation to Climate Change*. John Wiley & Sons, Ltd, pp. 356–369. Available at: <https://doi.org/10.1002/9780470960929.ch25>.
- Beebe, S. *et al.* (2013) 'Phenotyping common beans for adaptation to drought', *Frontiers in Physiology*, 4, p. 35. Available at: <https://doi.org/10.3389/fphys.2013.00035>.
- Beebe, S.E. *et al.* (2008) 'Selection for Drought Resistance in Common Bean Also Improves Yield in Phosphorus Limited and Favorable Environments', *Crop Science*, 48(2), pp. 582–592. Available at: <https://doi.org/10.2135/cropsci2007.07.0404>.
- Beebe, S.E. *et al.* (2014) 'Common beans, biodiversity, and multiple stresses: challenges of drought resistance in tropical soils', *Crop and Pasture Science*, 65(7), pp. 667–675. Available at: <https://doi.org/10.1071/CP13303>.
- Berger, J., Palta, J. and Vadez, V. (2016) 'Review: An integrated framework for crop adaptation to dry environments: Responses to transient and terminal drought', *Plant Science*, 253, pp. 58–67. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2016.09.007>.
- Bielenberg, D.G., Miller, J.D. and Berg, V.S. (2003) 'Paraheliotropism in two Phaseolus species: combined effects of photon flux density and pulvinus temperature, and consequences for leaf gas exchange', *Environmental and Experimental Botany*, 49(2), pp. 95–105. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0098-8472\(02\)00062-X](https://doi.org/10.1016/S0098-8472(02)00062-X).
- Blackburn, G.A. (1998) 'Spectral indices for estimating photosynthetic pigment concentrations: A test using senescent tree leaves', *International Journal of Remote Sensing*, 19(4), pp. 657–675. Available at: <https://doi.org/10.1080/014311698215919>.
- Blum, A. (1988) *Plant Breeding for Stress Environments*. Boca Raton: CRC Press. Available at: <https://doi.org/10.1201/9781351075718>.
- Bohnert, H.J., Nelson, D.E. and Jensen, R.G. (1995) 'Adaptations to Environmental Stresses.', *The Plant Cell*, pp. 1099–1111. Available at: <https://doi.org/10.1105/tpc.7.7.1099>.

- Bosabalidis, A.M. and Kofidis, G. (2002) 'Comparative effects of drought stress on leaf anatomy of two olive cultivars', *Plant Science*, 163(2), pp. 375–379. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(02\)00135-8](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(02)00135-8).
- Boshkovski, B. *et al.* (2020) 'Relationships of Spectral Reflectance with Plant Tissue Mineral Elements of Common Bean (*Phaseolus Vulgaris* L.) Under Drought and Salinity Stresses', *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 51(5), pp. 675–686. Available at: <https://doi.org/10.1080/00103624.2020.1729789>.
- Boshkovski, B. *et al.* (2021) 'Relationship between physiological and biochemical measurements with spectral reflectance for two *Phaseolus vulgaris* L. genotypes under multiple stress', *International Journal of Remote Sensing*, 42(4), pp. 1230–1249. Available at: <https://doi.org/10.1080/01431161.2020.1826061>.
- Buitrago, M.F. *et al.* (2018) 'Spectroscopic determination of leaf traits using infrared spectra', *International Journal of Applied Earth Observation and Geoinformation*, 69, pp. 237–250. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jag.2017.11.014>.
- Burnett, A.C. *et al.* (2021) 'Detection of the metabolic response to drought stress using hyperspectral reflectance', *Journal of Experimental Botany*, 72(18), pp. 6474–6489. Available at: <https://doi.org/10.1093/jxb/erab255>.
- Butare, L. *et al.* (2011) 'New genetic sources of resistance in the genus *Phaseolus* to individual and combined aluminium toxicity and progressive soil drying stresses', *Euphytica*, 181, pp. 385–404. Available at: <https://doi.org/10.1007/s10681-011-0468-0>.
- Camoglu, G. and Genc, L. (2013) 'Determination of water stress using thermal and spectral indices from green bean canopy', *Fresenius Environmental Bulletin*, 22, pp. 3078–3088.
- Carter, G.A. (1993) 'Responses of Leaf Spectral Reflectance to Plant Stress', *American Journal of Botany*, 80(3), pp. 239–243. Available at: <https://doi.org/10.1002/j.1537-2197.1993.tb13796.x>.
- Castonguay, Y. and Markhart, A.H. (1992) 'Leaf Gas Exchange in Water-Stressed Common Bean and Tepary Bean', *Crop Science*, 32(4). Available at: <https://doi.org/10.2135/cropsci1992.0011183X003200040030x>.
- Chang, L.I.U., Peng-Sen, S.U.N. and Shi-Rong, L.I.U. (2016) 'A review of plant spectral reflectance response to water physiological changes', *Chinese Journal of Plant Ecology*, 40(1), p. 80. Available at: <https://doi.org/10.17521/cjpe.2015.0267>.
- Chen, J.-J., Zhen, S. and Sun, Y. (2021) 'Estimating Leaf Chlorophyll Content of Buffaloberry Using Normalized Difference Vegetation Index Sensors', *HortTechnology*, 31(3), pp. 297–303. Available at: <https://doi.org/10.21273/HORTTECH04808-21>.
- Cho, M.A. *et al.* (2007) 'Estimation of green grass/herb biomass from airborne hyperspectral imagery using spectral indices and partial least squares regression', *International Journal of Applied Earth Observation and Geoinformation*, 9(4), pp. 414–424. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jag.2007.02.001>.
- Crusiol, L. *et al.* (2021) 'Classification of Soybean Genotypes Assessed Under Different Water Availability and at Different Phenological Stages Using Leaf-Based Hyperspectral Reflectance', *Remote Sensing*, 13(2), p. 172. Available at: <https://doi.org/10.3390/rs13020172>.

- Crusiol, L. *et al.* (2021) ‘Yield Prediction in Soybean Crop Grown under Different Levels of Water Availability Using Reflectance Spectroscopy and Partial Least Squares Regression’, *Remote Sensing*, 13(5), p. 977. Available at: <https://doi.org/10.3390/rs13050977>.
- Darkwa, K. *et al.* (2016) ‘Evaluation of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) genotypes for drought stress adaptation in Ethiopia’, *The Crop Journal*, 4. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cj.2016.06.007>.
- Davies, S.L. *et al.* (2000) ‘Remobilisation of carbon and nitrogen supports seed filling in chickpea subjected to water deficit’, *Australian Journal of Agricultural Research*, 51(7), pp. 855–866. Available at: <https://doi.org/10.1071/ar00018>.
- Debouck, D., Santaella, M. and Santos, L.G. (2021) ‘History and impact of a bean (*Phaseolus* spp., Leguminosae, Phaseoleae) collection’, *Genetic Resources*, 2(4), pp. 21–43. Available at: <https://doi.org/10.46265/genresj.WJEU8358>.
- Demmig-Adams, B. and Adams, W.W. (1996) ‘Xanthophyll cycle and light stress in nature: uniform response to excess direct sunlight among higher plant species’, *Planta*, 198(3), pp. 460–470. Available at: <https://doi.org/10.1007/BF00620064>.
- Demmig-Adams, B., Gilmore, A.M. and Iii, W.W.A. (1996) ‘In vivo functions of carotenoids in higher plants’, *The FASEB Journal*, 10(4), pp. 403–412. Available at: <https://doi.org/10.1096/fasebj.10.4.8647339>.
- Deva, C. *et al.* (2020) ‘Enhanced Leaf Cooling Is a Pathway to Heat Tolerance in Common Bean’, *Frontiers in Plant Science*, 11, p. 1. Available at: <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00019>.
- Egu, A. and Tesfaye, K. (2018) ‘Morpho-Physiological Characterization Related to Drought Tolerance of Common Bean (*Phaseolus Vulgaris* L.) Genotypes’.
- Ehleringer, J. and Forseth, I. (1980) ‘Solar Tracking by Plants’, *Science* [Preprint]. Available at: <https://doi.org/10.1126/science.210.4474.1094>.
- Elsayed, S., Elhoweity, M. and Schmidhalter, U. (2015) ‘Normalized difference spectral indices and partial least squares regression to assess the yield and yield components of peanut’, *Australian Journal of Crop Science* [Preprint]. Available at: <https://search.informit.org/doi/abs/10.3316/informit.660021238323691> (Accessed: 21 June 2022).
- Ennajeh, M. *et al.* (2010) ‘Comparative impacts of water stress on the leaf anatomy of a drought-resistant and a drought-sensitive olive cultivar’, *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 85(4), pp. 289–294. Available at: <https://doi.org/10.1080/14620316.2010.11512670>.
- Enoch, H.Z. (1990) ‘Crop responses to aerial carbon dioxide.’, *Acta Horticulturae*, (No. 268), pp. 17–32.
- Esbensen, K.H. *et al.* (2018) *Multivariate Data Analysis: An introduction to Multivariate Analysis, Process Analytical Technology and Quality by Design*. 6th Edition. Oslo Magnolia, TX: CAMO Software AS.
- Falcioni, R. *et al.* (2020) ‘High resolution leaf spectral signature as a tool for foliar pigment estimation displaying potential for species differentiation’, *Journal of Plant Physiology*, 249, p. 153161. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2020.153161>.

- FAO (2020) *The State of Food and Agriculture 2020: Overcoming water challenges in agriculture*. Rome, Italy: FAO (The State of Food and Agriculture (SOFA), 2020). Available at: <https://doi.org/10.4060/cb1447en>.
- Fathi, A. and Tari, D.B. (2016) 'Effect of Drought Stress and its Mechanism in Plants', *International Journal of Life Sciences*, 10(1), pp. 1–6. Available at: <https://doi.org/10.3126/ijls.v10i1.14509>.
- Fernandez, G.C.J. (ed.) (1993) 'Effective selection criteria for assessing plant stress tolerance', *Adaptation of food crops to temperature and water stress* [Preprint]. Available at: <https://doi.org/10.22001/wvc.72511>.
- Flexas, J. *et al.* (2006) 'Keeping a positive carbon balance under adverse conditions: responses of photosynthesis and respiration to water stress', *Physiologia Plantarum*, 127(3), pp. 343–352. Available at: <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2006.00621.x>.
- Fowler, H.J. *et al.* (2021) 'Towards advancing scientific knowledge of climate change impacts on short-duration rainfall extremes', *Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*, 379(2195), p. 20190542. Available at: <https://doi.org/10.1098/rsta.2019.0542>.
- Frahm, M.A. *et al.* (2004) 'Breeding beans for resistance to terminal drought in the Lowland tropics', *Euphytica*, 136(2), pp. 223–232. Available at: <https://doi.org/10.1023/B:EUPH.0000030678.12073.a9>.
- Fu, Q.A. and Ehleringer, J.R. (1989) 'Heliotropic Leaf Movements in Common Beans Controlled by Air Temperature', *Plant Physiology*, 91(3), pp. 1162–1167. Available at: <https://doi.org/10.1104/pp.91.3.1162>.
- Fu, Q.A. and Ehleringer, J.R. (1991) 'Modification of paraheliotropic leaf movement in *Phaseolus vulgaris* by photon flux density', *Plant, Cell & Environment*, 14(3), pp. 339–343. Available at: <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.1991.tb01510.x>.
- Fukushima, K. and Hasebe, M. (2014) 'Adaxial–abaxial polarity: The developmental basis of leaf shape diversity', *genesis*, 52(1), pp. 1–18. Available at: <https://doi.org/10.1002/dvg.22728>.
- Future Seeds* (2022) *Alliance Bioversity International - CIAT*. Available at: <https://alliancebioversityciat.org/future-seeds> (Accessed: 2 May 2022).
- Gago, J. *et al.* (2015) 'UAVs challenge to assess water stress for sustainable agriculture', *Agricultural Water Management*, 153. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2015.01.020>.
- Gates, D.M. *et al.* (1965) 'Spectral Properties of Plants', *Applied Optics*, 4(1), pp. 11–20. Available at: <https://doi.org/10.1364/AO.4.000011>.
- Geladi, P. and Kowalski, B.R. (1986) 'Partial least-squares regression: a tutorial', *Analytica Chimica Acta*, 185, pp. 1–17. Available at: [https://doi.org/10.1016/0003-2670\(86\)80028-9](https://doi.org/10.1016/0003-2670(86)80028-9).
- Gitelson, A.A. *et al.* (2005) 'Remote estimation of canopy chlorophyll content in crops', *Geophysical Research Letters*, 32(8). Available at: <https://doi.org/10.1029/2005GL022688>.
- Gitelson, A.A., Gritz, Y. and Merzlyak, M.N. (2003) 'Relationships between leaf chlorophyll content and spectral reflectance and algorithms for non-destructive chlorophyll assessment in higher plant leaves', *Journal of Plant Physiology*, 160(3), pp. 271–282. Available at: <https://doi.org/10.1078/0176-1617-00887>.

