

Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta

Katedra experimentální biologie rostlin



Bc. Ondřej Červenka

Odezvy sazenic buku lesního na stres suchem sledované pomocí fyziologických a optických indikátorů

Drought stress response of European beech seedlings monitored using physiological and optical indicators

Diplomová práce

Školitelka: Mgr. Zuzana Lhotáková, Ph.D.
Konzultantky: prof. RNDr. Jana Albrechtová, Ph.D.
Mgr. Eva Neuwirthová, Ph.D.

Praha, 2023

Školitelka diplomové práce:

Mgr. Zuzana Lhotáková, Ph.D., Katedra experimentální biologie rostlin PřF UK

Konzultanti diplomové práce:

Prof. RNDr. Jana Albrechtová Ph.D., Katedra experimentální biologie rostlin PřF UK

Mgr. Eva Neuwirthová, Ph.D., Katedra experimentální biologie rostlin PřF UK

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem svou diplomovou práci zpracoval samostatně pod vedením Mgr. Zuzany Lhotákové, Ph.D. a za konzultace prof. RNDr. Jany Albrechtové Ph.D. a Mgr. Evy Neuwirthové, Ph.D. a že jsem uvedl všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu. Souhlasím se zveřejňováním práce.

V Praze dne 1.12.2023

Bc. Ondřej Červenka

Poděkování:

Rád bych na tomto místě poděkoval především své školitelce, Mgr. Zuzaně Lhotákové, Ph.D., za obrovskou trpělivost, zapálenost a čas, který mi věnovala v průběhu konzultací a zisku dat. Velké poděkování patří také oběma mým konzultantkám – prof. RNDr. Janě Albrechtové Ph.D. za velkou pomoc s finalizací textu a Mgr. Evě Neuwirthové, Ph.D. zejména za pomoc při statistických analýzách. Dále bych rád poděkoval i ostatním členům týmu, zejména Miroslavovi Bartákovi. Opomenout nemohu ani rodinu a přátele, i těm patří velký dík za jejich velkou podporu. Na závěr bych rád poděkoval Mrtvé rybě za příjemně strávené chvíle v kruhu přátel.

Abstrakt

Jedním z projevů globální změny klimatu je nárůst extrémních teplot a vln sucha, přičemž prognózy budoucího vývoje se přiklání k variantě prohlubování negativních dopadů. Působení těchto abiotických stresových faktorů se odráží ve fyziologickém stavu vegetace. Je proto nutné nalézt vhodné indikátory působení stresu, které pomohou včas detekovat zhoršující se fyziologický stav vegetace. Indikátory mohou být zjišťovány nejen fyziologickými metodami, ale i optickými, pro další využití sledování vegetace metodami dálkového průzkumu. Buk lesní (*Fagus sylvatica* L.) je v našich podmínkách původní dřevina v kontextu, v současnosti hojně využívaná v lesnictví pro výsadbu druhově pestřejších společenstev dřevin, která jsou odolnější vůči dopadům klimatické změny. Cílem diplomové práce bylo zkoumat odezvy buku lesního na stres suchem pomocí fyziologických a optických indikátorů.

Sazenice buku (výsadbový materiál ze školky) byly po dobu dvou experimentálních sezón umístěny v kontejnerech v experimentálním skleníku, přísun vody byl zprostředkován kapkovou závlahou. Experimentální materiál byl rozdělen do tří skupin s odstupňovanou závlahou (kontrola, mírné sucho a sucho). Závlivkový režim sestával ze tří period sucha a fází s rovnoměrnou závlahou.

Hodnoceny byly odezvy sazenic buku lesního na působení stresu suchem, a to prostřednictvím dvou typů indikátorů stresového působení – fyziologických a optických. V rámci fyziologických indikátorů byla stanovována koncentrace fotosyntetických pigmentů, poměr karotenoidů vůči chlorofylu, obsah vody v listech, obsah prolinu a specifická listová plocha, stanovovány byly také hodnoty fotosyntetických parametrů na bázi fluorescenčních a gazometrických měření. Optické indikátory stresového působení zahrnovaly vyhodnocení spektrálních křivek odrazivosti a vegetačních indexů. S ohledem na nedestruktivní povahu a možnost měření na různých hierarchických úrovních porostu je právě tato skupina indikátorů stresu považována za perspektivní pro budoucí uplatnění.

Z širšího spektra studovaných parametrů byly na základě statisticky signifikantních hodnot, které byly zaznamenány v reakci na nedostatek závlivky v periodách sucha, vytipovány jako nejvhodnější obsah chlorofylu, fotosyntetické parametry měřené na bázi fluorescence a vegetační indexy vztahující se k obsahu chlorofylu (Vogelmann, Datt2, NDchl a RMSR). Sledován byl také efekt regenerace, tedy změny hodnot parametrů, které se udály po ukončení ošetření suchem v období s rovnoměrnou závlahou všem skupinám rostlin.

Klíčová slova

buk lesní (*Fagus sylvatica* L.); fluorescence chlorofylu; fotosyntéza; klimatická změna; nespecifické indikátory stresu; obsah chlorofylu; optické vlastnosti; specifická listová plocha; stres suchem; vegetační indexy

Abstract

One of the manifestations of global climate change is an increase in extreme temperatures and drought waves, while forecasts of future development indicate deepening negative impacts. The effect of these abiotic stress factors is reflected in the physiological state of the vegetation. It is therefore necessary to find suitable stress indicators that will help detect the worsening of physiological state of vegetation in time series. Indicators can be detected not only by physiological methods, but also optical ones, for further use of vegetation monitoring by remote sensing methods. Forest beech (*Fagus sylvatica* L.) is a native tree in our context, currently widely used in forestry for planting more species-varied communities of trees that are more resistant to the effects of climate change. The aim of the thesis was to study the responses of beech to drought stress using physiological and optical indicators.

Beech seedlings (planting material from the nursery) were placed in containers in the experimental greenhouse for two experimental seasons, water supply was mediated by drip irrigation. The experimental material was divided into three groups with graded irrigation (control, moderate drought and drought). The watering regime consisted of three periods of drought and recovery phases with uniform, sufficient watering.

The responses of forest beech seedlings to drought stress were evaluated by two types of stress indicators – physiological and optical ones. As part of the physiological indicators, the concentration of photosynthetic pigments, the ratio of carotenoids to chlorophyll, water content in leaves, proline content and specific leaf area were determined, as well as the values of photosynthetic parameters based on fluorescence and gasometric measurements. Optical indicators of stress impact included the evaluation of spectral reflectance curves and vegetation indices. Considering the non-destructive nature and the possibility of measurement at different hierarchical levels of the stand, this group of stress indicators is considered promising for future applications.

From the wider spectrum of parameters studied, based on statistically significant values that were recorded in response to the shortage of watering in periods of drought, the most suitable were chlorophyll content, photosynthetic parameters measured on the basis of fluorescence and vegetation indices related to chlorophyll content (Vogelmann, Datt2, NDchl and RMSR). The effect of regeneration, i.e. the changes in parameter values that occurred after the end of the drought treatment in the period with equal watering for all groups of plants, was also monitored.

Key words

European beech (*Fagus sylvatica* L.); chlorophyll content; chlorophyll fluorescence; climate change; drought stress; nonspecific stress indicators; optical properties; photosynthesis; specific leaf area; vegetation indices

Obsah

1	Úvod.....	1
1.1	Hypotézy práce.....	2
1.2	Cíle práce.....	2
2	Literární přehled.....	5
2.1	Buk lesní, jeho rozšíření, podíl ve skladbě lesních ekosystémů a nároky na vodu	5
2.2	Klimatická změna.....	9
2.2.1	Sucho	11
2.3	Stres suchem	13
2.4	Fyziologické odezvy buku lesního na stresové faktory	16
2.4.1	Zpomalení či zastavení růstu	16
2.4.2	Změny na úrovni primárních procesů fotosyntézy	16
2.4.3	Změny koncentrace prolinu.....	19
2.4.4	Změny sekundárního metabolismu	19
2.4.5	Změny specifické listové plochy	20
2.4.6	Změny v zásobenosti živinami	20
2.4.7	Další faktory klimatické změny a jejich projevy	20
2.4.7.1	Zaplavení.....	20
2.4.7.2	Zvýšená koncentrace CO ₂	21
2.5	Optické vlastnosti listoví.....	21
3	Materiál a metodika.....	24
3.1	Materiál.....	24
3.2	Metodika	28
3.2.1	Měření půdní vlhkosti a teploty okolního prostředí.....	28
3.2.2	Spektrofotometrické stanovení obsahu fotosyntetických pigmentů	29
3.2.3	Výpočet dalších biofyzikálních parametrů.....	30
3.2.4	Měření přístrojem MultispeQ.....	30
3.2.5	Stanovení obsahu prolinu	32

3.2.6	Měření výměny plynů přístrojem Li-COR.....	32
3.2.7	Spektroradiometrické měření optických vlastností listoví	33
3.2.8	Statistické vyhodnocení výsledků.....	35
4	Výsledky.....	36
4.1	Sezóna 2021	36
4.1.1	Biofyzikální a fotosyntetické parametry	36
4.1.1.1	Měření přístrojem MultispeQ v termínech měření optických vlastností listoví.....	36
4.1.1.1.1	Parametry popisující obsah chlorofylu.....	38
4.1.1.1.2	Poměr karotenoidů vůči chlorofylu.....	40
4.1.1.1.3	Obsah vody v listech	41
4.1.1.1.4	Specifická listová plocha	42
4.1.1.1.5	Parametry popisující způsob využití světelné en. zachycené fotosystémem II....	43
4.1.1.1.6	Parametry popisující aktivitu reakčních center fotosystému I	46
4.1.1.1.7	Lineární elektronový tok	48
4.1.1.2	Opakovaná měření přístrojem MultispeQ v průběhu celé sezóny	49
4.1.2	Optické vlastnosti listoví.....	55
4.1.2.1	Spektrální křivky.....	55
4.1.2.2	Vegetační indexy.....	58
4.2	Sezóna 2022	67
4.2.1	Biofyzikální parametry.....	67
4.2.1.1	Obsah chlorofylu.....	69
4.2.1.2	Poměr karotenoidů vůči chlorofylu.....	70
4.2.1.3	Specifická listová plocha.....	71
4.2.1.4	Obsah vody v listech	72
4.2.2	Prolin.....	74
4.2.3	Gazometrická měření fotosyntetických parametrů	75
4.2.3.1	Rychlost fotosyntézy	76
4.2.3.2	Rychlost transpirace	78

4.2.3.3	Okamžitá účinnost využití vody	79
4.2.3.4	Vodivost průduchů	80
4.2.4	Půdní vlhkost	82
4.2.5	Optické vlastnosti listoví	86
4.2.5.1	Spektrální křivky	86
5	Diskuze	96
5.1	Diskuze experimentálních systémů	96
5.2	Metodická diskuze	98
5.3	Diskuze výsledků	99
5.3.1	Biofyzikální a fotosyntetické parametry pod vlivem stresu suchem u buku	99
5.3.1.1	Vliv stresu suchem na obsah fotosyntetických pigmentů u buku	99
5.3.1.2	Vliv stresu suchem na obsah vody v listech buku	101
5.3.1.3	Vliv stresu suchem na specifickou listovou plochu u buku	103
5.3.1.4	Vliv stresu suchem na parametry primární fáze fotosyntézy u buku	104
5.3.2	Obsah prolinu pod vlivem stresu suchem u buku	106
5.3.3	Fotosyntetické parametry pod vlivem stresu suchem u buku	107
5.3.3.1	Vliv stresu suchem na rychlost čisté fotosyntézy u buku	107
5.3.3.2	Vliv stresu suchem na rychlost transpirace u buku	107
5.3.3.3	Vliv stresu suchem na okamžitou účinnost využití vody u buku	108
5.3.3.4	Vliv stresu suchem na vodivost průduchů u buku	109
5.3.4	Měření půdní vlhkosti	110
5.3.5	Optické parametry listů pod vlivem stresu suchem u buku	111
6	Závěry	113
7	Zdroje literatury	118

Seznam uvedených zkratk (v abecedním pořadí)

zkratka	anglický význam	český význam
ABA	<i>abscisic acid</i>	kyselina abscisová
ANOVA	<i>analysis of variance</i>	analýza variance (též rozptylu)
ATP	<i>adenosine triphosphate</i>	adenosintrifosfát
BV		bod (trvalého) vadnutí
BVOC	<i>biogenic volatile organic compound</i>	biogenní volatilní organická látka
DHN	<i>dehydrin</i>	dehydrin
DMF	<i>dimethylformamid</i>	dimethylamid kyseliny mravenčí
EWT	<i>equivalent water thickness</i>	obsah vody vyjádřený na projekční plochu listu
iWUE	<i>instantaneous water use efficiency</i>	okamžitá účinnost využití vody
KW	<i>Kruskal-Wallis test</i>	Kruskalův-Wallisův vícenásobný srovnávací test
LAI	<i>leaf area index</i>	index listové plochy
LEA	<i>Late embryogenesis abundant</i>	
LEF	<i>linear electron flow</i>	lineární elektronový tok
LTD	<i>leaf temperature differential</i>	listový teplotní rozdíl
MSI	<i>Moisture Stress Index</i>	
NADH	<i>nicotinamide adenine dinucleotide (NAD) + hydrogen (H)</i>	redukovaný nikotinamidadeninukleotid
NDchl	<i>Normalized Difference Chlorophyll</i>	
NDLI	<i>Normalized Difference Lignin Index</i>	
NDVI	<i>Normalized Difference Vegetation Index</i>	normalizovaný diferenční vegetační index
NDWI	<i>Normalized Difference Water Index</i>	
NIR	<i>near infrared</i>	blízké infračervené záření
NPQt	<i>non photochemical quenching (t)</i>	odhad nefotochemického zhášení

OEC	<i>oxygen evolving complex</i>	komplex vyvíjející kyslík
PAR	<i>photosynthetically active radiation</i>	fotosynteticky aktivní záření
PC	<i>plastocyanin</i>	plastocyanin
PDSI	<i>Palmer Drought Severity Index</i>	Palmerův index intenzity sucha
Phi2		efektivní kvantový výtěžek fotosystému II
PhiNO		kvantový výtěžek neregulované disipace energie
PhiNPQ		kvantový výtěžek regulované disipace energie
PKP		polní kapacita půdy
PLSR	<i>partial least squares regression</i>	regrese metodou částečných nejmenších čtverců
PQ	<i>plastoquinone</i>	plastochinon
PS1AC	<i>PSI active centers</i>	aktivní centra fotosystému I
PS1OpC	<i>PSI open centers</i>	otevřená centra fotosystému I
PS1ORC	<i>PSI over reduced centers</i>	nadměrně redukováná centra fotosystému I
PS1OxC	<i>PSI oxidized centers</i>	oxidovaná centra fotosystému I
PSI	<i>photosystem I</i>	fotosystém I
PSII	<i>photosystem II</i>	fotosystém II
PVK		plná vodní kapacita
RC	<i>relative chlorophyll</i>	relativní obsah chlorofylu
RMSR	<i>Revised Modified Simple Ratio</i>	
RVI	<i>Ratio Vegetation Index</i>	jednoduchý poměrový vegetační index
SLA	<i>specific leaf area</i>	specifická listová plocha
SPAC	<i>soil-plant-atmosphere continuum</i>	kontinuum půda-rostlina-atmosféra
SPEI	<i>Standardized Precipitation Evapotranspiration Index</i>	standardizovaný srážkový evapotranspirační index
SPI	<i>Standardized Precipitation Index</i>	standardizovaný srážkový index

SWIR	<i>short wave infrared</i>	krátkovlnné infračervené záření
TK	<i>Tukey-Kramer test</i>	Tukeyho-Kramerův vícenásobný srovnávací test
TVI	<i>Transformed Vegetation Index</i>	transformovaný vegetační index
UAV	<i>unmanned aerial vehicle</i>	kvadrioptéra (též dron)
VI	<i>vegetation index</i>	vegetační index
VIS	<i>visible spectrum</i>	viditelná část spektra
VNIR	<i>visible and near infrared</i>	viditelné a blízké infračervené záření
VVK		využitelná vodní kapacita
VWC	<i>volumetric water content</i>	objemová vlhkost substrátu
WUE	<i>water use efficiency</i>	účinnost využití vody
ψ		vodní potenciál

1 Úvod

Současný stav lesních porostů v České republice je silně ovlivněn přístupy k lesnímu hospodaření, které byly aplikovány v průběhu uplynulých desetiletí až staletí, a to zejména příklonem k monokulturám smrku ztepilého (*Picea abies* L. Karst.). Jejich pěstování je z krátkodobého ekonomického hlediska výhodnější než zachovávání přirozených, druhově bohatších lesních porostů, z hlediska působení globální změny klimatu jsou však ekosystémy smrkových monokultur výrazně náchylnější k jejím negativním dopadům. Negativní působení faktorů klimatické změny je způsobeno nejen abiotickými faktory (zejm. výkyvy teplot, extrémními teplotami, vlnami veder a působením sucha), ale také faktory biotickými, které se výrazně uplatňují právě v kombinaci s abiotickými faktory – typickými projevy tohoto spolupůsobení jsou kalamity způsobené přemnožením kůrovce (rody *Ips*, *Pityogenes* aj.). To dokazuje např. studie autorů Obladen et al. (2021), jejíž autoři prokázali zvýšenou úmrtnost suchem stresovaných jedinců smrku ztepilého při napadení lýkožroutem smrkovým (*Ips typographus* L.). Z tohoto důvodu probíhají snahy o opětovný příklon k pěstování druhově pestřejších společenstev dřevin (Gessler et al., 2007). Uplatnění buku lesního se v tomto ohledu jeví jako perspektivní, jelikož se jedná o dřevinu v České republice původní a méně náchylnou vůči napadení lýkožroutem. Předmětem diskuze je však odpověď buku lesního na působení stresorů akcelerovaných globální klimatickou změnou v budoucnu. Lze totiž očekávat prohlubování jejích důsledků, tedy zejména nárůst extrémních jevů počasí (sucho, záplavy, vlny veder), což může vést až ke kolapsu celých ekosystémů (www.faktaoklimatu.cz, stav k 20.5.2023).

Efektivní metodou s vysokým časovým a prostorovým rozlišením, která mj. poskytuje i informace o fyziologickém stavu dřevin, je využití optických vlastností listoví, zejm. měření odrazivosti listoví. Tato nedestruktivní metoda může být použita na různých hierarchických úrovních, a to od měření jednotlivých listů mobilním ručním spektrometrem až po měření celých ekosystémů prostřednictvím senzorů umístěných na letadlech, družicích či dronech (označovaných též jako kvadriplány nebo UAV z angl. *unmanned aerial vehicles*). Na základě tohoto přístupu je možné pozorovat případné změny ve studovaných parametrech (např. v obsahu fotosyntetických pigmentů) ještě před vznikem makroskopických projevů (Albrechtová et al., 2017). Jiným nedestruktivním metodickým přístupem je použití příručních měřicích přístrojů pro měření obsahu chlorofylu, fluorescenčních parametrů, parametrů založených na absorbanci apod., avšak takovéto měření je vázáno na pracovní sílu a pozici v koruně dostupnou pro ruční měření, což v případě dospělých stromů neposkytuje informace z reprezentativní, osluněné části koruny. Obsah fotosyntetických pigmentů či jiných látek lze také stanovovat biochemicky, v tomto případě se však jedná o metodu destruktivní a je proto třeba odebírat vzorky z vyšších, reprezentativních částí koruny. K tomu je často třeba další pracovní sílu, případně asistenci výškového pracovníka.

Diplomová práce je založena na dvouletém sledování odezev sazenic buku lesního s navozeným suchem v nádobovém skleníkovém experimentu. Experimentální materiál byl v rámci závlivkového režimu vystaven periodám sucha a regenerace. Hodnocena byla odezva bukových sazenic rozdělených do 3 kontrastních skupin – kontrolní skupina byla pěstována za plné závlivky po celou dobu experimentu, ostatní 2 skupiny byly v periodách sucha vystaveny různé míře nedostatku vody (v práci ozn. jako rostliny ošetřené mírným suchem a rostliny ošetřené suchem). Hlavní cíl práce tkví v optimalizaci hodnocení odezev na stres suchem pomocí optických vlastností listoví pro možné využití při velkoplošném monitorování školkového materiálu nebo raných výsadeb buku lesního. Proto v diplomové práci bude hodnocen potenciál optických vlastností listoví pro detekci stresu suchem a využití této metody pro studium problematiky odpovědi bukových sazenic na stres suchem.

Optické parametry budou provázány s biofyzikálními parametry měřenými destruktivně biochemicky a parametry měřené přímo na rostlinách přístrojem MultispeQ za účelem optimalizace optických indikátorů.

1.1 Hypotézy práce

- I. Pro studium odpovědi bukových sazenic na stres suchem jsou vhodně využitelné stresové indikátory – vedle skupiny nespecifických indikátorů stresu (obsah chlorofylu a jeho poměr vůči karotenoidům, obsah prolinu aj.) zejména optické vlastnosti listoví s důrazem na míru odrazivosti, nejčastěji využívané optické vlastnosti v monitorovací praxi.
- II. Mezi třemi skupinami rostlin s odstupňovanou závlivkou od dobrého zásobování po stres suchem v periodách se sníženým objemem přísunu vody se v rámci kombinace vybraných stresových indikátorů vyskytují statisticky signifikantní odlišnosti. Díky tomu budou moci být zvažovány pro monitorování stresu suchem u sazenic buku lesního.

1.2 Cíle práce

Hlavním cílem předkládané diplomové práce je **popis fyziologických odpovědí semenáčů buku lesního (*Fagus sylvatica* L.) na působení stresu suchem** (2 periody sucha v průběhu první experimentální sezóny + 1 perioda sucha v průběhu druhé experimentální sezóny) zjišťované různými přístupy metod biochemických a optických. Dílčí cíle diplomové práce jsou podrobněji rozebrány níže v rámci popisu jednotlivých výzkumných otázek.

Výzkumné otázky:

1. Jak se působení stresu suchem odráží ve fyziologickém stavu semenáčů buku lesního (*Fagus sylvatica* L.) v průběhu působení sucha?

Prvotní reakcí rostlin na působení stresu (v obecném slova smyslu, tato skutečnost neplatí výhradně pro stres suchem) je zastavení růstu, energeticky velmi náročného procesu. Následně dochází k dalším odpovědím rostlin na mnoha úrovních – klesá rychlost fotosyntézy a transpirace, snižuje se také vodivost průduchů či hodnoty vodního potenciálu v xylému. Parametrem, jehož hodnoty vlivem stresového působení naopak stoupají, je například okamžitá účinnost využití vody. V souladu s obecnou platností těchto změn lze očekávat jejich přítomnost také u buku lesního čelícího nedostatku vody. Očekávanými projevy těchto změn jsou statisticky signifikantní změny či tendence k projevu trendů v hodnotách měřených parametrů u bukových semenáčků ošetřených mírnějším či silnějším suchem.

2. Jakou roli v odezvě sazenic buku hraje doba nástupu stresu suchem v rámci vegetační sezóny a předchozí průběh působení stresu suchem? Jak se liší odpověď semenáčů buku na stres suchem navozený v první a druhé experimentální vegetační sezóně (tj. po proběhnuvších suchých periodách a fázích regenerace s plnou závlivkou pro všechny semenáče v předchozím roce)?

Nedostatek vody pro rostliny v letních měsících (letní sucho) je vzhledem ke své provázanosti s globální klimatickou změnou extrémně důležitým a často diskutovaným problémem. Do centra pozornosti se v současnosti dostává také fenomén jarního sucha, které se uplatňuje stále častěji a které může svou přítomností prohloubit účinky sucha v průběhu léta či podzimu. S ohledem na rozdílnou dobu nástupu třech period stresu suchem, ale také rozdílnou dobu trvání působení tohoto stresoru a rozdílnou míru snížení závlivky lze očekávat rozdíly ve fyziologických a biochemických odpovědích bukových semenáčů na působení stresu suchem. Nelze vyloučit ani rozvoj mechanismů stresové paměti. Její existence může zapříčinit odlišné výstupy měření v obou experimentálních sezónách, např. parametrů souvisejících s vodním provozem rostlin.

3. Jak sazenice buku reagují na obnovení plné závlahy po periodě se sníženou či zcela absentující závlivkou?

Lze očekávat, že ve fázi regenerace, čili období s rovnoměrnou závlivkou všem skupinám rostlin po proběhnuvší periodě sucha, dojde k obnovení hodnot měřených parametrů na předstresovou úroveň či se k této úrovni alespoň přiblíží. Je také možné očekávat různou míru této regenerace u různých variant ošetření suchem.

4. Jsou v souladu výstupy měření získané za využití různých metodických přístupů, tedy biochemickými a optickými metodami?

Obsah chlorofylu ve vzorcích listové semenáčků buku lesního byl měřen dvojitým způsobem – informace o relativním obsahu chlorofylu je jedním z parametrů měřených přístrojem MultispeQ, zároveň bylo celkové množství chlorofylu zjišťováno biochemickou metodou zahrnující extrakci chlorofylu v DMF a následné spektrofotometrické stanovení jeho obsahu. Hodnoceny byly také vegetační indexy odvozené z dat odrazivosti vztahující se k obsahu chlorofylu. Lze očekávat, že výsledky měření obsahu chlorofylu odlišnými metodami budou vykazovat obdobné trendy.

5. Lze nalézt vhodné optické indikátory či jejich kombinaci jako vhodný metodický přístup ke studiu problematiky stresu suchem?

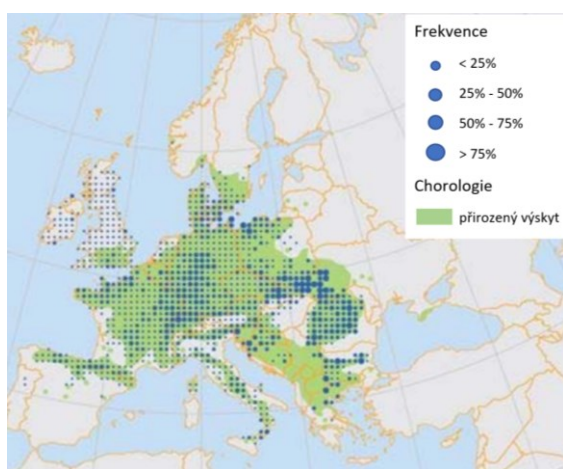
Vzhledem k nedestruktivnosti metody (v případě, že není list použit pro navazující analýzy, jak tomu bylo v této práci a aplikovatelnosti metody na úroveň koruny či porostu) a možnosti posouzení fyziologického stavu sledovaných rostlin před samotným projevem makroskopických změn je spektroskopické měření optických vlastností listové vhodným metodickým přístupem pro studium stresové fyziologie rostlin. Lze tedy očekávat také jeho aplikovatelnost na monitoring změn hodnot měřených parametrů u bukových semenáčků stresovaných suchem ve srovnání s fyziologickým stavem plně zavlažovaných jedinců.

2 Literární přehled

2.1 Buk lesní, jeho rozšíření, podíl ve skladbě lesních ekosystémů a nároky na vodu

Buk lesní (*Fagus sylvatica*, někdy též *silvatica* dle Linné 1753) je v kontextu České republiky původní dřevinou. Její areál se rozpíná na prostoru západní, střední a jižní Evropy. Frekvence zastoupení buku lesního v jednotlivých částech Evropy a v rámci České republiky je znázorněna na obrázku č. 1. Vedle oblastí s převahou buku lesního zachycených na mapě České republiky se buky vyskytují také v dalších vegetačních stupních: bukodubovém, dubobukovém, jedlobukovém a smrkojedlobukovém (www.is.muni.cz, stav k 19.4.2023).

a)



b)



Obrázek č. 1: (a) Chorologická mapa zachycující původní výskyt buku lesního (*Fagus sylvatica*) v Evropě (zeleně), velikost bodů odpovídá výši frekvence zastoupení (upraveno podle Durrant et al., 2016); (b) biogeografická mapa ČR s vyznačenými oblastmi, ve kterých převládá bukový vegetační stupeň (tmavě zelená), světlejší barvou vyznačeny oblasti bukového vegetačního stupně srážkově podnormální (www.is.muni.cz, stav k 19.4.2023).

Podle nejnovějších údajů Ministerstva zemědělství ČR (Zpráva o stavu lesa a lesního hospodářství 2021 dostupná na www.eagri.cz, stav k 19.4.2023) tvoří porosty buku 9,3 % celkové plochy ČR pokryté lesy, což ve srovnání s rokem 1998 představuje nárůst o 3,3 %. Zastoupení smrku ztepilého (*Picea abies* L. Karst.) naopak od roku 1998 do současnosti klesá (z 54,1 na 48,1 %). Tyto trendy jsou v souladu se změnou lesního managementu, která je vzhledem ke smrkovým monokulturám postiženým kůrovcovou kalamitou nevyhnutelná. Následky lesnického hospodaření v minulosti, kdy byl hlavní silou formující podobu lesů ekonomický zisk a s ním související zakládání monokultur ekonomicky výhodné dřeviny smrku bez aspektu jeho stresové odolnosti, jsou i v současnosti patrné a vedly ke snižování druhové rozmanitosti porostů. Ve snaze napravit tyto škody je dnes praktikován opačný proces – návrat k původním, druhově bohatým lesům. Buk se proto, jakožto naše původní dřevina, uplatňuje stále více (viz tabulka č. 1).

dřevina	rok											
	1998	2000	2002	2004	2006	2008	2010	2012	2014	2016	2018	2020
	plocha porostní půdy (%)											
smrk	54,1	54,1	53,8	53,3	53,0	52,4	51,9	51,4	50,7	50,5	50,0	48,8
jedle	0,9	0,9	0,9	0,9	0,9	1,0	1,0	1,0	1,1	1,1	1,2	1,2
borovice	17,6	17,6	17,4	17,3	17,1	17,0	16,8	16,7	16,5	16,4	16,2	16,1
modřín	3,8	3,8	3,8	3,9	3,9	3,9	3,9	3,9	3,9	3,8	3,8	3,9
ost. jehl.	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,3	0,3	0,3	0,3	0,4
jehličnaté	76,5	76,5	76,1	75,5	75,1	74,4	73,9	73,2	72,5	72,1	71,5	70,4
dub	6,3	6,4	6,5	6,5	6,6	6,8	6,9	7,0	7,1	7,2	7,3	7,5
buk	6,0	6,0	6,2	6,5	6,7	7,0	7,3	7,7	8,0	8,3	8,6	9,0
bříza	2,9	2,9	2,9	2,9	2,9	2,8	2,8	2,7	2,8	2,8	2,8	2,8
ost. listn.	7,1	7,1	7,2	7,5	7,7	7,9	8,1	8,2	8,4	8,5	8,7	8,9
listnaté	22,3	22,3	22,8	23,4	23,9	24,5	25,1	25,6	26,3	26,7	27,3	28,2
celkem bez holiny	98,8	98,8	98,8	99,0	99,0	99,0	98,9	98,9	98,7	98,9	98,9	98,5

Tabulka č. 1: Procentuální zastoupení jednotlivých rodů dřevin v českých lesích. Tabulka sestavena na základě Zpráv o stavu lesa a lesního hospodářství z let 1998-2021 (www.eagri.cz, stav k 19.4.2023).

Při srovnání rozlohy současných bukových porostů a plochy, kterou porosty pokrývaly kolem roku 700, však dojdeme ke zjištění, že ačkoliv stoupá zastoupení buku, jde jen o zlomek původního areálu rozšíření (www.europeanbeechforests.org, stav k 19.4.2023). Proces redukce plochy pokryté bukovými porosty je zachycen na obrázku č. 2.



Obrázek č. 2: Mapa Evropy zachycující původní výskyt buku lesního (*Fagus sylvatica*) v roce 700 (vlevo) a v současnosti (vpravo). Převzato z www.europeanbeechforests.org, stav k 19.4.2023).

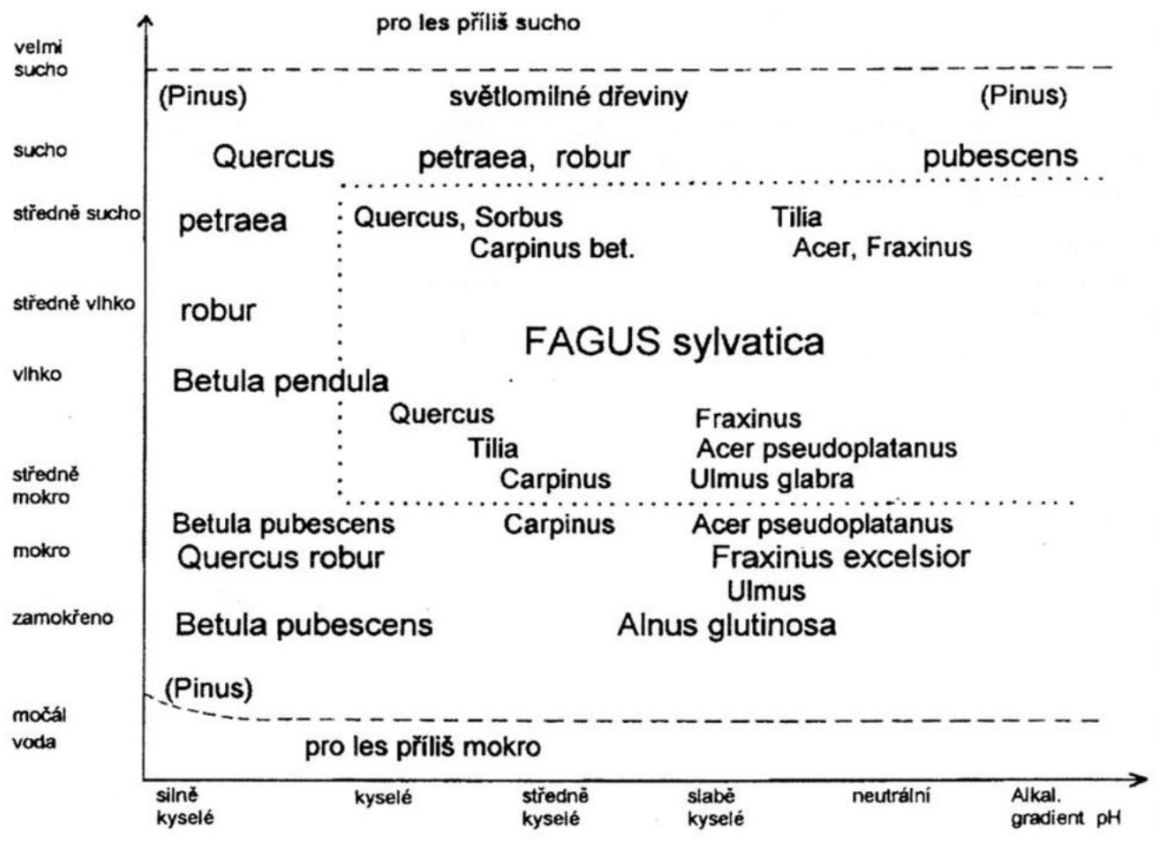
Roku 700 odpovídala plocha bučin 10 % plochy Evropy, současný stav odpovídá pouhým 0,02 % původního areálu rozšíření. Přirozené bučiny se v České republice staly extrémně vzácnými, což např. dokládá také fakt, že z národní přírodní rezervace Jizerskohorské bučiny se roku 2021 stala první česká přírodní památka zařazená na seznam Světového dědictví UNESCO (Plesník, 2022).

Rozdělení rostlinných druhů do skupin se stejnými nároky na ekologické faktory prostředí poskytuje práce německého vegetačního ekologa Heinze Ellenberga (1974), na něj posléze navázal polský ekolog Kazimierz Zarzycki (Zarzycki et al., 2002). Tyto skupiny rostlinných druhů byly vymezeny na základě indikačních hodnot zohledňujících pozici na škále daného faktoru, čili jejich životního optima podél ekologických gradientů (Zelený, 2012). Vedle světla, teploty, kontinentality, půdní reakce, zásobení dusíkem a zasolení je jedním ze zkoumaných parametrů také vlhkost (zamokřenost stanoviště). Tabulka č. 2 představuje 6 kategorií rostlin na základě indikačních hodnot vlhkostních nároků vymezených oběma pracemi. Ellenberg (1974) definuje dvanáctiškálovou stupnici a platí, že se stoupající hodnotou indikační hodnoty se zvyšuje závislost rostlin na zásobení stanoviště vodou. To platí i pro publikaci Zarzycki et al. (2002), ale zavedená škála je pouze šestistupňová.

indikační hodnota		
dle Ellenberga	dle Zarzyckého	
1	1	druhy velmi suchých půd
3	2	druhy suchých půd
5	3	druhy mezických (středně suchých) půd
7	4	druhy vlhkých půd
9	5	druhy zamokřených půd
10-12	6	vodní druhy (druhy močálů a vod)

Tabulka č. 2: Rozdělení rostlinných druhů podle vlhkostních nároků na základě indikačních hodnot. U Ellenbergových indikačních hodnot vynechány přechodové hodnoty (2, 4, 6, 8) a sdruženy hodnoty pro vodní rostliny za účelem zjednodušení. Upraveno podle prací Ellenberg (1974) a Zarzycki et al. (2002).

Na základě Ellenbergovy kategorizace rostlin byl sestaven ekogram, který sumarizuje životní optima jednotlivých druhů dřevin z hlediska zásobování vodou a chemismu půdy (obrázek č. 3). Ze schématu vyplývá, že buk lesní je dřevinou se středními nároky na zásobení vodou (Ellenbergova indikační hodnota rovna 5). Jeho výskyt je nedostatkem vody v prostředí limitován, na těchto lokalitách je nahrazen jinými druhy dřevin, např. duby (*Quercus*).



Obrázek č. 3: Ekogram zachycující nároky různých druhů dřevin na vlhkost a chemismus půdy. Převzato z Kubíková (1999).

Vztah rostlin k hospodaření s vodou je také předmětem konceptu an-/izohydrie. V tomto konceptu se anizohydriční a izohydriční rostliny se liší svou fyziologickou odpovědí na sucho, konkrétně strategií regulace vodního potenciálu listu (Walter, 1931). Pro anizohydriční druhy je typický pokles vodního potenciálu listu s klesajícím vodním potenciálem půdy, kdežto u izohydričních rostlin je vodní potenciál listů relativně stabilní, čehož je dosaženo efektivní kontrolou otevřenosti průduchů (Tardieu a Simonneau, 1998). Při působení stresu suchem a z něj vyplývající ztráty turgoru se skupiny liší hodnotou vodního potenciálu – hodnoty u anizohydričních druhů jsou ve srovnání s izohydričními rostlinami nižší (Leuschner et al., 2019).

Z hlediska této klasifikace lze buk lesní zařadit do skupiny anizohydričních rostlin (Leuschner et al., 2022). Je však nutno zdůraznit, že v současné době probíhá debata o platnosti tohoto konceptu a často je zmiňována skutečnost, že zřejmě nelze rozlišit dvě protikladné kategorie, ale uplatňuje se zde celá škála možných strategií hospodaření s vodou. To platí i pro buk lesní, u něhož byla i přes jeho předpokládanou anizohydriční strategii prokázána schopnost regulace otevřenosti průduchů v reakci na pokles vodního potenciálu (Leuschner et al., 2022).

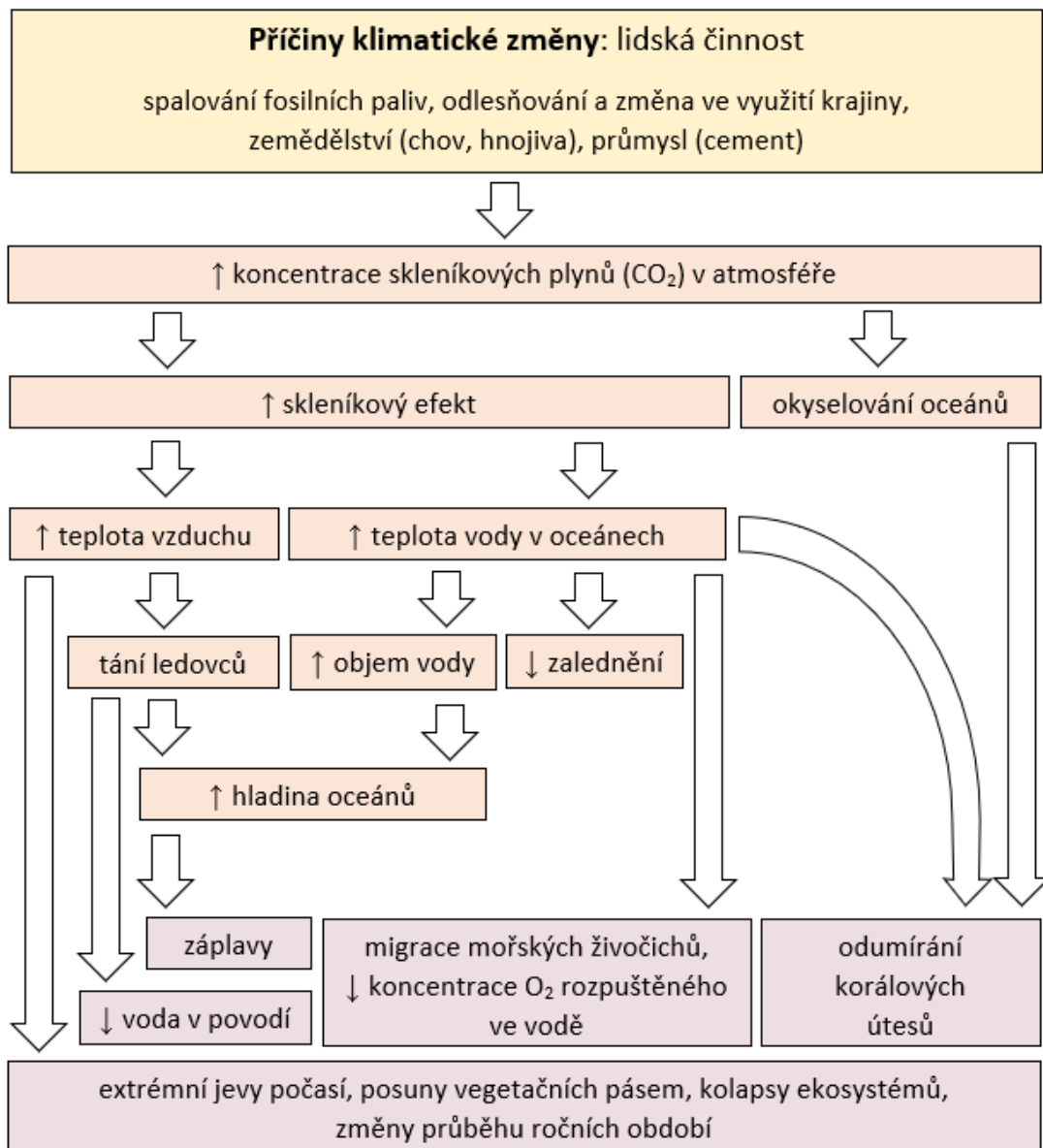
2.2 Klimatická změna

Rámcová úmluva Organizace spojených národů o probíhající změně klimatu, přijatá za účelem ochrany klimatu Země a zamezení globálnímu oteplování, definuje probíhající klimatickou změnu jako „*takovou změnu klimatu, která je vázána přímo nebo nepřímo na lidskou činnost měnící složení globální atmosféry a která je vedle přirozené variability klimatu pozorována za srovnatelný časový úsek*“ (Sands, 1992). Hnacím motorem procesů a jevů, které lze zahrnout pod pojem klimatické změny, je antropogenní aktivita, zmiňovaná již v samotné definici UNFCCC. Globální oteplování, které je předmětem zájmu této úmluvy, je považováno za hlavní projev klimatické změny.

Klimatická změna je důsledkem nárůstu koncentrace skleníkových plynů, čili plynů, které jsou předpokladem fungování skleníkového efektu. Ten je, vzhledem ke své roli v ohřívání povrchu Země, nezbytnou podmínkou života na Zemi, v případě absence tohoto jevu by průměrná roční teplota povrchu Země klesla ze současných 15°C na hodnotu -18°C. Antropogenně způsobený nárůst koncentrace skleníkových plynů má však za následek výrazné zesílení skleníkového efektu atmosféry, které se projevuje oteplováním povrchu Země (www.ipcc.ch, stav k 6.8.2023).

K nejvýznamnějším přirozeně se vyskytujícím skleníkovým plynům lze řadit oxid uhličitý (CO₂), metan (CH₄), oxidy dusíku (dusný N₂O, dusnatý NO, dusičitý NO₂) a ozon (O₃), účinky jsou dále zesilovány proměnlivým obsahem vodní páry (H₂O) v atmosféře. Kromě těchto činitelů však mezi skleníkové plyny spadají také látky ryze antropogenního původu – jde především o halogenderiváty uhlovodíků včetně freonů. Atmosférické plyny, tvořící naprostou většinu objemu atmosféry (dusík, kyslík a argon spolu tvoří 99,96 % objemu atmosféry), tuto schopnost nemají.

Souhrn příčin, dalekosáhlých projevů klimatické změny a jejich dopadů na ekosystémy poskytuje schéma na obrázku č. 4.



Dopady klimatické změny

Obrázek č. 4: Schéma příčin, projevů a dopadů klimatické změny. Žlutě označeny příčiny klimatických změn, oranžově označeny klimatické změny v ekosystémech, fialově označeny dopady klimatických změn na ekosystémy. Upravená verze schématu převzatého z www.faktaoklimatu.cz, stav k 20.5.2023.

2.2.1 Sucho

Přestože je „sucho“ všeobecně známým, hojně používaným a často diskutovaným termínem a obecně jím rozumíme stav nedostatku vody, uvést jeho zcela jednoznačnou a univerzální definici je poměrně komplikované. Tuto skutečnost dokazují i vědecké práce zabývající se problematikou definicí sucha (Wilhite a Glantz, 1985). Rozhodující roli totiž hraje konkrétní úhel pohledu, totiž vědní obor, z něhož problematiku antropogenně nazíráme – sucho totiž ovlivňuje celou řadu složek životního prostředí. Převážná část odborné literatury proto rozčleňuje obsah tohoto pojmu do čtyř základních kategorií (www.intersucho.cz, stav k 15.3.2023):

- 1) Meteorologické (klimatické) sucho je definováno prostřednictvím meteorologických parametrů, nejčastěji jako prostorový a časový deficit srážek. Tento deficit je vztahován ke klimatologickému normálu, sucho je tedy v tomto kontextu chápáno jako záporná odchylka od klimatologického normálu. Deficit srážek vztažený k určitému časovému období však není jediným parametrem, který při posuzování meteorologického sucha vstupuje do hry, nezanedbatelnou roli hraje také intenzita výparu, teplota a vlhkost vzduchu či rychlost větru (Sobíšek, 1993).

V praxi je závažnost meteorologického sucha kvantifikována na základě mnohých indexů sucha, z těch nejvýznamnějších jmenujme SPEI (*Standardized Precipitation Evapotranspiration Index* – rozdíl mezi úhrnem srážek a potenciální evapotranspirací), SPI (*Standardized Precipitation Index* – odchylky srážek od normálu) a PDSI (*Palmer Drought Severity Index* – zohlednění nejen klimatologických, ale i pedologických poměrů v rámci studovaných území velkého rozsahu, a to zejm. v USA, kde byl index zaveden W. C. Palmerem (1965).

- 2) Zemědělské (agronomické, půdní) sucho vychází z uplynulého či stále ještě probíhajícího sucha meteorologického. To se promítá do obsahu vody v půdě – způsobuje její nedostatek, který negativně ovlivňuje zemědělské plodiny pěstované na dané lokalitě (Sobíšek, 1993).

V praxi je závažnost zemědělského sucha kvantifikována na základě modelování sucha v různých hloubkách půdního profilu (0 až 100 cm). V rámci studia zemědělského sucha byly stanoveny půdní hydrolimity, charakteristické hraniční hodnoty půdní vlhkosti, z nichž nejvýznamnější jsou PVK (plná vodní kapacita – maximální vodní kapacita, nasákivost; množství vody vyplňující všechny půdní póry), PKP (polní kapacita půdy – maximální množství vody, které je zadrženo půdou po zalití, tedy vlastními silami oproti působící gravitační síle), BV (bod (trvalého) vadnutí – množství vody v půdě, které je pro rostliny již nedostatečné (spodní limit dostupnosti) a způsobuje jejich vadnutí vlivem poklesu turgoru) a VVK (využitelná vodní kapacita – množství vody, které se udrží

v půdě po delší dobu a které je rostlinami využitelné; rozdíl PKP a BV) (Honzík et al., 2016).

Sucho nemusí znamenat jen fyzický nedostatek vody v půdě, ale také nemožnost rostliny přítomnou vodu z půdy čerpat. Tento fenomén je charakteristický např. pro prostředí se zvýšeným obsahem solí v zasolených půdách, huminových kyselin v rašelinných půdách či permafrostu. Takovýto typ zemědělského sucha, vztažený vždy pro určitý druh rostliny, je definován jako sucho fyziologické (Vitásek, 1996).

- 3) Hydrologické sucho je definováno prostřednictvím hydrologických parametrů, jakými jsou zejm. průtok povrchových toků (určitá doba se sníženou hodnotou oproti dlouhodobým průměrům), hladina podzemních vod a vydatnost vrtů či pramenů (Sobíšek, 1993).
- 4) Socioekonomické sucho je definováno prostřednictvím ekonomických parametrů a vyjadřuje nedostatek vody pro uspokojení lidských a ekonomických potřeb. Je výsledkem působení všech výše zmíněných druhů sucha, čili parametrů meteorologických, zemědělských i hydrologických (Heim, 2002).

Americký geograf a klimatolog C. W. Thornthwaite, autor jedné z globálních klasifikací klimatu (v závislosti na hodnotě tzv. indexu vlhkosti je vymezeno 6-9 klimatických oblastí), nabízí jiný způsob dělení sucha, zohledňující dobu jeho trvání:

- 1) Stálé (permanentní) sucho se projevuje v nejsušších klimatických pásmech s výskytem aridního podnebí (s přihlédnutím k ročním průměrům je charakterizováno převahou výparu nad srážkami). Typicky se jedná o pouštní ekosystémy.
- 2) Sezónní sucho se projevuje v periodicky se opakujícím zřetelném období sucha. Typicky se jedná o monzunové oblasti.

Nahodilé sucho se projevuje nepravidelně, v závislosti na proměnlivosti srážkových úhrnů (Sobíšek, 1993). Doba trvání těchto bezesrážkových epizod se pohybuje v řádu týdnů až měsíců. Jeho výskyt je typický, mimo mnohá jiná území, pro Českou republiku.

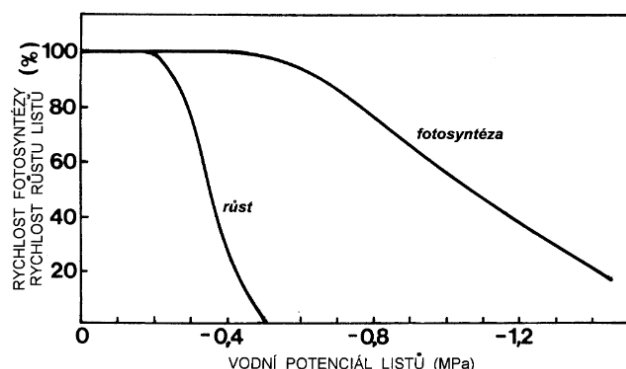
2.3 Stres suchem

Dostatečné zásobení rostlin vodou je vedle světelných a teplotních poměrů stanoviště hlavním abiotickým faktorem ovlivňujícím geografické rozšíření rostlin a podmiňujícím jejich přežití. Vzhledem k tomu, že nedostatek vody pro rostliny se negativně promítá i do výnosů zemědělských plodin, lze tuto problematiku vztáhnout na celou lidskou populaci – počet obyvatel planety neustále stoupá a spolu s ním stoupá i nutnost zajištění potravinové bezpečnosti, čili dostatku zdravotně nezávadných potravin (Prosekov a Ivanova, 2018).

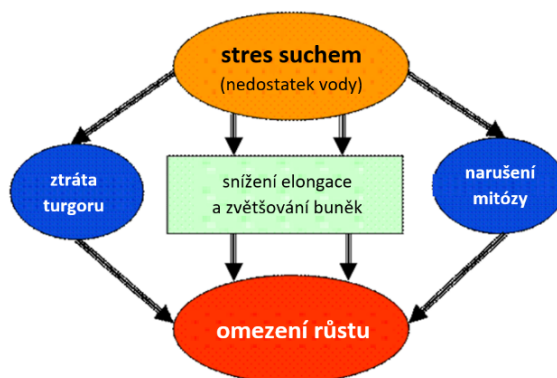
Následující část textu poskytuje obecný vhled do problematiky stresu suchem.

