

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI

PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA

Katedra botaniky



**POROVNÁNÍ PARAMETRŮ VODNÍHO STAVU
LISTŮ MĚŘENÝCH RŮZNÝMI METODAMI**

Diplomová práce

Autor: Lucie Procházková

Studijní program: N0114A030003, Navazující, Prezenční

Studijní obor: 7504T029-ma/Učitelství biologie pro střední školy maior

7504T089-mi/Učitelství matematiky pro střední školy minor

2. ročník prezenčního studia

Vedoucí práce: doc. RNDr. Martina Špundová, Ph.D.

Olomouc 2021

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci vypracovala samostatně, pod vedením doc. RNDr. Martiny Špundové, Ph.D., a uvedla jsem všechny použité podklady a literaturu.

V Olomouci dne

.....

Lucie Procházková

Poděkování

Chtěla bych poděkovat paní doc. RNDr. Martině Špundové, Ph.D., za odborné vedení a pomoc při měřeních, za starost o rostliny ve fytokomoře, užitečné rady a poznámky při psaní diplomové práce.

Dále bych taktéž chtěla poděkovat panu prof. RNDr. Janu Naušovi, CSc., za asistenci a pomoc při měření, za konzultace a rady při sepsování diplomové práce.

Bibliografická identifikace

Jméno a příjmení autora: Lucie Procházková

Název práce: Porovnání parametrů vodního stavu listů měřených různými metodami

Typ práce: Diplomová práce

Pracoviště: Katedra botaniky Přírodovědecké fakulty Univerzity Palackého v Olomouci

Vedoucí práce: doc. RNDr. Martina Špundová, Ph.D., katedra biofyziky Přírodovědecké fakulty Univerzity Palackého v Olomouci

Rok obhajoby práce: 2021

Abstrakt:

Jedním z hlavních abiotických stresových faktorů nepříznivě ovlivňujících růst, vývoj a výnos rostlin je nedostatek vody. Tolerance rostlin vůči suchu je spojována s jejich schopností udržet v buňkách dostatečný obsah vody. K posouzení vodního stavu rostlin se používá celá řada metod a parametrů. Cílem diplomové práce bude srovnání změn parametrů vodního stavu měřených různými metodami při zasychání listů a posouzení vhodnosti použití jednotlivých metod při studiu vlivu vodního deficitu na rostliny.

Klíčová slova: zasychání listu, vodní potenciál, psychrometr, tlaková komora, vodní index, NDVI, LI-COR, SPAD, Poly-PlantPen

Počet stran: 107

Počet příloh: 0

Jazyk: český

Bibliographic identification

Autor's first name and surname: Lucie Procházková

Title of thesis: Comparison of parameters of leaf water status measured by different methods

Type of thesis: Diploma

Department: Department of Botany, Faculty of Science, Palacky University in Olomouc

Supervisor: RNDr. Martina Špundová, Ph.D., department of Biophysics, Faculty of Science, Palacky University in Olomouc

The year of presentation: 2021

Abstract: One of the main abiotic stress factors unfavourably affecting the growth, development and yield of plants, is the water deficit. Tolerance of plants to drought is connected to their ability to retain sufficient amount of water in the cells. Numerous methods and parameters are used to evaluate the water status in plants. The aim of the diploma thesis is to compare the change in parameters of the water status measured by various methods during leaf desiccation and evaluating the suitability of using individual methods in the study of influence of water deficit on plants.

Keywords: leaf desiccation water potential, psychrometer, pressure chamber, water index, NDVI, LI-COR, SPAD, Poly-PlantPen

Number of pages: 107

Number of appendices: 0

Language: Czech

Obsah

1. Úvod	9
2. Cíle práce.....	10
3. Teoretická část s přehledem literatury	11
3.1. Rostliny a voda	11
3.1.1. Voda uvnitř buňky.....	11
3.1.1.1. Hydratační voda	12
3.1.1.2. Protoplazmatická voda.....	12
3.1.1.3. Vakuolární voda	12
3.2. Vodní potenciál	13
3.2.1. Osmotický potenciál.....	14
3.2.2. Tlakový potenciál	15
3.2.3. Matriční potenciál	15
3.2.4. Gravitační potenciál	15
3.3. Rostliny a sucho	15
3.3.1. Sucho.....	15
3.3.2. Bod vadnutí.....	17
3.3.3. Vodní bilance.....	17
3.3.4. Odolnost rostlin vůči suchu.....	20
3.3.4.1. Schopnost rostlin oddalovat vysychání.....	21
3.3.4.2. Schopnost rostlin snášet vysychání.....	22
3.3.5. Specifická doba přežití	26
3.4. Metody stanovení vodního stavu rostlin	27
3.4.1. Psychrometrie	28
3.4.1.1. Psychrometrická metoda	29
3.4.1.2. Metoda rosného bodu	30
3.4.2. Tlaková metoda.....	32
3.5. Optické vlastnosti listu	35
3.6. Vliv obsahu vody na reflektanci listu.....	38
3.7. Optické indexy počítané ze spekter reflektance	41
3.7.1. Vodní index	41
3.7.2. NDVI	42
3.7.3. Přehled dalších optických indexů.....	42
3.8. Měření optických vlastností listů	45
3.8.1. LI-COR.....	46
3.8.1.1. Vodní index.....	48

3.8.2.	Poly-PlantPen	48
3.8.2.1.	NDVI	50
3.9.	Obsah chlorofylu v listech	51
3.9.1.	Destruktivní metody měření obsahu chlorofylu v listech	51
3.9.2.	Nedestruktivní metody měření obsahu chlorofylu v listech	52
3.9.2.1.	SPAD	52
3.10.	Shrnutí	55
4.	Materiál a metody	56
4.1.	Rostlinný materiál	56
4.1.1.	Ječmen	56
4.1.2.	Tabák	56
4.2.	Stanovení UH a RWC	56
4.3.	Měření vodního potenciálu	57
4.3.1.	Měření pomocí psychrometru	58
4.3.1.1.	Kalibrace	58
4.3.1.2.	Měření na listech	60
4.3.2.	Měření pomocí tlakové metody	61
4.3.2.1.	Postup měření	61
4.4.	Měření vodního indexu	61
4.4.1.	Měření pomocí spektrálního radiometru	61
4.4.1.1.	Postup měření	62
4.4.2.	Měření NDVI	62
4.4.2.1.	Postup měření	62
4.4.3.	Měření SPAD	63
4.4.3.1.	Postup měření	63
5.	Výsledky	64
5.1.	Korelace UH a RWC	64
5.2.	Rychlost zasychání listu	65
5.3.	Měření parametrů vodního stavu listu	67
5.3.1.	Vodní potenciál	67
5.3.1.1.	Stanovení vodního potenciálu psychrometricky	67
5.3.1.2.	Stanovení vodního potenciálu tlakovou metodou	68
5.3.1.3.	Srovnání vodního potenciálu měřeného psychrometricky a měřeného tlakovou metodou	69
5.3.2.	Optické metody	70
5.3.2.1.	LI-COR	70

5.3.2.2.	Poly-PlantPen	78
5.3.2.3.	Srovnání NDVI měřeného pomocí přístroje LI-COR a Poly-PlantPen	79
5.3.2.4.	SPAD	79
6.	Diskuze	84
7.	Didaktická část	94
7.1.	Vzor pracovního listu – zasychání listu rostliny	94
7.1.1.	Teoretický úvod.....	94
7.1.2.	Úkol: Vytvořte závislosti změny plochy listu a UH na RWC.....	95
8.	Závěr.....	96
9.	Použitá literatura.....	98
9.1.	Zdroje obrázků	101
10.	Seznam obrázků a tabulek	102

1. Úvod

Rostliny tvoří podstatnou součást našeho života na Zemi. Každá rostlina ke svému růstu, vývoji a výnosu potřebuje dostatek vody. Ovšem stále častěji se rostliny musí potýkat s nedostatkem vody. Různé rostliny mají odlišnou toleranci k suchu, která závisí na schopnosti buněk rostliny udržet si ve svém vnitřním prostředí dostatečný objem vody. Je proto velmi důležité pochopit, jak jednotlivé rostliny na suchu reagují a jakou míru sucha dokáží snést.

Při studiu reakcí nebo tolerance rostlin na suchu je nutné znát jejich vodní stav. K posouzení vodního stavu rostliny se využívá mnoho metod. Mezi nejpoužívanější patří psychrometrická metoda a tlaková metoda stanovení vodního potenciálu. V současné době se taktéž začíná věnovat velká pozornost optickým metodám a pomocí nich určených optickým parametrům, které by spolehlivě odrážely vodní stav rostlin. Tyto metody se dostávají do popředí hlavně díky dálkovému průzkumu Země.

Ovšem všechny metody mají svá úskalí. Mezi největší nevýhodu zmíněné psychrometrické metody patří velmi dlouhý čas potřebný pro měření. Mezi problémy tlakové metody patří problémy s uchycením listů a určením vhodného času pro odečtení hodnoty vodního potenciálu listu. Taktéž obě tyto metody jsou metody destruktivní, tedy dojde ke zničení listu. Optické metody naopak patří mezi metody nedestruktivní. Ale prozatím u nich není vyřešena korelace optických indexů s parametry, které vyjadřují vodní stav rostlin (jako je vodní potenciál nebo relativní obsah vody).

Cílem této práce bylo srovnání nejpoužívanějších metod pro měření vodního stavu listů rostlin, posouzení jejich vhodnosti a spolehlivosti. Stanovení vodního stavu listů probíhalo v různých stádiích jejich zasychání. Metody použité v této práci jsou: psychrometrická metoda, tlaková metoda a optické metody. Měření byla prováděna jak na zástupci z třídy jednoděložných rostlin, tak z třídy dvouděložných rostlin. Jako zástupce jednoděložných rostlin byl použit ječmen setý (*Hordeum vulgare* L. cv. Bojos) a z dvouděložných byl použit tabák virginský (*Nicotiana tabacum* L. cv. Samsun).

2. Cíle práce

Cíle této diplomové práce byly:

- Vypracovat přehled problematiky o používaných parametrech vodního stavu rostlin a metodách jejich měření.
- Vypracovat metodiku zasychání oddělených listů u vybraných zástupců jednoděložných a dvouděložných rostlin (ječmen, tabák).
- Zvládnout metodiky stanovení vodního stavu rostlin (stanovení relativního obsahu vody, psychrometrická metoda, tlaková metoda).
- Vypracovat metodiku stanovení vodního stavu listu pomocí optických parametrů.
- Pomocí výše uvedených metodik změřit jednotlivé parametry vodního stavu listů modelových rostlin během zasychání, srovnat jejich změny a posoudit vhodnost jejich použití pro popis vodního stavu rostlin.

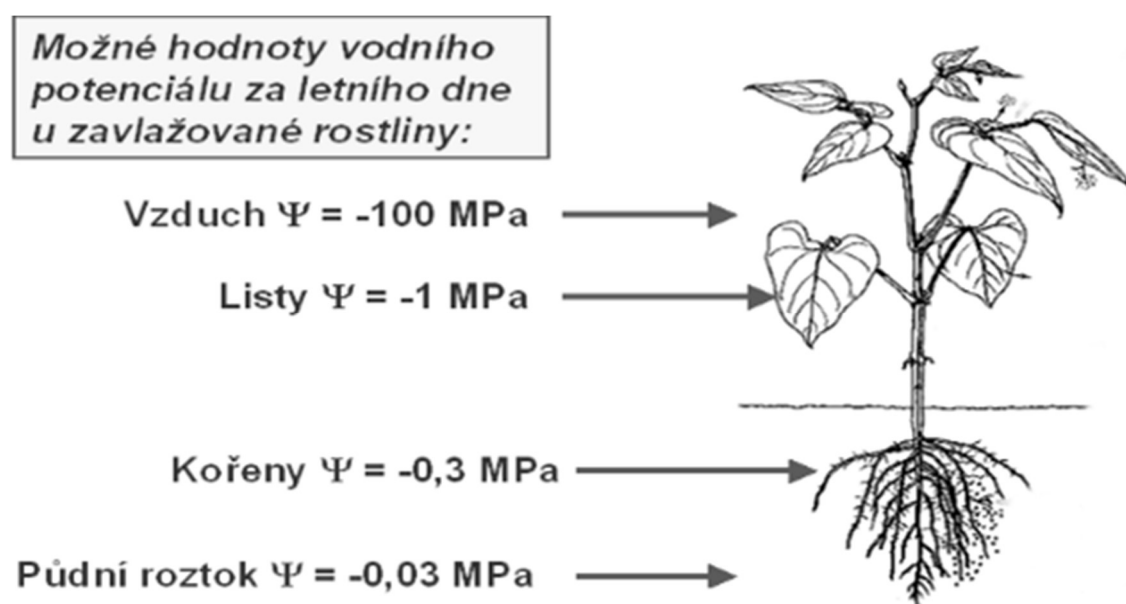
3. Teoretická část s přehledem literatury

3.1. Rostliny a voda

Jelikož život vznikl ve vodě, je voda i nadále nezbytně důležitá pro všechny živé organismy, a to hlavně z důvodu, že v ní probíhá většina biochemických procesů. Rostliny jsou z velké části tvořené vodou. Živý obsah buňky (protoplasma) je tvořen vodou z 85-90 %, také buněčné organely s velkým zastoupením lipidových membrán (chloroplasty, mitochondrie) jsou tvořeny vodou alespoň z 50 %. Nejvíce vody obsahují plody (85-95 %), měkké listy (80-90 %) a kořeny (70-95 %), nejméně vody naopak zralá semena (10-15 %, ale může být i extrém 5-7 %) (Larcher, 1988).

3.1.1. Voda uvnitř buňky

Obsah vody uvnitř buňky není stálý, ale neustále se mění. Je to z toho důvodu, že buňky většinou nejsou maximálně nasycené vodou – mají určitý hydratační deficit. Tento deficit umožňuje transport vody skrz buňku. Velikost proudu, který prochází skrz buňku nebo jeho případné zastavení, je závislé na **vodní bilanci rostliny**. Vodní bilance rostliny vyjadřuje rozdíl mezi veškerou vodou, kterou rostlina přijala a vodou, kterou rostlina ztratila, díky transpiraci. I přes neustálý transport vody skrz buňku, ale i proudění vody v mezibuněčných prostorách a xylému, je voda v rostlině v celkové rovnováze. Rovnováha vody v rostlině se ustanoví velmi rychle, a to na základě rozdílů vodního potenciálu $\Delta\Psi$ (viz dále v práci) mezi buňkami nebo pletiví. Proudění vody v rostlině probíhá na základě gradientu vodního potenciálu (z místa, kde je vodní potenciál nejvyšší – kořeny, do místa, kde je nejnižší – listy) – obrázek 1 (Slavík, 1965).



Obrázek 1 - Gradient vodního potenciálu v rostlině a jejím okolí (převzato z https://is.muni.cz/el/1431/jaro2011/Bi4060/Skripta1_Transport_2011.pdf).

Vodu v rostlině můžeme najít v několika podobách:

- 1.) jako hydratační vodu, která tvoří obaly iontů nebo molekul,
- 2.) jako protoplazmatickou vodu, což je nevázaná voda v protoplazmě,
- 3.) jako vakuolární vodu neboli zásobní vodu,
- 4.) jako vodu, která usnadňuje transport látek v cévách, sítkovicích a mezibuněčných prostorech (Larcher, 1988).

3.1.1.1. Hydratační voda

Hydratační vody je v buňkách velmi málo (asi 5-10 % z celkového objemu vody), nicméně i přesto je v buňce velmi důležitá a její úbytek může mít pro rostlinu fatální následky. Její význam spočívá v tvorbě hydratačních obalů nabitých částic (iontů), ale také bílkovin a sacharidů. Protože molekula vody má dipólový charakter, je přitahována k nabitým částicím. Na jejich povrchu se molekuly vody seskupují a vytvářejí již zmíněný hydratační obal. K povrchu iontu jsou molekuly vody vázány elektromagnetickými silami. Síla, se kterou jsou navázány, závisí na velikosti povrchu iontu a hlavně na jeho náboji (čím vyšší náboj a menší povrch, tím větší silou je hydratační obal k iontu navázán).

Ovšem tato voda je v hydratačním obalu pevně navázána, a proto není dostupná pro jiné procesy. Proto procesy v rostlině ovlivňuje množství volné nenavázané vody a ne celkový obsah vody v rostlině (Larcher, 1988).

3.1.1.2. Protoplazmatická voda

Tato voda v protoplazmě je již volná = nevázaná, oddělená od okolního prostředí pomocí polopropustné cytoplazmatické membrány. Ovšem její pohyb je omezen kapilárními silami této membrány a různými vazbami na rozpuštěné látky a strukturní elementy v matrix (jako jsou například membrány, koloidy, atd.) v buňce. Sílu, která udržuje vodu uvnitř protoplazmy, vyjadřujeme pomocí matričního tlaku τ . Cytoplazmatická membrána dokáže udržet tuto vodu uvnitř buňky i proti roztoku o osmotickém tlaku 1,5 - 15 MPa podle struktury membrány (Larcher, 1988).

3.1.1.3. Vakuolární voda

Tato voda je uložena ve vakuolách buňky a od okolního prostředí je oddělena polopropustnou membránou (tonoplastem). Vakuolární vodu můžeme chápat jako vodu zásobní, tudíž je i nejnepřístupnější a nejnepřístupnější se přemisťuje, v závislosti na koncentraci rozpuštěných látek (cukrů, organických kyselin, iontů) ve vakuolární vodě, ale i v okolním prostředí. Ale i na volnou difúzi této vody přes tonoplast působí kromě

hydratační a matriční síly také rozpuštěné látky, jako jsou cukry, organické kyseliny a ionty. Toto působení nazýváme osmotický tlak roztoku (Larcher, 1988).

Vodný roztok ve vakuole, její polopropustná membrána, cytoplazma buňky, polopropustná membrána buňky a vodný roztok v mezibuněčných prostorech představuje aktivní osmotický systém (Slavík, 1965).

Pokud máme dva roztoky, z nichž jeden je čistá voda a druhý je koncentrovanější (například buněčná šťáva) a oddělíme je od sebe polopropustnou membránou, voda začne samovolně pomocí difúze přecházet přes membránu z méně koncentrovaného roztoku do více koncentrovaného (Larcher, 1988).

Koncentrace rozpuštěných látek v cytoplazmě a její osmotický tlak je obvykle větší než koncentrace látek a osmotický tlak v roztoku v okolí buňky (tj. buňka se nachází v **hypotonickém prostředí**), takže dochází ke vstupu vody po koncentračním spádu z mezibuněčných prostor do buňky. Na základě toho se bude snižovat koncentrace rozpuštěných látek v cytoplazmě a buňka bude zvyšovat svůj objem. Bude se tak dít do té doby, dokud nedojde k vyrovnání vodního potenciálu buňky a okolního prostředí. Jakmile se vodní potenciál vyrovná, buňka vodu přestane přijímat. V krajním případě se může stát, že to buňka s příjmem vody „přežene“, protože ještě nemá pevnou buněčnou stěnu, která by zabránila dalšímu příjmu vody a dojde k jejímu roztržení (tento jev můžeme pozorovat koncem jara po silném dešti u plodů třešní, které popraskají).

Pokud nastane opačný případ, tedy že koncentrace látek a osmotický tlak uvnitř buňky bude nižší než v okolním prostředí buňky, buňka se nachází v **hypertonickém prostředí** a bude naopak vodu ztrácet. Tento jev můžeme vidět, pokud posolíme například okurku. Úbytek vody způsobí smršťování protoplastu a zvyšování koncentrace látek uvnitř buňky. Buňka se zvládne adaptovat na úbytek vody jenom do určité míry, pokud tuto hranici překročí nebo pokud je úbytek příliš rychlý, dojde k odtržení protoplastu od buněčné stěny. Tento jev nazýváme plazmolýza. Výtok vody se opět zastaví v okamžiku, kdy bude vyrovnán vodní potenciál vně a uvnitř buňky. Buňka může do určité míry svůj příjem vody regulovat pomocí změn koncentrace osmoticky aktivních látek (tedy změnou svého osmotického tlaku), např. prostřednictvím depolymerizace škrobu na osmoticky aktivní cukry (Slavík, 1965).

3.2. Vodní potenciál

Jak se již psalo výše, voda v buňce je buď volná, nebo vázaná. Takže vzhledem k hodnotě vodního potenciálu nezáleží na celkovém stavu vody v rostlinné buňce, ale na stavu

dostupné, volné vody v buňce. Volná voda ovlivní, jak je protoplazma biochemicky aktivní.

Termodynamický stav vody v protoplazmě můžeme porovnat se stavem čisté vody a tento rozdíl vyjádříme v jednotkách potenciální energie (Larcher, 1988).

Tedy

$$\Psi = \frac{\mu_1 - \mu_0}{V_w},$$

kde μ_1 je chemický potenciál vody v systému, μ_0 je chemický potenciál čisté vody a V_w je parciální molární objem vody.

Vodní potenciál čisté vody je roven nule a vodní potenciál rostliny, která není plně nasycená vodou, je vždy nižší, proto vodní potenciál v rostlině vyjadřujeme záporným číslem (Slavík, 1965).

Vodní potenciál v rostlině je dán 4 základními složkami. Složkami vodního potenciálu (záporného) jsou **osmotický potenciál** (Ψ_s , záporný), **matriční potenciál** (Ψ_m , záporný), **tlakový potenciál** (Ψ_p , kladný v buňce, záporný v xylému) a **gravitační potenciál** (Ψ_g , kladný) (Slavík, 1965):

$$\Psi = \Psi_s + \Psi_p + \Psi_m + \Psi_g$$

V tabulce 1 je ukázáno, jak se osmotický (Ψ_s) a tlakový potenciál (Ψ_p) buňky podílí na jejím celkovém vodním potenciálu při různé míře hydratace buňky.

Tabulka 1 - Vodní (Ψ), osmotický (Ψ_s) a tlakový potenciál (Ψ_p) buňky v různém hydratačním stavu za předpokladu, že matriční a gravitační potenciál (Ψ_m) a (Ψ_g) jsou rovny 0 (převzato z návodu ke cvičení, katedra biofyziky, UPOL, dostupné z: http://biofyzika.upol.cz/userfiles/file/VODNI_POTENCIAL_2020.docx).

	plazmolyzovaná buňka	začínající plazmolýza	normální stav	plné nasycení vodou
Ψ	max. ($\Psi = \Psi_s$)	$\Psi = \Psi_s$	Ψ	$\Psi = 0$
Ψ_s	max. ($\Psi_s = \Psi$)	Ψ_s	Ψ_s	min. ($\Psi_s = \Psi_p$)
Ψ_p	≤ 0	0	Ψ_p	max. ($\Psi_p = \Psi_s$)

3.2.1. Osmotický potenciál

Osmotický potenciál (Ψ_s) závisí na množství rozpuštěných látek v buněčné vodě. Je roven záporně brannému osmotickému tlaku (Slavík, 1965).

3.2.2. Tlakový potenciál

Tlakový potenciál (Ψ_p) udává rozdíl mezi tlakem uvnitř rostliny (hydrostatickým, turgorovým) a vnějším atmosférickým tlakem. V rostlinných buňkách bývá jeho hodnota kladná, ovšem v xylému je jeho hodnota záporná (Slavík, 1965).

3.2.3. Matriční potenciál

Matriční potenciál (Ψ_m) vyjadřuje, jakou silou je voda vázána na částice, ionty nebo komponenty buňky. Hodnota matričního potenciálu je vždy záporná (Slavík, 1965).

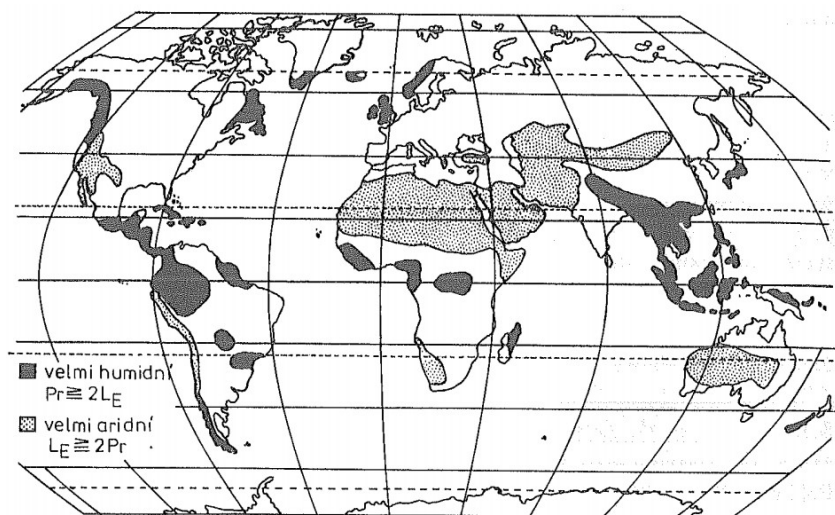
3.2.4. Gravitační potenciál

Gravitační potenciál (Ψ_g) je často zanedbáván, neboť má význam pouze u vzrůstově vyšších rostlin (např. stromů), kde už jejich výška není zanedbatelná. Hodnota je vždy kladná (biofyzika.upol.cz).

3.3. Rostliny a sucho

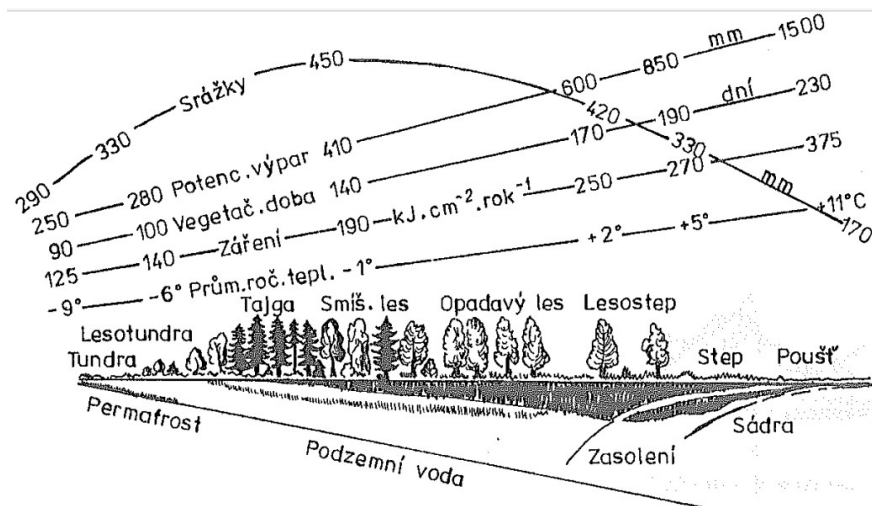
3.3.1. Sucho

Jako sucho označujeme období, které je chudé na srážky a obsah vody v půdě se snížil natolik, že to negativně ovlivňuje rostliny. Podle množství srážek můžeme na Zemi rozlišit dvě extrémní oblasti: extrémně aridní, kde roční výpar převyšuje dvojnásobný roční úhrn srážek, a extrémně humidní, kde naopak roční úhrn srážek převyšuje dvojnásobný roční výpar (Obr. 2) (Larcher, 1988).



Obrázek 2 – Mapa rozložení extrémně aridních a extrémně humidních oblastí na povrchu Země (převzato z Larcher, 1988).

Různá stanoviště se od sebe liší rozdílnou zásobou vody v půdě a rozdílnými podmínkami pro výpar vody. Sucho tedy může být jednou z hlavních charakteristik stanoviště, které mají rozhodující vliv na rozšíření rostlinných druhů (Larcher, 1988).



Obrázek 3 – Ukázka změny srážek, potenciálního výparu, vegetační doby, záření, průměrné roční teploty, složení vegetace a půdy v Rusku od severozápadu na východ (převzato z Larcher, 1988).