- Gonzalez, M.A. (2018) ‘Spatial Modeling of Rainfed Bean Production in the Semiarid Central Mexico: Climate Surface and Vegetation Remote Sensing Determinants’. Available at: <https://repository.arizona.edu/handle/10150/628398> (Accessed: 3 August 2022).
- Goss, R. and Latowski, D. (2020) ‘Lipid Dependence of Xanthophyll Cycling in Higher Plants and Algae’, *Frontiers in Plant Science*, 11. Available at: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fpls.2020.00455> (Accessed: 9 February 2022).
- Grant, R.H. (1997) ‘Partitioning of biologically active radiation in plant canopies’, *International Journal of Biometeorology*, 40(1), pp. 26–40. Available at: <https://doi.org/10.1007/BF02439408>.
- Green, B.R. (2003) ‘The Evolution of Light-harvesting Antennas’, in B.R. Green and W.W. Parson (eds) *Light-Harvesting Antennas in Photosynthesis*. Dordrecht: Springer Netherlands (Advances in Photosynthesis and Respiration), pp. 129–168. Available at: https://doi.org/10.1007/978-94-017-2087-8_4.
- Güler, N.S. *et al.* (2012) ‘Apoplastic and symplastic solute concentrations contribute to osmotic adjustment in bean genotypes during drought stress’, *TURKISH JOURNAL OF BIOLOGY*, 36(2), pp. 151–160.
- Gutierrez, M. *et al.* (2005) ‘Canopy Reflectance, Stomatal Conductance, and Yield of *Phaseolus vulgaris* L. and *Phaseolus coccineus* L. Under Saline Field Conditions’, *International Journal of Agriculture and Biology*, 7.
- Hall, A. (2004) ‘Comparative Ecophysiology of Cowpea, Common Bean, and Peanut’, in. Available at: <https://doi.org/10.1201/9780203022030-11>.
- Hall, A.E. (1993) ‘Is Dehydration Tolerance Relevant to Genotypic Differences in Leaf Senescence and Crop Adaptation to Dry Environments?’, *T.J. Close & E.A. Bray (Eds.)*, *Plant Responses to Cellular Dehydration During Environmental Stress*, pp. 1–10.
- Hansen, P.M. and Schjoerring, J.K. (2003) ‘Reflectance measurement of canopy biomass and nitrogen status in wheat crops using normalized difference vegetation indices and partial least squares regression’, *Remote Sensing of Environment*, 86(4), pp. 542–553. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0034-4257\(03\)00131-7](https://doi.org/10.1016/S0034-4257(03)00131-7).
- Hayat, I. *et al.* (2014) ‘Nutritional and Health Perspectives of Beans (*Phaseolus vulgaris* L.): An Overview’, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 54(5), pp. 580–592. Available at: <https://doi.org/10.1080/10408398.2011.596639>.
- Hendry, G. a. F., Houghton, J.D. and Brown, S.B. (1987) ‘The Degradation of Chlorophyll — a Biological Enigma’, *New Phytologist*, 107(2), pp. 255–302. Available at: <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1987.tb00181.x>.
- Holzwarth, A. *et al.* (2009) ‘Identification of two quenching sites active in the regulation of photosynthetic light-harvesting studied by time-resolved fluorescence’, *Chemical Physics Letters - CHEM PHYS LETT*, 483, pp. 262–267. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cplett.2009.10.085>.
- Horton, P., Ruban, A.V. and Walters, R.G. (1996) ‘Regulation of light harvesting in green plants’, *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 47, pp. 655–684. Available at: <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.47.1.655>.
- Huang, J. and Apan, A. (2006) ‘Detection of Sclerotinia rot disease on celery using hyperspectral data and partial least squares regression’, *Journal of Spatial Science*, 51(2), pp. 129–142. Available at: <https://doi.org/10.1080/14498596.2006.9635087>.

- ICRISAT (2020) ‘Controlled Imposition of Water Stress’, *Protocols and Data Analysis – Gems*. Available at: <https://gems.icrisat.org/protocols-and-data-analysis/> (Accessed: 27 June 2022).
- Inoue, Y., Morinaga, S. and Shibayama, M. (1993) ‘Non-destructive Estimation of Water Status of Intact Crop Leaves Based on Spectral Reflectance Measurements’, *Japanese journal of crop science*, 62(3), pp. 462–469. Available at: <https://doi.org/10.1626/jcs.62.462>.
- Jaleel, C.A. *et al.* (2009) ‘Drought stress in plants: A review on morphological characteristics and pigments composition’, *International journal of agriculture & biology*, 11, pp. 100–105.
- Jenkins, G.I., Baker, N.R. and Woolhouse, H.W. (1981) ‘Changes in Chlorophyll Content and Organization During Senescence of the Primary Leaves of *Phaseolus vulgaris* L. in Relation to Photosynthetic Electron Transport’, *Journal of Experimental Botany*, 32(130), pp. 1009–1020.
- Jiménez, J.C. *et al.* (2017) ‘Resistance categories to *Acanthoscelides obtectus* (Coleoptera: Bruchidae) in tepary bean (*Phaseolus acutifolius*), new sources of resistance for dry bean (*Phaseolus vulgaris*) breeding.’, *Crop Protection*, 98, pp. 255–266.
- Johnson, D.M. *et al.* (2005) ‘Leaf architecture and direction of incident light influence mesophyll fluorescence profiles’, *American Journal of Botany*, 92(9), pp. 1425–1431. Available at: <https://doi.org/10.3732/ajb.92.9.1425>.
- Jones, H.G. *et al.* (2002) ‘Use of infrared thermography for monitoring stomatal closure in the field: application to grapevine’, *Journal of Experimental Botany*, 53(378), pp. 2249–2260. Available at: <https://doi.org/10.1093/jxb/erf083>.
- Jones, H.G. and Vaughan, R.A. (2010) *Remote Sensing of Vegetation: Principles, Techniques, and Applications*. OUP Oxford.
- Kao, W.-Y., Comstock, J.P. and Ehleringer, J.R. (1994) ‘Variation in Leaf Movements among Common Bean Cultivars’, *Crop Science*, 34(5). Available at: <https://doi.org/10.2135/cropsci1994.0011183X003400050025x>.
- Karimzadeh Soureshjani, H. *et al.* (2019) ‘Responses of two common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) genotypes to deficit irrigation’, *Agricultural Water Management*, 213, pp. 270–279. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2018.09.038>.
- Karthikeyan, L., Chawla, I. and Mishra, A.K. (2020) ‘A review of remote sensing applications in agriculture for food security: Crop growth and yield, irrigation, and crop losses’, *Journal of Hydrology*, 586, p. 124905. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jhydrol.2020.124905>.
- Kerstiens, G. (2006) ‘Water transport in plant cuticles: an update’, *Journal of Experimental Botany*, 57(11), pp. 2493–2499. Available at: <https://doi.org/10.1093/jxb/erl017>.
- Kiala, Z., Odindi, J. and Mutanga, O. (2017) ‘Potential of interval partial least square regression in estimating leaf area index’, *South African Journal of Science*, 113(9–10), pp. 1–9. Available at: <https://doi.org/10.17159/sajs.2017/20160277>.
- Klaedtke, S.M. *et al.* (2012) ‘Photosynthate remobilization capacity from drought-adapted common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) lines can improve yield potential of interspecific populations within the secondary gene pool’, *Journal of Plant Breeding and Crop Science*, 4(4), pp. 49–61. Available at: <https://doi.org/10.5897/JPBCS.9000106>.

- Knapp, A.K. and Carter, G.A. (1998) 'Variability in Leaf Optical Properties Among 26 Species from a Broad Range of Habitats', *American Journal of Botany*, 85(7), pp. 940–946. Available at: <https://doi.org/10.2307/2446360>.
- Knipling, E.B. (1970) 'Physical and physiological basis for the reflectance of visible and near-infrared radiation from vegetation', *Remote Sensing of Environment*, 1(3), pp. 155–159. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0034-4257\(70\)80021-9](https://doi.org/10.1016/S0034-4257(70)80021-9).
- Köksal, E.S. (2011) 'Hyperspectral reflectance data processing through cluster and principal component analysis for estimating irrigation and yield related indicators', *Agricultural Water Management*, 98(8), pp. 1317–1328. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2011.03.014>.
- Koller, D. (1986) 'The Control of Leaf Orientation by Light', *Photochemistry and Photobiology*, 44(6), pp. 819–826. Available at: <https://doi.org/10.1111/j.1751-1097.1986.tb05542.x>.
- Korir, P.C., Nyabundi, J.O. and Kimurto, P.K. (2006) 'Genotypic Response of Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) to Moisture Stress Conditions in Kenya', *Asian Journal of Plant Sciences* [Preprint]. Available at: <http://docsdrive.com/pdfs/ansinet/ajps/2006/24-32.pdf> (Accessed: 6 December 2021).
- Kramer, D.M. *et al.* (2004) 'New Fluorescence Parameters for the Determination of QA Redox State and Excitation Energy Fluxes', *Photosynthesis Research*, 79(2), p. 209. Available at: <https://doi.org/10.1023/B:PRES.0000015391.99477.0d>.
- Kramer, P.J. (1983) '12 - Water Deficits and Plant Growth', in P.J. Kramer (ed.) *Water Relations of Plants*. Academic Press, pp. 342–389. Available at: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-425040-6.50015-1>.
- Kraus, T.E., McKersie, B.D. and Fletcher, R.A. (1995) 'Paclbutrazol-induced Tolerance of Wheat Leaves to Paraquat May Involve Increased Antioxidant Enzyme Activity', *Journal of Plant Physiology*, 145(4), pp. 570–576. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0176-1617\(11\)81790-6](https://doi.org/10.1016/S0176-1617(11)81790-6).
- Kubínová, D.L. and Albrechtová, D.J. (1999) 'Stereology in plant anatomy', p. 52.
- Kubínová, L. *et al.* (2017) 'Stereology, an unbiased methodological approach to study plant anatomy and cytology: past, present and future', *Image Analysis & Stereology*, 36(3), pp. 187–205. Available at: <https://doi.org/10.5566/ias.1848>.
- Kuhlgert, S. *et al.* (2016) 'MultispeQ Beta: a tool for large-scale plant phenotyping connected to the open PhotosynQ network', *Royal Society Open Science*, 3(10), p. 160592. Available at: <https://doi.org/10.1098/rsos.160592>.
- Kusvuran, S. and Dasgan, H. (2017) 'Effects of drought stress on physiological and biochemical changes in *Phaseolus vulgaris* L.', *Legume research - an international journal*, 40. Available at: <https://doi.org/10.18805/lr.v0i0.7025>.
- Kyparissis, A., Petropoulou, Y. and Manetas, Y. (1995) 'Summer survival of leaves in a soft-leaved shrub (*Phlomis fruticosa* L., Labiatae) under Mediterranean field conditions: avoidance of photoinhibitory damage through decreased chlorophyll contents', *Journal of experimental botany* [Preprint].
- Langat, C. *et al.* (2019) 'Genetic Variability of Agronomic Traits as Potential Indicators of Drought Tolerance in Common Beans (*Phaseolus vulgaris* L.)', *International Journal of Agronomy*, 2019, p. e2360848. Available at: <https://doi.org/10.1155/2019/2360848>.