Stres suchem se u rostlin projevuje na mnoha úrovních a i fyziologické odpovědi rostlin na nedostatek vody jsou rozmanité. Vhodným měřítkem pro posouzení míry stresu spojeným se zásobením vodou jsou hodnoty vodního potenciálu (ψ) udávané v jednotkách tlaku (zpravidla MPa). Tato veličina v sobě spojuje hybné síly transportu vody, který probíhá na základě kontinua ψ (tzv. SPAC – z angl. *Soil-Plant-Atmosphere Continuum*) a vyjadřuje stav vody v jednotlivých složkách kontinua. Optimální hodnoty ψ jsou druhově závislé, liší se i v rámci skupin rostlin rozlišených na základě nároků na zásobení vodou (hydrofyta – vodní rostliny, hygropyta – vlhkomilné rostliny, mezofyta – rostliny se středními nároky, xerofyta – suchomilné rostliny). U mezofyt, čili většiny rostlin, lze za hranici mírného stresu suchem považovat hodnotu -0,5 MPa, v rozmezí -0,5 až -1,5 MPa nastává středně silný stres. Za silný stres je považováno překročení hodnoty -1,5 MPa, kdy dochází k poklesu turgoru projevujícím se vadnutím rostlin (Šantrůček, 1998). Vzhledem ke skutečnosti, že plně turgescenční stav buněk je nezbytný pro udržení stálé rychlosti růstu (mezi rychlostí růstu a turgorovým tlakem platí lineární závislost), je zastavení růstu prvotní reakcí rostliny stresované suchem. K vadnutí dochází v tzv. bodě vadnutí a spolu s poklesem rychlosti fotosyntézy se projevuje až s delším časovým odstupem (Honzík et al., 2016) – viz graf na obrázku č. 5 – a. Souvislosti mezi stresem z nedostatku vody a omezeným růstem stresovaných rostlin naznačuje diagram na obrázku č. 5 – b.

a)



b)



Obrázek č. 5: (a) Rozdíly mezi citlivostí růstu a rychlosti čisté fotosyntézy (%) vůči poklesu vodního potenciálu (MPa) u slunečnice, upraveno podle Boyer (1970); (b) schéma zachycující příčiny omezení růstu rostlin za působení stresu suchem, upraveno podle (Jaleel et al., 2009).

Při mírnějším stresu suchem dochází ke změnám v aktivitách enzymů. Klesá např. aktivita nitrátreduktázy, což má za následek zpomalení redukce nitrátů (Foyer et al., 1998). Na druhou stranu stoupá mj. aktivita hydroláz zapříčiňujících štěpení škrobu. S prohlubujícím suchem se také mění zastoupení spektra fytohormonů – roste obsah kyseliny abscisové (ABA) a klesá podíl cytokininů (Salvi et al., 2021). ABA se účastní procesu regulace otevřenosti průduchů – na základě její signalizace se z kořenů rostlin přenáší informace o poklesu turgorového tlaku do nadzemních částí a umožňuje tak zavírání průduchové štěrbin. Tento proces zamezuje ztrátám vody prostřednictvím procesu transpirace, zároveň je však omezena rychlost čisté fotosyntézy díky zamezení přístupu CO_2 (Tombesi et al., 2015).

Na morfologické úrovni se vlivem sucha mění stavba kořenového systému (Anjum et al., 2011). Ten u adaptovaných rostlin dosahuje větších hloubek (např. réva) nebo ploch (např. kaktusy). Mezi další projevy adaptace (či konstitutivní rezistence) lze řadit přítomnost trichomů, kutikuly, hypodermis, sukulenci a umístění průduchů pod úrovní epidermis (zanořené průduchy, někdy umístěné v tzv. kryptách). V rámci evolučních strategií dochází k redukci plochy listových čepelí, které mohou být v extrémních případech přeměněny na trny. Pokud se působení stresu suchem projeví již v době, kdy jsou listy vyvinuty, může dojít k senescenci a opadu listů za účelem snížení transpirační plochy. Tohoto procesu se vedle etylénu účastní již výše zmíněná ABA (Šantrůček, 1998).

Významným způsobem adaptivní rezistence vůči působení stresu suchem je akumulace osmoticky aktivních látek v buněčné šťávě vakuol či v cytoplazmě, jejichž specifickou skupinu tvoří tzv. kompatibilní soluty (osmolyty). Důsledkem uplatnění tohoto tzv. osmotického přizpůsobení je snížení ψ buňky, tedy zvýšení osmotického tlaku v buňce vlivem zvýšení počtu osmoticky aktivních částic a z něj vyplývajícího zvýšení příjmu vody do protoplastu (Chen a Jiang, 2010).

Na úrovni genové exprese v důsledku nedostatku vody je nutno zmínit expresi tzv. genů vodního stresu. V důsledku nedostatku vody dochází k poklesům i nárůstům tvorby četných proteinů a enzymů. Reakce na působení stresu se účastní zejm. stresové proteiny dehydriny (DHN), které mají velmi podobnou funkci jako proteiny LEA (Allagulova et al., 2003). Uplatňují se také, stejně jako v případě stresu zasolením a stresu nízkými teplotami, proteiny indukované dehydratací (v angl. *dehydration-induced proteins*). Společné uplatnění při působení odlišných stresorů lze vysvětlit společnou podstatou těchto stresů, a to dehydratací (Šantrůček, 1998).

Rostliny jsou, jakožto sesilní organismy, z důvodu optimalizace svých fyziologických procesů nuceny vyrovnávat se s fluktuacemi vnějších podmínek. Při pravidelně se opakujícím stresovém působení, tedy i v případě opakujícího se stresu suchem, dochází nejen k epigenetickým, transkriptomickým, proteomickým a metabolickým změnám, ale také ke změnám strukturálním, např. změnám počtu listů, listové hmoty, jejímu poměru vůči kořenům či změnám fotosyntetických struktur (Fleta-Soriano a Munné-Bosch, 2016). Výsledkem těchto procesů je rozvoj tzv. stresové paměti neboli primingu. Bruce et al. (2007) tento proces definují jako sled genetických či biochemických modifikací vyvolaných působením dávek stresového faktoru, které vedou ke zvýšení odolnosti vůči budoucímu působení stresoru. Výsledkem primingu je rychlejší anebo silnější navození mechanismu tolerance vůči působení stresového faktoru, ať už biotické či abiotické povahy (Pastor et al., 2013). Jak zmiňuje práce Yang et al. (2022), v současnosti je porozumění mechanismům stresové paměti stále značně omezené nedostatkem informací. V této studii byla zkoumána stresová paměť po předchozím působení stresu suchem ve smíšené kultivaci buku lesního s jedlí bělokorou (*Abies alba*). Nízké dávky stresu suchem v předchozí experimentální sezóně způsobily zvýšení akumulace listové biomasy buku lesního v následujícím roce. Stresová paměť se projevila také snížením celkového obsahu uhlíku v biomase, pravděpodobně vlivem zvýšení růstu. Naopak nebyl prokázán vliv stresové paměti na obsah dusíku, relativní obsah vody a obsah rozpustných bílkovin. Lze uzavřít, že mechanismy stresové paměti byly u buku lesního vyhodnoceny jako silnější ve srovnání s jedlí bělokorou. Při posuzování mechanismů stresové paměti nelze opomenout ani půdní mikroorganismy, které se zásadní měrou podílejí na celkové resilienci rostlin (Jacques et al., 2021).

2.4 Fyziologické odezvy buku lesního na stresové faktory

V následující části textu budou pojednány projevy a parametry odezvy buku lesního na stres suchem, případně i další doprovodné stresové faktory klimatické změny. Důraz bude kladen na vybrané fyziologické parametry studované v rámci skleníkového experimentu (obsah pigmentů – chlorofylu a karotenoidů, specifická listová plocha, fluorescence, výměna plynů), tak i další metabolické a fyziologické odpovědi buku lesního stresovaného suchem.

2.4.1 Zpomalení či zastavení růstu

Zpomalení či úplné zastavení růstu je nejrychlejší odpovědí na působení stresu. Jedná se o obecnou reakci na celou škálu vnitřních i vnějších faktorů – vedle stresu suchem jsou to např. teplotní a světelné poměry stanoviště, délka vegetační periody, dostatek makroprvků (zejm. dusíku a fosforu) či ontogeneze jedinců a struktura stanoviště, jak bylo pozorováno u opadavých listnatých dřevin (Leuschner a Ellenberg, 2017). Hlavními stresory způsobujícími dlouhodobý pokles růstu buku lesního jsou vysoké letní teploty (Piovesan et al., 2008), pokles objemu letních srážek (Harvey et al., 2019), prohlubující se aridita klimatu (Zimmermann et al., 2015) a pokles relativní vzdušné vlhkosti (Aertsen et al., 2014), tedy jevy neoddiskutovatelně spjaté s probíhající klimatickou změnou. Tyto faktory spolu velmi těsně souvisí – dokladem může být studie autorů Allen et al. (2015), která prokázala silnější fyziologickou odpověď dřevin při společném působení stresu suchem a vysokými teplotami oproti limitaci vody za standardních teplot. Bylo také pozorováno, že vyšší a rychleji rostoucí dřeviny jsou vůči těmto projevům klimatické změny citlivější ve srovnání s nižšími a pomaleji rostoucími druhy evropských listnatých dřevin. V případě silnějšího působení stresu dochází ke zvýšení rizika odumření bukových jedinců (Lakatos a Molnár, 2009). Vysoká mortalita byla v rámci střední Evropy pozorována v letech s velmi suchými léty (Peterken a Mountford, 1966; Berki et al., 2009). Tyto události je však nutné chápat v kontextu ostatních faktorů souvisejících s možnou mortalitou, jakými jsou např. stáří jedinců, působení patogenů či polomy.

2.4.2 Změny na úrovni primárních procesů fotosyntézy

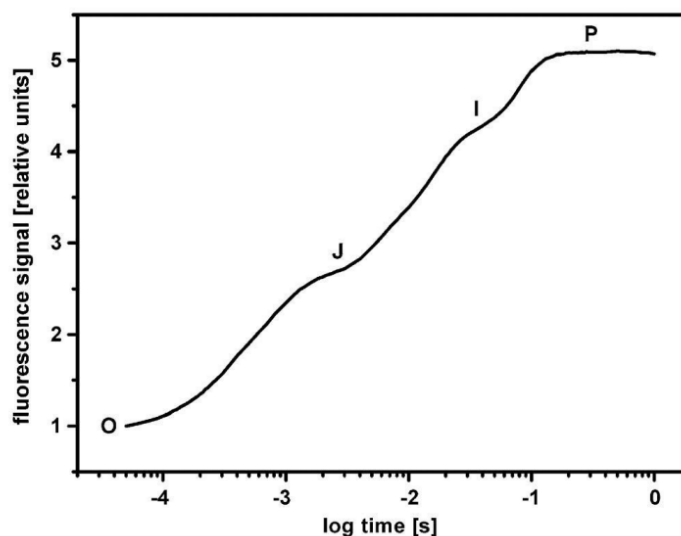
Při studiu fyziologické odpovědi rostlin na působení stresu suchem nelze pominout ani procesy odehrávající se na biochemické úrovni. Zdrojem poznání je především studium fotosyntézy, zejména jejích primárních procesů (fotochemická fáze, někdy též nevhodně označována jako světelná část fotosyntézy). Do této fáze lze řadit absorpci fotonů, separaci elektrického náboje a cyklický či necyklický přenos elektronů v rámci jednotlivých složek fotosyntetického aparátu v thylakoidní membráně plastidů (fotosystém II – PSII, cytochrom b6/f a fotosystém I – PSI propojené mobilními přenašeči elektronů plastochinonem – PQ, plastocyaninem – PC a ferredoxinem). Výsledkem tohoto elektrontransportního řetězce a na něj navázaných reakcí je přeměna světelné energie (energie fotonů) v energii chemickou

(NADH, ATP) ze vzniku molekulárního kyslíku jakožto vedlejšího produktu fotolýzy vody na komplexu vyvíjejícím kyslík – OEC (Nátr, 1998).

Značnou výpovědní hodnotu pro studium stresové fyziologie rostlin má fluorescence chlorofylu. Tento jev nastává po absorpci fotonu dopadajícího na molekulu chlorofylu *a* a spočívá ve zpětném vyzáření (emisi) energie ve formě záření o vyšší vlnové délce (vedle fluorescence může být excitační energie využita ve fotochemických procesech či podléhá disipaci a je přeměněna na energii tepelnou). Jednotlivé osudy excitační energie (tedy fotochemie, fluorescence a disipace) jsou navzájem provázány – platí tedy, že např. zvýšení podílu fotochemie způsobí pokles fluorescence. Ačkoliv fluorescence představuje pouhý zlomek celkové energetické bilance (1-2 % celkového množství absorbované energie), je vzhledem ke své citlivosti a snadnosti měření vhodným nástrojem k pozorování změn ve fotosyntetickém aparátu (Maxwell a Johnson, 2000).

Z hlediska zisku informací o využití excitační energie v PSII je vhodné studium indukční kinetiky fluorescence chlorofylu, která je vysoce citlivá vůči působení stresových faktorů. Jednou z těchto metod je rychlá indukční kinetika, která je založena na přechodu fluorescence chlorofylu po krátkém ozáření rostliny adaptované na tmou.

Charakteristickým výstupem je tzv. OJIP křivka (viz obrázek č. 6).



Obrázek č. 6: Typický průběh vícefázové křivky OJIP – závislost fluorescenčního signálu na době uplynulé od světelného pulzu aplikovaného na rostlinu adaptovanou na tmou. O = počátek (origin), základní hladina intenzity fluorescence; J, I = krátkodobé rovnovážné stavy související s excitační energií v PSII (vklad energie do PSII + tok energie z PSII prostřednictvím chinonů a jiných akceptorů); P = vrchol (peak), maximální hladina intenzity fluorescence. Převzato z Lazár a Jablonský (2009).

Tvar OJIP křivky se může v závislosti na působících stresových faktorech (vysoká teplota, sucho) měnit. Právě tyto dva zmíněné stresory jsou často studovány společně – kombinovaný účinek sucha a vysokých teplot na buk lesní byl sledován např. v rámci studie

autorů Pšidová et al. (2018), jejíž autoři se ve své práci věnovali vlivu působení vysokých teplot a sucha na 19leté jedince buku lesního v pěti oblastech s různou nadmořskou výškou. Altitudinálně závislými se ukázaly fotochemické reakce PSII, kdežto pokles vodivosti průduchů a rychlosti čisté fotosyntézy sejevily ve všech oblastech obdobné. Prostředí vyšší nadmořské výšky jsou také hnacím motorem pro evoluci efektivnější fenotypové plasticity související s fotoprotekcí, čili dlouhodobou adaptací k horským podmínkám. Táž autorka již ve své dřívější studii (2005) potvrdila, že změny fotosyntetických vlastností vlivem sucha jsou závislé na původu bukových semenáčků – nejvýraznější pokles fotochemických reakcí v PSII byl pozorován u rostlin pocházejících z mírně teplých oblastí (625 m n. m.).

Typickým projevem jsou dále změny týkající se výměny plynů, které jsou zprostředkovány změnou vodivosti průduchů. Bylo prokázáno, že při působení středního až silného stresu vlivem nedostatkem vody klesá vodivost průduchů o 80-85 %, v důsledku čehož dochází k poklesu rychlosti čisté fotosyntézy (Gebauer et al., 2020). Denní maxima vodivosti listů v osluněné části koruny buku se standardně pohybují okolo hodnoty 100-300, maximálně pak $400 \text{ mmol m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ (Tognetti et al., 1995). Při působení silného stresu suchem však hodnoty listové vodivosti klesají i pod $30 \text{ mmol m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, tyto hodnoty byly po dobu několika týdnů zaznamenány v průběhu extrémně suchého léta roku 2003 (Ciais et al., 2005). Nezanedbatelnou roli hraje také výskyt dalších dřevin na stanovišti – v případě spoluvýskytu buku lesního s dubem zimním (*Quercus petraea*), habrem obecným (*Carpinus betulus*), lípou srdčitou (*Tilia cordata*) a jasanem ztepilým (*Fraxinus excelsior*) jsou hodnoty listové vodivosti vyšší (Backes a Leuschner, 2000; Aranda et al., 2005; Köcher et al., 2009). Při snížení dostupnosti vody klesá také rychlost transpirace (Fotelli et al., 2001). Studie autorů Hájíčková et al. (2017) prokázala, že v případě působení stresu nedostatkem vody na semenáčky buku lesního dochází k poklesu transpirace, nikoliv však k morfologickým či anatomickým změnám. Snížená transpirace rostlin stresovaných suchem se po 3 dnech od konce periody sucha vrátila na úroveň rostlin, které nebyly nedostatku vody vystaveny.

Respirace u rostlin pěstovaných za mírného až středního sucha klesá, její podíl stoupá jen za silného sucha, kdy jsou nastartovány mechanismy tolerance vůči působení sucha. Tyto procesy byly pozorovány jak na úrovni experimentu se semenáčky buku (Rodríguez-Calcerrada et al., 2010), tak i u stromů v přirozených podmínkách evropských lesů (Ciais et al., 2005).

Sucho ovlivňuje také procesy odehrávající se v rámci metabolismu cukrů. Studie autorů Pflug et al. (2018) prokázala u bukových semenáčků potýkajících se s nedostatkem vody změny v koncentraci sacharidů – došlo k nárůstu koncentrace rozpustných nestrukturních sacharidů, kdežto koncentrace škrobu vlivem stresu suchem poklesla. Nestrukturní sacharidy (zejména pak glukóza, fruktóza, rafinóza a sacharóza) se hromadí prakticky ve všech částech rostlin – v listech, větvích, kmenech i kořenech (Leuschner, 2020). Slouží k lepšímu vypořádání se se stresem z nedostatku vody, roli hrají také v osmotickém přizpůsobení (O'Brien et al., 2014). Po znovuzavedení přísunu závlivky v rámci experimentu

s bukovými semenáčky koncentrace škrobu opět vzrostla, stejně tak i rychlost čisté fotosyntézy, která se vlivem sucha snížila – tento mechanismus pravděpodobně představuje částečnou kompenzaci suchem snížené rychlosti fotosyntézy. Toto snížení lze klást do souvislosti se snížením mezibuněčné koncentrace CO₂ vlivem nedostatku vody a experimentálně jej lze prokázat hromaděním izotopu ¹³C hromadícího se v rozpustných sacharidech (Pflug et al., 2018). Koncentrace nestrukturních sacharidů naopak po obnovení zásobení rostlin vodou klesá (Ruehr et al., 2019).

2.4.3 Změny koncentrace prolinu

Spolu se zvýšením koncentrace výše jmenovaných rozpustných cukrů dochází vlivem stresu suchem také ke zvýšení koncentrace prolinu, případně také jiných aminokyselin. Fotelli et al. (2002) prokázali hromadění těchto látek v kořenech buků, kde se vedle osmotického přizpůsobení podílí také na udržení integrity membrán a stabilizaci proteinových struktur. Stejných výsledků dosáhly také jiné studie, která prokázaly akumulaci prolinu v jemnějších kořenech vzrostlých jedinců buku. Knuzten et al. (2015) dospěli k závěru, že osmotické přizpůsobení se za působení stresu suchem neprojeví v listovní měřených buků, opačné výsledky však přinesla studie Ao et al. (2023) – za podmínek vodního stresu stoupla koncentrace volného prolinu u rostlin buku (*Fagus crenata* – buk vroubkovaný, někdy též nazýván japonský buk) pocházejících ze 2 různých lokalit. Koncentrace flavonoidů naopak nepodlehla vlivem sucha žádným změnám.

2.4.4 Změny sekundárního metabolismu

Z hlediska sekundárního metabolismu se působením sucha nastartovávají dráhy vedoucí k tvorbě sekundárních metabolitů, které rostlinám napomáhají v boji se stresovými faktory. Karotenoidy, doprovodné pigmenty molekul chlorofylu, umožňují disipaci nadměrné světelné energie v anténách komplexech fotosystémů. Účastní se tedy odpovědi na stres nadměrnou ozářeností a suchem. Děje se tak prostřednictvím vratných změn jednotlivých forem karotenoidů-xantofylů (violaxantin, anteraxantin, zeaxantin) v rámci xantofylového cyklu (Demmig-Adams a Adams, 1992). Ve srovnání s jinými druhy dřevin je pro buk lesní charakteristická nižší koncentrace xantofylů vůči koncentraci chlorofylu, např. u dubů (*Quercus*) a jasanů (*Fraxinus*) je koncentrace molekul xantofylů 2-3x vyšší (Kutsch et al., 2009). Významná je také produkce zhášečů reaktivních forem kyslíku (ROS), které se tvoří v reakci na stres suchem, nadměrným ozářením či vysokými teplotami (Price et al., 1989). S posledním jmenovaným stresorem souvisí také produkce biogenních volatilních organických látek (BVOC), které jsou emitovány za účelem ochrany fotosyntetických aparátů. V případě buku lesního byly pozorována emise izoprenu z listů, stonků i kořenů (Leuschner, 2020). Vylučovány jsou v menší míře také monoterpeny, a to jak z dospělých jedinců (Dirndorf et al., 2006), tak i ze sazenic – výsledky studie autorů Simpraga et al. (2011) prokázaly nárůst emise monoterpenů v prvních 10 dnech působení stresu suchem a následný pokles jejich koncentrace. Spektrum BVOC se liší v závislosti na srážkových

poměrech stanoviště, prokázána byla převaha α -pinenu a limonenu v sušších lokalitách, kde působí toxicky na patogeny a herbivory (Mattson a Haack, 1987).

2.4.5 Změny specifické listové plochy

Specifická listová plocha (SLA) se dle výsledků studie Knutzen et al. (2015) vlivem sucha u buku lesního nemění. K témuž závěru došli i autoři práce Liu et al. (2017), kteří vedle ošetření suchem zkoumali také vliv pH půdy – přírůstky prýtu a SLA byly statisticky signifikantně ovlivněny půdními podmínkami, zatímco přírůstky stonku byly ovlivněny závlivkovým režimem (interakce obou faktorů prokázána nebyla). Jiné studie zahrnující nádobové experimenty ve sazenicích pod vlivem působení sucha však přinášejí výsledky opačné – celková listová plocha, průměrná velikost listu i SLA se sníženou dostupností vody klesají (Khalil a Grace, 1992). Je však nutno zdůraznit, že tato studie byla provedena za využití semenáčků javoru klenu (*Acer pseudoplatanus*), tedy na rozdíl od buku rostliny izohydrické.

Prokázány byly u buku morfologické změny koruny spojené se změnou hodnot SLA – svrchní vrstvy koruny jsou tvořeny menšími listy slunného typu, které mají nižší SLA a obsah dusíku. Mají sníženou fotosyntetickou kapacitu, vykazují dřívější senescenci a fungují jako jakási bariéra proti průniku nadměrného ozáření hlouběji do koruny (Kutsch et al., 2009).

2.4.6 Změny v zásobenosti živinami

Se zásobením rostlin vodou dochází k poklesu příjmu živin, jak dokládají práce zabývající se především příjmem dusíku (Fotelli et al., 2002). Roli hraje také pokles mikrobiální aktivity a amonifikace (Beier et al., 2008). Sucho zároveň negativně ovlivňuje kořeny kolonizované mykorrhizními houbami, což deficit dusíku dále prohlubuje (Gessler, 2004). Neoddiskutovatelný je pozitivní vliv ektomykorrhizy na zlepšení přísunu fosforu mykorrhizovaným rostlinám (Smith a Read, 2008), v případě zlepšení vodní bilance jsou však výsledky studií méně jednoznačné. Vliv na lepší přísun vody prostřednictvím mykorrhizy (zvětšení povrchu, exprese akvaporinů) je pravděpodobně jen slabý, prokázána však byla změna morfotypů a druhového složení ektomykorrhizních hub (Nickel et al., 2018).

2.4.7 Další faktory klimatické změny a jejich projevy

2.4.7.1 Zaplavení

Klimatická změna se kromě sucha projevuje také zvýšením četnosti a intenzity period záplav, a to zejména v jarním období. Na podmáčených a zaplavených lokalitách dominují druhy dřevin lépe adaptované těmto podmínkám, např. duby (*Quercus*). Buk je v tomto kontextu považován za dřevinu citlivou (Ellenberg, 1974). V případě zaplavení dochází k poškození nadzemních částí rostlin, vzniku nekrotických lézí, poškození borky a při dlouhodobém či intenzivním působení stresoru může dojít i k odumření. Tyto podmínky jsou příznivé pro rozvoj houbových onemocnění. U semenáčků bylo prokázáno snížení tvorby biomasy,

velikosti listové plochy a růstu kořenů a pupenů (Dreyer, 1994). S nadbytkem vody souvisí i vznik anoxického prostředí, které je dalším negativním dopadem působení tohoto stresoru.

2.4.7.2 Zvýšená koncentrace CO₂

V případě zvyšování koncentrace CO₂ v atmosféře zůstává při hodnocení vlivu na rostliny buku lesního stále mnoho otázek nezodpovězeno. Většina experimentů je totiž prováděna na semenáčcích za kontrolovaných podmínek, které se od podmínek v přirozených porostech buku v mnoha ohledech liší (Gessler, 2006). Obecně lze u rostlin rostoucích za zvýšené koncentrace CO₂ v atmosféře pozorovat nárůst rychlosti fotosyntézy a z ní vyplývajícího přírůstu biomasy, nicméně tento nárůst mezisezónně fluktuuje a závisí na konkrétním rostlinném druhu (Medlyn et al., 1999). Na úrovni listu dochází k nárůstu efektivity využití vody (Water Use Efficiency, WUE), index listové plochy (Leaf Area Index, LAI) se patrně naopak snižuje. Při společné kultivaci se smrkem ztepilým (*Picea abies*) na kyselém substrátu byl pozorován pokles růstu buku vzhledem ke smrku, kdežto kultivace na zásaditém substrátu přinesla opačné výsledky, tedy nárůst růstových parametrů u buku oproti smrku (Spinnler et al., 2002). Za zvýšené koncentrace CO₂ byla pozorována i proliferace růstu jemných kořenů, což může představovat mechanismus kompenzující narušení růstu nadzemních částí rostliny, a to zejména v prostředí limitovaném nedostatkem dusíku (Schmidt a Kazda, 2001). Lze tedy shrnout, že konkrétní projev zvyšování koncentrace CO₂ se odvíjí od druhu rostliny a podmínek v dané sezóně, nezanedbatelnou roli hraje také interakce environmentálních faktorů a v neposlední řadě i typ podloží a vlastnosti půdy.

2.5 Optické vlastnosti listoví

Fotosynteticky aktivní složka slunečního záření se po dopadu na povrch (např. list) z převážné většiny pohltí, absorbuje (zhruba 70 % dopadajícího elektromagnetického záření). Zbylých 30 % se zhruba stejnou měrou účastní transmitance (prostupu záření objektem) a reflektance (odrazu záření od povrchu).

Platí to však pouze v oblasti viditelné, fotosynteticky aktivní části spektra, jelikož v oblasti blízkého infračerveného záření (NIR) narůstá odrazivost až na 40 % a absorbance zásadně klesá.

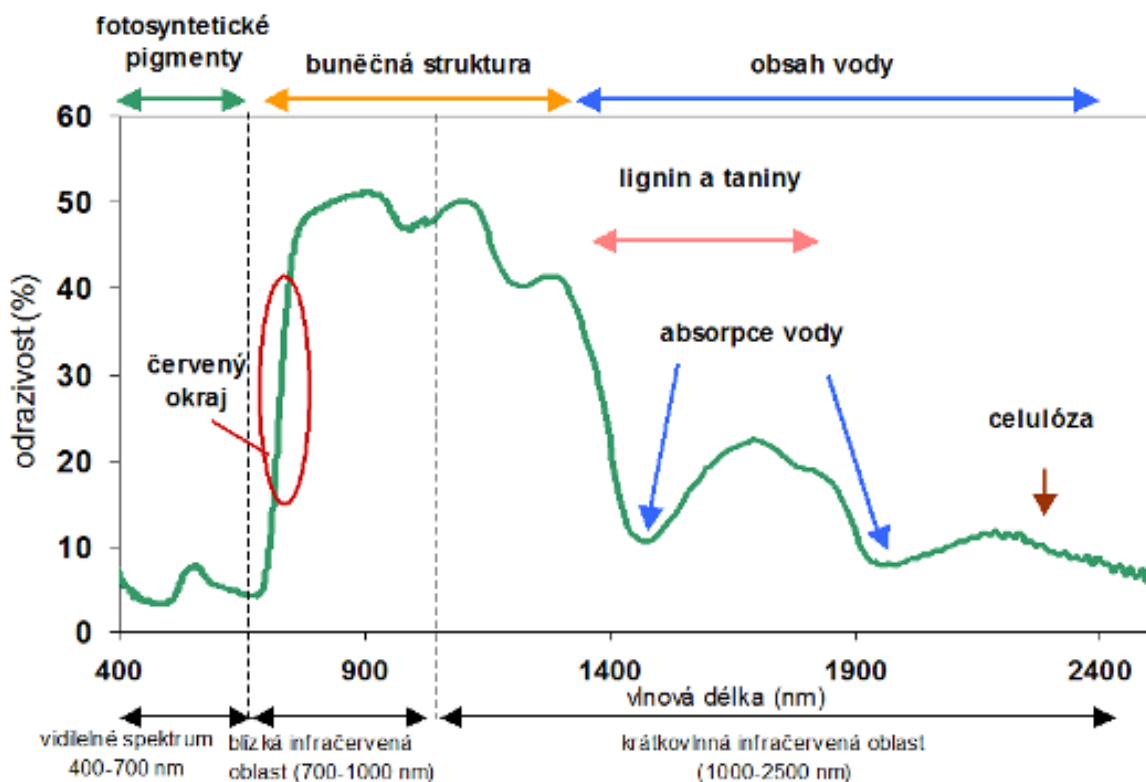
Zejména odrazivost může být sledována v rámci měření optických vlastností, které z hlediska rostlinné biologie poskytuje informaci např. o druhovém složení porostu či jeho fyziologickém stavu. Jedná se tedy o velice vhodný přístup ke studiu stresové fyziologie rostlin.

Pro potřeby této diplomové práce bylo využito tzv. laboratorní spektroskopie využívající bodového měření, jejímž výstupem jsou spektrální křivky odrazivosti znázorňující spektrální chování měřeného povrchu. Z povahy spektrálního rozlišení bylo v diplomové práci využito hyperspektrálních dat (2150 spektrálních pásem o šířce 1 nm), při využití odrazivosti v dálkovém průzkumu vegetace jsou často využívána i data multispektrální (méně širších spektrálních pásem). Spektrální chování se liší v závislosti na sledovaném povrchu, lze

tak od sebe odlišit např. holou půdu a půdu pokrytou vegetací. Nespornou výhodou využití hyperspektrálních dat je fakt, že zhoršený fyziologický stav studovaného materiálu lze pozorovat před vznikem makroskopických projevů indikujících stres u rostlin (Albrechtová et al., 2017).

Informace o spektrálních vlastnostech listové vrstvy lze využít na různých prostorových úrovních – od úrovně buněčných organel přes úroveň buněk, pletiv, orgánů a celých rostlin až po ekosystémovou úroveň. Studium na vyšších hierarchických úrovních se zabývá dálkový průzkum Země, senzory pro měření optických vlastností jsou nesené kvadrikopty (drony), letadly či družicemi (Schaeppman et al., 2009), což však nebylo předmětem výzkumu této diplomové práce.

Obrázek č. 7 zachycuje křivku odrazivosti vegetace. V oblasti viditelného záření (350-750 nm) jsou patrná absorpční minima způsobená přítomností fotosyntetických pigmentů, zejm. chlorofylů. Pro oblast blízkého (750-1200 nm) a krátkého (1200-2500 nm) infračerveného záření jsou charakteristické vysoká odrazivost vlivem přítomnosti buněčných struktur listu (zejm. v oblasti tzv. červeného okraje – 700-800 nm) či biopolymerů (lignin, celulóza) a absorpční pásy vody.



Obrázek č. 7: Spektrální křivka odrazivosti vegetace. Upraveno podle Gates et al. (1965).

Fyziologický stav studovaných rostlin lze hodnotit také na základě algebraických operací s naměřenými hodnotami odrazivosti v pásmu červeného (600-700 nm) a blízkého infračerveného záření (700-900 nm), jejichž výstupem jsou tzv. vegetační indexy (VI). Poměr

odrazivosti v pásmech záření může být buď jednoduchý (např. jednoduchý poměrový vegetační index RVI – z angl. *Ratio Vegetation Index*), nebo normalizovaný (např. normalizovaný diferenční vegetační index NDVI – z angl. *Normalized Difference Vegetation Index*), příp. transformovaný (např. transformovaný vegetační index TVI – z angl. *Transformed Vegetation Index*). Výhodami práce s daty ve formě VI jsou zvýraznění vlastností vegetační složky na základě znalosti hodnot odrazivosti (zvýšení citlivosti pro posouzení fyziologického stavu vegetace) a eliminace nežádoucích vstupů vnějších činitelů, např. atmosférických podmínek (Gao et al., 2020).

West et al. (2022) se ve své studii věnovali monitoringu dopadů sucha na bukové porosty v biosférické rezervaci Rhön ve středním Německu za využití vegetačních indexů NDVI a SPEI. Informace byly získány prostřednictvím satelitů MODIS, Landsat a Sentinel-2. Každý ze tří přístupů je nejlépe aplikovatelný na jinou škálu – např. data ze Sentinel-2 jsou vhodná ke studiu na úrovni korun stromů, kdežto MODIS na úrovni zápoje celé lesní plochy. Z této skutečnosti vyplývá fakt, že ideálním přístupem je kombinace různých typů senzorů pro získání uceleného obrazu o časovém a prostorovém vývoji sucha. V letech 2003 a 2018, kdy bylo sucho velmi intenzivní, byly hodnoty NDVI v srpnu a září nízké, což odpovídá nižšímu zastoupení vegetace na studované ploše či nižšímu obsahu chlorofylu přeživších rostlin. Nízké byly také hodnoty SPEI, v srpnu 2018 se pohybovaly kolem hodnoty -1,5. Autoři však zdůrazňují citlivost vůči načasování získání obrazových dat – sucho v roce 2018 dosáhlo vrcholu v červenci, ale hodnoty NDVI neklesaly až do srpna 2018, což demonstruje jistá úskalí při hodnocení vlivu sucha na porost.

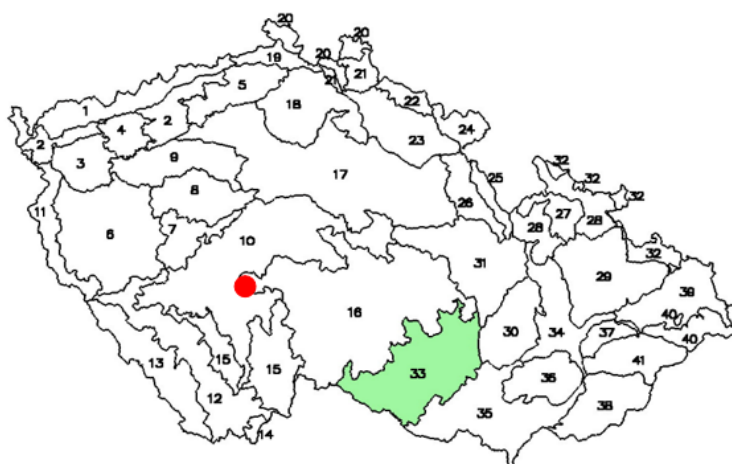
Vzhledem k velkému množství VI byl výběr konkrétních indexů pro potřeby diplomové práce proveden na základě předchozích zkušeností laboratorního týmu a četnosti výskytu konkrétních indexů ve studiích stejné problematiky (viz výsledková část práce). Souhrn VI poskytuje www.indexdatabase.de (stav k 9.8.2023).

3 Materiál a metodika

3.1 Materiál

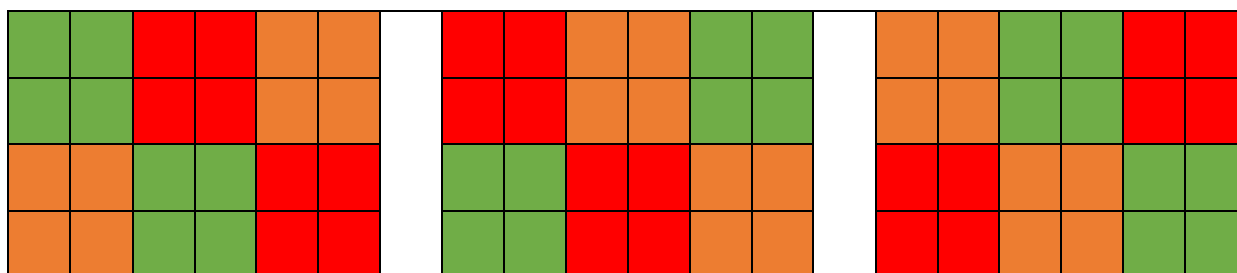
Experimentálním materiálem byly sazenice buku lesního (*Fagus sylvatica* L.) s evidenčním číslem CZ-2-2B-BK-3334-33-4-B.

Rostliny pocházely z lesní školky Staňkov u Milevska – Sepekov (Lesní školky Burda). Semenný materiál byl selektován z uznaného porostu. Z hlediska rozčlenění území České republiky do 41 přírodních lesních oblastí (proveniencí), čili oblastí s charakteristickými podmínkami prostředí (klimatickými, fyto geografickými, geologickými, orografickými aj.), lze za místo původu materiálu považovat oblast 33 – Předhoří Českomoravské vrchoviny.



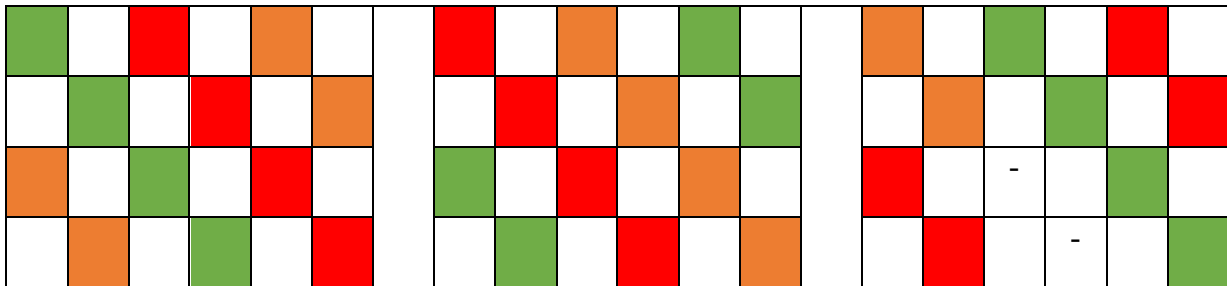
Obrázek č. 8: Mapa přírodních lesních oblastí, Předhoří Českomoravské vrchoviny vyznačeno zeleně. Staňkov u Milevska vyznačen červeným bodem. Převzato z www.uhul.cz (stav k 6.5.2023) a upraveno.

Rostlinný materiál v podobě půlročních semenáčků byl zakoupen v květnu 2020. Semenáčky byly poté přesazeny do kontejnerů o objemu 6 litrů. Kontejnery byly vyplněny substrátem pro kontejnerové dřeviny. Následně byly nádoby s rostlinami umístěny do experimentálního skleníku Přírodovědecké fakulty UK, kde setrvaly až do doby ukončení skleníkového pokusu. Rozmístěny byly celkem do tří bloků, v rámci každého bloku byly rostliny stejného ošetření seskupeny vždy do dvou čtveřic (viz obrázek č. 9). Toto prostorové rozmístění trvalo do 21.6.2022.



Obrázek č. 9: Blokový experimentální systém před reorganizací; zelená = kontrola, oranžová = mírné sucho, červená = sucho.

V průběhu sezóny 2022 bylo vzhledem ke zvýšené mortalitě sazenic přistoupeno k vyloučení zhruba poloviny rostlin z experimentu a reorganizaci kontejnerů za účelem maximálního využití uvolněného prostoru (obrázek č. 10).



Obrázek č. 10: Blokový experimentální systém po reorganizaci; zelená = kontrola, oranžová = mírné sucho, červená = sucho.

Přísun vody experimentálním rostlinám byl zajištěn prostřednictvím metody kapkové závlahy (obrázky č. 11 a 12). Rozdělení zavlažovacího systému do větví a možnost nastavení objemu a časování závlahy bylo nezbytnou podmínkou pro paralelní zavlažování experimentálních rostlin rozdělených do tří skupin (ošetření) lišících se různou mírou zásobování půdy vodou (tj. kontrola, mírné sucho, sucho).

a)



b)



Obrázek č. 11: Větvě zavlažovacího systému (označeny šipkami – barevné značení odpovídá barevnému značení ošetření: zelená = kontrola, oranžová = mírné sucho, červená = sucho) na obou stranách experimentálního systému – připojení ke zdroji vody (a; fotografováno na konci vegetační sezóny 2021), slepé zakončení (b; fotografováno po reorganizaci porostu v průběhu sezóny 2022). Foto O. Červenka.



Obrázek č. 12: Celkový pohled na třetinu experimentálního systému; z větví zavlažovacího systému vycházejí hadičky zakončené jehlami, které zajišťují zásobování jednotlivých květináčů vodou. Foto E. Neuwirthová.

Do dubna 2021, kdy byla spuštěna kapková závlaha zohledňující různé závlahové nároky, byly sazenice buku zavlažovány rovnoměrně. Po vyrašení listů následovalo období simulace jarního sucha, kdy byl snížen objem zálivky u rostlin ošetřených mírným a silnějším suchem, třetí skupina rostlin měla kontrolní úlohu a objem její zálivky zůstal oproti předchozím zachován vyšší. Perioda sucha sestávala ze dvou fází – dva týdny od jejího zahájení byla intenzita sucha prohloubena dalším snížením objemu zálivky. K tomuto kroku bylo přistoupeno za účelem silnější fyziologické odpovědi studovaných rostlin na stres suchem. Po 6 týdnech byla obnovena plná zálivka, tato regenerační fáze trvala deset týdnů a byla opět přerušena periodou snížení objemu zálivky v září 2021 simulující pozdní sucho. Během této fáze nebyl přísun vody pro rostliny pěstované za sucha přerušen úplně, její objem byl však výrazně snížen. S koncem periody sucha v říjnu 2021 byla obnovena plná zálivka trvajícím až do srpna 2022, kdy bylo přistoupeno ke třetí, poslední suché periodě. Ta trvala zhruba měsíc a v září 2022 byla obnovena plná zálivka pro všechny skupiny rostlin.

Časový harmonogram závlahového režimu je spolu s objemem dodávaného množství vody shrnut v tabulce č. 3.

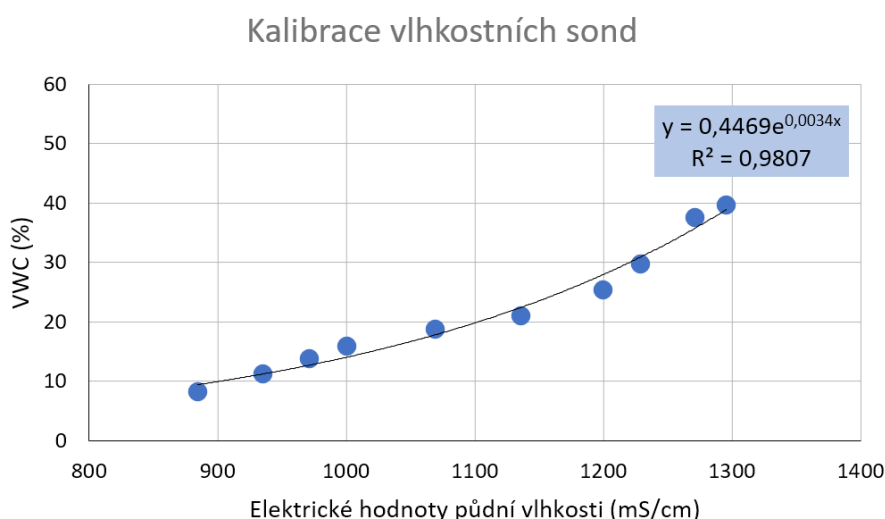
datum	ošetření	časový interval mezi zálivkami (dny)	objem zálivky (ml)	
Experimentální sezóna 2021				
do 22.4.2021	bez rozlišení			rovnoměrná zálivka
22.4. – 7.5.	sucho	5	100	perioda sucha
	mírné sucho	4	150	
	kontrola	2	200	
7.5. – 9.6.	sucho	0	0	
	mírné sucho	4	50	
	kontrola	2	100	
9.6. – 1.9.	bez rozlišení			rovnoměrná zálivka (regenerace)
1.9. – 21.10.	sucho	4	50	perioda sucha
	mírné sucho	2	50	
	kontrola	2	150	
21.10. – 31.12.2021	bez rozlišení			rovnoměrná zálivka
Experimentální sezóna 2022				
do 8.8.2022	bez rozlišení			rovnoměrná zálivka
8.8. – 1.9.	sucho	5	300	perioda sucha
	mírné sucho	3	500	
	kontrola	1	1000	
od 1.9.2022	bez rozlišení			rovnoměrná zálivka

Tabulka č. 3: Přehled nastavení režimu zálivky. Tučně zvýrazněna ošetření rostlin lišící se objemem dodávané vody.

3.2 Metodika

3.2.1 Měření půdní vlhkosti a teploty okolního prostředí

Vlhkost substrátu byla měřena prostřednictvím kapacitních vlhkostních sond WaterScout SM100 Soil Moisture Sensor (Spectrum Technologies, Inc., USA) připojených k datalogeru RailBox a umístěných do substrátu v kontejnerech s experimentálním materiálem. Výstupními daty jsou elektrické hodnoty půdní vlhkosti, tedy hodnoty kapacitance. Pro převod naměřených hodnot na vhodnější hodnoty objemové vlhkosti substrátu (VWC, z angl. *Volumetric Water Content*) byla provedena gravimetrická kalibrace substrátu – plně nasáklý substrát byl pravidelně vážen, hmotnostní úbytek zaznamenáván a následně byla sestrojena kalibrační křivka s exponenciální spojnicí trendu zachycená na obrázku č. 13. Dosazením elektrických hodnot do kalibrační rovnice pak byly zjištěny hodnoty VWC.



Obrázek č. 13: Kalibrační křivka sestrojena za účelem převodu elektrických hodnot půdní vlhkosti (kapacitance; mS/cm) na hodnoty objemové vlhkosti substrátu (VWC; %).

Od 2.6. do 20.7.2021 byly s ohledem na paralelně probíhající experiment k dispozici pouze 3 vlhkostní sondy, které byly pravidelně rozmístěny mezi skupiny rostlin, tedy pro každé ošetření vždy 1 sonda. Od 23.9.2021 byla až do doby ukončení skleníkového experimentu (30.9.2022) intenzita závlivky měřena prostřednictvím 12 sond rovnoměrně rozmístěných do kontejnerů 3 skupin experimentálního materiálu. V průběhu tohoto období byla třikrát provedena reorganizace rozmístění půdních vlhkostních sond pro větší zachycení variability materiálu. Obsah půdní vody byl zaznamenáván pravidelně 1x za hodinu.

Objem závlivky dodávané jednotlivým skupinám v periodách sucha (tedy v periodách s odstupňovanou závlivkou ve srovnání s rovnoměrnou závlivkou ve fázích regenerace) je zaznamenán v tabulce č. 3.

Měřena byla také teplota okolního prostředí, a to prostřednictvím teplotního a vlhkostního datalogeru LOG32 TH s USB výstupem (Dostmann, Německo). Hodnoty byly posléze provázány s výstupy měření půdní vlhkosti.

3.2.2 Spektrofotometrické stanovení obsahu fotosyntetických pigmentů

Obsah fotosyntetických pigmentů byl stanoven v obou experimentálních sezónách. Metoda spektrofotometrie je založena na měření absorbance, čili té části spektra, která je pohlcována při průchodu světelného paprsku kyvetou se vzorkem, a to v předem nastavitelných hodnotách vlnové délky. Výstupy ze spektrofotometru mohou být následně využity pro výpočet obsahu pigmentů v extraktu (v ug/ml).

Pomocí korkovrtu byly odebrány vzorky pro extrakci fotosyntetických pigmentů – kruhové výseče listové plochy o velikosti 0,67 cm² z oblasti mimo hlavní listovou žilku. Vzorky byly vloženy do Eppendorfových zkumavek a následně uchovávány v mrazáku až do doby jejich následného zpracování. Proces extrakce byl započat umístěním zmražených listových výsečí do skleněných lahvíček, do nichž bylo přidáno 10 ml rozpouštědla dimethylamidu kyseliny mravenčí (DMF). Lahvičky byly uzavřeny teflonovým víčkem a uloženy do lednice v krabicích (z důvodu zabránění přístupu světla). Po 7 dnech, během kterých došlo k vyextrahování pigmentů do rozpouštědla, mohlo být přistoupeno ke spektrofotometrickému stanovení jejich obsahu ve vzorcích. Po vizuální kontrole extrakce pigmentů byl 1 ml DMF napipetován do kyvety, extrakt promíchán na Vortexu a umístěn do komory spektrofotometru. Měřena byla absorbance ve čtyřech různých vlnových délkách (480, 647, 664 a 750 nm). Tyto hodnoty (zkorigované odečtem absorbance v 750 nm, který slouží jako indikátor čistoty extraktu) byly následně použity pro výpočet koncentrace fotosyntetických pigmentů obsažených v extraktu dle následujících rovnic (Wellburn, 1994):

$$ch_a = 11,65 * A_{664} - 2,69 * A_{647}$$

$$ch_b = 20,81 * A_{647} - 4,53 * A_{664}$$

$$c_{(x+c)} = (1000 * A_{480} - 0,89 * ch_a - 52,02 * ch_b) / 245$$

kde ch_a = chlorofyl a, ch_b = chlorofyl b, $c_{(x+c)}$ = celková koncentrace karotenoidů a xantofylů ($\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$), A_{480} = absorbance v 480 nm, A_{647} = absorbance v 647 nm, A_{664} = absorbance v 664 nm.

Obsah chlorofylu v extraktu byl následně vydělen plochou kruhové výseče listu, výsledná hodnota tak představuje obsah chlorofylu ve vzorku listoví. Tyto výpočty byly realizovány v programu Microsoft Office.

3.2.3 Výpočet dalších biofyzikálních parametrů

Vedle spektrofotometrického stanovení obsahu chlorofylu a zjištění poměru karotenoidů vůči chlorofylu ve vzorcích listoví byly provedeny výpočty dalších biofyzikálních parametrů – specifické listové plochy (SLA) a obsahu vody v listech vztaženého na projekční plochu listu, tedy vyjádřeného prostřednictvím parametru Equivalent Water Thickness (EWT).

Specifická listová plocha je charakterizována vztahem:

$$SLA = \frac{A}{DW}$$

kde A = plocha listu a DW = suchá hmotnost listu. Udávána je v m².g⁻¹.

EWT je charakterizována vztahem:

$$EWT = \frac{FW - DW}{A}$$

kde A = plocha listu, DW = suchá hmotnost listu a FW = čerstvá hmotnost listu. Udávána je v g.cm⁻².

Po odebrání vzorků listoví byly pro zjištění čerstvé hmotnosti jednotlivé listy ihned zváženy na laboratorních vahách a posléze přeneseny do sušičky. Po jejich dokonalém vysušení byly listy zváženy pro zjištění suché hmotnosti. Plocha listových čepelí byla změřena prostřednictvím programu ImageJ (Fiji). Takto získané údaje byly využity pro výpočet hodnot SLA a EWT v programu Microsoft Office.

3.2.4 Měření přístrojem MultispeQ

Informaci o hodnotách mnoha fyziologických parametrů týkajících se primární fáze fotosyntézy poskytuje příruční přístroj MultispeQ společnosti PhotosynQ. Kombinuje v sobě vlastnosti fluorometru, chlorofylmetru a spektrometru. Nespornou výhodou je snadná manipulace s přístrojem v laboratorních i terénních podmínkách a nedestruktivní povaha měření. V první experimentální sezoně (duben – listopad 2021) probíhalo měření fyziologických parametrů listů sazenic buku se zhruba týdenní frekvencí, celkem bylo provedeno 25 měření.