Podle charakteru adaptace a strategie, jak rostliny zachovávají obsah vody ve svých tělech, můžeme rostliny rozdělit na dvě skupiny: na rostliny **poikilohydrické** a **homoiohydrické**. **Poikilohydrické** rostliny jsou zcela závislé na vlhkosti prostředí a nejsou schopny ovlivnit vodní stav uvnitř rostliny. Naopak **homoiohydrické** rostliny jsou schopny regulovat vodní stav uvnitř rostliny, a to převážně díky velké centrální vakuole a efektivnímu kořenovému systému (<http://kfrserver.natur.cuni.cz>). Tato strategie ovlivní, jak rostliny zvládají krátkodobý nedostatek vody a jakou mají schopnost chybějící vodu doplnit.

Poikilohydrické rostliny zvládají nedostatek vody velmi dobře a rostou proto převážně tam, kde se střídá období sucha a vlhka. Obsah vody uvnitř jejich buněk je přizpůsobený vzdušné vlhkosti. Tyto rostliny mají malé buňky bez vakuoly, kde by si uchovávaly vodu. Pokud nastane období sucha, buňky těchto rostlin rovnoměrně seschnou, aniž by se poškodila konzistence buněčné stěny nebo protoplazmy. S klesajícím obsahem vody dojde také k útlumu fotosyntézy a dýchání. Díky mechanismu sesychání zůstávají rostliny stále životaschopné. Když je vody opět dostatek, rostliny zcela obnoví svůj metabolismus a začnou růst. Mezi poikilohydrické organismy se řadí převážně bakterie, houby a plísně, ale zařazují se sem i suchomilné mechy a některé cévnaté a dokonce i krytosemenné rostliny. Také se sem řadí pylová zrna a embrya v semenech rostlin (Larcher, 1988).

V buňkách **homoiohydrických** rostlin má významné postavení velká vakuola. Ve vakuole si buňka shromažďuje vodu, aby v případě sucha mohla kompenzovat nedostatek vody. Buňka je tedy schopna překonat období sucha díky tomu, že do protoplazmy je

dodávána voda z vakuoly. Ovšem pokud se voda z vakuoly vyčerpá, rostlina není schopna tak dobře snášet ztrátu vody jako buňky poikilohydrických rostlin a po čase dochází k jejímu poškození. Právě proto se předchůdci homoiohydrických rostlin vyskytovali převážně na zamokřených půdách. Až po vývoji kutikuly, která brání vysokému výparu, a průduchů, které regulují transpiraci, se tento typ rostlin mohl kosmopolitně rozšířit.

Rostlinné buňky ztrácejí vodu výparem z buněčné stěny, do stěny je voda dodávána z protoplazmy buňky a z xylému rostliny, kde je její úbytek u homoiohydrických rostlin nahrazován z vakuoly. Buňky začínají pomalu ztrácet objem, buněčná stěna se na některých místech může přehýbat. S poklesem turgoru klesá i vodní potenciál, což způsobuje narušení rovnováhy mezi příjmem a výdejem vody ve prospěch příjmu vody buňkou. Jakmile jsou sesycháním poškozeny biomembrány uvnitř buňky, dojde mimo jiné ke zhroucení osmotického systému, buňka již není schopna vodu získat a umírá (Larcher, 1988).

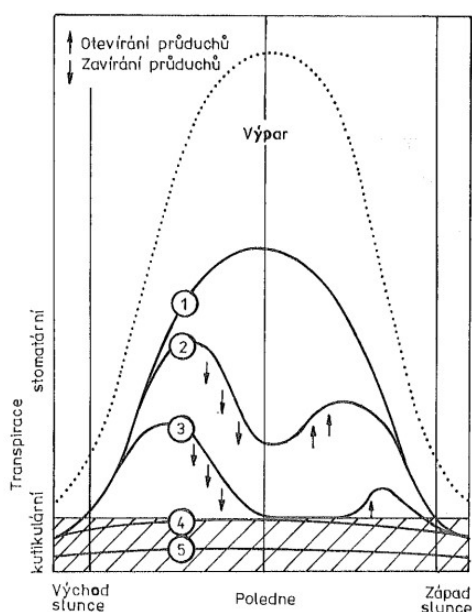
3.3.2. Bod vadnutí

Bod vadnutí je definován jako mezní hodnota vodního potenciálu půdy, kdy vodní potenciál rostliny je vyšší než vodní potenciál půdy a rostlina už tento potenciál neumí snížit. Rostlina tedy nedokáže získat vodu z půdy a začíná vadnou, tj. ztrácet turgor. Hodnota bodu vadnutí, která je pro rostlinu kritická, nazýváme **bod trvalého vadnutí**. Čím víc se vodní potenciál půdy blíží bodu trvalého vadnutí rostliny, tím je pro rostlinu těžší získat vodu z půdy. Hodnota bodu trvalého vadnutí se liší podle druhu rostliny, udává se přibližně v rozmezí -1 až -4 MPa (Larcher, 1988).

3.3.3. Vodní bilance

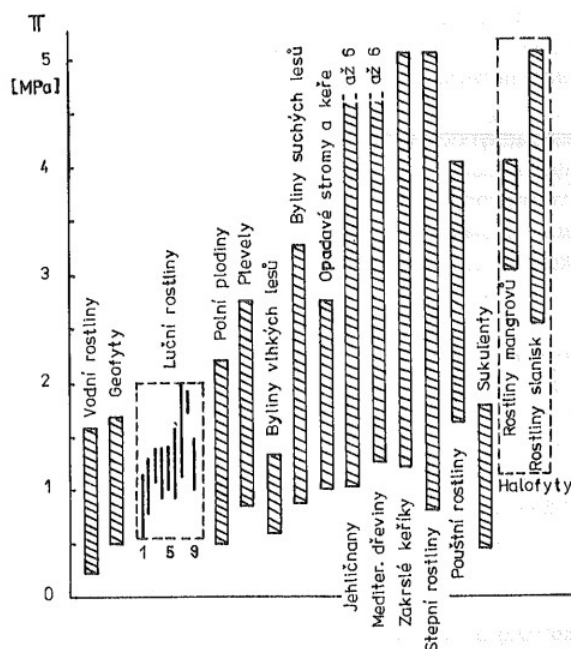
Vodní bilance rostliny je určena rozdílem rychlosti příjmu vody (absorpce kořeny) a výdeje vody (transpirací listy). Tedy vodní bilanci rostliny můžeme vyjádřit pomocí rovnice: **vodní bilance = absorpce vody – transpirace**. Rostlina se snaží uchovat rovnováhu mezi příjmem, vedením a výdejem vody, tedy snaží se udržet svou vodní bilanci v rovnováze. Ovšem vodní bilance rostliny kolísá kolem rovnovážné hodnoty jak do kladných, tak i do záporných hodnot, a to v závislosti na části dne, ale i ročním období. Dochází tedy k denní i sezónní oscilaci vodní bilance rostlin. Jakmile u rostliny převáží transpirace nad absorpcí vody, dostává se vodní bilance do záporných hodnot. Rostlina na tento stav reaguje přivřením průduchů, nejprve pouze přes poledne, postupně až po většinu dne, až nakonec průduchy úplně uzavře, čímž omezí, až zastaví transpiraci (Obr. 4; Larcher, 1988). Absorpce vody zůstává nezměněná (za předpokladu, že se nezmění

obsah vody v půdě a kořenech), což má za následek nárůst vodní bilance až přesáhnutí rovnovážné hodnoty do kladných hodnot. Poté dojde opět k otevření průduchů a klesání vodní bilance k nule, případně opět do záporných hodnot. Tento děj nastává pravidelně v průběhu dne, kdy přes den dosahuje rostlina spíše záporné vodní bilance, zatímco v noci stoupá vodní bilance do kladných hodnot. Pokud je nedostatek vody v půdě, rovnovážná vodní bilance se neobnoví ani v noci a tudíž je u rostliny každý den vodní bilance zápornější a zápornější. Zvrat nastane až v okamžiku, kdy opět začne být vody v půdě dostatek, například po vydatném dešti nebo zalití půdy (Larcher, 1988).



Obrázek 4 – Změny transpirace rostliny během dne při zmenšujícím se množství vody v půdě (1 až 4). Šipky označují otevírání (šipka nahoru) nebo zavírání (šipka dolů) průduchů, které vyvolává pokles nebo růst vodní bilance rostliny. 1 – transpirace při dostatečném obsahu vody v půdě (bez omezení otevřeností průduchů); 2 – polední snížení transpirace, které je způsobené částečným zavřením průduchů; 3 – transpirace při úplném zavření průduchů přes poledne; 4 – transpirace při úplném uzavření průduchů po celý den; 5 – snížená kutikulární transpirace, která je zapříčiněná vysycháním a smršťováním listů (převzato z Larcher, 1988).

Se snižováním hodnoty vodní bilance se hodnota relativního obsahu vody v rostlině také snižuje, zatímco hodnota osmotického potenciálu Ψ_s se snižuje v okamžiku, kdy je vodní bilance záporná. Osmotický potenciál/tlak může být tedy dobrým ukazatelem vodní bilance rostliny, ale je závislý na druhu rostliny, etapě vývoje rostliny a typu rostlinného pletiva. Ovšem každý rostlinný druh snáší různou míru kolísání osmotického potenciálu, některé snášejí velké zvýšení, jiné hynou už při malém zvýšení. Jaký osmotický tlak snášejí některé rostlinné druhy, je znázorněno na Obr. 5 (Larcher, 1988).



Obrázek 5 – Graf snášenlivosti rozsahu osmotického tlaku buněčné šťávy listů některých rostlinných druhů. Hodnoty jsou stanoveny podle nejnižšího a nejvyššího osmotického tlaku, který se u daného ekologického typu rostlin vyskytuje (náznorně je to zobrazeno u lučních druhů). U lučních druhů byli změřeni tyto zástupci: 1 - hadí kořen větší (*Polygonum bistorta* L.), 2 - pampeliška lékařská (*Taraxacum officinale* auct. non Wigg.), 3 - svízel povázka (*Galium mollugo* L.) a zvonek okrouhlolistý (*Campanula rotundifolia* L.), 4 - řebříček obecný (*Achillea millefolium* L.), 5 - kozi brada luční (*Tragopogon pratensis* L.), 6 - lipnice luční (*Poa pratensis* L.), 7 - silenka šírolistá bílá (*Silene latifolia* subsp. *alba* Mill.), 8 - troskut prstnatý (*Cynodon dactylon* L.) a jílek vytrvalý (*Lolium perenne* L.), 9 - ovsík vyvýšený (*Arrhenatherum elatius* L.) (převzato z Larcher, 1988).

Záporná vodní bilance rostliny je spojena také s poklesem až ztrátou turgoru listů a tudíž i s poklesem jejich vodního potenciálu. K poklesu vodního potenciálu přispívá i výše popsaný pokles osmotického potenciálu, nicméně ten nastává až při výraznější dehydrataci rostlin, listů či buněk. Měření vodního potenciálu je tedy vhodnější než měření osmotického potenciálu, obzvláště při nízkých úbytcích vody, protože citlivěji reaguje na změny vodního stavu v listech. Reakce vodního potenciálu na pokles obsahu vody je díky jeho tlakové složce (turgoru) vždy vyšší než reakce osmotického potenciálu (Larcher, 1988).

Na základě vodní bilance rozdělujeme rostliny do dvou skupin, a to na **hydrostabilní** (izohydrické) a **hydrolabilní** (anizohydrické).

Hydrostabilní rostliny si dokáží udržovat hodnotu vodní bilance na nule, s minimálním kolísáním na obě strany. Tyto rostliny si udržují stabilní vodní bilanci díky vysoké citlivosti průduchů, rozsáhlému a výkonnému kořenovému systému a v neposlední řadě díky zásobě vody v zásobních orgánech (dřevě, kůře, kořenech, ...).

Mezi tyto rostliny patří zejména stromy, stínobytné byliny, sukulenty a některé trávy (Larcher, 1988).

U **hydrolabilních** druhů dochází k velkým výkyvům v obsahu vody a buňky těchto rostlin na to musí být schopné reagovat, proto do této kategorie patří především rostliny poikilohydrické a rostliny slunných stanovišť (Larcher, 1988).

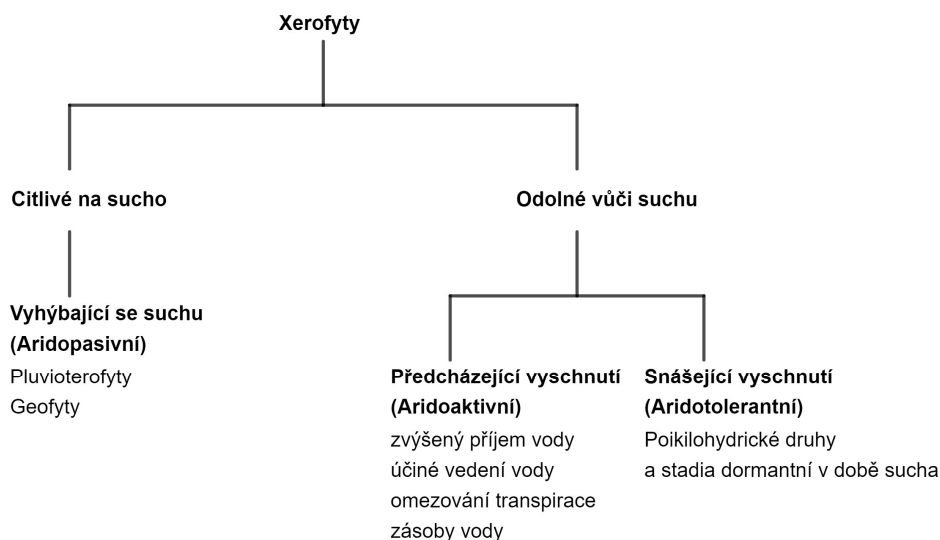
Hydrostabilními a hydrolabilními rostlinami a závislostí jejich vodního potenciálu na úbytku vody se zabývala studie Tardieu a Simonneau (1998). Tato studie zkoumala, jak rostliny s různou strategií uzavírání průduchů reagují jejich uzavřením na přirozený úbytek vody. Také byl zkoumán vliv kyseliny abscisové (ABA) na uzavírání průduchů. Studie se zabývala 4 druhy rostlin, a to: slunečnicí, ječmenem, kukuřicí a topolem. Rostliny byly zkoumány v různých podmínkách (skleník, volná příroda, komora) a při různém vodním potenciálu půdy v kontrastních deficitech tlaku vodních par ve vzduchu (VPD od 0,5 do 3 kPa), tedy s různým stupněm sucha.

Bylo zjištěno, že u slunečnice a ječmene, které řadíme mezi anizohydrické rostliny, byl vodní potenciál listu závislý na denní době a v průběhu dne jeho hodnota výrazně klesala s odpařováním vody z listu. Zatímco kukuřice a topol, které jsou izohydrické, si během dne udržovaly konstantní hodnotu vodního potenciálu listu. U těchto rostlin nezávisí hodnota potenciálu na vodním potenciálu půdy, dokud se rostliny nedostanou blízko úhynu. Taktéž se ukázalo, že u dobře zalévaných rostlin pěstovaných v přírodě se neprojevila žádná závislost stomatální vodivosti na VPD, zatímco v umělých podmínkách byl výsledek opačný. Reakce stomatální vodivosti na koncentraci ABA byla stejná. Ovšem u kukuřice a topolu se reakce na ABA měnila podle množství odpařené vody z listů nebo podle vodního potenciálu listů. U slunečnice a ječmene tomu tak nebylo (Tardieu a Simonneau, 1998).

3.3.4. Odolnost rostlin vůči suchu

Odolnost vůči suchu je schopnost rostliny jakýmkoliv způsobem přežít období s nízkým obsahem vody v půdě. Je to soubor vlastností umožňující rostlině oddalovat vysychání, tedy schopnost oddálit kritické snížení vodního potenciálu rostliny, také je to schopnost rostliny snášet vysychání protoplazmy bez jejího poškození. Většina cévnatých rostlin snáší vysychání velmi špatně, proto rozdíl mezi rostlinami v odolnosti vůči suchu jsou převážně ve schopnosti oddalovat vysychání. **Xerofyty** – suchomilné rostliny rostoucí v oblastech, kde jsou pravidelná období sucha, nebo na pouštích, přežívají suchu díky soustředění růstu a rozmnožování do krátkých časových úseků v průběhu roku, kdy je voda dostupná. Období sucha zpravidla přežívají pouze semena, která snášejí vyschnutí

(u pluvioterofytů), nebo zásobní orgány (oddenky, hlízy, cibule) chráněné v půdě proti vyschnutí (u geofytů) (Larcher, 1988).



Obrázek 6 – Přehled mechanismů přežívání xerofytů v suchých oblastech (převzato z Larcher, 1988).

3.3.4.1. Schopnost rostlin oddalovat vysychání

Schopnost rostlin oddalovat vysychání je dána schopností účinně regulovat absorpci vody, její vedení a transpiraci.

Absorpci vody rostliny zvyšují intenzivním růstem kořenů do větší hloubky, ze které mohou ještě čerpat nějakou vodu. Problém nastává v okamžiku, kdy rostliny už nemají kam dále rozšiřovat svůj kořenový systém, např. rostliny na mělkých půdách, střechách domů, atd. Čím většímu suchu musí rostliny čelit, tím mohutnější mají kořenový systém a poměr hmotnosti nadzemní části ku hmotnosti kořenů se více posouvá ve prospěch kořenů (Larcher, 1988).

Účinnost vedení vody rostliny zvyšují zvětšováním vodivé plochy cévních svazků (více cév ve stoncích, hustší žilnatina v listech) a zkrácením transportní cesty (kratší internodia u trav).

Rychlost transpirace rostliny snižují včasným zavřením průduchů (čím menší průduchy na listech, tím rychleji reagují uzavíráním) a tvorbou kutikuly, která zabraňuje vysokému úbytku vody, případně jejích derivátů (např. chloupků), které mohou odpařování vody ještě více omezit. Při nedostatku vody se také v pletivech rostlin zvyšuje koncentrace ABA, která mimo jiné zapříčiňuje uzavírání průduchů. Velikost povrchu, na kterém probíhá transpirace, rostliny také účinně zmenšují svinováním listů. Velmi rychle takto reagují trávy a ostrice. Některé rostliny, převážně stromy v období zimního sucha,

výrazně omezují transpiraci díky úplnému opadu listů. U rostlin, které se vyvíjejí v období sucha, můžeme vidět různé xeromorfózy listů. Například listy jsou menší nebo mělce dělené, protože rychlost transpirace je přímo úměrná velikosti plochy listu (tedy čím menší plocha, tím menší transpirace a tedy i tím menší výdej vody) (Larcher, 1988).

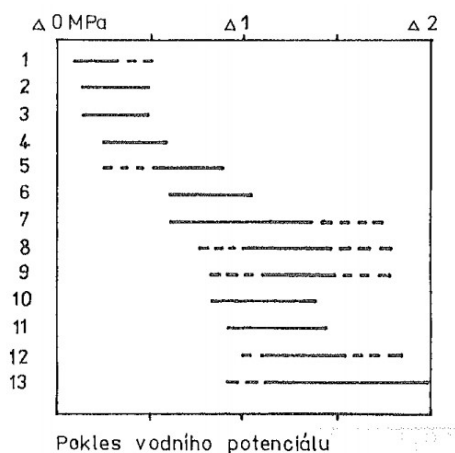
Některé rostliny také dokáží uchovávat vodu v pletivech. Tato schopnost se vyjadřuje pomocí stupně sukulence dané rostliny:

$$\text{stupeň sukulence} = \frac{\text{obsa vody plně nasycené rostliny}}{\text{ploch povrc rostliny}} [\text{g}\cdot\text{m}^{-2}]$$

Některé sukulentní rostliny zvládají přežít i roky sucha než umírají (Larcher, 1988).

3.3.4.2. Schopnost rostlin snášet vysychání

Schopnost snášet vysychání je dána schopností protoplazmy buněk snášet vysokou ztrátu vody spojenou se ztrátou turgoru buňky a zvyšováním koncentrace buněčné šťávy. Při nedostatku vody se jako první naruší buněčné funkce, pak se začnou objevovat poruchy životních funkcí a nakonec dochází k poškození biomembrán (Obr. 7). Míra snášet vysychání se měří u stejných částí rostlin nebo stejně velkých kousků rostlinného pletiva, které mohou dále transpirovat na vzduchu, u kterého známe jeho vlhkost, a je dána nejnižší relativní vlhkostí vzduchu (nebo odpovídající hodnotě vodního potenciálu části rostliny), kterou buňky ještě mohou přežít nebo která způsobí definované poškození buňky. Tuto míru také nazýváme **kritický bod** nebo kritická mez. Tyto informace nám přibližují, jak se rostliny zvládnou adaptovat na sezónní změny obsahu vody v půdě, tedy jak se dokáží přizpůsobit vysychání. Můžeme je také využít pro porovnání různých rostlinných druhů, protože schopnost rostliny vyrovnat se s vysycháním závisí na jejich anatomicko-morfologických specifikách (Larcher, 1988).



Obrázek 7 – Citlivost buněčných funkcí na pokles vodního potenciálu a změny v rostlinách při jejich vysychání. 1- růst buněk; 2- tvorba buněčných stěn; 5 – nárůst koncentrace kyseliny abscisové; 7 – zavírání průduchů; 8 – inhibice fotosyntézy; 9 – poruchy dýchání; 12 – vadnutí; 13 – zastavení pohybu protoplazmy (převzato z Larcher, 1988).

Úbytek vody např. v listu můžeme určit opakovaným měřením obsahu vody v daném listu, resp. určením hmotnosti listu. Obsah vody v listu v okamžiku pozorování vyjádříme jako relativní obsah vody, neboli RWC:

$$RWC = \frac{FW}{TW} * 100 [\%]$$

My jsme při našich měřeních použili rozšířenější vzorec

$$RWC = \frac{FW-DW}{TW-DW} * 100 [\%], \text{ kde}$$

FW – hmotnost listu v daném okamžiku měření,

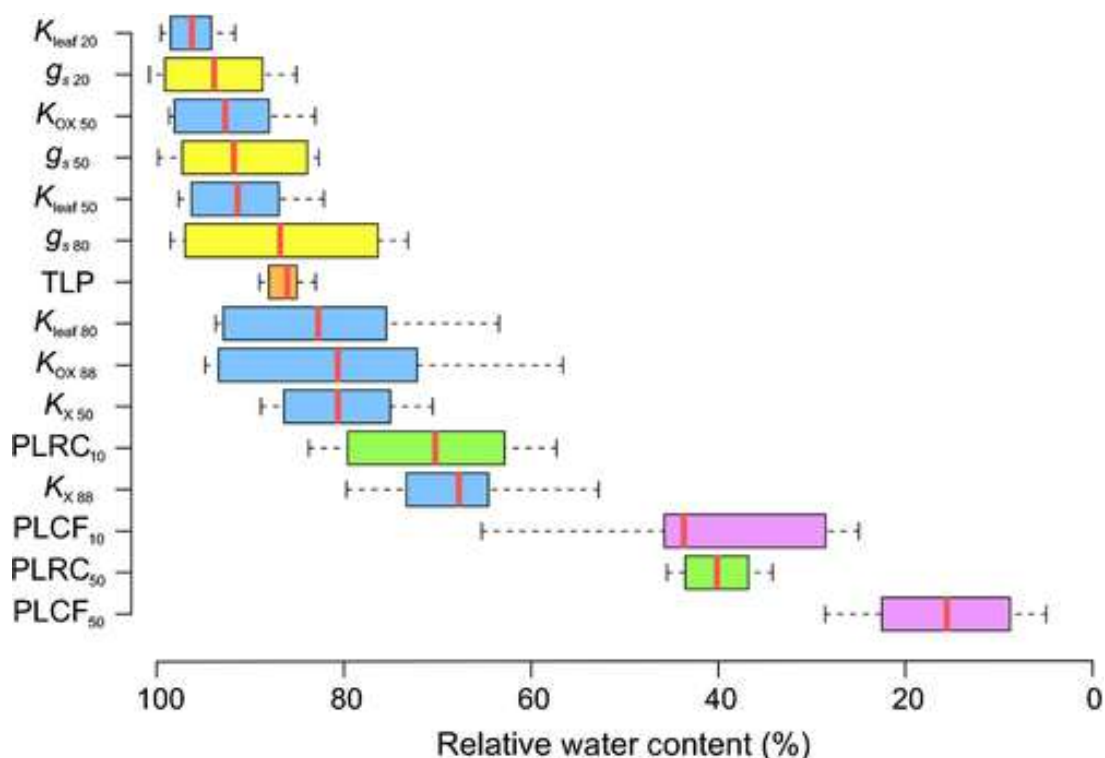
TW – hmotnost plně nasyceného listu (u dobře zalévané rostliny se $TW = FW_0$, kde FW_0 udává hmotnost listu ihned po odřezání z rostliny).

DW – hmotnost sušiny listu (Larcher, 1988).

Zhoršením funkcí listů v závislosti na klesajícím relativním obsahu vody nebo na klesajícím vodním potenciálu se zabývala například práce Trueba a kol. (2019). Autoři se zabývali ztrátou rehydratační kapacity a poklesem maximálního kvantového výtěžku fotosystému II při dehydrataci rostlin a jejich souvislostí se ztrátou turgoru, poklesem vodivosti stomat a poklesem vodního potenciálu rostliny. Bylo testováno 10 různých krytosemenných rostlin, které rostly v terénu a po odříznutí byly všechny rostliny dány do vody, dokud nebyly plně nasycené vodou. Dehydratace listů poté probíhala při pokojové teplotě a nízké ozáření. Autoři v této práci také určovali prahovou hodnotu relativního obsahu vody a vodního potenciálu listů, při kterých již u jednotlivých rostlinných druhů docházelo k funkčnímu poškození.

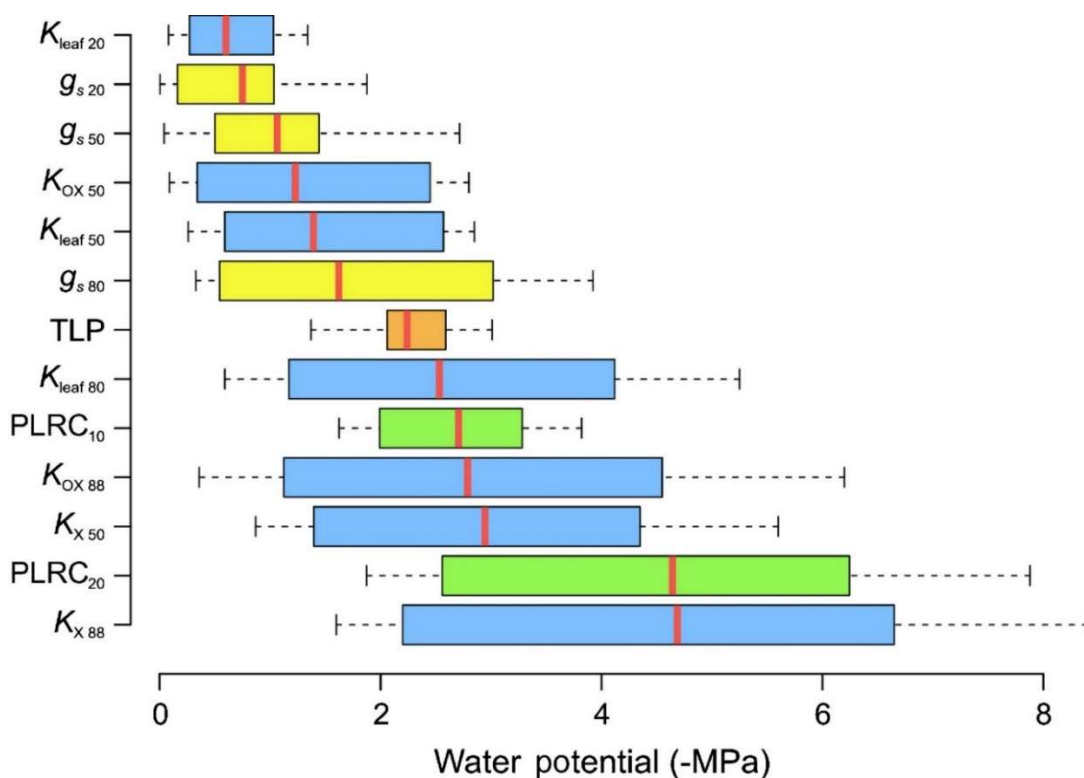
Při dehydrataci nad 50 % se projevila ztráta rehydratační kapacity, zatímco na maximálním kvantovém výtěžku fotosystému II se projevila až výraznější dehydratace. Mezní hodnoty dehydratace korelovaly s LMA (hmotnost sušiny listu na plochu listu) u všech zkoumaných rostlin. Autoři taktéž zjistili lepší korelace sledovaných parametrů s RWC než s vodním potenciálem listu.