- Lavrenko (2022) 'Beans (*Phaseolus vulgaris* L.) yields forecast using normalized difference vegetation index'.
- Lawlor, D.W. and Cornic, G. (2002) 'Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants', *Plant, Cell & Environment*, 25(2), pp. 275–294. Available at: <https://doi.org/10.1046/j.0016-8025.2001.00814.x>.
- Li, L. *et al.* (2020) 'Multivariate Analysis Models Based on Full Spectra Range and Effective Wavelengths Using Different Transformation Techniques for Rapid Estimation of Leaf Nitrogen Concentration in Winter Wheat', *Frontiers in Plant Science*, 11. Available at: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fpls.2020.00755> (Accessed: 15 March 2022).
- Lipovac, A. *et al.* (2022) 'Correlation between Ground Measurements and Uav Sensed Vegetation Indices for Yield Prediction of Common Bean Grown Under Different Irrigation Treatments and Sowing Periods'. Rochester, NY. Available at: <https://doi.org/10.2139/ssrn.4162287>.
- Liu, F. and Stützel, H. (2004) 'Biomass partitioning, specific leaf area, and water use efficiency of vegetable amaranth (*Amaranthus* spp.) in response to drought stress', *Scientia Horticulturae*, 102(1), pp. 15–27. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2003.11.014>.
- Lizana, C. *et al.* (2006) 'Differential adaptation of two varieties of common bean to abiotic stress: I. Effects of drought on yield and photosynthesis', *Journal of experimental botany*, 57, pp. 685–97. Available at: <https://doi.org/10.1093/jxb/erj062>.
- Lopez, F.B., Johansen, C. and Chauhan, Y.S. (1996) 'Effects of Timing of Drought Stress on Phenology, Yield and Yield Components of Short-duration Pigeonpea', *Journal of Agronomy and Crop Science*, 177(5), pp. 311–320. Available at: <https://doi.org/10.1111/j.1439-037X.1996.tb00251.x>.
- Lu, X. and Lu, S. (2015) 'Effects of adaxial and abaxial surface on the estimation of leaf chlorophyll content using hyperspectral vegetation indices', *International Journal of Remote Sensing*, 36(5), pp. 1447–1469. Available at: <https://doi.org/10.1080/01431161.2015.1012277>.
- Lynch, J. *et al.* (1992) 'Variation in Characters Related to Leaf Photosynthesis in Wild Bean Populations', *Crop Science*, 32(3). Available at: <https://doi.org/10.2135/cropsci1992.0011183X003200030012x>.
- Marcelis, L.F.M., Heuvelink, E. and Goudriaan, J. (1998) 'Modelling biomass production and yield of horticultural crops: a review.', *Scientia Horticulturae*, 74, pp. 83–111. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0304-4238\(98\)00083-1](https://doi.org/10.1016/S0304-4238(98)00083-1).
- Marquez, M.L., Terán, H. and Singh, S.P. (2007) 'Selecting Common Bean with Genes of Different Evolutionary Origins for Resistance to *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli*', *Crop Science*, 47(4), pp. 1367–1374. Available at: <https://doi.org/10.2135/cropsci2006.12.0769>.
- Martínez, J.P. *et al.* (2007) 'Effect of drought stress on the osmotic adjustment, cell wall elasticity and cell volume of six cultivars of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.)', *European Journal of Agronomy*, 26(1), pp. 30–38. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.eja.2006.08.003>.
- Maxwell, K. and Johnson, G.N. (2000) 'Chlorophyll fluorescence—a practical guide', *Journal of Experimental Botany*, 51(345), pp. 659–668. Available at: <https://doi.org/10.1093/jexbot/51.345.659>.
- Meier, U. (2001) 'Stages of monocotyledon and dicotyledon plants development (Estadios de las plantas mono-y dicoledóneas (BBCH Monografía))'.

- Mendoza, F.A. *et al.* (2014) 'Evaluation of Canning Quality Traits in Black Beans (*Phaseolus vulgaris* L.) by Visible/Near-Infrared Spectroscopy', *Food and Bioprocess Technology*, 7(9), pp. 2666–2678. Available at: <https://doi.org/10.1007/s11947-014-1285-y>.
- Miklas, P. and Santiago, J. (1996) 'Reaction of Select Tepary Bean to Bean Golden Mosaic Virus', *HortScience*, 31. Available at: <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.31.3.430>.
- Mombeni, M. and Abbasi, A. (2019) 'Biochemical Responses of Some Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Genotypes to Drought Stress', *Journal of Agricultural Science and Technology*, 21(2), pp. 407–421.
- Morton, J. (2008) 'The Impact of Climate Change on Smallholder and Subsistence Agriculture', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104, pp. 19680–5. Available at: <https://doi.org/10.1073/pnas.0701855104>.
- Muller, B. and Garnier, E. (1990) 'Components of relative growth rate and sensitivity to nitrogen availability in annual and perennial species of *Bromus*', *Oecologia*, 84(4), pp. 513–518. Available at: <https://doi.org/10.1007/BF00328168>.
- Mwale, S.E. *et al.* (2020) 'Breeding tepary bean (*Phaseolus acutifolius*) for drought adaptation: A review', *Plant Breeding*, 139(5), pp. 821–833. Available at: <https://doi.org/10.1111/pbr.12806>.
- Nassar, R., Boghdady, M. and Ahmed, Y. (2010) 'Botanical Studies On *Phaseolus Vulgaris* L. II- Anatomy Of Vegetative And Reproductive Organs'.
- Nautiyal, P.C., Rachaputi, N.R. and Joshi, Y.C. (2002) 'Moisture-deficit-induced changes in leaf-water content, leaf carbon exchange rate and biomass production in groundnut cultivars differing in specific leaf area', *Field Crops Research*, 74(1), pp. 67–79. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0378-4290\(01\)00199-X](https://doi.org/10.1016/S0378-4290(01)00199-X).
- Nemeskéri, E., Molnár, K. and Helyes, L. (2018) 'Relationships of spectral traits with yield and nutritional quality of snap beans (*Phaseolus vulgaris* L.) in dry seasons', *Archives of Agronomy and Soil Science*, 64(9), pp. 1222–1239. Available at: <https://doi.org/10.1080/03650340.2017.1420903>.
- Neumann, P.M. (2008) 'Coping Mechanisms for Crop Plants in Drought-prone Environments', *Annals of Botany*, 101(7), pp. 901–907. Available at: <https://doi.org/10.1093/aob/mcn018>.
- Neuwirthová, E. *et al.* (2021) 'Leaf Surface Reflectance Does Not Affect Biophysical Traits Modelling from VIS-NIR Spectra in Plants with Sparsely Distributed Trichomes', *Remote Sensing*, 13(20), p. 4144. Available at: <https://doi.org/10.3390/rs13204144>.
- Neuwirthová, E. (2022) 'Optical properties of the leaf in relation to its anatomical traits'. Available at: <https://dspace.cuni.cz/handle/20.500.11956/172311> (Accessed: 27 May 2022).
- Nguyen, H.T. and Lee, B.-W. (2006) 'Assessment of rice leaf growth and nitrogen status by hyperspectral canopy reflectance and partial least square regression', *European Journal of Agronomy*, 24(4), pp. 349–356. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.eja.2006.01.001>.
- Ntukamazina, N. *et al.* (2017) 'Effect of excessive and minimal soil moisture stress on agronomic performance of bush and climbing bean (*Phaseolus vulgaris* L.)', *Cogent Food & Agriculture*. Edited by M. Tejada Moral, 3(1), p. 1373414. Available at: <https://doi.org/10.1080/23311932.2017.1373414>.
- Nunez-Barrios, A., NeSmith, D. and Hoogenboom, H. (2005) 'Drought stress and the distribution of vegetative and reproductive traits of a bean cultivar', *Scientia Agricola - SCI AGRIC*, 62. Available at: <https://doi.org/10.1590/S0103-90162005000100004>.

- Ogg, J.B., Brick, M.A. and Abebe, A. (1996) 'Heritability of paraheliotropic leaf movement in common bean.', *Annual report - bean improvement cooperative 39*, p. 92/93.
- Omasa, K. and Takayama, K. (2003) 'Simultaneous Measurement of Stomatal Conductance, Non-photochemical Quenching, and Photochemical Yield of Photosystem II in Intact Leaves by Thermal and Chlorophyll Fluorescence Imaging', *Plant and Cell Physiology*, 44(12), pp. 1290–1300. Available at: <https://doi.org/10.1093/pcp/pcg165>.
- Ort, D.R. and Baker, N.R. (2002) 'A photoprotective role for O₂ as an alternative electron sink in photosynthesis?', *Current Opinion in Plant Biology*, 5(3), pp. 193–198. Available at: [https://doi.org/10.1016/S1369-5266\(02\)00259-5](https://doi.org/10.1016/S1369-5266(02)00259-5).
- Ourcival, J.M., Joffre, R. and Rambal, S. (1999) 'Exploring the relationships between reflectance and anatomical and biochemical properties in *Quercus ilex* leaves', *The New Phytologist*, 143(2), pp. 351–364. Available at: <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.1999.00456.x>.
- Pang, J. *et al.* (2017) 'Pattern of Water Use and Seed Yield under Terminal Drought in Chickpea Genotypes', *Frontiers in Plant Science*, 8, p. 1375. Available at: <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01375>.
- Pasqualotto Vicente, N. *et al.* (2018) 'Retrieval of canopy water content of different crop types with two new hyperspectral indices: Water Absorption Area Index and Depth Water Index', *International Journal of Applied Earth Observation and Geoinformation*, 67, pp. 69–78. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jag.2018.01.002>.
- Pastenes, C. *et al.* (2004) 'Paraheliotropism can protect water-stressed bean (*Phaseolus vulgaris* L.) plants against photoinhibition', *Journal of Plant Physiology*, 161(12), pp. 1315–1323. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2003.09.002>.
- Pauli, D. *et al.* (2017) 'Investigation of the Influence of Leaf Thickness on Canopy Reflectance and Physiological Traits in Upland and Pima Cotton Populations', *Frontiers in Plant Science*, 8. Available at: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fpls.2017.01405> (Accessed: 13 June 2022).
- Pazourková, Z. (1986) *Botanická mikrotechnika: skripta Univerzity Karlovy*. Univerzita Karlova.
- Plans, M. *et al.* (2014) 'Estimating sensory properties of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) by near infrared spectroscopy', *Food Research International*, 56, pp. 55–62. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.12.003>.
- Polania, J. *et al.* (2016) 'Physiological traits associated with drought resistance in Andean and Mesoamerican genotypes of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.)', *Euphytica*, 210(1), pp. 17–29. Available at: <https://doi.org/10.1007/s10681-016-1691-5>.
- Polania, J. *et al.* (2017) 'Root traits and their potential links to plant ideotypes to improve drought resistance in common bean', *Theoretical and Experimental Plant Physiology*, 29(3), pp. 143–154. Available at: <https://doi.org/10.1007/s40626-017-0090-1>.
- Polania, J.A. *et al.* (2016) 'Effective Use of Water and Increased Dry Matter Partitioned to Grain Contribute to Yield of Common Bean Improved for Drought Resistance', *Frontiers in Plant Science*, 7. Available at: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fpls.2016.00660> (Accessed: 15 January 2022).
- Poorter, H. and Remkes, C. (1990) 'Leaf area ratio and net assimilation rate of 24 wild species differing in relative growth rate', *Oecologia*, 83(4), pp. 553–559. Available at: <https://doi.org/10.1007/BF00317209>.