Přehled měřených parametrů přístrojem MultispeQ poskytuje tabulka č. 4.

parametr	český ekvivalent	definice parametru
LEF (Linear Electron Flow)	lineární elektronový tok	součin efektivního kvantového výtěžku PSII, PAR a hodnoty 0,4
LTD (Leaf Temperature Differential)	listový teplotní rozdíl	rozdíl teploty listu a teploty okolního prostředí (záporné hodnoty vyjadřují skutečnost, že list je chladnější než vzduch, který ho obklopuje)
NPQt (Non Photochemical Quenching (T))	odhad nefotochemického zhášení	parametr fluorescence chlorofylu využitelný pro rychlý odhad podílu nefotochemického zhášení excitonů v anténách komplexech PSII
PAR (Light Intensity)	intenzita záření PAR	množství fotosynteticky aktivního záření (PAR) dopadajícího na porost a snímaného PAR senzorem
Phi2	efektivní kvantový výtěžek fotosystému II	podíl dopadajícího záření (excitovaných elektronů), které je využito ve fotochemických procesech; = $(F'm - F_s)/F'm$ kde $F'm$ = maximální hodnota fluorescence ve stavu adaptace na světlo a F_s = rel. ustálený stav výtěžku fluorescence
PhiNO	kvantový výtěžek neregulované disipace energie	podíl dopadajícího záření (excitovaných elektronů), které se ztrácí neregulovanými procesy a jehož produkty mohou být škodlivé (způsobovat fotopoškození)
PhiNPQ	kvantový výtěžek regulované disipace energie	podíl dopadajícího záření (excitovaných elektronů), které se ztrácí regulovaným nefotochemickým zhášením; = $1 - (F'm - F_s)/F'm - F_s/F_m$; platí vztah, že PhiNPQ + Phi2 + PhiNO = 1
PSIAC (PS1 Active Centers)	aktivní centra fotosystému I	aktivní fotosystémy I funkční pro příjem a průchod elektronů
PSIOpC (PS1 Open Centers)	otevřená centra fotosystému I	fotosystémy I ve stavu vhodném pro přijetí elektronů
PSIORC (PS1 Over Reduced Centers)	nadměrně redukováná centra fotosystému I	fotosystémy I s akceptorovou stranou plně obsazenou elektrony (není možné přijetí dalších)
PSIOxC (PS1 Oxidized Centers)	oxidovaná centra fotosystému I	akceptor(y) fotosystémů I ve stavu bez elektronů
RC (Relative Chlorophyll)	relativní obsah chlorofylu	relativní obsah chlorofylu vypočítaný na základě měření absorpance ve vlnových délkách 650 a 940 nm (hodnoty SPAD): $\log_{10} \left(\frac{Abs_{940}/ref.Abs_{940}}{Abs_{650}/ref.Abs_{650}} \right)$ kde Abs = hodnota transmitance (propustnosti; $T = -\log.Abs$) světla listem v dané vlnové délce a ref.Abs = intenzita emitovaného světla v dané vlnové délce (650 nm – červená, 940 nm – infračervená oblast spektra)

Tabulka č. 4: Parametry měřené přístrojem MultispeQ vybrané pro potřeby diplomové práce, jejich zkratky, české ekvivalenty a definice. Sestaveno na základě www.help.photosynq.com, Tietz et al., 2017; Song et al., 2022, Xue et al., 2022, Genty et al., 1989, Kuhlger et al., 2016, Gitau et al., 2022 a Kanazawa et al., 2017.

3.2.5 Stanovení obsahu prolinu

Obsah prolinu v listech byl stanoven po periodě sucha v pozdním létě experimentální sezony 2022. Do Eppendorfových zkumavek byly vloženy části listové plochy zbavené střední žilky. Hmotnost vzorků se pohybovala v rozmezí 0,27 - 0,32 g. Naplněné a označené zkumavky byly až do doby následného zpracování uchovány v mrazáku.

Před samotnou analýzou obsahu prolinu bylo nutné vzorky listové homogenizovat. Toho bylo dosaženo třením a drcením vzorků v plastových zkumavkách pomocí plastových tyčinek s kuželovitým zakončením, a to spolu s tekutým dusíkem, který způsobil zmrznutí listové a následně snazší homogenizaci. Do zkumavek byly přidány 4 ml destilované vody a takto připravené vzorky uloženy v mrazáku.

Biochemická detekce prolinu byla zahájena přidáním 1 ml 15% kyseliny sulfosalicylové do plastové zkumavky se vzorkem a promícháním této směsi. Po 30 minutách byly vzorky centrifugovány (5 minut při 5000 otáčkách). Po oddělení frakcí vzorku v centrifuze byl ze svrchní vrstvy odebrán 1 ml tekutiny a přenesen do skleněné zkumavky spolu s 1 ml kyseliny octové. Poslední složkou reakční směsi ve skleněné zkumavce byl roztok sestávající z ninhydrinu (1,25 g), kyseliny octové (30 ml), kyseliny trihydrogenfosforečné (8,22 ml) a vody (11,78 ml). Směs byla promíchána na Vortexu a po dobu 1 hodiny vařena ve vodní lázni. Probíhající reakce byla poté zastavena prudkým zchlazením zkumavek v ledu. Ke vzorkům byly přidány 3 ml toluenu a byly uloženy do lednice až do doby spektrofotometrického stanovení obsahu prolinu ve vzorcích.

3.2.6 Měření výměny plynů přístrojem Li-COR

Pro stanovení hodnot parametrů výměny plynů (okamžitá účinnost využití vody, rychlost fotosyntézy, rychlost transpirace, vodivost průduchů) byl využit systém Li-COR, tedy přístroj *LI-6400XT* (LI-COR Biosciences) opatřený měřicí hlavicí se senzory snímajícími list uzavřený do komůrky. Vybrány byly pro měření pouze ty listy, které pokryly celou plochu snímané oblasti v komůrce, tedy plochu o velikosti zhruba 6 cm². Po zahřátí přístroje a vnitřní kontrole systému byly nastaveny vnitřní parametry prostředí v komůrce, a to shodně pro všechna provedená měření – referenční, stálá hodnota koncentrace CO₂ (CO2R) = 400 ppm, teplota uvnitř komůrky (Tblock; standardně z důvodu chlazení listu nastavována na nižší hodnotu ve srovnání s okolní teplotou) = 20 °C, rychlost průtoku vzduchu komůrkou (Flow: Fixed) = 400, intenzita fotosynteticky aktivního záření v komůrce (ParIn) = 800 μmol fotonů. m⁻² . s⁻¹. Hodnota ParIn byla zvolena na základě ozáření, které dosahovaly hodnoty PAR ve skleníku během slunných dní nad bukovými sazenicemi. Po nastavení systému byl do měřicí komůrky vložen listový vzorek a ponechán v ní 5 minut za účelem aklimatizace na nastavené podmínky. Poté mohlo být přistoupeno k samotnému měření – v průběhu 10 minut proběhlo vždy 9 měření v minutových intervalech (program *Autolog 2*). Data byla následně stažena ve formě tabulky v Excel a dále zpracována v programech Excel a NCSS.

Měření probíhala v průběhu druhé experimentální sezóny (2022), a to celkem osmkrát – první 4 měření byla časována do období s rovnoměrnou zálivkou všem skupinám rostlin, následována byla 4 měřeními proběhnuvšími v průběhu periody sucha. Detailní informace ke způsobu měření gazometrických parametrů jsou uvedeny v příslušné kapitole výsledků měření.

3.2.7 Spektroradiometrické měření optických vlastností listoví

Data o optických vlastnostech listoví, konkrétně reflektance, byla získána pozemním laboratorním spektrometrem *ASD FieldSpec 4* s připojenou kontaktní sondou. Takto uzpůsobený spektrometr s vlastním zdrojem světla v kontaktní sondě je vhodný pro měření pevných povrchů v laboratorních podmínkách a poskytuje informaci o míře odrazivosti, nikoli však propustnosti – jde tedy o ideální způsob měření míry odrazivosti u planárních bukových listů (dalším způsobem měření optických vlastností listoví v laboratorních podmínkách je připojení integrační sféry, v terénních podmínkách pak využití pistolového nástavce či optického kabelu – tyto metody jsou však procesně náročnější a méně vhodné pro použitý experimentální materiál). Tři zabudované senzory umožňují měření míry odrazivosti v rozpětí vlnových délek 350-2500 nm. Odrazivost byla měřena na 1-2 listech z každé rostliny (podle míry homogenity listoví) z adaxiální strany. List byl umístěn na černě lakované Petriho misku, aby nedocházelo ke zpětnému odrazu prošlého záření. Na každém listu bylo naměřeno 5 spekter, ze kterých byl následně spočítán medián a takto předzpracovaná spektra sloužila ke vzájemnému porovnávání a výpočtu vegetačních indexů.

Vybrané vegetační indexy byly z reflektančních křivek vypočteny v programu R-Studio – viz tabulka č. 5. Následně bylo přistoupeno ke statistické analýze zjištěných hodnot VI, a to za využití jednovýběrové analýzy rozptylu a post-hoc testů (Kruskalův-Wallisův a Tukeyho-Kramerův test).

	zkratka VI	plný název VI	vzorec pro výpočet VI	citace VI
vegetační indexy (VI) vztahující se k obsahu chlorofylu	Vogelmann	Vogelmann	$\frac{R740}{R720}$	Vogelmann et al., 1993
	Datt2	Datt2	$\frac{R850}{R710}$	Datt, 1999
	NDchl	Normalized Difference Chlorophyll	$\frac{R925 - R710}{R925 + R710}$	le Maire et al., 2008
	RMSR	Revised Modified Simple Ratio	$\frac{(R750 - R705) - 1}{\sqrt{(R750 - R705) + 1}}$	Wu et al., 2008
	NDVI	Normalized Difference Vegetation Index	$\frac{R800 - R680}{R800 + R680}$	Rouse et al., 1974
vegetační indexy (VI) vztahující se k obsahu vody	NDWI	Normalized Difference Water Index	$\frac{R860 - R1240}{R860 + R1240}$	Gao, 1996
	MSI	Moisture Stress Index	$\frac{R1600}{R817}$	Hunt a Rock, 1989
	NDLI	Normalized Difference Lignin Index	$\frac{\log\left(\frac{1}{R1754}\right) - \log\left(\frac{1}{R1680}\right)}{\log\left(\frac{1}{R1754}\right) + \log\left(\frac{1}{R1680}\right)}$	Serrano et al., 2002

Tabulka č. 5: Vegetační indexy (VI) vybrané pro potřeby diplomové práce, jejich zkratky, plné názvy, vzorce pro výpočet a citace prací, v nichž byly zavedeny. Písmeno R následované číselným údajem ve vzorcích pro výpočet VI představuje hodnotu odrazivosti (reflektance) v dané vlnové délce. Sestaveno na základě Neuwirthová et al., 2021 a www.indexdatabase.de.

3.2.8 Statistické vyhodnocení výsledků

Pro vizualizaci dat pomocí krabicových diagramů a vyhodnocení potenciálních rozdílů mezi ošetřeními prostřednictvím statistických testů byl použit statistický program NCSS (NCSS 9 Statistical Software (2013). NCSS, LLC. Kaysville, Utah, USA, ncss.com/software/ncss.).

Výsledky měření jednotlivých parametrů byly podrobeny jednovýběrové analýze rozptylu (ANOVA) provedené ve statistickém programu NCSS. Získané p-hodnoty, shrnuté v tabulkách ve výsledkové části práce, poskytují informaci o míře statistické významnosti (signifikance) vztažené k hladině významnosti $\alpha = 0,05$. S ohledem na pravidelnou povahu měření parametrů PhotosynQ v průběhu sezóny 2021 byla aplikována také ANOVA pro opakovaná měření přístrojem MultispeQ za celou dobu experimentu s cca týdenní frekvencí. Vedle ANOVA byly na výsledky měření aplikovány také post hoc testy, které představují určitou obdobu t-testu pro potřeby ANOVA. V případě splnění všech předpokladů pro analýzu rozptylu, čili při splnění požadavku na normalitu dat, bylo přistoupeno k Tukeyho-Kramerově vícenásobném srovnávacím testu (TK). Ten umožní odlišení skupin (ošetření), které se statisticky signifikantně liší od ostatních. Pokud však nejsou splněny všechny předpoklady pro analýzu rozptylu a rozdělení dat nevykazuje známky normality, musí být použit jiný statistický test. Pro statistickou analýzu za takovýchto podmínek byl aplikován Kruskalův-Wallisův vícenásobný srovnávací test (KW). Vymezení odlišných skupin v rámci datového souboru je charakterizováno z-hodnotou vyšší než 1,96.

Hodnoty odrazivosti byly zpracovány v různých verzích programu RStudio, který využívá programovacího jazyka R. Pro vizualizaci spektrálních křivek byl využit balíček „hsdar 1.0.4.“. Porovnání spektrálních křivek získaných z listů různě ošetřených stromů bylo provedeno pomocí t-testu postupně pro všechny vlnové délky v rozsahu 350-2500 nm a zobrazeny spolu s výslednou p-hodnotou pro posouzení spektrálních oblastí, kde se odrazivost rostlin ošetřených suchem lišila od kontroly.

4 Výsledky

4.1 Sezóna 2021

4.1.1 Biofyzikální a fotosyntetické parametry

4.1.1.1 Měření přístrojem MultispeQ v termínech měření optických vlastností listoví

Text této kapitoly shrnuje výstupy z měření biofyzikálních parametrů a fyziologických parametrů listoví vypovídajících zejména o primární fázi fotosyntézy (měřeno přístrojem MultispeQ). V rámci první experimentální sezóny (2021) byla uskutečněna celkem tři měření a odběry vzorků pro stanovení biofyzikálních parametrů, a to v dubnu (před započítáním ošetření suchem), červnu (po 6 týdnech odstupňované zálivky) a říjnu (po delší periodě regenerace a opětovného vystavení suchu). Výsledky ANOVA budou okomentovány u krabicových diagramů dále.

Tabulka č. 6 shrnuje p-hodnoty získané aplikací jednovýběrové analýzy rozptylu (ANOVA) vždy pro daný termín měření.

parametry BIOFYZIKÁLNÍ	Analýza rozptylu (p-hodnoty)		
	duben	červen	říjen
Celkový obsah chlorofylu	0,076030	0,001500	0,878429
EWT	0,087831	0,097964	0,847499
Poměr karotenoidů a chlorofylu	0,122699	0,648899	0,814755
SLA	0,229211	0,718921	0,610250
parametry PHOTOSYNQ			
LEF	0,425565	0,007599	0,194310
LTD	0,122664	0,017574	0,555965
NPQt	0,737580	0,311998	0,552172
PAR	0,248622	0,295554	0,304738
Phi2	0,471769	0,007949	0,045411
PhiNO	0,144665	0,000351	0,738966
PhiNPQ	0,940605	0,001404	0,162275
PS1AC	0,356720	0,042990	0,167299
PS1OpC	0,980973	0,042406	0,959610
PS1ORC	0,454384	0,090019	0,512106
PS1OxC	0,465815	0,293341	0,363555
RC	0,136424	0,107837	0,624031

Tabulka č. 6: P-hodnoty získané aplikací analýzy rozptylu ve statistickém programu NCSS. Hladina významnosti $\alpha = 0,05$; hodnoty, které tomuto požadavku dostály, označeny červeně. Parametry jsou uvedeny v abecedním pořadí.

Výsledky aplikace post-hoc statistických testů na obě skupiny parametrů shrnuje tabulka č. 7.

Post-hoc testy: Tukeyho-Kramerův (TK) / Kruskalův-Wallisův (KW) test						
parametry BIOFYZIKÁLNÍ	duben		červen		říjen	
Celk. chlor.	KW	MS-K: 2,0395	TK	S, K	TK	x
EWT	KW	MS-K: 2,2733	KW	x	KW	x
Kar. vs. chlor.	KW	x	KW	x	KW	x
SLA	TK	x	TK	x	KW	x
parametry PHOTOSYNQ						
LEF	KW	x	KW	MS-K: 2,0613 S-K: 2,2446	KW	x
LTD	TK	x	KW	S-K: 2,6177	TK	x
NPQt	KW	x	KW	x	KW	x
PAR	KW	x	KW	x	KW	x
Phi2	KW	x	KW	S-K: 2,9956	KW	MS-S: 2,2083
PhiNO	TK	x	KW	S-K: 3,1221	TK	x
PhiNPQ	KW	x	KW	MS-K: 2,0757 S-K: 3,3600	KW	x
PS1AC	KW	x	KW	S-K: 2,6170	KW	x
PS1OpC	KW	x	KW	S-K: 2,7263	KW	x
PS1ORC	KW	x	KW	S-K: 3,1143	KW	x
PS1OxC	KW	x	KW	x	KW	x
RC	KW	MS-K: 2,0406	KW	S-K: 2,2752	KW	x

Tabulka č. 7: Statisticky signifikantní odlišnosti mezi ošetřeními zjištěné na základě aplikace post-hoc testů ve statistickém programu NCSS. KW = Kruskalův-Wallisův test, TK = Tukeyho-Kramerův test, K = kontrola, MS = mírné sucho, S = sucho, číselné údaje = z-hodnoty statisticky signifikantních parametrů, x = statisticky nesignifikantní hodnoty parametrů. Parametry jsou uvedeny v abecedním pořadí.

Následující část textu shrnuje obecné aspekty výsledků měření parametrů PhotosynQ a studovaných biofyzikálních parametrů. Popis výsledků měření jednotlivých parametrů je uveden spolu s jejich grafickým znázorněním za touto obecnou částí.

Žádný z 16 hodnocených parametrů nesplnil v rámci dubnového měření (čili před započítáním ošetření suchem) podmínku statistické signifikance danou hladinou významnosti $\alpha = 0,05$. Post-hoc testy ve 3 případech odhalily statisticky signifikantní odlišnost kontrolních rostlin od semenáčků ošetřených mírným suchem. S ohledem na to, že první perioda sucha byla zahájena až po tomto měření, převážná absence statisticky signifikantních odlišností mezi skupinami je v souladu s předpokladem homogenity experimentálního materiálu. Rozdělení semenáčků do 3 skupin s odlišným objemem zálivky v průběhu period sucha však nebylo zcela dokonalé, jelikož proběhlo pouze na základě makroskopických znaků. Dokladem této skutečnosti může být statisticky signifikantní rozdíl v obsahu chlorofylu u rostlin kontrolních a následně ošetřených mírným suchem, který nelze s ohledem na doposud

rovnouměrnou zálivku vysvětlit efektem jejího snížení. V případě měření přístrojem MultispeQ a biofyzikálních odběrů v červnovém termínu byla prokázána statistická signifikance na základě p-hodnot u 8 parametrů, post-hoc testy odhalily statisticky signifikantní odlišnosti mezi skupinami u 10 z celkových 16 parametrů. U některých parametrů tak byla prokázána odpověď rostlin na působení stresu suchem, jelikož toto měření proběhlo po 6 týdnech odstupňované zálivky. Říjnové výsledky se podobají stavu v dubnu – statisticky signifikantní ANOVA se vyskytla u 1 parametru, stejně tak i statisticky signifikantní odlišnost v rámci aplikace post-hoc testů. Tyto výstupy jsou v souladu se zálivkovým režimem – po první periodě sucha proběhla fáze regenerace. Po ní následovala druhá perioda sucha, nicméně objem zálivky byl během této periody snížen podstatně méně ve srovnání s první periodou, což byla patrně příčina převážného setření rozdílů mezi skupinami rostlin. Rozdíly mezi jedinci však byly v rámci experimentálního materiálu patrné, a to zejména ke konci vegetační sezóny, kdy se zvýšila variabilita mezi jedinci vlivem nastupující senescence. Vzhledem k omezenému počtu naměřených vzorků (1-3 listy dle vizuálního posouzení jedinců) je nutno zdůraznit, že výsledky mohou být zkresleny nedostatečným pokrytím celé škály variability, s ohledem na časovou náročnost měření však hustší vzorkování nebylo možné realizovat. Problematické bylo zejména měření v několika termínech, kdy bylo nutno mnohá měření opakovat z důvodu narušení synchronizace přístroje MultispeQ s mobilní aplikací určenou pro jeho ovládání. Problémy se získáním dat ohledně citlivosti přístroje nastávají zejm. za špatných světelných podmínek (stín, nízké intenzity PAR v oblačných dnech).

4.1.1.1.1 Parametry popisující obsah chlorofylu

Obsah chlorofylu v měřených listech byl hodnocen za využití dvou rozdílných metodických přístupů – relativní obsah chlorofylu (Relative Chlorophyll, RC) byl měřen přístrojem MultispeQ na základě transmitance listu, kdežto celkový obsah chlorofylu byl stanoven biochemicky. Srovnání obou parametrů poskytuje grafy na obrázku č. 14.

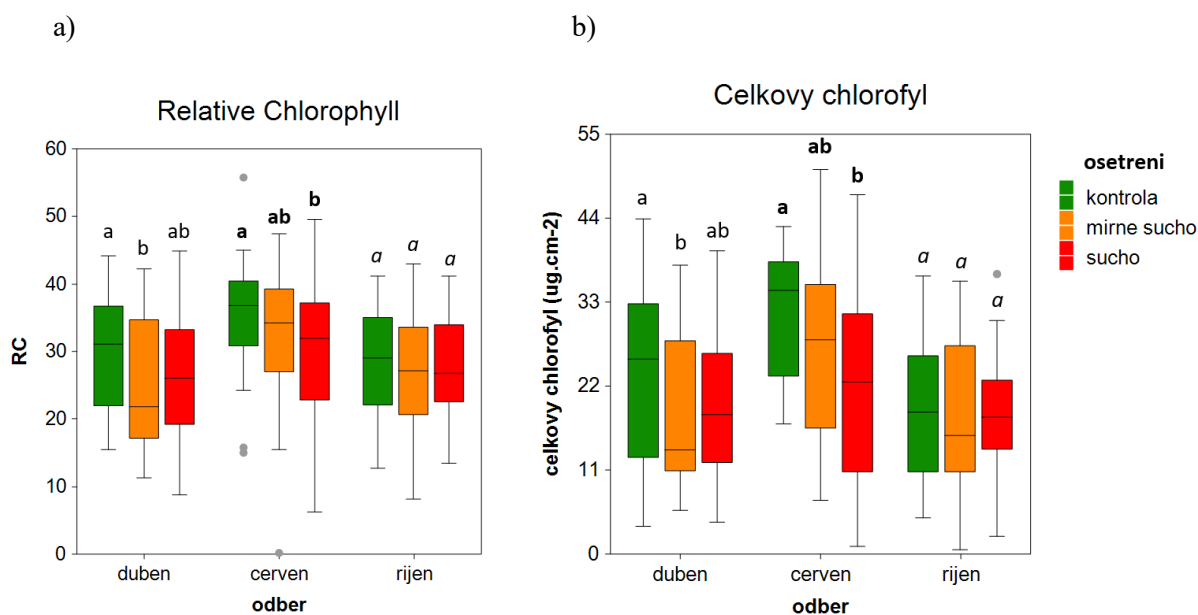
Z výsledků dubnového měření chlorofylu oběma způsoby vyplývá statisticky signifikantní rozdíl mezi kontrolou a ošetřením mírným suchem (Kruskalův-Wallisův test). Rozdíl není způsoben efektem zálivky, jelikož v době měření nebylo zahájeno její rozrůznění, dokazuje však ne zcela vyrovnané rozdělení experimentálního materiálu do homogenních skupin, které proběhlo pouze na základě vnějších, makroskopických znaků. Obsah chlorofylu byl ve srovnání s červnovým měřením u všech skupin nižší, což pravděpodobně souvisí s ranějším vývojovým stádiem měřených listů.

V rámci červnového měření lze u obou parametrů sledovat statisticky signifikantní rozdíl mezi rostlinami kontrolními a stresovanými suchem (Tukeyho-Kramerův test pro celkový chlorofyl, Kruskalův-Wallisův test pro RC), u nichž došlo ke snížení obsahu chlorofylu ve srovnání s kontrolním ošetřením. S ohledem na rozrůzněný režim zálivky pro každou ze tří skupin rostlin lze již tento rozdíl klást do přímé souvislosti se zásobením vodou

a efektem ošetření. Z výsledků dále vyplývá, že u rostlin ošetřených suchem byla reakce výraznější než u rostlin ošetřených mírným suchem, které se statisticky signifikantně od ostatních ošetření neodlišují. Statistická signifikance založená na p-hodnotách (ANOVA) byla prokázána u parametru popisujícího biofyzikálně stanovené celkové množství chlorofylu. Ve srovnání se začátkem sezóny došlo u všech ošetření k posunu mediánů směrem do vyšších hodnot.

Na konci sezóny (říjnové měření) se však už statisticky signifikantně žádné ošetření od ostatních neliší, což dokazují výsledky post-hoc testů obou parametrů (Tukeyho-Kramerův test pro celkový chlorofyl, Kruskalův-Wallisův test pro RC). Příčina toho, proč se stres suchem již na úrovni obsahu chlorofylu v listech neprojevuje, patrně tkví v proběhlých fázích regenerace (zvýšeného objemu zálivky) mezi červnovým a říjnovým odběrem a další periody sucha, které nastaly bezprostředně po červnovém měření.

Lze shrnout, že parametry popisující obsah chlorofylu v měřených listech vykazují i přes rozdílné metodologické přístupy stejný trend. Parametr celkový chlorofyl, založený na biofyzikálním přístupu (odběr listových terčků, extrakce, spektrofotometrie) však lze považovat za metodu spolehlivější a přesnější ve srovnání s parametrem RC, jedním z výstupů měření přístrojem MultispeQ.

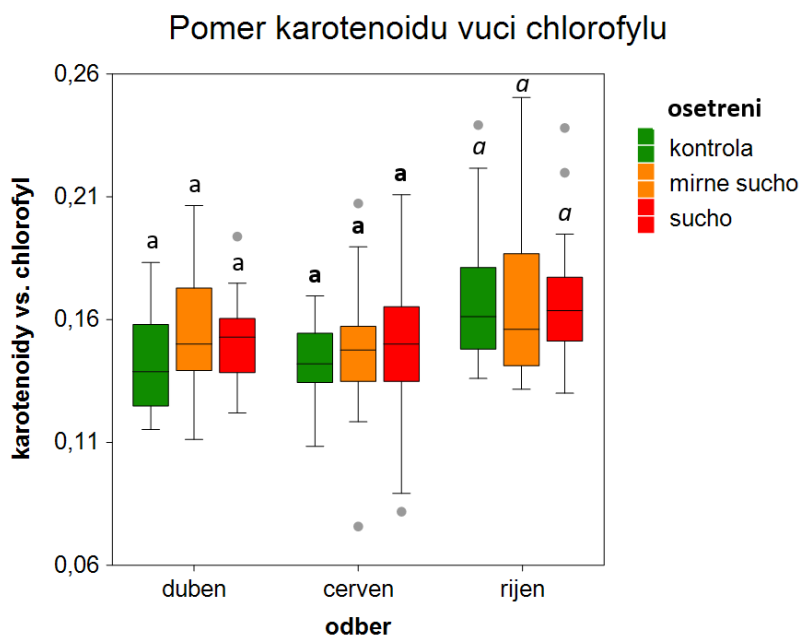


Obrázek č. 14: Parametry popisující obsah chlorofylu v měřených listech: relativní obsah chlorofylu měřený přístrojem MultispeQ – Relative Chlorophyll, RC (a) a celkový obsah chlorofylu stanovený biochemicky (b) v termínech odběru listů. Barevné kódování označuje ošetření – viz legenda grafu. Linie uvnitř krabicových diagramů odpovídají mediánu, střední části krabicových diagramů jsou ohraničeny shora linií představující 3. kvartil a zdola linií představující 1,5. kvartil. Šedé body znázorňují odlehlá pozorování. Písmena nad krabicovými diagramy vyjadřují statisticky signifikantní rozdíly mezi ošetřeními v rámci jednoho odběru (písmo bez zvýraznění – dubnový odběr, tučné písmo – červnový odběr, kurzíva – říjnový odběr) zjištěné na základě aplikace post-hoc testů (Kruskalův-Wallisův a Tukeyho-Kramerův test) – viz tabulka č. 7.

4.1.1.1.2 Poměr karotenoidů vůči chlorofylu

Spektrofotometricky stanovený obsah chlorofylu v listových terčících umožnil vedle stanovení celkového obsahu chlorofylu ve vzorcích také zjištění poměru rostlinných pigmentů – karotenoidů a chlorofylů (viz graf na obrázku č. 15).

Výsledky post-hoc testů (Kruskalův-Wallisův test) i ANOVA prokázaly u všech měření absenci statisticky signifikantních odlišností mezi ošetřeními. Rozdíly lze však pozorovat v rozptylech naměřených hodnot. V dubnu, čili před započítáním ošetření suchem, se poměr karotenoidů a chlorofylů signifikantně nelišil mezi třemi skupinami rostlin. Rozptyl poměru pigmentů byl však u skupin rostlin různý: největší rozptyl hodnot se vyskytoval u rostlin následně ošetřených mírným suchem, u rostlin následně se potýkajících se silnějším nedostatkem vody byl rozptyl podstatně nižší. V průběhu června, čili po 6 týdnech odstupňované zálivky, došlo k situaci opačné, čili k výraznému zvětšení rozptylu u rostlin ošetřených suchem a snížení rozptylu u rostlin pěstovaných za mírného sucha. Výsledky říjnového měření odpovídají situaci v dubnu, rozptyl je však ve srovnání s měřením na počátku sezóny u všech ošetření větší. U kontrolních rostlin se rozptyl měnil v průběhu sezóny méně výrazně, v říjnu byl však, stejně jako u skupin rostlin s omezenou zálivkou, největší.

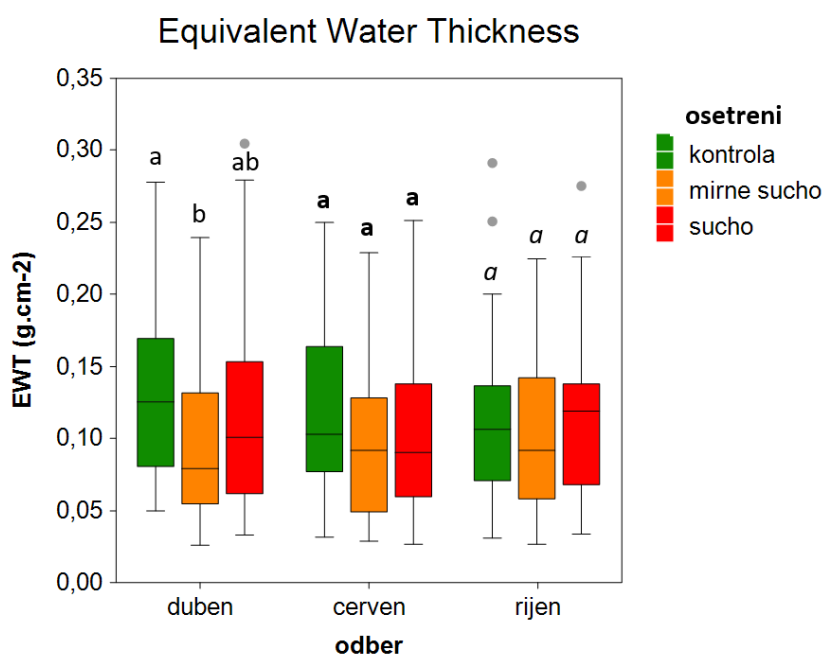


Obrázek č. 15: Poměr karotenoidů vůči chlorofylu v termínech odběru listoví. Barevné kódování označuje ošetření – viz legenda grafu. Linie uvnitř krabicových diagramů odpovídají mediánu, střední části krabicových diagramů jsou ohraničeny shora linií představující 3. kvartil a zdola linií představující 1,5. kvartil. Šedé body znázorňují odlehlá pozorování. Písmena nad krabicovými diagramy vyjadřují statisticky signifikantní rozdíly mezi ošetřeními v rámci jednoho odběru (písmo bez zvýraznění – dubnový odběr; tučné písmo – červenový odběr; kurzíva – říjnový odběr) zjištěné na základě aplikace post-hoc testů (Kruskalův-Wallisův a Tukeyho-Kramerův test) – viz tabulka č. 7.

4.1.1.1.3 Obsah vody v listech

Obsah vody v měřených listech lze vyjádřit prostřednictvím parametru EWT (Equivalent Water Thickness, hmotnost vody vztažená na plochu listu), jehož hodnoty zachycuje graf na obrázku č. 16.

Z dubnového měření vyplývá statisticky signifikantní odlišnost kontrolních rostlin od skupiny rostlin následně ošetřených mírně omezenou zálivkou (Kruskalův-Wallisův test), medián u rostlin v budoucnu ošetřených mírným suchem leží ve srovnání s kontrolou výrazně níže. Statisticky signifikantní odlišnost mezi ošetřeními nebyla pozorována v rámci červnového a říjnového měření (Kruskalův-Wallisův test, ANOVA). Rozptyl hodnot se v průběhu sezóny mírně zmenšoval, nicméně rozdíly rozptylu mezi měřeními nejsou tak výrazné, jako je tomu u jiných sledovaných parametrů. Na konci sezóny lze také sledovat největší množství odlehlých hodnot, což může souviset s fenologickou fází zahrnující počínající senescenci, v důsledku čehož se prohloubila jak variabilita mezi listy v rámci rostliny, tak i mezi samotnými experimentálními rostlinami.

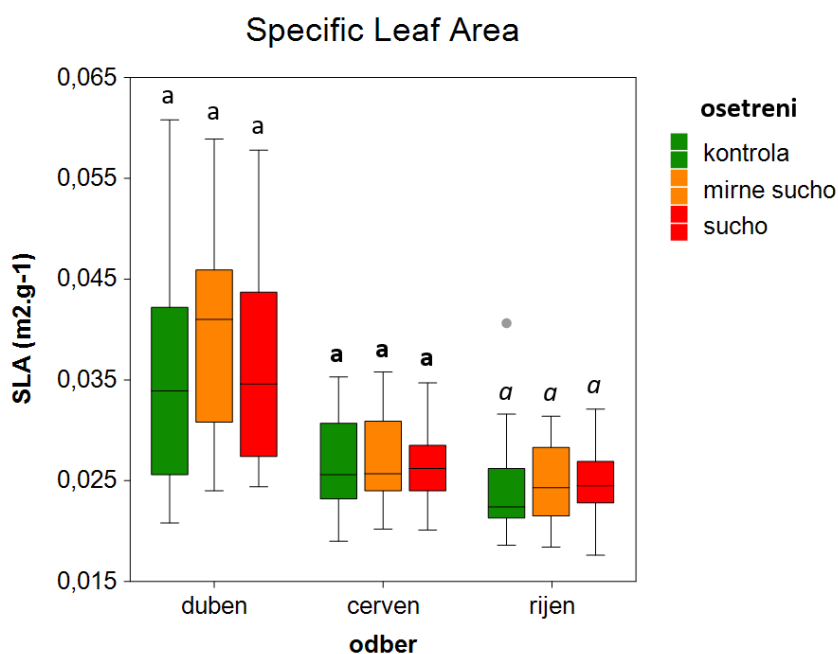


Obrázek č. 16: Obsah vody vyjádřený na projekční plochu listu (EWT) v termínech odběru listoví. Barevné kódování označuje ošetření – viz legenda grafu. Linie uvnitř krabicových diagramů odpovídají mediánu, střední části krabicových diagramů jsou ohraničeny shora linií představující 3. kvartil a zdola linií představující 1,5. kvartil. Šedé body znázorňují odlehlá pozorování. Písmena nad krabicovými diagramy vyjadřují statisticky signifikantní rozdíly mezi ošetřeními v rámci jednoho odběru (písmo bez zvýraznění – dubnový odběr, tučné písmo – červnový odběr, kurzíva – říjnový odběr) zjištěné na základě aplikace post-hoc testů (Kruskalův-Wallisův a Tukeyho-Kramerův test) – viz tabulka č. 7.

4.1.1.1.4 Specifická listová plocha

Specifická listová plocha je dalším z parametrů potenciálně vhodných k posouzení možného vlivu stresu suchem na experimentální materiál (viz graf na obrázku č. 17.).

Velký rozptyl hodnot specifické listové plochy získaných dubnovým měřením může souviset s variabilitou vývojových fází měřených listů. Statisticky signifikantně se žádné ošetření od ostatních neliší (Tukeyho-Kramerův test, ANOVA). V průběhu června lze sledovat výrazný pokles rozptylu a větší homogenitu polohy mediánu napříč ošetřeními. Stejně jako na počátku sezóny post-hoc testy (Tukeyho-Kramerův test) ani ANOVA neodhalily statisticky signifikantní odlišnost žádného z ošetření. Výsledky říjnového měření kopírují výsledky měření předchozího, čili nižší rozptyl u všech ošetření a absenci statisticky signifikantně odlišných skupin rostlin (Kruskalův-Wallisův test, ANOVA). S postupem vegetační sezóny docházelo ke snižování hodnot SLA. Výrazné snížení mezi dubnovým a červnovým měřením pravděpodobně souvisí s akumulací asimilátů a strukturních látek. Tentýž trend lze sledovat i ve srovnání červnového a říjnového měření, pokles mediánů je však méně výrazný. Snížení hodnot SLA v reakci na stres suchem je důsledkem nutnosti rostlin přizpůsobit se tomuto stresu. Nejvyšší pokles hodnot SLA je dle očekávání patrný u kontrolní skupiny rostlin.



Obrázek č. 17: Specifická listová plocha (Specific Leaf Area, SLA) v termínech odběru listoví. Barevné kódování označuje ošetření – viz legenda grafu. Linie uvnitř krabicových diagramů odpovídají mediánu, střední části krabicových diagramů jsou ohraničeny shora linií představující 3. kvartil a zdola linií představující 1,5. kvartil. Šedé body znázorňují odlehlá pozorování. Písmena nad krabicovými diagramy vyjadřují statisticky signifikantní rozdíly mezi ošetřeními v rámci jednoho odběru (písmo bez zvýraznění – dubnový odběr; tučné písmo – červnový odběr; kurzíva – říjnový odběr) zjištěné na základě aplikace post-hoc testů (Kruskalův-Wallisův a Tukeyho-Kramerův test) – viz tabulka č. 7.

4.1.1.1.5 Parametry popisující způsob využití světelné energie zachycené fotosystémem II

Poměr způsobů využití světelné energie zachycené fotosystémem II lze charakterizovat prostřednictvím parametrů Φ_2 , Φ_{iNO} a Φ_{iNPQ} , míru nefotochemického zhášení pak parametrem NPQt. Jejich srovnání poskytují grafy na obrázku č. 18.

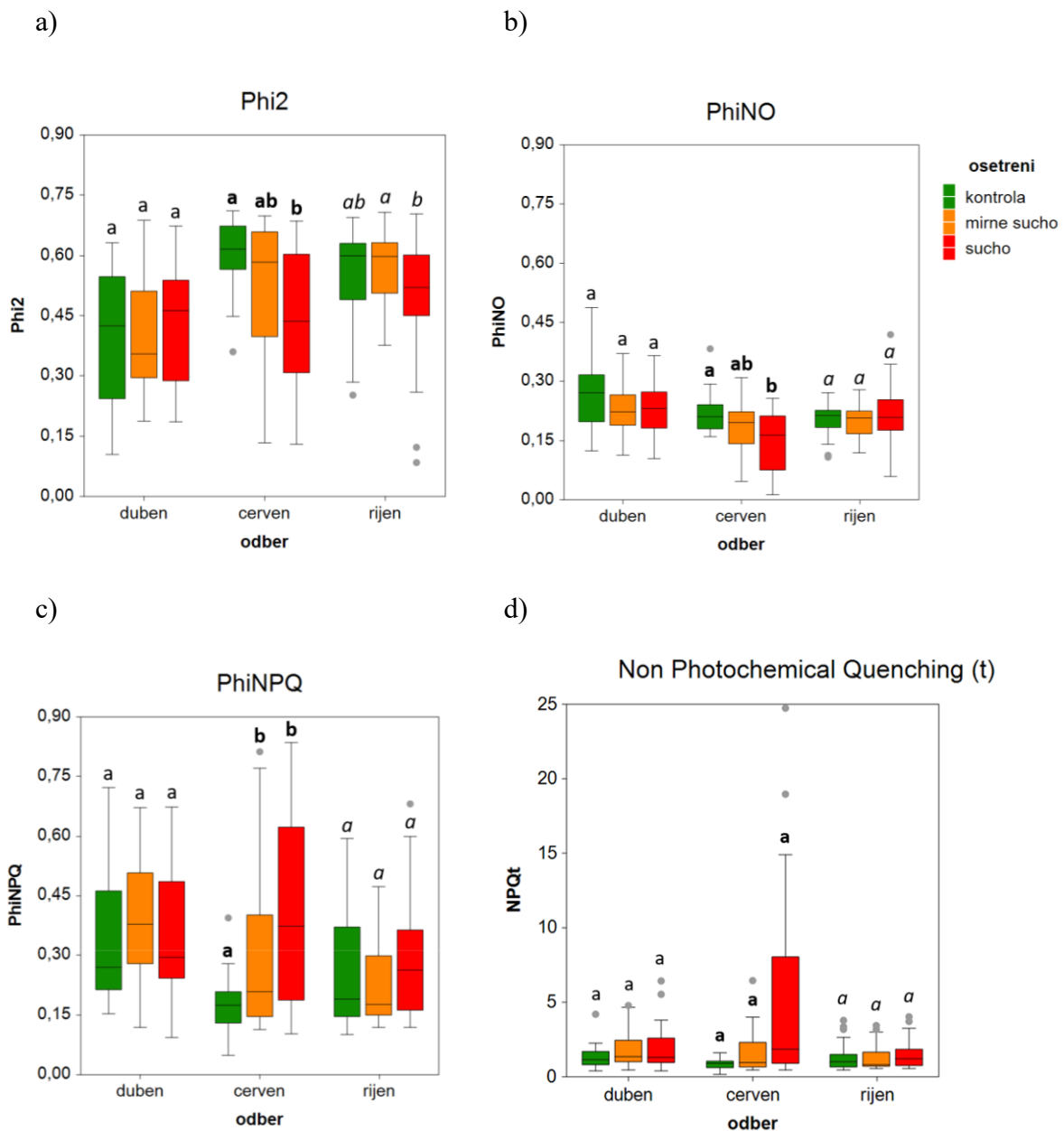
Součet hodnot parametrů Φ_2 (fotochemické procesy), Φ_{iNO} (nespecifikované neregulované procesy) a Φ_{iNPQ} (regulované nefotochemické zhášení) je roven jedné. Tomu odpovídají také výsledky měření, kdy s poklesem hodnot Φ_2 a Φ_{iNO} stoupají hodnoty parametru Φ_{iNPQ} . Patrné je to při pohledu na krabicové diagramy sestavené na základě červnového měření – u kontrolní skupiny rostlin lze pozorovat vysoké hodnoty parametru Φ_2 , nízké hodnoty parametru Φ_{iNPQ} a střední hodnoty parametru Φ_{iNO} .

U všech čtyř parametrů (Φ_2 , Φ_{iNO} , Φ_{iNPQ} , NPQt) nebyla na základě údajů z dubnového měření prokázána statisticky signifikantní odlišnost určitého ošetření od jiné skupiny rostlin (Kruskalův-Wallisův test pro Φ_2 , Φ_{iNPQ} a NPQt, Tukeyho-Kramerův test pro Φ_{iNO} ; ANOVA).

Červnové měření poskytlo informaci o statisticky signifikantním odlišení kontrolní skupiny od rostlin ošetřených suchem, tato skutečnost byla prokázána u Φ_2 a Φ_{iNO} (Kruskalův-Wallisův test, ANOVA). Rozptyl hodnot je u obou těchto parametrů podstatně větší u rostlin s omezenou zálivkou ve srovnání s kontrolní skupinou, s prohlubujícím se nedostatkem zálivky je také patrný posun polohy mediánu směrem k nižším hodnotám. V případě parametru Φ_{iNPQ} došlo ke statisticky signifikantnímu odlišení kontrolních rostlin od obou skupin ošetřených suchem (Kruskalův-Wallisův test, ANOVA). Tato skutečnost je v souladu s výsledky post-hoc testů aplikovaných na červnové hodnoty ostatních parametrů popisujících osud světelné energie ve fotosystémech (jak už bylo zmíněno výše, u Φ_2 a Φ_{iNO} byla prokázána jen statisticky signifikantní odlišnost kontrolních rostlin od rostlin vystavených silnějšímu suchu). V případě parametru NPQt ke statisticky signifikantnímu vymezení nějakého z ošetření nedošlo (Kruskalův-Wallisův test, ANOVA). Z hlediska rozptylu od ostatních ošetření silně vybočuje skupina rostlin ošetřená suchem, patrné je to zejména u parametru NPQt. Nárůst rozptylu i hodnot parametru NPQt je v souladu s předpokladem, že u rostlin stresovaných nedostatkem zálivky bude narůstat podíl nefotochemického zhášení, čili bude ve větší míře docházet k disipaci nadměrné světelné energie na energii tepelnou. Obecně lze shrnout, že jak rozptyl, tak poloha mediánu se zvyšuje s mírou omezení zálivky, což je patrné při pohledu na krabicové diagramy skupin rostlin ošetřených suchem ve srovnání s kontrolními rostlinami.

Rozdílné výstupy parametrů lze sledovat v rámci říjnového měření. Zatímco u parametrů Φ_{iNO} , Φ_{iNPQ} a NPQt se statisticky signifikantně žádná skupina rostlin neodlišuje (Tukeyho-Kramerův test pro Φ_{iNO} , Kruskalův-Wallisův test pro Φ_{iNPQ} a NPQt; ANOVA), v případě Φ_2 byla prokázána statisticky signifikantní odlišnost rostlin pěstovaných za mírného sucha od skupiny ošetřené silnějším nedostatkem vody (Kruskalův-Wallisův test, ANOVA). Všem parametrům je společná přítomnost odlehlých pozorování,

zejména pak u parametru NPQt, kde se vyskytují ve všech třech termínech měření. Jejich výskyt lze klást do souvislosti s fenologickou fází vyznačující se nástupem senescence a z toho plynoucí zvýšenou variabilitou listoví. Výrazný pokles hodnot parametru NPQt v závěru vegetační sezóny lze vsadit také do kontextu fenologie, docházelo již k nástupu senescence a tudíž i k poklesu fotosyntetické aktivity. Svou roli však mohla sehrát také aklimace rostlin vůči působení stresu suchem, získaná na základě předchozího vystavení rostlin nedostatku závlivky. Během tohoto prvního období sucha bylo snížení závlivky výraznější a po něm následovala fáze regenerace, kdy byl objem závlivky podstatně navýšen, což mohlo být důvodem méně výrazné reakce rostlin na vystavení další periodě se sníženým objemem závlivky.



Obrázek č. 18: Parametry popisující způsob využití světelné energie zachycené fotosystémem II: Phi2 (a), PhiNO (b), PhiNPQ (c) a Non Photochemical Quenching t – NPQt (d) v termínech odběru listů. Barevné kódování označuje ošetření – viz legenda grafu. Linie uvnitř krabicových diagramů odpovídají mediánu, střední části krabicových diagramů jsou ohraničeny shora linií představující 3. kvartil a zdola linií představující 1,5. kvartil. Šedé body znázorňují odlehlá pozorování. Písmena nad krabicovými diagramy vyjadřují statisticky signifikantní rozdíly mezi ošetřeními v rámci jednoho odběru (písmo bez zvýraznění – dubnový odběr, tučné písmo – červený odběr, kurzíva – říjnový odběr) zjištěné na základě aplikace post-hoc testů (Kruskalův-Wallisův a Tukeyho-Kramerův test) – viz tabulka č. 7.

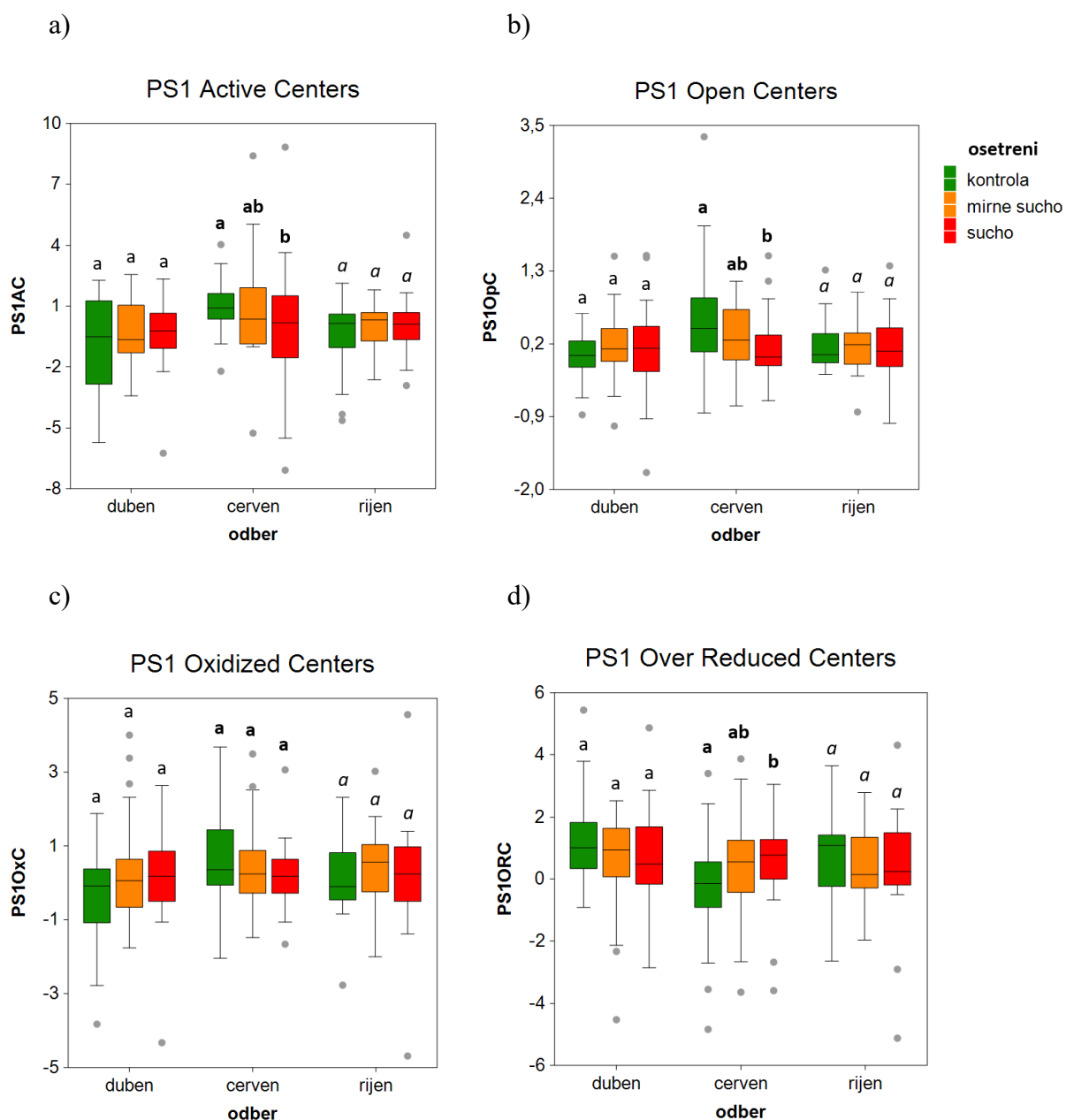
4.1.1.1.6 Parametry popisující aktivitu reakčních center fotosystému I

Aktivitu reakčních center fotosystému I popisují parametry PS1 Active Centers (PS1AC), PS1 Open Centers (PS1OpC), PS1 Oxidized Centers (PS1OxC) a PS1 Over Reduced Centers (PS1ORC). Srovnání jejich hodnot poskytují grafy na obrázku č. 19.

Výsledky dubnového měření všech čtyř parametrů popisujících aktivitu reakčních center fotosystému I (PS1AC, PS1OpC, PS1ORC, PS1OxC) vykazují shodné rysy – žádné ošetření se statisticky signifikantně nelišilo od ostatních skupin rostlin s odlišným závlahovým režimem (Kruskalův-Wallisův test, ANOVA).

V červnu došlo ke statisticky signifikantnímu odlišení rostlin kontrolních od rostlin ošetřených suchem. Stalo se tak u tří měřených parametrů – PS1AC, PS1OpC, PS1ORC (Kruskalův-Wallisův test, signifikance dle ANOVA prokázána u PS1AC a PS1OpC), u parametru PS1OxC nebyly rozdíly mezi ošetřeními v době měření statisticky signifikantní (Kruskalův-Wallisův test, ANOVA). Rozdíly mezi ošetřeními lze nalézt také v rozptylech naměřených hodnot – u parametru PS1AC vyazuje největší rozptyl skupina rostlin ošetřených suchem, kdežto u parametrů PS1OpC a PS1OxC dominuje z hlediska velikosti rozptylu kontrolní skupina.

Říjnové měření poskytlo shodné výstupy jako měření v dubnu, čili absenci statisticky signifikantně odlišných ošetření u všech fotosystémových parametrů (Kruskalův-Wallisův test, ANOVA). Z hlediska rozptylu lze u dvou parametrů pozorovat nárůst velikosti rozptylu u kontrolní skupiny a pokles rozptylu u rostlin limitovaných dostupností vody (PS1AC, PS1ORC), u ostatních parametrů (PS1OpC, PS1OxC) nastala opačná situace, čili pokles rozptylu u kontrolních rostlin a nárůst rozptylu u rostlin s ošetřením suchem.