Výsledky studie shrnující zhoršení funkcí listu v závislosti na poklesu RWC a vodního potenciálu ukazují Obr. 8 a 9.



Obrázek 8 - Zhoršení funkcí listů v závislosti na klesajícím relativním obsahu vody. Červené pruhy jsou průměrné hodnoty pro každou prahovou hodnotu. Obdélníky znázorňují rozmezí 25. a 75. percentilu a pruhy označují minimální a maximální hodnoty. Barvy ilustrují různé prahové hodnoty vodivosti listů (K_{leaf} – hydraulická vodivost listu, K_x – mimo-xylémová vodivost listu, K_{ox} – xylémová vodivost listu; modrá), stomatální vodivosti (g_s ; žlutá), bodu ztráty turgoru (TLP; oranžová), ztráty kapacity rehydratace (PLRC; zelená) a poklesu Fv/Fm (PLCF; fialová). Číslo vedle každé prahové hodnoty označuje procenta ztráty funkce (převzato z Trueba a kol., 2109).

Z Obr. 8 je zřejmé, že hodnoty vodivosti listů (K) začínaly reagovat na ztrátu vody při velmi podobné hodnotě RWC jako stomatální vodivosti (g), ovšem stomatální vodivost byla variabilnější a dosahovala větších maximálních hodnot. Bod ztráty turgoru (TLP) měl velmi malé rozmezí hodnot v závislosti na RWC. Nastával cca mezi RWC 85 % - 82 %. K poklesu ztráty kapacity rehydratace (PLRC) začalo docházet až při nižším RWC než u všech již zmíněných parametrů. Mírná ztráta kapacity rehydratace se začala projevovat až při RWC kolem 80 %. Nejpozději se pokles obsahu vody projevil u maximálního kvantového výtěžku fotosystému II (PLCF), který klesal až při výrazném poklesu RWC (pod 45 %).



Obrázek 9 - Zhoršení funkcí listů v závislosti na klesajícím vodním potenciálu. Červené pruhy jsou průměrné hodnoty pro každou prahovou hodnotu. Obdélníky ukazují rozmezí 25. a 75. percentilu a pruhy označují minimální a maximální hodnoty. Barvy ilustrují různé prahové hodnoty vodivosti listů (K_{leaf} , K_x , K_{ox} ; modrá), stomatální vodivosti (g_s ; žlutá), bodu ztráty turgoru (TLP; oranžová) a ztráty rehydratační kapacity (PLRC; zelená). Číslo vedle každé prahové hodnoty označuje procenta ztráty funkce (převzato z Trueba a kol., 2109).

Na Obr. 9, který obsahuje porovnání závislosti sledovaných parametrů na vodním potenciálu, vidíme, že vodivost listů (K) a stomatální vodivost (g) byla opět podobná pro stejnou hodnotu vodního potenciálu. Jediný rozdíl byl zaznamenán v případě 50% ztráty funkce, kdy rozmezí pro xylémovou vodivost výrazně převyšovalo rozmezí pro stomatální vodivost. TLP měl i v tomto případě velmi malé rozmezí hodnot v závislosti na vodním potenciálu. Nastával cca mezi hodnotou vodního potenciálu -2 – -2,5 MPa. PLRC opět začínal reagovat až při nižších hodnotách vodního potenciálu než reagovaly K a g , ale tento rozdíl již nebyl tak výrazný jako v případě RWC (Trueba a kol., 2019).

Uvedená studie prokázala, že funkční poškození listů nastává u různých rostlinných druhů při podobném poklesu RWC nebo vodního potenciálu a vyskytují se pouze malé rozdíly mezi těmito parametry v počátečních fázích dehydratace listu. Tato studie taktéž ověřila, že existuje lepší korelace pro sledované parametry s RWC než s vodním potenciálem.

3.3.5. Specifická doba přežití

Sucho může být i tak velké, že rostliny už nemohou přijímat žádnou vodu z půdy kvůli jejímu nedostatku v půdě. Míra odolnosti rostlin, které už nepřijímají žádnou vodu z půdy, vůči vysychání se vyjadřuje pomocí specifické doby přežití. Závisí hlavně na množství vody, kterou mají rostliny uloženou v nadzemních částech (Larcher, 1988).

$$\text{Specifická doba přežití} = \frac{W}{E} ,$$

kde **W** je množství vody v rostlině, kterou rostlina může spotřebovat od uzavření průduchů do doby, než se u ní projeví první poškození způsobené vysycháním, **E** je rychlost kutikulární transpirace.

Specifická doba přežití se pohybuje v řádu hodin až dnů a vyjadřuje tedy dobu od uzavření průduchů, po kterou dokáže rostlina kompenzovat nedostatek vody z vlastních zásob, než se u jejích listů projeví první poškození způsobené vysycháním. Specifická doba přežití listů je závislá jak na schopnosti oddalovat vysychání, tak i na schopnosti snášet vysychání. Konkrétně je závislá na citlivosti a rychlosti uzavírání průduchů rostlinou při nedostatku vody, na schopnosti rostlinných tkání ukládat velké množství přebytečné vody a na tom, zda poškození vlivem vysušení nastává až při velkých úbytcích vody. Specifická doba přežití určuje pravděpodobnost, s jakou daná rostlina přežije období sucha. Příklady specifické doby přežití u různých skupin rostlin (stálezelené jehličnany, tvrdolisté druhy ze středomoří, stálezelené listnaté dřeviny, opadavé stromy, slanomilné byliny, stínomilné byliny, listy sukulentů a stonky sukulentů) jsou uvedeny v Tab. 2 (Larcher, 1988).

Tabulka 2 – Specifická doba přežití, spotřeba vody po úplném uzavření průduchů (kutikulární transpirace) a množství dostupné vody od uzavření průduchů do prvních příznaků poškození odříznutých listů různých rostlinných druhů při rychlosti vypařování 0,5 ml H₂O·h⁻¹(převzato z Larcher, 1988).

Skupina rostlin	Specifická doba přežití [h]	Spotřeba vody po úplném uzavření průduchů – kutikulární transpirace [g H ₂ O m ⁻² h ⁻¹]	Množství dostupné vody od uzavření průduchů do prvních příznaků poškození [g H ₂ O m ⁻²]
Stálezelené jehličnany	20 – 50	1 – 1,5	35 – 65
Tvrdoolisté druhy ze středomoří	10 – 20	1 – 5	10 – 60
Stálezelené listnaté dřeviny	asi 10	2 – 7	40 – 70
Opadavé stromy	1,5 – 3,5	5 – 17	10 – 35
Slunomilné byliny	1 – 2	10 – 20	15 – 30
Stínomilné byliny	0,5 – 1	asi 25	10 – 15
Listy sukulentů	asi 20	asi 15	asi 300
Stonky sukulentů	> 1000	0,2 – 0,5	> 2000

3.4. Metody stanovení vodního stavu rostlin

Vodní stav rostlin se dá měřit různými metodami, např. pomocí **psychrometru**, **tlakové komory** nebo **optických metod**. První dvě zmíněné metody jsou metody destruktivní, zatímco optické metody jsou převážně metody nedestruktivní.

Pro měření vodního potenciálu rostlin se primárně využívá psychrometrická metoda, tlaková komora, případně buněčná tlaková sonda. Tyto metody jsou dobře popsány např. v člancích Jones (1992), Boyer (1995) nebo Kirkham (2004).

Existují také nepřímé metody zjišťování sníženého množství vody v rostlinách, jako je sledování uvadání listů, zpomaleného růstu stonků, zmenšení plodů, zpomaleného růstu celé rostliny a uzavírání průduchů. Uzavírání průduchů může být měřeno pomocí

infračervené termometrie nebo termografie. Avšak tyto metody příliš nevypovídají o adaptaci nebo reakci rostliny na stres z nedostatku vody.

Porovnáním několika přístupů pro zjištění stavu vody v rostlinách se zabývala práce Jones (2007). Podle autora závisí výběr a použití nejvhodnější metody na požadovaných výsledcích experimentu (např. zdali chceme řešit zavlažování rostlin, porozumět pohybu vody v rostlině nebo pochopit účinky nedostatku vody na růst rostliny).

Jeho subjektivní hodnocení použitelnosti různých metod hodnocení vodního stavu rostlin je shrnuto v Tab. 3

Tabulka 3 - Subjektivní hodnocení míry použitelnosti různých metod a parametrů k posouzení procesů, které souvisí s vodním stavem rostliny (převzato z Jones, 2007).

	Water transport	Drought adaptation	Plant breeding/screening	Agronomy and irrigation scheduling
Soil measures				
Soil water content	(-)	+	+	+++
Soil ψ	+++	++	++	+
Plant measures				
Predawn ψ	++	++	+	++
Sucker/stem ψ	++	+	(-)	+
Leaf ψ	+++	(-)	(-)	(-)
Turgor pressure	+++	+++	+	+
RWC	(-)	++	++	++
Stomatal conduct/infrared thermometry	(-)	++	++	++
Morphometry	(-)	+	(-)	+
Comments:	Components of ψ generally needed. Hydraulic potential is particularly relevant for saturated flow in soils.	RWC is often a good surrogate for ψ_p ; predawn ψ is a surrogate for ψ_{soil} .	Critical to have measure of environmental stress: responses such as stomata, ψ_p relate to adaptation.	Response-based measures (e.g. g_s) better than RWC or ψ_{leaf} for isohydric plants; methods need to be easy to use in the field.

3.4.1. Psychrometrie

Jedna z metod měření vodního potenciálu využívá **termočláňkové psychrometry**.

Princip měření spočívá ve stanovení vodního potenciálu (resp. relativní vlhkosti) vzduchu nad vzorkem v uzavřené komoře, a to po ustavení rovnováhy vodního potenciálu mezi vzorkem a vzduchem v komoře (Obr. 10). Tedy vzorek vložíme do komory psychrometru a čekáme, až se ustanoví zmíněná rovnováha vodního potenciálu. Rovnováha vzniká samovolně pomocí difuze, kdy se buď voda samovolně odpařuje ze vzorku (tedy mění své skupenství z kapalného na plynné), anebo je naopak vzorkem pohlcována voda ze vzduchu v komoře (tedy mění své skupenství z plynného na kapalné), ale takto nízký vodní potenciál vzorku by nešel psychrometricky měřit, takže toto se reálně nevyužívá (ecitydoc.com, 2017).

Měření psychrometrickou metodou probíhá pomocí termočláňku, který se nachází v komoře psychrometru. Tento termočláňek obsahuje dva spoje z různých kovů. Jeden ze spojů termočláňku psychrometru je pevně zabudován do hliníkového bloku a má stabilní teplotu, nazýváme ho „suchým“ neboli referenčním spojem. Druhý spoj termočláňku

psychrometru je volně v prostoru komory psychrometru a nazýváme ho „mokrý“ neboli senzorický spoj. Princip měření spočívá v definované změně teploty sensorického spoje termočlánku psychrometru. Výsledné napětí (Obr. 11) odpovídá rozdílu teplot mezi „vlhkým“ sensorickým spojem termočlánku a „suchým“ referenčním spojem termočlánku. Pomocí termočlánku umíme změřit i drobné rozdíly teploty, tedy pomocí psychrometru dokážeme změřit i malé rozdíly vodního potenciálu (biofyzika.upol.cz).

Vodní potenciál Ψ se vypočítá pomocí Kelvinovy rovnice

$$\Psi = \frac{RT}{V_w} \cdot \ln \frac{e}{e_0}$$

kde pod R rozumíme univerzální plynovou konstantu ($R = 8,314 \text{ J}\cdot\text{K}^{-1}\cdot\text{mol}^{-1}$); T je absolutní teplota v kelvinech [K]; V_w je parciální molární objem vody, e je parciální tlak vodní páry; e_0 je tlak nasycené vodní páry. Zlomek $\frac{e}{e_0}$ vyjadřuje relativní vlhkost vzduchu v komoře psychrometru (manuál k přístroji WESCOR, 1988).

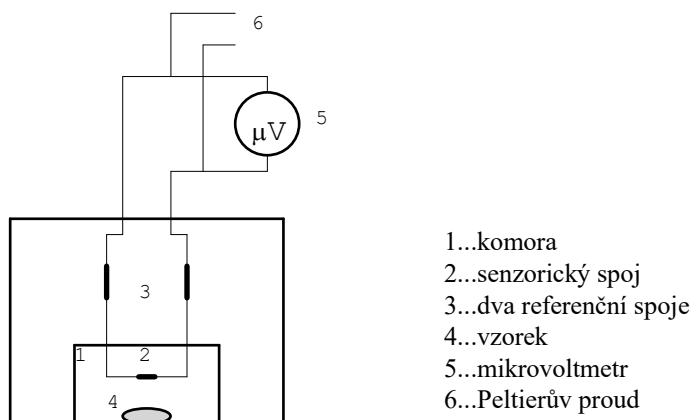
Měřit můžeme buď **psychrometrickou metodou**, nebo **metodou rosného bodu**.

3.4.1.1. Psychrometrická metoda

Jak již bylo zmíněno, touto metodou měříme vodní potenciál vzorku pomocí stanovení relativní vlhkosti vzduchu, který je po určité době v rovnováze se vzorkem, u kterého chceme zjistit vodní potenciál v uzavřeném prostředí komůrky psychrometru (manuál k přístroji WESCOR, 1988).

Vzorek, u kterého chceme změřit vodní potenciál, vložíme do komory psychrometru a vyčkáme na ustálení rovnováhy vodního potenciálu. Po ustálení rovnováhy na krátkou dobu zchladíme sensorický spoj, který je nad vzorkem, pomocí Peltierova proudu pod rosný bod. Vlhkost vzduchu v okolí sensorického spoje, která závisí na velikosti vodního potenciálu vzorku, zapříčiní, že od určité teploty začnou vodní páry kondenzovat na sensorickém spoji, tedy spoj se orosí. Poté, co přestaneme dodávat Peltierův proud, začne spoj okamžitě a samovolně přijímat teplo z prostředí komory psychrometru, tedy dojde k narůstání teploty sensorického spoje. Po určité době, která je dána původní relativní vlhkostí vzduchu, která určuje vodní potenciál vzduchu v komoře a tedy odpovídá vodnímu potenciálu vzorku, se zvyšování teploty termočlánku výrazně zpomalí, až téměř zastaví (Obr. 11, napěťový výstup *b*). Tento jev nastane, jakmile termočlánekový spoj dosáhne teploty, při které se z něj začne odpařovat zkondenzovaná voda zpátky do vzduchu. Tedy voda mění skupenství z kapalného na plynné a odebírá při tom teplo ze spoje termočlánku, což má za následek jeho opětovné ochlazování. Teplota, při které se voda odpařuje z termočlánku, závisí na vodním potenciálu vzduchu v komoře

psychrometru, tedy též na vodním potenciálu vzorku. Čím nižší bude vodní potenciál vzorku, tím nižší bude vodní potenciál vzduchu a tím při nižší teplotě se bude zkondenzovaná kapka vody odpařovat z termočlánku (biofyzika.upol.cz).



Obrázek 10 – Schéma termočláňkového psychrometru (převzato z návodu ke cvičení, katedra biofyziky, UPOL dostupné z: http://biofyzika.upol.cz/userfiles/file/VODNI_POTENCIAL_2020.docx).

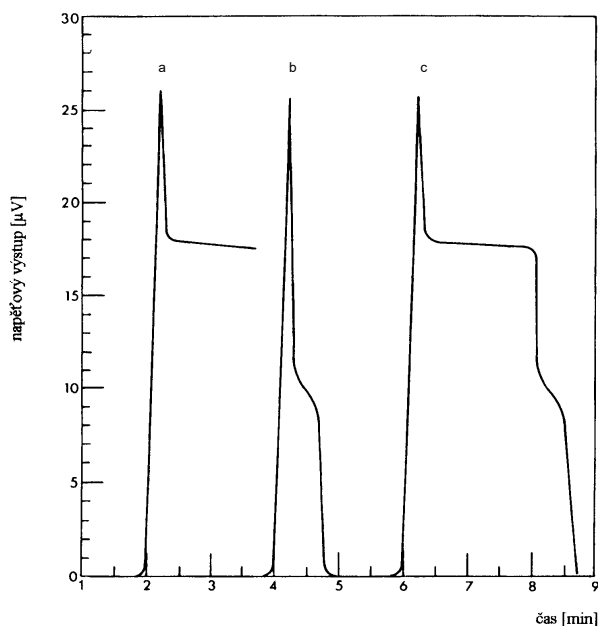
3.4.1.2. Metoda rosného bodu

Pokud zjišťujeme vodní potenciál vzorku pomocí této metody, tak využíváme stanovení rosného bodu v komoře psychrometru. Rosný bod nastane v okamžiku, kdy dosáhneme teploty, při které nastane rovnost mezi tlakem nasycené vodní páry a mezi parciálním tlakem vodní páry v komoře psychrometru. Neboli jde o teplotu, po jejímž dosažení je za daného tlaku vodní páry vzduch v komoře psychrometru plně nasycen vodními parami. Hodnota relativní vlhkosti vzduchu nasyceného vodní parou je 100 % (manuál k přístroji WESCOR, 1988).

Když při měření používáme tuto metodu, tak opět vložíme zkoumaný vzorek do komory psychrometru a vyčkáme na ustálení rovnováhy vodního potenciálu v komoře psychrometru. Poté opět zchladíme senzoričtý spoj termočláňku psychrometru pomocí Peltierova proudu pod teplotu rosného bodu vzduchu v komoře psychrometru. Když přestaneme dodávat Peltierův proud, spoj termočláňku se opět začne ohřívát, ovšem tentokrát pouze do teploty rosného bodu. Přístroj dokáže tuto teplotu rozpoznat podle míry kondenzace a výparu vody na senzoričtém spoji termočláňku, které se musí rovnat. Po dosažení se tato teplota udržuje pomocí elektrického obvodu, který dodává krátké zchlazovací pulzy na termočlánek, díky těmto pulzům je množství odpařené a zkondenzované vody na senzoričtém spoji v rovnováze, tedy zkondenzovaná kapička vody se ani nezvětšuje ani nezmenšuje, na rozdíl od psychrometričtější metody. Pulzy Peltierova proudu kompenzují příjem tepla spojenem z komůrky a okolního prostředí,

pokud by komůrka byla dokonale tepelně izolovaná, nebyly by zchlazovací pulzy potřeba. Což znamená, že teplota senzoričského spoje se nemění. Odečítaná hodnota napětí v „plató“ (Obr. 11, napěťový výstup *a*) odpovídá teplotě rosného bodu (manuál k přístroji WESCOR, 1988).

Psychrometrická metoda je spíše využívána při měření vodního potenciálu u sušších vzorků (jako je např. půda), zatímco metoda rosného bodu je využívána pro měření vodního potenciálu u vlhčích vzorků (např. list, roztok) (ecitydoc.com, 2017).



Obrázek 11 - Napěťové výstupy mikrovoltmetru HR-33T: **a)** metoda rosného bodu, **b)** psychrometrická metoda, **c)** kombinace metody rosného bodu a psychrometrické (převzato z manuálu k přístroji WESCOR, 1988).

Existují přístroje, na kterých se dá měřit vodní potenciál pomocí obou metod. Příkladem takového přístroje je **HR-33T Dew Point Microvoltmeter se vzorkovou komorou C-52** (Wescor, Inc., Logan, Utah 84321, USA) (Obr. 12, Tab. 4), který byl použit v praktické části práce. Před měřením jakoukoliv metodou je nejprve nutné provést kalibraci přístroje pomocí roztoků o známé molální koncentraci a osmotickém potenciálu. V našem měření byla využívána metoda rosného bodu.

Tabulka 4 - Technické parametry psychrometru HR-33T Dew Point Microvoltmeter se vzorkovou komorou C-52 (Wescor, Inc., Logan, Utah 84321, USA) (převzato z manuálu k přístroji WESCOR, 1988).

Technické parametry použitého psychrometru	
Rozsah měření	0 ... -7 [MPa]
Přesnost	0,2 % ± 0,01 [MPa]
Rozměry	57 x 75 [mm]
Hmotnost	0,40 [kg]



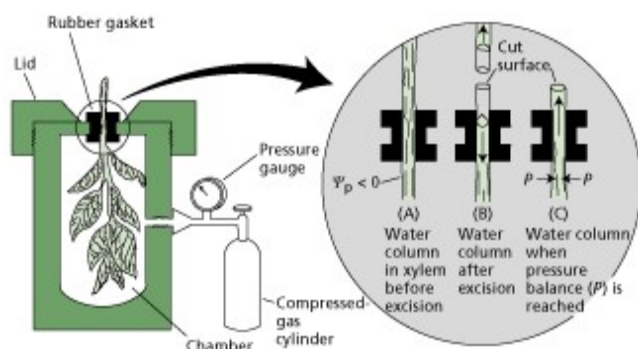
Obrázek 12 - HR-33T Dew Point Microvoltmeter, komora C-52 (Wescor, USA) (převzato z manuálu k přístroji WESCOR, 1988).

3.4.2. Tlaková metoda

Další metodou měření vodního potenciálu vzorku je metoda tlaková.

Princip měření spočívá ve stanovení tlaku, který je potřeba aplikovat na odřezanou část rostliny, abychom vymáčkli vodu z xylému na řeznou plochu oddělené části rostliny. Tedy oddělený list vložíme do tlakové komory, kde je vzduchotěsně uzavřený pomocí pryžové zátky se šterbinou (do které je umístěn list) (Obr. 13). Do vnějšího prostoru vyčnívá pouze okrajová část listu nebo řapíku. Poté, co dojde k oddělení listu od rostliny, voda z xylému díky osmóze přejde do okolních buněk, tedy je více vzdálená od místa řezu. Jde o pasivní proces, který je zapříčiněn změnou transportu vody a tedy i změnou vodního potenciálu v jednotlivých částech rostliny (v místě řezu). Jakmile je list správně upevněn v tlakové komoře, zvyšujeme tlak v komoře tím, že do komory napouštíme plynný dusík z tlakové lahve. Tlak plynu působí na buňky listu, takže z nich vytlačuje vodu, která se dostává zpátky do xylému. Tedy zvyšováním tlaku dusíku v komoře zapříčiníme opětovné „vymáčknutí“ vody na plochu řezu. To nastane v okamžiku, kdy se bude tlak plynu v komoře rovnat původnímu tlakovému potenciálu xylému. Pokud listu zamezíme v transpiraci, bude se rovnat jeho vodní potenciál hodnotě vodního potenciálu xylému (osmotická složka vodního potenciálu xylému je menší než 0,1 MPa, a proto je

zaneřádávána). Hodnotu tlaku odečteme v okamžiku, kdy je řez alespoň z půlky zalitý vodou. Řez sledujeme pomocí mikroskopu a stupnici pro odečtení hodnoty tlaku plynu v komoře zaznamenáváme na kameru (biofyzika.upol.cz).



Obrázek 13 - Princip měření vodního potenciálu pomocí tlakové komory (převzato z návodu ke cvičení, katedra biofyziky, UPOL dostupné z: http://biofyzika.upol.cz/userfiles/file/VODNI_POTENCIAL_2020.docx).

Při praktické části byla použita **tlaková komora PS 600** (PMS Instrument Company, Albany, USA) (Obr. 14, Tab. 5), obraz z mikroskopu a kamery, která snímala stupnici pro odečtení výsledného tlaku, byly během měření zaznamenávány na počítač a záznam byl uložen pro následné vyhodnocení.

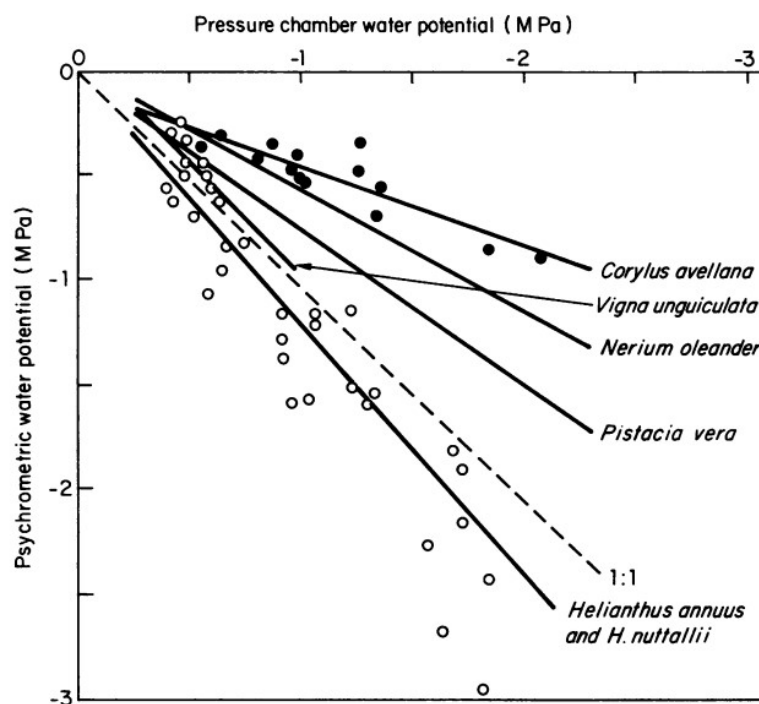
Tabulka 5 - Technické parametry tlakové komory PS 600 (PMS Instrument Company, Albany, USA) (převzato z manuálu k přístroji PMS Instrument Company, 2018).

Technické parametry použité tlakové komory PS 600	
Rozsah měření	0 - 4 [MPa]
Přesnost	0,5 %
Hloubka x šířka x výška	33 x 28 x 24 [cm]
Hmotnost	6 [kg]



Obrázek 14 - Tlaková komora PMS 600 (převzato z návodu ke cvičení, katedra biofyziky, UPOL dostupné z: http://biofyzika.upol.cz/userfiles/file/VODNI_POTENCIAL_2020.docx).

Korelací mezi vodním potenciálem měřeným pomocí psychrometrické metody *in situ* a vodním potenciálem měřeným pomocí tlakové komory se zabývali autoři studie Turner a kol. (1984). Testovali 6 druhů rostlin (*Helianthus annuus* L., *Helianthus nuttallii* Torr. et A. Gray, *Vigna unguiculata* L., *Nerium oleander* L., *Pistacia vera* L. a *Corylus avellana* L.), které pěstovali v umělých podmínkách a rostliny přestali zalévat v různé časy, aby dosáhly rozdílných hodnot vodního potenciálu.



Obrázek 15 - Závislost vodního potenciálu měřeného pomocí psychrometru a pomocí tlakové komory pro šest druhů rostlin. Kvůli přehlednosti jsou body vyneseny pouze pro dva druhy *Helianthus* (prázdná kolečka) a *Corylus avellana* (plná kolečka). Plné čáry znázorňují přímky lineární regrese, které měly R^2 0,81; 0,88; 0,90; 0,76 a 0,74 pro *Corylus avellana*, *Nerium oleander*, *Pistachio vera*, *Vigna unguiculata* a dva druhy *Helianthus* (převzato z Turner a kol., 1984).