- Porch, T. and Hall, A. (2013) *Genomics and Breeding for Climate-Resilient Crops*. Available at: <https://link.springer.com/book/10.1007/978-3-642-37048-9> (Accessed: 15 June 2022).
- Porch, T.G. *et al.* (2013) ‘Use of Wild Relatives and Closely Related Species to Adapt Common Bean to Climate Change’, *Agronomy*, 3(2), pp. 433–461. Available at: <https://doi.org/10.3390/agronomy3020433>.
- Pu, R. *et al.* (2003) ‘Spectral absorption features as indicators of water status in *Quercus Agrifolia* leaves’, *International Journal of Remote Sensing - INT J REMOTE SENS*, 24, pp. 1799–1810. Available at: <https://doi.org/10.1080/01431160210155965>.
- Rajah, P. *et al.* (2015) ‘Varietal discrimination of common dry bean (*Phaseolus vulgaris* L.) grown under different watering regimes using multitemporal hyperspectral data’, *Journal of Applied Remote Sensing*, 9(1), p. 096050. Available at: <https://doi.org/10.1117/1.JRS.9.096050>.
- Rajah, P. *et al.* (2017) ‘Determining the optimal phenological stage for predicting common dry bean (*Phaseolus vulgaris*) yield using field spectroscopy’, *South African Journal of Plant and Soil*, 34(5), pp. 379–388. Available at: <https://doi.org/10.1080/02571862.2017.1317854>.
- Ramachandra Reddy, A., Chaitanya, K.V. and Vivekanandan, M. (2004) ‘Drought-induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants’, *Journal of Plant Physiology*, 161(11), pp. 1189–1202. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2004.01.013>.
- Ramirez-Vallejo, P. and Kelly, J.D. (1998) ‘Traits related to drought resistance in common bean’, *Euphytica*, 99(2), pp. 127–136. Available at: <https://doi.org/10.1023/A:1018353200015>.
- Rangel, A.F., Rao, I.M. and Horst, W.J. (2007) ‘Spatial aluminium sensitivity of root apices of two common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) genotypes with contrasting aluminium resistance’, *Journal of Experimental Botany*, 58(14), pp. 3895–3904. Available at: <https://doi.org/10.1093/jxb/erm241>.
- Rao, I. *et al.* (2013) ‘Can tepary bean be a model for improvement of drought resistance in common bean?’, *African Crop Science Journal*, 21, pp. 265–281.
- Rao, I.M. (2001) ‘Role of Physiology in Improving Crop Adaptation to Abiotic Stresses in the Tropics: The Case of Common Bean and Tropical Forages’, in *Handbook of Plant and Crop Physiology*. 2nd edn. CRC Press.
- Rapaport, T. *et al.* (2014) ‘The Effect of Differential Growth Rates across Plants on Spectral Predictions of Physiological Parameters’, *PLOS ONE*, 9(2), p. e88930. Available at: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0088930>.
- Rapaport, T. *et al.* (2015) ‘Combining leaf physiology, hyperspectral imaging and partial least squares-regression (PLS-R) for grapevine water status assessment’, *ISPRS Journal of Photogrammetry and Remote Sensing*, 109, pp. 88–97. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.isprsjprs.2015.09.003>.
- Reddy, Y.A.N. *et al.* (2021) ‘Chapter 8 - Drought adaptation: Approaches for crop improvement’, in M. Singh and S. Sood (eds) *Millets and Pseudo Cereals*. Woodhead Publishing (Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition), pp. 143–158. Available at: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-820089-6.00008-2>.
- Reynolds-Henne, C.E. *et al.* (2010) ‘Interactions between temperature, drought and stomatal opening in legumes’, *Environmental and Experimental Botany*, 68(1), pp. 37–43. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2009.11.002>.

- Rezene, Y., Gebeyehu, S. and Zelleke, H. (2011) 'Genetic variation for drought resistance in small red seeded common bean genotypes', *African Crop Science Journal*, 19(4), pp. 303–311. Available at: <https://doi.org/10.4314/acsj.v19i4>.
- Rivero, R.M. *et al.* (2022) 'Developing climate-resilient crops: improving plant tolerance to stress combination', *The Plant Journal*, 109(2), pp. 373–389. Available at: <https://doi.org/10.1111/tpj.15483>.
- Roberts, D.A. *et al.* (1998) 'Spectral changes with leaf aging in Amazon caatinga', *Trees*, 12(6), pp. 315–325. Available at: <https://doi.org/10.1007/s004680050157>.
- Rosales, M.A. *et al.* (2012) 'Physiological analysis of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivars uncovers characteristics related to terminal drought resistance', *Plant Physiology and Biochemistry*, 56, pp. 24–34. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2012.04.007>.
- Rosales-Serna, R. *et al.* (2004) 'Biomass distribution, maturity acceleration and yield in drought-stressed common bean cultivars', *Field Crops Research*, 85(2), pp. 203–211. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0378-4290\(03\)00161-8](https://doi.org/10.1016/S0378-4290(03)00161-8).
- Ruban, A.V. (2016) 'Nonphotochemical Chlorophyll Fluorescence Quenching: Mechanism and Effectiveness in Protecting Plants from Photodamage1', *Plant Physiology*, 170(4), pp. 1903–1916. Available at: <https://doi.org/10.1104/pp.15.01935>.
- Ruban, A.V. and Wilson, S. (2021) 'The Mechanism of Non-Photochemical Quenching in Plants: Localization and Driving Forces', *Plant and Cell Physiology*, 62(7), pp. 1063–1072. Available at: <https://doi.org/10.1093/pcp/pcaa155>.
- Saglam, A. *et al.* (2011) 'The relations between antioxidant enzymes and chlorophyll fluorescence parameters in common bean cultivars differing in sensitivity to drought stress', *Russian Journal of Plant Physiology*, 58(1), pp. 60–68. Available at: <https://doi.org/10.1134/S102144371101016X>.
- Sairam, R.K., Deshmukh, P.S. and Shukla, D.S. (1997) 'Tolerance to Drought and Temperature Stress in Relation to Increased Antioxidant Enzyme Activity in Wheat', *Journal of Agronomy and Crop Science*, (178), pp. 171–177. Available at: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1439-037X.1997.tb00486.x>.
- Sanders, P.L. and Markhart, A.H. (1992) 'Interspecific Grafts Demonstrate Root System Control of Leaf Water Status in Water-Stressed *Phaseolus*', *Journal of Experimental Botany*, 43(12), pp. 1563–1567. Available at: <https://doi.org/10.1093/jxb/43.12.1563>.
- Sankaran, S., Quirós, J.J. and Miklas, P.N. (2019) 'Unmanned aerial system and satellite-based high resolution imagery for high-throughput phenotyping in dry bean', *Computers and Electronics in Agriculture*, 165, p. 104965. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.compag.2019.104965>.
- Santos, M. *et al.* (2009) 'Photosynthetic parameters and leaf water potential of five common bean genotypes under mild water deficit', *Biologia Plantarum*, 53, pp. 229–236. Available at: <https://doi.org/10.1007/s10535-009-0044-9>.
- Seelig, H. -D. *et al.* (2008) 'The assessment of leaf water content using leaf reflectance ratios in the visible, near-, and short-wave-infrared', *International Journal of Remote Sensing*, 29(13), pp. 3701–3713. Available at: <https://doi.org/10.1080/01431160701772500>.
- Serraj, R., Vasquez-Diaz, H. and Drevon, J.J. (1998) 'Effects of salt stress on nitrogen fixation, oxygen diffusion, and ion distribution in soybean, common bean, and alfalfa', *Journal of Plant Nutrition*, 21(3), pp. 475–488. Available at: <https://doi.org/10.1080/01904169809365418>.

- Sexton, P.J. *et al.* (1997) 'Early-season growth in relation to region of domestication, seed size, and leaf traits in common bean', *Field Crops Research*, 52(1), pp. 69–78. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0378-4290\(96\)03452-1](https://doi.org/10.1016/S0378-4290(96)03452-1).
- Shi, C., Navabi, A. and Yu, K. (2011) 'Association mapping of common bacterial blight resistance QTL in Ontario bean breeding populations', *BMC plant biology*, 11, p. 52. Available at: <https://doi.org/10.1186/1471-2229-11-52>.
- Shiple, B. (2002) 'Trade-offs between net assimilation rate and specific leaf area in determining relative growth rate: relationship with daily irradiance', *Functional Ecology*, 16(5). Available at: <https://doi.org/10.1046/j.1365-2435.2002.00672.x>.
- Shisanya, C. (2002) 'Improvement of drought adapted tepary bean (*Phaseolus acutifolius* A. Gray var. *latifolius*) yield through biological nitrogen fixation in semi-arid SE-Kenya', *European Journal of Agronomy*, 16, pp. 13–24. Available at: [https://doi.org/10.1016/S1161-0301\(01\)00117-4](https://doi.org/10.1016/S1161-0301(01)00117-4).
- Smirnoff, N. (1995) 'Antioxidant Systems and Plant Response to the Environment', *Environment and Plant Metabolism: Flexibility and Acclimation*, BIOS Scientific Publishers, pp. 217–243.
- Smith, M. *et al.* (2019) 'Field drought conditions impact yield but not nutritional quality of the seed in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.)', *PLoS ONE*, 14. Available at: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0217099>.
- Sofi, P.A. *et al.* (2018) 'Reproductive fitness in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) under drought stress is associated with root length and volume', *Indian Journal of Plant Physiology*, 23(4), pp. 796–809. Available at: <https://doi.org/10.1007/s40502-018-0429-x>.
- Stenglein, S.A. *et al.* (2004) 'Micromorphological variability of leaf epidermis in Mesoamerican common bean (*Phaseolus vulgaris*, Leguminosae)', *Australian Journal of Botany*, 52(1), pp. 73–80. Available at: <https://doi.org/10.1071/bt02083>.
- Stocker, T.F. (2014) *Climate Change 2013: The Physical Science Basis: Working Group I Contribution to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Cambridge University Press.
- Suárez Salazar, J. *et al.* (2020) 'Adaptation of common bean lines to high temperature conditions: genotypic differences in phenological and agronomic performance', *Euphytica*, 216. Available at: <https://doi.org/10.1007/s10681-020-2565-4>.
- Sun, J. *et al.* (2016) 'Classification of Black Beans Using Visible and Near Infrared Hyperspectral Imaging', *International Journal of Food Properties*, 19(8), pp. 1687–1695. Available at: <https://doi.org/10.1080/10942912.2015.1055760>.
- Terán, H. and Singh, S.P. (2002) 'Comparison of Sources and Lines Selected for Drought Resistance in Common Bean', *Crop Science*, 42(1), pp. 64–70. Available at: <https://doi.org/10.2135/cropsci2002.6400>.
- Terzi, R. *et al.* (2010) 'Impact of soil drought stress on photochemical efficiency of photosystem II and antioxidant enzyme activities of *Phaseolus vulgaris* cultivars', *Turkish journal of botany*, 34(1), pp. 1–10.
- Thomas, C.V., Manshardt, R.M. and Waines, J.G. (1983) 'Teparies as a source of useful traits for improving common beans.', *Desert plants 5.1*, pp. 43–48.

- Tietz, S. *et al.* (2017) ‘NPQ(T): a chlorophyll fluorescence parameter for rapid estimation and imaging of non-photochemical quenching of excitons in photosystem-II-associated antenna complexes’, *Plant, Cell & Environment*, 40(8), pp. 1243–1255. Available at: <https://doi.org/10.1111/pce.12924>.
- Torabian, S. *et al.* (2018) ‘Exogenous Spermidine Affected Leaf Characteristics and Growth of Common Bean Under Water Deficit Conditions’, *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 49(11), pp. 1289–1301. Available at: <https://doi.org/10.1080/00103624.2018.1457157>.
- Tormena, C.D. *et al.* (2021) ‘Authentication of carioca common bean cultivars (*Phaseolus vulgaris* L.) using digital image processing and chemometric tools’, *Food Chemistry*, 364, p. 130349. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130349>.
- Trapp, J.J. *et al.* (2016) ‘Selective Phenotyping Traits Related to Multiple Stress and Drought Response in Dry Bean’, *Crop Science*, 56(4), pp. 1460–1472. Available at: <https://doi.org/10.2135/cropsci2015.05.0281>.
- Tucker, C.J. (1980) ‘Remote sensing of leaf water content in the near infrared’, *Remote Sensing of Environment*, 10(1), pp. 23–32. Available at: [https://doi.org/10.1016/0034-4257\(80\)90096-6](https://doi.org/10.1016/0034-4257(80)90096-6).
- Turner, N.C., Wright, G.C. and Siddique, K.H.M. (2001) ‘Adaptation of grain legumes (pulses) to water-limited environments’, in *Advances in Agronomy*. Academic Press, pp. 193–231. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0065-2113\(01\)71015-2](https://doi.org/10.1016/S0065-2113(01)71015-2).
- United Nations (2015) ‘Transforming our World: The 2030 Agenda for Sustainable Development. Sustainable Development Knowledge Platform’. Available at: <https://sustainabledevelopment.un.org/post2015/transformingourworld/publication> (Accessed: 21 June 2022).
- Ustin, S.L. *et al.* (2009) ‘Retrieval of foliar information about plant pigment systems from high resolution spectroscopy’, *Remote Sensing of Environment*, 113, pp. S67–S77. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.rse.2008.10.019>.
- Vergara-Díaz, O. *et al.* (2018) ‘Leaf dorsoventrality as a paramount factor determining spectral performance in field-grown wheat under contrasting water regimes’, *Journal of Experimental Botany*, 69(12), pp. 3081–3094. Available at: <https://doi.org/10.1093/jxb/ery109>.
- Verma, S. and Mishra, S.N. (2005) ‘Putrescine alleviation of growth in salt stressed Brassica juncea by inducing antioxidative defense system’, *Journal of Plant Physiology*, 162(6), pp. 669–677. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2004.08.008>.
- Verrelst, J. *et al.* (2019) ‘Quantifying Vegetation Biophysical Variables from Imaging Spectroscopy Data: A Review on Retrieval Methods’, *Surveys in Geophysics*, 40(3), pp. 589–629. Available at: <https://doi.org/10.1007/s10712-018-9478-y>.
- Vranić, M. *et al.* (2019) ‘Prediction of macro and microelements content in croatian common bean landraces (*Phaseolus vulgaris* L.) by NIR spectroscopy’, *Poljoprivreda*, 25(1), pp. 48–55. Available at: <https://doi.org/10.18047/poljo.25.1.7>.
- Wafula, E.N. *et al.* (2021) ‘Prediction of cooking times of freshly harvested common beans and their susceptibility to develop the hard-to-cook defect using near infrared spectroscopy’, *Journal of Food Engineering*, 298, p. 110495. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2021.110495>.