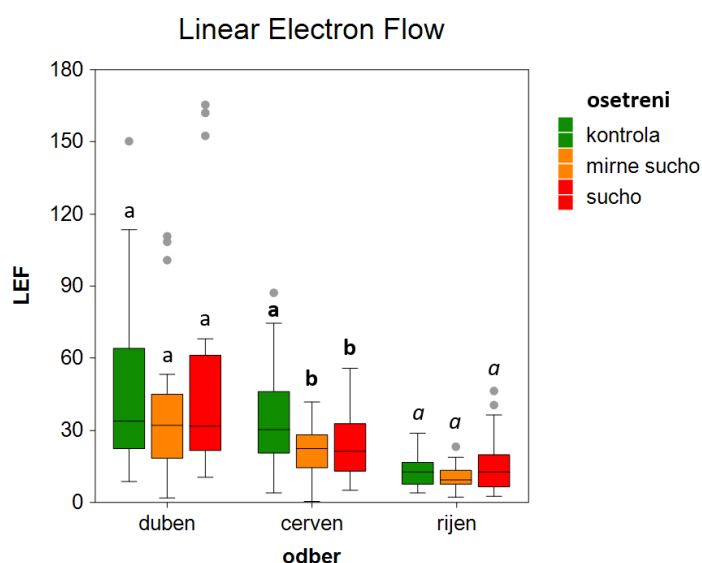
Obrázek č. 19: Parametry popisující aktivitu reakčních center fotosystému I: PS1 Active Centers – PSIAC (a), PS1 Open Centers – PSIOpC (b), PS1 Oxidized Centers – PSIOxC (c), PS1 Over Reduced Centers – PSIORC (d) v termínech odběru listů. Barevné kódování označuje ošetření – viz legenda grafu. Linie uvnitř krabicových diagramů odpovídají mediánu, střední části krabicových diagramů jsou ohraničeny shora linií představující 3. kvartil a zdola linií představující 1,5. kvartil. Šedé body znázorňují odlehlá pozorování. Písmena nad krabicovými diagramy vyjadřují statisticky významné rozdíly mezi ošetřeními v rámci jednoho odběru (písmo bez zvýraznění – dubnový odběr, tučné písmo – červnový odběr, kurzíva – říjnový odběr) zjištěné na základě aplikace post-hoc testů (Kruskalův-Wallisův a Tukeyho-Kramerův test) – viz tabulka č. 7.

4.1.1.1.7 Lineární elektronový tok

Lineární elektronový tok (Linear Electron Flow, LEF), jehož hodnoty jsou zachyceny formou grafu na obrázku č. 20, lze, jak je uvedeno níže v textu, klást do souvislosti s předchozí skupinou parametrů popisujících aktivitu reakčních center fotosystému I.

Výsledky dubnového měření ukazují velký rozptyl u všech ošetření, vysoký je také počet odlehlých pozorování. Tuto skutečnost lze, stejně jako u dalších, výše popsanych parametrů, vsadit do kontextu fenologie a variability listoví. Statisticky signifikantně se žádné ošetření od ostatních neliší (Kruskalův-Wallisův test, ANOVA). S postupem vegetační sezóny se rozptyl naměřených hodnot až do doby posledního měření snižoval. Červnovým měřením byl prokázán statisticky signifikantní pokles míry lineárního elektronového toku u obou skupin s omezeným přísunem vody oproti kontrolním rostlinám (Kruskalův-Wallisův test, ANOVA). Odlehlá pozorování se vyskytují také u říjnových hodnot, nicméně jejich počet je výrazně nižší než na začátku sezóny. Absence signifikantních odlišností mezi ošetřeními byla dokázána statistickými testy (Kruskalův-Wallisův test, ANOVA).

V průběhu vegetační sezóny lze pozorovat postupný pokles hodnot LEF, což je patrné z poloh mediánových linií v krabicových diagramech. Prohlubující se narušení lineárního transportu elektronů koresponduje s poklesem parametrů popisujících reakční centra fotosystémů I (PS1AC, PS1OpC, PS1ORC) u rostlin stresovaných suchem, jejichž hodnoty byly naměřeny v červnu po proběhlé periodě sucha.



Obrázek č. 20: Lineární elektronový tok (Linear Electron Flow, LEF) v termínech odběru listoví. Barevné kódování označuje ošetření – viz legenda grafu. Linie uvnitř krabicových diagramů odpovídají mediánu, střední části krabicových diagramů jsou ohraničeny shora linií představující 3. kvartil a zdola linií představující 1,5. kvartil. Šedé body znázorňují odlehlá pozorování. Písmena nad krabicovými diagramy vyjadřují statisticky signifikantní rozdíly mezi ošetřeními v rámci jednoho odběru (písmo bez zvýraznění – dubnový odběr, tučné písmo – červnový odběr, kurzíva – říjnový odběr) zjištěné na základě aplikace post-hoc testů (Kruskalův-Wallisův a Tukeyho-Kramerův test) – viz tabulka č. 7.

4.1.1.2 *Opakovaná měření přístrojem MultispeQ v průběhu celé sezóny*

V programu NCSS byla provedena také ANOVA pro opakovaná měření přístrojem MultispeQ za celou dobu experimentu s cca týdenní frekvencí.

Pro zdárný průběh analýzy bylo nutno pracovat s hodnotami jen těch jedinců, jejichž listy byly měřeny v průběhu všech měření přístrojem MultispeQ. Z datového souboru proto byli vyloučeni ti jedinci, kteří tuto podmínku nesplňovali, tato redukce datového souboru se pak mohla odrazit ve výsledcích statistických analýz. Zároveň bylo nutno přistoupit ke zprůměrování hodnot parametrů, a to v případě, že bylo měřeno více listů téže rostliny. Počet měřených listů se odvíjel od vizuálního posouzení vzhledu jedince. V případě homogenního vzhledu byl měřen pouze 1 list, u rostlin nehomogenního vzhledu byly z důvodu zachycení variability listová měřena 2, v ojedinělých případech až 3 listy. Přesto však mohou být výsledky měření s ohledem na namátkový výběr listů mírně zkresleny. Přesnějším zhodnocení naměřených hodnot by napomohlo navýšení počtu vzorků, což však nebylo možné z časových důvodů realizovat.

ANOVA pro opakovaná měření byla aplikována jak na celý datový soubor zahrnující všechna měření přístrojem MultispeQ v průběhu experimentální sezóny 2021, tak i na datové soubory zahrnující měření v období první a druhé periody sucha (tabulky č. 8-10).

Statistická signifikance efektu ošetření v případě ANOVA za celé studované období byla prokázána pouze u 1, u ANOVA pro období první periody sucha u 3 a u ANOVA pro druhou periodu sucha u žádného z celkového počtu 12 měřených parametrů. Znovu se tedy potvrzuje, že v průběhu druhé periody se sníženým objemem závlaky pro skupiny rostlin ošetřených suchem dochází vlivem předchozí fáze regenerace a nižší dávce stresu suchem v této druhé periodě ke snížení statisticky signifikantních rozdílů mezi skupinami rostlin. Statistická signifikance ID stromu u většiny parametrů ve srovnání s méně četnou statistickou signifikancí efektu ošetření může naznačovat nepřilíš vhodné rozlišení experimentálního materiálu do homogenních skupin.

Jak dokazuje tabulka č. 8, výsledné p-hodnoty faktoru "ID stromu" prokázaly statistickou signifikanci téměř u všech měřených parametrů s výjimkou PAR, PS1ORC a PS1OxC. Prokázána tak byla statisticky signifikantní variabilita mezi jedinci a jejich odlišné reakce v průběhu experimentální sezóny. Statistická signifikance okolní vlhkosti a teploty, zjištěná na základě čidla přístroje MultispeQ, mohla být také ovlivněna prostorovým efektem, čili pozicí experimentálních rostlin v rámci blokového systému.

Analýza rozptylu (p-hodnoty) – opakovaná měření celá sezóna 2021				
PhotosynQ parametry	Ošetření	Čas	Interakce ošetření a času	ID stromu
LEF	0,752201	0,000000	0,970422	0,000016
LTD	0,864104	0,000000	0,002579	0,000000
NPQt	0,925307	0,000000	0,000000	0,000000
PAR	0,613250	0,000000	0,916082	0,086525
Phi2	0,551226	0,000000	0,019355	0,000000
PhiNO	0,551805	0,000000	0,000002	0,000000
PhiNPQ	0,756737	0,000000	0,000077	0,000000
PS1AC	0,018382	0,039337	0,790589	0,000048
PS1OpC	0,254301	0,329104	0,812578	0,000007
PS1ORC	0,661008	0,116684	0,999497	0,874502
PS1OxC	0,915030	0,479039	0,996227	0,908017
RC	0,136637	0,000000	0,587447	0,000028

Tabulka č. 8: P-hodnoty parametrů přístroje MultispeQ získané aplikací analýzy rozptylu pro opakovaná měření v průběhu celé sezóny 2021 ve statistickém programu NCSS. Hladina významnosti $\alpha = 0,05$; hodnoty, které tomuto požadavku dostaly, označeny červeně. Parametry jsou uvedeny v abecedním pořadí.

Analýza rozptylu (p-hodnoty) – opakovaná měření první perioda sucha (28.4.-9.6.2021)				
PhotosynQ parametry	Ošetření	Čas	Interakce ošetření a času	ID stromu
LEF	0,745161	0,000000	0,949136	0,002502
LTD	0,103310	0,000000	0,012257	0,036630
NPQt	0,040961	0,000000	0,000013	0,005223
PAR	0,929097	0,000000	0,986443	0,267634
Phi2	0,817157	0,000000	0,006329	0,002074
PhiNO	0,014490	0,000000	0,006591	0,000163
PhiNPQ	0,782062	0,000000	0,000011	0,002432
PS1AC	0,007887	0,643890	0,939835	0,000884
PS1OpC	0,825445	0,389548	0,837786	0,007169
PS1ORC	0,948647	0,211051	0,869200	0,144438
PS1OxC	0,910228	0,129650	0,941616	0,586687
RC	0,113283	0,000000	0,526253	0,624901

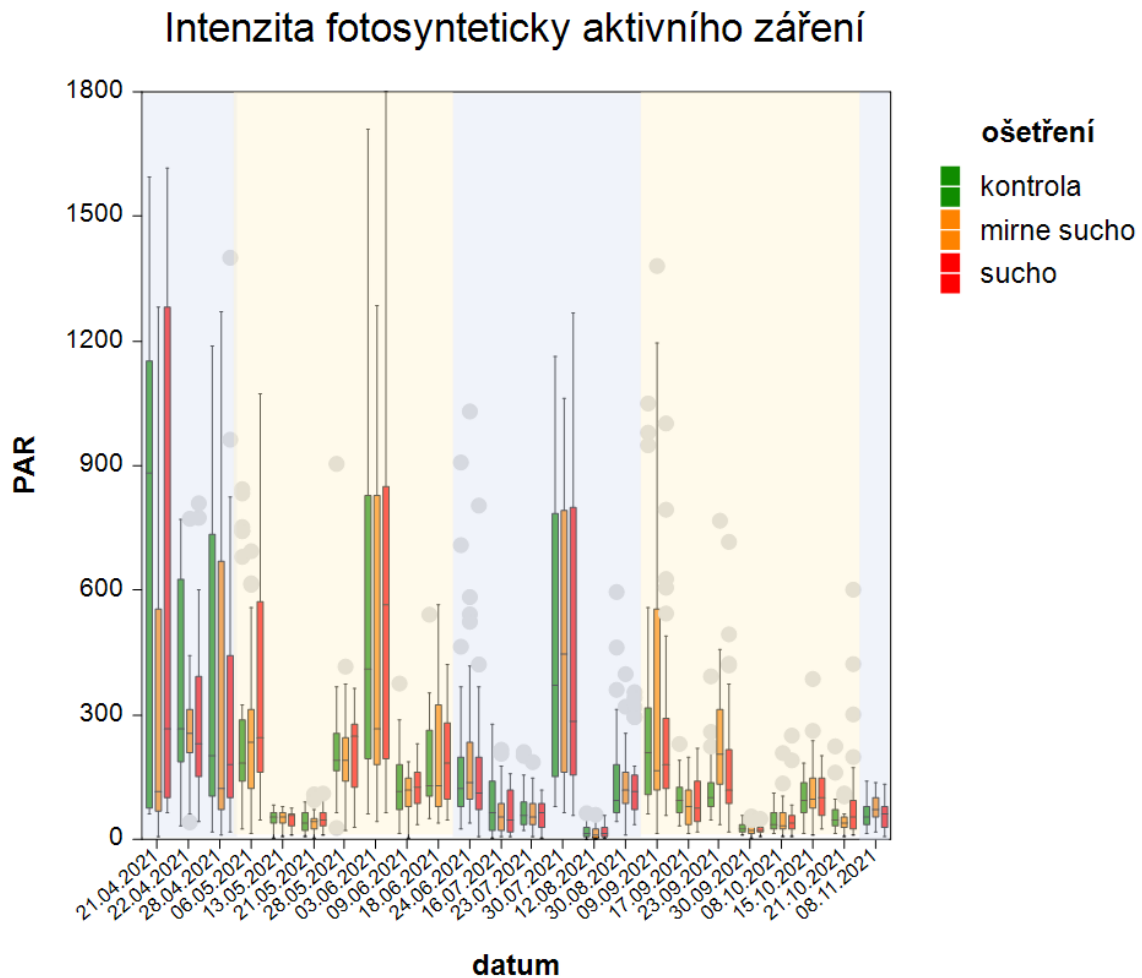
Tabulka č. 9: P-hodnoty parametrů přístroje MultispeQ získané aplikací analýzy rozptylu pro opakovaná měření v průběhu první periody sucha (28.4.-9.6.2021), ve statistickém programu NCSS. Hladina významnosti $\alpha = 0,05$; hodnoty, které tomuto požadavku dostaly, označeny červeně. Parametry jsou uvedeny v abecedním pořadí.

Analýza rozptylu (p-hodnoty) – opakovaná měření druhá perioda sucha (9.9.-21.10.2021)				
PhotosynQ parametry	Ošetření	Čas	Interakce ošetření a času	ID stromu
LEF	0,926583	0,000000	0,044370	0,184420
LTD	0,291644	0,000000	0,201398	0,369766
NPQt	0,735565	0,003932	0,666804	0,067221
PAR	0,226113	0,000000	0,020415	0,030619
Phi2	0,598789	0,000000	0,001262	0,046114
PhiNO	0,569123	0,000000	0,282105	0,225755
PhiNPQ	0,769080	0,000000	0,091175	0,111474
PS1AC	0,606788	0,021416	0,132160	0,002809
PS1OpC	0,513294	0,625212	0,590628	0,017348
PS1ORC	0,860150	0,134780	0,729858	0,031267
PS1OxC	0,704504	0,169039	0,404169	0,175764
RC	0,523367	0,000000	0,616001	0,054979

Tabulka č. 10: P-hodnoty parametrů přístroje MultispeqQ získané aplikací analýzy rozptylu pro opakovaná měření v průběhu druhé periody sucha (9.9.-21.10.2021). ve statistickém programu NCSS. Hladina významnosti $\alpha = 0,05$; hodnoty, které tomuto požadavku dostály, označeny červeně. Parametry jsou uvedeny v abecedním pořadí.

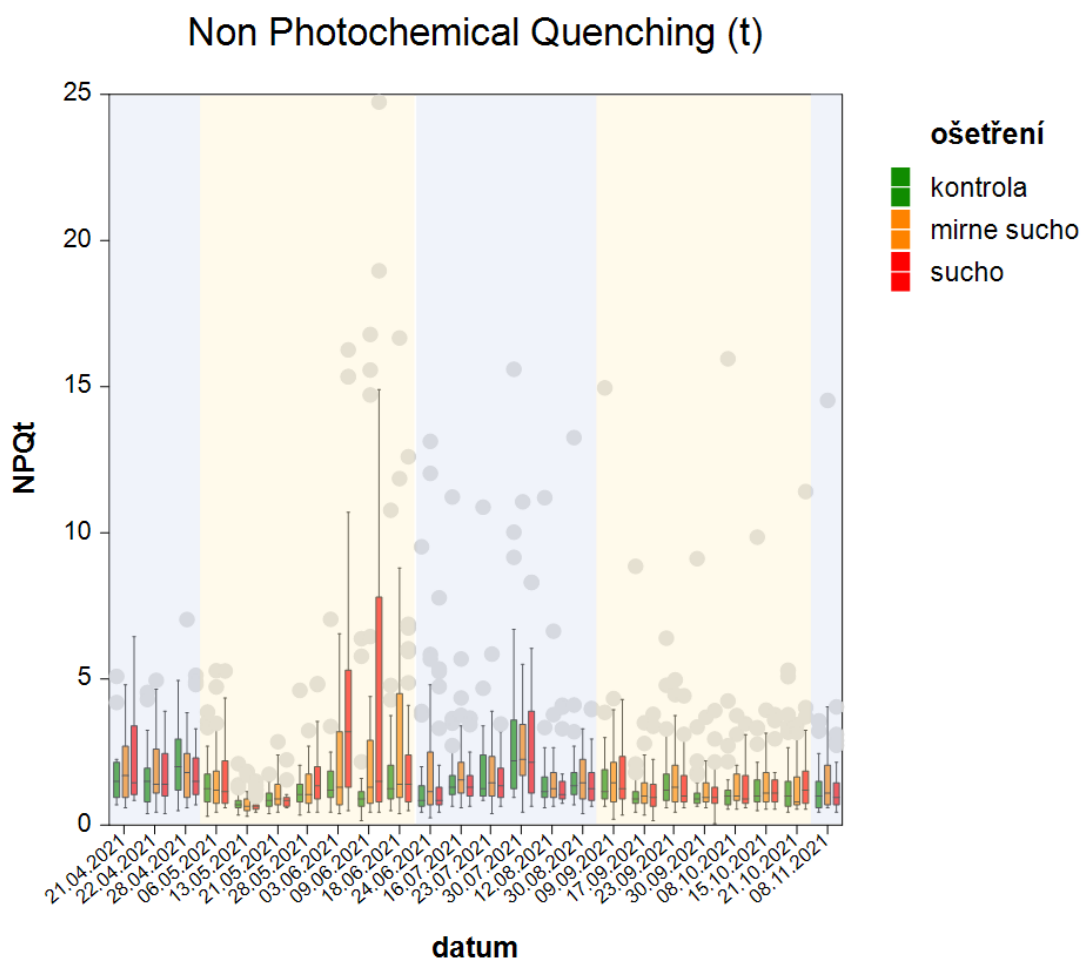
Níže jsou uvedeny grafy tří vybraných parametrů sestavené na základě analýzy rozptylu pro opakovaná měření ve statistickém programu NCSS. Zálivkový režim zahrnující první periodu sucha (měření 28.4.-9.6.), období regenerace (18.6.-30.8.) a druhou periodu sucha (9.9.-21.10.2021) je pro větší názornost vyznačen v grafech.

Graf celosezónního průběhu hodnot intenzity fotosynteticky aktivního záření (obrázek č. 21) dokládá vysoký rozptyl podmínek v termínech měření přístrojem MultispeQ. Ačkoliv byl experimentální skleník opatřen automatickými žaluziemi, závislost naměřených hodnot intenzity PAR na aktuálních meteorologických podmínkách v době měření je značná.



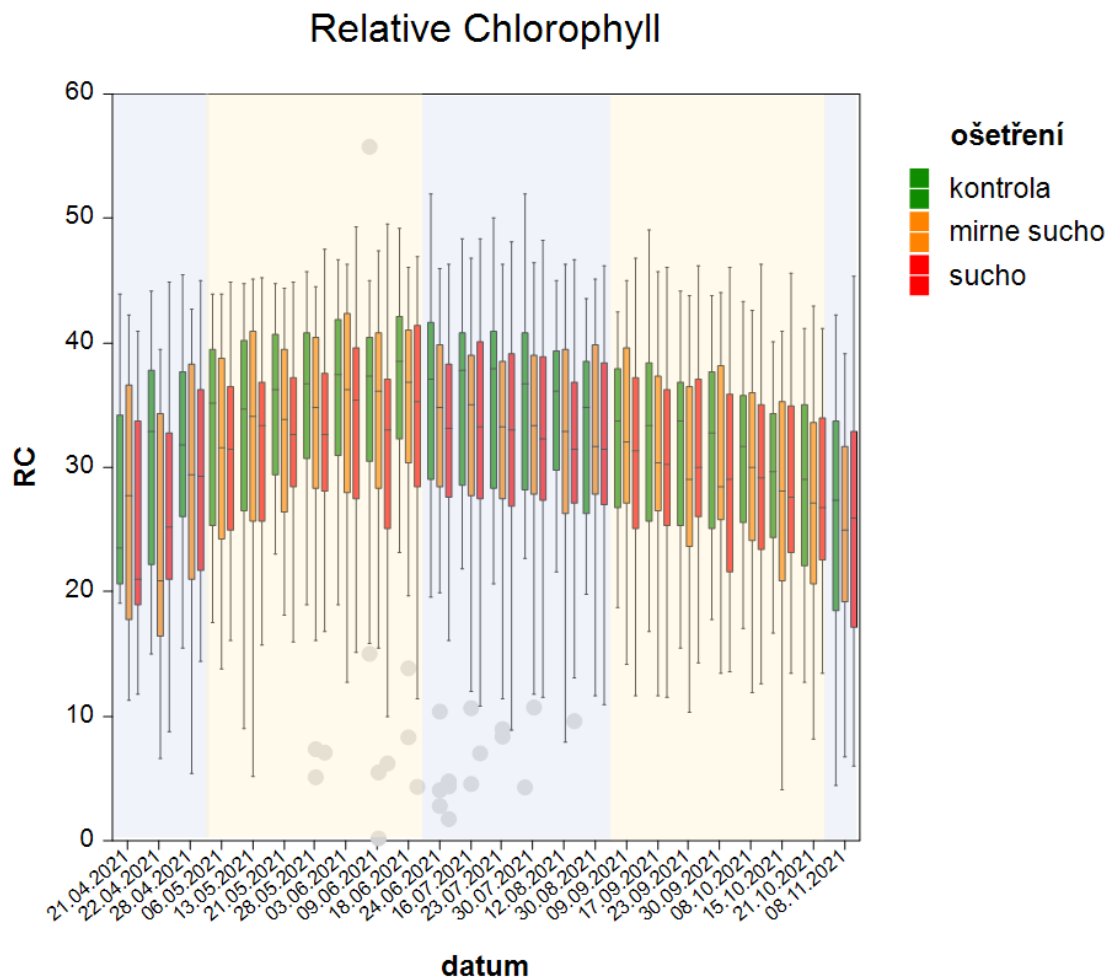
Obrázek č. 21: Průměrné hodnoty intenzity fotosynteticky aktivního záření pravidelně měřené přístrojem MultispeQ během celé sezóny 2021. Barevné kódování označuje ošetření – viz legenda grafu. Linie uvnitř krabicových diagramů odpovídají mediánu, střední části krabicových diagramů jsou ohraničeny shora linií představující 3. kvartil a zdola linií představující 1,5. kvartil. Šedé body znázorňují odlehlá pozorování.

Statistická signifikance byla u parametru NPQt (obrázek č. 22) prokázána pouze při samostatné ANOVA pro první periodu sucha, v případě druhé periody sucha a hodnocení všech měření prokázána nebyla. V průběhu první periody sucha došlo k nárůstu rozptylu naměřených hodnot (souvislost s uplatňováním nefotochemického zhášení byla diskutována v předchozí kapitole), v průběhu druhé periody sucha nedošlo k výrazným změnám, patrně s ohledem na nižší dávku stresoru. V průběhu celé experimentální sezóny byly v hojné míře naměřovány odlehle hodnoty.



Obrázek č. 22: Průměrné parametru NPQt pravidelně měřeného přístrojem MultispeQ během celé sezóny 2021. Barevné kódování označuje ošetření – viz legenda grafu. Linie uvnitř krabicových diagramů odpovídají mediánu, střední části krabicových diagramů jsou ohraničeny shora linií představující 3. kvartil a zdola linií představující 1,5. kvartil. Šedé body znázorňují odlehle pozorování.

Statistická signifikance efektu ošetření v případě relativního obsahu chlorofylu (obrázek č. 23) prokázána nebyla, lze však pozorovat charakteristický sezónní průběh koncentrace fotosyntetických pigmentů s nárůstem koncentrace na počátku vegetační sezóny v souvislosti s vývojem listů (tedy i vývojem plastidů a fotosyntetických aparátů) a poklesem koncentrace na konci vegetační sezóny v souvislosti s nástupem senescence. Odlehlé hodnoty lze pozorovat u výstupů letních měření, jejich počet je však ve srovnání s výše diskutovanými parametry nižší.

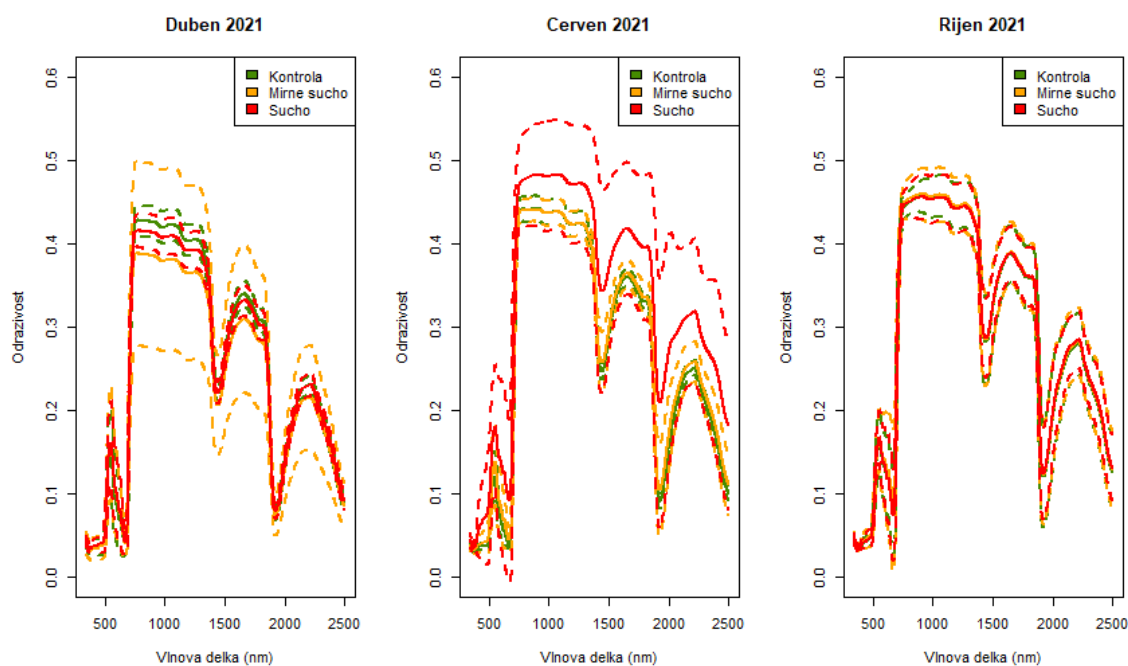


Obrázek č. 23: Průměrné hodnoty relativního obsahu chlorofylu pravidelně měřeného přístrojem MultispeQ během celé sezóny 2021. Barevné kódování označuje ošetření – viz legenda grafu. Linie uvnitř krabicových diagramů odpovídají mediánu, střední části krabicových diagramů jsou ohraničeny shora linií představující 3. kvartil a zdola linií představující 1,5. kvartil. Šedé body znázorňují odlehlá pozorování.

4.1.2 Optické vlastnosti listoví

4.1.2.1 Spektrální křivky

Obrázek č. 24 představuje průběh spektrálních křivek odrazivosti pro všechna tři měření v rámci sezóny 2021. Křivky vykazují typické rysy spektrálního chování vegetace, jakými je např. prudký nárůst hodnot odrazivosti v oblasti červeného okraje (kolem 700 nm) či absorpční pásy vody v oblasti blízkého a středního infračerveného záření. Barevné označení křivek umožňuje srovnání efektu ošetření suchem u jednotlivých skupin rostlin.



Obrázek č. 24: Průběh spektrálních křivek odrazivosti jednotlivě pro tři termíny měření (duben, červen, říjen) v rámci experimentální sezóny 2021 se zohledněním ošetření (kontrola, mírné sucho, sucho). Barevné kódování označuje ošetření – viz legenda grafu. Plná čára představuje průměrnou hodnotu odrazivosti v daném termínu měření, čárkované čáry vytyčují směrodatné odchylky naměřených hodnot.

Dubnové měření optických vlastností vegetace proběhlo před rozrůzněním zálivky. Výsledky tuto skutečnost kopírují, jak je patrné při pohledu na téměř vyrovnanou polohu průměrných spektrálních křivek všech ošetření. U rostlin kontrolních a následně ošetřených suchem je velikost rozptylu hodnot podobná, avšak u rostlin v budoucnu ošetřených mírných suchem lze pozorovat oproti předchozím skupinám několikanásobně vyšší rozptyl hodnot. To patrně souvisí s ne zcela vhodným makroskopickým rozlišením experimentálního materiálu do homogenních skupin.

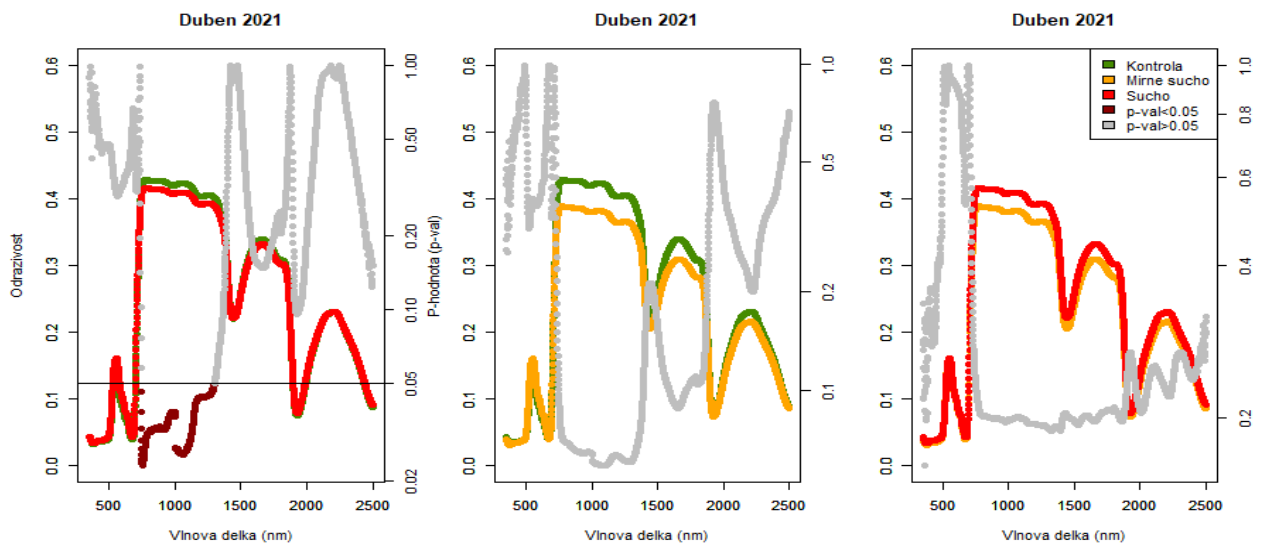
Efekt ošetření je však patrný v grafickém vyjádření výsledků červnového měření, které proběhlo přibližně 6 týdnů po diverzifikaci zálivky. U skupiny rostlin ošetřených suchem došlo k posunu průměrných hodnot směrem k vyšším hodnotám odrazivosti. Rostliny mírně

stresované suchem se svými hodnotami podobají kontrolní skupině rostlin, nicméně ve srovnání s dubnovým měřením došlo k nárůstu hodnot odrazivosti a výraznému snížení rozptylu.

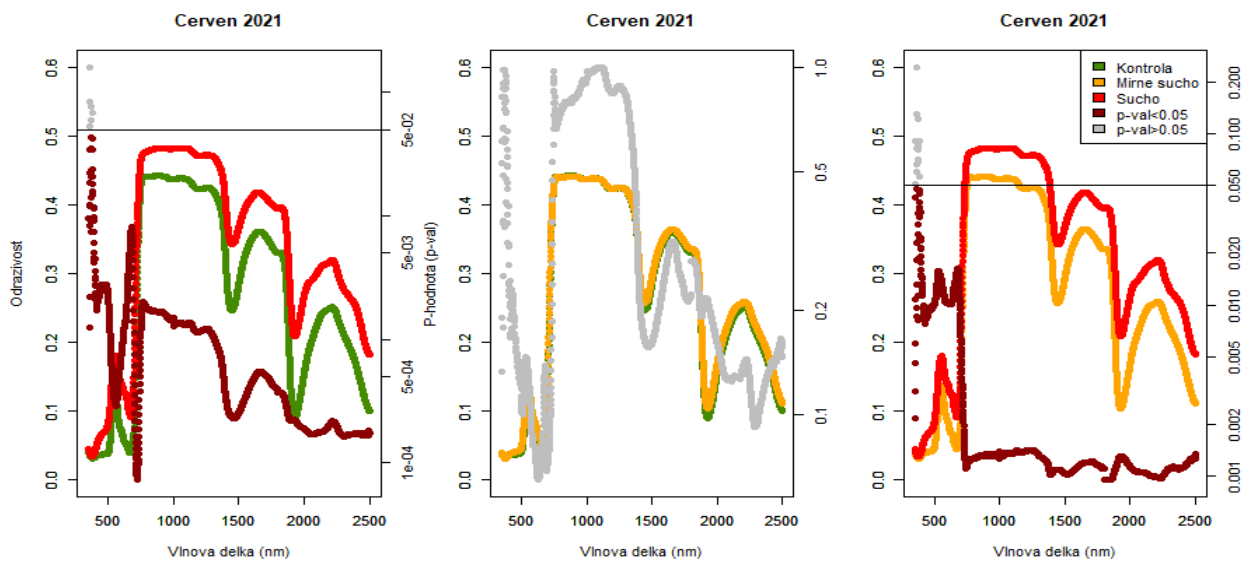
Jak dokládají výsledky říjnového měření, po proběhlých fázích regenerace a druhé periody sucha došlo opět k homogenizaci polohy spektrálních křivek odrazivosti. Klesla velikost rozptylu u skupiny rostlin ošetřených suchem a vedle homogenizace polohy křivek popisujících průměrné hodnoty došlo i k setření rozdílů mezi liniemi označujícími rozptyl hodnot. Ve srovnání se situací v dubnu 2021 je patrná poloha křivek v oblasti vyšších hodnot odrazivosti vegetace.

Obrázek č. 24 zachycuje spektrální křivky odrazivosti jednotlivých dvojic ošetření ve třech termínech měření. Výsledky potvrzují výše popisované rozdíly mezi ošetřeními – větší vyrovnanost rozdílů mezi ošetřeními před rozrušením závlivky v dubnu (včetně ne zcela homogenní skupiny rostlin následně ošetřených mírným suchem), zmenšení rozdílů mezi ošetřeními v reakci na období sucha a opětovné prohloubení rozdílů mezi ošetřeními po fázi regenerace a druhé, mírnější periody sucha. Grafy na obrázku č. 25 jsou však navíc doplněny o vykreslení p-hodnot získaných aplikací párového t-testu.

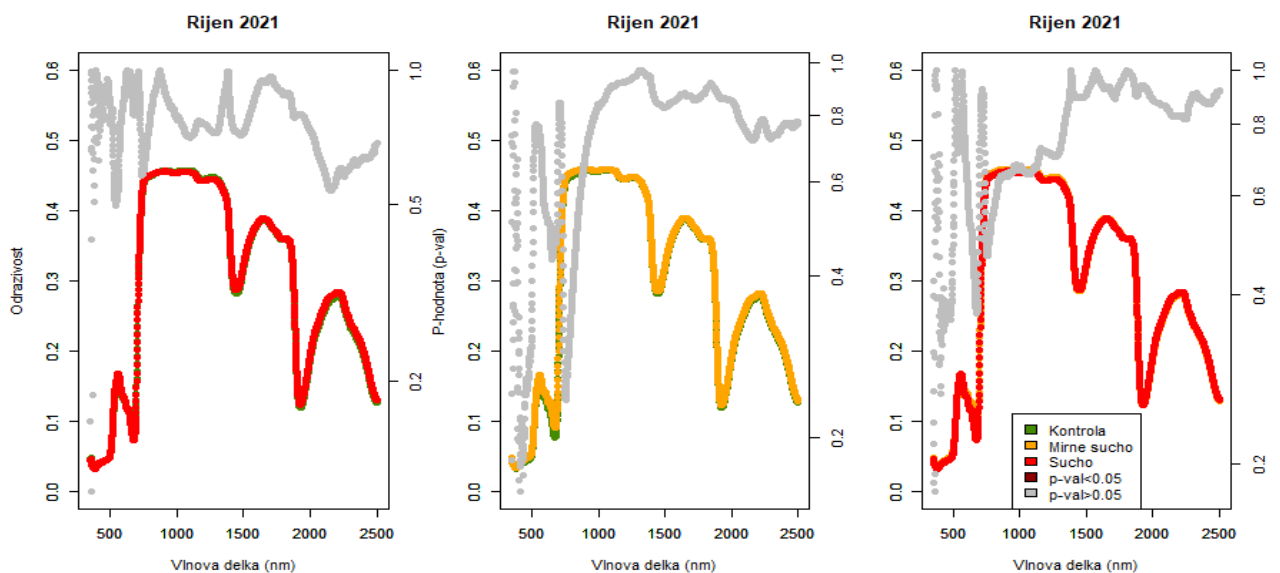
a)



b)



c)



Obrázek č. 25: Srovnání spektrálních křivek odrazivosti jednotlivých skupin rostlin odlišného ošetření ve třech termínech měření v rámci experimentální sezóny 2021 (duben – a, červen – b, říjen – c) a jejich p-hodnoty získaných aplikací párového t-testu ve statistickém programu RStudio. Barevné kódování označuje ošetření a velikost p-hodnoty vztáženou k hladině významnosti $\alpha = 0,05$ (příčná plná čára); hodnoty, které tomuto požadavku dostaly, označeny hnědě – viz legenda grafu.

Požadavku na hladinu významnosti $\alpha = 0,05$ bylo dosaženo při srovnání dubnových hodnot odrazivosti u rostlin kontrolních a ošetřených suchem (a – první graf zleva), v rámci červnového měření pak u rostlin kontrolních a ošetřených suchem (b – první graf zleva) a rostlin ošetřených mírným a silnějším suchem (b – třetí graf zleva). U žádné z dvojic ošetření se v říjnu 2021 p-hodnoty menší než 0,05 nevyskytovaly (c).

Dubnové měření proběhlo v době před rozrůzněním zálivky. Lze tedy předpokládat absenci rozdílů mezi skupinami rostlin, což dokládá srovnání kontrolních rostlin s rostlinami následně ošetřenými mírným suchem či rostlin následně ošetřených mírným suchem s rostlinami následně ošetřenými silnější dávkou sucha. Kontrolní skupina se od rostlin později ošetřených silnějším suchem liší jen v oblasti blízkého infračerveného záření (NIR), příčinu lze patrně hledat v rozdílné vnitřní struktuře listů, tedy charakteristikách, které nebylo možné makroskopicky detekovat.

Červnové měření proběhlo po první periodě sucha, na základě jeho výstupů tedy lze zhodnotit, zda je možné na základě optických vlastností listoví pozorovat odlišné trendy pro jednotlivé skupiny rostlin. Při pohledu na srovnání kontrolních rostlin s rostlinami ošetřenými suchem lze tento předpoklad potvrdit – v celém rozsahu naměřených spekter lze pozorovat statisticky signifikantní rozdíl mezi těmito skupinami. Ve viditelné části spektra (VIS) je odrazivost u rostlin ošetřených suchem vyšší než hodnoty odrazivosti naměřené u ostatních ošetření, což může indikovat pokles obsahu fotosyntetických pigmentů.

Říjnové měření proběhlo po předchozích fázích regenerace a 2 periodách snížené zálivky pro skupiny rostlin ošetřených suchem. Vyznačuje se absencí statisticky signifikantních výsledků a setřením rozdílů mezi skupinami rostlin.

4.1.2.2 *Vegetační indexy*

V programu R-studio bylo prostřednictvím aplikace lineárních modelů provedeno statistické zhodnocení vztahů vybraných VI se studovanými parametry.

První skupinu vegetačních indexů tvoří indexy vztahující se k obsahu chlorofylu – Vogelmann, Datt2, NDchl, RMSR a NDVI. Ty byly pomocí lineární závislosti vztaženy k celkovému obsahu chlorofylu stanoveném biochemicky. Jedním z výstupů lineárního modelu je testování signifikance lineárního vztahu mezi dvěma proměnnými. Pro testované VI byla ve všech případech prokázána velmi nízká p-hodnota, čili vysoká hladina statistické signifikance lineárního vztahu. Další kritérium hodnocení síly lineárního vztahu VI k danému biofyzikálnímu parametru byla hodnota koeficientu determinace R^2 , který udává podíl variability v datech vysvětlené daným lineárním modelem.

NDWI, MSI a NDLI, vegetační indexy vztahující se k obsahu vody, byly vztahovány k hodnotám parametrů SLA a EWT. Také pro tuto skupinu indexů platí vysoká míra statistické signifikance lineárních modelů, nicméně obecně lze shrnout, že p-hodnoty dosahují vyšších hodnot ve srovnání s modely pro chlorofylové VI. Přesto však všechny pozorované p-hodnoty dostaly požadavku na hladinu významnosti menší než 0,05.

Při pohledu na hodnoty koeficientu determinace (R^2) se však ukazuje, že obě skupiny VI se výrazně liší podílem vysvětlené variability. Z tohoto hlediska lze považovat chlorofylové VI za vhodně zvolené, jelikož kromě indexu NDVI ($R^2 = 0,29$) se průměrná hodnota R^2 pohybuje okolo 0,83 – regresní model tak vysvětluje převážnou část variability.

Problém však vyvstává u VI vztahujících se k obsahu vody. V případě indexu NDWI pro parametr SLA je vysvětleno také 29 % variability, ostatní hodnoty se však pohybují v rozmezí 1-10 % vysvětlené variability. Informační výpověď statistického modelu je tak, i přes snahu o výběr co nejvhodnějších VI, téměř mizivá.

	parametr	VI	R ²	p-hodnota
vegetační indexy (VI) vztahující se k obsahu chlorofylu	celkový obsah chlorofylu	Vogelmann	0.8291	< 2.2e-16
		Datt2	0.8345	< 2.2e-16
		NDchl	0.8494	< 2.2e-16
		RMSR	0.8342	< 2.2e-16
		NDVI	0.2934	< 2.2e-16
vegetační indexy (VI) vztahující se k obsahu vody	SLA	NDWI	0.2888	< 2.2e-16
		MSI	0.08028	3.781e-06
		NDLI	0.0545	0.0001224
	EWT	NDWI	0.01267	0.0432
		MSI	0.0352	0.001858
		NDLI	0.1062	9.655e-08

Tabulka č. 11: P-hodnoty a koeficienty determinace (R²) hodnot vegetačních indexů (VI) vztahovaných k obsahu chlorofylu (Vogelmann, Datt2, NDchl, RMSR, NDVI – hodnocení biochemicky stanoveného celkového obsahu chlorofylu) a obsahu vody (NDWI, MSI, NDLI – hodnocení parametrů SLA a EWT). Hodnoty získány využitím aplikace lineárních modelů ve statistickém programu NSCC. Hladina významnosti $\alpha = 0,05$; hodnoty, které tomuto požadavku dostály, označeny červeně.

Statistické zhodnocení zjištěných VI v průběhu první experimentální sezóny proběhlo stejným způsobem jako v případě biofyzikálních parametrů, tedy prostřednictvím jednovýběrové analýzy rozptylu (ANOVA) vždy pro daný termín měření (tabulka č. 12) a aplikace post-hoc testů (tabulka č. 13).

VI vztahující se k obsahu chlorofylu	Analýza rozptylu (p-hodnoty)		
	duben	červen	říjen
Vogelmann	0,074035	0,040136	0,901376
Datt2	0,051405	0,059198	0,976747
NDchl	0,371859	0,057818	0,988434
RMSR	0,042342	0,073806	0,968706
NDVI	0,270395	0,288796	0,691621
VI vztahující se k obsahu vody			
NDWI	0,228955	0,221185	0,522794
MSI	0,200142	0,010921	0,888778
NDLI	0,093183	0,001033	0,852694

Tabulka č. 12: P-hodnoty získané aplikací analýzy rozptylu ve statistickém programu NCSS. Hladina významnosti $\alpha = 0,05$; hodnoty, které tomuto požadavku dostaly, označeny červeně. Parametry jsou uvedeny v abecedním pořadí.

VI vztahující se k obsahu chlorofylu	Post-hoc testy: Tukeyho-Kramerův (TK) / Kruskalův-Wallisův (KW) test					
	duben		červen		říjen	
Vogelmann	KW	MS-K: 2,2438	KW	S-K: 2,4038	TK	x
Datt2	TK	MS, K	KW	S-K: 2,2440	KW	x
NDchl	KW	x	KW	S-K: 2,2682	TK	x
RMSR	TK	MS, K	KW	S-K: 2,1187	TK	x
NDVI	KW	x	KW	x	KW	x
VI vztahující se k obsahu vody						
NDWI	KW	x	KW	S-K: 2,6534 MS-S: 2,4087	KW	x
MSI	KW	x	KW	S-K: 3,8565 MS-S: 1,9837	KW	S-K: 1,9632
NDLI	KW	MS-K: 2,7175 S-K: 2,3671	KW	S-K: 2,9407	KW	x

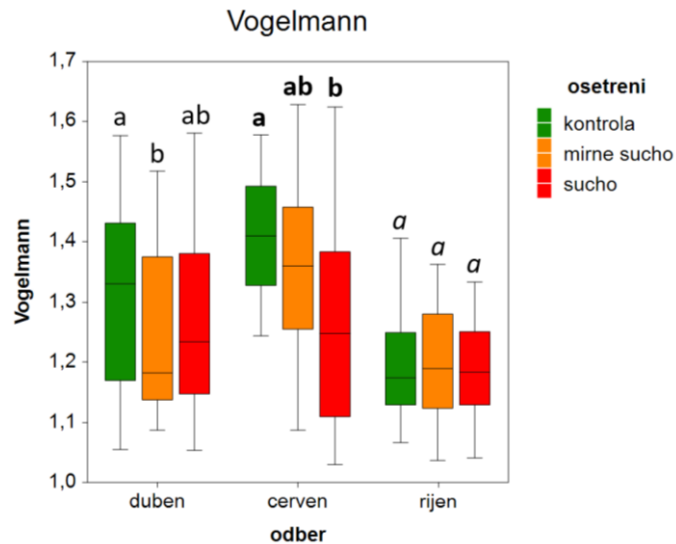
Tabulka č. 13: Statisticky signifikantní odlišnosti mezi ošetřeními zjištěné na základě aplikace post-hoc testů ve statistickém programu NCSS. KW = Kruskalův-Wallisův test, TK = Tukeyho-Kramerův test, K = kontrola, MS = mírné sucho, S = sucho, číselné údaje = z-hodnoty statisticky signifikantních parametrů, x = statisticky nesignifikantní hodnoty parametrů, zkratky parametrů – viz seznam použitých zkratk. Parametry jsou uvedeny v abecedním pořadí.

Výsledky dubnového měření, tedy v období s rovnoměrnou zálivkou všem skupinám rostlin (před započítáním stresu suchem), neposkytly po aplikaci post-hoc testů informaci o statisticky významné odlišnosti skupin u 4 VI (konkrétně NDchl, NDVI, NDWI a MSI), u 2 VI byla prokázána statisticky významná odlišnost kontrolní skupiny od rostlin ošetřených mírným suchem (Vogelmann, Datt2, RMSR). V případě indexu NDLI byla prokázána statisticky významná odlišnost kontroly od obou úrovní sucha. Převaha absence statisticky významných rozdílů může indikovat homogenitu experimentálního materiálu. Ta však patrně nebyla zcela dokonalá, jelikož srovnáním spektrálních křivek odrazivosti u jednotlivých skupin rostlin byla prokázána statisticky významná odlišnost kontrolních rostlin od skupiny posléze ošetřené silnějším suchem (viz obrázek č. 25-a). Rozdíly mezi skupinami prokazuje i statistická analýza hodnot VI – přítomnost statisticky významných odlišností mezi kontrolními rostlinami a semenáči ošetřenými mírnějším suchem je také v kontrastu s předpokladem homogenity experimentálního materiálu. Jak již bylo zmíněno, rozlišení sazenic do 3 skupin bylo provedeno pouze na základě makroskopických znaků, což může limitovat dosažení úplné homogenity materiálu.

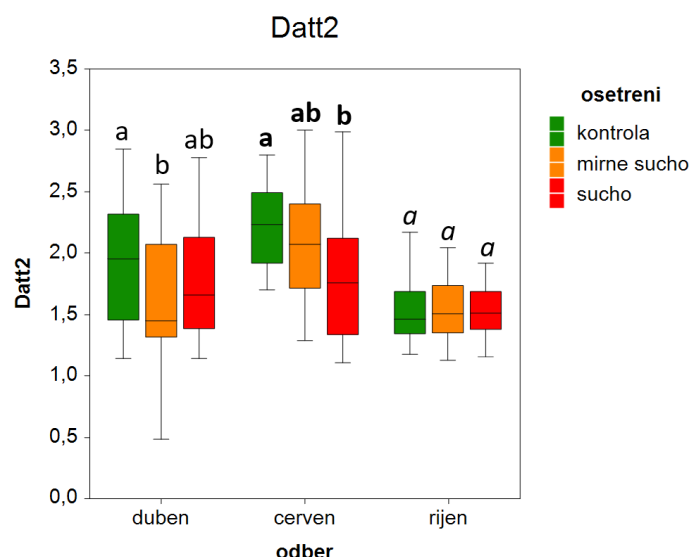
Červnové měření bylo provedeno po 6 týdnech od spuštění odstupňované zálivky. Kromě indexu NDVI byla ve všech případech dokázána statisticky významná odlišnost kontrolního materiálu od sazenic ošetřených silnějším suchem. U indexu MSI byl navíc ještě pozorován statisticky významný rozdíl mezi rostlinami pěstovanými za obou dávek sucha, rostliny ošetřené silnějším suchem se tedy odlišují od obou skupin rostlin. Výsledky jsou tedy v souladu s předpokladem, že reakci bukových semenáčů vystavených nedostatku zálivky lze pozorovat také na úrovni změn hodnot vegetačních indexů. To potvrzuje i srovnání spektrálních křivek odrazivosti u jednotlivých skupin rostlin, v rámci kterého byla v celém rozsahu naměřených spekter pozorována přítomnost statisticky významných rozdílů mezi kontrolní skupinou a rostlinami ošetřenými suchem (viz obrázek č. 25-b). Odlišení kontrolní skupiny rostlin od jedinců vystavených nedostatku zálivky bylo pozorováno také při výše popisovaném biochemickém stanovení celkového obsahu chlorofylu a stanovení relativního obsahu chlorofylu přístrojem MultispeQ (zjištění na základě transmitance, kdežto VI jsou založeny na reflektančních datech). Změny obsahu chlorofylu v listech rostlin vystavených suchu tedy lze považovat za reakci, jejíž existence byla prokázána různými metodickými přístupy.

V říjnu, tedy po delší periodě regenerace a opětovném vystavení suchu, nebyly s výjimkou indexu MSI (statisticky významná odlišnost kontrolního materiálu od rostlin ošetřených silnějším suchem) pozorovány žádné statisticky významné rozdíly napříč experimentálním materiálem. Lze tedy předpokládat, že regenerační fáze byla natolik účinná, že pozdější perioda sucha se na úrovni vegetačních indexů u experimentálního materiálu již neprojevila. Domněnku potvrzuje také fakt, že absence statisticky významných odlišností (na základě p-hodnot) byla prokázána i při srovnání spektrálních křivek odrazivosti u jednotlivých skupin rostlin (viz obrázek č. 25-c).

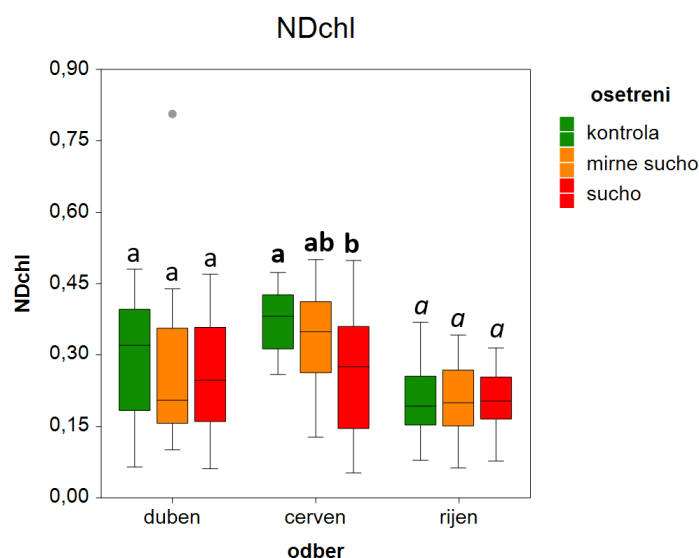
Závěrem lze konstatovat, že VI vztahující se k obsahu chlorofylu v rostlině se na základě stanovených p-hodnot, koeficientů determinace R^2 a výstupů post-hoc statistických testů jeví jako vyhovující z hlediska hodnocení reakce na stres suchem a jejich využití jako legitimní. Na základě hodnot zjištěných prostřednictvím červnového měření lze podotknout, že navzdory velmi nízkým koeficientům determinace zjištěným u VI vztahujících se k obsahu vody v rostlině se jako citlivé k ošetření suchem ukazuje i tato skupina VI.