Z obr. 15 vidíme, že pro *Vigna unguiculata* byl vztah mezi vodním potenciálem vody v listu změřeným pomocí psychrometru a pomocí tlakové komory velmi blízký přímce 1:1. U obou druhů *Helianthus* byly hodnoty získané pomocí psychrometrického měření nižší při nízkém vodním potenciálu než hodnoty, které byly naměřené pomocí tlakové komory. Přesný opak, tedy hodnoty získané psychometrií byly vyšší než hodnoty získané pomocí tlakové komory, se ukázal u zbylých rostlin, tedy u *Corylus avellana*, *Nerium oleander* a *Pistachio vera*.

Autoři jako jeden z důvodů vyšších hodnot vodního potenciálu měřeného psychrometricky u posledně jmenovaných druhů rostlin uvádějí stínění listu při měření vodního potenciálu *in situ* psychrometrem. Podle autorů byl tudíž list méně zaschlý, a

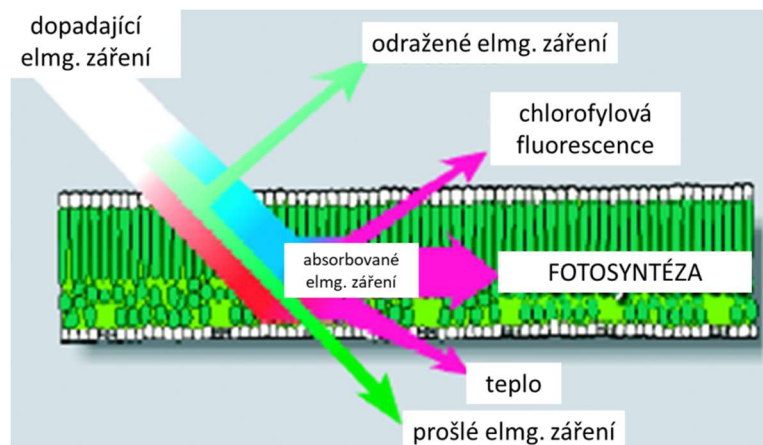
proto měl vyšší vodní potenciál než sousední list, který byl využit při měření pomocí tlakové komory. U druhu *Helianthus* autoři ověřili, že u velkých listů existuje rozdíl ve vodním potenciálu v různých částech listu. Nižší hodnoty vodního potenciálu změřeného psychrometricky oproti vodnímu potenciálu změřenému pomocí tlakové komory připisují tomu, že tlaková komora měří hlavně vodní potenciál buněk poblíž středového žebra a ne průměr hodnot pro celý list nebo nejsušší část listu.

Vyšší hodnoty vodního potenciálu měřeného psychrometricky oproti hodnotám vodního potenciálu změřeným pomocí tlakové metody u *Nerium oleander* jsou připisovány tomu, že během chlazení termočlánku je tlak vodních par v komoře psychrometru dostatečně snížen, aby se vytvořil gradient tlaku vodních par, díky kterému nastane odpařování vodní páry z listu, ale po ukončení chlazení nízká vodivost povrchu listu vůči vodní páře brání rychlému vytvoření rovnováhy mezi komorou a listem. Tento fakt má za následek vyšší tlak vodních par v komoře než v listu, tedy výsledkem jsou nesprávně vysoké hodnoty vodního potenciálu listu. Autoři stejně argumentují i v případě dalších dvou druhů (*Corylus avellana*, *Pistachio vera*). Nicméně autoři očekávají, že po vhodné kalibraci bude existovat lineární závislost mezi oběma metodami.

Autoři této práce dospěli k závěru, že tlaková komora měří vodní potenciál hlavně v okolí středového žebra listu, což může být problém u velkých listů. Taktéž uvádějí, že měření vodního potenciálu pomocí psychrometru je vhodné pro sledování změn vodního potenciálu listu, ale může se vyskytovat problém u druhů, které mají nízkou epidermální vodivost vůči vodní páře. Při měření vodního potenciálu listu pomocí psychrometru doporučují provést kalibraci přístroje pomocí tlakové komory (Turner a kol., 1984).

3.5. Optické vlastnosti listu

Po dopadu elektromagnetického záření na list část záření projde listem, část záření je listem pohlceno a část záření je odraženo zpět (Obr. 16). Co se týká elektromagnetického záření v rozmezí 380-760 nm, které je fotosynteticky aktivní, je největší část tohoto elektromagnetického záření absorbována až ze 75 % (Gates a kol., 1965).



Obrázek 16 – Dopad elektromagnetického záření na list a jeho následný průchod, absorpce a odraz (obrázek poskytl M. Špundová).

Difúzní transmitanci definujeme jako poměr intenzity záření, které projde vzorkem, k intenzitě záření, které dopadne na povrch listu. **Difúzní absorptanci** definujeme jako

$$A = 1 - T - R, \text{ kde}$$

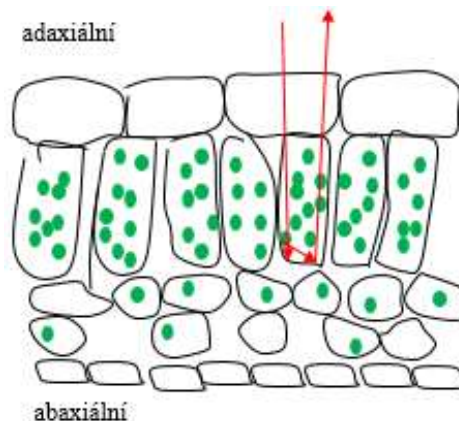
T značí difúzní transmitanci a **R** difúzní reflektanci. **Difúzní reflektanci** definujeme jako poměr intenzity záření, které se od vzorku odrazí a které na něj dopadne. Slovo difúzní ve všech názvech udává, že při detekci ať už odraženého nebo procházejícího světla byla použita integrační koule. Při využití integrační koule je zachyceno veškeré odražené světlo v polokouli před listem a prošlé světlo v polokouli za listem (Baránková, Lazár, Nauš, 2016).

Hlavní vliv na reflektanci listu má obsah opticky aktivních látek v listu, což jsou fotosyntetické pigmenty (chlorofyl, karotenoidy, ...), fenolické látky, lignin, ale také obsah vody v listu a anatomická stavba listu (Gates, 1965).

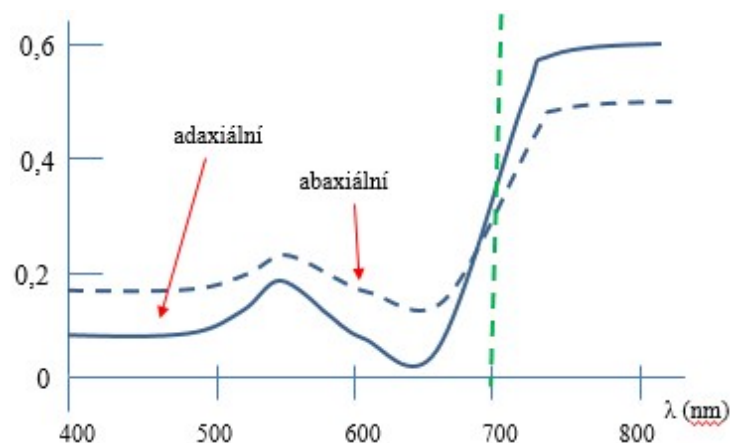
Odrazivost listu můžeme rozlišit na **vnější** a **vnitřní**. Na vnější odrazivost má vliv složení a struktura pokožky listu a přítomnost nebo absence trichomů, případně jiných xeromorfních adaptací. Vnitřní odrazivost je odraz záření od vnitřních struktur listu. Tato odrazivost je závislá na vnitřní stavbě listu, hlavně na podílu mezofylových buněk a mezibuněčných prostor, dále také na velikosti buněk, objemu mezibuněčných prostor a poměru palisádového a houbového parenchymu. V mezibuněčných prostorech může také dojít k vícenásobnému odrazu a záření může nakonec listem projít nebo být pohlceno nějakou buňkou v mezofylu (Neuwirthová, 2015).

Můžeme také pozorovat rozdíly v odrazivosti u **adaxiální** a **abaxiální** strany listu. Adaxiální strana listu může mít nižší reflektanci než abaxiální strana listu, zejména u

bifaciálních listů (např. buk lesní červenolistý, nahovětvec dvoudomý, břechťan popínavý) (Neuwirthová, 2015). Tento rozdíl může být způsobený vnitřní stavbou listu, kde na svrchní straně je hustá vrstva protáhlých parenchymatických buněk palisádového parenchymu s malými mezibuněčnými prostory a velkým obsahem chlorofylu a karotenoidů. Zatímco na spodní straně je houbový parenchym s více mezibuněčnými prostory. Větší mezibuněčné prostory umožňují lepší odrazení záření mezi buňkami houbového parenchymu. Ve svrchní části listu dochází k absorpci záření fotosyntetickými pigmenty (Buschman a kol., 2012). Obecně u stínomilných rostlin rostoucích na mírném světle bývá vnější reflektance adaxiální strany kolem 4,5 %, zatímco vnější reflektance abaxiální strany listu se pohybuje mezi 7 – 13 % (McClendon, Fukshansky 1990). S přechodem do infračerveného spektra je to ale naopak (obr. 18), a to z důvodu, že z adaxiální strany je více zastoupen úplný odraz (elektromagnetické záření se odrazí od vnitřních struktur palisádového parenchymu a nakonec vyjde ven z listu, než ze strany abaxiální (Obr. 17) (Nauš – ústní sdělení).



Obrázek 17 – Schéma úplného odrazu elektromagnetického záření na adaxiální straně listu (obrázek poskytl J. Nauš).



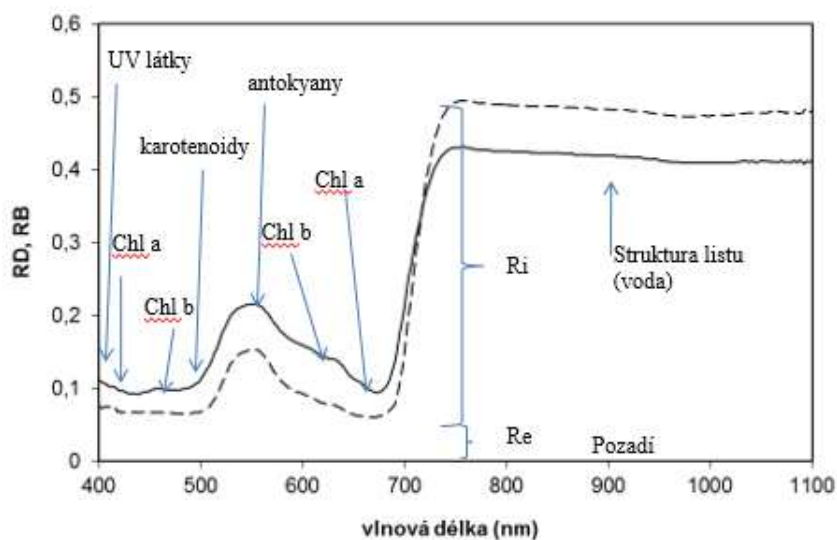
Obrázek 18 – Rozdíl difúzní reflektance adaxiální a abaxiální strany listu (obrázek poskytl J. Nauš).

Ekvifaciální listy (např. jinan dvouláložný a kukuřice setá) mají na obou stranách listu podobnou odrazivost (Buschmann a kol., 2012).

3.6. Vliv obsahu vody na reflektanci listu

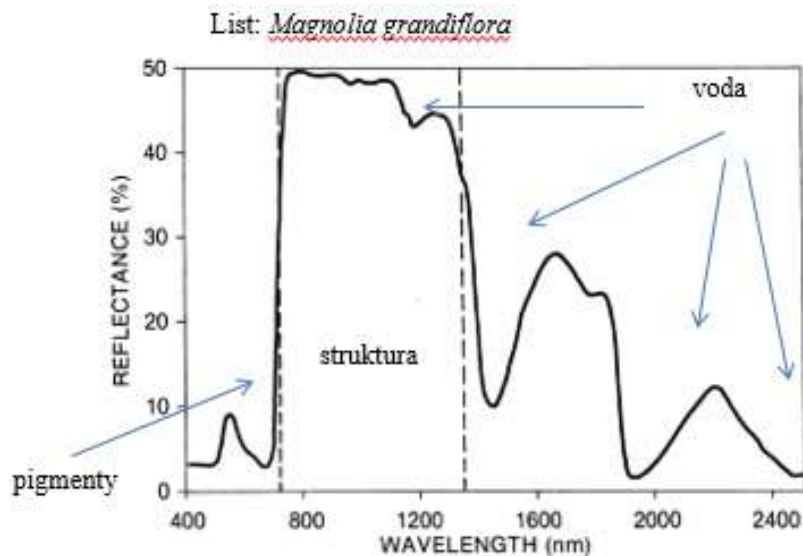
Několik studií prokázalo spojitost mezi optickými vlastnostmi listu a fyziologickým stresem. Za stresový faktor můžeme považovat například: dehydrataci, nízkou teplotu, choroby, herbicidy, mezidruhovou konkurenci a další (Carter, Knapp 2001, Bravo a kol. 2003).

Podle Cartera (1991) zvyšuje pokles obsahu vody v listu reflektanci v intervalu 400 – 2500 nm.



Obrázek 19 – Difúzní reflektance listu tabáku virginského (*Nicotiana tabacum* L. cv. Samsun) z abaxiální strany (R_B , plná čára) a z adaxiální strany (R_D , přerušovaná čára) (obrázek poskytl J. Nauš).

Přitom nejcitlivější oblastí spektra reflektance na obsah vody v listu je oblast 760 - 2400 nm (Obr. 19). Absorpčním maximům vody v infračerveném spektru odpovídají vlnové délky 1450 nm, 1940 nm a 2500 nm (Carter, 1991). V intervalu vlnových délek elektromagnetického záření 700 - 1300 nm absorbuje voda poměrně slabě vzhledem k jiným složkám listu (Gates a kol. 1965) (Obr. 20). Ovšem mnohé optické indexy, které se používají jako indikátory obsahu vody v listech, se počítají z reflektance v této části spektra (i námi použitý WI, viz dále), protože přístroje měřící odrazivost v infračervené části spektra jsou hůře dostupné. Tyto optické indexy bývají ale citlivé spíše na větší úbytek vody.

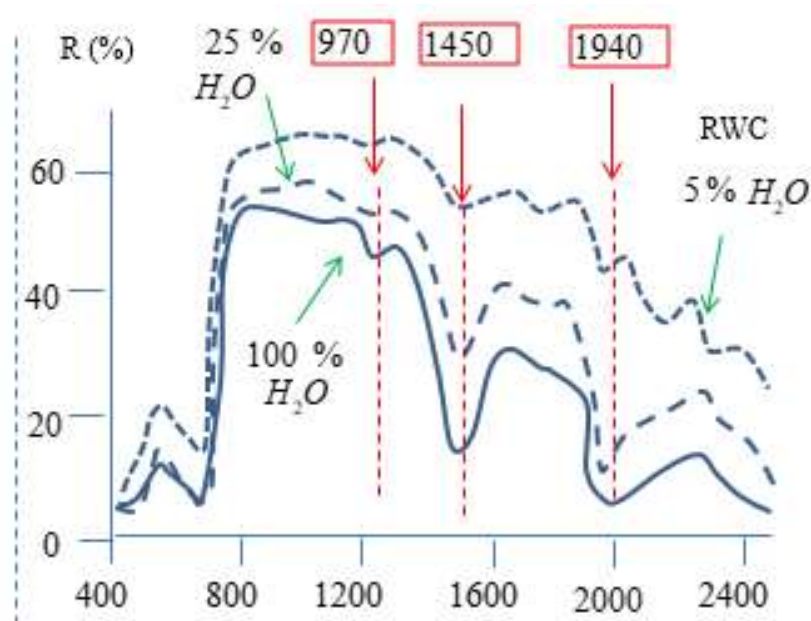


Obrázek 20 – Spektrum difúzní reflektance listu rostliny *Magnolia grandiflora* L. s vyznačenými oblastmi (modré šipky) absorpce pigmentů a vody ve viditelné a infračervené části spektra (převzato z Carter, 1991).

Voda je v listu rozložena nerovnoměrně (asymetricky). Nejvíce vody v listu se nachází v buňkách palisádového parenchymu, proto je adaxiální strana citlivější na ztrátu vody oproti straně abaxiální, tedy při zasychání listu budou změny reflektance výraznější na adaxiální straně. Rozdíly mezi reflektancí adaxiální a abaxiální strany listu při změně RWC pozoroval např. Gausman (1984). Pokud klesne relativní obsah vody v listu (RWC) pod 50 %, pak má rostlina tendenci uchovávat vodu v chloroplastech, tedy nejvyšší obsah vody je nyní v nich (zatímco předtím byl nejvyšší obsah vody v cytoplazmě palisádových buněk a vakuole). Pokud je RWC 80 % a více, pak je RWC chloroplastů a RWC vody v buňkách mimo chloroplasty (voda v cytoplazmě a pokožkových buňkách) podobný celkovému RWC listu. Je-li relativní obsah vody v listu kolem 50 %, pak se RWC chloroplastů podobá RWC listu s dostatkem vody, ale RWC vody v buňkách mimo chloroplasty je výrazně nižší (Carter a McCain 1993). Pokud dojde k poklesu RWC chloroplastů, pak dojde k dehydrataci tylakoidů. Tento pokles má za následek konformační změny na tylakoidní membráně chloroplastů, což souvisí s poklesem absorpce pigment-proteinových komplexů a tedy s nárůstem reflektance ve viditelné oblasti spektra (Latimer 1984).

Obsah vody v listech ovlivňuje reflektanci hlavně díky absorpčním vlastnostem vody, ale také tím, že při snižování obsahu vody v listech dochází ke zvětšování mezofylových mezibuněčných prostor naplněných vzduchem. Toto zvětšování způsobuje nárůst reflektance v rozmezí spektra 760 - 1300 nm (Obr.21), kde neabsorbují žádné

rostlinný pigment ani voda (s výjimkou 970 nm kde dochází k absorpci záření vodou) (Gausman 1984).



Obrázek 21 – Schematické znázornění vlivu obsahu vody (RWC) na spektra reflektance listu (převzato z Carter, 1991).

Vliv obsahu vody v listu na spektrální parametry byl zkoumán např. ve studii Elsayeda kol. (2011). Autoři testovali, zda lze využít spektrální metody k zjištění vodního potenciálu listu (leaf water potential - LWP), který je důležitým ukazatelem stavu vody v rostlině, a zda existuje korelace mezi těmito parametry. Taktéž zjišťovali, jestli do této korelace vstupují změny obsahu vody v listu (LWC). LWC bylo počítáno podle vzorce

$$LWC = \left(FW - \frac{DW}{FW} \right) \cdot 100 [\%],$$

kde **FW** je čerstvá hmotnost listu a **DW** je hmotnost listu po zasychnutí.

Jako velkou výhodou spektrometrického měření autoři uvádějí, že se jedná o metodu nedestruktivní (na rozdíl např. od tlakové komory), rychlou a také to, že dokáže lépe ukázat rychlé změny vodního potenciálu.

V rámci uvedené studie proběhlo šest experimentů v kontrolovaných podmínkách klimatické komory. Testování probíhalo na rostlinách pšenice (*Triticum aestivum* L. cv. Triso) a kukuřice (*Zea mays* L. cv. Agromax). Měření probíhalo jak na zalévaných rostlinách, tak na rostlinách stresovaných suchem po dobu 6 dnů. Měřila se reflektance při vlnových délkách 300 – 1100 nm. Měření LWP probíhalo pomocí tlakové komory PMS Instruments (Corvallis, OR, USA).

Potvrdilo se, že LWC a LWP spolu úzce souvisí. Ve své práci autoři zdůrazňují, že většinou se hledá korelace mezi spektrálními parametry a obsahem vody v listu, chybí

tedy informace o korelaci s vodním potenciálem. Proto autoři měřili jak LWP, tak i LWC. Obsah vody ale může být ovlivněn mnoha dalšími faktory, které způsobují změny v biomase (tedy mění obsah hmoty v rostlině). Mezi tyto faktory patří např. dostupnost živin, patogeny, ... Proto autoři dospěli k závěru, že při hledání korelací s optickými indexy u zasychajících rostlin je vhodnější využívat LWP.

Studie prokázala, že u pšenice vybrané optické indexy (hlavně index $\frac{R_{940}}{NDVI}$, kde NDVI bylo počítáno ze vzorce $\frac{R_{780}-R_{670}}{R_{780}+R_{670}}$) korelovaly s LWP. U kukuřice ale žádná významná korelace prokázána nebyla. Bylo zjištěno, že index WI/NDVI silně koreluje s relativním obsahem vody (LWC). Autoři také zjistili, že samotný index NDVI koreluje s LWP u dobře zalévaných rostlin.

Autoři tedy v této práci ukázali, že existuje určitá korelace mezi vybranými optickými indexy (WI/NDVI, NDVI) a LWP, ale míra této korelace závisí na druhu rostliny a míře jejího nasycení vodou (Elsayed, Mistele a Schmidhalter, 2011).

3.7. Optické indexy počítané ze spekter reflektance

Využívání optických metod při zkoumání vodního stavu rostlin a hlavně rostlinných porostů je velmi se rozvíjející oblast. Při použití optických metod pro měření obsahu vody v rostlině se využívá převážně **odrazivosti** (reflektance) rostliny, protože reflektanci je možné měřit shora, pomocí družice nebo letadla nad porostem rostlin. Měření obsahu vody v rostlině pomocí reflektance se využívá při takzvaném dálkovém průzkumu Země, kdy jsou pořizovány snímky krajiny pomocí družice nebo letadla. Jejich vyhodnocením se pak určuje mimo jiné obsah vody v porostu (Vinciková, 2015).

3.7.1. Vodní index

Vodní index (WI) se využívá pro výpočet přibližného množství vody v porostu rostlin (Erben, 2017). Počítá se podle vzorce

$$WI_R = \frac{R_{900}}{R_{970}},$$

kde **R900** a **R970** jsou odrazivosti při 900 nm a 970 nm (Peñuelas, Inoue, 1999). Při výpočtu se dá využít i propustnost, pak počítáme podle vzorce

$$WI_T = \frac{T_{900}}{T_{970}},$$

kde **T900** a **T970** jsou propustnosti při 900 nm a 970 nm. Ovšem WI_T není běžně využíváný.

Práce Peñuelas and Inoue (1999) ukázala, že u pšenice (*Triticum aestivum* L.) a u podzemnice olejné (*Arachis hypogea* L.) WI koreluje s relativním obsahem vody v rostlině.

3.7.2. NDVI

NDVI (normalized difference water index) bývá využíván především pro monitorování porostů vegetace. Jeho využití lze také najít v mapování a vyhodnocování sucha, mrazu, nebo záplav (Erben, 2017). Primárně tento index odráží obsah chlorofylu, který při působení stresových faktorů klesá. Ale v např. v práci Elsayed a kol. (2011) byla nalezena korelace tohoto optického indexu také s obsahem vody v rostlině.

Tento index je definován poměrem rozdílu a součtu reflektance listu v červené oblasti elektromagnetického spektra (kolem 660 nm) a reflektance listu v blízké infračervené oblasti - zkratka NIR. V literatuře se pro výpočet tohoto indexu používají reflektance při různých vlnových délkách NIR, např. 860 nm nebo i námi použitých 780 nm. Část červeného záření je chlorofylem pohlcena, tudíž reflektance zeleného listu je v této vlnové délce nízká. Zatímco v NIR chlorofyl záření neabsorbuje, tudíž je reflektance listu vysoká. S úbytkem chlorofylu v listech roste reflektance listu v červené oblasti, tedy index NDVI klesá (Honková, 2008).

Peñuelas and Inoue (1999) ve své práci ukázali na rostlinách pšenice (*Triticum aestivum* L.) a podzemnice olejné (*Arachis hypogaea* L.), které byly pěstovány na poli, že lépe než samostatný WI nebo NDVI koreloval s RWC jejich poměr ($\frac{WI}{NDVI}$).

3.7.3. Přehled dalších optických indexů

Existuje spousta dalších indexů, které lze ze spekter reflektance listů vypočítat. Studie hyperspektrálních dat odhalily spojitost mezi obsahem vody a specifickými oblastmi spektra reflektance v krátkovlnném infračerveném záření.

Po účely diplomové práce byly využity pouze dva indexy zmíněné výše, proto alespoň přikládám tabulku dalších existujících indexů (převzatou z Lukáš a kol., 2019), které odrážejí vodní stav v rostlině a způsob jejich výpočtu (Tab. 6).

Tabulka 6 – Přehled dalších indexů používaných pro stanovení obsahu vody v rostlinách. V celé tabulce R značí reflektanci v příslušné vlnové délce (převzato z Lukáš, 2019).

Index	Výpočet
Simple Ratio Water Index (SRWI)	$SRWI = R_{800}/R_{1200}$
Water Band Index (WBI)	$WBI = R_{970}/R_{900}$
Moisture Stress Index (MSI)	$MSI = R_{1600}/R_{820}$
Hyperspectral Normalized Difference Vegetation Index (hNDVI)	$hNDVI = (R_{820} - R_{1649}) / (R_{820} + R_{1649})$
Maximum Difference Water Index (MDWI)	$MDWI = (R_{max1500-1750} - R_{min1500-1750}) / (R_{max1500-1750} + R_{min1500-1750})$
Ratio Index (RI)	$RI = R_{1650}/R_{2220}$

Přehled vývoje využití optických indexů pro detekci vodního stresu rostlin je uveden v práci Govender a kol. (2009). V tabulce 7 převzaté z této práce najdeme jednotlivé indexy, jejich stručnou charakteristiku a odkaz na práci, která se tímto indexem zabývala.

Tabulka 7 - Tabulka významných studií v oblasti použití optických indexů rostlin (Govender a kol., 2009).