- Walter-Shea, E.A. *et al.* (1991) ‘Leaf Reflectance and Transmittance in Soybean and Corn’, *Agronomy Journal*, 83(3), pp. 631–636. Available at: <https://doi.org/10.2134/agronj1991.00021962008300030026x>.
- Wan, L. *et al.* (2021) ‘Upscaling from leaf to canopy: Improved spectral indices for leaf biochemical traits estimation by minimizing the difference between leaf adaxial and abaxial surfaces’, *Field Crops Research*, 274, p. 108330. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2021.108330>.
- Wang, J., Liu, H. and Ren, G. (2014) ‘Near-infrared spectroscopy (NIRS) evaluation and regional analysis of Chinese faba bean (*Vicia faba* L.)’, *The Crop Journal*, 2(1), pp. 28–37. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cj.2013.10.001>.
- Wang, Q. and Jin, J. (2015) ‘Leaf transpiration of drought tolerant plant can be captured by hyperspectral reflectance using PLSR analysis’, *iForest - Biogeosciences and Forestry*, 9(1), p. 30. Available at: <https://doi.org/10.3832/ifer1634-008>.
- Wellburn, A.R. (1994) ‘The Spectral Determination of Chlorophylls a and b, as well as Total Carotenoids, Using Various Solvents with Spectrophotometers of Different Resolution’, *Journal of Plant Physiology*, 144(3), pp. 307–313. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0176-1617\(11\)81192-2](https://doi.org/10.1016/S0176-1617(11)81192-2).
- White, J.W. and Montes-R, C. (2005) ‘Variation in parameters related to leaf thickness in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.)’, *Field Crops Research*, 91(1), pp. 7–21. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2004.05.001>.
- Widuri, L.I. *et al.* (2018) ‘Shoot and Root Growth in Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Exposed to Gradual Drought Stress’, *AGRIVITA, Journal of Agricultural Science*, 40(3), pp. 442–452. Available at: <https://doi.org/10.17503/agrivita.v40i0.1716>.
- Wignarajah, K., Jennings, D.H. and Handley, J.F. (1975) ‘The Effect of Salinity on Growth of *Phaseolus vulgaris* L.: I. Anatomical Changes in the First Trifoliate Leaf’, *Annals of Botany*, 39(5), pp. 1029–1038. Available at: <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aob.a085022>.
- Wold, S., Esbensen, K. and Geladi, P. (1987) ‘Principal component analysis’, *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 2(1), pp. 37–52. Available at: [https://doi.org/10.1016/0169-7439\(87\)80084-9](https://doi.org/10.1016/0169-7439(87)80084-9).
- Wu, L. *et al.* (2021) ‘The aquaporin gene PvXIP1;2 conferring drought resistance identified by GWAS at seedling stage in common bean’, *Theoretical and Applied Genetics* [Preprint]. Available at: <https://doi.org/10.1007/s00122-021-03978-w>.
- Xue, J. and Su, B. (2017) ‘Significant Remote Sensing Vegetation Indices: A Review of Developments and Applications’, *Journal of Sensors*, 2017, p. e1353691. Available at: <https://doi.org/10.1155/2017/1353691>.
- Yadav, S.S. *et al.* (2011) *Crop Adaptation to Climate Change*. John Wiley & Sons.
- Yan, W. and Wallace, D.H. (1998) ‘Simulation and Prediction of Plant Phenology for Five Crops Based on Photoperiod×Temperature Interaction’, *Annals of Botany*, 81(6), pp. 705–716. Available at: <https://doi.org/10.1006/anbo.1998.0625>.
- Yi, Q. *et al.* (2014) ‘Different units of measurement of carotenoids estimation in cotton using hyperspectral indices and partial least square regression’, *ISPRS Journal of Photogrammetry and Remote Sensing*, 91, pp. 72–84. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.isprsjprs.2014.01.004>.

Yu, F. and Berg, V.S. (1994) 'Control of Paraheliotropism in Two Phaseolus Species', *Plant Physiology*, 106(4), pp. 1567–1573.

Zhang, L. *et al.* (2012) 'Monitoring the leaf water content and specific leaf weight of cotton (*Gossypium hirsutum* L.) in saline soil using leaf spectral reflectance', *European Journal of Agronomy*, 41, pp. 103–117. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.eja.2012.04.003>.

Zhou, H. *et al.* (2020) 'Environmental explanation of maize specific leaf area under varying water stress regimes', *Environmental and Experimental Botany*, 171, p. 103932. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2019.103932>.

Zhou, J. *et al.* (2018) 'Low altitude remote sensing technologies for crop stress monitoring: a case study on spatial and temporal monitoring of irrigated pinto bean', *Precision agriculture* [Preprint]. Available at: <https://dx.doi.org/10.1007/s11119-017-9539-0> (Accessed: 30 July 2022).

Zovko, M. *et al.* (2019) 'Hyperspectral remote sensing of grapevine drought stress', *Precision Agriculture*, 20(2), pp. 335–347. Available at: <https://doi.org/10.1007/s11119-019-09640-2>.

Zupin, M. *et al.* (2017) 'Drought-induced expression of aquaporin genes in leaves of two common bean cultivars differing in tolerance to drought stress', *Journal of Plant Research*, 130(4), pp. 735–745. Available at: <https://doi.org/10.1007/s10265-017-0920-x>.

10. Přílohy

Datum	DAP	čas	Reflektance	MSPQ	DSTR data	RWC	SLA	MSPT (dron)	TRML (dron)	Výška rostlin
30/07	19	AM	X		X			X		X
30/07	19	PM	X					X		
13/08	33	AM	X							
14/08	34	AM	X		X			X	X	X
14/08	34	PM	X					X	X	
18/08	38	-					X			
19/08	39	-					X			
22/08	42	AM	X		X			X	X	X
22/08	42	PM	X					X	X	
29/08	49	-				X				
02/09	53	AM						X	X	X
02/09	53	PM						X	X	
05/09	56	-				X				
07/09	58	-					X			
09/09	60	-					X			
11/09	62	AM	X		X			X	X	
11/09	62	PM	X					X	X	
24/09	75	-			X					

Tabulka 19 – Seznam termínů odběrů a měření pro kontrolní rostliny během experimentu BASE100 v roce 2019; DAP (days after planting) – dny po vysetí; Reflektance – měření spektrálních vlastností listu, MSPQ – měření kapesním fluorimetrem Multispeq, DSTR data – destruktivní data odběrů.

Datum	DAP	čas	Reflektance	MSPQ	DSTR data	RWC	SLA	MSPT (dron)	TRML (dron)	Výška rostlin
05/08	19	AM	X		X			X		X
05/08	19	PM	X					X		
20/08	34	AM	X		X				X	X
20/08	34	PM	X					X	X	
24/08	38	-					X			
25/08	39	-					X			
26/08	40	-					X			
27/08	41	-				X				
28/08	42	AM	X		X					
28/08	42	PM	X							
03/09	48	-				X				
09/09	54	AM								
09/09	54	PM	X					X	X	X
13/09	58	-					X			
17/09	62	AM	X		X					
17/09	62	PM	X					X	X	
30/09	75	-			X					

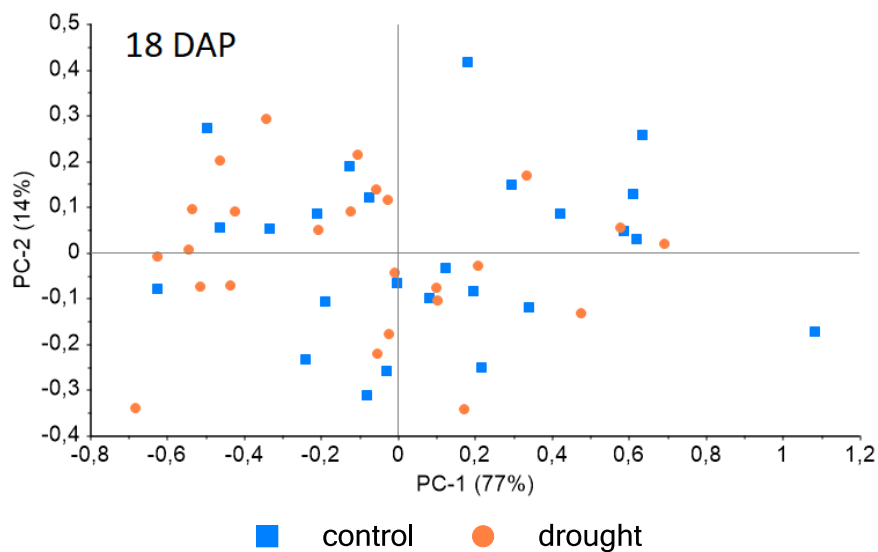
Tabulka 20– Seznam termínů odběrů a měření pro rostliny ve skupině ošetřené suchem během experimentu BASE100 v roce 2019; DAP (days after planting) – dny po vysetí; Reflektance – měření spektrálních vlastností listu, MSPQ – měření kapesním fluorimetrem Multispeq, DSTR data – destruktivní odběry rostlin, RWC – relativní obsah vody, SLA – specifická listová plocha, MSPT – snímání multispektrálních dat, TRML – snímání termálních dat z dronu; výška rostlin byla měřena 1-2 dny po uvedeném datu měření.

Datum	DAP	čas	Reflektance	MSPQ	DSTR data	RWC	SLA	MSPT (dron)	TRML (dron)	Výška rostlin	Půdní vlhkost	BBCH
05/03	16	-									X	X
15/03	26									X		X
16/03	27	AM	X	X				X	X		X	
16/03	27	PM	X	X				X	X			
17/03	28				X							
19/03	30											X
23/03	34										X	
25/03	36					X	X					X
27/03	38											X
29/03	40	AM	X	X				X	X	X		X
29/03	40	PM	X	X				X	X			
31/03	42				X							
05/04	47										X	X
06/04	48	AM	X					X	X			
08/04	50					X	X					
09/04	51										X	X
12/04	54	AM	X	X				X	X	X	X	X
12/04	54	PM	X	X				X	X			
13/04	55	AM			X			X				
13/04	55	PM						X				
19/04	61										X	
20/04	62									X		X
21/04	63	PM	X	X				X	X			
23/04	65										X	X

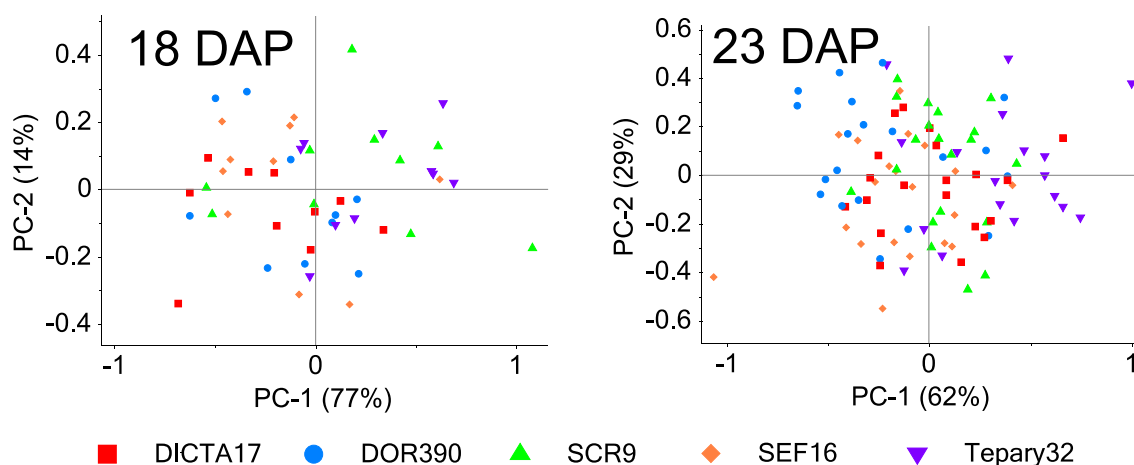
Tabulka 21 – Seznam termínů odběrů a měření pro kontrolní rostliny během experimentu BASE48 v roce 2021; DAP (days after planting) – dny po vysetí; Reflektance – měření spektrálních vlastností listu, MSPQ – měření kapesním fluorimetrem Multispeq, DSTR data – destruktivní odběry rostlin, RWC – relativní obsah vody, SLA – specifická listová plocha, MSPT – snímání multispektrálních dat z dronu, TRML – snímání termálních dat z dronu, BBCH – určení fenologické fáze rostlin; výška rostlin byla měřena 1-2 dny po uvedeném datu měření.