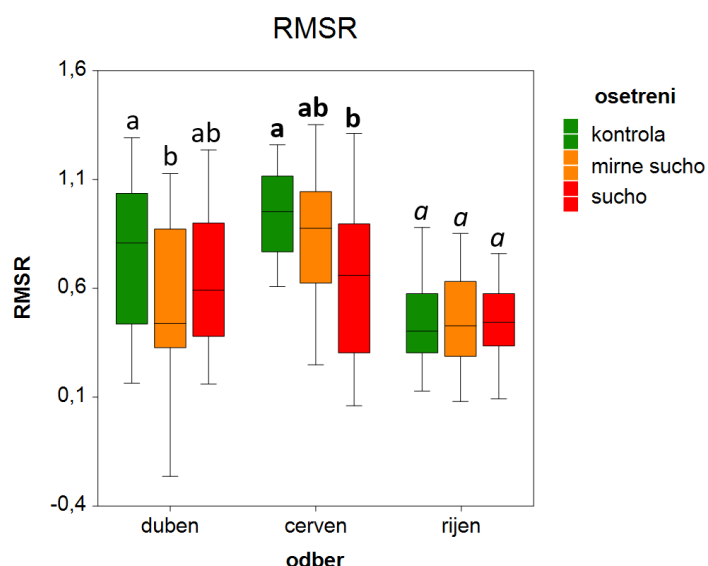
Obrázek č. 26: Vegetační index Vogelmann v termínech odběru listoví. Barevné kódování označuje ošetření – viz legenda grafu. Linie uvnitř krabicových diagramů odpovídají mediánu, střední části krabicových diagramů jsou ohraničeny shora linií představující 3. kvartil a zdola linií představující 1,5. kvartil. Šedé body znázorňují odlehlá pozorování. Písmena nad krabicovými diagramy vyjadřují statisticky signifikantní rozdíly mezi ošetřeními v rámci jednoho odběru (písmo bez zvýraznění – dubnový odběr, tučné písmo – červnový odběr, kurzíva – říjnový odběr) zjištěné na základě aplikace post-hoc testů (Kruskalův-Wallisův a Tukeyho-Kramerův test) – viz tabulka č. 13.



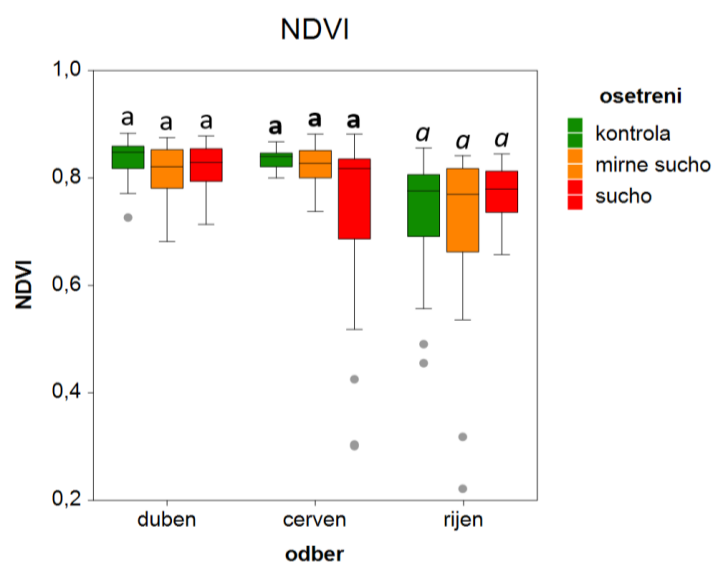
Obrázek č. 27: Vegetační index Datt2 v termínech odběru listů. Barevné kódování označuje ošetření – viz legenda grafu. Linie uvnitř krabicových diagramů odpovídají mediánu, střední části krabicových diagramů jsou ohraničeny shora linií představující 3. kvartil a zdola linií představující 1,5. kvartil. Šedé body znázorňují odlehlá pozorování. Písmena nad krabicovými diagramy vyjadřují statisticky významné rozdíly mezi ošetřeními v rámci jednoho odběru (písmo bez zvýraznění – dubnový odběr, tučné písmo – červený odběr, kurzíva – říjnový odběr) zjištěné na základě aplikace post-hoc testů (Kruskalův-Wallisův a Tukeyho-Kramerův test) – viz tabulka č. 13.



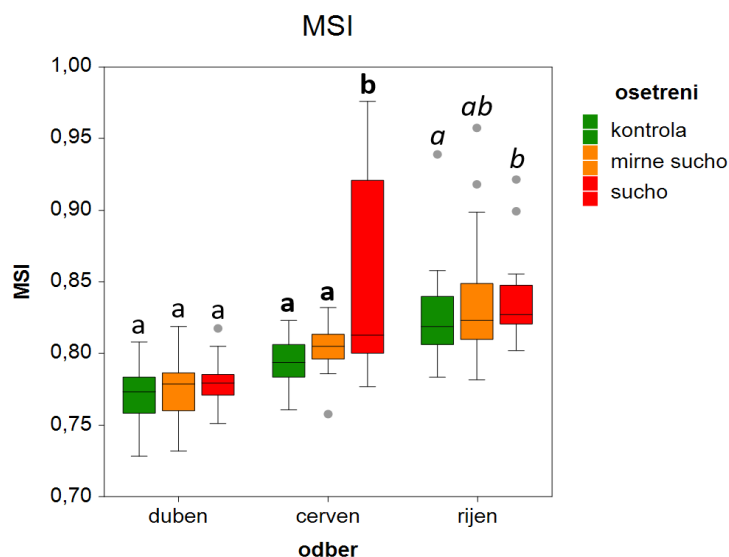
Obrázek č. 28: Vegetační index NDchl v termínech odběru listů. Barevné kódování označuje ošetření – viz legenda grafu. Linie uvnitř krabicových diagramů odpovídají mediánu, střední části krabicových diagramů jsou ohraničeny shora linií představující 3. kvartil a zdola linií představující 1,5. kvartil. Šedé body znázorňují odlehlá pozorování. Písmena nad krabicovými diagramy vyjadřují statisticky významné rozdíly mezi ošetřeními v rámci jednoho odběru (písmo bez zvýraznění – dubnový odběr, tučné písmo – červený odběr, kurzíva – říjnový odběr) zjištěné na základě aplikace post-hoc testů (Kruskalův-Wallisův a Tukeyho-Kramerův test) – viz tabulka č. 13.



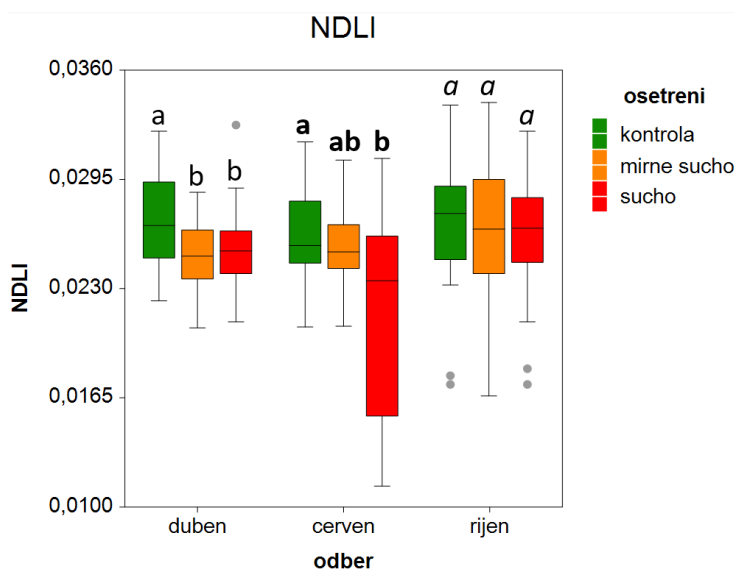
Obrázek č. 29: Vegetační index RMSR v termínech odběru listů. Barevné kódování označuje ošetření – viz legenda grafu. Linie uvnitř krabicových diagramů odpovídají mediánu, střední části krabicových diagramů jsou ohraničeny shora linií představující 3. kvartil a zdola linií představující 1,5. kvartil. Šedé body znázorňují odlehlá pozorování. Písmena nad krabicovými diagramy vyjadřují statisticky významné rozdíly mezi ošetřeními v rámci jednoho odběru (písmo bez zvýraznění – dubnový odběr, tučné písmo – červnový odběr, kurzíva – říjnový odběr) zjištěné na základě aplikace post-hoc testů (Kruskalův-Wallisův a Tukeyho-Kramerův test) – viz tabulka č. 13.



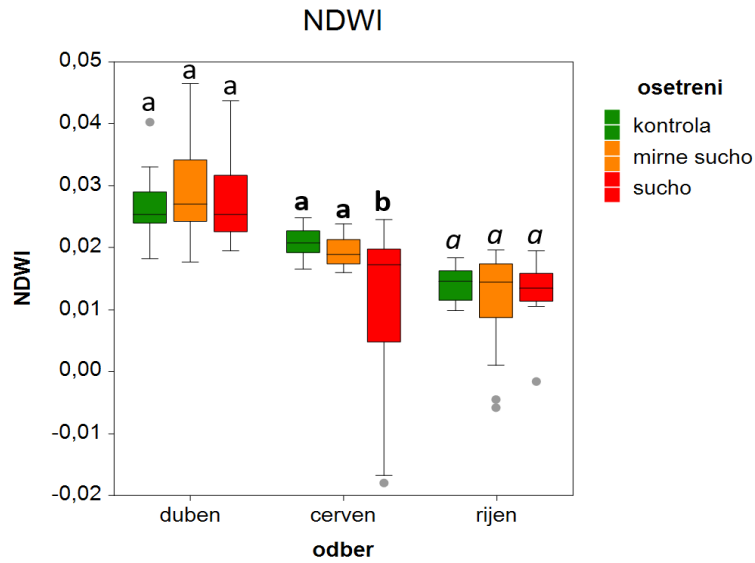
Obrázek č. 30: Vegetační index NDVI v termínech odběru listů. Barevné kódování označuje ošetření – viz legenda grafu. Linie uvnitř krabicových diagramů odpovídají mediánu, střední části krabicových diagramů jsou ohraničeny shora linií představující 3. kvartil a zdola linií představující 1,5. kvartil. Šedé body znázorňují odlehlá pozorování. Písmena nad krabicovými diagramy vyjadřují statisticky významné rozdíly mezi ošetřeními v rámci jednoho odběru (písmem bez zvýraznění – dubnový odběr, tučným písmem – červnový odběr, kurzívou – říjnový odběr) zjištěné na základě aplikace post-hoc testů (Kruskalův-Wallisův a Tukeyho-Kramerův test) – viz tabulka č. 13.



Obrázek č. 31: Vegetační index MSI v termínech odběru listoví. Barevné kódování označuje ošetření – viz legenda grafu. Linie uvnitř krabicových diagramů odpovídají mediánu, střední části krabicových diagramů jsou ohraničeny shora linií představující 3. kvartil a zdola linií představující 1,5. kvartil. Šedé body znázorňují odlehlá pozorování. Písmena nad krabicovými diagramy vyjadřují statisticky významné rozdíly mezi ošetřeními v rámci jednoho odběru (písmo bez zvýraznění – dubnový odběr, tučné písmo – červnový odběr, kurzíva – říjnový odběr) zjištěné na základě aplikace post-hoc testů (Kruskalův-Wallisův a Tukeyho-Kramerův test) – viz tabulka č. 13.



Obrázek č. 32: Vegetační index NDLI v termínech odběru listoví. Barevné kódování označuje ošetření – viz legenda grafu. Linie uvnitř krabicových diagramů odpovídají mediánu, střední části krabicových diagramů jsou ohraničeny shora linií představující 3. kvartil a zdola linií představující 1,5. kvartil. Šedé body znázorňují odlehlá pozorování. Písmena nad krabicovými diagramy vyjadřují statisticky významné rozdíly mezi ošetřeními v rámci jednoho odběru (písmo bez zvýraznění – dubnový odběr, tučné písmo – červnový odběr, kurzíva – říjnový odběr) zjištěné na základě aplikace post-hoc testů (Kruskalův-Wallisův a Tukeyho-Kramerův test) – viz tabulka č. 13.



Obrázek č. 33: Vegetační index NDWI v termínech odběru listoví. Barevné kódování označuje ošetření – viz legenda grafu. Linie uvnitř krabicových diagramů odpovídají mediánu, střední části krabicových diagramů jsou ohraničeny shora linií představující 3. kvartil a zdola linií představující 1,5. kvartil. Šedé body znázorňují odlehlá pozorování. Písmena nad krabicovými diagramy vyjadřují statisticky významné rozdíly mezi ošetřeními v rámci jednoho odběru (písmo bez zvýraznění – dubnový odběr, tučné písmo – červnový odběr, kurzíva – říjnový odběr) zjištěné na základě aplikace post-hoc testů (Kruskalův-Wallisův a Tukeyho-Kramerův test) – viz tabulka č. 13.

4.2 Sezóna 2022

4.2.1 Biofyzikální parametry

V průběhu experimentální sezóny 2022 byly hodnoceny pouze biofyzikální parametry, měření přístrojem MultispeQ bylo nahrazeno stanovením obsahu prolinu ve vzorcích listové a měřením systémem Li-COR. Statisticky byly hodnoty biofyzikálních parametrů testovány na základě dvojího přístupu – byly testovány jak datové soubory pro jednotlivé odběry vzorků, tak i datové soubory sdružující termíny odběrů do 3 period s odlišným režimem závlivky (tedy souhrn dat z 2 měření v rámci fáze regenerace, ze 3 měření v rámci periody sucha a ze 2 měření v rámci další regenerační periody s vyrovnanou závlivkou všem jedincům).

Jednovýběrová ANOVA pro jednotlivá měření prokázala statistickou signifikanci pouze u celkového obsahu chlorofylu ve 3 termínech, ve stejných termínech byla aplikací post-hoc testů prokázána statisticky signifikantní odlišnost mezi skupinami rostlin. Statistická signifikance byla u tohoto parametru prokázána také u měření v průběhu periody sucha, kromě obsahu chlorofylu toto platí i pro poměr karotenoidů vůči chlorofylu. Post-hoc testy jsou v souladu se statistickou signifikancí založenou na p-hodnotách.

Výsledky tedy naznačují, že biochemicky stanovený obsah chlorofylu (a případně také poměr karotenoidů vůči chlorofylu) je účinným indikátorem stresu způsobeného nedostatkem vody. Ostatní parametry – obsah vody vyjádřený jako EWT a specifická listová plocha – se v tomto kontextu (kromě výsledků post-hoc testu hodnot SLA v 1 z termínů) nejeví jako přínosné pro zhodnocení reakcí studovaných rostlin na působení stresu suchem.

Tabulka č. 14 shrnuje p-hodnoty získané aplikací jednovýběrové analýzy rozptylu (ANOVA) vždy pro daný termín měření.

	Analýza rozptylu (p-hodnoty)						
parametry BIOFYZ.	13.5. 2022	3.8. 2022	12.8. 2022	19.8. 2022	26.8. 2022	14.9. 2022	21.9. 2022
Celk. chlor.	0,88863	0,03126	0,03960	0,09559	0,02869	0,43497	0,06768
EWT	0,25408	0,62483	0,21024	0,22192	0,79340	0,84754	0,16545
Kar. vs. chlor.	0,66538	0,09357	0,11488	0,19181	0,32046	0,21593	0,37428
SLA	0,53505	0,88112	0,12957	0,36546	0,52675	0,43775	0,94478

Tabulka č. 14: P-hodnoty získané aplikací analýzy rozptylu ve statistickém programu NCSS. Východními daty jsou jednotlivé odběry a výpočty biochemických parametrů (celkem 7 termínů). Hladina významnosti $\alpha = 0,05$; hodnoty, které tomuto požadavku dostaly, označeny červeně. Parametry jsou uvedeny v abecedním pořadí.

Provedeny byly také post-hoc testy, jejichž výstupy jsou uvedeny v tabulce č. 15.

parametry BIOFYZ.	Post-hoc testy: Tukeyho-Kramerův (TK) / Kruskalův-Wallisův (KW) test						
	13.5. 2022	3.8. 2022	12.8. 2022	19.8. 2022	26.8. 2022	14.9. 2022	21.9. 2022
Celk. chlor.	KW: x	KW: MS-K: 2,4450	KW: MS-K: 2,0382 MS-S: 2,2352	KW: x	KW: MS-K: 2,3494	KW: x	KW: x
EWT	KW: x	KW: x	KW: x	KW: x	KW: x	KW: x	KW: x
Kar. vs. chlor.	KW: x	TK: x	KW: MS-K: 2,0582	KW: MS-K: 1,9880	KW: x	KW: x	TK: x
SLA	TK: x	KW: x	KW: S-K: 2,1279	KW: x	KW: x	KW: x	KW: x

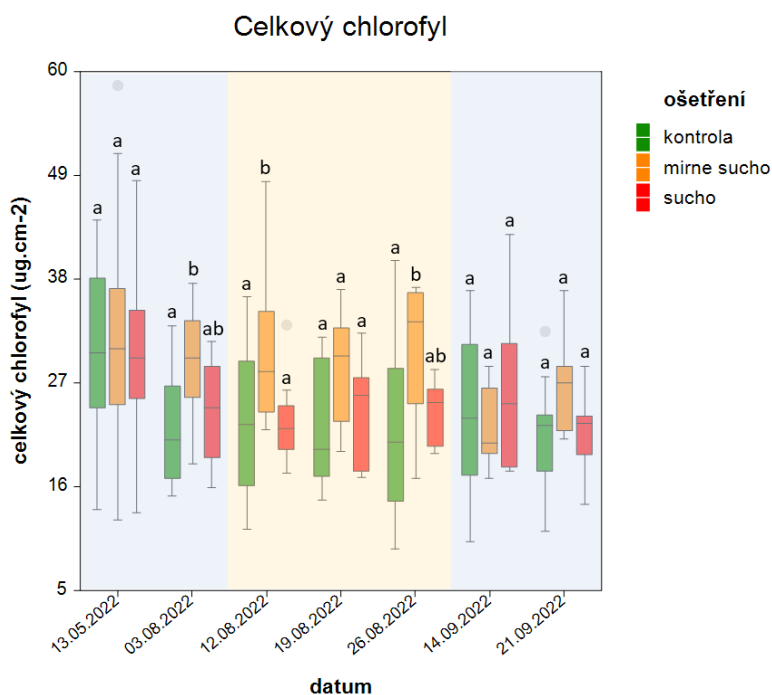
Tabulka č. 15: Statisticky signifikantní odlišnosti mezi ošetřeními zjištěné na základě aplikace post-hoc testů ve statistickém programu NCSS. Výchozími daty jsou jednotlivé odběry a výpočty biochemických parametrů (celkem 7 termínů). KW = Kruskalův-Wallisův test, TK = Tukeyho-Kramerův test, K = kontrola, MS = mírné sucho, S = sucho, číselné údaje = z-hodnoty statisticky signifikantních parametrů, x = statisticky nesignifikantní hodnoty parametrů. Parametry jsou uvedeny v abecedním pořadí.

V následující části jsou uvedeny grafy znázorňující celosezónní průběh hodnot studovaných biofyzikálních parametrů – specifické listové plochy, obsahu vody vyjádřeného jako EWT, celkového obsahu chlorofylu a poměru karotenoidů vůči chlorofylu.

4.2.1.1 Obsah chlorofylu

Aplikace ANOVA odhalila přítomnost statistické signifikance hodnot celkového obsahu chlorofylu u třech termínů biofyzikálních odběrů – 3.8., 12.8. a 26.8 (obrázek č. 34). Ve stejných termínech byla prokázána také statisticky signifikantní odlišnost mezi ošetřeními – 3.8. mezi kontrolními rostlinami a skupinou rostlin ošetřenou mírným suchem, 12.8. mezi kontrolou a rostlinami ošetřenými mírným suchem a zároveň kontrolou a rostlinami ošetřenými silnějším suchem, 26.8. mezi kontrolními rostlinami a rostlinami pěstovanými za mírného sucha (Kruskalův-Wallisův test pro všechny termíny odběrů).

Výsledky prvního termínu měření (13.5.) se vyznačuje vysokým rozptylem a téměř vyrovnanou polohou mediánových linií v krabicových diagramech. V průběhu dalších měření došlo ke zmenšení velikosti rozptylu naměřených hodnot. Příčina tkví pravděpodobně v synchronizaci vývojových stádií listů, jelikož v době prvního měření byly makroskopické rozdíly mezi rostlinami výraznější. Došlo také k rozrůznění polohy mediánových linií – kromě měření v termínu 14.9. se nejvyšší hodnoty celkového obsahu chlorofylu vyskytují u rostlin ošetřených mírným suchem.

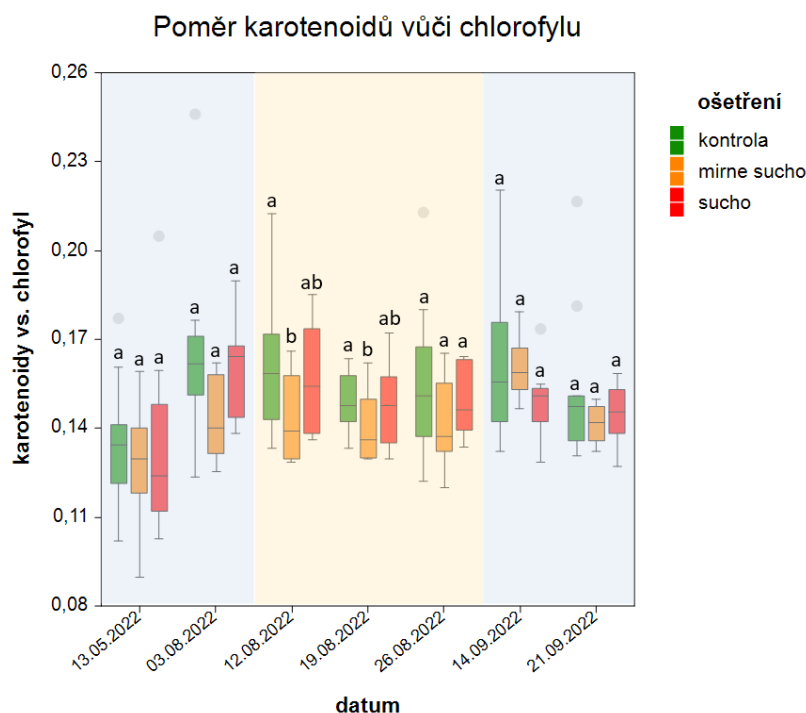


Obrázek č. 34: Biochemicky stanovený celkový obsah chlorofylu v termínech odběrů pro stanovení hodnot biofyzikálních parametrů. Zálivkový režim je znázorněn barevným podbarvením grafu – první odběr proběhl ještě za rovnoměrné zálivky mezi ošetřeními (světle modrá), následující 4 odběry proběhly v průběhu periody sucha (světle oranžová) a závěrečné 2 odběry v regenerační fázi, opět s rovnoměrnou zálivkou mezi ošetřeními (světle modrá). Barevné kódování krabicových diagramů označuje ošetření – viz legenda grafu. Linie uvnitř krabicových diagramů odpovídají mediánu, střední části krabicových diagramů jsou ohraničeny shora linií představující 3. kvartil a zdola linií představující 1,5. kvartil. Šedé body znázorňují odlehlá pozorování. Písmena nad krabicovými diagramy vyjadřují statisticky signifikantní rozdíly mezi ošetřeními v rámci jednoho odběru zjištěné na základě aplikace post-hoc testů (Kruskalův-Wallisův a Tukeyho-Kramerův test) – viz tabulka č. 15.

4.2.1.2 Poměr karotenoidů vůči chlorofylu

Statistická signifikance na základě p-hodnot (ANOVA) nebyla pro poměr karotenoidů vůči chlorofylu prokázána u žádného z termínů biofyzikálních odběrů (obrázek č. 35). Statisticky signifikantní odlišnosti mezi skupinami rostlin s různou mírou zálivky byly prokázány v případě odběrů v termínech 12.8. a 19.8. (Kruskalův-Wallisův test), tedy v termínech měření v periodě sucha. V případě ostatních termínů (na konci periody sucha a v následující fázi regenerace) statisticky signifikantní odlišnosti prokázány nebyly (Kruskalův-Wallisův test pro 13.5., 26.8. a 14.9., Tukeyho-Kramerův test pro 3.8. a 21.9.), dochází k setření rozdílů mezi skupinami rostlin.

Ve srovnání s počátečním stavem v termínu 13.5. lze pozorovat trend v posunu mediánů směrem k vyšším hodnotám poměru karotenoidů vůči chlorofylu, hodnoty v následujících termínech měření jsou však již víceméně konstantní. Tato skutečnost může souviset s vývojovou fází listů, jelikož první měření proběhlo ve srovnání s druhým měřením (3.8.) téměř o 3 měsíce dříve.

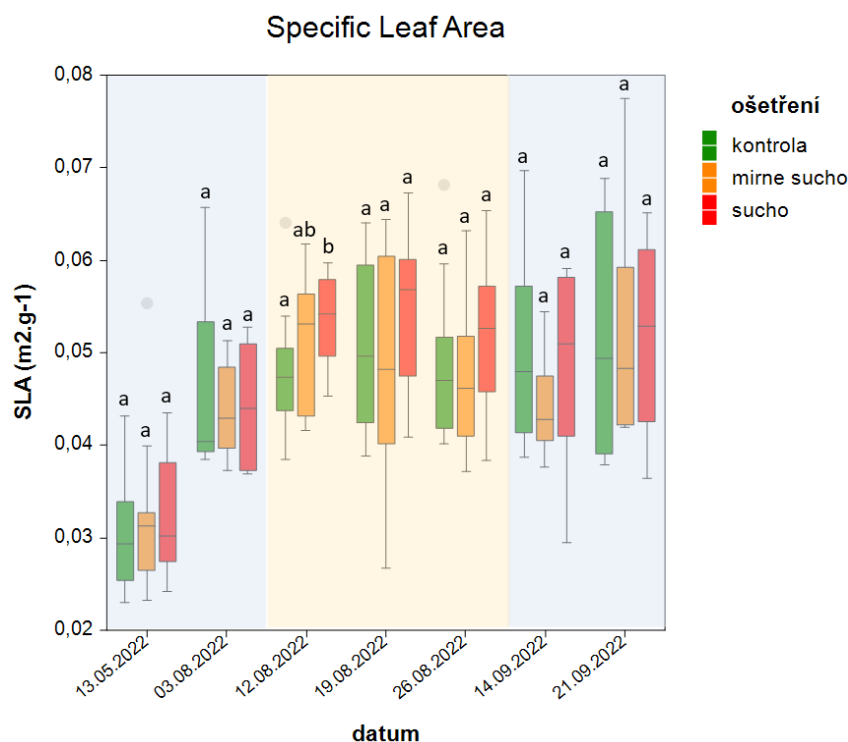


Obrázek č. 35: Poměr karotenoidů vůči chlorofylu v termínech odběrů pro stanovení hodnot biofyzikálních parametrů. Zálivkový režim je znázorněn barevným podbarvením grafu – první odběr proběhl ještě za rovnoměrné zálivky mezi ošetřeními (světle modrá), následující 4 odběry proběhly v průběhu periody sucha (světle oranžová) a závěrečné 2 odběry v regenerační fázi, opět s rovnoměrnou zálivkou mezi ošetřeními (světle modrá). Barevné kódování krabicových diagramů označuje ošetření – viz legenda grafu. Linie uvnitř krabicových diagramů odpovídají mediánu, střední části krabicových diagramů jsou ohraničeny shora linií představující 3. kvartil a zdola linií představující 1,5. kvartil. Šedé body znázorňují odlehlá pozorování. Písmena nad krabicovými diagramy vyjadřují statisticky signifikantní rozdíly mezi ošetřeními v rámci jednoho odběru zjištěné na základě aplikace post-hoc testů (Kruskalův-Wallisův a Tukeyho-Kramerův test) – viz tabulka č. 15.

4.2.1.3 Specifická listová plocha

Statistická signifikance založená na p-hodnotách (ANOVA) nebyla pro SLA prokázána u výsledků žádného z provedených odběrů (obrázek č. 36). Statisticky signifikantní rozdíl mezi třemi skupinami rostlin byl prokázán pouze v případě odběru 12.8., kdy se od sebe lišila kontrolní skupina rostlin od rostlin ošetřených suchem (Kruskalův-Wallisův test). Aplikace post-hoc testů na data získaná v ostatních termínech (Tukeyho-Kramerův test pro 13.5. a Kruskalův-Wallisův test pro všechny ostatní termíny) neprokázala přítomnost dalších statisticky signifikantních odlišností mezi ošetřeními.

Výrazný je posun mediánových linií směrem k vyšším hodnotám, který nastal mezi prvním (13.5.) a druhým (3.8.) měřením. Argumentovat lze opět rozdílnými vývojovými fázemi listoví způsobenými téměř tříměsíčním odstupem mezi termíny měření.

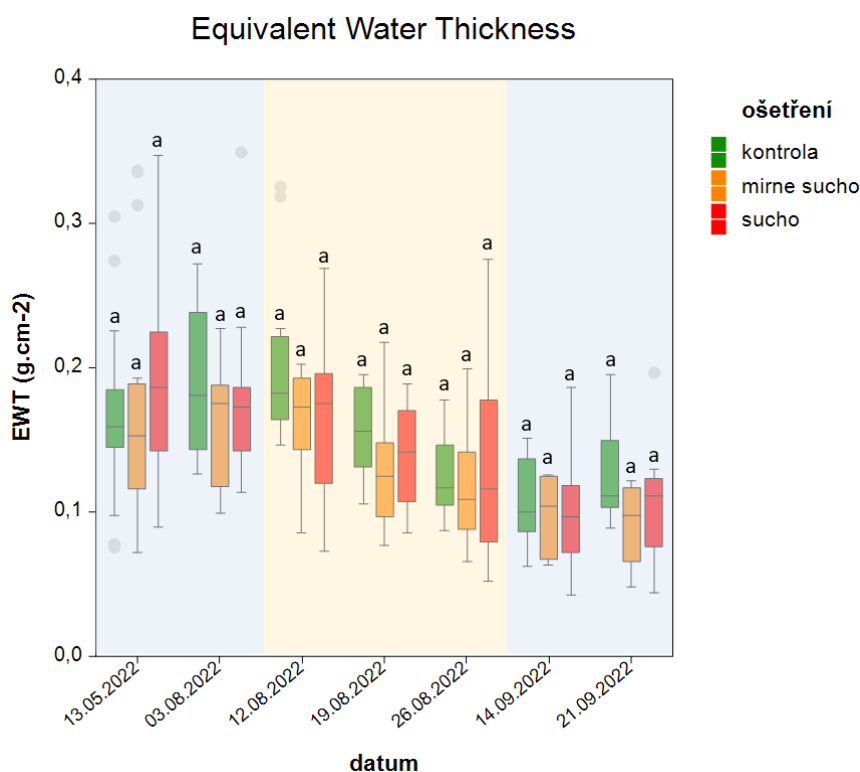


Obrázek č. 36: Specifická listová plocha (Specific Leaf Area, SLA) v termínech odběrů pro stanovení hodnot biofyzikálních parametrů. Zálivkový režim je znázorněn barevným podbarvením grafu – první odběr proběhl ještě za rovnoměrné zálivky mezi ošetřeními (světle modrá), následující 4 odběry proběhly v průběhu periody sucha (světle oranžová) a závěrečné 2 odběry v regenerační fázi, opět s rovnoměrnou zálivkou mezi ošetřeními (světle modrá). Barevné kódování krabicových diagramů označuje ošetření – viz legenda grafu. Linie uvnitř krabicových diagramů odpovídají mediánu, střední části krabicových diagramů jsou ohraničeny shora linií představující 3. kvartil a zdola linií představující 1,5. kvartil. Šedé body znázorňují odlehlá pozorování. Písmena nad krabicovými diagramy vyjadřují statisticky signifikantní rozdíly mezi ošetřeními v rámci jednoho odběru zjištěné na základě aplikace post-hoc testů (Kruskalův-Wallisův a Tukeyho-Kramerův test) – viz tabulka č. 15.

4.2.1.4 Obsah vody v listech

Stejně jako v případě SLA, také u EWT nebyla u žádného z odběrů prokázána přítomnost statistické signifikance na základě p-hodnot (ANOVA; obrázek č. 37). Absence statisticky signifikantních odlišností mezi ošetřeními se vyskytovala u všech termínů biofyzikálních odběrů (Kruskalův-Wallisův test pro všechny termíny odběrů). Ve srovnání s ostatními biofyzikálními parametry vykazuje EWT nejvyšší počet odlehlých hodnot, zejména v případě dat získaných prvním odběrem (13.5.).

V průběhu periody sucha je dobře pozorovatelný trend ve snižování polohy mediánových linií, následná fáze regenerace nezpůsobila návrat poloh mediánů na původní hodnoty EWT.



Obrázek č. 37: Obsah vody vyjádřený jako Equivalent Water Thickness (EWT) v termínech odběrů pro stanovení hodnot biofyzikálních parametrů. Zálivkový režim je znázorněn barevným podbarvením grafu – první odběr proběhl ještě za rovnoměrné zálivky mezi ošetřeními (světle modrá), následující 4 odběry proběhly v průběhu periody sucha (světle oranžová) a závěrečné 2 odběry v regenerační fázi, opět s rovnoměrnou zálivkou mezi ošetřeními (světle modrá). Barevné kódování krabicových diagramů označuje ošetření – viz legenda grafu. Linie uvnitř krabicových diagramů odpovídají mediánu, střední části krabicových diagramů jsou ohraničeny shora linií představující 3. kvartil a zdola linií představující 1,5. kvartil. Šedé body znázorňují odlehlá pozorování. Písmena nad krabicovými diagramy vyjadřují statisticky signifikantní rozdíly mezi ošetřeními v rámci jednoho odběru zjištěné na základě aplikace post-hoc testů (Kruskalův-Wallisův a Tukeyho-Kramerův test) – viz tabulka č. 15.

Statistické zhodnocení proběhlo také na základě rozdělení termínů měření dle závlivkového režimu na periodu před zahájením působení sucha s rovnoměrnou závlivkou pro všechny skupiny rostlin (13.5.), periodu sucha (3.8., 12.8., 19.8. a 26.8.) a fázi regenerace vyznačující se opět rovnoměrnou závlivkou pro všechny skupiny rostlin (14.9. a 21.9.) – viz tabulky č. 16 a 17.

Analýza rozptylu (p-hodnoty)			
parametry biofyzikální	regenerace (odběry 13.5. – 2.8. 2022, celkem 2x)	sucho (odběry 12.8. – 26.8. 2022, celkem 3x)	regenerace (odběry 14.9. – 21.9. 2022, celkem 2x)
Celk. chlor.	0,28552	0,00007	0,60381
EWT	0,26439	0,18625	0,20537
Kar. vs. chlor.	0,13553	0,00899	0,17111
SLA	0,76065	0,06628	0,81361

Tabulka č. 16: P-hodnoty získané aplikací analýzy rozptylu ve statistickém programu NCSS. Výchozími daty jsou odběry a výpočty biochemických parametrů během 3 období s různou závlivkou (2 měření v průběhu regenerace, 3 měření v průběhu periody sucha a 2 měření v průběhu další fáze regenerace). Hladina významnosti $\alpha = 0,05$; hodnoty, které tomuto požadavku dostály, označeny červeně. Parametry jsou uvedeny v abecedním pořadí.

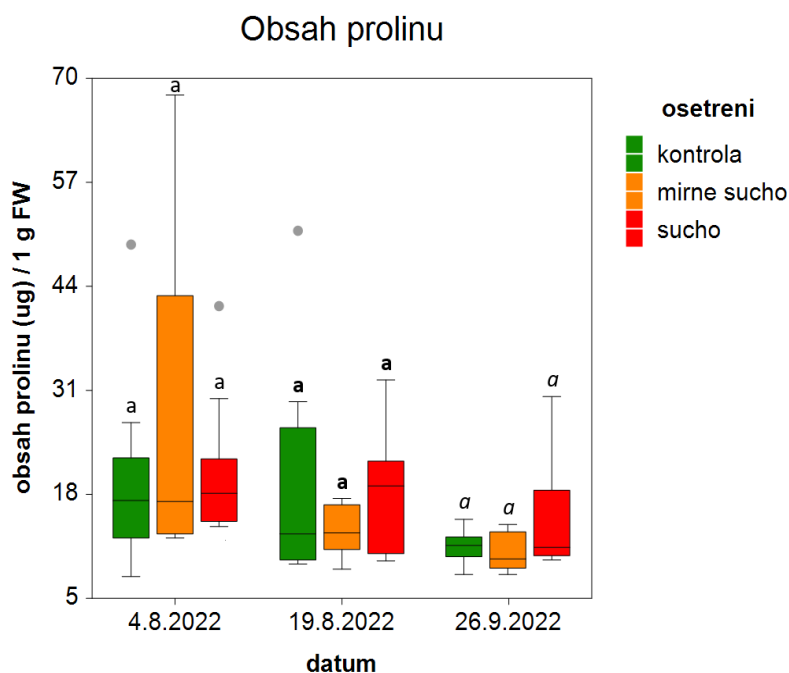
Post-hoc testy: Tukeyho-Kramerův (TK) / Kruskalův-Wallisův (KW) test			
parametry biofyzikální	regenerace (odběry 13.5. – 2.8. 2022, celkem 2x)	sucho (odběry 12.8. – 26.8. 2022, celkem 3x)	regenerace (odběry 14.9. – 21.9. 2022, celkem 2x)
Celk. chlor.	KW: x	KW: MS-K: 3,8576 MS-S: 3,2206	KW: x
EWT	KW: x	KW: x	KW: x
Kar. vs. chlor.	KW: x	TK: MS, K	TK: x
SLA	KW: x	KW: S-K: 2,4248	KW: x

Tabulka č. 17: Statisticky signifikantní odlišnosti mezi ošetřeními zjištěné na základě aplikace post-hoc testů ve statistickém programu NCSS. Výchozími daty jsou odběry a výpočty biochemických parametrů během 3 období s různou závlivkou (2 měření v průběhu regenerace, 3 měření v průběhu periody sucha a 2 měření v průběhu další fáze regenerace). KW = Kruskalův-Wallisův test, TK = Tukeyho-Kramerův test, K = kontrola, MS = mírné sucho, S = sucho, číselné údaje = z-hodnoty statisticky signifikantních parametrů, x = statisticky nesignifikantní hodnoty parametrů. Parametry jsou uvedeny v abecedním pořadí.

4.2.2 Prolin

V programu NCSS byla provedena ANOVA a statistické testování. Z důvodu nesplnění předpokladů pro ANOVA bylo přihlédnuto k výsledkům Kruskalova-Wallisova testu. Výsledky obou analýz neprokázaly statisticky signifikantní odlišnosti v hodnotách obsahu prolínu mezi ošetřeními (obrázek č. 38).

První odběr (4.8.2022) proběhl krátce před počátkem periody se sníženou závlivkou (8.8.-1.9.2022). Patrný je velký rozptyl hodnot, zejména u rostlin pěstovaných za mírného sucha. U každého ze zbývajících ošetření bylo zaznamenáno 1 odlehlé pozorování. U skupiny kontrolních rostlin se vyskytlo 1 odlehlé pozorování také při druhém odběru (19.8.2022), který byl proveden 11 dní po snížení objemu závlivky. Velikost rozptylu hodnot u rostlin ošetřených mírným suchem výrazně klesla. Došlo také k posunu mediánu u rostlin pěstovaných za silnějšího sucha směrem k vyšším hodnotám obsahu prolínu. Výsledky třetího měření, které bylo provedeno téměř měsíc po ukončení periody sucha (26.9.2022), prokázaly pokles rozptylu hodnot, zejména u rostlin kontrolních a mírně stresovaných. Klesly také mediány všech ošetření, zejména u rostlin ošetřených suchem a došlo tak ke zmenšení rozdílů mezi ošetřeními z hlediska polohy mediánu v krabicovém diagramu. Ve srovnání se situací na počátku srpna však mediánové linie leží v oblasti nižších hodnot.



Obrázek č. 38: Obsah prolínu v termínech odběru listoví. Barevné kódování označuje ošetření – viz legenda grafu. Linie uvnitř krabicových diagramů odpovídají mediánu, střední části krabicových diagramů jsou ohraničeny shora linií představující 3. kvartil a zdola linií představující 1,5. kvartil. Šedé body znázorňují odlehlá pozorování. Písmena nad krabicovými diagramy vyjadřují statisticky signifikantní rozdíly mezi ošetřeními v rámci jednoho odběru (písmo bez zvýraznění – odběr 4.8.2022, tučné písmo – odběr 19.8.2022, kurzíva – odběr 26.9.2022) zjištěné na základě aplikace post-hoc Kruskalova-Wallisova testu.

4.2.3 Gazometrická měření fotosyntetických parametrů

Vzhledem k časové náročnosti měření systémem Li-COR a snaze o získání dat ze všech experimentálních rostlin bylo každé měření rozděleno do 2 po sobě následujících dnů (16.+17.5., 1.+2.8., 15.+16.8., 22.+23.8.). Kvůli odlišnému průběhu měřených parametrů během dne (např. poklesu rychlosti fotosyntézy v poledních hodinách teplých letních dnů) bylo snahou také provedení měření v co nejvíce shodných denních dobách, aby bylo zamezeno zkreslení výsledků způsobenému odlišným časováním měření.

S ohledem na rozdílné podmínky v průběhu měření (teplota okolního vzduchu, vlhkost vzduchu) bylo přistoupeno ke statistickému testování každého dne, kdy probíhalo měření systémem Li-COR, a to i přes rozdílnou velikost datových souborů v jednotlivých termínech měření. Celkem bylo tedy hodnoceno 8 jednotlivých termínů – viz tabulky č. 18 a 19. Patrný je tento rozdíl např. v termínech 15.-16.8. lišících se výrazně teplotou okolního vzduchu – průměrná hodnota teploty pro 15.8. byla 30,05°C, kdežto o den později průměrná teplota klesla na hodnotu 24,04°C. Velký rozptyl hodnot měřených parametrů je charakteristický pro termíny s vysokými hodnotami teploty okolního vzduchu, zejména pro měření dne 15.8., kdy se průměrné teploty okolního vzduchu vyšplhaly na nejvyšší hodnoty ve srovnání s teplotami během ostatních termínů měření.

parametry Li-COR	Analýza rozptylu (p-hodnoty)							
	16.5. 2022	17.5. 2022	1.8. 2022	2.8. 2022	15.8. 2022	16.8. 2022	22.8. 2022	23.8. 2022
Okamžitá účinnost využití vody	0,0387	0,0127	0,29981	0,06649	0,87579	0,20611	0,42913	0,23687
Rychlost fotosyntézy	0,47600	0,85649	0,28939	0,53877	0,48320	0,25970	0,12175	0,29288
Rychlost transpirace	0,65210	0,91623	0,5451	0,78991	0,12325	0,21725	0,73724	0,90702
Vodivost průduchů	0,73846	0,90953	0,4213	0,1327	0,11280	0,33825	0,75049	0,54797

Tabulka č. 18: P-hodnoty získané aplikací analýzy rozptylu ve statistickém programu NCSS. Výchozími daty jsou jednotlivá měření přístrojem Li-COR (celkem 8 měření). Hladina významnosti $\alpha = 0,05$; hodnoty, které tomuto požadavku dostály, označeny červeně. Parametry jsou uvedeny v abecedním pořadí.

parametry Li-COR	Post-hoc testy: Tukeyho-Kramerův (TK) / Kruskalův-Wallisův (KW) test							
	16.5. 2022	17.5. 2022	1.8. 2022	2.8. 2022	15.8. 2022	16.8. 2022	22.8. 2022	23.8. 2022
Okamžitá účinnost využití vody	KW: x	KW: x	KW: x	KW: x	TK: x	KW: x	KW: x	KW: x
Rychlost fotosyntézy	KW: x	KW: x	KW: x	KW: x	KW: x	KW: x	KW: MS-S: 2,6795	KW: x
Rychlost transpirace	KW: x	KW: x	KW: x	KW: x	KW: x	KW: x	KW: x	KW: x
Vodivost průduchů	KW: x	KW: x	KW: x	KW: x	KW: x	KW: x	KW: x	KW: x

Tabulka č. 19: Statisticky signifikantní odlišnosti mezi ošetřeními zjištěné na základě aplikace post-hoc testů ve statistickém programu NCSS. Výchovními daty jsou jednotlivá měření přístrojem Li-COR (celkem 8 měření). KW = Kruskalův-Wallisův test, TK = Tukeyho-Kramerův test, K = kontrola, MS = mírné sucho, S = sucho, číselné údaje = z-hodnoty statisticky signifikantních parametrů, x = statisticky nesignifikantní hodnoty parametrů. Parametry jsou uvedeny v abecedním pořadí.

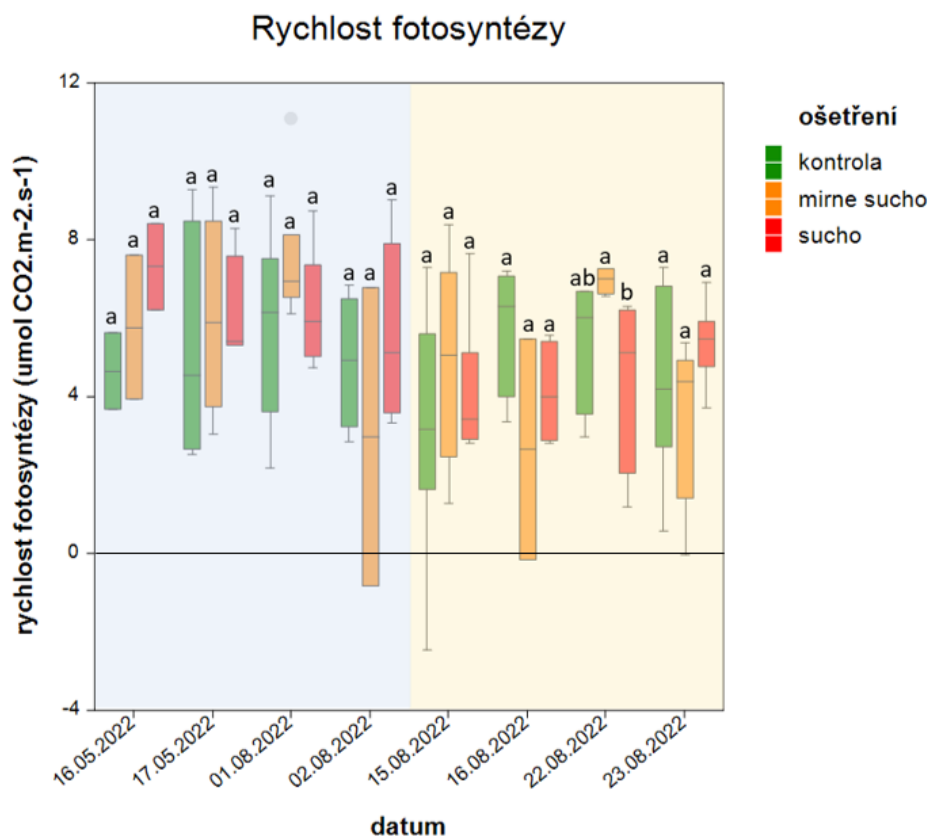
V následující části jsou uvedeny grafy znázorňující celosezónní průběh hodnot parametrů měřených přístrojem Li-COR – rychlosti fotosyntézy, vodivosti průduchů, rychlosti transpirace a okamžité účinnosti využití vody vypočítané na základě naměřených hodnot rychlosti fotosyntézy a vodivosti průduchů.

4.2.3.1 Rychlost fotosyntézy

P-hodnoty získané aplikací ANOVA neprokázaly statistickou signifikanci u žádného z termínů měření rychlosti fotosyntézy systémem Li-COR (obrázek č. 39). Post-hoc testy (Kruskalův-Wallisův test pro všechny termíny měření) odhalily statisticky signifikantní odlišnost rostlin dříve ošetřených mírným suchem od rostlin vystavených silnější míře sucha, a to v termínu 22.8., tedy přibližně dva týdny po ukončení periody sníženého objemu závlivky pro obě skupiny suchem stresovaných rostlin.

V průběhu experimentální sezóny nelze pozorovat ani výrazné trendy ve změnách velikosti rozptylu, v případě mediánových linií lze pozorovat jen velice mírný posun směrem k nižším hodnotám rychlosti fotosyntézy v průběhu periody sucha.

Naměřené hodnoty odhalují jasnou převahu fotosyntézy nad respirací, respirace byla zaznamenána pouze v období 2.-16.8. Pokles rychlosti fotosyntézy a převaha respirace pravděpodobně souvisí s meteorologickými podmínkami – jednalo se o termíny s nejvyššími teplotami v rámci celého období, kdy měření probíhala, tedy teplotami nad optimem pro rychlost fotosyntézy.



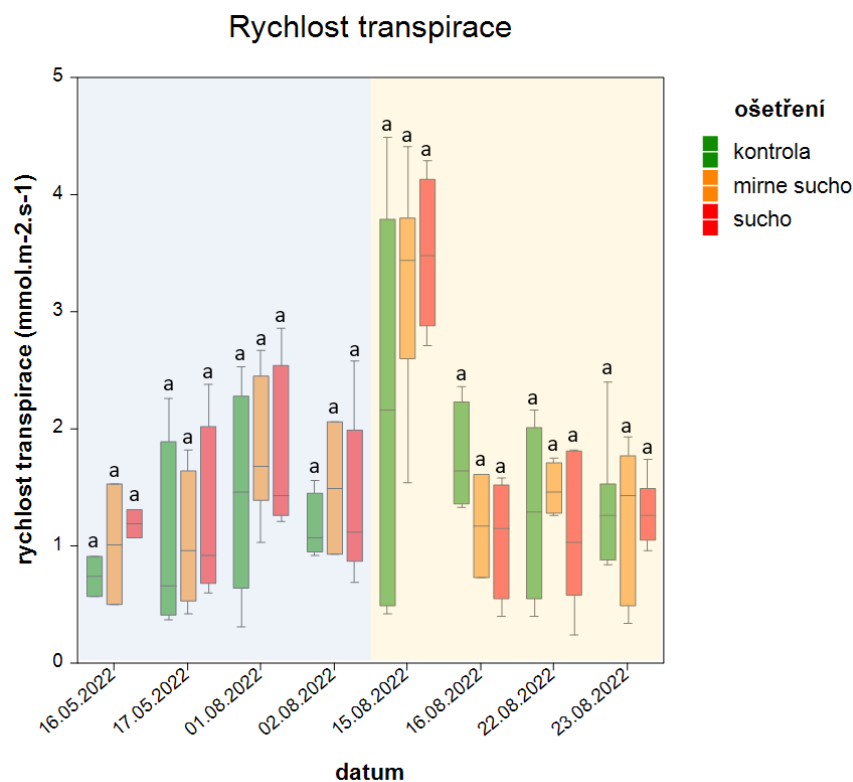
Obrázek č. 39: Rychlost fotosyntézy v termínech měření přístrojem Li-COR. Zálivkový režim je znázorněn barevným podbarvením grafu – první 4 měření proběhla za rovnoměrné zálivky mezi ošetřeními (světle modrá), další 4 měření v průběhu periody sucha (světle oranžová). Barevné kódování krabicových diagramů označuje ošetření – viz legenda grafu. Linie uvnitř krabicových diagramů odpovídají mediánu, střední části krabicových diagramů jsou ohraničeny shora linií představující 3. kvartil a zdola linií představující 1,5. kvartil. Šedé body znázorňují odlehlá pozorování. Písmena nad krabicovými diagramy vyjadřují statisticky významné rozdíly mezi ošetřeními v rámci jednoho odběru zjištěné na základě aplikace post-hoc testů (Kruskalův-Wallisův a Tukeyho-Kramerův test) – viz tabulka č. 19. Linie v nulové hodnotě rychlosti fotosyntézy odděluje fotosyntézu (kladné hodnoty rychlosti fotosyntézy) od respirace (záporné hodnoty rychlosti fotosyntézy).

4.2.3.2 Rychlost transpirace

Statistické zhodnocení naměřených hodnot rychlosti transpirace poskytlo ve všech termínech měření stejné výsledky jako zhodnocení hodnot vodivosti průduchů, tedy absenci statistické signifikance určené p-hodnotami (ANOVA) a statisticky signifikantních odlišností mezi ošetřeními (Kruskalův-Wallisův test pro všechny termíny měření) – viz obrázek č. 40.

Absence statisticky signifikantních odlišností mezi skupinami či projevu určitých trendů může být předmětem diskuze o rozdílnosti měřítek – zatímco gazometrické měření systémem Li-COR poskytuje informace na úrovni listu, informace o transpiraci na úrovni celých rostlin (tedy jejich spotřeba vody) je výsledkem měření půdní vlhkosti v kontejnerech.

Vysoké teploty v termínu 15.8. se projevily prudkým nárůstem rychlosti transpirace ve srovnání s ostatními termíny měření. Výsledky tedy potvrzují obecně platný fakt, že se zvyšující se teplotou okolního vzduchu roste také rychlost transpirace.