Region of the spectrum	Vegetation spectral reflectance characteristics	Author(s)
VIS, NIR and MIR	Pigments, cellular structure and water content of leaves	Gaussman (1977)
1 550 to 1 750 nm	Correlation of MIR reflectance to leaf water contents	Tucker (1980)
SWIR (1 400 to 2 500 nm)	Reflectance is influenced by liquid water in plant tissue	Tucker (1980) Ceccato et al. (2001)
VIS	Changes in red, green and blue reflectance due to chloroplast deterioration	Murtha (1982)
Red Edge	Movement of red edge towards shorter wavelengths during senescence or stress induced chlorosis	Collins et al. (1983) Rock et al. (1988); Milton and Mouat (1989)
Red Edge	Red edge defined from 690 to 740 nm is also sensitive to chlorophyll content	Horler et al. (1983) Curran et al. (1990) Blackburn (1999)
Red Wavelengths	Displacement in the slope of the red wavelengths towards longer wavelengths as chlorophyll content increases	Horler et al. (1983)
Thematic Band 5 to 7 (1 550 to 1 750 nm and 2 080 to 2 350 nm)	Ratio of Band 5 to 7 highly correlated with water content of soils and vegetation	Musick and Pelletier (1986; 1988)
VIS and NIR	Estimated chlorophyll <i>a</i> , <i>b</i> and total carotenoid content using equations and specific extinction coefficients	Lichtenthaler (1987)
Red Edge	Increase in the relative proportion of chlorophyll <i>a</i> will result in movement of red edge towards longer wavelengths, independent of total chlorophyll content and vice versa	Guyot and Baret (1988)
NIR (700 to 1300 nm) and MIR (1 300 to 2 500 nm)	Detection of plant water stress in oak, sweetgum and conifers	Hunt and Rock (1989)
820 and 1 600 nm	Significant relationship between the equivalent water thickness and a moisture stress index between reflectance value measured at 1 600 nm and reflectance value measured at 820 nm	Hunt and Rock (1989)
550 and 700 nm	Maximum sensitivity to a wide range of chlorophyll contents	Curran et al. (1990) Gitelson and Merzlyuk (1996) Lichtenthaler et al. (1996) Datt (1999)
Red Edge	Chlorophyll content of branches of slash pine (<i>Pinus elliottii engelm</i>) predicted using red edge	Curran et al. (1990)

VIS (491 to 575 nm); Red (647 to 760 nm)	Increased reflectance in response to plant stress regardless of the stress agent	Carter (1993)
NIR plateau	Weak water absorption features at 1 000 and 1 200 nm Deepening of the 2 water-absorption features as leaf area index increased	Gao (1995) Asner (1998)
860 nm and 1240 nm	Normalised difference water index as an estimate of vegetation water content	Gao (1995)
550, 700 and longer than 750 nm	Specific wavelengths sensitive to pigment variations and chlorophyll assessment at leaf level for maple and chestnut leaves	Gitelson and Merzlyak (1996)
Reflectance at 550 and 700 nm, and 500 and 670 nm	Highly correlated in yellow-green to dark green leaves	Gitelson and Merzlyak (1996)
Maximum reflectance at 750 nm, lowest reflectance between 400 to 500 nm	Highly correlated in chestnut leaves	Gitelson and Merzlyak (1996)
670 to 680 nm	Reflectance at 670 to 680 nm was insensitive to chlorophyll <i>a</i> above 70 mg·m ⁻² in tobacco leaves (<i>Nicotiana tabacum</i> L.) due to saturation of the relationship between light absorption and pigment concentration.	Lichtenthaler et al. (1996)
VIS, NIR	Reflectance at wavelengths with high absorption coefficients should be more sensitive to low concentrations of chlorophyll <i>a</i> , while spectral regions with low absorption should be more sensitive to higher chlorophyll <i>a</i> concentrations	Lichtenthaler et al. (1996) Blackburn (1999)
550, 700 and 750 nm	The reflectance indices (R_{700}/R_{750} and R_{750}/R_{550}) were identified as having strong linear relationships with total chlorophyll concentration at the leaf scale in horse chestnut (<i>Aesculus hippocastanum</i> L.) and Norway maple (<i>Acer platanoides</i> L.) leaves	Lichtenthaler et al. (1996) Gitelson and Merzlyak (1996) Gitelson et al. (2002) Blackburn (1999)
SWIR (1530 and 1720 nm)	Reflectance is influenced by liquid water in plant tissue and can be used as an estimate for vegetation water content	Foutry and Baret (1997)
VIS, NIR, SWIR	Variability in tissue optical properties is wavelength dependent Green foliage lowest variation in VIS, highest NIR Standing litter minimum variation in VIS and NIR, highest in SWIR Woody stems lowest variation in SWIR, highest in NIR	Asner (1998)
1 700 nm, 2 000 nm, 2 200 nm	Features associated with lignin and other organic compounds	Asner (1998)
650, 635, and 470 nm	Concentrations of chlorophyll <i>a</i> , chlorophyll <i>b</i> , and carotenoids were best correlated with reflectance indices (R_{650} , R_{635} and R_{470}), respectively in the leaves of 4 deciduous tree species at different stages of senescence	Blackburn (1998a)
676 and 810 nm	Chlorophyll <i>a</i> and chlorophyll <i>b</i> concentrations were strongly correlated with reflectance index (R_{676}) in the visible wavelengths and reflectance index (R_{810}) in the near-infrared on bracken (<i>Pteridium aquilinum</i>) canopies. Possible correlation to canopy structural development which has a direct influence on near-infrared reflectance.	Blackburn (1998b)
740 to 820 nm; 680 and 760 nm	Higher reflectance values between 740 to 820 nm; and more pronounced maximum slope between 680 and 760 nm (red edge) is related to vegetation with healthier green leaf development, i.e. higher biomass and leaf area index	Lelong et al. (1998) Jacquemoud (1993) Baret and Jacquemoud (1994) Baret et al. (1994) Filella and Penuelas (1994)
Red and NIR	Relation between water deficiency (stress) to spectral features in the 740 to 820 nm and red edge range in wheat	Lelong et al. (1998)
Red Edge	The first derivative of pseudoabsorbance, $\delta(\text{Log } 1/\text{Reflectance})$, was highly correlated with canopy pigment concentration per unit area in the red edge region. Canopy and leaf scale concentrations per unit mass of chlorophyll <i>a</i> , chlorophyll <i>b</i> , and carotenoids were strongly related to $\delta(\text{Log } 1/\text{Reflectance})$ and the second derivative of pseudoabsorbance ($\delta\delta(\text{Log } 1/\text{Reflectance})$), but different wavelengths were optimal at each scale.	Blackburn (1999)
VIS	Moderately correlated to chlorophyll concentration	Blackburn (1999)
VIS (Green) and NIR	Ratio indices highly correlated to chlorophyll concentration	Blackburn (1999)
Red Edge	Wavelength position of red edge related to chlorophyll concentration, and characteristics of the amplitude of the 1 st and 2 nd derivatives of reflectance and pseudo absorbance were more strongly correlated with chlorophyll	Blackburn (1999)
Red, NIR (850 nm, 710 nm, 680 nm)	Vegetation indices used to predict chlorophyll content of eucalypt vegetation at the leaf and crown scale	Datt (1999)
850, 710 and 680 nm	850, 710 and 680 nm wavelengths produced the highest correlations with leaf chlorophyll content	Datt (1999)
Red Edge	With decreasing chlorophyll content, senescence or stressed induced chlorosis the red edge moves to shorter wavelengths, and is due to a reduction in the depth and breadth of the chlorophyll absorption feature	Stone et al. (2001) Rock et al. (1988) Datt (1999)

VIS, NIR	Relationships between spectral reflectance properties of <i>Eucalyptus</i> vegetation and a range of physiological and morphological parameters. Results indicate a shift of red edge towards shorter wavelengths with decreasing chlorophyll content.	Stone et al. (2001)
900 and 970 nm	Water index is derived from the ratio between reflectance measured at 900 nm and 970 nm and used as a measure of plant water content	Champagne et al. (2003)
NIR, Red Edge	Canopy level spectral and thermal estimation of water status and nitrogen content using spectral and thermal indices	Fitzgerald et al. (2006)
NIR and VIS	Degree of water stress strongly correlated to spectral bands from VIS and NIR regions viz. 686, 811, 860, 850 bands using hyperspectral and multispectral data	De Tar et al. (2006)
Thermal bands	Detection of water stress using thermal remote sensing imagery	Sepulcre-Cantó et al. (2006)
NIR and SWIR	Indices formulated from the weaker NIR liquid water absorption bands (980 and 1200) are linear in response to moisture fluctuations, and are strongly correlated to hydrological measures. Could be used to estimate near-surface and surface wetness at the landscape scale.	Harris et al. (2006)
Red Edge	Detection of plant water stress using wavelengths associated with red edge	Clay et al. (2006) Blackburn (2007) Campbell et al. (2007)

VIS = Visible; NIR = Near Infrared; MIR = Middle Infrared; SWIR = Shortwave Infrared

Dva nejčastěji využívané indexy, a to indexy NDWI a WI, si přiblížíme v následujících odstavcích.

Gao (1995) ve své práci uvádí použití **NDWI** pro odhad obsahu vody v rostlinách. Index NDWI počítá ze vzorce

$$NDWI = \frac{R_{860} - R_{1240}}{R_{860} + R_{1240}}$$

kde R značí odrazivost v daných vlnových délkách. Tento index je úspěšně využíván při dálkovém měření obsahu vody ve stromech a rostlinách. Dálkové měření probíhá pomocí družice, která na základě odrazivosti vyhodnotí index NDWI na velkém území (Gao, 1995).

Peñuelas a kol. (1995) se ve své práci zabývali indexem **WI** a jeho korelací s obsahem vody v rostlině. Měření probíhalo ve třech fázích, v první fázi byly měřeny rostliny gerbery (*Gerbera jamesonii* Bolus ex Hooker f.), které byly pěstovány ve skleníku a podrobeny dehydrataci až do uvađenutí a následné rehydrataci. V druhé fázi byly měřeny rostliny papriky (*Capsicum annuum* L.) a fazole (*Phaseolus vulgaris* L.), které byly pěstovány v kontrolovaných podmínkách s různými režimy zavlažování. Ve třetí fázi byly měřeny listy papriky a fazole v různém stádiu zasychání. WI byl počítán ze vzorce

$$WI = \frac{R_{900}}{R_{970}}$$

kde **R** značí odrazivost v daných vlnových délkách. Bylo zjištěno, že tento index byl citlivější na úbytek vody v listu než na úbytek vody v celé rostlině (Peñuelas a kol. 1995).

3.8. Měření optických vlastností listů

Měření optických vlastností listů, konkrétně jejich propustnosti a odrazivosti, probíhalo v mé diplomové práci pomocí dvou přístrojů a to pomocí **spektrálního radiometru**

LI-1800 s integrační koulí LI-COR 1800-12 (LI-COR, Nebraska, USA) a pomocí přístroje **Poly-PlantPen RP 400** (Photon Systems Instruments (PSI), Drásov, ČR). Oba tyto přístroje měří celé spektrum. LI-COR měří spektrum difúzní propustnosti a odrazivosti v rozmezí 400 - 1100 nm a Poly-PlantPen měří spektrum směrové odrazivosti v rozmezí 340 - 780 nm.

3.8.1. LI-COR

Měření probíhá pomocí integrační koule, měřený vzorek je přikládán k povrchu integrační koule z vnější strany tak, aby byl součástí jejího povrchu. Integrační koule je kulová dutina, která obsahuje několik otvorů (vstupů) a povrch dutiny je pokryt difúzně odražejícím bílým povrchem (v našem případě BaSO₄). Tato koule zaznamenává veškeré záření, které je odraženo (pokud měříme reflektanci) nebo propuštěno (pokud měříme transmitanci) vzorkem do poloprostoru nad nebo pod vzorkem. Na začátku měření, ať už difúzní odrazivosti nebo propustnosti, je nutné změřit spektra odrazivosti standardu, což je dokonalý rovný difúzní povrch s maximální odrazivostí. Tento standard je dodáván firmou LI-COR. Naměřené spektrum vzorku je nutné vydělit spektrem standardu.

Princip měření **difúzní odrazivosti** spočívá v porovnání záření odraženého od vzorku a od standardu. Při měření se zdroj světla umístí do vstupu naproti vzorku, při měření standardu se zdroj umístí do protilehlého vstupu, ale tentokrát vzhledem ke standardu.

Reflektanci (R_s) můžeme teoreticky vypočítat podle vzorce

$$R_s(\lambda) = \frac{I_s(\lambda)}{I_r(\lambda)},$$

kde I_s je spektrum vzorku; I_r je spektrum standardu.

Ovšem spočítaná reflektance nemusí vždy odpovídat skutečnosti, a to ze dvou důvodů. Zaprvé standard nikdy nebude mít 100 % odrazivost, tudíž vypočítaná reflektance bude vždy větší než skutečná. A za druhé, z paprsku zdroje světla, který ozařuje vzorek/standard, se odchyluje část záření, které se dostává na povrch koule, aniž by nejdříve dopadlo na vzorek/standard. Tedy správnou hodnotu reflektance můžeme vyjádřit vztahem

$$R_s(\lambda) = \frac{I_s(\lambda) - I_d(\lambda)}{I_r(\lambda) - I_d(\lambda)} R_r(\lambda),$$

kde I_s je spektrum vzorku; I_r je spektrum standardu; I_d je spektrum odchýleného záření a R_r je odrazivost standardu.

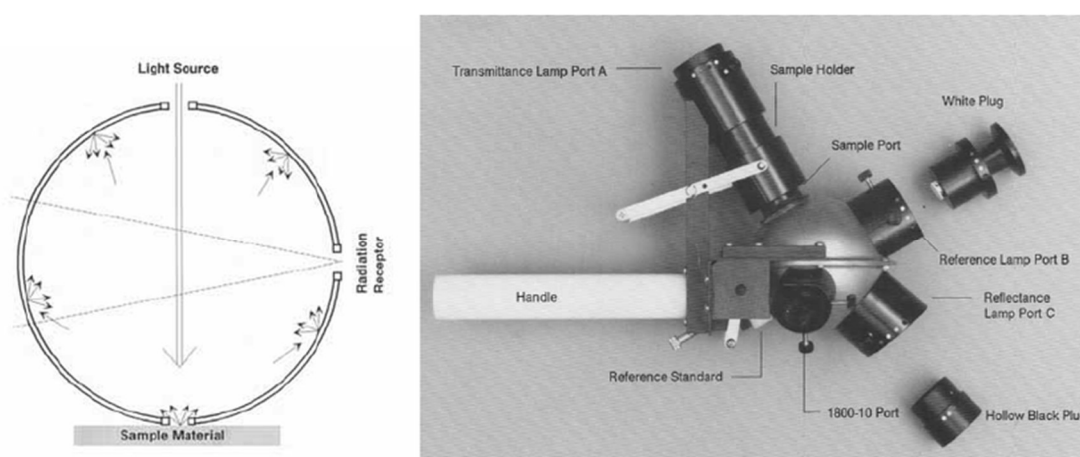
Odchýlené záření můžeme zaznamenat, pokud ozáříme vstup pro vzorek, ale bez přítomnosti vzorku (vstupem pro vzorek ale nesmí do integrační koule vstupovat žádné světlo). Jediné záření, které je v tomto případě detekováno, je odchýlené záření, které bývá ale velice malé, a proto se zanedbává.

V integrační kouli není záchyt na zrcadlově odražené záření, proto se v našem případě jedná o úplnou odrazivost. Takovéto měření označujeme „0/d“, což znamená, že vzorek/standard je ozářen kolmo k rovině povrchu a detekujeme difúzní záření. Ovšem pokud by byl úhel opravdu 0°, pak by zrcadlově odražená složka záření vystupovala ven z integrační koule zpět do lampy a tudíž by nebylo zaznamenáno jako část R_s . Proto je u přístroje LI-COR zvolen úhel dopadu 10°, díky čemuž se zachová zrcadlově odražená složka záření (Návod na obsluhu základního přístroje LI-COR 1800, 2019).

Princip měření **difúzní propustnosti** (transmittance) spočívá v porovnání ozáření stěny integrační koule zářením, které prošlo vzorkem se zářením z měření standardu, při kterém záření vzorkem neprochází (Návod na obsluhu základního přístroje LI-COR 1800, 2019).

Tabulka 8 - Technické parametry přístroje spektrometr LI-1800 a integrační koule LI-COR 1800-12 (LI-COR, Nebraska, USA) (převzato z manuálu k přístroji spektrometr LI-1800 a integrační koule LI-COR 1800-12).

Technické parametry spektrometru LI-1800 a integrační koule LI-COR 1800-12	
Rozsah měření	390 - 1100 [nm]
Průměr štěrbinu pro vzorek	1,45 [cm]



Obrázek 22 - Schématické znázornění integrační koule, uspořádání vstupů a komponenty integrační koule LI-COR 1800-12 (převzato z https://www.researchgate.net/figure/Li-cor-integrating-sphere-operational-schematic-diagram-Internal-left-and-external_fig4_27516002).



Obrázek 23- Spektrometr LI-1800 (převzato z <https://www.ebay.co.uk/itm/Li-cor-LI-1800-Portable-Spectroradiometer-LI-1800-22-/283145599114>).

3.8.1.1. Vodní index

Ze spektra změřeného pomocí spektrometru byl vypočítán vodní index (WI), který podle práce Peñuelas a kol. (1997) koreluje s obsahem vody v rostlinách. Vodní index byl počítán podle vzorce

$$WI_R = \frac{R_{900}}{R_{970}},$$

kde **R900** a **R970** jsou odrazivosti při 900 nm a 970 nm.

Tento index byl také počítán pomocí vzorce

$$WI_T = \frac{T_{900}}{T_{970}},$$

kde **T900** a **T970** jsou propustnosti při 900 nm a 970 nm. Výpočet vodního indexu pomocí transmittance není při výzkumech běžně používán.

3.8.2. Poly-PlantPen

Tento přístroj je přenosný spektrometr, který měří spektrální směrovou odrazivost na listech (v rozmezí 340 - 780 nm). Ze změřených spekter poté dopočítává jednotlivé optické indexy (Tab. 9).

Měření listů touto metodou je nedestruktivní (manuál k přístroji Poly-PlantPen).

Tabulka 9 – Indexy, které lze pomocí Poly-PlantPen RP 400 změřit. R značí reflektanci v příslušné vlnové délce (převzato z: <https://eu.ictinternational.com/products/rp-400/rp-400-poly-plantpen/>).

Index	Výpočet
Normalised Difference Vegetation Index (NDVI)	$NDVI = (R_{NIR} - R_{RED}) / (R_{NIR} + R_{RED})$ $NDVI = (R_{780} - R_{630}) / (R_{780} + R_{630})$
Simple Ratio Index (SR)	$SR = R_{NIR} / R_{RED}$
Modified Chlorophyll Absorption in Reflectance Index (MCARI1)	$MCARI1 = 1.2 * [2.5 * (R_{790} - R_{670}) - 1.3 * (R_{790} - R_{550})]$
Optimised Soil-Adjusted Vegetation Index (OSAVI)	$OSAVI = (1 + 0.16) * (R_{790} - R_{670}) / (R_{790} - R_{670} + 0.16)$
Greenness Index (G)	$G = R_{554} / R_{677}$
Modified Chlorophyll Absorption in Reflectance Index (MCARI)	$MCARI = [(R_{700} - R_{670}) - 0.2 * (R_{700} - R_{550})] * (R_{700} / R_{670})$
Transformed CAR Index (TCARI)	$TSARI = 3 * [(R_{700} - R_{670}) - 0.2 * (R_{700} - R_{550})] * (R_{700} / R_{670})$
Triangular Vegetation Index (TVI)	$TVI = 0.5 * [120 * (R_{750} - R_{550}) - 200 * (R_{670} - R_{550})]$
Zarco-Tejada & Miller Index (ZMI)	$ZMI = R_{750} / R_{710}$
Simple Ratio Pigment Index (SRPI)	$SRPI = R_{430} / R_{680}$
Normalised Phaeophytinization Index (NPQI)	$NPQI = (R_{415} - R_{435}) / (R_{415} + R_{435})$
Photochemical Reflectance Index (PRI)	$PRI = (R_{531} - R_{570}) / (R_{531} + R_{570})$
Normalised Pigment Chlorophyll Index (NPCI)	$NPCI = (R_{680} - R_{430}) / (R_{680} + R_{430})$
Carter Indices	$Ctrl = R_{695} / R_{420}$; $Ctr2 = R_{695} / R_{760}$
Lichtenthaler Indices	$Lic1 = (R_{790} - R_{680}) / (R_{790} + R_{680})$; $Lic2 = R_{440} / R_{690}$
Structure Intensive Pigment Index (SIPI)	$SIPI = (R_{790} - R_{450}) / (R_{790} + R_{650})$
Gitelson and Merzlyak Indices	$GM1 = R_{750} / R_{550}$; $GM2 = R_{750} / R_{700}$

Tabulka 10 - Technické parametry přístroje Poly-PlantPen RP 400 (Photon Systems Instruments (PSI), Drásov, ČR) (převzato z manuálu k přístroji Poly-PlantPen RP 400).

Technické parametry Poly-PlantPen RP 400	
Rozsah měření	340 - 780 [nm]
Přesnost	+/- 0,5 [nm]
Průměr štěrbin pro vzorek	7 [mm]
Rozměry	15 x 7,5 x 4 [cm]
Hmotnost	300 [g]



Obrázek 24 - Poly-PlantPen RP 400 (převzato z manuálu k přístroji Poly-PlantPen RP 400).

3.8.2.1. NDVI

Ze spekter reflektance získaných pomocí Poly-PlantPen byl vypočítán normalizovaný vegetační diferenční index (NDVI). Tento index přístroj počítá podle vzorce

$$NDVI = \frac{R_{780} - R_{630}}{R_{780} + R_{630}}$$

kde **R780** a **R630** jsou odrazivosti při 780 nm a 630 nm.

Závislostí WI a indexu NDVI na RWC se ve své práci zabývali autoři Caturegli a kol. (2020). V této práci byla měřena spektra reflektance pomocí ručního spektrometru FieldSpec 4 nové generace s vysokým rozlišením (Analytical Spectral Devices Inc., Boulder, Co, USA) u listů hybridní trávy *Cynodon dactylon* (L.) Pers. X *Cynodon transvaalensis* Burt Davy, které byla pěstována ve skleníku. Rostliny byly před měřením vystaveny různému vodnímu stresu, konkrétně se měřily rostliny, které nebyly zalévány 0, 1, 4, 7, 10, 13 a 16. Výsledky ukázaly lineární závislost mezi WI a RWC listu.

Tato práce se taktéž zabývala závislostí NDVI na zasychání listu. Tato závislost měla klesající charakter (Caturegli a kol., 2020).

3.9. Obsah chlorofylu v listech

Rostliny, které jsou stresované nějakým faktorem (např. nedostatkem světla nebo vody), mají většinou menší obsah chlorofylu v listech. Obsah chlorofylů je také závislý na stáří listů a oblasti listu (střed, okraj). Metody měření obsahu chlorofylu dělíme na dva druhy, na metody **destruktivní**, při kterých dojde ke zničení listu, a na metody **nedestruktivní**, při kterých je list zachován.

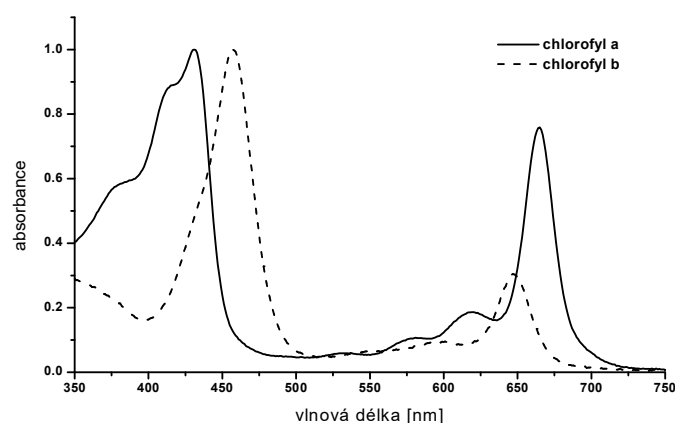
3.9.1. Destruktivní metody měření obsahu chlorofylu v listech

Původní metody stanovení obsahu chlorofylu v listu jsou založeny na extrakci pigmentů z pletiva a následném spektrofotometrickém stanovení obsahu jednotlivých pigmentů (Arnon 1949, Lichtenthaler 1987, Porra et al. 1989). Mezi extrahovanými pigmenty nalezneme převážně chlorofyly *a*, *b* a karotenoidy. Podrobnější složení bychom získali pomocí chromatografické analýzy HPLC. Obsah chlorofylu *a*, *b* zjišťujeme v 80 % roztoku acetonu pomocí měření absorbance v určitých vlnových dálkách (praktikum ke cvičení Stanovení obsahu chlorofylů v rostlinách, Špundová).

Obsah chlorofylu *a* + *b* v extraktu můžeme vypočítat pomocí rovnice

$$Chl (a + b) = 7,15 * (A_{663,2} - A_{750}) + 18,71 * (A_{646,8} - A_{750}) \text{ } [\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}]$$

kde $A_{663,2}$; $A_{646,8}$ a A_{750} jsou hodnoty absorbance pigmentového extraktu ve vlnové délce 663,2 nm; 646,8 nm a 750 nm (Lichtenthaler, 1987). Obsah chlorofylu je pak přepočítán na jednotku plochy listu, případně na jeho hmotnost.



Obrázek 25 – Relativní absorbance chlorofylu *a*, *b* v 80 % acetonu (převzato z praktika ke cvičení: Stanovení obsahu chlorofylů v rostlinách, Špundová).

3.9.2. Nedestruktivní metody měření obsahu chlorofylu v listech

Nedestruktivní metody měření obsahu chlorofylu využívají optických vlastností listů (například transmitance nebo reflektance).

V této diplomové práci byla využita nedestruktivní metoda měření obsahu chlorofylu a to pomocí přístroje **SPAD 502** (Konica Minolta Sensing, Osaka, Japan).

3.9.2.1. SPAD

Přístroj měří optickou propustnost listu pro vlnovou délku 650 nm (velká absorpance chlorofylů) a 940 nm (minimální absorpance chlorofylů). Před začátkem měření je vždy nutné provést kalibraci přístroje.

V měřicí hlavě přístroje jsou zabudovány dvě LED, jedna červená a jedna infračervená a při měření vyzařují sekvenci pulzů. Záření, které vydávají, projde vzorkem až na detekční okénko, které obsahuje křemíkovou fotodiodu. Detektor poté převede optický signál na signál elektrický, který je posléze převeden na digitální signál. Z digitálního signálu je přístrojem vypočítána hodnota, která odráží obsah chlorofylu v listu. Tato hodnota se počítá ze vzorce

$$M = \log \frac{\frac{I'_{940}}{I_{940}}}{\frac{I'_{650}}{I_{650}}} = \log \frac{I'_{940} * I_{650}}{I_{650} * I'_{940}},$$

kde I_{650} , I_{940} udává elektrický proud na fotodiodě vyvolaný dopadem záření o vlnové délce 650 a 940 nm (bez vzorku) a I'_{650} , I'_{940} udává elektrický proud na fotodiodě vyvolaný dopadem záření o vlnové délce 650 a 940 nm po průchodu vzorkem (listem).

Tabulka 11 - Technické parametry SPAD 502 (Konica Minolta Sensing, Inc., Osaka, Japan) (převzato z manuálu k přístroji SPAD 502).

Technické parametry SPAD 502	
Rozsah	0 - 50 [SPAD]
Přesnost	+/- 1,0 [SPAD]
Velikost měřicí plochy	2 x 3 [mm]
Rozměry	78 x 164 x 49 [mm]
Hmotnost	225 [g]



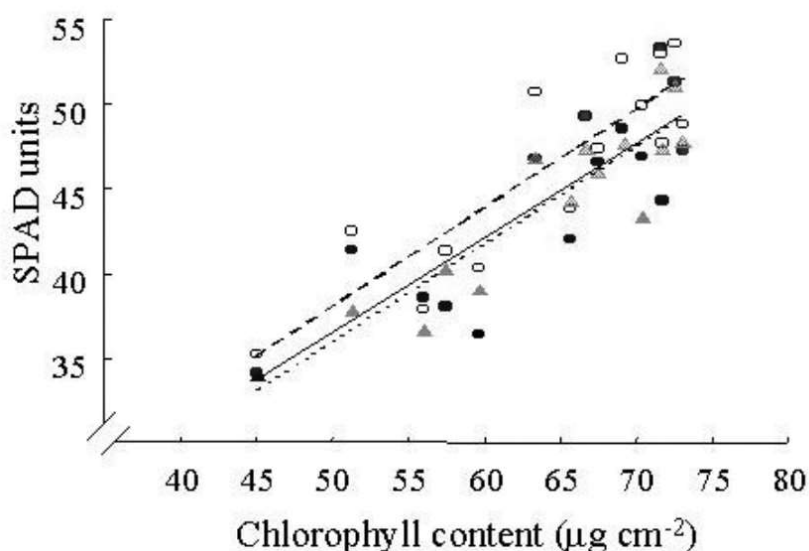
Obrázek 26 – Spad 502 (převzato z <http://envcoglobal.com/files/product/image/mo-spc-spad-v20.jpg>).

Martinez a Guiamet (2004) se ve své práci zabývali vztahem mezi relativním obsahem vody v listech a hodnotou SPAD u listů pšenice seté (*Triticum aestivum* L.). Listy byly podrobeny řízené dehydrataci a bylo ukázáno, že při poklesu RWC z 94 % na 87,5 % narostla hodnota odečtená z přístroje SPAD 502 ze $44,3 \pm 1,5$ na hodnotu $47,2 \pm 1,5$ (Tab. 12). Když byly listy opět hydratovány do plného nasycení, hodnota SPAD měla stejnou hodnotu jako při RWC 94 %. Výsledky tedy ukázaly, že hodnota SPAD se při velmi malém snížení turgescence listu nemění.