Datum	DAP	čas	Reflektance	MSPQ	DSTR data	RWC	SLA	MSPT (dron)	TRML (dron)	Výška rostlin	Půdní vlhkost	BBCH	Rozbor lusků
05/03	14										X	X	
15/03	24									X	X	X	
16/03	25	AM		X				X	X				
16/03	25	PM		X				X	X				
17/03	26	AM	X										
17/03	26	PM	X							X			
23/03	32										X		
24/03	33					X	X					X	
26/03	35					X	X					X	
30/03	39	AM		X				X	X	X		X	
30/03	39	PM		X				X	X				
31/03	40	AM	X										
31/03	40	PM	X										
05/04	45										X	X	
06/04	46	AM	X					X	X				
07/04	47					X	X				X		
09/04	49										X	X	
12/04	52										X		
13/04	53	AM		X						X		X	
14/04	54	AM	X	X				X	X				
14/04	54	PM	X	X				X	X		X		
15/04	55				X								
19/04	59									X	X	X	
20/04	60	AM	X	X				X	X				
20/04	60	PM	X	X				X	X				
22/04	62												X
23/04	63										X	X	
26/04	66												X
27/04	67												X

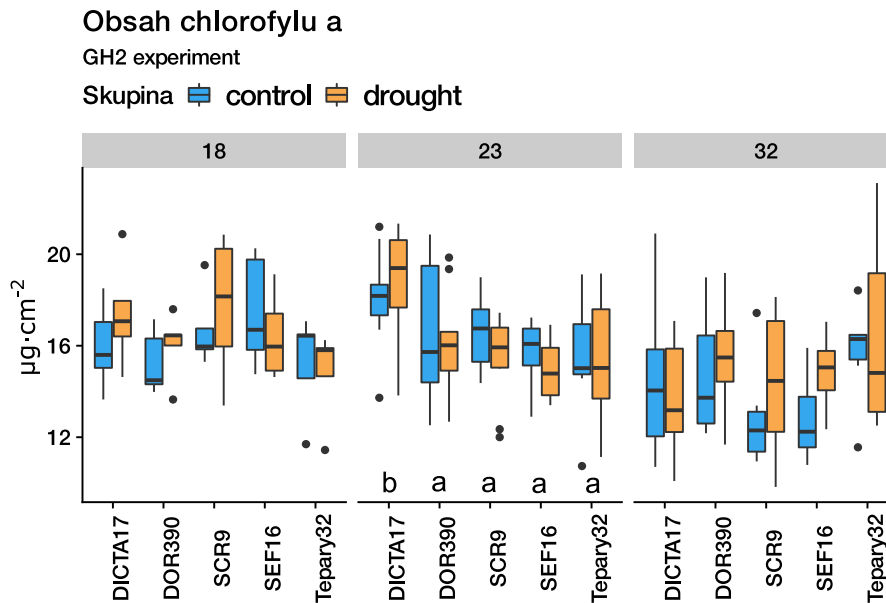
Tabulka 22 – Seznam termínů odběrů a měření rostlin ve skupině ošetřené suchem během experimentu BASE48 v roce 2021; DAP (days after planting) – dny po vysetí; Reflektance – měření spektrálních vlastností listu, MSPQ – měření kapesním fluorimetrem Multispeq, DSTR data – destruktivní odběry rostlin, RWC – relativní obsah vody, SLA – specifická listová plocha, MSPT – snímání multispektrálních dat z dronu, TRML – snímání termálních dat z dronu, BBCH – určení fenologické fáze rostlin; výška rostlin byla měřena 1-2 dny po uvedeném datu měření.



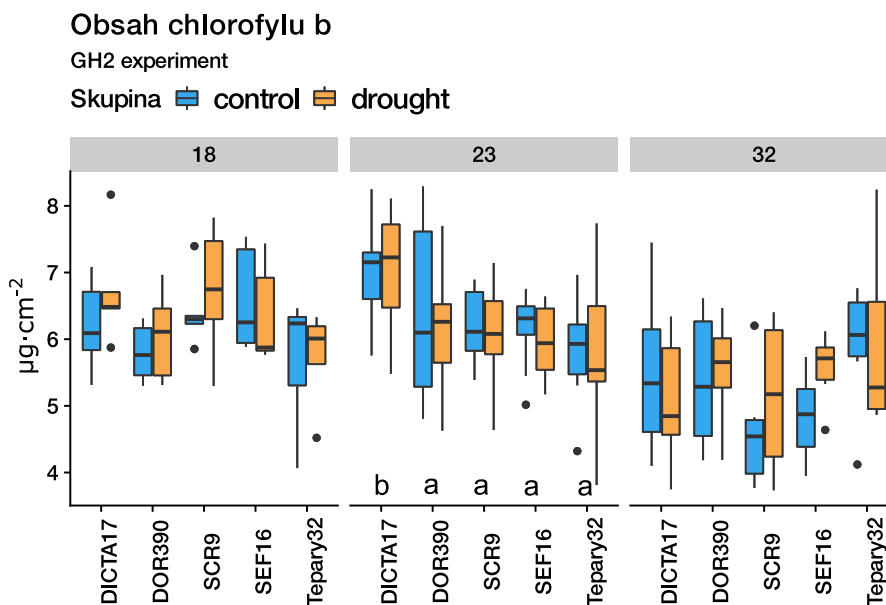
Obrázek 55 – PCA spekter měřených na AD straně listu během skleníkového experimentu GH2 v termínu DAP 18 (pouze pro pět vybraných genotypů – DICTA17, DOR390, SCR9, SEF16, Tepary32); DAP (days after planting) – dny po vysetí, AD – adaxiální strana listu, PC – hlavní komponenta (principal component); $n = 50$.



Obrázek 56 – PCA spektrálních dat ze skleníkového experimentu GH2, pouze spektra měřená na AD straně listu. Barevné rozdělení na skupiny podle genotypů – DICTA 17, DOR 390, SCR 9, SEF 16, Tepary 32, DAP (days after planting) – dny po vysetí, PC – hlavní komponenta (principal component); $n (18 DAP) = 50$, $n (23 DAP) = 98$.

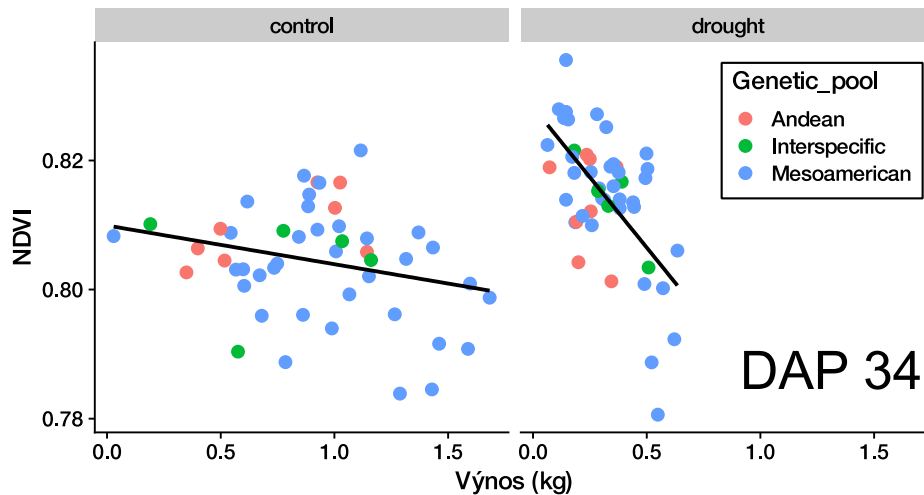


Obrázek 57 – Obsah chlorofylu a v listech ($\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$) ve třech termínech měření během skleníkového experimentu GH2: 18 – DAP18, 23 – DAP 23, 32 – DAP 32; DAP (days after planting) – dny po vysetí, control – kontrolní skupina, drought – skupina ošetřena suchem, názvy genotypů – DICTA 17, DOR 390, SCR9, SEF16, Tepary32; $n(18) = 50$, $n(23) = 99$, $n(32) = 60$. V případě průkazného efektu genotypu (vícefaktorový ANOVA test) byly rozdíly mezi nimi testovány pomocí vícenásobných srovnávacích testů. V případě normálního rozdělení byl aplikován Tukey–Kramerův test, v případě nenormálního rozdělení Wilcoxonův test. V termínu DAP 23 jsou vyznačeny od sebe navzájem se lišící genotypy pomocí rozdílných písmen, pokud písmena chybí, rozdíly mezi genotypy nejsou přítomny. Rozdíly byly hodnoceny jako průkazné na hladině $\alpha = 0,05$. Horizontální příčka v boxech značí medián, střední krabicová část je shora ohraničena 3. kvartilem, zespodu 1. kvartilem. Vertikální úsečky vyjadřují variabilitu dat pod prvním a nad třetím kvartilem. Tečky slouží pro zobrazení odlehlých hodnot.

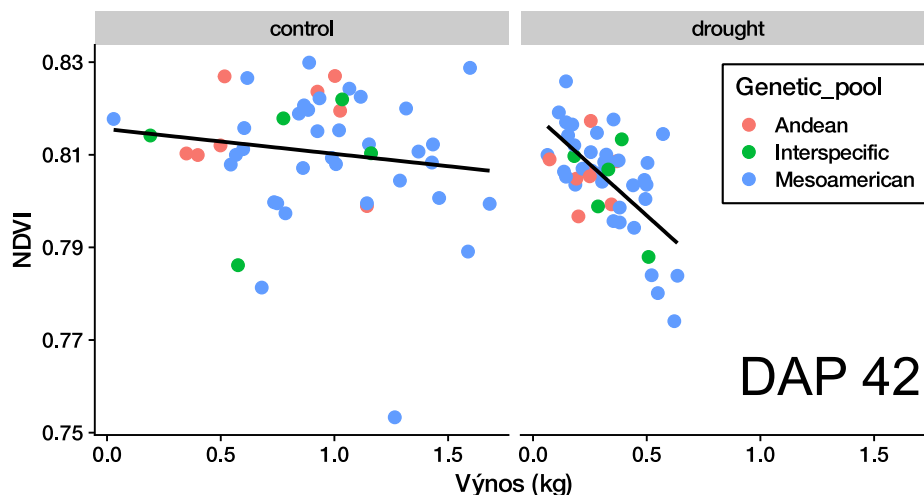


Obrázek 58 – Obsah chlorofylu b v listech ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) ve třech termínech měření během skleníkového experimentu GH2: 18 – DAP18, 23 – DAP 23, 32 – DAP 32; DAP (days after planting) – dny po vysetí, control – kontrolní skupina, drought – skupina ošetřena suchem, názvy genotypů – DICTA 17, DOR 390, SCR9, SEF16, Tepary32; $n(18) = 50$, $n(23) = 99$, $n(32) = 60$;

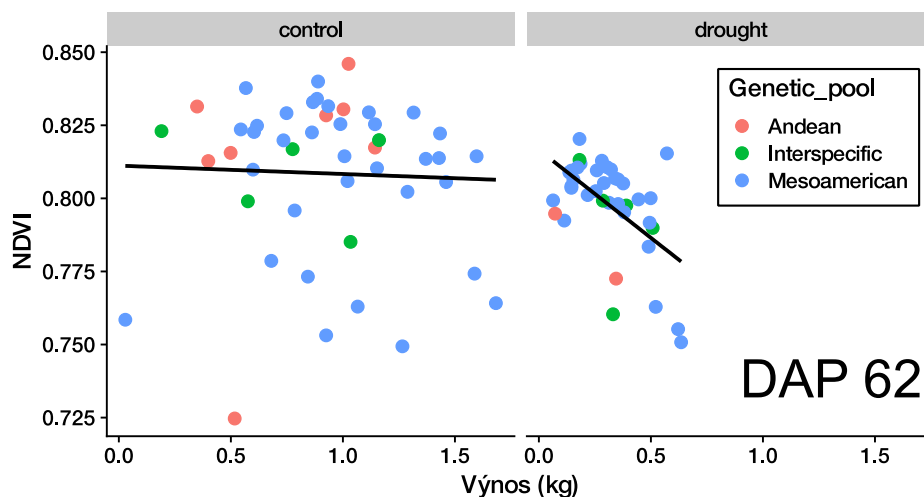
V případě, že vícecestná ANOVA vyšla pro rozdíly mezi genotypy signifikantní, byly rozdíly mezi mini testovány pomocí jednocestné ANOVY. V případě normálního rozdělení byl aplikován Tukey–Kramerův vícenásobný srovnávací test. Pokud se jednalo o nenormální rozdělení byl použit Wilcoxonův test. V termínu DAP 23 jsou vyznačeny od sebe navzájem se lišící genotypy pomocí písmen, pokud písmena chybí, rozdíly mezi genotypy nejsou přítomny. Signifikance byla stanovena jako p -hodnota $<0,05$. Horizontální příčka v boxech značí medián, střední „krabicová část“ je shora ohraničena 3. kvantilem, zespodu 1. kvantilem. Vertikální úsečky vyjadřují variabilitu dat pod prvním a nad třetím kvantilem. Tečky slouží pro zobrazení odlehklých hodnot.