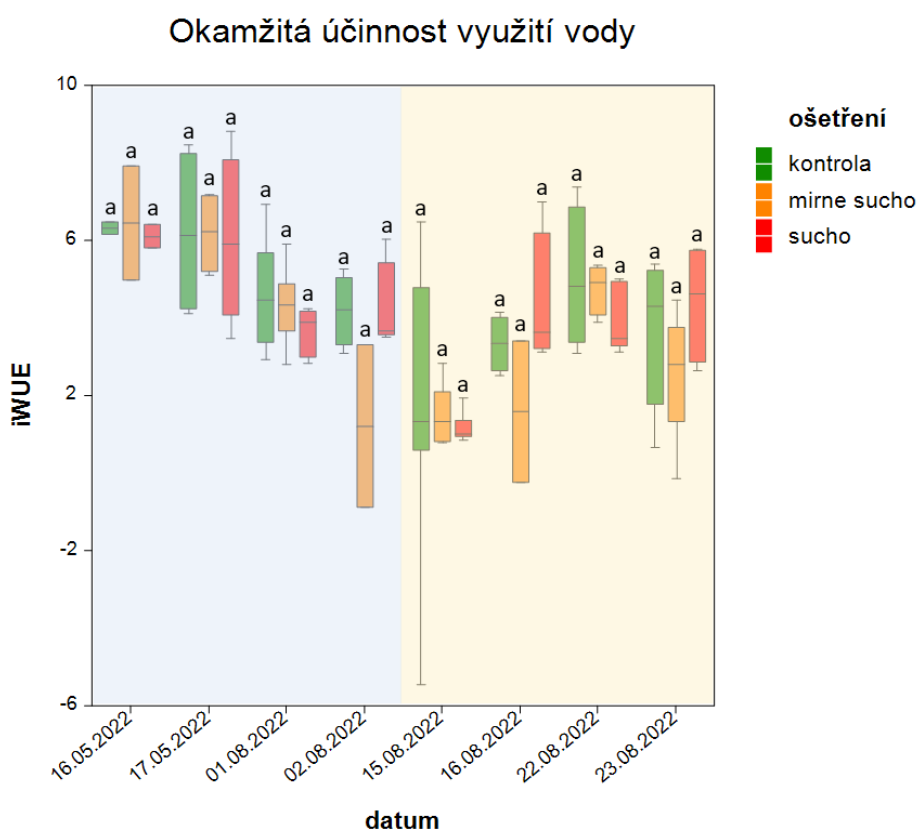


Obrázek č. 40: Rychlost transpirace v termínech měření přístrojem Li-COR. Zálivkový režim je znázorněn barevným podbarvením grafu – první 4 měření proběhla za rovnoměrné zálivky mezi ošetřeními (světle modrá), další 4 měření v průběhu periody sucha (světle oranžová). Barevné kódování krabicových diagramů označuje ošetření – viz legenda grafu. Linie uvnitř krabicových diagramů odpovídají mediánu, střední části krabicových diagramů jsou ohraničeny shora linií představující 3. kvartil a zdola linií představující 1,5. kvartil. Šedé body znázorňují odlehlá pozorování. Písmena nad krabicovými diagramy vyjadřují statisticky signifikantní rozdíly mezi ošetřeními v rámci jednoho odběru zjištěné na základě aplikace post-hoc testů (Kruskalův-Wallisův a Tukeyho-Kramerův test) – viz tabulka č. 19.

4.2.3.3 Okamžitá účinnost využití vody

Hodnoty okamžité účinnosti využití vody byly vypočítány jako podíl rychlosti fotosyntézy vůči rychlosti transpirace. Aplikací ANOVA byla zjištěna statistická signifikance tohoto parametru pouze v případě prvních dvou měření (16. a 17.5.), tedy zhruba 3 měsíce před zahájením periody sucha. Post-hoc testy neprokázaly statisticky signifikantní odlišnost mezi ošetřeními u žádného z termínů měření (Kruskalův-Wallisův test pro všechny termíny měření s výjimkou 15.8., který byl hodnocen na základě aplikace Tukeyho-Kramerova testu; viz obrázek č. 41).

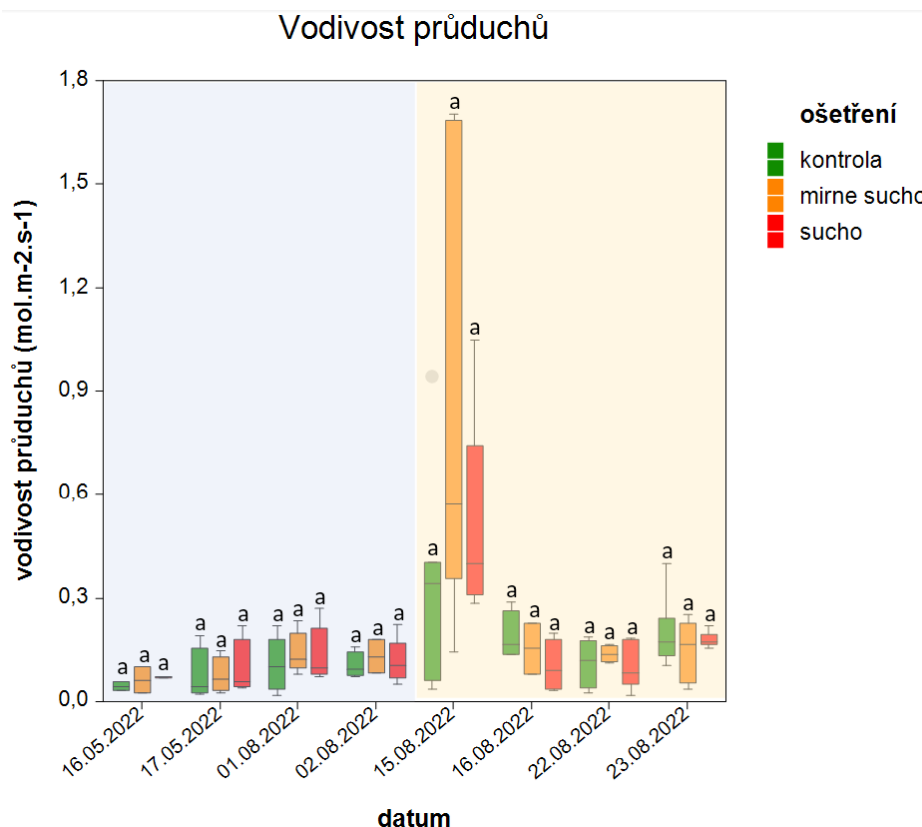
Je však nutno zdůraznit, že naměřené hodnoty iWUE poskytují informaci o účinnosti využití vody na úrovni studovaných listů. Vztažení těchto hodnot k vodnímu provozu celých semenáčků může být s ohledem na různé hierarchické úrovně poněkud problematické.



Obrázek č. 41: Okamžitá účinnost využití vody (iWUE) v termínech měření přístrojem Li-COR. Zálivkový režim je znázorněn barevným podbarvením grafu – první 4 měření proběhla za rovnoměrné zálivky mezi ošetřeními (světle modrá), další 4 měření v průběhu periody sucha (světle oranžová). Barevné kódování krabicových diagramů označuje ošetření – viz legenda grafu. Linie uvnitř krabicových diagramů odpovídají mediánu, střední části krabicových diagramů jsou ohraničeny shora linií představující 3. kvartil a zdola linií představující 1,5. kvartil. Šedé body znázorňují odlehlá pozorování. Písmena nad krabicovými diagramy vyjadřují statisticky signifikantní rozdíly mezi ošetřeními v rámci jednoho odběru zjištěné na základě aplikace post-hoc testů (Kruskalův-Wallisův a Tukeyho-Kramerův test) – viz tabulka č. 19.

4.2.3.4 Vodivost průduchů

V případě měření vodivosti průduchů systémem Li-COR nebyla pro žádný termín měření prokázána ani statistická signifikance na základě p-hodnot (ANOVA), ani statisticky signifikantní odlišnost některého z ošetření od ostatních skupin rostlin (Kruskalův-Wallisův test pro všechny termíny měření; viz obrázek č. 42).



Obrázek č. 42: Vodivost průduchů v termínech měření přístrojem Li-COR. Zálivkový režim je znázorněn barevným podbarvením grafu – první 4 měření proběhla za rovnoměrné zálivky mezi ošetřeními (světle modrá), další 4 měření v průběhu periody sucha (světle oranžová). Barevné kódování krabicových diagramů označuje ošetření – viz legenda grafu. Linie uvnitř krabicových diagramů odpovídají mediánu, střední části krabicových diagramů jsou ohraničeny shora linií představující 3. kvartil a zdola linií představující 1,5. kvartil. Šedé body znázorňují odlehlá pozorování. Písmena nad krabicovými diagramy vyjadřují statisticky signifikantní rozdíly mezi ošetřeními v rámci jednoho odběru zjištěné na základě aplikace post-hoc testů (Kruskalův-Wallisův a Tukeyho-Kramerův test) – viz tabulka č. 19.

Statistické zhodnocení proběhlo také na základě rozdělení termínů měření dle zálivkového režimu na periodu před zahájením působení sucha s rovnoměrnou zálivkou pro všechny skupiny rostlin (16.+17.5. a 1.+2.8.) a periodu sucha (15.+16.8. a 22.+23.8.) – viz tabulky č. 20 a 21. Statistické testování těchto časových období nepřineslo žádné statisticky signifikantní výsledky (ANOVA, Kruskalův-Wallisův test pro všechny termíny měření všech parametrů s výjimkou vodivosti průduchů v průběhu periody sucha, kdy bylo přistoupeno k Tukeyho-Kramerově testu).

Analýza rozptylu (p-hodnoty)		
parametry Li-COR	regenerace (měření 16.5. – 2.8. 2022, celkem 4x)	sucho (měření 15.8. – 23.8. 2022, celkem 4x)
Okamžitá účinnost využití vody	0,79364	0,53933
Rychlost fotosyntézy	0,46944	0,95098
Rychlost transpirace	0,50530	0,71451
Vodivost průduchů	0,64841	0,23349

Tabulka č. 20: P-hodnoty získané aplikací analýzy rozptylu ve statistickém programu NCSS. Výchozími daty jsou měření přístrojem Li-COR během 2 období s různou zálivkou (4 měření v průběhu regenerace a 4 měření v průběhu periody sucha). Hladina významnosti $\alpha = 0,05$; hodnoty, které tomuto požadavku dostály, označeny červeně. Parametry jsou uvedeny v abecedním pořadí.

Post-hoc testy: Tukeyho-Kramerův (TK) / Kruskalův-Wallisův (KW) test		
parametry Li-COR	regenerace (měření 16.5. – 2.8. 2022, celkem 4x)	sucho (měření 15.8. – 23.8. 2022, celkem 4x)
Okamžitá účinnost využití vody	KW: x	KW: x
Rychlost fotosyntézy	KW: x	KW: x
Rychlost transpirace	KW: x	KW: x
Vodivost průduchů	KW: x	TK: x

Tabulka č. 21: Statisticky signifikantní odlišnosti mezi ošetřeními zjištěné na základě aplikace post-hoc testů ve statistickém programu NCSS. Výchozími daty jsou měření přístrojem Li-COR během 2 období s různou zálivkou (4 měření v průběhu regenerace a 4 měření v průběhu periody sucha). KW = Kruskalův-Wallisův test, TK = Tukeyho-Kramerův test, K = kontrola, MS = mírné sucho, S = sucho, číselné údaje = z-hodnoty statisticky signifikantních parametrů, x = statisticky nesignifikantní hodnoty parametrů. Parametry jsou uvedeny v abecedním pořadí.

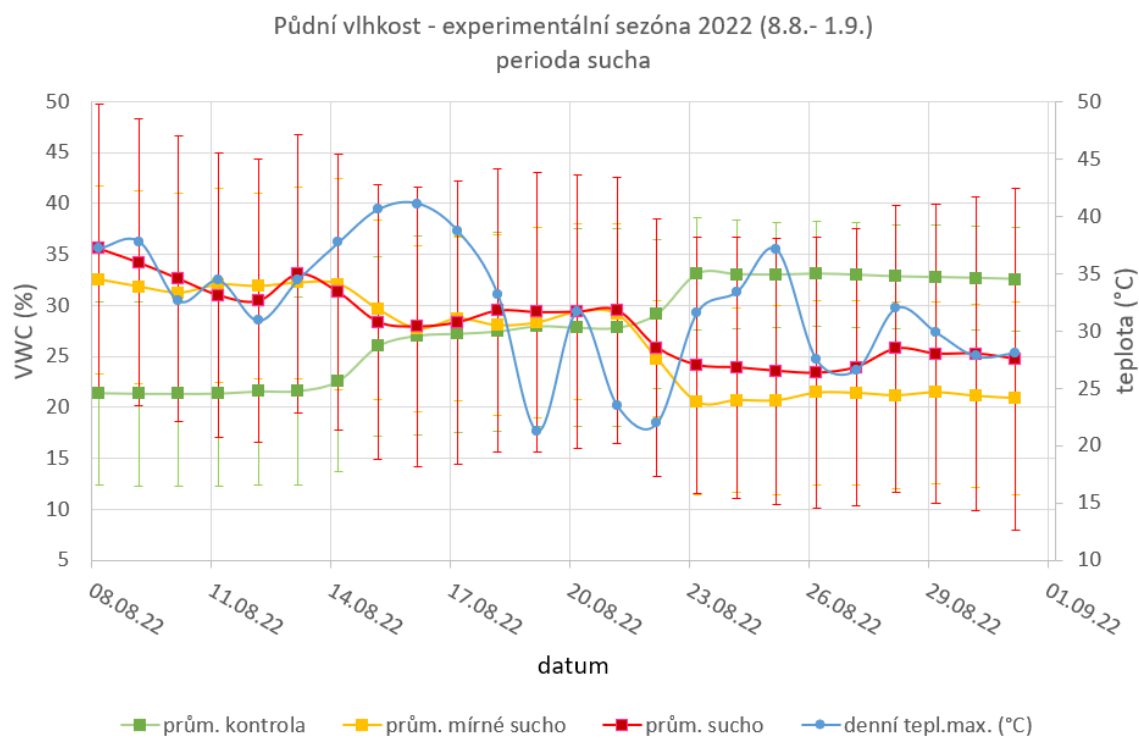
4.2.4 Půdní vlhkost

Měření vlhkosti substrátu bylo uskutečněno kapacitními vlhkostními sondami v průběhu celé experimentální sezóny 2022. Obrázek č. 43 zachycuje průběh hodnot půdní vlhkosti vyjádřené jako objemová vlhkost (VWC) pro jednotlivé skupiny rostlin v průběhu celého studovaného období. Obrázek č. 44 pak poskytuje detailnější vzhled na průběh vlhkosti substrátu a denních maxim teploty vzduchu během periody sucha, které byl experimentální materiál vystaven v období 8.8-1.9.2022. V období rovnoměrné zálivky (22.6. – 8.8. 2022) je i přes rovnoměrnou zálivku všech tří skupin patrná nižší vlhkost substrátu u kontrolní skupiny rostlin. Lze předpokládat, že může jít o efekt stresové paměti, kdy rostliny vystavené stresu suchem v předchozí sezóně omezovaly spotřebu vody a v kontejneru byla tedy při stejné zálivce detekována vyšší vlhkost. Dalším možným vysvětlením je celkově vyšší spotřeba vody kontrolních rostlin díky celkové vyšší listové ploše. Tato hypotéza však nebyla experimentálně ověřována. Popsaný rozdíl ve vlhkosti substrátu přetrvával ještě týden po omezení zálivky.

Patrné je převrácení trendů v kontinuálním průběhu vlhkosti substrátu, ke kterému došlo během periody sucha. K této pozorované změně mohlo dojít z důvodu teplotních extrémů, jelikož nejvyšší denní maximální hodnoty okolní teploty byly naměřeny právě na počátku převrácení trendů – tato skutečnost je patrná při pohledu na obrázek č. 44. Lze navrhnout, že kontrolní jedinci v důsledku vysokých teplot vykazují trend v ekonomičtějšímu chování z hlediska spotřeby vody, snižuje se míra transpirace. Tuto hypotézu však nebylo možné s ohledem na použitou gazometrickou metodu potvrdit. Závěrem je možné konstatovat, že v období rovnoměrného objemu zálivky je na úrovni celých semenáčů pozorovatelná stresová paměť v podobě míry odběru vody, v průběhu periody sucha pak rozdíl mezi skupinami rostlin. Uvedené výstupy je nutno chápat v kontextu využitých měřítek.



Obrázek č. 43: Objemová vlhkost substrátu (VWC) v průběhu celé experimentální sezóny 2022. Barevné kódování linií označuje ošetření – viz legenda grafu. Zálivkový režim je znázorněn barevným podbarvením grafu – světle modrá představuje období s rovnoměrnou zálivkou všem skupinám rostlin, světle oranžová vymezuje periodu sucha.



Obrázek č. 44: Objemová vlhkost substrátu (VWC) v průběhu periody sucha (8.8.-1.9.2022). Barevné kódování linií (zelená, oranžová, červená) označuje ošetření – viz legenda grafu. Modrá linie představuje denní teplotní maxima, která byla zaznamenána teplotním a vlhkostním datalogerem LOG32 TH.

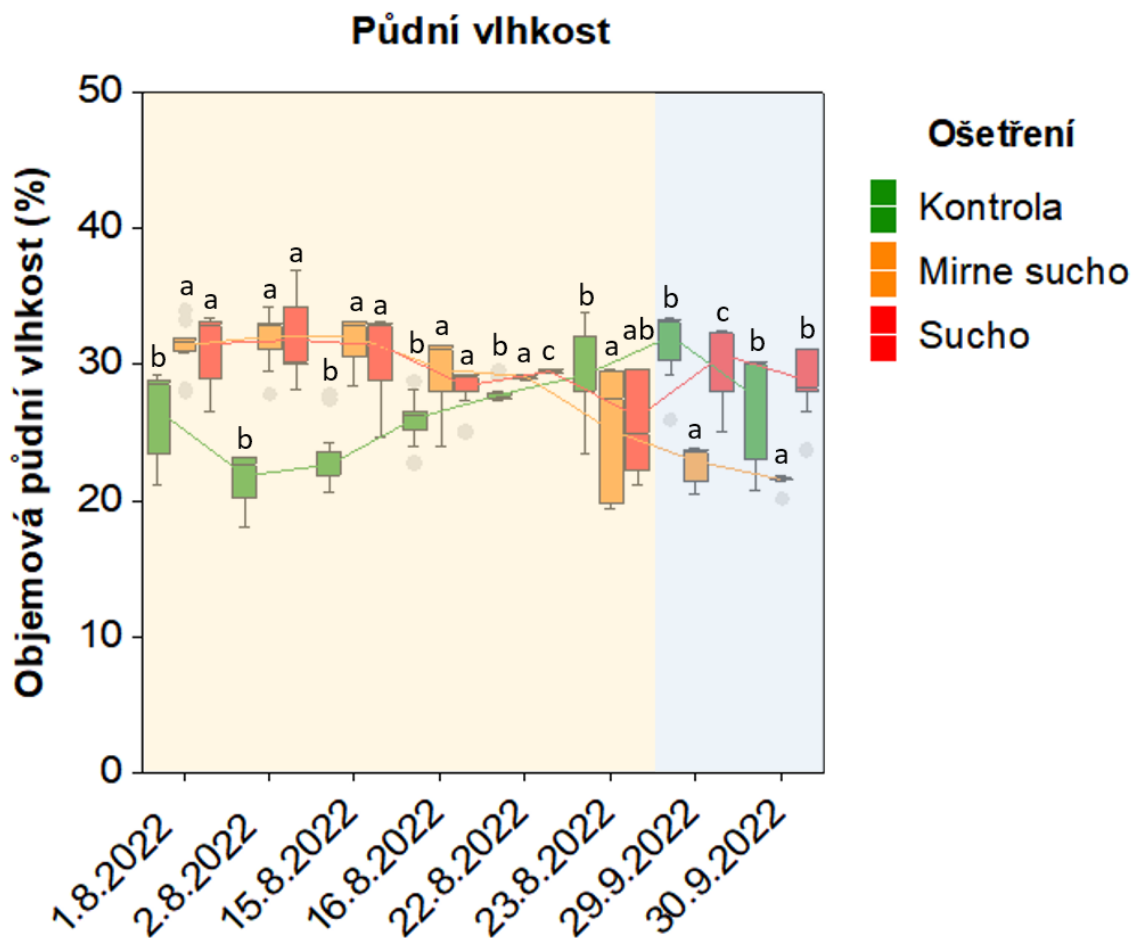
Průkaznost rozdílů ve vlhkosti substrátu (hodnoty VWC) byla následně testována v termínech gazometrického měření systémem Li-COR. Grafické vyjádření hodnot VWC v jednotlivých termínech poskytuje obrázek č. 45, statistická analýza (ANOVA, post-hoc testy) je shrnuta v tabulkách č. 22 a 23. ANOVA prokázala statistickou signifikanci hodnot VWC ve všech studovaných termínech. Post-hoc testy odhalily statisticky signifikantní odlišnosti mezi skupinami ve všech termínech – statisticky signifikantní odlišnost kontrolní skupiny od rostlin ošetřených mírným suchem byla doložena ve všech 8 termínech, statisticky signifikantní odlišnost kontroly od rostlin pěstovaných za silnějšího sucha celkem 6x, statisticky signifikantní odlišnost obou suchých variant 3x.

Analýza rozptylu (p-hodnoty)								
	1.8. 2022	2.8. 2022	15.8. 2022	16.8. 2022	22.8. 2022	23.8. 2022	29.9. 2022	30.9. 2022
VWC	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000595	0,000000	0,000000

Tabulka č. 22: P-hodnoty získané aplikací analýzy rozptylu ve statistickém programu NCSS. Výchozími daty jsou hodnoty VWC ve fázi s rovnoměrnou závlivkou následované periodou sucha a fázi regenerace (celkem 8 termínů). Hladina významnosti $\alpha = 0,05$; hodnoty, které tomuto požadavku dostály, označeny červeně.

Post-hoc testy: Tukeyho-Kramerův (TK) / Kruskalův-Wallisův (KW) test								
	1.8. 2022	2.8. 2022	15.8. 2022	16.8. 2022	22.8. 2022	23.8. 2022	29.9. 2022	30.9. 2022
VWC	KW: MS-K: 4,3449	TK: MS-K S-K	KW: MS-K: 6,4002	KW: MS-K: 5,6346	KW: MS-K: 4,0873	KW: MS-K: 2,7656	KW: MS-K: 7,1243	KW: MS-K: 5,4415
	S-K: 5,1518		S-K: 5,4760	S-K: 4,2346	S-K: 7,6043		S-K: 2,3311	MS-S: 6,0001
					MS-S: 3,5170		MS-S: 4,7932	

Tabulka č. 23: Statisticky signifikantní odlišnosti mezi ošetřeními zjištěné na základě aplikace post-hoc testů ve statistickém programu NCSS. Výchozími daty jsou hodnoty VWC ve fázi s rovnoměrnou závlivkou následované periodou sucha a fázi regenerace (celkem 8 termínů). KW = Kruskalův-Wallisův test, K = kontrola, MS = mírné sucho, S = sucho, číselné údaje = z-hodnoty statisticky signifikantních parametrů, x = statisticky nesignifikantní hodnoty parametrů.



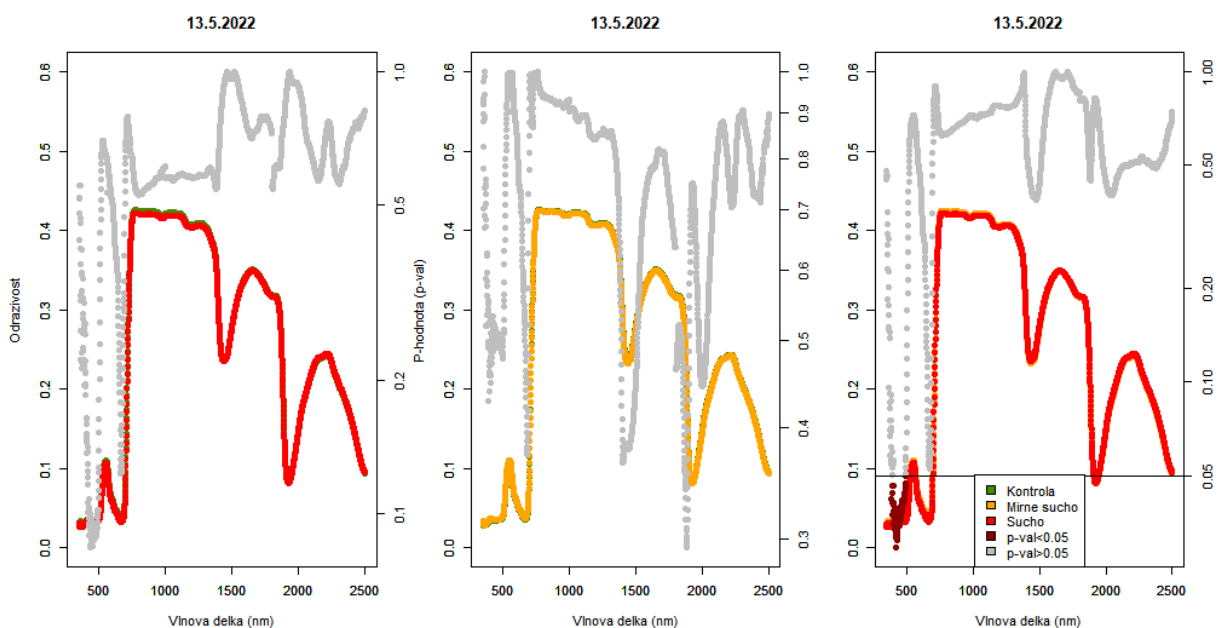
Obrázek č. 45: VWC vyjadřující půdní vlhkost. Zálivkový režim je znázorněn barevným podbarvením grafu – první 2 měření proběhla za rovnoměrné zálivky mezi ošetřeními (světle modrá), další 3 měření v průběhu periody sucha (světle oranžová). Barevné kódování krabicových diagramů označuje ošetření – viz legenda grafu. Linie uvnitř krabicových diagramů odpovídají mediánu, střední části krabicových diagramů jsou ohraničeny shora linií představující 3. kvartil a zdola linií představující 1,5. kvartil. Šedé body znázorňují odlehlá pozorování. Písmena nad krabicovými diagramy vyjadřují statisticky signifikantní rozdíly mezi ošetřeními v rámci jednoho odběru zjištěné na základě aplikace post-hoc testů (Kruskalův-Wallisův a Tukeyho-Kramerův test) – viz tabulka č. 23.

4.2.5 Optické vlastnosti listoví

4.2.5.1 Spektrální křivky

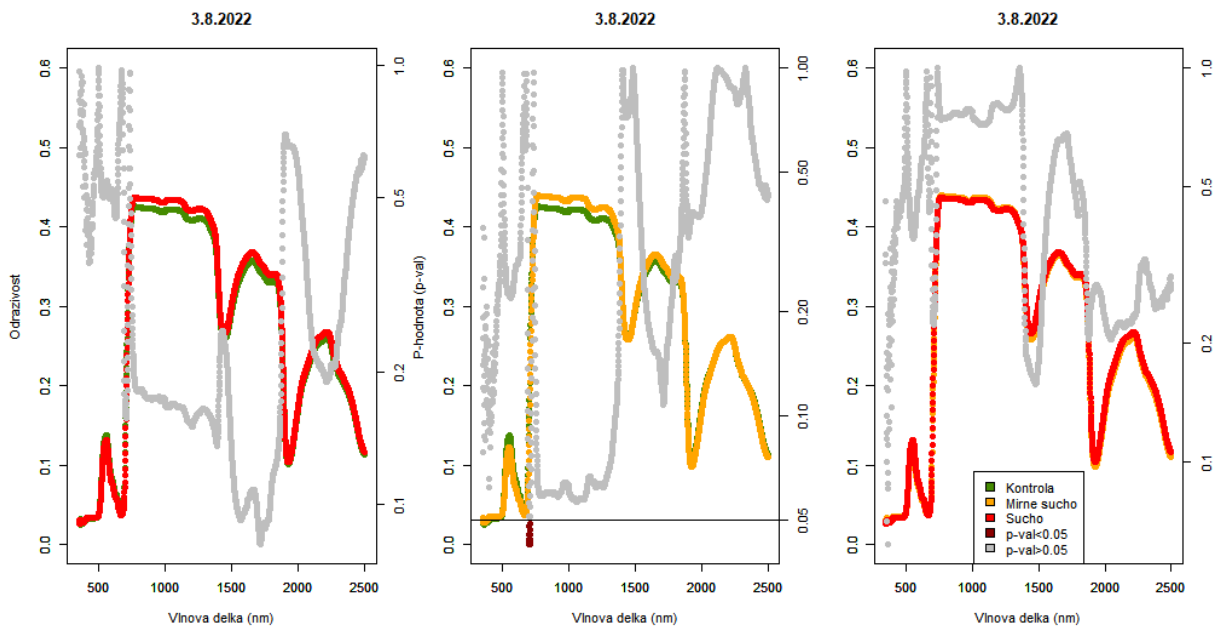
V následující části jsou uvedeny spektrální křivky odrazivosti jednotlivých dvojic ošetření v sedmi termínech měření, která proběhla v průběhu druhé experimentální sezóny. V grafech, provedených ve statistickém programu RStudio za využití balíčku „hsdar 1.0.4.“, jsou znázorněny p-hodnoty – viz legenda grafů k jednotlivým termínům.

13.5. byla statistická signifikance na základě p-hodnot $\leq 0,05$, tedy odlišnost porovnávaných variant, prokázána pouze při srovnání obou suchých variant, a to ve viditelné části spektra (VIS). Spektrální křivky odrazivosti se při porovnání dvojic ošetření téměř překrývají, prakticky se od sebe téměř neliší (obrázek č. 46).



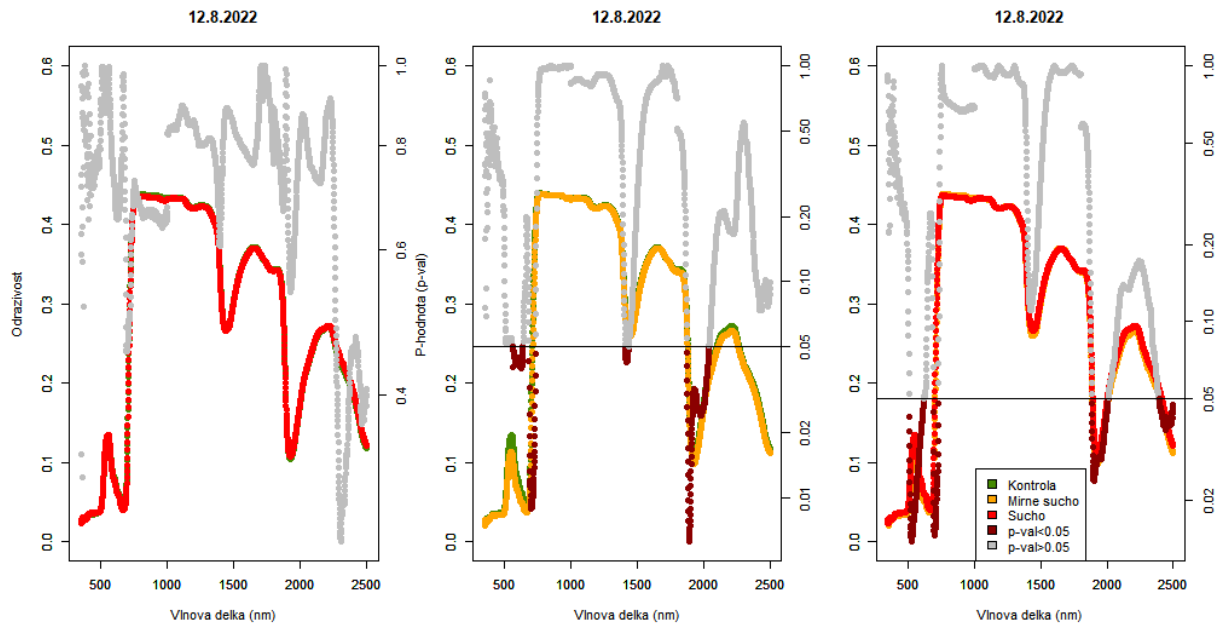
Obrázek č. 46: Srovnání spektrálních křivek odrazivosti jednotlivých skupin rostlin odlišného ošetření naměřených v termínu 13.5.2022 a jejich p-hodnot získaných aplikací párového t-testu ve statistickém programu NCSS. Barevné kódování označuje ošetření a velikost p-hodnoty vztahenou k hladině významnosti $\alpha = 0,05$ (příčná plná čára); hodnoty, které tomuto požadavku dostaly, označeny hnědě – viz legenda grafu.

3.8. došlo k prohloubení rozdílů mezi ošetřeními při srovnání kontroly s oběma variantami rostlin ošetřených suchem. Statisticky signifikantní p-hodnoty se vyskytují pouze ve VIS při srovnání kontrolních rostlin a rostlin mírně suché varianty (obrázek č. 47).



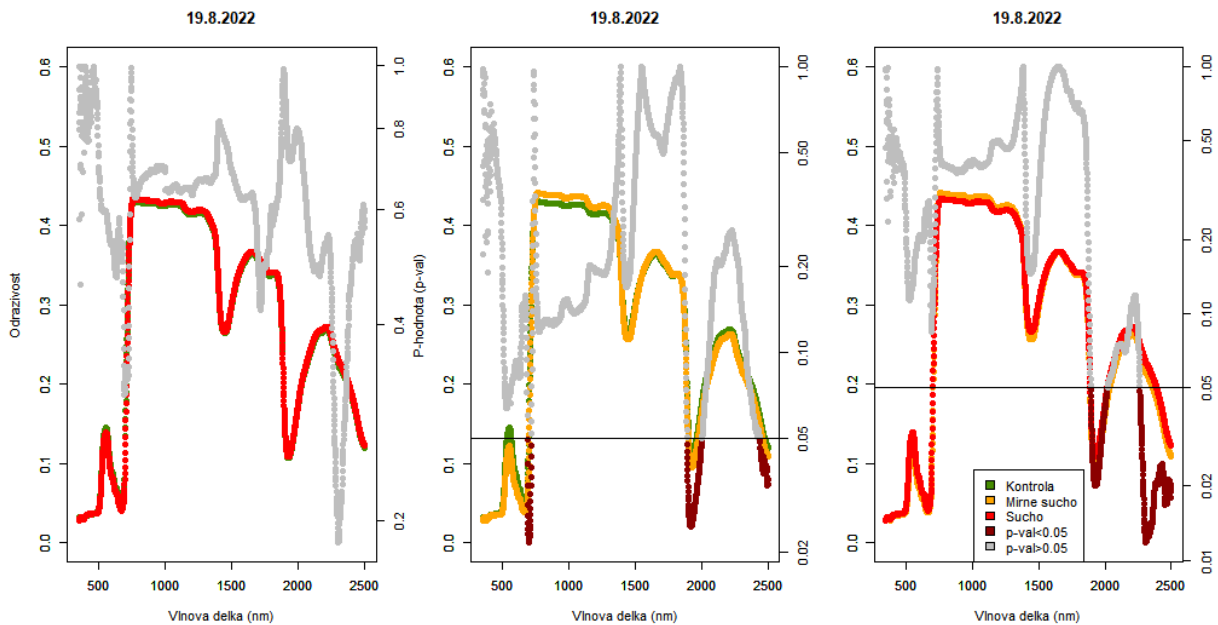
Obrázek č. 47: Srovnání spektrálních křivek odrazivosti jednotlivých skupin rostlin odlišného ošetření naměřených v termínu 3.8.2022 a jejich p-hodnot získaných aplikací párového t-testu ve statistickém programu NCSS. Barevné kódování označuje ošetření a velikost p-hodnoty vztahovanou k hladině významnosti $\alpha = 0,05$ (příčná plná čára); hodnoty, které tomuto požadavku dostály, označeny hnědě – viz legenda grafu.

12.8. se rozdíly mezi srovnávanými skupinami rostlin opět zmenšily. P-hodnoty $\leq 0,05$ lze pozorovat u dvou srovnávaných dvojic ošetření – kontroly s rostlinami mírného sucha a obou skupin ošetřených suchem. V obou případech se tyto hodnoty vyskytují nejen v oblasti VIS, ale také v oblasti krátkovlnného infračerveného záření, SWIR (obrázek č. 48).



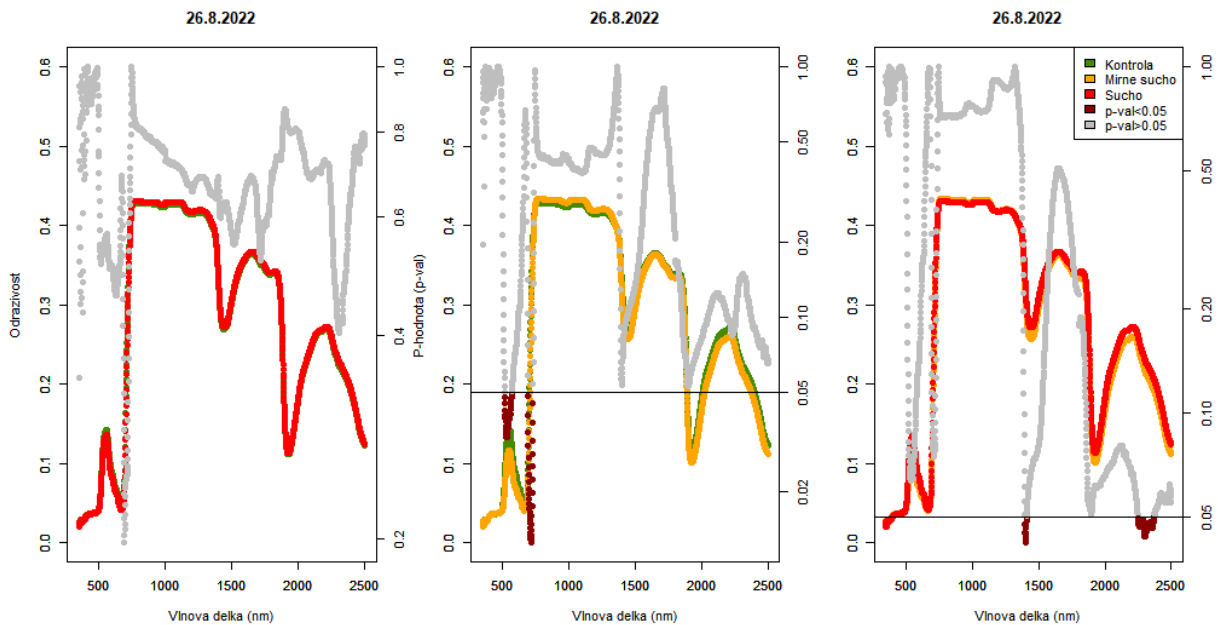
Obrázek č. 48: Srovnání spektrálních křivek odrazivosti jednotlivých skupin rostlin odlišného ošetření naměřených v termínu 12.8.2022 a jejich p-hodnot získaných aplikací párového t-testu ve statistickém programu NCSS. Barevné kódování označuje ošetření a velikost p-hodnoty vztáženou k hladině významnosti $\alpha = 0,05$ (příčná plná čára); hodnoty, které tomuto požadavku dostály, označeny hnědě – viz legenda grafu.

19.8. bylo pozorováno mírné rozrůznění poloh spektrálních křivek odrazivosti vůči sobě, nejvíc je tento posun patrný při srovnání kontrolních rostlin s rostlinami ošetřenými mírným suchem. Při porovnání těchto skupin byla také pozorována statistická signifikance založená na p-hodnotách, a to jak v oblasti VIS, tak ve SWIR části spektra. Srovnáním obou suchých variant byla zjištěna statistická signifikance ve SWIR spektrální oblasti (obrázek č. 49).



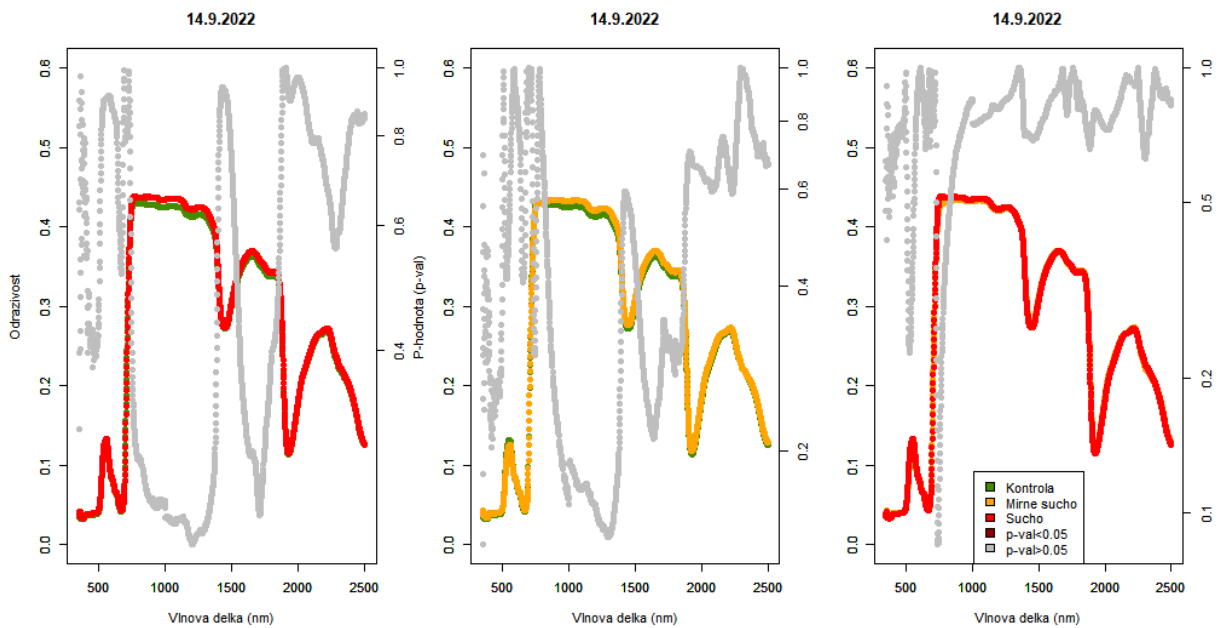
Obrázek č. 49: Srovnání spektrálních křivek odrazivosti jednotlivých skupin rostlin odlišného ošetření naměřených v termínu 19.8.2022 a jejich p-hodnot získaných aplikací párového t-testu ve statistickém programu NCSS. Barevné kódování označuje ošetření a velikost p-hodnoty vztaženou k hladině významnosti $\alpha = 0,05$ (příčná plná čára); hodnoty, které tomuto požadavku dostály, označeny hnědě – viz legenda grafu.

26.8. se lehce rozdílné polohy spektrálních křivek odrazivosti vůči sobě opět přiblížily a došlo k mírnému setření rozdílů mezi porovnávanými skupinami rostlin. Statistická signifikance byla v případě srovnání kontrolních rostlin s rostlinami pěstovanými za mírného sucha prokázána pro hodnoty odrazivosti v oblasti VIS, v případě srovnání suchých skupin rostlin ve SWIR oblasti spektra (obrázek č. 50).



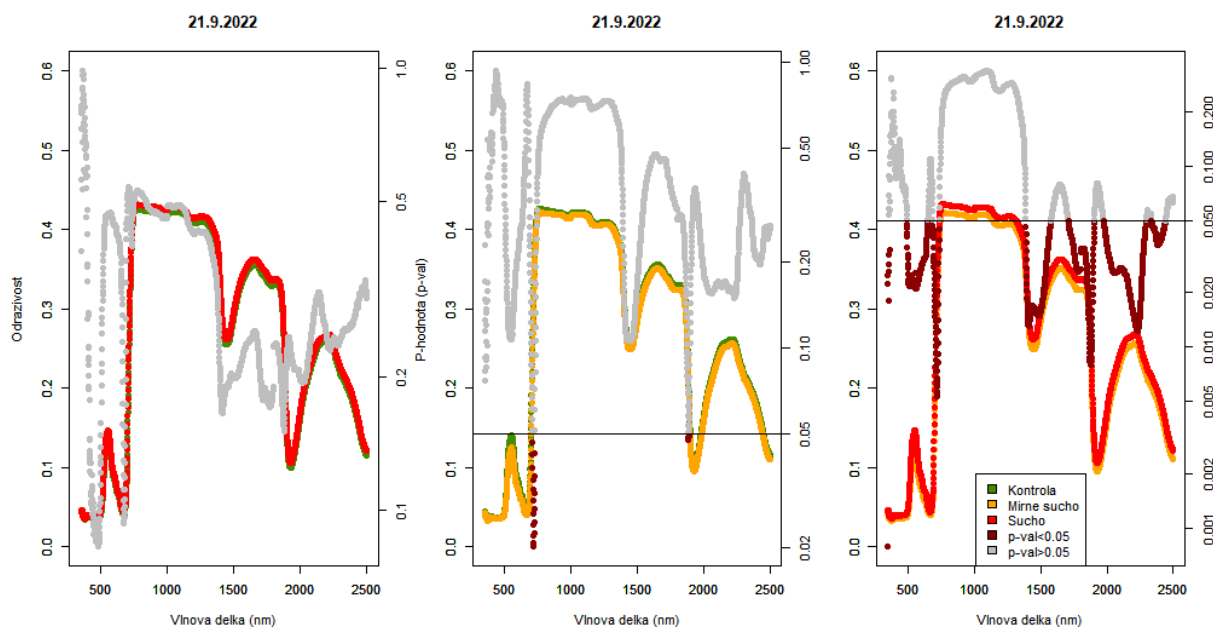
Obrázek č. 50: Srovnání spektrálních křivek odrazivosti jednotlivých skupin rostlin odlišného ošetření naměřených v termínu 26.8.2022 a jejich p-hodnot získaných aplikací párového t-testu ve statistickém programu NCSS. Barevné kódování označuje ošetření a velikost p-hodnoty vztáženou k hladině významnosti $\alpha = 0,05$ (příčná plná čára); hodnoty, které tomuto požadavku dostály, označeny hnědě – viz legenda grafu.

14.9. se poloha spektrálních křivek odrazivosti lehce rozrůžnila, zejména při srovnání kontrolní skupiny rostlin s rostlinami čelícími silnější dávce sucha. U žádné z dvojic skupin rostlin nebyly pozorovány p -hodnoty $\leq 0,05$ (obrázek č. 51).



Obrázek č. 51: Srovnání spektrálních křivek odrazivosti jednotlivých skupin rostlin odlišného ošetření naměřených v termínu 14.9.2022 a jejich p -hodnot získaných aplikací párového t -testu ve statistickém programu NCSS. Barevné kódování označuje ošetření a velikost p -hodnoty vztaženou k hladině významnosti $\alpha = 0,05$ (příčná plná čára); hodnoty, které tomuto požadavku dostály, označeny hnědě – viz legenda grafu.

21.9. došlo k mírnému rozrůznění spektrálních křivek odrazivosti při srovnání suchých variant. Statisticky signifikantní výstupy poskytlo srovnání kontroly s rostlinami čelícími mírnému suchu (oblast VIS, v několika málo případech také ve SWIR) a srovnání rostlin čelících mírnému suchu s rostlinami potýkajícími se v periodě snížení objemu závlivky se silnější dávkou sucha (VIS i SWIR) – viz obrázek č. 52.



Obrázek č. 52: Srovnání spektrálních křivek odrazivosti jednotlivých skupin rostlin odlišného ošetření naměřených v termínu 21.9.2022 a jejich p-hodnot získaných aplikací párového t-testu ve statistickém programu NCSS. Barevné kódování označuje ošetření a velikost p-hodnoty vztahenou k hladině významnosti $\alpha = 0,05$ (příčná plná čára); hodnoty, které tomuto požadavku dostaly, označeny hnědě – viz legenda grafu.

Lze shrnout, že v průběhu experimentální sezóny 2022 docházelo k četným posunům polohy spektrálních křivek odrazivosti, nicméně tyto posuny nebyly nikterak výrazné, jak tomu bylo např. v červnu 2021. P-hodnoty $\leq 0,05$ byly zaznamenány ve shodném počtu případů při srovnání kontroly s rostlinami mírného sucha a při srovnání obou skupin rostlin vystavených suchu (celkem 5x z celkového počtu 7 měření). V žádném z termínů měření nebyla prokázána statistická signifikance při porovnání kontrolní skupiny s rostlinami ošetřenými silnější dávkou sucha.

Vedle analýzy jednotlivých termínů měření optických vlastností listoví byly naměřené hodnoty vztaheny k závlivkovému režimu a hodnoceny v rámci 3 period s odlišným závlivkovým režimem – 2 měření proběhla před zahájením periody sucha (13.5. a 3.8.; viz obrázek č. 53 – a), 3 měření v průběhu periody sucha (12.8., 19.8. a 26.8.; viz obrázek č. 53 – b) a závěrečná 2 měření po ukončení periody sucha a zahájení fáze regenerace (14.9. a 21.9.; viz obrázek č. 53 – c).

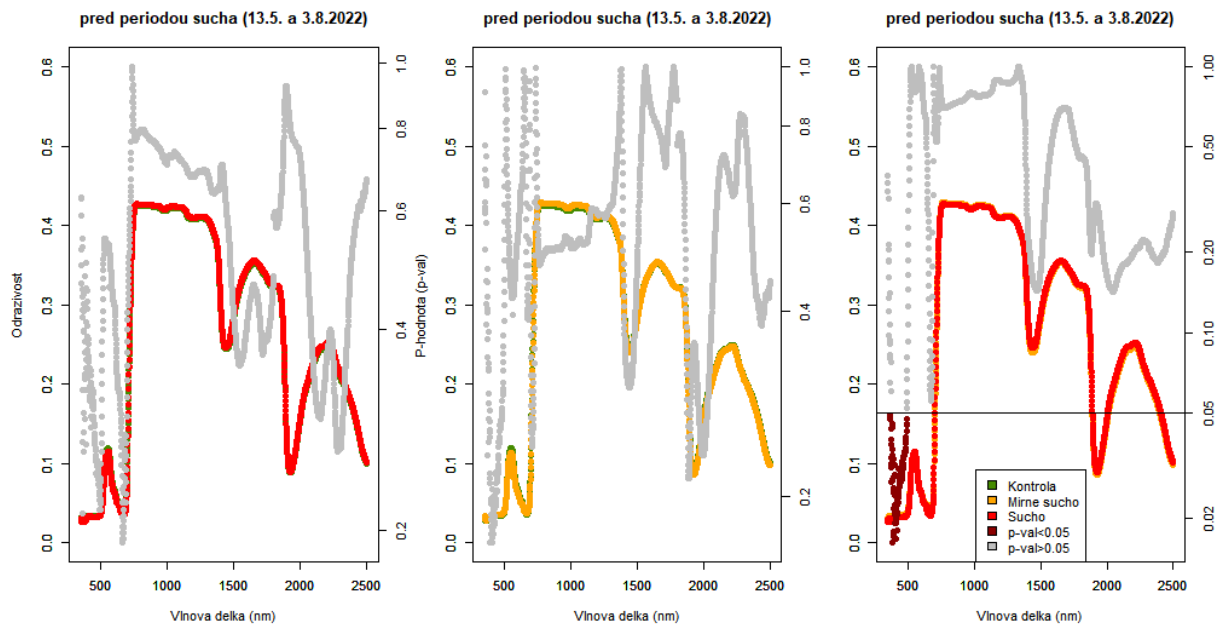
Výsledky analýzy měření v době před periodou sucha a v období regenerace následujícím po periodě sucha jsou velice podobné, statistická signifikance určená p-hodnotou $\leq 0,05$ byla prokázána jen ve spektrální oblasti VIS při srovnání obou skupin rostlin ošetřených suchem. Počet signifikantních p-hodnot byl mírně vyšší na konci studovaného období. V průběhu periody sucha byla statistická signifikance při srovnání těchto skupin také přítomna, a to v daleko větší míře, než v období před periodou sucha a po ní. Podobných výsledků bylo během periody sucha dosaženo porovnáním kontrolních rostlin s rostlinami pěstovanými za mírného sucha. V obou případech se statisticky signifikantní p-hodnoty vyskytovaly téměř v celé oblasti naměřených spekter, tedy ve VIS, SWIR a velice okrajově také v oblasti blízkého infračerveného záření (NIR).

Optické vlastnosti listoví jsou ve viditelné oblasti spektra výrazně ovlivňovány přítomností fotosyntetických pigmentů, a to zejm. molekul chlorofylů, které často překrývají molekuly ostatních pigmentů, jakými jsou např. karotenoidy. S vědomím této skutečnosti lze na základě naměřených hodnot konstatovat, že v průběhu vegetační sezóny s různými zálivkovými obdobími se mezi skupinami rostlin projevují rozdíly podložené aplikací ANOVA. Ve všech třech periodách se projevíly statisticky signifikantní rozdíly mezi oběma variantami vystaveným suchu, největší projev byl zaznamenán v periodě sucha, kde se od sebe lišily také kontrolní rostliny a rostliny pěstované za mírného sucha.