Tabulka 12 - Změny v hodnotě SPAD měřené pomocí přístroje SPAD 502 v reakci na změnu relativního obsahu vody v listu. Měření listy byly od rostlin pšenice odříznuty brzo ráno. RWC a hodnoty SPAD byly změřeny u listů hned po odřezání, u dehydratovaných listů a poté u plně turgidních listů, které byly rehydratovány v destilované vodě po dobu 4 h. Hodnoty v závorkách představují standardní chybu měření (převzato z Martinez a Guiamet, 2004).

	Time after detachment (min)	Relative water content, RWC %	SPAD units
Fresh leaves	0	94.0 (1.2) a	44.3 (1.5) a
Dehydrated segments	45	87.5 (2.2) b	47.2 (1.5) b
Fully re-hydrated segments	285	100*	44.1 (1.4) a

Bylo také prokázáno, že změna RWC neovlivňuje citlivost přístroje na obsah chlorofylu, jelikož hodnoty naměřené přístrojem SPAD korelovaly s obsahem chlorofylu změřeným spektrofotometricky v extraktu pigmentů z pletiva.



Obrázek 27 - Vliv relativního obsahu vody (RWC) na vztah mezi obsahem extrahovatelného chlorofylu a hodnotou SPAD v listech pšenice. Odečty SPAD byly provedeny na čerstvých segmentech listu (průměr RWC = 94%, plné kruhy, souvislá čára, $y = 0,56x + 8,54$, $R^2 = 0,69$), dehydratovaných segmentech (RWC = 87%, prázdné kruhy, přerušovaná čára, $y = 0,49x + 15,48$, $R^2 = 0,68$) a rehydratovaných segmentech v destilované vodě po dobu 4 h (plné trojúhelníky, tečkovaná čára, $y = 0,58x + 6,85$, $R^2 = 0,83$) (převzato z Martinez a Guiamet, 2004).

Tato studie dále ukázala, že se snížením RWC se zvyšovala hodnota SPAD. Nicméně počáteční fáze zasychání (nízký úbytek RWC) neměla vliv na obsah chlorofylu, jak autoři zjistili pomocí spektrofotometrického stanovení, neměla by se tedy měnit ani hodnota SPAD. Zjištěná změna této hodnoty tedy odráží jiné změny ve struktuře zasychajícího listu než nárůst obsahu chlorofylu. V důsledku strukturních změn uvnitř listu, např. snížením obsahu vody v listu, dojde k poklesu transmitance, což je přístrojem SPAD chybně vyhodnoceno jako nárůst obsahu chlorofylu. Pokles transmitance v zasychajících listech autoři vysvětlují zvýšenou odrazivostí světla. Při dehydrataci dojde podle autorů ke zvýšení plochy rozhraní buněčná stěna-vzduch, což má za následek zvýšení odrazu světla ve viditelné oblasti spektra (mezi 600 - 700 nm), pokles transmitance a tedy vyšší hodnotu SPAD (Martinez a Guiamet, 2004).

Autoři se nezabývali listy s RWC nižším než 87 %, nicméně dá se očekávat, že při vyšším úbytku vody, tedy při delší době zasychání, může docházet k rozpadu chlorofylů, což by mělo způsobit pokles hodnoty SPAD. Tedy při vyšším stupni zasychání a nižším RWC pravděpodobně převládne efekt poklesu obsahu chlorofylu

(vedoucí k poklesu hodnot SPAD) nad efektem strukturních změn v listu (vedoucím k nárůstu hodnot SPAD).

Hodnotou SPAD v závislosti na RWC se zabývala i studie Trueba a kol. (2019). Autoři zjistili, že hodnota SPAD, která byla u zasychajících listů naměřena vyšší, zůstávala po započítání poklesu plochy listu při zasychání konstantní.

3.10. Shrnutí

Jelikož je sucho stále patrnějším problémem, je zkoumání hospodaření rostlin s vodou a zjišťování jejího obsahu v rostlinách velmi podstatná a neustále se rozvíjející oblast bádání. Je důležité důkladně pochopit mechanismy využívání vody v rostlinách a jejich reakce a adaptace na snížení obsahu vody. Pokud tyto mechanismy lépe pochopíme, můžeme jejich znalost využít například k udržení či zvýšení výnosů u hospodářských plodin v podmínkách se sníženou dostupností vody. Taktéž je představa o stavu vody v rostlinách a přírodě velmi důležitá z ekologického hlediska.

Mezi nejběžněji používané metody pro zjištění vodního stavu rostliny patří stanovení relativního obsahu vody v rostlině a měření vodního potenciálu rostliny. Vodní potenciál je nejčastěji měřen pomocí psychrometru nebo tlakové komory. Ovšem obě tyto metody mají svá úskalí. Hlavním úskalím je, že jde o metody destruktivní, tedy dojde k zničení měřeného listu. Problémem u psychrometrické metody je taktéž dlouhá doba měření. Zatímco u tlakové metody je jako největší problém uváděno, že je měřen především vodní potenciál středového žebra a buněk v jeho blízkém okolí, nikoliv celého listu. Proto se stále více do popředí zájmu dostávají optické metody. Většina optických metod je nedestruktivních, ovšem není plně prokázána závislost jimi změřených parametrů na vodním stavu rostlin.

Proto jsme se v této práci zaměřili na porovnání těchto metod, jejich citlivosti na různé hodnoty úbytku obsahu vody v rostlině, vhodnosti jejich využití pro stanovení vodního stavu rostliny a pozitiva a negativa, které každá jedna využitá metoda přináší.

4. Materiál a metody

4.1. Rostlinný materiál

Vodní stav v listech byl měřen jak na zástupci z třídy jednoděložných rostlin, tak z třídy dvouděložných rostlin. Jako zástupce jednoděložných rostlin byl použit ječmen setý (*Hordeum vulgare* L. cv. Bojos) a z dvouděložných byl použit tabák virginský (*Nicotiana tabacum* L. cv. Samsun). Všechny rostliny byly pěstovány ve fyto-komóře, zde následně i listy zasychaly. Ve fyto-komóře Weiss Gallenkamp SGC170PFX.J (WEISS GALLENKAMP, Loughborough, United Kingdom) měly rostliny pravidelný světelný režim - 16 h světlo/8 h tma. Intenzita světla byla nastavena na 70 %, což odpovídalo $100 \pm 10 \mu\text{mol (fotonů) m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ (PAR – fotosynteticky aktivní záření). Teplota ve fyto-komóře byla 21 °C po celý den i noc, relativní vlhkost vzduchu byla 60 % přes den i přes noc.

4.1.1. Ječmen

K měření byly použity primární listy mladých rostlin ječmene (cca týden starých), které byly pěstovány v květináčích s perlitem a pravidelně zalévány Knopovým roztokem. K měření se vybíraly turgescenční zelené listy přibližně stejné velikosti, na kterých nebyl patrný žádný defekt. Následně se odřízla celá rostlina a poté se z primárního listu kolmým řezem odřízl skalpelem segment o délce 5 cm (od špičky listu).

4.1.2. Tabák

K měření byly použity listy mladých rostlin (měsíc až dva starých), které byly pěstovány v květináčích s půdním substrátem a pravidelně zalévány vodou z vodovodního řádu, jednou týdně Knopovým roztokem. K měření se vybíraly turgescenční, zelené listy, jejichž šířka byla v rozmezí 4 - 8 cm a délka v rozmezí 7 - 13 cm, na kterých nebyl patrný žádný defekt. Vybraný list se odřízl z rostliny rovnoběžně se stonkem a poté se řapík kolmo seřízl. U listu se vždy zaznamenala jeho pozice na rostlině (počítáno od báze rostliny) a změřila jeho šířka a délka.

4.2. Stanovení UH a RWC

Nejprve bylo potřeba zjistit, jak koreluje **úbytek hmotnosti** (UH) listu, který je způsobený ztrátou vody, s **relativním obsahem vody** v listu (RWC). Tuto korelaci bylo potřeba zjistit z důvodu následného použití listu při měření dalšími metodami. Zatímco úbytek hmotnosti se dá vypočítat bez nevratného vysušení listu, při výpočtu RWC je nutné získat sušinu listu, což vylučuje jeho použití na měření jiných parametrů vodního stavu. Zjištění UH listu je také značně rychlejší než zjištění RWC. Korelace se zjišťovala na testovacích vzorcích, kterých bylo 20 u ječmene a 15 u tabáku.

Ihned po odřezání listu (tabák)/segmentu listu (ječmen) byl list zvážen na analytických laboratorních vahách s přesností na 0,00001 g. Poté byl list/segment řezem ponořen do vody, kde se nechal sytit do plné turgidní hmotnosti. U segmentu listu ječmene jsme opakovaným vážením zjistili, že doba potřebná k maximálnímu nasycení je 3 h. U listů tabáku jsme experimentálně zjistili, že u dobře zalévaných rostlin byla turgidní hmotnost rovna hmotnosti listu ihned po uřezání. Poté, co byly listy plně nasyceny vodou, byly umístěny do fytokomory a za podmínek uvedených výše ponechány po určitou dobu zasychat. Po této době byly listy znovu převáženy. Ze získaných hodnot se vypočítal UH podle vzorce

$$UH = \left(1 - \frac{FW}{FW_0}\right) * 100 [\%],$$

kde **FW₀** udává hmotnost listu ihned po odříznutí a **FW** je hmotnost zasychajícího listu. Poté, co jsme získali alespoň 3 hodnoty UH, se daly listy sušit do sušárny pro dosažení sušiny.

Sušení probíhalo v sušárně při teplotě 105 °C. Experimentálně jsme zjistili, že doba potřebná k dosažení minimální hmotnosti (tj. sušiny = **DW**) byla u listů tabáku i ječmene 2 h.

Poté se ze všech získaných hodnot pro daný list vypočítal RWC podle vzorce

$$RWC = \frac{FW - DW}{TW - D} * 100 [\%],$$

kde **FW** udává hmotnost zasychajícího listu; **TW** udává hmotnost plně nasyceného - turgidního listu (u dobře zalévaných rostlin tabáku bylo $TW = FW_0$) a **DW** udává hmotnost sušiny z listu.

Naměřené hodnoty byly vyneseny do grafu a následně byla vypočtena rovnice regresní přímky závislosti mezi UH a RWC.

Při následných měřeních bylo postupováno tak, že list/segment listu byl vždy zvážen ihned po odřezání, poté byl dán na určitou dobu zasychat a těsně před jeho měřením jednou z metod stanovení vodního stavu byl opět zvážen. Z uvedených hmotností byl vypočítán UH, který byl následně přepočten pomocí kalibrační rovnice na RWC listu.

4.3. Měření vodního potenciálu

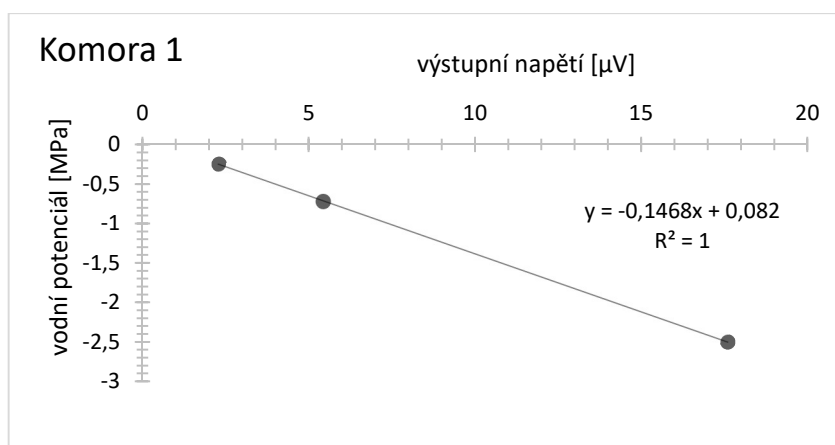
Vodní potenciál listů se měřil dvěma různými metodami, a to psychrometrickou a tlakovou metodou.

4.3.1. Měření pomocí psychrometru

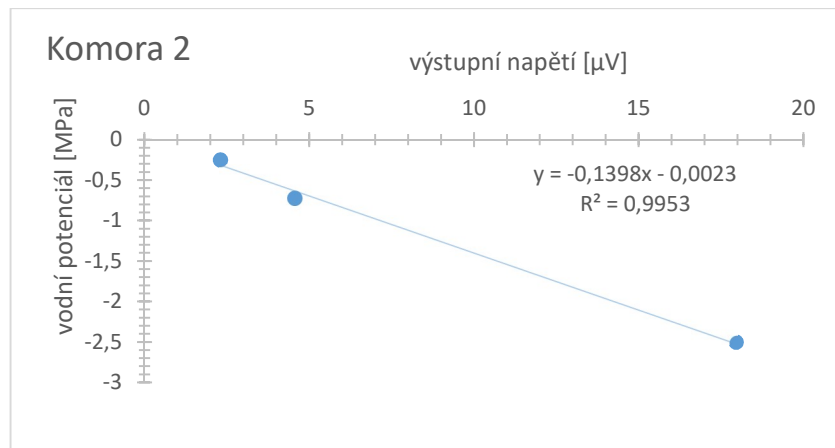
Na měření vodního potenciálu psychrometrickou metodou se využíval psychrometr HR33T Dew Point Microvoltmeter se vzorkovou komorou C-52 (Wescor, Logan, Utah, USA). Při měření se používalo 5 vzorkových komor.

4.3.1.1. Kalibrace

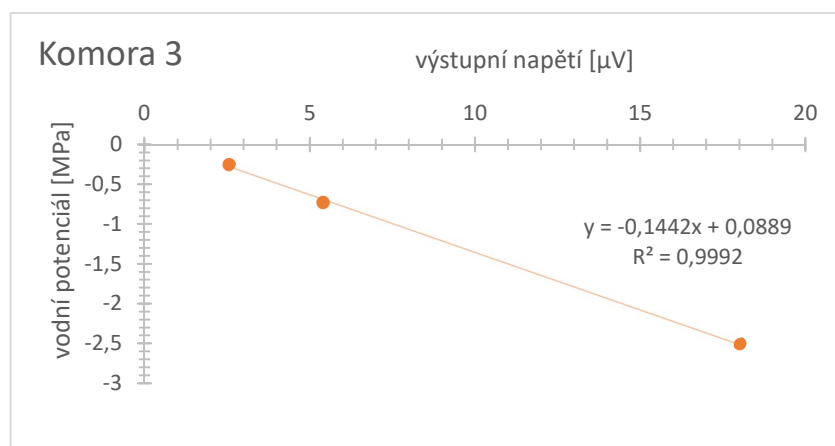
Nejprve byla provedena kalibrace jednotlivých komor psychrometru. Kalibrace se prováděla pomocí kalibračních roztoků NaCl dodaných výrobcem. Roztoky byly tři, s molární koncentrací 100 mmol/kg, 290 mmol/kg a 1 000 mmol/kg. Každý roztok byl změřen ve všech 5 komorách. Experimentálně bylo zjištěno, že ustanovení rovnováhy tlaku vodních par u terčíku filtračního papíru nasyceného daným roztokem trvá 50 min. Po uplynutí této doby byl termočlánekový spoj v psychrometrické komoře chlazen pomocí Peltierova proudu po dobu 8 vteřin, po vypnutí Peltierova proudu a ustálení teploty byla ze stupnice přístroje odečtena hodnota výstupního napětí (v μV). Těmto hodnotám byly přiřazeny hodnoty osmotického (resp. vodního) potenciálu použitých kalibračních roztoků (první roztok -0,25 MPa, druhý -0,725 MPa a třetí -2,5 MPa). Poté byla pro každou komoru sestrojena závislost osmotického potenciálu na výstupním napětí a z grafů získána rovnice lineární regrese (Obr. 28 – 32). Pomocí těchto rovnic bylo u měřených listových vzorků přepočítáno výstupní napětí („x“) na vodní potenciál („y“).



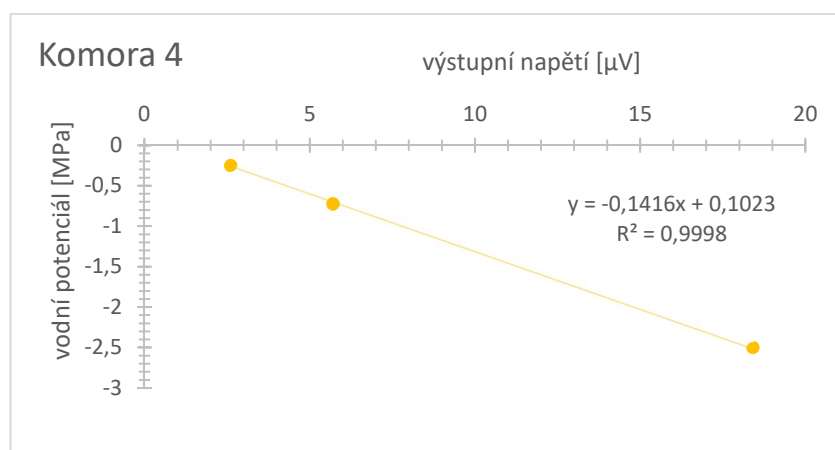
Obrázek 28 – Závislost vodního potenciálu na výstupním napětí pro komoru 1. Zobrazena je rovnice lineární regrese s hodnotou spolehlivosti R^2 .



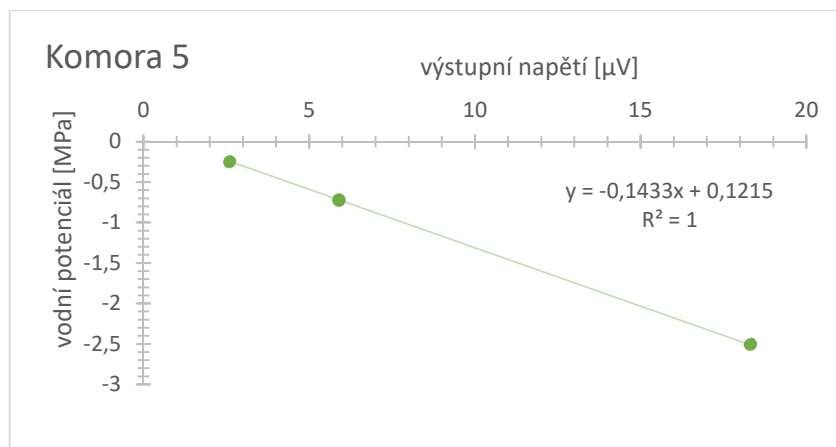
Obrázek 29 – Závislost vodního potenciálu na výstupním napětí pro komoru 2. Zobrazena je rovnice lineární regrese s hodnotou spolehlivosti R^2 .



Obrázek 30 – Závislost vodního potenciálu na výstupním napětí pro komoru 3. Zobrazena je rovnice lineární regrese s hodnotou spolehlivosti R^2 .



Obrázek 31 – Závislost vodního potenciálu na výstupním napětí pro komoru 4. Zobrazena je rovnice lineární regrese s hodnotou spolehlivosti R^2 .



Obrázek 32 – Závislost vodního potenciálu na výstupním napětí pro komoru 5. Zobrazena je rovnice lineární regrese s hodnotou spolehlivosti R^2 .

Rovnice regrese pro první komoru je $y = -0,1468x + 0,082$,

pro druhou komoru je $y = -0,1398x - 0,0023$,

pro třetí komoru je $y = -0,1442x + 0,0889$,

pro čtvrtou komoru je $y = -0,1416x + 0,1023$,

pro pátou komoru je $y = -0,1433x + 0,1215$.

4.3.1.2. Měření na listech

Z prostřední části segmentu listu ječmene byl vyříznut obdélník cca 5 mm dlouhý (šířka byla dána šířkou listu ječmene – nebyla zkracována). Tento segment byl poté vložen do jedné komory psychrometru (v každé komoře byl jiný vzorek). Experimentálně jsme zjistili, že doba potřebná pro ustálení rovnováhy u segmentu listu je 2 h. Poté byla ze stupnice přístroje odečtena hodnota výstupního napětí a toto napětí bylo následně přepočítáno (podle příslušné kalibrační rovnice) na vodní potenciál.

U listů tabáku byl segment vyříznut pomocí korkovrtu o průměru 5 mm. U prvních měření bylo měřeno 5 segmentů z jednoho listu (v každé komoře jeden segment). Z důvodu úspory času bylo od tohoto postupu posléze upuštěno a byl měřen pouze jeden segment z jednoho listu. Analýzou hodnot vodního potenciálu jednotlivých segmentů z prvotních měření jsme určili, že z hlediska reprezentativnosti je nejvhodnější brát segment ze střední části listu mimo větší žilky a ve vzdálenosti zhruba 5 mm od středové žilky. Ustálení rovnováhy opět trvalo 2 h, poté bylo ze stupnice přístroje odečteno výstupní napětí a to se poté pomocí kalibračních rovnic přepočítalo na vodní potenciál.

4.3.2. Měření pomocí tlakové metody

Vodní potenciál listů se také měřil pomocí tlakové komory PMS 600 (PMS Instrument Company, Albany, USA), která byla připojena na tlakovou láhev s plynným dusíkem pomocí speciálního ventilu Messer.

4.3.2.1. Postup měření

Oddělený list/segment listu byl vkládán do tlakové komory tak, aby konec řapíku/segmentu (cca 1 mm) vyčníval nad povrch uzávěru komory. Pro upevnění segmentu listu ječmene byla použita pryžová zátka s plochou štěrbinou, pro upevnění řapíku listu tabáku byla použita pryžová zátka s kulatou štěrbinou. Z důvodu velké délky kulaté štěrbiny a nedostatečné délky řapíku listu tabáku bylo v řadě případů potřeba list tabáku kolem řapíku oříznout. Štěrbina s vloženým listem byla dostatečně utažena, aby při napouštění plynného dusíku nedocházelo k jeho úniku, ale s opatrností, aby nedošlo k zaškrcení cévních svazků listu. Poté, co byl list uzavřen v tlakové komoře, byl pomocí vypouštění plynného dusíku zvyšován tlak v komoře rychlostí 0,02 MPa s⁻¹ (u listů s vyšším obsahem vody) až 0,03 MPa s⁻¹ (u listů s nižším obsahem vody). Díky zvyšujícímu se tlaku v komoře došlo k opětovnému vymáčknutí vody na plochu řezu. Řez byl snímán pomocí průmyslového mikroskopu a stupnice znázorňující velikost tlaku v komoře byla snímána pomocí kamery. Oba záznamy se zároveň a v reálném čase promítaly na monitoru počítače, ze kterého byl celý záznam taktéž nahráván. Odečtení velikosti tlaku probíhalo zpětně pomocí videozáznamu. Hodnota tlaku se odečítala v okamžiku, kdy byl řez zhruba z poloviny přelit vodou. Odečtený tlak považujeme za hodnotu vodního potenciálu listu.

4.4. Měření vodního indexu

4.4.1. Měření pomocí spektrálního radiometru

Pomocí spektrálního radiometru LI-1800, integrační koule LI-COR 1800-12 a zdroje světelného záření (LI-COR, Nebraska, USA) byla měřena difúzní odrazivost a propustnost v elektromagnetickém spektru od 400 nm do 1100 nm. Z naměřených spekter byl poté vypočítán **vodní index** (WI), který dle literatury (např. Peñuelas et al. 1997) koreluje s obsahem vody v měřeném listu. Vodní index byl počítán podle vzorců

$$WI_R = \frac{R_{900}}{R_{970}},$$

kde **R900** a **R970** jsou odrazivosti při 900 nm a 970 nm. A

$$WI_T = \frac{T_{900}}{T_{970}},$$

kde **T900** a **T970** jsou propustnosti při 900 nm a 970 nm.

Z naměřených spekter byl následně také vypočítán **normalizovaný vegetační diferenční index** (NDVI), který byl následně porovnán s NDVI změřeným pomocí Poly-PlantPen (viz dále). NDVI byl vypočítán ze vzorce

$$NDVI = \frac{R780 - R630}{R780 + R630}$$

kde **R780** a **R630** jsou odrazivosti při 780 nm a 630 nm.

4.4.1.1. Postup měření

Na začátku měření difúzní odrazivosti a propustnosti je nutné změřit odrazivost standardu, který je dodáván firmou LI-COR. Hodnotou spektra pro určitou vlnovou délku je pak nutné dělit změřené spektrum našeho vzorku pro každou vlnovou délku. Použité vlnové délky musí být stejné pro spektrum standardu a spektrum vzorku. Vzorek se přikládá k povrchu integrační koule z vnější strany tak, aby byl součástí jejího povrchu. Vzhledem k velikosti plochy, kterou bylo při měření nutné vyplnit, musely být při měření ječmene použity 3-4 segmenty listů. Počet segmentů byl závislý na jejich hodnotě RWC, čím nižší RWC, tím bylo potřeba více segmentů. U tabáku byl pro jedno měření použit jediný list. U každého vzorku se měřila odrazivost i propustnost ze svrchní (adaxiální) a ze spodní (abaxiální) strany listu.

Hodnota UH (resp. RWC) příslušného měřeného listu nebo souboru listů byla určena jako průměr hodnot stanovených před a po měření (během měření totiž docházelo k mírnému zaschnutí listů).

4.4.2. Měření NDVI

Normalizovaný vegetační diferenční index jsme měřili pomocí přístroje Poly-PlantPen RP 400 (Photon Systems Instruments (PSI), Drásov, ČR) na adaxiální straně listů.

4.4.2.1. Postup měření

Poly-PlantPen měří spektrální směrovou odrazivost listu. Před prvním měřením je nutné provést kalibraci přístroje a to pomocí standardu dodávaného firmou PSI. Poté se vložil do přístroje list (zhruba prostřední část segmentu listu ječmene i listu tabáku) a bylo změřeno spektrum směrové odrazivosti od 340 nm do 780 nm na adaxiální straně listu. Přístroj ihned vyhodnotí 2 volitelné indexy (v našem případě právě NDVI, který Poly-PlantPen počítá podle vzorce

$$NDVI = \frac{R780 - R630}{R780 + R630}$$

kde **R780** a **R630** jsou odrazivosti při 780 nm a 630 nm. Pokud byl na daném listu měřen normalizovaný vegetační index opakovaně během zasychání, vždy se měřilo na stejném místě listu.

4.4.3. Měření SPAD

Relativní obsah chlorofylu byl měřen pomocí přístroje SPAD 502 (Konica Minolta Sensing, Osaka, Japan).

4.4.3.1. Postup měření

Nejprve byla provedena kalibrace přístroje. Poté se vložil do přístroje list (zhruba prostřední část segmentu listu ječmene i listu tabáku) a byla změřena hodnota SPAD, kterou jsme odečetli z displeje. Měření probíhalo z adaxiální strany listu. Pokud byl některý list měřen opakovaně během zasychání, byla hodnota SPAD měřena vždy na stejném místě listu.

Měření pomocí Poly-PlantPen i SPAD jsou metody nedestruktivní, a proto po skončení měření mohl být list dále využit na měření některou další metodou. V takovémto případě se na následné měření používala ta část listu (pokud se nepoužil v tlakové metodě celý list), na které probíhalo měření NDVI a SPAD.

5. Výsledky

Cílem této práce bylo porovnání parametrů vodního stavu listů, které byly měřeny různými metodami, otestovat jejich citlivost na různý úbytek vody v listu a určit, která metoda je pro určitý rozsah úbytku vody listu nejvhodnější.

Jak již bylo zmíněno v kapitole 4.1. **Rostlinný materiál**, měření vodního stavu bylo prováděno jak na zástupci z třídy jednoděložných rostlin, tak z třídy dvouděložných rostlin. Jako zástupce jednoděložných rostlin byl použit **ječmen setý** (*Hordeum vulgare* L. cv. Bojos) a z dvouděložných byl použit **tabák virginský** (*Nicotiana tabacum* L. cv. Samsun).