Obrázek 59 – Lineární regrese finálního výnosu (SY) a vegetačního indexu NDVI z polního experimentu BASE100 v termínu DAP 34, spektrální data PM měření na AD straně listu, porovnání kontrolní ($R^2=0,07$) a stresované skupiny ($R^2=0,39$); NDVI – Normalized Difference Vegetation Index, control – kontrolní skupina, drought – skupina vystavená stresu suchem, DAP (days after planting) – dny po vysetí, PM – odpolední měření spektrální informace, Genetic_pool (GP) – genetický zdroj (pool), Andean – andský GP, Mesoamerican – mezoamerický GP, Interspecific – mezidruhová kříženci, R^2 – koeficient determinace, $n = 48$.



Obrázek 60 – Lineární regrese finálního výnosu (SY) a vegetačního indexu NDVI z polního experimentu BASE100 v termínu DAP 42, spektrální data PM měření na AD straně listu, porovnání kontrolní ($R^2=0,01$) a stresované skupiny ($R^2=0,4$); NDVI – Normalized Difference Vegetation Index, control – kontrolní skupina, drought – stresovaná skupina, DAP (days after planting) – dny po vysetí, PM – odpolední měření spektrální informace, Genetic_pool (GP) – genetický zdroj (pool), Andean – andský GP, Mesoamerican – mezoamerický GP, Interspecific – mezidruhová kříženci, R^2 – koeficient determinace; $n(\text{kontrola})=47$, $n(\text{sucho})=48$.



Obrázek 61 – Lineární regrese finálního výnosu (SY) a vegetačního indexu NDVI z polního experimentu BASE100 v termínu DAP 62, spektrální data PM měření na AD straně listu, porovnání kontrolní ($R^2=0$) a stresované skupiny ($R^2=0,3$); NDVI – Normalized Difference Vegetation Index, control – kontrolní skupina, drought – skupina vystavená stresu suchem, DAP (days after planting) – dny po vysetí, PM – odpolední měření spektrální informace, Genetic_pool (GP) – genetický zdroj (pool), Andean – andský GP, Mesoamerican – mesoamerický GP, Interspecific – mezidruhová kříženci, R^2 – koeficient determinace; n (kontrola) = 48, n (sucho) = 38.

Experiment	ANOVA	DAP	Genotypy	Parametr	Jednotky	Faktory	p-hodnota
GH2	RM	23&32	5 gen	Chlorofyl a	µg/cm2	DAP	0,000
GH2	RM	23&32	5 gen	Chlorofyl a	µg/cm2	Skupina	0,821
GH2	RM	23&32	5 gen	Chlorofyl a	µg/cm2	Genotyp	0,019
GH2	RM	23&32	5 gen	Chlorofyl b	µg/cm2	DAP	0,000
GH2	RM	23&32	5 gen	Chlorofyl b	µg/cm2	Skupina	0,813
GH2	RM	23&32	5 gen	Chlorofyl b	µg/cm2	Genotyp	0,005
GH2	RM	23&32	5 gen	Obsah karotenoidů	µg/cm2	DAP	0,001
GH2	RM	23&32	5 gen	Obsah karotenoidů	µg/cm2	Skupina	0,708
GH2	RM	23&32	5 gen	Obsah karotenoidů	µg/cm2	Genotyp	0,002
GH2	RM	23&32	5 gen	Celkový obsah chlorofylu	µg/cm2	DAP	0,000
GH2	RM	23&32	5 gen	Celkový obsah chlorofylu	µg/cm2	Skupina	0,816
GH2	RM	23&32	5 gen	Celkový obsah chlorofylu	µg/cm2	Genotyp	0,014
GH2	RM	23&32	5 gen	Poměr karotenoidů a chlorofylu		DAP	0,002
GH2	RM	23&32	5 gen	Poměr karotenoidů a chlorofylu		Skupina	0,915
GH2	RM	23&32	5 gen	Poměr karotenoidů a chlorofylu		Genotyp	0,005
GH2	2W	23	5 gen	Chlorofyl a	µg/cm2	Skupina	0,446
GH2	2W	23	5 gen	Chlorofyl a	µg/cm2	Genotyp	0,000
GH2	2W	23	5 gen	Chlorofyl a	µg/cm2	Skupina:Genotyp	0,762
GH2	2W	32	5 gen	Chlorofyl a	µg/cm2	Skupina	0,266
GH2	2W	32	5 gen	Chlorofyl a	µg/cm2	Genotyp	0,226
GH2	2W	32	5 gen	Chlorofyl a	µg/cm2	Skupina:Genotyp	0,774
GH2	2W	23	5 gen	Chlorofyl b	µg/cm2	Skupina	0,733
GH2	2W	23	5 gen	Chlorofyl b	µg/cm2	Genotyp	0,000
GH2	2W	23	5 gen	Chlorofyl b	µg/cm2	Skupina:Genotyp	0,953
GH2	2W	32	5 gen	Chlorofyl b	µg/cm2	Skupina	0,435
GH2	2W	32	5 gen	Chlorofyl b	µg/cm2	Genotyp	0,164
GH2	2W	32	5 gen	Chlorofyl b	µg/cm2	Skupina:Genotyp	0,658
GH2	2W	23	5 gen	Obsah karotenoidů	µg/cm2	Skupina	0,776
GH2	2W	23	5 gen	Obsah karotenoidů	µg/cm2	Genotyp	0,000
GH2	2W	23	5 gen	Obsah karotenoidů	µg/cm2	Skupina:Genotyp	0,369
GH2	2W	32	5 gen	Obsah karotenoidů	µg/cm2	Skupina	0,376
GH2	2W	32	5 gen	Obsah karotenoidů	µg/cm2	Genotyp	0,057
GH2	2W	32	5 gen	Obsah karotenoidů	µg/cm2	Skupina:Genotyp	0,109

Experiment	ANOVA	DAP	Genotypy	Parametr	Jednotky	Faktory	p-hodnota
GH2	2W	23	5 gen	Celkový obsah chlorofylu	µg/cm ²	Skupina	0,519
GH2	2W	23	5 gen	Celkový obsah chlorofylu	µg/cm ²	Genotyp	0,000
GH2	2W	23	5 gen	Celkový obsah chlorofylu	µg/cm ²	Skupina:Genotyp	0,839
GH2	2W	32	5 gen	Celkový obsah chlorofylu	µg/cm ²	Skupina	0,301
GH2	2W	32	5 gen	Celkový obsah chlorofylu	µg/cm ²	Genotyp	0,211
GH2	2W	32	5 gen	Celkový obsah chlorofylu	µg/cm ²	Skupina:Genotyp	0,744
GH2	2W	23	5 gen	Poměr karotenoidů a chlorofylu		Skupina	0,721
GH2	2W	23	5 gen	Poměr karotenoidů a chlorofylu		Genotyp	0,018
GH2	2W	23	5 gen	Poměr karotenoidů a chlorofylu		Skupina:Genotyp	0,750
GH2	2W	32	5 gen	Poměr karotenoidů a chlorofylu		Skupina	0,597
GH2	2W	32	5 gen	Poměr karotenoidů a chlorofylu		Genotyp	0,049
GH2	2W	32	5 gen	Poměr karotenoidů a chlorofylu		Skupina:Genotyp	0,697
GH2	RM	23&32	5 gen	Svrchní pokožka	µm	DAP	0,193
GH2	RM	23&32	5 gen	Svrchní pokožka	µm	Skupina	0,619
GH2	RM	23&32	5 gen	Svrchní pokožka	µm	Genotyp	0,050
GH2	RM	23&32	5 gen	Palisádový parenchym	µm	DAP	0,369
GH2	RM	23&32	5 gen	Palisádový parenchym	µm	Skupina	0,645
GH2	RM	23&32	5 gen	Palisádový parenchym	µm	Genotyp	0,004
GH2	RM	23&32	5 gen	Houbovitý parenchym	µm	DAP	0,081
GH2	RM	23&32	5 gen	Houbovitý parenchym	µm	Skupina	0,159
GH2	RM	23&32	5 gen	Houbovitý parenchym	µm	Genotyp	0,006
GH2	RM	23&32	5 gen	Spodní pokožka	µm	DAP	0,046
GH2	RM	23&32	5 gen	Spodní pokožka	µm	Skupina	0,893
GH2	RM	23&32	5 gen	Spodní pokožka	µm	Genotyp	0,000
GH2	RM	23&32	5 gen	Celková tloušťka listu	µm	DAP	0,208
GH2	RM	23&32	5 gen	Celková tloušťka listu	µm	Skupina	0,562
GH2	RM	23&32	5 gen	Celková tloušťka listu	µm	Genotyp	0,004
GH2	RM	23&32	5 gen	Podíl mezibuň. prostor		DAP	0,069
GH2	RM	23&32	5 gen	Podíl mezibuň. prostor		Skupina	0,962
GH2	RM	23&32	5 gen	Podíl mezibuň. prostor		Genotyp	0,266
GH2	2W	23	5 gen	Svrchní pokožka	µm	Skupina	0,232
GH2	2W	23	5 gen	Svrchní pokožka	µm	Genotyp	0,145
GH2	2W	23	5 gen	Svrchní pokožka	µm	Skupina:Genotyp	0,693