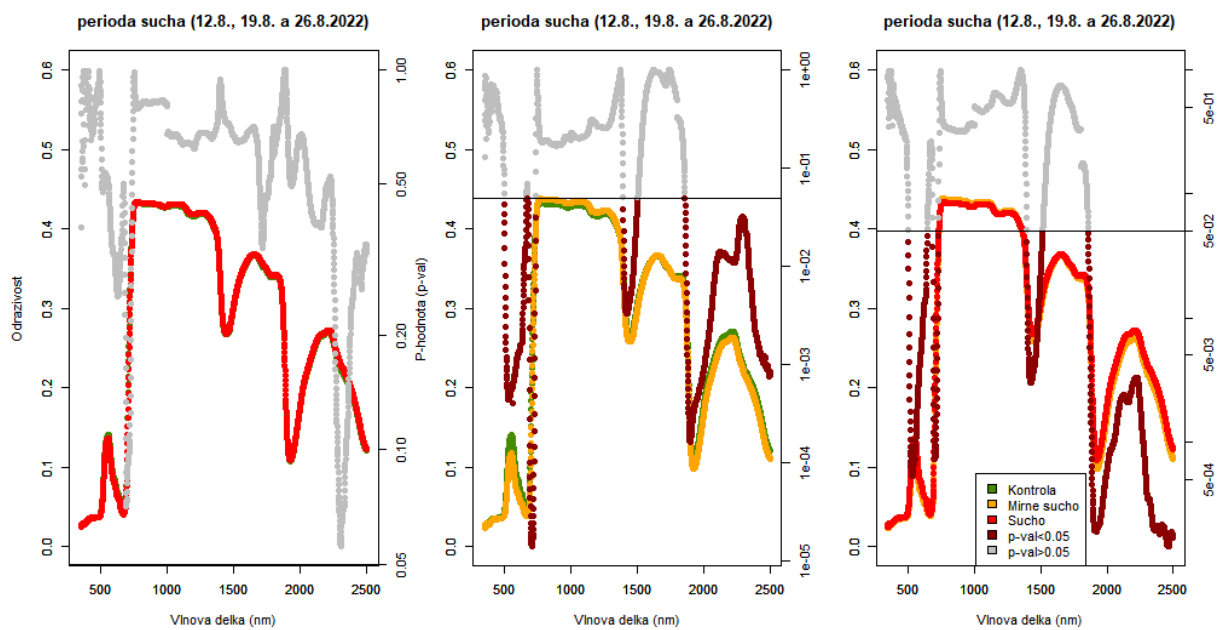
Ve studovaném období před zahájením periody sucha byly absolutní hodnoty odrazivosti všech porovnávaných dvojic skupin rostlin nižší než v následujících obdobích zálivkového režimu, obsah fotosyntetických pigmentů tedy lze předpokládat vyšší. Při pohledu na výsledky jednotlivých měření je patrné, že tento fakt platí pouze pro první měření, které následujícím termínům měření předcházelo téměř o 3 měsíce.

V oblasti blízkého infračerveného záření je spektrální projev vegetace ovlivňován zejména vnitřními strukturami, a to např. objemem mezibuněčných prostor. Z hlediska statisticky signifikantních p-hodnot $\leq 0,05$ se jedná o část spektra, ve které se nevyskytovaly téměř žádné p-hodnoty splňující tento předpoklad.

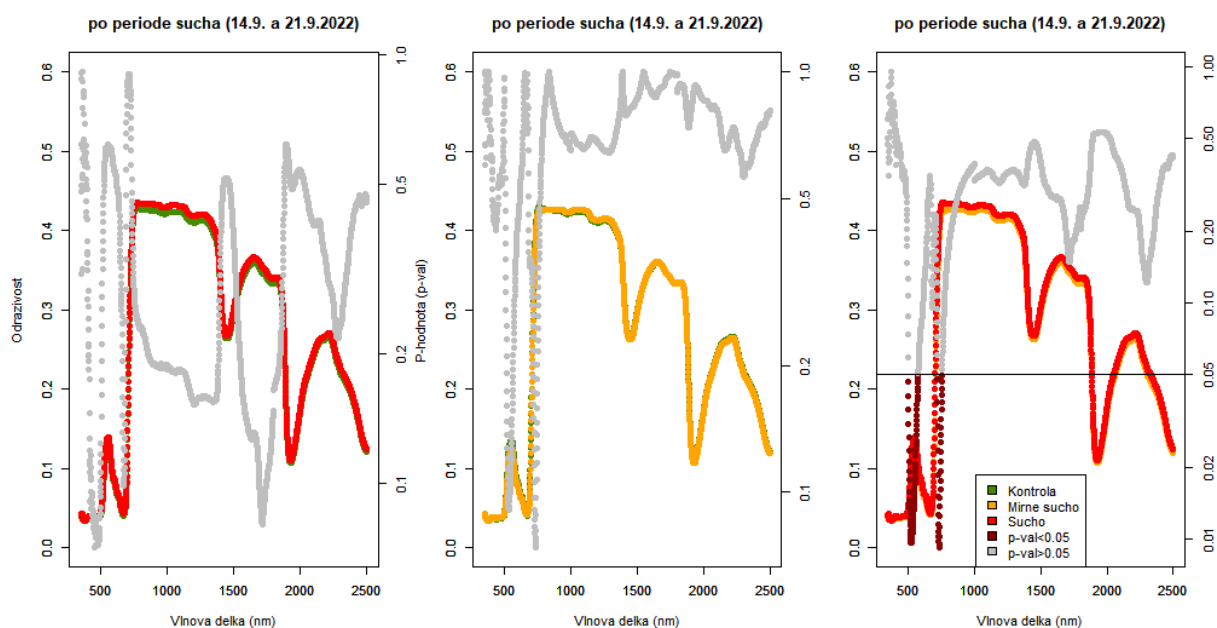
a)



b)



c)



Obrázek č. 53: Srovnání spektrálních křivek odrazivosti jednotlivých skupin rostlin odlišného ošetření ve třech závlivkových periodách v rámci experimentální sezóny 2022 (před periodou sucha – a, perioda sucha – b, po periodě sucha – c) a jejich p -hodnot získaných aplikací párového t -testu ve statistickém programu NCSS. Barevné kódování označuje ošetření a velikost p -hodnoty vztaženou k hladině významnosti $\alpha = 0,05$ (příčná plná čára); hodnoty, které tomuto požadavku dostály, označeny hnědě – viz legenda grafu.

5 Diskuze

5.1 Diskuze experimentálních systémů

Semenáčky buku lesního pěstované v plastových kontejnerech byly po celou dobu experimentu prezentovaného v této diplomové práci umístěny ve skleníku, kam byly přemístěny už zhruba 2 roky před započítáním experimentální části této diplomové práce. Vzhledem k této skutečnosti je nutno konstatovat, že se fyziologické a biochemické projevy takto pěstovaných rostlin mohou lišit od odpovědí rostlin na působení stresu suchem v přirozených podmínkách. Odlišnost mezi oběma prostředními lze dokázat na příkladu teploty – ve skleníkových podmínkách se teplota okolního vzduchu charakteristicky pohybuje ve vyšších hodnotách ve srovnání s teplotou vzduchu mimo skleník. Tato skutečnost platí v případě, že skleník není opatřen systémem klimatizace. Systémy kontrolující teplotu okolního vzduchu ve skleníku jsou za určitých podmínek zcela nezbytné, což dokládá např. studie Subahi a Bouazza (2020) popisující využití moderních technologií monitoringu meteorologických podmínek pro skleníkovou zemědělskou produkci v Saudské Arábii, tedy v prostředí typickém extrémně vysokými teplotami. Příklady nastavení experimentálních systémů ve středoevropských podmínkách, tedy v prostředí klimaticky podstatně méně extrémním, poskytují studie autorů Seidel a Menzel (2016) a Seidel et al. (2019). V rámci obou prací byla hodnocena odezva sazenic borovice lesní (*Pinus sylvestris*) pocházejících z různých proveniencí na působení stresu suchem a stresu působením vysokých teplot. Sazenice v třílitrových kontejnerech byly umístěny do dvou typů prostředí – do skleníků a tzv. vegetačních hal, tedy budov opatřených skleněnou střechou a otevíratelnými bočními stěnami. Obě prostředí se lišila zejména teplotními podmínkami – teplota vzduchu ve skleníku byla vlivem pasivního zahřívání vyšší cca o 3 °C ve srovnání s okolní teplotou, kdežto ve vegetačních halách byla teplota bližší teplotě mimo budovu, tedy bližší přirozeným podmínkám pro růst borovice. V případě této diplomové práce jsou rozdílnosti skleníkového a okolního prostředí částečně vyrovnávány automatizovanými procesy, jakými jsou např. pohyb žaluzií či otevírání oken, nicméně i přesto je nutné vnímat naměřené hodnoty v kontextu rozdílnosti obou prostředí.

Přísun vody bukovým semenáčkům byl zprostředkován instalací kapkové závlahy s regulovatelnou zálivkou do jednotlivých kontejnerů s experimentálními rostlinami. Její nespornou výhodou je přesné a cílené zavlažování, voda je prostřednictvím hadiček a jehel transportována od zdroje vody přímo ke kořenům rostlin. Jedná se o proces automatizovaný a řízený, objem zálivky lze nastavením centrály rychle a efektivně měnit dle aktuálních potřeb. Díky absenci kontaktu zálivky s prýtem je minimalizováno riziko rozvoje plísňových onemocnění, růstu plevelů a ztrát vody, v polních podmínkách pak napomáhá omezení půdní eroze. Široké využití má kapková závlaha kromě skleníků také v pěstitelské praxi v zahradách, parcích, sadech, vinicích či v polních podmínkách.

Často používanou metodou v experimentech s omezením zálivky je také využití gravimetrie, tedy pravidelného vážení květináčů se sazenicemi. Na základě této informace, tedy zjištění váhového úbytku (hmotnosti vytranspirované vody), může být spočítána denní rychlost transpirace. Pro stanovení váhového úbytku je často využito tenzometrických článků, tohoto systému bylo využito např. ve studii Hájíčková et al. (2017), jejímž cílem bylo zhodnocení působení stresu suchem na semenáčky buku lesního. Z důvodu zabránění evaporaci ze substrátu (a zároveň zabránění růstu plevelů) je často přistoupeno k zakrytí substrátu textiliemi, např. v případě studie Gebauer et al. (2020), jejíž autoři studovali rezistenci a resilienci bukových semenáčků při vývoji listoví za působení stresu suchem. S ohledem na poměrně vysoký počet bukových semenáčků zahrnutých do skleníkového experimentu (zhruba 70 jedinců, v druhé experimentální sezóně proběhla reorganizace porostu a počet se snížil na polovinu) nebylo z provozních důvodů přistoupeno k pravidelnému gravimetrickému stanovení rychlosti transpirace.

Jinou možností kultivace semenáčků je jejich umístění do růstových komor. Nespornou výhodou tohoto experimentálního systému je možnost efektivnější kontroly podmínek, zejména pak regulace teploty, ozáření a relativní vzdušné vlhkosti. Jedná se však o systém, jehož provoz je finančně náročný a omezený prostorovými podmínkami. García-Plazaola a Becerril (2000) pro svou studii vlivu sucha na fotoprotektivní mechanismy bukových semenáčků využili kultivace rostlin v růstových komorách s regulovanými podmínkami. Pro zajištění optimálních experimentálních podmínek byly navíc komory opatřeny žárovkami a fluorescenčními lampami. S ohledem na zaměření studie nebyly rostliny rozděleny do skupin s odlišným objemem zálivky, předmětem zájmu bylo zejména srovnání reakce bukových semenáčků z různých míst původu.

Dalším přístupem, který v současnosti prochází velkým boomem, je využití plně automatizovaných systémů tzv. fenotypovacích jednotek. Experimentální materiál je umístěn na pojízdných pásech a v pravidelných intervalech jsou měřeny jeho optické vlastnosti a fluorescenční parametry. Nespornou výhodou je vedle plné automatizace vysoký monitorovací objem a vysoká přesnost fenotypovacího procesu (Dhondt et al., 2013).

Nelze opomenout českou stopu v této problematice, a to společnost Photon Systems Instruments (PSI s r.o.). Spektrum činností této společnosti je velmi rozmanité, od vývoje fotobioreaktorů, růstových komor, LED osvětlení a fluorometrů přes vývoj různorodých příručních měřících přístrojů až po robotické systémy. Z hlediska zde diskutované problematiky však stojí za pozornost právě různé typy fenotypovacích jednotek (PlantScreen™ Systems). Webové stránky společnosti aktuálně prezentují 6 typů tohoto systému – SC (Self-contained) System, Compact System, Modular System, Robotic XYZ System, Field System a Root System – využitelných v širokém spektru experimentálních systémů pro studium různorodých témat rostlinné fyziologie. Velký potenciál tkví ve fenotypovacími jednotkami zprostředkovanému vytipování odolných genotypů resilientních vůči suchu, tedy nesporně důležité výzvě spjaté s dopady globální klimatické změny.

Fenotypování založené na měření optických vlastností listoví může být ve srovnání s genetickými analýzami či terénní fenotypizací z hlediska nižší náročnosti efektivnější metodou. D'Odorico et al. (2023) toto tvrzení podepřeli studií francouzského a švýcarského bukového lesa s převahou *Fagus sylvatica spp. orientalis* (Lipsky) Greut. & Burd. Tento poddruh (někdy označovaný za samostatný druh *Fagus orientalis* – buk východní) je s ohledem na genetickou diverzitu a odolnost vůči suchu považován za vhodného kandidáta pro asistovanou migraci, tedy procesy introdukce nových druhů schopných efektivněji čelit důsledkům globální změny klimatu prostřednictvím zvýšené diverzity a resilience. Fenotypování pomocí hyperspektrální odrazivosti bylo úspěšně využito pro rozlišení (pod)druhů buku lesního a východního.

Výběr vhodných fenotypů za účelem efektivnější reakce na stres suchem může být také provázán s populační genomikou. Tento stále poněkud opomíjený přístup zvolili např. autoři studie Pfenninger et al. (2023), kteří na základě fenotypování buku lesního dospěli k predikci odpovědi na budoucí stres suchem a potvrdili přispění tohoto přístupu k procesu mitigace zahrnujícího např. umožnění přirozeného výběru.

5.2 Metodická diskuze

Hodnocení fyziologických a biochemických odpovědí na stres suchem bylo provedeno na základě vybraných funkčních znaků listoví, tedy indikátorů (markerů) stresové odezvy. Funkční znaky odrážejí reakci rostlin na měnící se podmínky prostředí (Fajardo a Siefert, 2016). Zároveň musí tyto indikátory splňovat podmínku časově i finančně snadné měřitelnosti a uplatnitelnosti u širokého spektra experimentálního materiálu (Cornelissen et al., 2003). Pokud není známa jednoznačná příčina odpovědi rostlin na působící faktor, označuje se příslušný indikátor, který změnu fyziologického stavu indikuje, za nespecifický (Albrechtová et al., 2017). Nespecifické indikátory stresového působení byly použity v předkládané diplomové práci, jedná se např. o parametry spjaté s obsahem fotosyntetických pigmentů (obsah chlorofylu a poměr karotenoidů vůči chlorofylu) či specifickou listovou plochu.

Některé indikátory (obsah chlorofylu, vody, specifická listová plocha) byly kombinovaně stanoveny laboratorně a zároveň odlišným metodickým přístupem, a to s měřením optických vlastností listoví a využitím porovnání vegetačních indexů. Jedná se o metodu velmi perspektivní, jelikož je nedestruktivní a při využití dálkového průzkumu Země může poskytnout data s vysokým časovým a prostorovým rozlišením. Měření optických vlastností listoví lze využít na různých škálách a v různých experimentálních systémech, je např. součástí výše popisovaných fenotypovacích jednotek.

Použité metody lze rozdělit do dvou základních skupin na destruktivní a nedestruktivní metody. Mezi destruktivní metody patří biochemické analýzy (spektrofotometrické stanovení obsahu fotosyntetických pigmentů, stanovení obsahu prolinu) a laboratorní spektroskopie (listové vzorky byly pro výpočet SLA z mateřských rostlin odňaty, zvážena jejich čerstvá hmotnost, nascanovány, usušeny a následně zvážena jejich

suchá hmotnost). Naopak nedestruktivní přístup umožňuje použití přístrojů měřících dané parametry *in-situ* – v případě této diplomové práce jde o ruční měřicí přístroj MultispeQ a systém Li-COR. V případě, že nejsou vzorky listové použity pro další analýzy, lze spektroskopii řadit k nedestruktivním metodám. To dokládá např. studie Ali et al. (2019), jejíž autoři využili obrazovou spektroskopii pro detekci rostlinných chorob a patogenů způsobujících pokles produktivity zemědělských ploch, tedy i ekonomické ztráty. Jak zmiňují Samsone et al. (2007), nedestruktivních metod (v tomto případě metod měření obsahu chlorofylu, využit byl především ruční chlorofylmetr SPAD) lze využít v mnoha různých odvětvích, od rostlinné (eko)fyzologie až po zemědělské obory. Nedestruktivnost těchto metod je samozřejmě jejich značnou výhodou, nicméně pro pokrytí širšího spektra metodických přístupů bylo přistoupeno k jejich kombinaci s metodami destruktivními. Tento fakt podporuje práce autorů Morley et al. (2020) – kombinace nedestruktivních a destruktivních metod byla využita pro stanovení obsahu chlorofylu v období senescence. Jak však dokládá studie provedená autory Parry et al. (2014) na 22 rostlinných druzích (17 dvouděložných a 5 jednoděložných druhů), vztah mezi měřením nedestruktivními chlorofylmetry a obsahem chlorofylu může být druhově, v případě lociky seté (*Lactuca sativa*) také kultivarově specifický.

5.3 Diskuze výsledků

5.3.1 Biofyzikální a fotosyntetické parametry pod vlivem stresu suchem u buku

V následující části diskuzního textu jsou uvedeny podrobnosti vztahující se ke konkrétním měřeným parametrům na listové semenáčků buku ošetřených různou záhlivkou.

5.3.1.1 Vliv stresu suchem na obsah fotosyntetických pigmentů u buku

Wang et al. (2021) se ve své studii věnovali odpovědi bukových semenáčků na stres způsobený nedostatkem vody ve spojitosti se světelnými podmínkami prostředí. Experimentální materiál pocházel ze 4 různých oblastí s odlišnými edafoklimatickými podmínkami (jihozápadní okraj výskytu ve Španělsku, severní okraj výskytu ve Švédsku a 2 německé oblasti jádrového výskytu v nadmořských výškách 525 a 1175 m n. m.). Bylo prokázáno, že obsah chlorofylu se v závislosti na vodních i světelných poměrech liší napříč rostlinami různého původu. Změny koncentrace chlorofylu jsou přičítány efektu světelných podmínek prostředí – u rostlin pěstovaných ve stinných podmínkách byla koncentrace chlorofylu podstatně vyšší než u rostlin ze slunných stanovišť. Statisticky signifikantní rozdíl v obsahu chlorofylu mezi rostlinami ošetřenými suchem a zavlažovanými jedinci na rozdíl od mé diplomové práce prokázán nebyl.

Buk lesní ze 3 různých oblastí Španělska byl předmětem zájmu práce García-Plazaola a Becerril (2000). Autoři studovali fyziologickou odpověď rostlin na působení stresu suchem a vliv tohoto stresoru na fotoprotektivní mechanismy. Sucho způsobilo u všech rostlin (s výjimkou skupiny pocházející z oblasti Pyrenejí, tedy prostředí charakteristického vysokými dávkami stresu suchem) pokles obsahu pigmentů. Tento fakt je v souladu s výstupy stanovení

obsahu chlorofylu v rámci této diplomové práce – v červnu 2021, tedy po 6 týdnech odstupňované zálivky, byl prokázán statisticky signifikantní pokles obsahu chlorofylu u skupiny semenáčů ošetřených suchem od kontrolních rostlin, a to jak na základě spektrofotometrického stanovení koncentrace v listové výseči, tak na základě měření přístrojem MultispeQ. Autoři výše citované studie dále dospěli k závěru, že u všech skupin buků došlo k suchem indukovanému nárůstu obsahu karotenoidů (anteraxantinu a zeaxantinu) a tokoferolu, tedy molekul uplatňujících se v procesu fotoprotekce. Zdůrazňují, že u skupin semenáčů různého původu je tolerance vůči suchu dosaženo různým způsobem – u rostlin z xerického prostředí převažují morfologická přizpůsobení nad procesem fotoprotekce. S ohledem na původ bukových semenáčů použitých v této diplomové práci (oblast Českomoravské vysočiny) nelze experimentální materiál považovat za marginální populaci vystavenou dlouhodobému selekčnímu tlaku suchem. Lze tedy předpokládat převahu fotoprotektivních reakcí nad morfologickými přizpůsobeními. V souladu s tímto tvrzením je absence statisticky signifikantních rozdílů mezi kontrastně zavlažovanými rostlinami zjištěná u hodnot specifické listové plochy. Tomuto vysvětlení nasvědčují také výsledky měření fotosyntetických parametrů přístrojem MultispeQ – v období první periody sucha (červen 2021) došlo u obou suchých variant ve srovnání s plně zavlažovanými kontrolními jedinci ke statisticky signifikantnímu poklesu hodnot parametru Φ_{NO} , tedy k poklesu podílu neřízeného zhášení energie vedoucího k fotopoškození. Podíl regulovaného nefotochemického zhášení u obou suchých variant naopak stoupl, což vypovídá o aktivní fotoprotekci. Hodnoty poměru karotenoidů vůči chlorofylu však s touto interpretací v souladu nejsou, jelikož po 6 týdnech odstupňované zálivky (v červnu 2021) nebyly prokázány statisticky signifikantní odlišnosti mezi jednotlivými skupinami. Vzhledem k tomu, že byl v diplomové práci stanovován pouze celkový obsah karotenoidů a není tedy znám obsah jednotlivých forem karotenoidů xantofylového cyklu, může být rozdíl patrný právě v zastoupení jednotlivých typů karotenoidů, ne však v jejich celkovém obsahu. Podobně v druhé experimentální sezoně nedošlo u rostlin s omezenou zálivkou k navýšení poměru karotenoidů ku chlorofylu oproti kontrole, naopak u ošetření mírným suchem byla pozorována reakce opačná.

Uplatnění fotoprotekce v důsledku nárůstu obsahu pigmentů xantofylového cyklu spolu s nárůstem podílu disipace nadměrné excitační energie ve formě tepla u rostlin ošetřených suchem byly jevy pozorované také v rámci studie autorů Gallé a Feller (2007). Ti studovali odpověď čtyřletých bukových semenáčů pěstovaných v botanické zahradě bernské univerzity na působení stresu suchem a následnou fázi s obnovenou zálivkou. Kromě výše uvedených procesů byly sledovány také změny výměny plynů a parametrů fluorescence chlorofylu *a* – viz příslušné kapitoly diskuze výsledků uvedených parametrů.

Pšidová et al. (2013) studovali biochemické a fyziologické parametry rostlin buku lesního pocházejících ze 3 slovenských oblastí s odlišnými podmínkami (suché klima ve 400 m n. m., středně vlhké klima v 710 m n. m., vlhké klima v 1116 m n. m.) a vystavených stresu

suchem. Působení sucha bylo doloženo snižujícími se hodnotami vodního potenciálu v listech. U všech skupin rostlin byl prokázán statisticky signifikantní vliv působení stresoru na obsah fotosyntetických pigmentů, a to pokles obsahu chlorofylů (studován byl jak obsah chlorofylu *a* a *b*, tak i jejich součet, podíl a poměr chlorofylů vůči karotenoidům). Obsah karotenoidů se na rozdíl od obsahu chlorofylů působením sucha statisticky signifikantně nezměnil. Tyto pozorované změny se však po 55 dnech od zahájení ošetření suchem statisticky signifikantně nelišily mezi oblastmi původu.

Výše uvedené studie tedy jasně dokazují přítomnost suchem indukovaných změn na úrovni obsahu fotosyntetických pigmentů u jedinců buku lesního. Je zřejmé, že roli v této odezvě hraje genetický základ experimentálního materiálu různého geografického původu. Tento efekt však nelze u semenáčů použitých v rámci této diplomové práce brát v potaz, a to z důvodu uniformního původu.

Lze tedy uzavřít, že obsah chlorofylů a vybrané parametry vypovídající o fotochemickém a nefotochemickém využití světelné energie fotosytémem II měřené přístrojem MultispeQ se jeví jako citlivé z hlediska vyhodnocování reakcí sazenic buku na sucho. Jak vyplývá z výše uvedeného textu, v důsledku sucha lze v případě stanovení obsahu karotenoidů pozorovat různé reakce a nelze činit jednoznačné a obecné závěry.

5.3.1.2 Vliv stresu suchem na obsah vody v listech buku

Změny v obsahu vody v listech bukových semenáčků stresovaných suchem pozorovali Hájíčková et al. (2023). Design experimentu byl prakticky totožný s experimentálním systémem použitým v této práci – autoři rozdělili experimentální materiál na 3 skupiny s odstupňovanou zálivkou (kontrola, mírné sucho, sucho) a v rámci zálivkového režimu byla provedena fáze sucha (25 dnů) následována fází regenerace (14 dnů). Bylo prokázáno, že nedostatek vody negativně ovlivnil obsah vody v listech pouze u varianty stresované silnější dávkou sucha. To však nekoresponduje s výsledky této diplomové práce, kde byl obsah vody v listech stanoven prostřednictvím parametru EWT a v obou experimentálních sezonách nevykazoval rozdíly mezi semenáči s různou dostupností vody.

Nezbytné je však zdůraznit, že význačnou roli hraje míra intenzity sucha. Silné sucho bylo v této diplomové práci charakterizováno zálivkou o objemech 20 a 0 ml/den po dobu 49 dní (1. perioda sucha), 12,5 ml/den po dobu 51 dní (2. perioda sucha) a 60 ml/den po dobu 25 dní (3. perioda sucha). Srovnání s jinými studiemi je však s ohledem na odlišné způsoby vyjádření objemu zálivky problematické – např. v již zmiňované velmi podobně probíhající studii autorů Gebauer et al. (2020) autoři vyjadřovali objem zálivky ve formě ekvivalentu mm srážek (84 % objemu srážek pro rostliny dobře zavlažované, 25 % pro rostliny vystavené mírnému suchu a 5 % pro rostliny silně stresované suchem). V dizertační práci Hájíčkové (2019) byly sazenice buku lesního umístěny na vahách pro dlouhodobé gravimetrické měření a obsah vody v půdě byl během periody sucha udržován o 70 a 85 % nižší oproti kontrole u rostlin ošetřených mírným, respektive silnějším suchem.

Míra dostupnosti vody pro rostliny je závislá také na struktuře substrátu. Problematické srovnání míry intenzity sucha v různých experimentálních systémech může být nahrazeno vyjádřením dostupnosti vody pomocí vodního potenciálu. Referenční hodnotou je tzv. permanentní bod vadnutí, jímž se rozumí hodnota vodního potenciálu rovna -1,5 MPa. Jedná se o hodnotu, kdy jsou kapilární síly molekul vody k půdním pórům natolik silné, že kořeny rostlin nejsou schopny tuto vodu užít (Kirkham, 2014). Zang et al. (2021) provedli na bukových sazenicích studii za účelem sledování jejich biochemických a morfologických odpovědí na působení stresu suchem. Vedle složek biomasy a listových či kořenových znaků byla pozornost zaměřena právě na permanentní bod vadnutí. Ačkoliv experiment přežily všechny sazenice, v substrátu u některých jedinců bylo pozorováno překročení této prahové hodnoty. U dospělých jedinců buku lesního byla také prokázána závislost permanentního bodu vadnutí na konkrétní půdní vrstvě (Grams et al., 2021). Studium jevů souvisejících s dosažením vodního potenciálu na úrovni bodu trvalého vadnutí je nezbytnou součástí výzkumu ne zcela objasněných hydraulických charakteristik buků, jejichž porozumění může napomoci efektivnější predikci areálu buku lesního v budoucnosti (Walther et al., 2021).

Hodnoty EWT byly, stejně jako hodnoty obsahu chlorofylu v listoví, zjišťovány také v rámci studie autorů Buddenbaum et al. (2015). Tato referenční měření obou parametrů byla provázána s výstupy obrazové spektroskopie – měřena byla odrazivost listoví čtyřletých bukových semenáčů v oblasti viditelného/blízkého (VNIR) a krátkovlnného (SWIR) infračerveného záření. Výstupy byly využity k regresi metodou částečných nejmenších čtverců (PLSR) a byly vytvořeny mapy s prostorovým rozlišením v řádu milimetrů. Hodnoty EWT byly zpočátku u kontrolních rostlin a jedinců ošetřených suchem téměř identické, nicméně v průběhu následujících měření bylo zaznamenáno jejich odlišování – u rostlin ošetřených suchem byl pozorován pozvolný pokles hodnot EWT. Ve srovnání s obsahem chlorofylu šlo o reakci podstatně rychlejší. Jak bylo prokázáno v dřívější studii téhož hlavního autora (Buddenbaum et al., 2012), EWT po proběhlé periodě sucha silně koreluje s počtem listů bukového jedince – platí, že se stoupajícím počtem listů sazenice stoupají také nároky na zásobení vodou. Je tedy pravděpodobné, že více olistění jedinci spotřebují v krátkém časovém období dostupnou vodu rychleji než buky s nižším počtem listů a EWT vlivem nastalého nedostatku vody v půdě klesá. Perioda sucha byla v rámci této diplomové práce v experimentální sezóně 2022 ukončena na počátku září. Vzhledem k nastupující fázi senescence byla napříč bukovými semenáčky pozorována poměrně velká variabilita v makroskopickém vzhledu jedinců. Lze tedy připustit možnost, že stanovené hodnoty EWT mohou být ovlivněny právě tímto efektem.

Odborná literatura hodnotí obsah vody v rostlinách také prostřednictvím relativního obsahu vody (RWC z angl. „relative water content“), parametru založeného na hmotnosti listu plně nasyceného vodou (vyjadřuje, kolik vody z maximálního možného množství rostlina skutečně obsahuje). Tognetti et al. (1995), autoři studie citované níže v kontextu změn

vodivosti průduchů vlivem sucha, se věnovali také výpočtu RWC. Bylo dokázáno, že pokles hodnot vodního potenciálu a RWC koresponduje s poklesem rychlosti čisté fotosyntézy u obou studovaných populací, zároveň byly odhaleny rozdíly mezi rostlinami různých populací. Je možno se domnívat, že využití parametru RWC by mohlo poskytnout prokazatelnější výsledky s ohledem na možnou vyšší citlivost tohoto indikátoru.

V rámci předkládané diplomové práce bylo plánováno také měření vodního potenciálu v listech, nicméně vzhledem k technickým obtížím s upevněním krátkých řapíků bukových listů do Scholanderovy bomby nebylo možné hodnoty této univerzální veličiny stanovit.

5.3.1.3 Vliv stresu suchem na specifickou listovou plochu u buku

Jak již bylo pojednáno v úvodu této práce, SLA listů buku se zpravidla působením sucha nemění. V rámci studie Dziedek et al. (2016) byla sledována odpověď jednoletých semenáčků buku lesního na kombinované působení sucha a hnojení dusíkem. Sucho se výrazně projevilo snížením produkce biomasy, u některých z hodnocených parametrů bylo prokázáno zesílení negativních dopadů sucha ošetřením semenáčků dusíkem, pravděpodobně z důvodu snížení biomasy kořenů a z něj vyplývajícího omezení příjmu vody. Hodnocen byl také vliv působení stresu na změny SLA. Výsledky studie autorů Dziedek et al. (2016) jsou v souladu s ostatními pracemi potvrzujícími absenci statisticky signifikantních změn SLA v důsledku nedostatku vody.

SLA byla spolu s dalšími faktory hodnocena i v rámci studie autorů Liu et al. (2017). Jedinci buku lesního, pěstovaní v půdách s odlišným pH, byli vystaveni účinkům letního sucha. Studovány byly zejména změny obsahu nestrukturních sacharidů a změny růstu. Byl prokázán pouze vliv efektu typu půdy na změny hodnot SLA, vliv efektu závlaky na hodnoty SLA prokázán nebyl (rozdíly v objemu dodávané vody se projevily na úrovni přírůstků kmene).

Výstupy této diplomové práce jsou v souladu s výše uvedenými skutečnostmi – v obou experimentálních sezónách nebyly prokázány statisticky signifikantní rozdíly mezi kontrolou a semenáči ošetřenými suchem (s výjimkou jediného měření, a to v termínu 12.8.2022, kdy se od sebe statisticky signifikantně lišily kontrolní rostliny od rostlin ošetřených silnější dávkou sucha). Výsledky potvrzují také převahu fotoprotektivních reakcí nad morfologickými přizpůsobeními, která byla diskutována výše ve spojitosti se suchem navozenými reakcemi na úrovni obsahu fotosyntetických pigmentů (García-Plazaola a Becerril, 2000).

Pozorovatelný je trend v poklesu hodnot SLA, zejm. při srovnání hodnot SLA v dubnu a červnu 2021. Jak bylo zmíněno ve výsledkové části práce, jev může být vysvětlen akumulací asimilátů a strukturních látek. V rámci experimentální sezóny 2022 je jasně pozorovatelný rozdíl mezi prvními dvěma termíny stanovení hodnot SLA (13.5. a 3.8.). Vysvětlen může být faktem, že v rané fenologické fázi nebylo listoví experimentálních rostlin ještě plně vyvinuto.

5.3.1.4 *Vliv stresu suchem na parametry primární fáze fotosyntézy u buku*

Vzhledem k malému množství dostupných studií, jejichž autoři aplikovali měření přístrojem MultispeQ na problematiku, která je předmětem zájmu této diplomové práce, bylo přistoupeno k diskuzi měřených parametrů vypovídajících o primární fázi fotosyntézy převážně na základě vědeckých prací využívajících podobných metodických přístupů.

Pšidová et al. (2018) provedli experiment na rostlinách buku lesního pocházejících z 5 různých lokalit s odlišnou nadmořskou výškou (rozpětí 55-1250 m n.m.). Tyto rostliny byly vystaveny společnému působení stresu suchem a stresu vysokými teplotami. Na úrovni fotochemických reakcí PSII byly pozorovány rozdíly v odezvách na působení kombinovaného stresu. V případě buku pocházejících z vyšších nadmořských výšek byla doložena vysoká rychlost transportu elektronů, zároveň došlo také k poklesu excitačního tlaku na PSII. Proces souvisí pravděpodobně se zvýšenou kapacitou alternativních akceptorů elektronů v rámci uplatnění jejich nadměrného množství v mechanismech fotoprotekce. Napříč skupinami rostlin se měnila kinetika rychlé fluorescence chlorofylu. U buku pocházejících z nižších nadmořských výšek byla prokázána citlivější odpověď na účinky kombinovaného stresu, tedy změny ve velikosti světlosběrných (anténních) komplexů a limitovanější transport elektronů na straně akceptoru PSII. Druhý uvedený důsledek lze diskutovat v kontextu hodnot lineárního toku elektronů (parametru LEF) naměřených přístrojem MultispeQ. V průběhu června 2021 (tedy po 6 týdnech odstupňované záливky) došlo ke statisticky signifikantnímu poklesu hodnot LEF u obou suchých variant ve srovnání s kontrolními jedinci. Jak již bylo naznačeno ve výsledkové části diplomové práce, prohlubující se narušení lineárního transportu elektronů koresponduje s poklesem parametrů popisujících oxidačně-redukční stav reakčních center fotosystémů I (PSIAC, PSIOpC, PSIORC) u rostlin stresovaných suchem.

Lze tedy uzavřít, že reakce buku lesního na působení kombinovaného stresu suchem a vysokými teplotami je závislá na původu experimentálního materiálu – v případě vyšších nadmořských výšek je fenotypová plasticita související s mechanismy fotoprotekce vlivem dlouhodobé adaptace k horským podmínkám vyšší.

Jak bylo uvedeno ve výsledkové části práce, nárůst podílu regulovaného nefotochemického zhášení u obou skupin semenáčů ošetřených suchem je v souladu se statisticky signifikantním poklesem hodnot parametru PhiNO, tedy podílu neřízeného zhášení energie vedoucího k fotopoškození, který byl pozorován u obou skupin rostlin ošetřených suchem. S rostoucím podílem nefotochemického zhášení u rostlin stresovaných suchem koresponduje také nárůst rozptylu i hodnot parametru NPQt.

Pokles kvantového výtěžku PSII a rychlosti elektronového transportu v kombinaci s nárůstem nefotochemických ztrát energie byl prokázán také ve studii Urban et al. (2023), jejíž autoři provedli studii vlivu sucha a vysoké evapotranspirace na 13 dřevin typicky se vyskytujících v českých biokoridorech, tedy v prostředích náchylnějších vůči působení stresových faktorů ve srovnání s lesním zápojem. Ke zhodnocení těchto reakcí bylo, stejně jako v případě této diplomové práce, využito parametrů fluorescence chlorofylu měřených

příručním přístrojem MultispeQ. Buk lesní mezi experimentální materiál zahrnut nebyl, příkladem této studie však lze poukázat na obecnější platnost výstupů výše zmiňované práce Pšidová et al. (2018).

Aranda et al. (2014) studovali lokální adaptace dvouletých semenáčků buku lesního na působení stresu suchem. Podobně jako v diskuzní části jiných parametrů, i v tomto případě byly potvrzeny odlišné projevy v rámci 6 studovaných skupin odlišného geografického původu. Jedním z hodnocených parametrů byl i kvantový výtěžek PSII na světlo adaptovaných rostlin označovaný v této diplomové práci jako Phi2. Kromě jedné skupiny sazenic byl u všech skupin prokázán statisticky signifikantní pokles hodnot Phi2 v důsledku sucha. Tento výsledek koresponduje s měřením parametru Phi2 v této diplomové práci – v průběhu června 2021 se vlivem působení stresu suchem statisticky signifikantně odlišila kontrolní skupina od skupiny buků ošetřených suchem.

Gallé a Feller (2007) mj. srovnávali Phi2 bukových jedinců stresovaných suchem ve srovnání s kontrolní skupinou. U suchem stresovaných rostlin byly hodnoty Phi2 pouze nepatrně nižší ve srovnání s kontrolními jedinci. Nižší hodnoty Phi2 byly pozorovány i po obnovení závlivky. Výsledky měření provedených v rámci této diplomové práce potvrzují pokles hodnot Phi2 u rostlin ošetřených suchem ve srovnání s kontrolní skupinou jak v době působení sucha, tak i po fázi regenerace následované další periodou s omezenou závlivkou. Hodnocena byla i míra nefotochemického zhášení (v této práci vyjádřena jako NPQt), která se v obou fázích závlivkového režimu nelišila při srovnání kontrolní skupiny s rostlinami ošetřenými suchem. Mírně zvýšené hodnoty míry nefotochemického zhášení byly pozorovány pouze v odpoledních hodinách u rostlin ošetřených suchem. NPQt měřené v rámci této diplomové práce se statisticky signifikantně mezi skupinami sazenic nelišilo, což potvrzuje výše uvedené výsledky studie autorů Gallé a Feller (2007).

Lze tedy uzavřít, že sledované parametry primární fáze fotosyntézy lze využít ke studiu odpovědi na stres suchem, a to jak parametry popisující aktivitu reakčních center fotosystému I (PS1AC, PS1OpC, PS1ORC, PS1OxC), tak i parametry popisující způsob využití světelné energie zachycené fotosystémem II (Phi2, PhiNO, PhiNPQ, NPQt).

5.3.2 Obsah prolinu pod vlivem stresu suchem u buku

Obsah prolinu byl stanovován ve 3 termínech v rámci experimentální sezóny 2022. Žádná ze statistických analýz neodhalila statistickou signifikanci, došlo pouze ke snížení velikosti rozptylu a poklesu mediánů směrem k nižším hodnotám – oba jevy jsou nejvíce patrné u rostlin ošetřených mírným suchem, nicméně lze je pozorovat u všech skupin semenáčů.

Ačkoliv je zvýšení koncentrace osmoticky aktivních látek, tedy i zvýšení obsahu prolinu, charakteristickým projevem osmotického stresu, tedy sekundárního stresu spojeného se stresem z nedostatku vody, tento nárůst obsahu je většinou příliš nízký pro výrazné uplatnění v osmotickém přizpůsobení stresovaných rostlin (Rennenberg et al., 2006). Přesto však může být nárůst koncentrace prolinu indikátorem stresového působení – bylo prokázáno, že se v listovních bukách stresovaných suchem zvyšuje obsah prolinu na 1,3násobek ve srovnání s kontrolou. Spolu s koncentrací prolinu roste také obsah kyseliny abscisové a různých forem rozpustných sacharidů (Peuke et al., 2002). Autoři studie však poukazují na rozhodující vliv lokality, z níž experimentální materiál pochází – statisticky signifikantní výsledky se vyskytují pouze u některých lokalit, v jedné oblasti byl dokonce z hlediska akumulace prolinu pozorován opačný trend. Ekotypovou specifitu akumulace prolinu za stresu suchem potvrzuje také práce Rennenberg a Schraml, 2000. Pšidová et al. (2013), zmiňovaní v souvislosti s obsahem fotosyntetických pigmentů, prokázali nárůst koncentrace prolinu při nedostatku vody u jedinců buku ze všech 3 oblastí původu. Nejvyšší nárůst koncentrace prolinu (12,7násobek oproti počáteční hodnotě) byl pozorován u skupiny rostlin pocházejících ze středních hodnot nadmořské výšky (710 m n. m.).

Simón et al. (2022) provedli metabolickou studii na jedincích buku lesního vystavených nedostatku vody a zvýšené koncentraci CO₂. Prokázána byla osmoprotektivní role prolinu, jehož koncentrace se vlivem působení stresu zvýšila. Ačkoliv byla studie zaměřena převážně na kořenové systémy bukových jedinců, vedle zvýšení koncentrace prolinu v kořenech autoři potvrdili také nárůst koncentrace prolinu v listovních.

Z výše uvedeného popisu tedy vyplývá, že ačkoliv může být stanovování koncentrace prolinu vhodným příspěvkem ke studiu stresové odpovědi, při interpretaci výsledků je nutné jej vnímat v kontextu mezikotypových odlišností.

5.3.3 Fotosyntetické parametry pod vlivem stresu suchem u buku

5.3.3.1 Vliv stresu suchem na rychlost čisté fotosyntézy u buku

S výjimkou jednoho termínu měření rychlosti čisté fotosyntézy byla všem termínům společná absence statisticky signifikantních odlišností mezi skupinami rostlin či alespoň patrných trendů, což nekoresponduje s předpokladem poklesu rychlosti fotosyntézy u rostlin stresovaných suchem, jak je popisováno v četných studiích. Rychlost čisté fotosyntézy se dle výše citované studie autorů Gallé a Feller (2007) vlivem působení stresu suchem na semenáče buku snížila. Sledovány byly také změny hodnot parametrů po opětovném spuštění závlivky – rychlost čisté fotosyntézy se po 4 týdnech vrátila na původní úroveň, pravděpodobně vlivem fyziologických přizpůsobení.

Pokles rychlosti fotosyntézy a vodivosti průduchů u buku lesního stresovaného suchem pozorovali Pšidová et al. (2018), jejichž studie již byla citována výše v souvislosti se změnami na úrovni fotochemických reakcí. Jednalo se o univerzální reakce buku lesního, které se vyskytly napříč gradientem nadmořských výšek, z nichž experimentální materiál pocházel.

Priwitzer et al. (2014) sledovali fotosyntetickou reakci buku lesního na působení atmosférického a půdního sucha. Potvrzena byla silná závislost rychlosti fotosyntézy na vodivosti průduchů. V termínech s výraznými rozdíly v hodnotách vodního potenciálu půdy byly pozorovány i rozdíly v rychlosti fotosyntézy – u zavlažovaných jedinců byly hodnoty rychlosti fotosyntézy vyšší ve srovnání s jedinci, kteří zavlažováni nebyli. Pokles rychlosti fotosyntézy se projevil zejména na konci 45denní periody stresu suchem časované do období pozdního léta.

Vzhledem k podstatně kratší periodě sucha, která byla provedena v rámci této diplomové práce, lze hledat příčinu absence statisticky signifikantních rozdílů mezi skupinami právě v příliš krátkém působení sucha pro vznik projevů na úrovni rychlosti fotosyntézy. Roli může hrát také nedostatečný počet měření v daný den zapříčiněný časovou náročností měření přístrojem Li-COR či vysoká variabilita mezi jedinci. Zároveň je nutno připomenout, že gazometrická měření byla prováděna až v druhé experimentální sezóně s odlišnou délkou působení a načasováním v rámci vegetační sezóny.

5.3.3.2 Vliv stresu suchem na rychlost transpirace u buku

Výsledky této diplomové práce nepřinesly informaci o statisticky signifikantním poklesu rychlosti transpirace ani projev trendů naznačujících tuto mnoha studii podpořenou skutečnost. Snížení rychlosti transpirace u sazenic buku lesního působením stresu suchem bylo popsáno např. ve studii autorů Fotelli et al. (2001). Stejných výsledků dosáhli také autoři slovenské studie Nalevanková et al. (2020), kteří u dospělých jedinců buku lesního prokázali výrazné omezení transpirace vlivem deficitu vody v půdě. Zdůrazňují synergický efekt mnoha faktorů globální klimatické změny, které ovlivňují jak transpiraci, tak i další studované procesy, v tomto případě zejména tok mízy. Prokázána byla také diurnální časová prodleva

mezi působením stresových faktorů a fyziologickými projevy. Peuke et al. (2002) dospěli k témuž závěru, tedy že u buku lesního dochází ke statisticky signifikantnímu poklesu rychlosti transpirace vlivem nedostatku vody v půdě. Ve srovnání s kontrolou došlo u rostlin ošetřených suchem k poklesu rychlosti transpirace na 0,6násobek. Studie Lüttschwager a Jochheim (2020) provedená na úrovni vzrostlého porostu buku lesního prokázala pokles rychlosti transpirace v důsledku nedostatku vody v půdě a nárůstu deficitu tlaku vodní páry. Dalším faktorem, který může přispívat ke snížení transpirace způsobenému suchem, může být redukce plochy listové v důsledku usychání a opadu (Bolte et al., 2007). Na úrovni semenáčků buku lesního problematiku změny rychlosti transpirace v důsledku stresu suchem studovali např. Hájíčková et al. (2017). V souladu s výše citovanými pracemi byl prokázán pokles rychlosti transpirace ve srovnání s morfologickými a anatomickými parametry, které zůstaly nezměněny. Rychlost transpirace rostlin stresovaných nedostatkem závlivky se 3 dny po ukončení působení sucha a obnovení plné závlivky vrátila na úroveň kontrolní skupiny, tedy plně zavlažovaných jedinců po celou dobu trvání experimentu. Hodnoty parametrů výměny plynů na úrovni listů byly v jiné studii téže hlavní autorky (Hájíčková et al., 2023) u rostlin mírně stresovaných suchem obnoveny 4 dny od znovuzavedení závlivky, v případě rostlin pěstovaných za silnějšího sucha byly i 14 dnů od obnovení závlivky stále pozorovány nižší hodnoty ve srovnání s kontrolními rostlinami.

Výše uvedený výčet sice zahrnuje projevy sucha pozorované u buku lesního, nicméně mnoho studií se zabývá studiem vzrostlých jedinců. Tuto skutečnost je nutno mít, s ohledem na možnost mírně odlišných projevů u sazenic, na paměti. Větší výpovědní hodnotu tak mají studie zaměřené právě na bukové semenáčky. Zároveň je nutno mít na zřeteli skutečnost, že systémem Li-COR jsou měřeny pouze jednotlivé listy a výsledky nemusí mít úplnou vypovídací hodnotu pro stanovení transpirace na úrovni celých rostlin či porostu, jak byla měřena např. ve studii autorů Nalevanková et al. (2020). Na úrovni listu byla transpirace stanovována např. ve studii autorů Hájíčková et al. (2017). Pokles rychlosti transpirace, očekávatelný a neprokázaný v této diplomové práci, je však dokázán mnoha studii napříč různými škálami.

5.3.3.3 Vliv stresu suchem na okamžitou účinnost využití vody u buku

Přestože mnohé studie zaznamenaly v důsledku odezvy na stres suchem nárůst okamžité WUE (tedy parametru charakterizovaného jako podíl rychlosti čisté fotosyntézy ku rychlosti transpirace), výsledky pokusu prezentovaného v této diplomové práci tento nárůst nepotvrzují. Wang et al. (2020) se v rámci již citované studie věnovali mj. také stanovení okamžité účinnosti využití vody. Při působení stresu suchem, kdy je rychlost fotosyntézy omezena klesající vodivostí průduchů, byl u rostlin ošetřených suchem pocházejících ze všech studovaných lokalit pozorován nárůst okamžité účinnosti využití vody. Jak vyplývá z výsledků již citované studie Gallé a Feller (2007), vlivem návratu hodnot rychlosti čisté fotosyntézy po obnovení závlivky na předstresovou úroveň a opačného efektu v případě

vodivosti průduchů došlo k nárůstu okamžité WUE. Hodnoty okamžité WUE zůstaly zvýšeny po celou dobu trvání fáze regenerace. Po celou dobu trvání experimentu, tedy ve fázi sucha i regenerace, byla prokázána úzká souvislost a koregulace rychlosti fotosyntézy a vodivosti průduchů. Autoři vyvozují, že optimalizace hodnot okamžité WUE po stresu suchem představuje adaptační mechanismus zabraňující působení další periody sucha v téže sezóně. Naopak statisticky signifikantní pokles okamžité WUE u buku lesního byl spolu s poklesem rychlosti čisté fotosyntézy, transpirace a vodivosti průduchů pozorován ve studii Borišev et al. (2015). Tyto změny korelovaly s prohlubujícím se nedostatkem půdní vody v průběhu vegetační sezóny způsobeném nedostatečným objemem srážek. Další informace k diskuzi naměřených hodnot $iWUE$ jsou zahrnuty do kapitoly týkající se měření půdní vlhkosti.

5.3.3.4 Vliv stresu suchem na vodivost průduchů u buku

Výsledky diplomové práce neposkytly v žádném z termínů měření důkaz o statisticky signifikantním rozdílu mezi skupinami rostlin. Tato skutečnost odporuje předpokládanému poklesu vodivosti průduchů vlivem deficiencie závlivky, který byl pozorován např. v rámci již citované studie autorů Gallé a Feller (2007). Ti se zaměřili také na změny hodnot parametrů po opětovném spuštění závlivky – vodivost průduchů se oproti rychlosti čisté fotosyntézy (viz příslušná podkapitola diskuzní části výsledků) na hladinu původních hodnot nevrátila. Změny ve vodivosti průduchů u bukových semenáčků stresovaných suchem pozorovali také již citovaní autoři studie Hájíčková et al. (2023). Vodivost průduchů rostlin stresovaných mírnou dávkou sucha poklesla na 15 % ve srovnání s vodivostí plně zavlažovaných jedinců, v případě silnějšího nedostatku vody dokonce až na 5 % hodnoty u kontrolních rostlin buku. Snížení průduchové vodivosti bylo v souladu s poklesem rychlosti fotosyntézy a poklesem hodnot parametrů fluorescence chlorofylu. Jak zdůrazňuje práce Peiffer et al. (2014), při vyčerpání půdní vody dochází k narušení vertikálního gradientu vodivosti průduchů v koruně buku lesního. Pozice měřeného listu v rámci koruny je tedy dalším faktorem, který může z důvodu existence gradientu ovlivňovat naměřené hodnoty vodivosti průduchů. Stejně jako bylo pojednáno v kapitole týkající se rychlosti fotosyntézy, i v tomto případě nelze vyloučit roli pozdního načasování sucha či jeho příliš krátkého působení, vlivem čehož nebyly měření zachyceny rozdíly mezi rostlinami různého ošetření.

5.3.4 Měření půdní vlhkosti

Jak již bylo pojednáno v metodické části této diplomové práce, v průběhu první experimentální sezóny nebyla z důvodu využití vlhkostních sond pro paralelně probíhající experiment monitorována vlhkost substrátu v kontejnerech.

Poněkud překvapivě nekorespondovala v průběhu druhé experimentální naměřená vlhkost v kontejnerech s dodanou zálivkou – v období s rovnoměrnou zálivkou byla u kontrolní varianty zjištěna nižší vlhkost substrátu ve srovnání s rostlinami s omezeným přísunem vody během period sucha. Z celkového počtu 6 měření byla na základě post-hoc testů ve 4 termínech zjištěna statisticky signifikantní odlišnost kontroly od obou skupin rostlin ošetřených suchem, v 1 termínu navíc také odlišnost obou skupin rostlin ošetřených suchem, v 1 termínu pouze odlišnost kontroly od rostlin ošetřených mírným suchem.

Jak zmiňují autoři studie pojednávající o resilienci buku lesního a dubu pýřitého vůči stresu suchem (Andrés et al., 2021), VWC v půdě, tedy veličina použitá v této diplomové práci k charakterizaci objemu zálivky v půdě, závisí na textuře půdy, teplotě okolního vzduchu a teplotě rosného bodu (tedy stavu, kdy je relativní vlhkost vzduchu rovna 100 %). V přirozených podmínkách je důležitým faktorem také expozice stanoviště. Holst et al. (2010) sledovali vodní bilanci dvou bukových porostů v německém pohoří Švábský Jura. Bylo prokázáno, že jihozápadně orientované svahy vykazovaly mezi roky 2002 a 2007 nižší hodnoty VWC půdy a vyšší hodnoty iWUE ve srovnání s chladnějšími a vlhčími podmínkami na svazích severovýchodních. Vyšší požadavek na evapotranspiraci nevedl na teplejších jihozápadních svazích ke statisticky signifikantně vyššímu stresu suchem, nicméně projevy byly patrné na úrovni snížení ztrát vody ze systému.