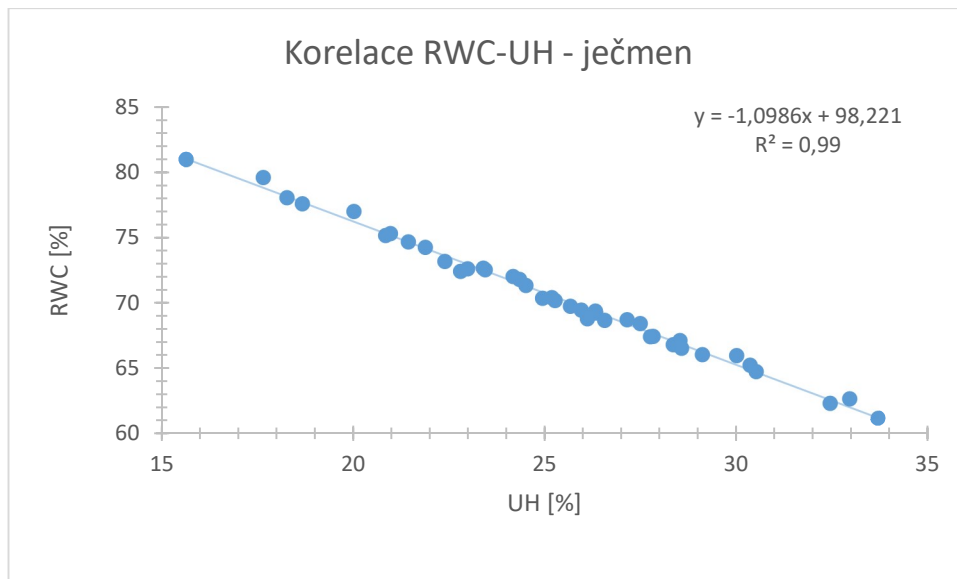
Nejprve probíhalo měření korelace mezi úbytkem hmotnosti (UH) a relativním obsahem vody (RWC). A to z důvodu, že při měření RWC je nutné získat sušinu listu, tedy list už pak nejde využít na jakoukoliv jinou metodu, zatímco při měření UH nedojde ke znehodnocení listu. Po získání korelační rovnice mezi UH a RWC se pokračilo k další části měření.

Listy s definovaným UH (resp. RWC, které pak bylo použito jako základní vztažný parametr obsahu vody v listech) byly dále měřeny různými metodami pro zjištění dalších parametrů odrážejících jejich vodní stav. Využívalo se buďto **psychrometrické metody** nebo **tlakové metody** pro zjištění vodního potenciálu listu, nebo **optických metod**. Mezi použité optické metody patřilo měření spekter odrazivosti a propustnosti, ze kterých byl následně vypočítán vodní index (WI) a normalizovaný vegetační diferenční index (NDVI). Dále byla na listech měřena hodnota SPAD pomocí přístroje SPAD 502, která se standardně používá k určení obsahu chlorofylu.

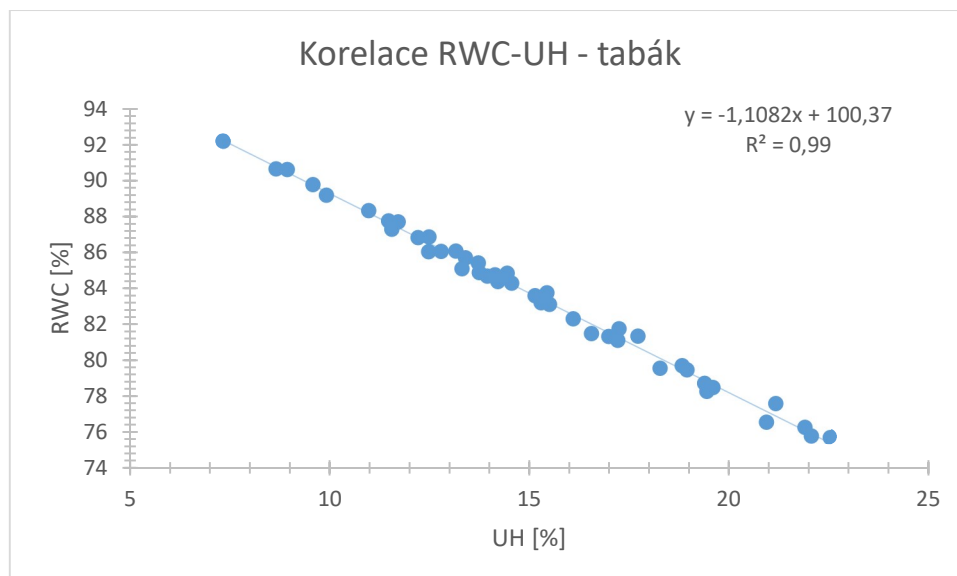
Měření pomocí přístroje SPAD nebo pomocí přístroje Poly-PlantPen patří mezi nedestruktivní metody. Tedy list při měření nebyl nijak poškozen a mohl být tedy využit i pro následné měření nějakou další metodou. Ostatní použité metody jsou metody destruktivní, tudíž při měření byl list poškozen a nebylo již možné ho využít pro měření některou další metodou. Většina měření tedy probíhala na různých listech a přímé srovnání parametrů měřených jednotlivými metodami je pouze orientační.

5.1. Korelace UH a RWC

Z naměřených hmotností zasychajícího listu a vypočítaných hodnot UH a RWC u testovacích listů ječmene a tabáku byla vypočítána korelace mezi UH a RWC (Obr. 33 a Obr. 34).



Obrázek 33 - Korelace úbytku hmotnosti a relativního obsahu vody u listů ječmene a kalibrační rovnice.



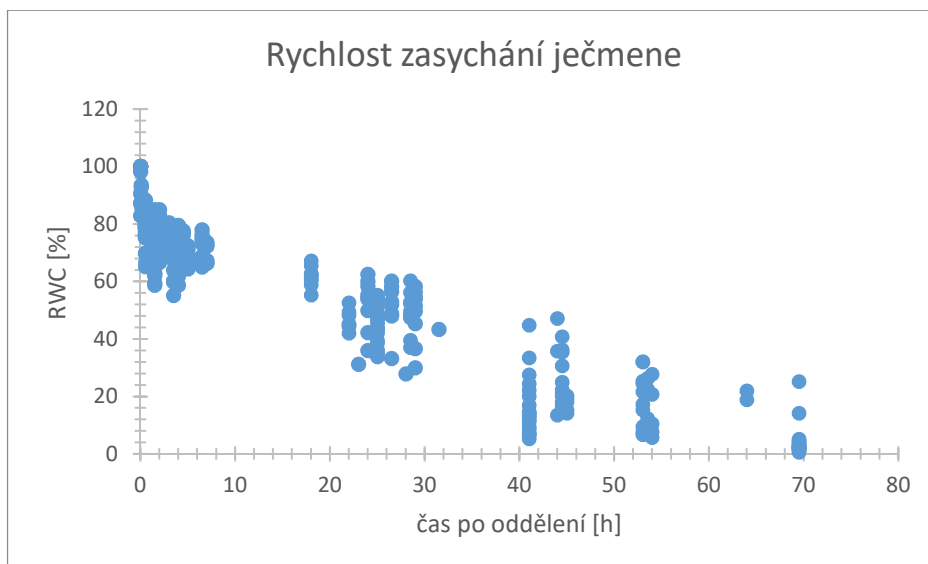
Obrázek 34 - Korelace úbytku hmotnosti a relativního obsahu vody u listů tabáku a kalibrační rovnice.

Z grafu prezentovaném na Obr. 33 jsme pro ječmen získali tuto kalibrační rovnici pro přepočet UH na RWC: $y = -1,0986x + 98,221$

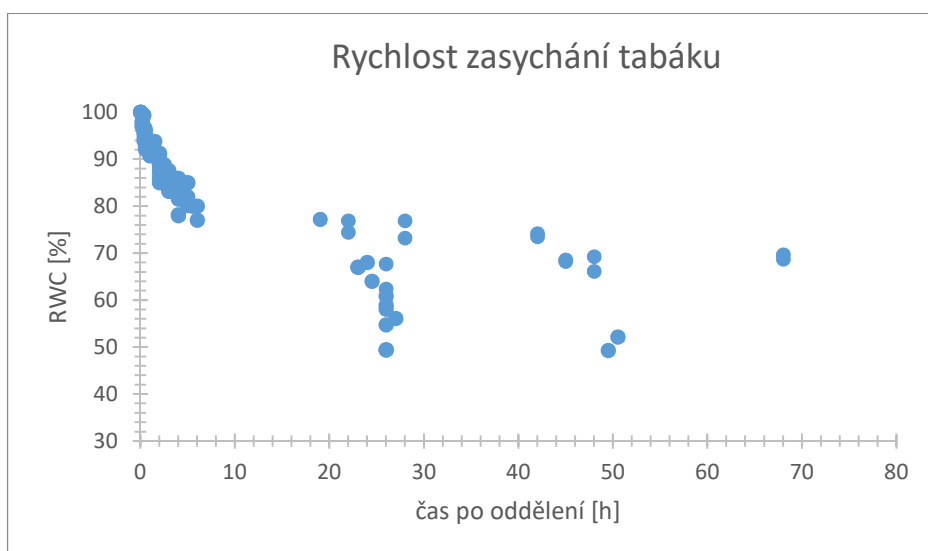
Z grafu prezentovaném na Obr. 34 jsme pro tabák získali tuto kalibrační rovnici pro přepočet UH na RWC: $y = -1,1082x + 100,37$.

5.2. Rychlost zasychání listu

Abychom dosáhli rozdílných hodnot RWC, bylo potřeba, aby měřené listy zasychaly různě dlouhou dobu. Rychlost zasychání se výrazně lišila u listů ječmene a tabáku, jak ukazují Obr. 35 a Obr. 36.



Obrázek 35 - Závislost RWC na době zasychání listu ječmene.



Obrázek 36 - Závislost RWC na době zasychání listu tabáku.

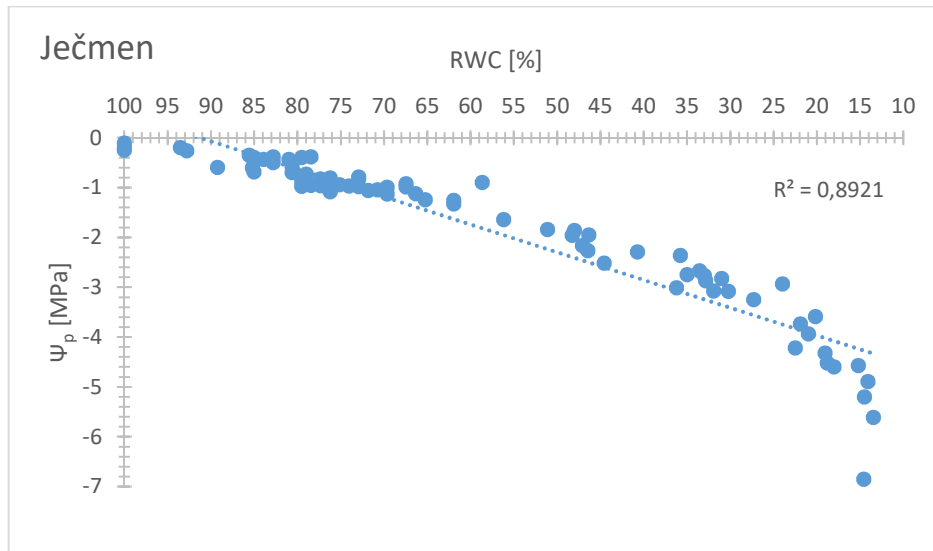
Z grafů vidíme, že listy ječmene zasychaly podstatně rychleji než listy tabáku. Po 70 hodinách zasychání RWC u listů ječmene dosahovalo velmi nízkých hodnot v rozmezí 0 – 20 % (Obr. 35). Zatímco u listů tabáku se RWC drželo stále velmi vysoké, kolem 70 % i pro listy, které zasychaly 70 h. Existují, ale i výkyvy, kdy RWC klesalo až na 40 % (Obr. 36). Obecně se dá z grafů říci, že listy ječmene zasychaly přibližně konstantní rychlostí. Zatímco u listů tabáku RWC ze začátku klesalo relativně rychle, ale poté (cca po dvou hodinách zasychání) RWC klesalo mnohem pomaleji, což se projevilo relativně vysokým obsahem vody v listech tabáku i po dlouhé době zasychání. Rozkolísanost hodnot RWC u jednotlivých časů byla způsobena rozdílným zasycháním listů, i když byla snaha vybírat co nejpodobnější listy.

5.3. Měření parametrů vodního stavu listu

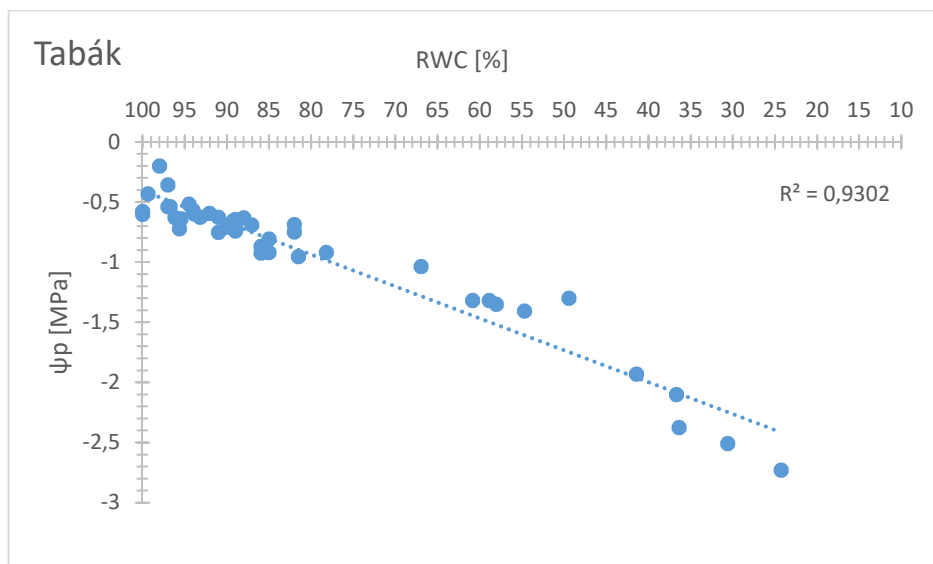
Po zvážení listu rostliny, vypočítání UH a jeho přepočítání na RWC byl list použit v některé z následujících metod: psychrometrická metoda, tlaková metoda, optické metody (LI-COR, Poly-PlantPen, SPAD).

5.3.1. Vodní potenciál

5.3.1.1. Stanovení vodního potenciálu psychrometricky



Obrázek 37 - Závislost psychrometricky změřeného vodního potenciálu na RWC u listů ječmene.

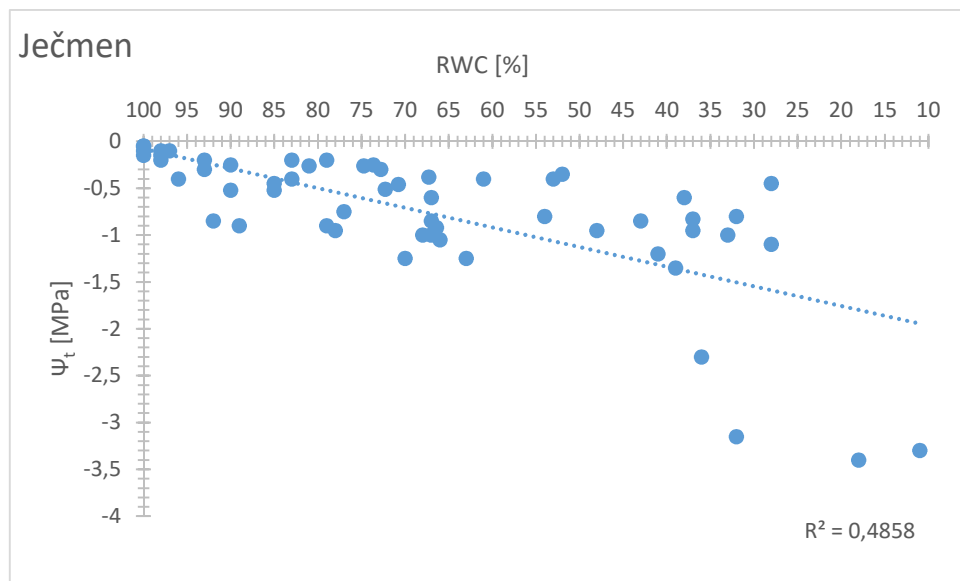


Obrázek 38 - Závislost psychrometricky změřeného vodního potenciálu na RWC u listů tabáku.

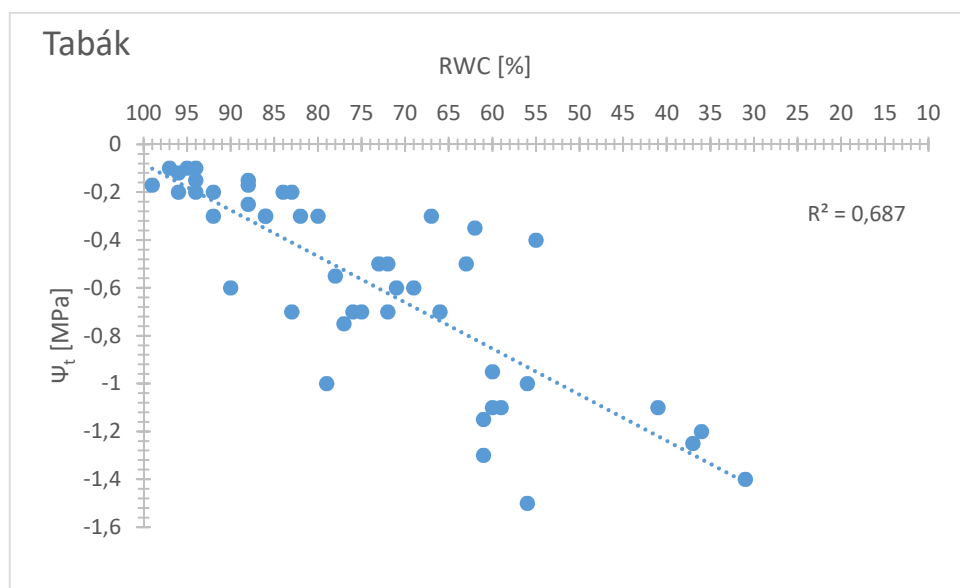
Ze závislostí psychrometricky změřeného vodního potenciálu na RWC lze vyčíst, že jak u listů ječmene, tak u listů tabáku se jedná o závislost lineární (Obr. 37 a 38), ovšem u listů ječmene se linearita ztrácí s RWC menším než 15 %. Ani v jednom případě hodnoty nejsou příliš rozptýlené, což také dokazuje hodnota spolehlivosti R^2 , která se blíží k jedničce. U ječmene (Obr. 37) vidíme při nízkém RWC větší rozptýl hodnot než u

tabáku (Obr. 38), což ale může odrážet fakt, že u listů ječmene byly změřeny podstatně víc zaschnuté listy než u listů tabáku. Z grafů vyplývá, že je obecně o něco problematictější změřit hodnotu vodního potenciálu u hodně zaschlých listů než u méně zaschlých listů, což potvrzuje také větší rozptyl hodnot vodního potenciálu při nižších hodnotách RWC. Tento jev může být způsobený nižší spolehlivostí a tedy i vhodností metody pro vzorky s nízkými hodnotami RWC. Ovšem můžeme říct, že korelace mezi RWC a ψ_p je v případě listů ječmene i tabáku velmi silná.

5.3.1.2. Stanovení vodního potenciálu tlakovou metodou



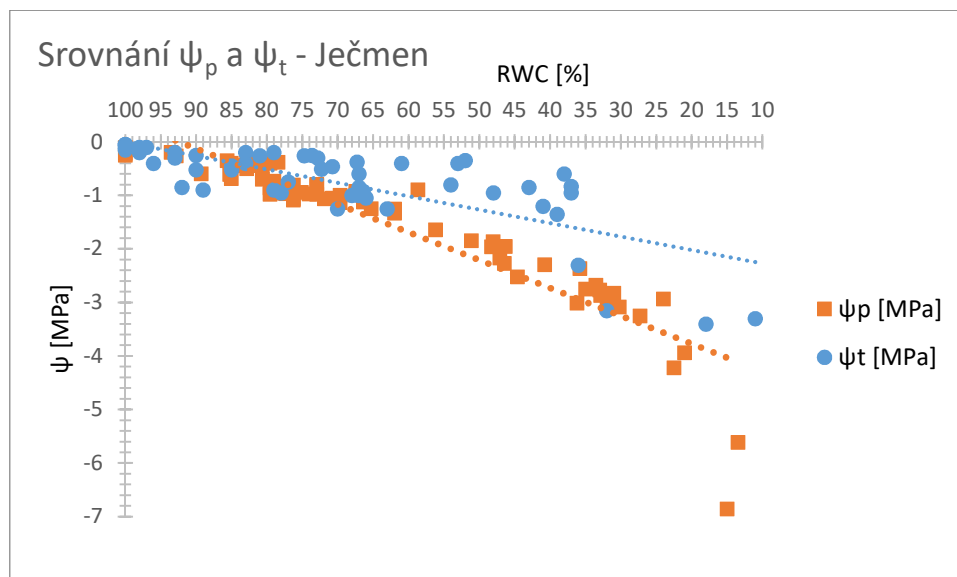
Obrázek 39 - Závislost vodního potenciálu změřeného pomocí tlakové metody na RWC u listů ječmene.



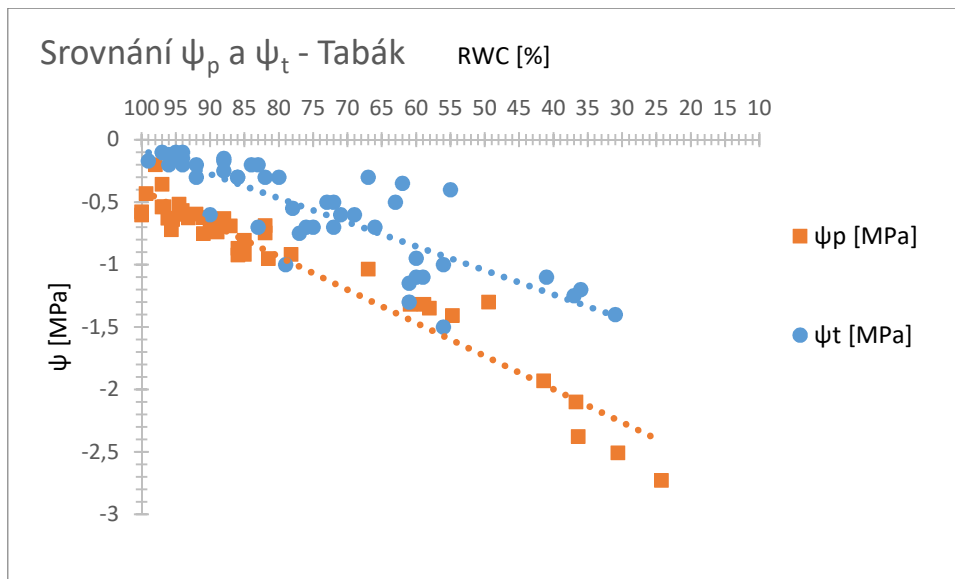
Obrázek 40 - Závislost vodního potenciálu změřeného pomocí tlakové metody na RWC u listů tabáku.

Na Obr. 39 a Obr. 40 najdeme závislost vodního potenciálu změřeného pomocí tlakové metody na hodnotě RWC. V obou grafech se opět jedná o závislost lineární. Ovšem hodnoty vodního potenciálu podstatně více kolísají, což se také projevilo na nižší hodnotě spolehlivosti R^2 . Korelace zde již není tak silná, jako při měření vodního potenciálu pomocí psychrometrické metody. U listů ječmene (Obr. 39) je měřená závislost prokazatelná do RWC kolem 40 %, poté je již příliš velký rozptyl hodnot. Zatímco u listů tabáku se velmi velký rozptyl hodnot projevuje již od RWC kolem 80 % (Obr. 40). Obecně při měření touto metodou bylo problematické změřit čerstvé listy a listy hodně zaschlé. U čerstvých listů docházelo k vytlačení vody z listu už při pouhé fixaci listu v tlakové komoře, tedy bez zvýšení tlaku plynu. Naopak u listů s nízkým RWC byl problém s dostatečně pevným uchycením listu v komoře, aby nedošlo vlivem tlaku k jeho „vystřelení“ z komory ven, ale zároveň list nesměl být v komoře upevněn příliš silně, aby nedošlo k přerušení cévních svazků v listu. U listů tabáku se taktéž vyskytl problém s délkou řapíku, který byl většinou příliš krátký, aby šel vložit do držáku komory. Z tohoto důvodu byly listy tabáku, před upevněním v tlakové komoře, oříznuty kolem řapíku, což taktéž může být jeden z důvodů velkého rozptylu hodnot. U segmentů listů ječmene tento problém nenastal.

5.3.1.3. Srovnání vodního potenciálu měřeného psychrometricky a měřeného tlakovou metodou



Obrázek 41 - Srovnání vodního potenciálu změřeného pomocí psychrometrické metody (Ψ_p) a pomocí tlakové metody (Ψ_t) a jeho závislost na RWC u listů ječmene.



Obrázek 42 - Srovnání vodního potenciálu změřeného pomocí psychrometrické metody (Ψ_p) a pomocí tlakové metody (Ψ_t) a jeho závislost na RWC u listů tabáku.

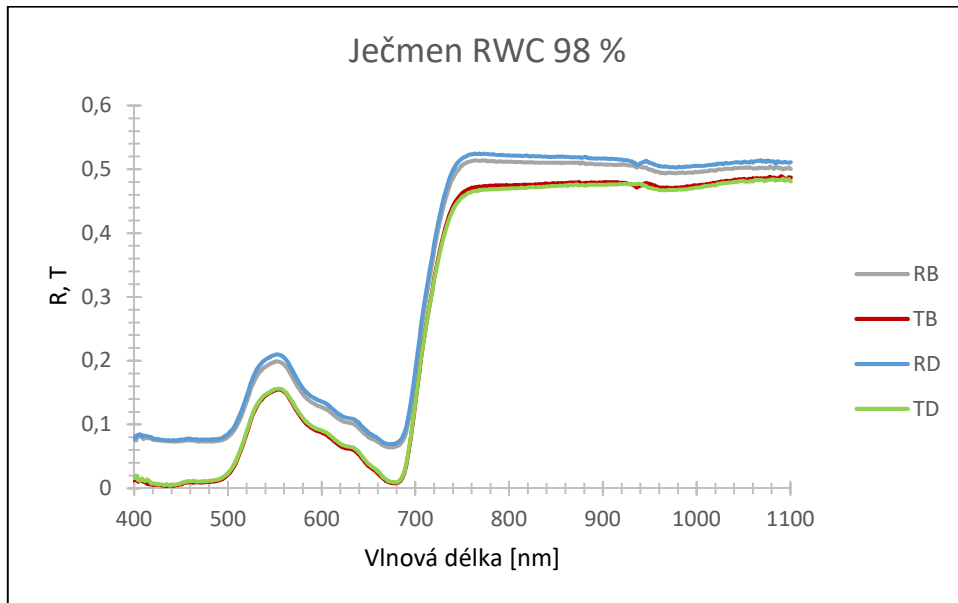
Při srovnání změn vodního potenciálu změřeného psychrometrickou metodou a tlakovou metodou vidíme určité rozdíly. Pro segmenty listů ječmene se do RWC cca 60 % hodnoty vodního potenciálu z psychrometrické a tlakové metody prolínají (Obr. 41). Zatímco vodní potenciál změřený psychrometricky má pro listy tabáku s daným RWC v převážné většině případů nižší hodnoty než vodní potenciál změřený tlakovou metodou (Obr. 42). Poté je již situace u listů ječmene podobná jako u listů tabáku, tedy, vodní potenciál změřený psychrometricky je nižší než vodní potenciál změřený tlakovou metodou. Nicméně obě metody ukazují stejný jev, a to klesání vodního potenciálu listu s klesajícím RWC. Jelikož jsou obě metody destruktivní, nebyl měřen vodní potenciál psychrometrickou a tlakovou metodou na stejném listu, což může být jedna z příčin rozdílných hodnot. Ovšem hlavní příčinou rozdílných hodnot obou měření by mohlo být to, že tlaková komora primárně vytlačí vodu ze středového žebra a buněk v blízkém okolí, zatímco u psychrometrické metody je měřen vodní potenciál celého segmentu vloženého do komory. U listů tabáku byl terčík listu pro psychrometrickou metodu vyříznut mimo hlavní žebra listu.