Experiment	ANOVA	DAP	Genotypy	Parametr	Jednotky	Faktory	p-hodnota
GH2	2W	32	5 gen	Svrchní pokožka	μm	Skupina	0,029
GH2	2W	32	5 gen	Svrchní pokožka	μm	Genotyp	0,248
GH2	2W	32	5 gen	Svrchní pokožka	μm	Skupina:Genotyp	0,523
GH2	2W	23	5 gen	Palisádový parenchym	μm	Skupina	0,732
GH2	2W	23	5 gen	Palisádový parenchym	μm	Genotyp	0,007
GH2	2W	23	5 gen	Palisádový parenchym	μm	Skupina:Genotyp	0,920
GH2	2W	32	5 gen	Palisádový parenchym	μm	Skupina	0,771
GH2	2W	32	5 gen	Palisádový parenchym	μm	Genotyp	0,293
GH2	2W	32	5 gen	Palisádový parenchym	μm	Skupina:Genotyp	0,713
GH2	2W	23	5 gen	Houbovitý parenchym	μm	Skupina	0,822
GH2	2W	23	5 gen	Houbovitý parenchym	μm	Genotyp	0,201
GH2	2W	23	5 gen	Houbovitý parenchym	μm	Skupina:Genotyp	0,955
GH2	2W	32	5 gen	Houbovitý parenchym	μm	Skupina	0,013
GH2	2W	32	5 gen	Houbovitý parenchym	μm	Genotyp	0,013
GH2	2W	32	5 gen	Houbovitý parenchym	μm	Skupina:Genotyp	0,133
GH2	2W	23	5 gen	Spodní pokožka	μm	Skupina	0,351
GH2	2W	23	5 gen	Spodní pokožka	μm	Genotyp	0,000
GH2	2W	23	5 gen	Spodní pokožka	μm	Skupina:Genotyp	0,451
GH2	2W	32	5 gen	Spodní pokožka	μm	Skupina	0,501
GH2	2W	32	5 gen	Spodní pokožka	μm	Genotyp	0,010
GH2	2W	32	5 gen	Spodní pokožka	μm	Skupina:Genotyp	0,994
GH2	2W	23	5 gen	Celková tloušťka listu	μm	Skupina	0,513
GH2	2W	23	5 gen	Celková tloušťka listu	μm	Genotyp	0,090
GH2	2W	23	5 gen	Celková tloušťka listu	μm	Skupina:Genotyp	0,873
GH2	2W	32	5 gen	Celková tloušťka listu	μm	Skupina	0,185
GH2	2W	32	5 gen	Celková tloušťka listu	μm	Genotyp	0,069
GH2	2W	32	5 gen	Celková tloušťka listu	μm	Skupina:Genotyp	0,446
GH2	2W	23	5 gen	Podíl mezibuň. prostor		Skupina	0,706
GH2	2W	23	5 gen	Podíl mezibuň. prostor		Genotyp	0,954
GH2	2W	23	5 gen	Podíl mezibuň. prostor		Skupina:Genotyp	0,156
GH2	2W	32	5 gen	Podíl mezibuň. prostor		Skupina	0,772
GH2	2W	32	5 gen	Podíl mezibuň. prostor		Genotyp	0,310
GH2	2W	32	5 gen	Podíl mezibuň. prostor		Skupina:Genotyp	0,761
GH2	RM	25&32	5 gen	RWC	%	DAP	0,000
GH2	RM	25&32	5 gen	RWC	%	Skupina	0,031
GH2	RM	25&32	5 gen	RWC	%	Genotyp	0,431

Experiment	ANOVA	DAP	Genotypy	Parametr	Jednotky	Faktory	p-hodnota
GH2	RM	25&32	5 gen	RWC	% (bOH)	DAP	0,000
GH2	RM	25&32	5 gen	RWC	% (bOH)	Skupina	0,885
GH2	RM	25&32	5 gen	RWC	% (bOH)	Genotyp	0,425
GH2	RM	25&32	5 gen	SLA	m ² /kg	DAP	0,431
GH2	RM	25&32	5 gen	SLA	m ² /kg	Skupina	0,674
GH2	RM	25&32	5 gen	SLA	m ² /kg	Genotyp	0,082
GH2	2W	25	5 gen	RWC	%	Skupina	0,635
GH2	2W	25	5 gen	RWC	%	Genotyp	0,252
GH2	2W	25	5 gen	RWC	%	Skupina:Genotyp	0,115
GH2	2W	32	5 gen	RWC	%	Skupina	0,027
GH2	2W	32	5 gen	RWC	%	Genotyp	0,517
GH2	2W	32	5 gen	RWC	%	Skupina:Genotyp	0,059
GH2	2W	32	5 gen	RWC	% (bOH)	Skupina	0,899
GH2	2W	32	5 gen	RWC	% (bOH)	Genotyp	0,659
GH2	2W	32	5 gen	RWC	% (bOH)	Skupina:Genotyp	0,142
GH2	2W	25	5 gen	SLA	m ² /kg	Skupina	0,242
GH2	2W	25	5 gen	SLA	m ² /kg	Genotyp	0,033
GH2	2W	25	5 gen	SLA	m ² /kg	Skupina:Genotyp	0,554
GH2	2W	32	5 gen	SLA	m ² /kg	Skupina	0,724
GH2	2W	32	5 gen	SLA	m ² /kg	Genotyp	0,190
GH2	2W	32	5 gen	SLA	m ² /kg	Skupina:Genotyp	0,522
BASE48	2W	35 & 36	all gen	RWC	%	Skupina	0,000
BASE48	2W	35 & 36	all gen	RWC	%	Genotyp	0,000
BASE48	2W	35 & 36	all gen	RWC	%	Skupina:Genotyp	0,159
BASE48	2W	47 & 50	all gen	RWC	%	Skupina	0,000
BASE48	2W	47 & 50	all gen	RWC	%	Genotyp	0,007
BASE48	2W	47 & 50	all gen	RWC	%	Skupina:Genotyp	0,010
BASE48	2W	35 & 36	all gen	SLA	m ² /kg	Skupina	0,001
BASE48	2W	35 & 36	all gen	SLA	m ² /kg	Genotyp	0,849
BASE48	2W	35 & 36	all gen	SLA	m ² /kg	Skupina:Genotyp	0,927
BASE48	2W	47 & 50	all gen	SLA	m ² /kg	Skupina	0,000
BASE48	2W	47 & 50	all gen	SLA	m ² /kg	Genotyp	0,002
BASE48	2W	47 & 50	all gen	SLA	m ² /kg	Skupina:Genotyp	0,004
BASE100	2W	Harvest 1	all gen	RWC	%	Skupina	0,000
BASE100	2W	Harvest 1	all gen	RWC	%	Genotyp	0,524
BASE100	2W	Harvest 1	all gen	RWC	%	Skupina:Genotyp	0,664

Experiment	ANOVA	DAP	Genotypy	Parametr	Jednotky	Faktory	p-hodnota
BASE100	2W	Harvest 2	all gen	RWC	%	Skupina	0,000
BASE100	2W	Harvest 2	all gen	RWC	%	Genotyp	0,066
BASE100	2W	Harvest 2	all gen	RWC	%	Skupina:Genotyp	0,359
BASE100	2W	Harvest 1	all gen	SLA	m ² /kg	Skupina	0,000
BASE100	2W	Harvest 1	all gen	SLA	m ² /kg	Genotyp	0,000
BASE100	2W	Harvest 1	all gen	SLA	m ² /kg	Skupina:Genotyp	0,000
BASE100	2W	Harvest 2	all gen	SLA	m ² /kg	Skupina	0,000
BASE100	2W	Harvest 2	all gen	SLA	m ² /kg	Genotyp	0,000
BASE100	2W	Harvest 2	all gen	SLA	m ² /kg	Skupina:Genotyp	0,000
BASE100	RM	19&34 42&62	all gen	BNDVI		DAP_spectra	0,000
BASE100	RM	19&34 42&62	all gen	BNDVI		Skupina	0,000
BASE100	RM	19&34 42&62	all gen	GNDVI		DAP_spectra	0,000
BASE100	RM	19&34 42&62	all gen	GNDVI		Skupina	0,732
BASE100	RM	19&34 42&62	all gen	NDRE		DAP_spectra	0,000
BASE100	RM	19&34 42&62	all gen	NDRE		Skupina	0,548
BASE100	RM	19&34 42&62	all gen	NDVI		DAP_spectra	0,000
BASE100	RM	19&34 42&62	all gen	NDVI		Skupina	0,864
BASE100	RM	19&34 42&62	all gen	NGBDI		DAP_spectra	0,000
BASE100	RM	19&34 42&62	all gen	NGBDI		Skupina	0,001
BASE100	2W	19	all gen	BNDVI		Genotyp	0,018
BASE100	2W	19	all gen	BNDVI		Skupina	0,000
BASE100	2W	19	all gen	GNDVI		Genotyp	0,000
BASE100	2W	19	all gen	GNDVI		Skupina	0,000
BASE100	2W	19	all gen	NDRE		Genotyp	0,000
BASE100	2W	19	all gen	NDRE		Skupina	0,000
BASE100	2W	19	all gen	NDVI		Genotyp	0,034
BASE100	2W	19	all gen	NDVI		Skupina	0,002
BASE100	2W	19	all gen	NGBDI		Genotyp	0,000
BASE100	2W	19	all gen	NGBDI		Skupina	0,004
BASE100	2W	34	all gen	BNDVI		Genotyp	0,000
BASE100	2W	34	all gen	BNDVI		Skupina	0,000

Experiment	ANOVA	DAP	Genotypy	Parametr	Jednotky	Faktory	p-hodnota
BASE100	2W	34	all gen	GNDVI		Genotyp	0,000
BASE100	2W	34	all gen	GNDVI		Skupina	0,000
BASE100	2W	34	all gen	NDRE		Genotyp	0,000
BASE100	2W	34	all gen	NDRE		Skupina	0,000
BASE100	2W	34	all gen	NDVI		Genotyp	0,001
BASE100	2W	34	all gen	NDVI		Skupina	0,000
BASE100	2W	34	all gen	NGBDI		Genotyp	0,000
BASE100	2W	34	all gen	NGBDI		Skupina	0,000
BASE100	2W	42	all gen	BNDVI		Genotyp	0,563
BASE100	2W	42	all gen	BNDVI		Skupina	0,659
BASE100	2W	42	all gen	GNDVI		Genotyp	0,024
BASE100	2W	42	all gen	GNDVI		Skupina	0,000
BASE100	2W	42	all gen	NDRE		Genotyp	0,001
BASE100	2W	42	all gen	NDRE		Skupina	0,000
BASE100	2W	42	all gen	NDVI		Genotyp	0,538
BASE100	2W	42	all gen	NDVI		Skupina	0,651
BASE100	2W	42	all gen	NGBDI		Genotyp	0,069
BASE100	2W	42	all gen	NGBDI		Skupina	0,000
BASE100	2W	62	all gen	BNDVI		Genotyp	0,000
BASE100	2W	62	all gen	BNDVI		Skupina	0,002
BASE100	2W	62	all gen	GNDVI		Genotyp	0,000
BASE100	2W	62	all gen	GNDVI		Skupina	0,297
BASE100	2W	62	all gen	NDRE		Genotyp	0,001
BASE100	2W	62	all gen	NDRE		Skupina	0,657
BASE100	2W	62	all gen	NDVI		Genotyp	0,000
BASE100	2W	62	all gen	NDVI		Skupina	0,001
BASE100	2W	62	all gen	NGBDI		Genotyp	0,003
BASE100	2W	62	all gen	NGBDI		Skupina	0,001
GH2	2W	32	all gen	BNDVI		Skupina	0,745
GH2	2W	32	all gen	BNDVI		Genotyp	0,001
GH2	2W	32	all gen	BNDVI		Skupina:Genotyp	0,935
GH2	2W	32	all gen	GNDVI		Skupina	0,742
GH2	2W	32	all gen	GNDVI		Genotyp	0,036
GH2	2W	32	all gen	GNDVI		Skupina:Genotyp	0,853
GH2	2W	32	all gen	NDRE		Skupina	0,742
GH2	2W	32	all gen	NDRE		Genotyp	0,036
GH2	2W	32	all gen	NDRE		Skupina:Genotyp	0,853

Experiment	ANOVA	DAP	Genotypy	Parametr	Jednotky	Faktory	p-hodnota
GH2	2W	32	all gen	NDVI		Skupina	0,973
GH2	2W	32	all gen	NDVI		Genotyp	0,022
GH2	2W	32	all gen	NDVI		Skupina:Genotyp	0,954
GH2	2W	32	all gen	NGBDI		Skupina	0,534
GH2	2W	32	all gen	NGBDI		Genotyp	0,003
GH2	2W	32	all gen	NGBDI		Skupina:Genotyp	0,684

Tabulka 23 – Seznam všech testovaných parametrů pomocí hierarchického nebo vícefaktorového ANOVA testu. ANOVA – typ ANOVA testu, který byl použit pro testování parametru, DAP (days after planting) – dny po vysetí, Faktory – testované faktory nebo jejich kombinace; GH2 – skleníkový pokus z roku 2020; BASE100 – polní pokus z roku 2019; BASE48 – polní pokus z roku 2021; RM (repeated-measures ANOVA test) – hierarchický ANOVA test, 2W (two-way ANOVA test) – vícefaktorový ANOVA test; allgen – do analýzy bylo zahrnuto všech 48 genotypů; 5 gen – pro analýzu bylo vybráno pouze 5 genotypů (DOR 390, DICTA 17, SCR 9, SEF 16 a Tepary 32); RWC (relative water content) – relativní obsah vody v listech; SLA (specific leaf area) – specifická listová plocha; názvy konkrétních vegetačních indexů viz Tabulka 3. Rozdíly byly hodnoceny jako průkazné na hladině $\alpha = 0,05$.