Ačkoliv přímým gazometrickým měřením nebyly zjištěny rozdíly v rychlosti transpirace v závislosti na míře zálivky, lze se domnívat, že na úrovni celých rostlin se v druhé experimentální sezoně mohl projevit právě efekt předchozího vystavení suchu na nižší spotřebě dostupné vody (a tedy vyšší vlhkosti substrátu) v části sezony, kdy byly všechny skupiny zalévány rovnoměrně. Peuke et al. (2002) zjistili, že u jedinců buku pocházejících ze sušších oblastí byla rychlost transpirace ovlivněna méně ve srovnání s bukovými rostlinami pocházejícími z oblastí charakterizovaných vyšším objemem srážek, jelikož počáteční hodnoty rychlosti transpirace byly u buků ze suchých stanovišť nižší. Tento fakt může společně s tím, že bukoví jedinci limitovaní suchem efektivněji šetří s dostupnou zálivkou. Z důvodu jednotného původu sazenic, nelze tímto mechanismem rozdíly ve spotřebě vody a tedy vlhkosti substrátu vysvětlit. Je možné, že v druhé sezóně se uplatnila při nižší spotřebě vody stresová paměť, jejíž projevy byly v různých jiných parametrech u buku popsány (Yang et al., 2022).

5.3.5 Optické parametry listů pod vlivem stresu suchem u buku

Množství dostupné literatury, která popisuje reakce buku lesního na působení stresu suchem za využití optických metod, je značně omezené. Tato skutečnost komplikuje tvorbu diskuzní části textu zaobírající se zhodnocením spektroradiometrických měření odrazivosti. Zároveň je však důkazem, že se s ohledem na absenci vědeckých studií v dané problematice jedná o perspektivní pole působnosti pro další odborné práce.

Jak bylo pojednáno v kontextu vlivu stresu suchem na obsah vody v listech buku, Buddenbaum et al. (2015) provázali referenční měření EWT a obsahu chlorofylu s obrazovou spektroskopií. Výstupem byly mapy těchto parametrů s detailním prostorovým rozlišením. Ve srovnání s touto diplomovou prací se však jedná o výrazně vyšší hierarchickou škálu, jelikož v této diplomové práci byly vždy třikrát měřeny 1-3 listy z každé experimentální sazenice a měření následně zprůměrována (počet měřených listů se odvíjel od makroskopického vyhodnocení homogenity/heterogenity listoví s cílem zisku reprezentativního vzorku z každé rostliny).

West et al. (2022), autoři studie citované v literárním úvodu práce, využili pro zhodnocení dopadů sucha na bukové porosty mj. i vegetační index NDVI, tedy index ze skupiny VI vztahujících se k obsahu chlorofylu. Ačkoliv autoři zdůrazňují citlivost vůči načasování zisku obrazových dat, byl pozorován pokles hodnot tohoto vegetačního indexu. NDVI byl hodnocen také v rámci této diplomové práce – lineární regrese hodnot NDVI k biochemicky stanovenému obsahu chlorofylu byla aplikována na data získaná v průběhu první experimentální sezóny (2021). Výsledné p-hodnoty byly stanoveny na velmi nízkou úroveň, nicméně koeficientem determinace určený podíl variability, kterou vysvětluje použitý lineární model, byl pouze cca 29 %. Ve srovnání s ostatními vegetačními indexy vztahujícím se k obsahu chlorofylu se jedná o nejméně vhodně použitý VI, koeficienty determinace ostatních VI vztažených k celkovému obsahu chlorofylu vysvětlují 83-85 % variability. Vegetační indexy vztažené k SLA a EWT (NDWI, MSI, NDLI) se z hlediska hodnot koeficientů determinace jeví jako podstatně méně vhodné, vysvětlují jen 1-29 % variability.

NDWI, tedy index z druhé skupiny VI vztahujících se k obsahu vody, byl zahrnut do studie autorů Sturm et al. (2022). Jejich cílem bylo studium reakce švýcarských lesních ekosystémů na působení stresu suchem, a to právě na základě využití satelitních dat Sentinel-2, z nichž byly hodnoty indexu vypočítány. Buk lesní je v rámci švýcarských lesních ekosystémů po smrku ztepilém (43,7 % plochy) druhou nejrozšířenější dřevinou (18,1 % plochy). Pokles hodnot NDWI v důsledku nízké odolnosti vůči účinkům sucha byl pozorován na 4,3 % plochy švýcarských lesů. U 50 % této plochy došlo k obnově hodnot NDWI, kdežto na ploše odpovídající 2,7 % celkového zalesněného území pokračoval i nadále pokles hodnot NDWI. Lze se tedy domnívat, že negativní účinky sucha působily na ekosystém dlouhodobě či opakovaně. Výsledky jsou tedy v souladu s experimentálními výstupy v rámci této diplomové práce, jelikož v důsledku působení sucha byl taktéž pozorován pokles hodnot NDWI u rostlin se sníženým objemem záhlavky, zároveň bylo také pozorováno setření

statisticky signifikantních rozdílů mezi skupinami rostlin po ukončení periody sucha. Zdůrazněn byl dále také vliv topografie sledovaných stanovišť či role klimatických podmínek. Obecně byla pozorována větší míra poškození na stanovištích s převahou jehličnanů, poškozeny však byly i bukové porosty. Autoři uzavírají, že satelitní data jsou pro studium dané problematiky vhodná a poskytují možnost predikce budoucích jevů v ekosystému.

Spolu s NDWI byl v práci autorů Dotzler et al. (2015) sledován index MSI, zdrojovými daty byla i v tomto případě satelitní data Sentinel-2. Studovaná plocha byla lokalizována do německé spolkové země Porýní-Falc a jednalo se o opadavý les s převahou buku lesního. Dalšími nejzastoupenějšími druhy byl dub zimní (*Quercus petraea*), dub letní (*Quercus robur*), borovice lesní (*Pinus sylvestris*), javor klen (*Acer pseudoplatanus*) a smrk ztepilý (*Picea abies*). Hodnoty studovaných VI byly, stejně jako v případě výše citované studie autorů Buddenbaum et al. (2015), využity pro tvorbu detailních prostorových map umožňujících zachycení fyziologického stavu rostlin na studované ploše a MSI lze v tomto kontextu považovat za vhodně zvolený VI pro sledování vodních poměrů lokality.

Spektrální křivky odrazivosti byly, ve srovnání s VI vypočítávanými v experimentální sezóně 2021, stanovovány v průběhu obou experimentálních sezón. Výstupy měření v první experimentální sezóně kopírují výsledky analýzy vegetačních indexů: převaha absence statisticky signifikantních rozdílů charakteristická pro dubnové měření, statisticky signifikantní rozdíl mezi kontrolní skupinou a sazenicemi ošetřenými suchem v celém rozsahu naměřených spekter charakteristický pro červnové měření a v říjnu se projevující opětovné setření rozdílů mezi skupinami doložené homogenizací polohy spektrálních křivek odrazivosti. Výsledky jsou zároveň v souladu s dalšími metodickými přístupy, např. s měřením fotosyntetických parametrů, jejichž změny naměřených hodnot lze taktéž klást do přímé souvislosti se stresovým působením. O rok později byla navýšena frekvence spektrometrických měření a pozorovány byly četné, leč drobné posuny poloh spektrálních křivek odrazivosti v průběhu experimentální sezóny 2022. Přestože v žádném z termínů nebyla prokázána statisticky signifikantní odlišnost kontrolní skupiny od rostlin ošetřených silnější mírou sucha, lze i na základě těchto dat poukázat na uplatnění efektu ošetření.

6 Závěry

V následující části budou vyhodnoceny závěry vyplývající z dílčích cílů práce stanovených v úvodu.

1. Prvním dílčím cílem předkládané diplomové práce bylo posouzení toho, jak se působení stresu suchem odráží ve fyziologickém stavu semenáčů buku lesního (*Fagus sylvatica* L.).

Během periody sucha v experimentální sezóně 2021 byly u 10 ze 14 sledovaných fyziologických parametrů (s výjimkou poměru karotenoidů vůči chlorofylu, EWT, SLA a NPQt) pozorovány statisticky signifikantní odlišnosti mezi kontrolními rostlinami a skupinami rostlin s omezenou závlivkou. Změny v měřených parametrech vypovídaly o omezení některých fyziologických funkcí spojených zejména s primárními fotosyntetickými procesy. Tyto statistickými analýzami podložené rozdíly se nevyskytovaly v době před zahájením periody se sníženým objemem závlivky. Lze tedy konstatovat, že se projevil vlivem působení sucha.

V experimentální sezóně 2022 bylo hodnoceno celkem 9 fyziologických parametrů. Z gazometrických parametrů (rychlost čisté fotosyntézy, rychlost transpirace, vodivost průduchů a iWUE) byl prokázán statisticky signifikantní rozdíl v důsledku sucha pouze u rychlosti čisté fotosyntézy. V případě biofyzikálních parametrů byla statisticky signifikantní změna účinkem sucha potvrzena u poloviny zjišťovaných parametrů, tedy u poměru karotenoidů vůči chlorofylu (pokles mediánových linií patrný zejm. u rostlin suché varianty) a SLA (nárůst hodnot u skupiny ošetřené silnější dávkou sucha). Posledním hodnoceným parametrem byl obsah prolinu, sledování jeho koncentrace neposkytlo žádnou informaci o výskytu statisticky signifikantních odlišností ve všech studovaných obdobích, tedy ve fázi rovnoměrné závlivky, v průběhu periody sucha a ve fázi regenerace.

Hodnocení proběhlo také na základě měření optických vlastností listoví, pojednáno bude v odpovědi na samostatnou výzkumnou otázku.

Lze uzavřít, že v průběhu periody sucha se statisticky signifikantní rozdíly způsobené snížením objemu závlivky projevil zhruba u poloviny sledovaných parametrů: obsah chlorofylu, parametry popisující způsob využití světelné energie PSII (Φ_2 , Φ_{NO} , Φ_{NPQ}), oxidačně-redukční stav reakčních center PSI a míru lineárního elektronového transportu (LEF) tedy lze považovat za vhodně zvolené pro studium reakce buku lesního na omezenou dostupnost vody.

2. Druhým dílčím cílem bylo posouzení role doby nástupu stresu suchem v rámci vegetační sezóny, zhodnocení efektu předchozího průběhu působení stresu suchem na experimentální materiál a porovnání odlišností v odpovědích semenáčů buku na stres suchem navozený v první a druhé experimentální vegetační sezóně (tj. po proběhnutších suchých periodách a fázích regenerace s plnou zálivkou pro všechny semenáče v předchozím roce).

Biofyzikální fyziologické parametry (celkový obsah chlorofylu, poměr karotenoidů vůči chlorofylu, SLA, EWT) byly studovány v obou experimentálních sezónách, stejně tak byly v obou letech měřeny optické vlastnosti listoví. Získaná data poskytují možnost srovnání odpovědi na stres suchem, který byl navozen v rámci 3 period se sníženým objemem zálivky (první 2 periody v experimentální sezóně 2021, třetí perioda v experimentální sezóně 2022). Zároveň lze pozorovat možné rozdíly způsobené nástupem stresu suchem v odlišných částech vegetační sezóny.

První perioda sucha byla časována do období 22.4.-9.6.2021. Statisticky signifikantní odlišnost mezi skupinami rostlin byla prokázána pouze u celkového obsahu chlorofylu (pokles u rostlin se silně omezenou zálivkou oproti kontrole), ostatní biofyzikální parametry se vyznačovaly absencí statisticky signifikantních výsledků. Z hlediska měření optických vlastností bylo pozorováno statisticky signifikantní odlišení suché varianty od rostlin ošetřených mírným suchem a zároveň od kontrolních rostlin. Měření v průběhu druhé periody sucha (1.9.-21.10.2021) se vyznačovalo úplnou absencí statisticky signifikantních rozdílů u všech měřených parametrů, a to včetně celkového obsahu chlorofylu. Vyrovnání hodnot obsahu chlorofylu mezi různě ošetřenými rostlinami zřejmě došlo vlivem efektu regenerační fáze, a to i přes opětovné vystavení rostlin nedostatku zálivky. Spektrální analýza tyto výstupy potvrzuje absencí statisticky signifikantních odlišností mezi jednotlivými variantami zjištěnými na konci vegetační sezóny 2021. Třetí perioda sucha proběhla v termínu 8.8.-1.9.2022. V rámci tohoto období byla prokázána statistická signifikance u všech biofyzikálních parametrů s výjimkou EWT, a to odlišení kontrolní skupiny rostlin od semenáčů suchých variant. Měření optických vlastností listoví potvrdilo statisticky signifikantní odlišnost kontrolní skupiny od rostlin ošetřených mírným suchem, zároveň poukázala na rozdíl mezi suchými variantami.

Doba nástupu se u jednotlivých period sucha lišila. Zatímco první perioda byla časována do jarního období, následující periody snížení zálivky proběhly v období pozdního léta až podzimu. Výsledky získané v pozdních periodách sucha se od sebe podstatně liší mezi oběma experimentálními sezónami, nicméně tento jev, charakterizovaný převážnou absencí statisticky signifikantních hodnot v průběhu druhé periody sucha, patrně souvisí s již popisovaným efektem fáze regenerace. S ohledem na podobně výraznou statistickou signifikanci v průběhu první a třetí periody sucha nelze jednoznačně konstatovat, že by jarní sucho silněji ovlivňovalo fyziologické parametry ve srovnání s pozdním suchem, jak se lze dočíst v nastudované literatuře.

3. Třetím dílčím cílem bylo studium reakce bukových sazenic na obnovení plné závlahy po periodě se sníženou či zcela absentující závlahou.

V rámci experimentální sezóny 2021 byla ve fázi regenerace po stresu suchem u všech pozorovaných parametrů (s výjimkou Phi²) pozorována absence statisticky signifikantních odlišností mezi skupinami rostlin. U 8 parametrů byla pozorována regenerace hodnot ve srovnání s hodnotami naměřenými v průběhu periody sucha, u 5 parametrů byly absence statisticky signifikantních rozdílů pozorována již v průběhu periody sucha a zůstala neměnná.

Gazometrická měření v rámci experimentální sezóny 2022 byla časována do období před snížením závlahy a období sucha, nelze tedy hodnotit potenciál změn hodnot v průběhu fáze regenerace. Jak již bylo zmíněno, v případě koncentrace prolinu nebyly změny v závislosti na míře závlahy statisticky signifikantní. EWT vykazovalo stejný trend jako obsah prolinu, tedy absenci statisticky signifikantních změn daných mírou závlahy. U ostatních biofyzikálních parametrů došlo vlivem obnovení plné závlahy k regeneraci hodnot.

Lze tedy uzavřít, že z hlediska regenerace hodnot po proběhlé periodě sucha převažují parametry, u kterých byl tento trend prokázán. Ve srovnání s morfologickou úrovní (SLA), obsahem vody (EWT) a akumulací prolinu reagují na sucho výrazněji procesy spojené s absorpcí světla (obsah chlorofylu, využití světla PSII a oxidačně redukční stav PSI center) a při obnovení závlahy byla pozorována regenerace hodnot těchto studovaných parametrů.

4. Čtvrtým dílčím cílem bylo posouzení toho, zda jsou v souladu výstupy měření získané za využití různých metodických přístupů, tedy biochemickými a optickými metodami.

Obsah fotosyntetických pigmentů ve vzorcích listové byla stanovován jak na základě biochemické analýzy pomocí spektrofotometrického měření, tak i prostřednictvím přístroje MultispeQ. Výsledky, jichž bylo dosaženo použitím obou těchto metod, se shodují – např. v červnu 2021 byla prokázána statisticky signifikantní odlišnost kontrolní skupiny od rostlin ošetřených suchem. Závěrem lze tedy konstatovat, že byl naplněn předpoklad kompatibility výsledků získaných odlišnými metodami.

5. Pátým dílčím cílem bylo zhodnocení, zda lze nalézt optické indikátory či jejich kombinaci jako vhodný metodický přístup ke studiu problematiky stresu suchem u semenáčů buku.

V diplomové práci bylo měření optických vlastností interpretováno dvojím způsobem – v obou experimentálních sezónách byly hodnoceny spektrální křivky odrazivosti, v sezóně 2021 navíc vegetační indexy. Spektrální křivky odrazivosti porovnané pomocí t-testu v jednotlivých vlnových délkách poskytly informaci o statisticky signifikantních odlišnostech zejména v průběhu period sucha (červen 2021, srpen 2022), v obdobích předcházejících periodám sucha či po nich následujících byla přítomnost statisticky signifikantních odlišností

mezi skupinami rostlin výrazně menší. Lze tedy uzavřít, že rozdíly v průběhu spektrálních křivek mají vypovídací hodnotu o fyziologických změnách způsobených snížením objemu dodávané závlivky.

Vhodnost použití vegetačních indexů se výrazně lišila v závislosti na jejich konkrétním typu. Obecně lze říci, že VI vztahující se k celkovému obsahu chlorofylu byly s ohledem na nízké p-hodnoty a vysokou míru vysvětlené variability vyhodnoceny jako vhodně použité. VI vztahující se k parametrům SLA a EWT však za vhodně zvolené považovat nelze, a to pro jejich nízké koeficienty determinace. Citlivost vegetačních indexů pro sledování stresu suchem odpovídá citlivosti biofyzikálních parametrů, ke kterým se vztahují – obsahu chlorofylu (citlivý) a obsahu sušiny a vody na plochu listu (SLA a EWT – necitlivé).

Závěrem je možné vyhodnotit v úvodu stanovené hypotézy:

- I. *Pro studium odpovědi bukových sazenic na stres suchem jsou vhodně využitelné stresové indikátory – vedle skupiny nespecifických indikátorů stresu (obsah chlorofylu a jeho poměr vůči karotenoidům, obsah prolinu aj.) zejména optické vlastnosti listoví s důrazem na míru odrazivosti, nejčastěji využívané optické vlastnosti v monitorovací praxi.*

Jak vyplývá z popisu závěrů k dílčím cílům práce, hypotézu lze přijmout pouze částečně. Za vhodně využití nespecifické stresové indikátory lze na základě naměřených hodnot považovat stanovení obsahu chlorofylu a převážnou většinu parametrů primární fáze fotosyntézy, jako méně vhodné se jeví stanovení hodnot SLA a poměru karotenoidů vůči chlorofylu, gazometrická měření systémem Li-COR a stanovení hodnot EWT se v kontextu této diplomové práce neosvědčily. Zcela bez výhrad nelze přijmout ani výstupy měření optických vlastností listoví, zejména s poukázáním na výše komentovanou aplikaci vegetačních indexů.

- II. *Mezi třemi skupinami rostlin s odstupňovanou závlivkou od dobrého zásobování po stres suchem v periodách se sníženým objemem přísunu vody se v rámci kombinace vybraných stresových indikátorů vyskytují statisticky signifikantní odlišnosti. Díky tomu budou moci být zvažovány pro monitorování stresu suchem u sazenic buku lesního.*

Statisticky signifikantní odlišnosti již byly komentovány v rámci popisu závěrů k dílčím cílům práce. Lze uzavřít, že hypotéza může být přijata (byť s určitými výhradami vyplývajícími z výše uvedeného textu) pro tyto sledované parametry: obsah chlorofylu, poměr mezi fotochemickým a nefotochemickým využitím světelné energie na PSII (Phi₂, Phi_{NO}, Phi_{NPQ}), oxidačně-redukční stav PSI, míra lineárního elektronového transportu.

Reakce na vystavení sazenic buku lesního stresu suchem byla patrná zejména na úrovni primární fáze fotosyntézy a obsahu chlorofylu, nicméně sledované parametry jsou po znovuzavedení plné míry závlivky schopny regenerace. Silné či opakující se dávky stresového působení však mohou vést k vyčerpání, v extrémních případech až k mortalitě rostlin. Reakce na suchu může být detekovatelná různými experimentálními přístupy, a to včetně odrazivosti. Právě ve využití optických vlastností listoví tkví velký potenciál do budoucna, jelikož se jedná o metodu nedestruktivní a její výstupy s vysokým časovým a prostorovým rozlišením lze využít jak pro včasné lesnické zásahy, tak i pro predikce do budoucna. S rozvojem moderních technologií lze očekávat zdokonalení spektrometrických metod a vyšší míru jejich využití.

Lze uzavřít, že buk lesní se v současnosti, tedy v podmínkách akcelerované klimatické změny, jeví jako dřevina vhodná pro doplnění mozaiky druhů stromů nahrazující nepřirozené monokulturní porosty (zejména smrkové), jelikož porosty s vysokou druhovou diverzitou jsou podstatně odolnější vůči disturbancím. Je nutné mít neustále na paměti nepředvídatelnost a provázanost projevů klimatické změny, nelze tedy zcela jednoznačně potvrdit či vyvrátit vhodnost využití buku lesního v budoucí lesnické praxi.

7 Zdroje literatury

- Aertsen, Wim, Ellen Janssen, Vincent Kint, Jean-Daniel Bontemps, Jos Van Orshoven, a Bart Muys. 2014. „Long-Term Growth Changes of Common Beech (*Fagus Sylvatica* L.) Are Less Pronounced on Highly Productive Sites". *Forest Ecology and Management* 312 (leden): 252–59.
- Albrechtová, Jana, Lucie Kupková, a Petya K. E. Campbel. 2017. *Metody hodnocení fyziologického stavu smrkových porostů: Případové studie sledování vývoje stavu smrkových porostů v Krušných horách v letech 1998–2013*. Edice Geographica, sv. 10. Praha: Česká geografická společnost.
- Allagulova, Ch. R., F. R. Gimalov, F. M. Shakirova, a V. A. Vakhitov. 2003. „The Plant Dehydrins: Structure and Putative Functions". *Biochemistry (Moscow)* 68 (9): 945–51.
- Allen, Craig D., David D. Breshears, a Nate G. McDowell. 2015. „On Underestimation of Global Vulnerability to Tree Mortality and Forest Die-off from Hotter Drought in the Anthropocene". *Ecosphere* 6 (8): 1–13.
- Anjum, Shakeel Ahmad, Xiao-yu Xie, Long-chang Wang, Muhammad Farrukh Saleem, Chen Man, a Wang Lei. 2011. „Morphological, Physiological and Biochemical Responses of Plants to Drought Stress". *African Journal of Agricultural Research* 6 (9): 2026–32.
- Ao, H., T. Torimaru, Y. Akaji, S. Akada, Y. Matsuda, a H. Kisanuki. 2023. „Free-Proline and Total Flavonoid Responses in Leaves of *Fagus Crenata* Current-Year Seedlings to Short-Term Soil Drought Stress". *Sylvan* 167 (01): 26–36.
- Aranda García, Ismael, F. J. Cano, A. Gascó, H. Cochard, A. Nardini, J. A. Mancha, R. López, a D. Sánchez-Gómez. 2014. „Variation in Photosynthetic Performance and Hydraulic Architecture across European Beech (*Fagus Sylvatica* L.) Populations Supports the Case for Local Adaptation to Water Stress". *Tree Physiology* 35 (1): 34–46.
- Backes, K, a C Leuschner. 2000. „Leaf water relations of competitive *Fagus sylvatica* and *Quercus petraea* trees during 4 years differing in soil drought". *Canadian Journal of Forest Research* 30 (3): 335–46.
- Beier, C., B. A. Emmett, J. Peñuelas, I. K. Schmidt, A. Tietema, M. Estiarte, P. Gundersen, et al. 2008. „Carbon and Nitrogen Cycles in European Ecosystems Respond Differently to Global Warming". *Science of The Total Environment* 407 (1): 692–97.
- Berki, Imre, Ervin Rasztoivits, Norbert Móricz, a Csaba Mátyás. 2009. „Determination of the Drought Tolerance Limit of Beech Forests and Forecasting Their Future Distribution in Hungary". *Cereal Research Communications* 37: 613–16.
- Bolte, Andreas, Tomasz Czajkowski, a Thomas Kompa. 2007. „The north-eastern distribution range of European beech—a review". *Forestry: An International Journal of Forest Research* 80 (4): 413–29.

- Borišev, Milan, Rita Horak, Slobodanka Pajević, Saša Orlović, Nataša Nikolić, Milan Župunski, a Andrej Pilipović. 2015. „Daily Dynamics of Photosynthetic Parameters in Beech Population under Periodical Drought Conditions". *Open Life Sciences* 10 (1): 165–74.
- Boyer, J. S. 1970. „Differing Sensitivity of Photosynthesis to Low Leaf Water Potentials in Corn and Soybean 1". *Plant Physiology* 46 (2): 236–39.
- Bruce, Toby J. A., Michaela C. Matthes, Johnathan A. Napier, a John A. Pickett. 2007. „Stressful “Memories” of Plants: Evidence and Possible Mechanisms". *Plant Science* 173 (6): 603–8.
- Buddenbaum, Henning, Oksana Stern, Barbara Paschmionka, Erik Hass, Thomas Gattung, Johannes Stoffels, Joachim Hill, a Willy Werner. 2015. „Using VNIR and SWIR field imaging spectroscopy for drought stress monitoring of beech seedlings". *International Journal of Remote Sensing* 36 (18): 4590–4605.
- Buddenbaum, Henning, Oksana Stern, Marion Stellmes, Johannes Stoffels, Pyare Pueschel, Joachim Hill, a Willy Werner. 2012. „Field Imaging Spectroscopy of Beech Seedlings under Dryness Stress". *Remote Sensing* 4 (12): 3721–40.
- Ciais, Ph, M. Reichstein, N. Viovy, A. Granier, J. Ogée, V. Allard, M. Aubinet, et al. 2005. „Europe-Wide Reduction in Primary Productivity Caused by the Heat and Drought in 2003". *Nature* 437 (7058): 529–33.
- Demmig-Adams, B, a W W Adams. 1992. „Photoprotection and Other Responses of Plants to High Light Stress". *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 43 (1): 599–626.
- Dindorf, T., U. Kuhn, L. Ganzeveld, G. Schebeske, P. Ciccioli, C. Holzke, R. Köble, G. Seufert, a J. Kesselmeier. 2006. „Significant Light and Temperature Dependent Monoterpene Emissions from European Beech (*Fagus Sylvatica* L.) and Their Potential Impact on the European Volatile Organic Compound Budget". *Journal of Geophysical Research: Atmospheres* 111 (D16).
- Dotzler, Sandra, Joachim Hill, Henning Buddenbaum, a Johannes Stoffels. 2015. „The Potential of EnMAP and Sentinel-2 Data for Detecting Drought Stress Phenomena in Deciduous Forest Communities". *Remote Sensing* 7 (10): 14227–58.
- Dreyer, E. 1994. „Compared Sensitivity of Seedlings from 3 Woody Species (*Quercus Robur* L, *Quercus Rubra* L and *Fagus Silvatica* L) to Water-Logging and Associated Root Hypoxia: Effects on Water Relations and Photosynthesis". *Annales Des Sciences Forestières* 51 (4): 417–28.
- Durrant, Tracy, Daniele de Rigo, a Giovanni Caudullo. 2016. „*Fagus sylvatica* in Europe: distribution, habitat, usage and threats". In *European Atlas of Forest Tree Species*.
- Dziedek, Christoph, Goddert von Oheimb, Leonor Calvo, Andreas Fichtner, Wolf-Ulrich Kriebitzsch, Elena Marcos, Witja Till Pitz, a Werner Härdtle. 2016. „Does Excess Nitrogen Supply Increase the Drought Sensitivity of European Beech (*Fagus Sylvatica* L.) Seedlings?" *Plant Ecology* 217 (4): 393–405.
- Ellenberg, H. 1974. „Indicator values of vascular plants in central Europe". *Scripta Geobotanica* 9: 97.

- Fernández de Simón, Brígida, Estrella Cadahía, a Ismael Aranda. 2022. „Aerial and Underground Organs Display Specific Metabolic Strategies to Cope with Water Stress under Rising Atmospheric CO₂ in *Fagus Sylvatica* L." *Physiologia Plantarum* 174 (3).
- Fleta-Soriano, Eva, a Sergi Munné-Bosch. 2016. „Stress Memory and the Inevitable Effects of Drought: A Physiological Perspective". *Frontiers in Plant Science* 7: 143.
- Fotelli, M. N., H. Rennenberg, a A. Geßler. 2002. „Effects of Drought on the Competitive Interference of an Early Successional Species (*Rubus Fruticosus*) on *Fagus Sylvatica* L. Seedlings: 15N Uptake and Partitioning, Responses of Amino Acids and Other N Compounds". *Plant Biology* 4 (3): 311–20.
- Fotelli, Mariangela N., Arthur Geßler, Andreas D. Peuke, a Heinz Rennenberg. 2001. „Drought Affects the Competitive Interactions between *Fagus Sylvatica* Seedlings and an Early Successional Species, *Rubus Fruticosus*: Responses of Growth, Water Status and $\delta^{13}C$ Composition". *New Phytologist* 151 (2): 427–35.
- Foyer, Christine H., Marie-Hélène Valadier, Andrea Migge, a Thomas W. Becker. 1998. „Drought-Induced Effects on Nitrate Reductase Activity and mRNA and on the Coordination of Nitrogen and Carbon Metabolism in Maize Leaves1". *Plant Physiology* 117 (1): 283–92.
- Gallé, Alexander, a Urs Feller. 2007. „Changes of Photosynthetic Traits in Beech Saplings (*Fagus Sylvatica*) under Severe Drought Stress and during Recovery". *Physiologia Plantarum* 131 (3): 412–21.
- Gao, Lin, Xiaofei Wang, Brian Alan Johnson, Qingjiu Tian, Yu Wang, Jochem Verrelst, Xihan Mu, a Xingfa Gu. 2020. „Remote Sensing Algorithms for Estimation of Fractional Vegetation Cover Using Pure Vegetation Index Values: A Review". *ISPRS Journal of Photogrammetry and Remote Sensing* 159 (leden): 364–77.
- García-Plazaola, J.I., a J.M. Becerril. 2000. „Effects of Drought on Photoprotective Mechanisms in European Beech (*Fagus Sylvatica* L.) Seedlings from Different Provenances". *Trees* 14 (8): 485–90.
- Gates, David M., Harry J. Keegan, John C. Schleiter, a Victor R. Weidner. 1965. „Spectral Properties of Plants". *Applied Optics* 4 (1): 11–20.
- Gebauer, Roman, Roman Plichta, Josef Urban, Daniel Volařík, a Martina Hájíčková. 2020. „The resistance and resilience of European beech seedlings to drought stress during the period of leaf development". *Tree Physiology* 40 (9): 1147–64.
- Gessler, A., C. Keitel, M. Nahm, a H. Rennenberg. 2004. „Water Shortage Affects the Water and Nitrogen Balance in Central European Beech Forests". *Plant Biology* 6 (3): 289–98.
- Gessler, Arthur, Claudia Keitel, Jürgen Kreuzwieser, Rainer Matyssek, Wolfgang Seiler, a Heinz Rennenberg. 2007. „Potential risks for European beech (*Fagus sylvatica* L.) in a changing climate". *Trees* 21 (leden): 1–11.
- González de Andrés, Ester, Teresa Rosas, Jesús Julio Camarero, a Jordi Martínez-Vilalta. 2021. „The Intraspecific Variation of Functional Traits Modulates Drought Resilience of European Beech and Pubescent Oak". *Journal of Ecology* 109 (10): 3652–69.

- Grams, Thorsten E. E., Benjamin D. Hesse, Timo Gebhardt, Fabian Weigl, Thomas Rötzer, Benedikt Kovacs, Kyohsuke Hikino, et al. 2021. „The Kroof Experiment: Realization and Efficacy of a Recurrent Drought Experiment plus Recovery in a Beech/Spruce Forest". *Ecosphere* 12 (3).
- Hájíčková, Martina. 2019. „Fyziologické, anatomické a morfoložické reakce sazenic buku lesního a smrku ztepilého na stres suchem a následnou závlahu". Dizertační práce, Mendelova univerzita v Brně – Lesnická a dřevařská fakulta.
- Hájíčková, Martina, Roman Plichta, Daniel Volařík, a Roman Gebauer. 2017. „Effects of Drought and Rewatering on Growth and Transpiration in European Beech Seedlings Late in the Growing Season". *New Forests* 48 (6): 773–84.
- Hájíčková, Martina, Roman Plichta, Daniel Volařík, Josef Urban, Marie Matoušková, a Roman Gebauer. 2023. „Xylem function and leaf physiology in European beech saplings during and after moderate and severe drought stress". *Forestry: An International Journal of Forest Research* (červen).
- Harvey, Jill E., Marko Smiljanić, Tobias Scharnweber, Allan Buras, Anna Cedro, Roberto Cruz-García, Igor Drobyshev, et al. 2020. „Tree Growth Influenced by Warming Winter Climate and Summer Moisture Availability in Northern Temperate Forests". *Global Change Biology* 26 (4): 2505–18.
- Heim, Richard R. 2002. „A Review of Twentieth-Century Drought Indices Used in the United States". *Bulletin of the American Meteorological Society* 83 (8): 1149–66.
- Holst, Jutta, Rüdiger Grote, Christine Offermann, Juan Pedro Ferrio, Arthur Gessler, Helmut Mayer, a Heinz Rennenberg. 2010. „Water Fluxes within Beech Stands in Complex Terrain". *International Journal of Biometeorology* 54 (1): 23–36.
- Honzík, R., S. Uš'ak, a M. Vach. 2016. „Hydropedologické parametry a objemová hmotnost půd u variant dlouhodobých pokusů s rozdílnými způsoby zpracování".
- Chen, Hui, a Jian-Guo Jiang. 2010. „Osmotic adjustment and plant adaptation to environmental changes related to drought and salinity". *Environmental Reviews* 18 (1): 309–19.
- Jacques, Cécile, Christophe Salon, Romain L. Barnard, Vanessa Vernoud, a Marion Prudent. 2021. „Drought Stress Memory at the Plant Cycle Level: A Review". *Plants* 10 (9): 1873.
- Jaleel, Cheruth Abdul, Paramasivam Manivannan, Abdul Wahid, Muhammad Farooq, Jasim Al-Juburi, Ramamurthy Somasundaram, a Rajaram Panneerselvam. 2009. „Drought Stress in Plants: A Review on Morphological Characteristics and Pigments Composition". *International Journal of Agriculture and Biology* 11 (1): 100-5.
- Khail, Ayoub A. M., a J. Grace. 1992. „Acclimation to Drought in *Acer pseudoplatanus* L. (Sycamore) Seedlings". *Journal of Experimental Botany* 43 (12): 1591–1602.
- Kirkham, M. B. 2023. *Principles of Soil and Plant Water Relations*. Elsevier.
- Knutzen, Florian, Ina Christin Meier, a Christoph Leuschner. 2015. „Does reduced precipitation trigger physiological and morphological drought adaptations in European beech (*Fagus sylvatica* L.)? Comparing provenances across a precipitation gradient". *Tree Physiology* 35 (9): 949–63.

- Köckemann, Benjamin. 2008. „Abundance, Niche Breadth and Stress in the Centre and at the Border of the Distribution Range.: A Macroecological Study on Abundant and Rare Tree Species". Dizertační práce. Georg-August-University Göttingen – Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultäten.
- Köcher, Paul, Tobias Gebauer, Viviana Horna, a Christoph Leuschner. 2009. „Leaf Water Status and Stem Xylem Flux in Relation to Soil Drought in Five Temperate Broad-Leaved Tree Species with Contrasting Water Use Strategies". *Annals of Forest Science* 66 (1): 101–101.
- Kubíková, J. 1999. „Xerothermní až semixerothermní trávníky a lemy". In *Péče o chráněná území I*, 213–30. Praha: AOPK.
- Kutsch, Werner L., Christian Wirth, Jens Kattge, Stefanie Nöllert, Matthias Herbst, a Ludger Kappen. 2009. „Ecophysiological Characteristics of Mature Trees and Stands - Consequences for Old-Growth Forest Productivity". In *Old-Growth Forests: Function, Fate and Value*, editoval Christian Wirth, Gerd Gleixner, a Martin Heimann, 57–79. Ecological Studies. Berlin, Heidelberg: Springer.
- Lakatos, Ferenc, a Miklós Molnár. 2009. „Mass Mortality of Beech (*Fagus Sylvatica* L.) in South-West Hungary". *Acta Silvatica et Lignaria Hungarica* 5: 75–82.
- Lazár, Dušan, a Jiří Jablonský. 2009. „On the Approaches Applied in Formulation of a Kinetic Model of Photosystem II: Different Approaches Lead to Different Simulations of the Chlorophyll a Fluorescence Transients". *Journal of Theoretical Biology* 257 (2): 260–69.
- Leuschner, Christoph. 2020. „Drought Response of European Beech (*Fagus Sylvatica* L.)—A Review". *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* 47 (prosinec): 125576.
- Leuschner, Christoph, a Heinz Ellenberg. 2017. „Life Forms and Growth Types of Central European Plant Species". In *Ecology of Central European Forests: Vegetation Ecology of Central Europe, Volume I*, editoval Christoph Leuschner a Heinz Ellenberg, 23–28. Cham: Springer International Publishing.
- Leuschner, Christoph, Florian Schipka, a Katharina Backes. 2022. „Stomatal regulation and water potential variation in European beech: challenging the iso/anisohydry concept". *Tree Physiology* 42 (2): 365–78.
- Leuschner, Christoph, Paul Wedde, a Torben Lübke. 2019. „The Relation between Pressure–Volume Curve Traits and Stomatal Regulation of Water Potential in Five Temperate Broadleaf Tree Species". *Annals of Forest Science* 76 (2): 1–14.
- Liu, Jian-Feng, Matthias Arend, Wen-Juan Yang, Marcus Schaub, Yan-Yan Ni, Arthur Gessler, Ze-Ping Jiang, Andreas Rigling, a Mai-He Li. 2017. „Effects of Drought on Leaf Carbon Source and Growth of European Beech Are Modulated by Soil Type". *Scientific Reports* 7 (1): 42462.
- Lüttschwager, Dietmar, a Hubert Jochheim. 2020. „Drought Primarily Reduces Canopy Transpiration of Exposed Beech Trees and Decreases the Share of Water Uptake from Deeper Soil Layers". *Forests* 11 (5): 537.
- Mattson, William J., a Robert A. Haack. 1987. „The Role of Drought in Outbreaks of Plant-Eating Insects". *BioScience* 37 (2): 110–18.

- Maxwell, Kate, a Giles N. Johnson. 2000. „Chlorophyll fluorescence—a practical guide". *Journal of Experimental Botany* 51 (345): 659–68.
- Medlyn, B. E., F. -W. Badeck, D. G. G. De Pury, C. V. M. Barton, M. Broadmeadow, R. Ceulemans, P. De Angelis, et al. 1999. „Effects of Elevated [CO₂] on Photosynthesis in European Forest Species: A Meta-Analysis of Model Parameters". *Plant, Cell & Environment* 22 (12): 1475–95.
- Morley, Peter J., Alistair S. Jump, Martin D. West, a Daniel N. M. Donoghue. 2020. „Spectral Response of Chlorophyll Content during Leaf Senescence in European Beech Trees". *Environmental Research Communications* 2 (7): 071002.
- Nalevanková, Paulína, Zuzana Sitková, Jiří Kučera, a Katarína Střelcová. 2020. „Impact of Water Deficit on Seasonal and Diurnal Dynamics of European Beech Transpiration and Time-Lag Effect between Stand Transpiration and Environmental Drivers". *Water* 12 (12): 3437.
- Nátr, L. 1998. „Fotosyntéza". In *Fyziologie rostlin*. Praha: Academia.
- Nickel, Uwe T., Fabian Weikl, René Kerner, Cynthia Schäfer, Christian Kallenbach, Jean C. Munch, a Karin Pritsch. 2018. „Quantitative Losses vs. Qualitative Stability of Ectomycorrhizal Community Responses to 3 Years of Experimental Summer Drought in a Beech–Spruce Forest". *Global Change Biology* 24 (2): e560–76.
- Obladen, Nora, Pia Dechering, Georgios Skiadaresis, Willy Tegel, Joachim Keßler, Sebastian Höllerl, Sven Kaps, et al. 2021. „Tree Mortality of European Beech and Norway Spruce Induced by 2018-2019 Hot Droughts in Central Germany". *Agricultural and Forest Meteorology* 307 (září): 108482.
- O'Brien, Michael J., Sebastian Leuzinger, Christopher D. Philipson, John Tay, a Andy Hector. 2014. „Drought Survival of Tropical Tree Seedlings Enhanced by Non-Structural Carbohydrate Levels". *Nature Climate Change* 4 (8): 710–14.
- Palmer, Wayne C. 1965. Meteorological Drought. U.S. Department of Commerce, Weather Bureau: research paper no. 45.
- Parry, Christopher, J. Mark Blonquist Jr., a Bruce Bugbee. 2014. „In Situ Measurement of Leaf Chlorophyll Concentration: Analysis of the Optical/Absolute Relationship". *Plant, Cell & Environment* 37 (11): 2508–20.
- Pastor, V., E. Luna, B. Mauch-Mani, J. Ton, a V. Flors. 2013. „Primed Plants Do Not Forget". *Environmental and Experimental Botany*, Cross-stress tolerance and stress „memory" in plants, 94 (říjen): 46–56.
- Peiffer, Marianne, Nathalie Bréda, Vincent Badeau, a André Granier. 2014. „Disturbances in European Beech Water Relation during an Extreme Drought". *Annals of Forest Science* 71 (7): 821–29.
- Peterken, G. F., a E. P. Mountford. 1996. „Effects of drought on beech in Lady Park Wood, an unmanaged mixed deciduous woodland". *Forestry: An International Journal of Forest Research* 69 (2): 125–36.
- Peuke, A. D., C. Schraml, W. Hartung, a H. Rennenberg. 2002. „Identification of Drought-Sensitive Beech Ecotypes by Physiological Parameters". *New Phytologist* 154 (2): 373–87.

- Pflug, Ellen E., Nina Buchmann, Rolf T. W. Siegwolf, Marcus Schaub, Andreas Rigling, a Matthias Arend. 2018. „Resilient Leaf Physiological Response of European Beech (*Fagus sylvatica* L.) to Summer Drought and Drought Release". *Frontiers in Plant Science* 9.
- Piovesan, Gianluca, Franco Biondi, Alfredo Di Filippo, Alfredo Alessandrini, a Maurizio Maugeri. 2008. „Drought-Driven Growth Reduction in Old Beech (*Fagus Sylvatica* L.) Forests of the Central Apennines, Italy". *Global Change Biology* 14 (6): 1265–81.
- Plesník, Jan. 2022. „Jizerskohorské bučiny se staly první přírodní lokalitou světového dědictví UNESCO v České republice." In *Zprávy památkové péče 2/2022*. Praha: Národní památkový ústav.
- Price, Adam H., Neil M. Atherton, a George A. F. Hendry. 1989. „Plants Under Drought-Stress Generate Activated Oxygen". *Free Radical Research Communications* 8 (1): 61–66.
- Priwitzer, Tibor, Daniel Kurjak, Jaroslav Kmeť, Zuzana Sitková, a Adriana Leštianska. 2014. „Photosynthetic response of European beech to atmospheric and soil drought". *Forestry Journal* 60 (1): 31–37.
- Prosekov, Alexander Y., a Svetlana A. Ivanova. 2018. „Food Security: The Challenge of the Present". *Geoforum* 91: 73–77.
- Pšidová, E., L. Ditmarová, G. Jarnická, D. Kurjak, J. Majerová, T. Czajkowski, a A. Bolte. 2015. „Photosynthetic Response of Beech Seedlings of Different Origin to Water Deficit". *Photosynthetica* 53 (2): 187–94.
- Pšidová, Eva, Ľubica Ditmarová, Gabriela Jarnická, Jozef Váľka, a Dušan Gömöry. 2013. „Assessment of the Impact of Drought Stress on Particular Biochemical and Physiological Characteristics of Beech Saplings Leaves from Different Provenances". *Folia Oecologica* 40 (1): 97–106
- Pšidová, Eva, Marek Živčák, Srđan Stojnić, Saša Orlović, Dušan Gömöry, Jana Kučerová, Ľubica Ditmarová, Katarína Štelcová, Marián Brestič, a Hazem M. Kalaji. 2018. „Altitude of Origin Influences the Responses of PSII Photochemistry to Heat Waves in European Beech (*Fagus sylvatica* L.)". *Environmental and Experimental Botany* 152 (srpen): 97–106.
- Rennenberg, H., F. Loreto, A. Polle, F. Brill, S. Fares, R. S. Beniwal, a A. Gessler. 2006. „Physiological Responses of Forest Trees to Heat and Drought". *Plant Biology* 8 (5): 556–71.
- Rennenberg, Heinz, a Carmen Schraml. 2000. „Sensitivität von Ökotypen der Buche (*Fagus sylvatica* L.) gegenüber Trockenstress". *Forstwissenschaftliches Centralblatt vereinigt mit Tharandter forstliches Jahrbuch* 119 (1): 51–61.
- Rodríguez-Calcerrada, Jesus, Owen K. Atkin, T. Matthew Robson, Joana Zaragoza-Castells, Luis Gil, a Ismael Aranda. 2010. „Thermal acclimation of leaf dark respiration of beech seedlings experiencing summer drought in high and low light environments". *Tree Physiology* 30 (2): 214–24.
- Ruehr, Nadine K., Christine A. Offermann, Arthur Gessler, Jana Barbro Winkler, Juan Pedro Ferrio, Nina Buchmann, a Romain L. Barnard. 2009. „Drought Effects on Allocation of Recent Carbon: From Beech Leaves to Soil CO₂ Efflux". *New Phytologist* 184 (4): 950–61.

- Salvi, Prafull, Mrinalini Manna, Harmeet Kaur, Tanika Thakur, Nishu Gandass, Deepesh Bhatt, a Mehanathan Muthamilarasan. 2021. „Phytohormone Signaling and Crosstalk in Regulating Drought Stress Response in Plants". *Plant Cell Reports* 40 (8): 1305–29.
- Sands, Philippe. 1992. „The United Nations Framework Convention on Climate Change". *Review of European, Comparative & International Environmental Law* 1: 270.
- Seidel, Hannes, Michael Matiu, a Annette Menzel. 2019. „Compensatory Growth of Scots Pine Seedlings Mitigates Impacts of Multiple Droughts Within and Across Years". *Frontiers in Plant Science* 10.
- Seidel, Hannes, a Annette Menzel. 2016. „Above-Ground Dimensions and Acclimation Explain Variation in Drought Mortality of Scots Pine Seedlings from Various Provenances". *Frontiers in Plant Science* 7.
- Schaepman, Michael E., Susan L. Ustin, Antonio J. Plaza, Thomas H. Painter, Jochem Verrelst, a Shunlin Liang. 2009. „Earth System Science Related Imaging Spectroscopy—An Assessment". *Remote Sensing of Environment, Imaging Spectroscopy Special Issue*, 113 (září): S123–37.
- Schmid, Iris, a Marian Kazda. 2001. „Vertical distribution and radial growth of coarse roots in pure and mixed stands of *Fagus sylvatica* and *Picea abies*". *Canadian Journal of Forest Research* 31 (3): 539–48.
- Smith, Sally E., a David J. Read. 2010. *Mycorrhizal Symbiosis*. Cambridge: Academic Press.
- Sobíšek, Bořivoj. 1993. *Meteorologický slovník výkladový terminologický: S cizojazyčnými názvy hesel ve slovenštině, angličtině, němčině, francouzštině a ruštině*. Praha: Academia.
- Spinnler, D., P. Egli, a C. Körner. 2002. „Four-Year Growth Dynamics of Beech-Spruce Model Ecosystems under CO₂ Enrichment on Two Different Forest Soils". *Trees* 16 (6): 423–36.
- Sturm, Joan, Maria J. Santos, Bernhard Schmid, a Alexander Damm. 2022. „Satellite Data Reveal Differential Responses of Swiss Forests to Unprecedented 2018 Drought". *Global Change Biology* 28 (9): 2956–78.
- Šantrůček, J. 1998. „Vodní režim rostlin". In *Fyziologie rostlin*. Praha: Academia.
- Šimpraga, M., H. Verbeeck, M. Demarcke, É. Joó, O. Pokorska, C. Amelynck, N. Schoon, et al. 2011. „Clear Link between Drought Stress, Photosynthesis and Biogenic Volatile Organic Compounds in *Fagus sylvatica* L." *Atmospheric Environment* 45 (30): 5254–59.
- Tardieu, François, a Thierry Simonneau. 1998. „Variability among species of stomatal control under fluctuating soil water status and evaporative demand: modelling isohydric and anisohydric behaviours". *Journal of Experimental Botany* 49: 419–32.
- Tognetti, Roberto, Jon D. Johnson, a Marco Michelozzi. 1995. „The Response of European Beech (*Fagus sylvatica* L.) Seedlings from Two Italian Populations to Drought and Recovery". *Trees* 9 (6): 348–54.
- Tombesi, Sergio, Andrea Nardini, Tommaso Frioni, Marta Soccolini, Claudia Zadra, Daniela Farinelli, Stefano Poni, a Alberto Palliotti. 2015. „Stomatal Closure Is Induced by Hydraulic Signals and Maintained by ABA in Drought-Stressed Grapevine". *Scientific Reports* 5 (1): 12449.

- Urban, Josef, Marie Matoušková, William Robb, Boleslav Jelínek, a Luboš Úradníček. 2023. „Effect of Drought on Photosynthesis of Trees and Shrubs in Habitat Corridors". *Forests* 14 (8): 1521.
- Vitásek, František. 1996. *Základy fyzického zeměpisu*. Praha: Academia.
- Walter, Heinrich. 1931. *Die Hydratur der Pflanze und ihre physiologisch-ökologische Bedeutung: Untersuchungen über den osmotischen Wert*. Jena: Gustav Fischer Verlag.
- Walthert, Lorenz, Andrea Ganthaler, Stefan Mayr, Matthias Saurer, Peter Waldner, Marco Walser, Roman Zweifel, a Georg von Arx. 2021. „From the comfort zone to crown dieback: Sequence of physiological stress thresholds in mature European beech trees across progressive drought". *Science of The Total Environment* 753 (leden): 141792.
- Wang, Fang, David Israel, José-Alberto Ramírez-Valiente, David Sánchez-Gómez, Ismael Aranda, Pedro J. Aphalo, a T. Matthew Robson. 2021. „Seedlings from Marginal and Core Populations of European Beech (*Fagus Sylvatica* L.) Respond Differently to Imposed Drought and Shade". *Trees* 35 (1): 53–67.
- West, E., P. J. Morley, A. S. Jump, a D. N. M. Donoghue. 2022. „Satellite Data Track Spatial and Temporal Declines in European Beech Forest Canopy Characteristics Associated with Intense Drought Events in the Rhön Biosphere Reserve, Central Germany". *Plant Biology* 24 (7): 1120–31.
- Wilhite, Donald A., a Michael H. Glantz. 1985. „Understanding: the Drought Phenomenon: The Role of Definitions". *Water International* 10 (3): 111–20.
- Yang, Fengli, Baoguo Du, Tim Burzlaff, Shourav Dutta, Michael Dannenmann, Xueying Quan, Daniel Maurer, a Heinz Rennenberg. 2022. „Memory Effects of Water Deprivation in European Beech (*Fagus Sylvatica* L.) and Silver Fir (*Abies Alba* Mill.) Seedlings Grown in Mixed Cultivation". *Forests* 13 (10): 1704.
- Zang, Ulrich, Michael Goisser, Nele Meyer, Karl-Heinz Häberle, a Werner Borken. 2021. „Chemical and morphological response of beech saplings (*Fagus sylvatica* L.) to an experimental soil drought gradient". *Forest Ecology and Management* 498 (říjen): 119569.
- Zarzycki, Kazimierz, Helena Trzcinska-Tacik, Wojciech Rozanski, Zbigniew Szelag, Jerzy Wolek, a Urszula Korzeniak. 2002. *Ecological Indicator Values of Vascular Plants of Poland*. Krakow: W. szafer Institute of Botany, Polish Academy of Sciences.
- Zelený, David. 2012. „Poznámky k používání průměrných Ellenbergových indikačních hodnot při analýze vegetačních dat". *Zprávy České botanické společnosti*, 1 (červen).
- Zimmermann, Jorma, Markus Hauck, Choimaa Dulamsuren, a Christoph Leuschner. 2015. „Climate Warming-Related Growth Decline Affects *Fagus Sylvatica*, But Not Other Broad-Leaved Tree Species in Central European Mixed Forests". *Ecosystems* 18 (4): 560–72.

Internetové zdroje

www.eagri.cz

www.europeanbeechforests.org

www.faktaoklimatu.cz

www.indexdatabase.de

www.intersucho.cz

www.ipcc.ch

www.is.muni.cz

www.photosynq.com

www.uhul.cz