5.3.2. Optické metody

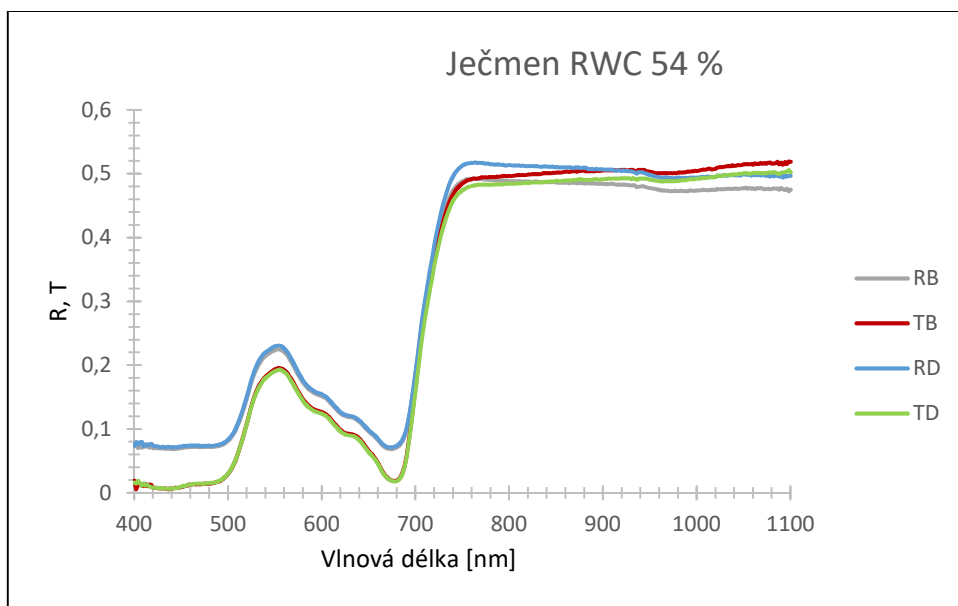
5.3.2.1. LI-COR

Pomocí spektrometru LI-1800 a integrační koule LI-COR 1800-12 byla změřena spektra difúzní transmittance/reflektance z adaxiální i abaxiální strany listu. Pro ilustraci změn ve spektrech transmittance (T) a reflektance (R) v zasychajících listech jsou prezentována spektra listů s různým RWC – s vysokým RWC (čerstvé listy), s RWC

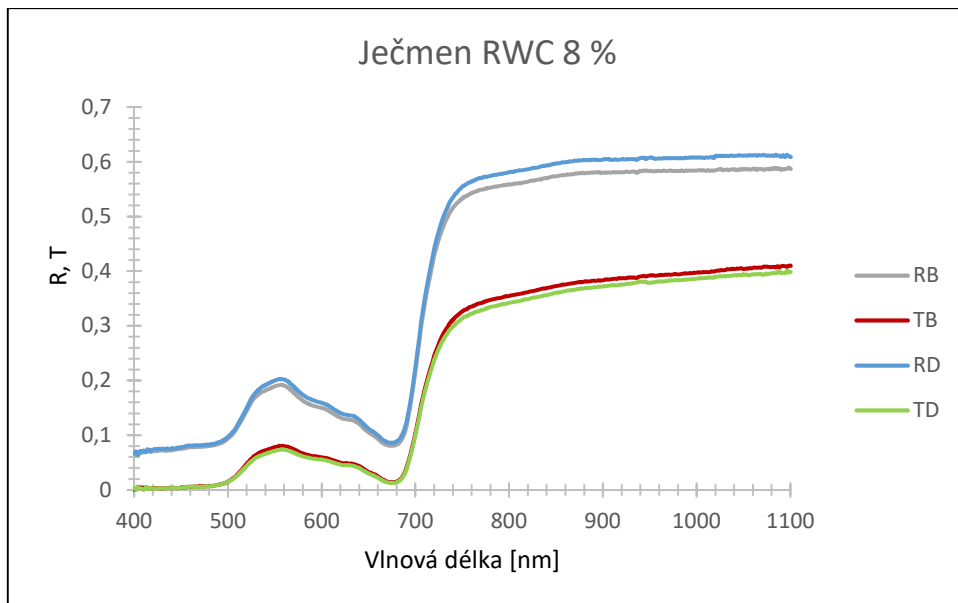
kolem 50 % (středně zaschlé listy) a s velmi nízkým RWC (téměř vyschlé listy) – Obr. 43 – Obr. 48.



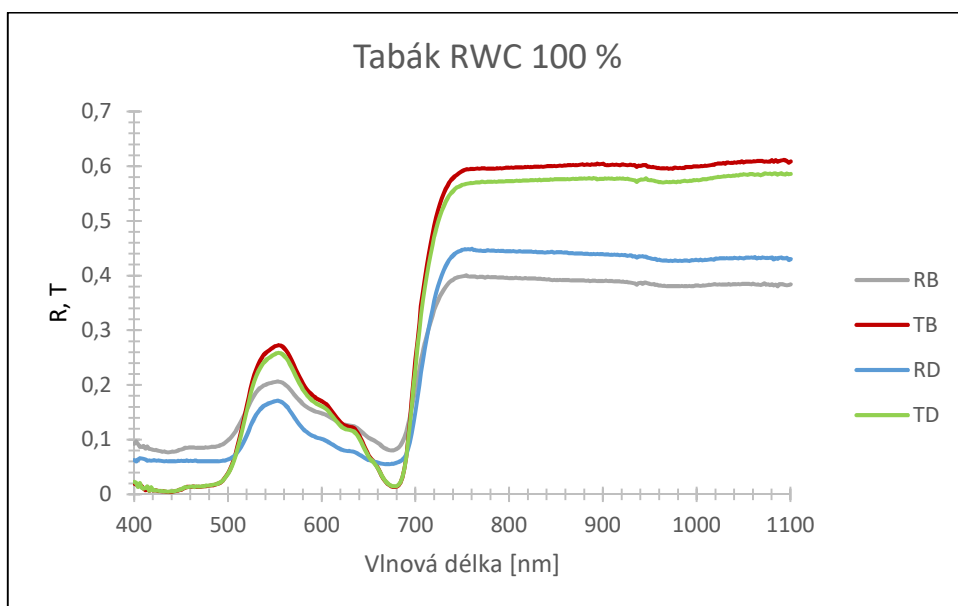
Obrázek 43 - Spektra reflektance a transmittance z adaxiální a abaxiální strany listu ječmene s RWC = 98 %. Měřeno pomocí přístroje LI-COR. Záznam spekter byl po 2 nm. RB - reflektance z abaxiální strany listu. TB - transmittance z abaxiální strany listu. RD - reflektance z adaxiální strany listu. TD - transmittance z adaxiální strany listu.



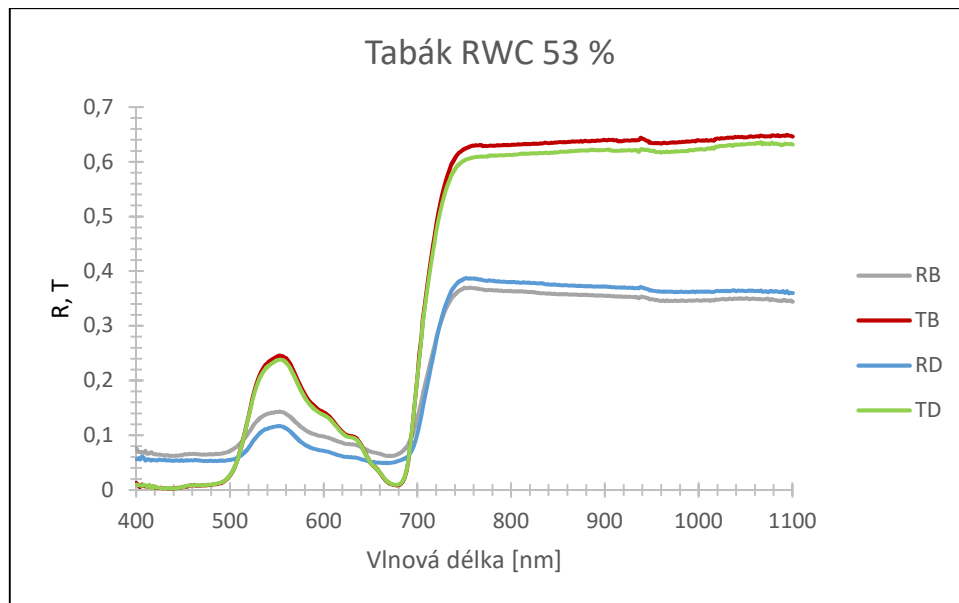
Obrázek 44 - Spektra reflektance a transmittance z adaxiální a abaxiální strany listu ječmene s RWC = 54 %. Měřeno pomocí přístroje LI-COR. Záznam spekter byl po 2 nm. RB - reflektance z abaxiální strany listu. TB - transmittance z abaxiální strany listu. RD - reflektance z adaxiální strany listu. TD - transmittance z adaxiální strany listu.



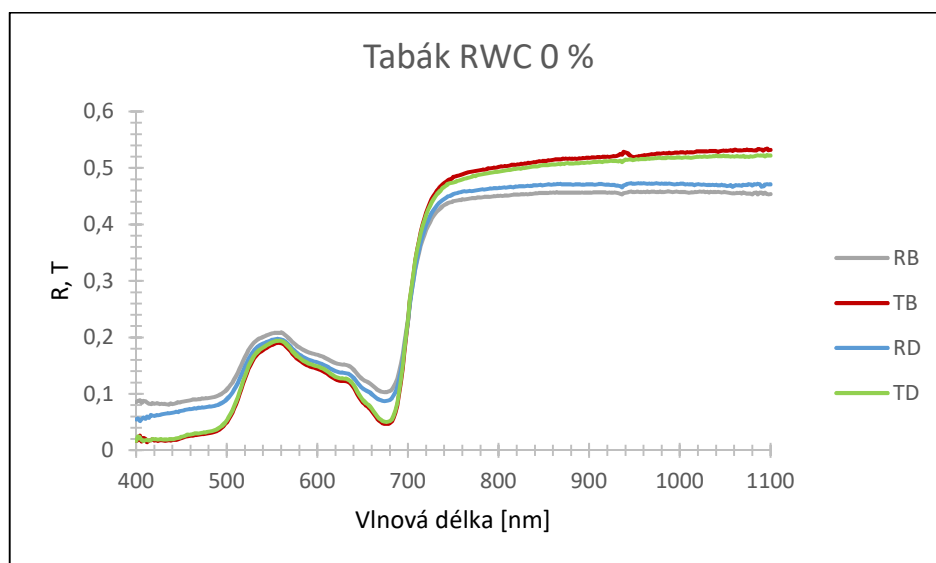
Obrázek 45 - Spektra reflektance a transmittance z adaxiální a abaxiální strany listu ječmene s RWC = 8 %. Měřeno pomocí přístroje LI-COR. Záznam spekter byl po 2 nm. RB - reflektance z abaxiální strany listu. TB - transmittance z abaxiální strany listu. RD - reflektance z adaxiální strany listu. TD - transmittance z adaxiální strany listu.



Obrázek 46 - Spektra reflektance a transmittance z adaxiální a abaxiální strany listu tabáku s RWC = 100 %. Měřeno pomocí přístroje LI-COR. Záznam spekter byl po 2 nm. RB - reflektance z abaxiální strany listu. TB - transmittance z abaxiální strany listu. RD - reflektance z adaxiální strany listu. TD - transmittance z adaxiální strany listu.



Obrázek 47 - Spektra reflektance a transmittance z adaxiální a abaxiální strany listu tabáku s RWC = 53 %. Měřeno pomocí přístroje LI-COR. Záznam spekter byl po 2 nm. RB - reflektance z abaxiální strany listu. TB - transmittance z abaxiální strany listu. RD - reflektance z adaxiální strany listu. TD - transmittance z adaxiální strany listu.



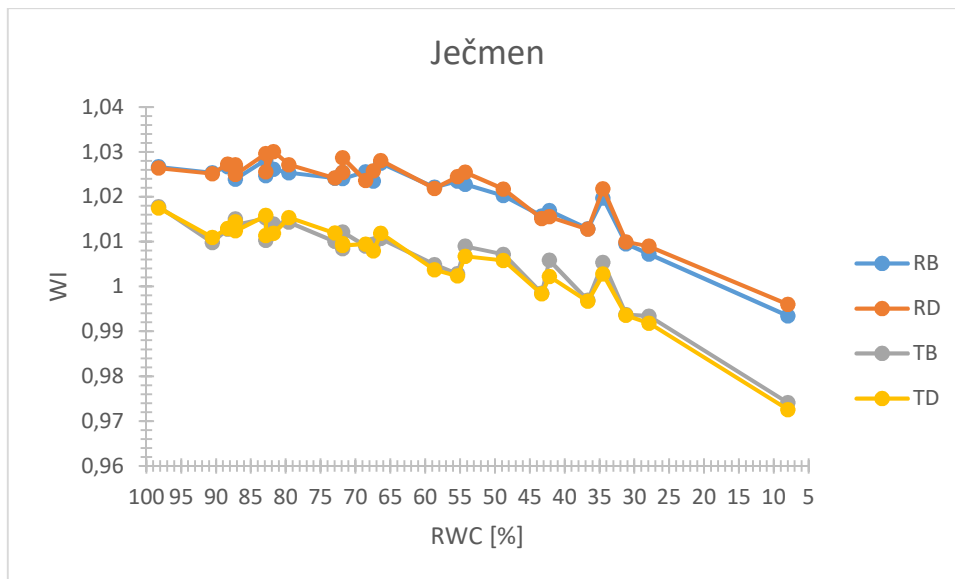
Obrázek 48 - Spektra reflektance a transmittance z adaxiální a abaxiální strany listu tabáku s RWC = 0 %. Měřeno pomocí přístroje LI-COR. Záznam spekter byl po 2 nm. RB - reflektance z abaxiální strany listu. TB - transmittance z abaxiální strany listu. RD - reflektance z adaxiální strany listu. TD - transmittance z adaxiální strany listu.

Na Obr. 43 pro list ječmene s RWC 98 % vidíme standardní spektrum reflektance z adaxiální i abaxiální strany listu. Tedy nízkou hodnotu reflektance v modré a červené oblasti viditelného záření a vyšší v zelené oblasti VIS. Výrazný nárůst nastává kolem 700 nm. Kolem 970 nm je patrný pokles reflektance, který je zapříčiněn vodou obsaženou v listu. Spektra reflektance z adaxiální a abaxiální strany listu jsou téměř totožná. Spektra transmittance z adaxiální a abaxiální strany listu jsou podobná spektrům reflektance, ale

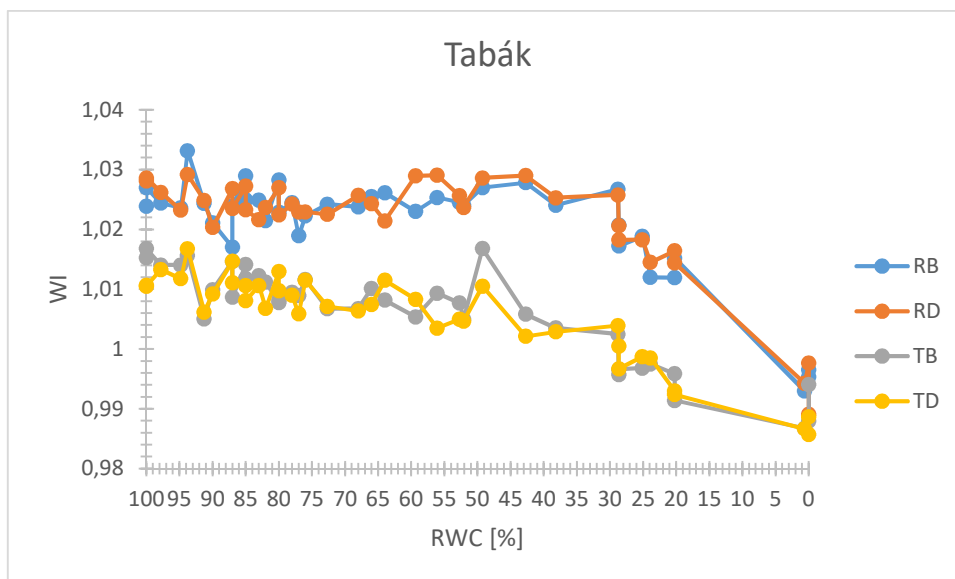
obecně jsou hodnoty transmitance nižší než hodnoty reflektance. Spektra transmitance z adaxiální a abaxiální strany jsou téměř totožná. U spekter transmitance/reflektance z adaxiální/abaxiální strany listu ječmene s RWC 54 % (Obr. 44) vidíme podobný průběh jako u spekter pro list s RWC 98 % (Obr. 43). Jedinou výraznou změnu nalezneme od vlnové délky 700 nm a to, že od této hodnoty se všechna 4 spektra prolínají. Pro hodně zaschlý list ječmene (Obr. 45) se naopak od vlnové délky 700 nm zvětšuje rozdíl ve spektru reflektance adaxiální/abaxiální strany listu a spektru transmitance adaxiální/abaxiální strany listu, kdy opět hodnoty transmitance dosahují nižších hodnot než hodnoty reflektance. Taktéž zde již téměř není patrný pokles spektra transmitance/reflektance při vlnové délce 970 nm.

U spekter reflektance z adaxiální/abaxiální strany plně nasyceného listu tabáku (Obr. 46) vidíme opět typický průběh spektra, stejně jako u listů ječmene. Ale hodnoty reflektance pro adaxiální a abaxiální stranu listu jsou více rozdílné, než tomu bylo pro listy ječmene, což zřejmě odpovídá odlišné stavbě listu. Výrazný rozdíl oproti listům ječmene nastává v zelené oblasti spektra VIS a od vlnové délky 700 nm, kdy hodnoty transmitance převyšují hodnoty reflektance. Spektra transmitance z adaxiální a abaxiální strany listu jsou opět téměř totožná. Při vlnové délce 970 nm opět vidíme pokles reflektance/transmitance, který odráží obsah vody v listu. U listu s RWC 53 % (Obr. 47) vidíme velmi podobný průběh spekter transmitance/reflektance jako v přechodím případě. Ale od vlnové délky 700 nm jsou hodnoty reflektance a transmitance rozdílnější. Stejně tak tomu bylo i u středně zaschlých listů ječmene. Hodnoty reflektance z adaxiální a abaxiální strany listu se zde již liší velmi málo (Obr. 47). Co se týče hodně zaschlého listu tabáku (Obr. 48), spektra reflektance a transmitance do vlnové délky 700 nm jsou podobná. Od vlnové délky 700 nm jsou opět hodnoty transmitance vyšší hodnoty než hodnoty reflektance, na rozdíl od zelené oblasti spektra, kde hodnoty reflektance převyšují hodnoty transmitance, což je rozdílné v porovnání s listy tabáku s vyšším RWC.

Pro názornější prezentaci změn ve spektrech reflektance a transmitance odrážejících RWC byly ze všech naměřených spekter (ať už transmitance nebo reflektance z adaxiální nebo abaxiální strany listu) u obou zástupců rostlinných druhů vypočítány hodnoty WI a indexu NDVI. Výsledné závislosti jsou zobrazeny na obrázcích 49 – 52.



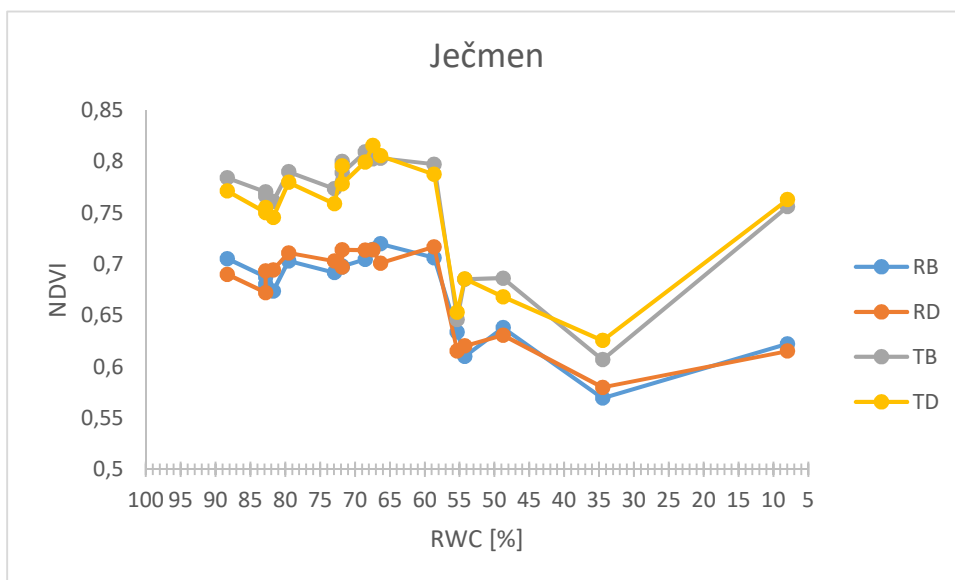
Obrázek 49 - Závislost vodního indexu (WI) na RWC u listů ječmene. RB udává hodnoty WI vypočítané z reflektance z abaxiální strany listu. Měřeno pomocí přístroje LI-COR. RD udává hodnoty WI vypočítané z reflektance z adaxiální strany listu. TB udává hodnoty WI vypočítané z transmittance z abaxiální strany listu. TD udává hodnoty WI vypočítané z transmittance z adaxiální strany listu.



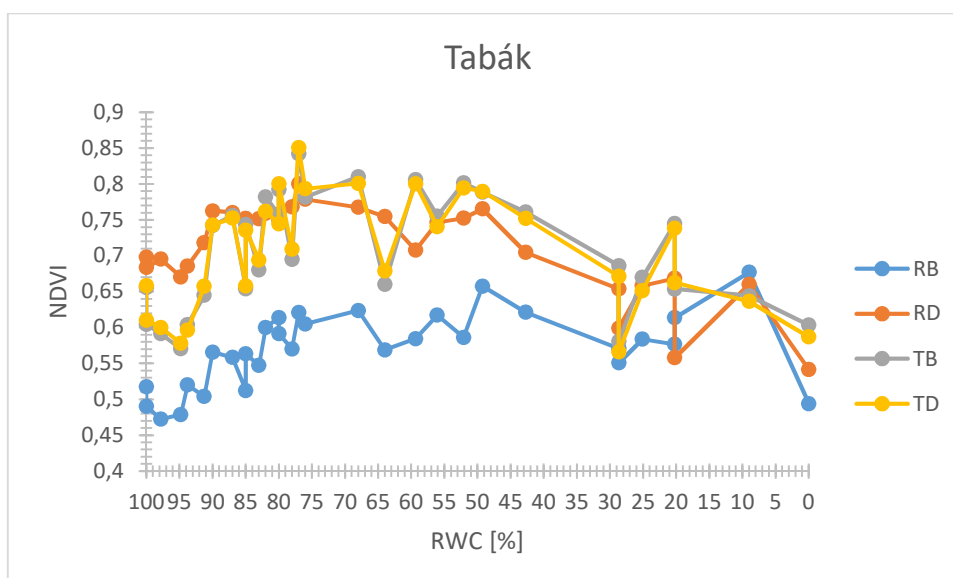
Obrázek 50 - Závislost vodního indexu (WI) na RWC u listů tabáku. RB udává hodnoty WI vypočítané z reflektance z abaxiální strany listu. Měřeno pomocí přístroje LI-COR. RD udává hodnoty WI vypočítané z reflektance z adaxiální strany listu. TB udává hodnoty WI vypočítané z transmittance z abaxiální strany listu. TD udává hodnoty WI vypočítané z transmittance z adaxiální strany listu.

Z naměřených spekter byl pro všechny parametry vypočítán vodní index WI a vynesena jeho závislost na RWC (Obr. 49 a 50). Z grafů vidíme, že vodní index má tendenci klesat (ať už byl vypočítán z propustnosti nebo odrazivosti měřené z abaxiální nebo adaxiální strany listu). Pokles je však velmi malý, představuje asi 2 - 3 % u listů obou rostlinných druhů s nejmenším RWC (Obr. 49 a 50). U ječmene i tabáku zůstávají

hodnoty WI dlouhou dobu téměř konstantní a až od určitého RWC započne mírný pokles hodnoty WI. U ječmene tento pokles začíná kolem RWC 65 %, zatímco u tabáku až u RWC kolem 35 %. Je patrné, že vodní index měřený pomocí transmitance dosahuje nižších hodnot než WI měřený pomocí reflektance (Obr. 49 a 50). Nebyl zjištěn žádný významný rozdíl mezi WI měřeným z adaxiální a abaxiální strany listu, ať už pomocí transmitance nebo reflektance, jelikož hodnoty se vzájemně prolínají (Obr. 49 a 50).



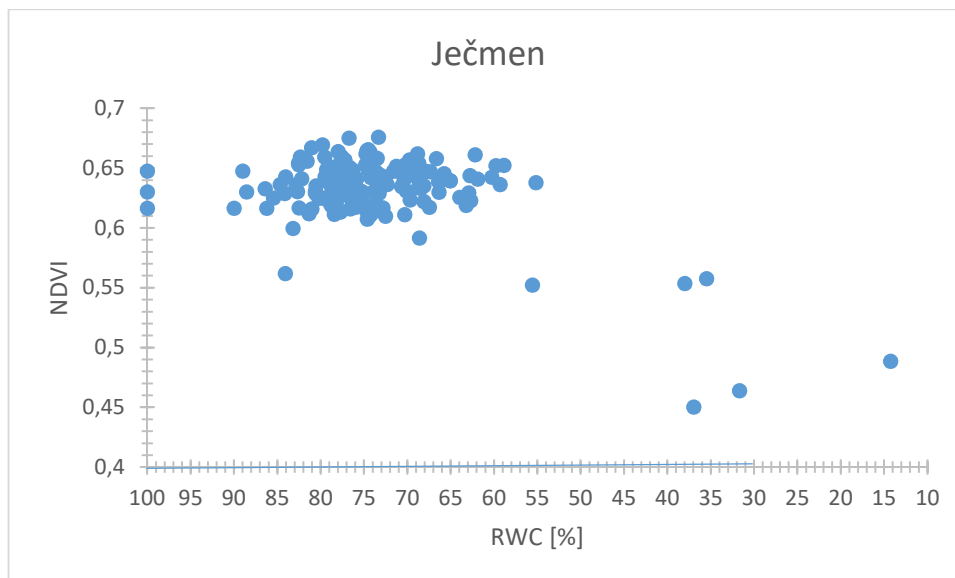
Obrázek 51 - Závislost normalizovaného vegetačního diferenčního indexu (NDVI) na RWC u listů ječmene. Měřeno pomocí přístroje LI-COR. RB udává hodnoty reflektance z abaxiální strany listu. RD udává hodnoty reflektance z adaxiální strany listu. TB udává hodnoty transmitance z abaxiální strany listu. TD udává hodnoty transmitance z adaxiální strany listu.



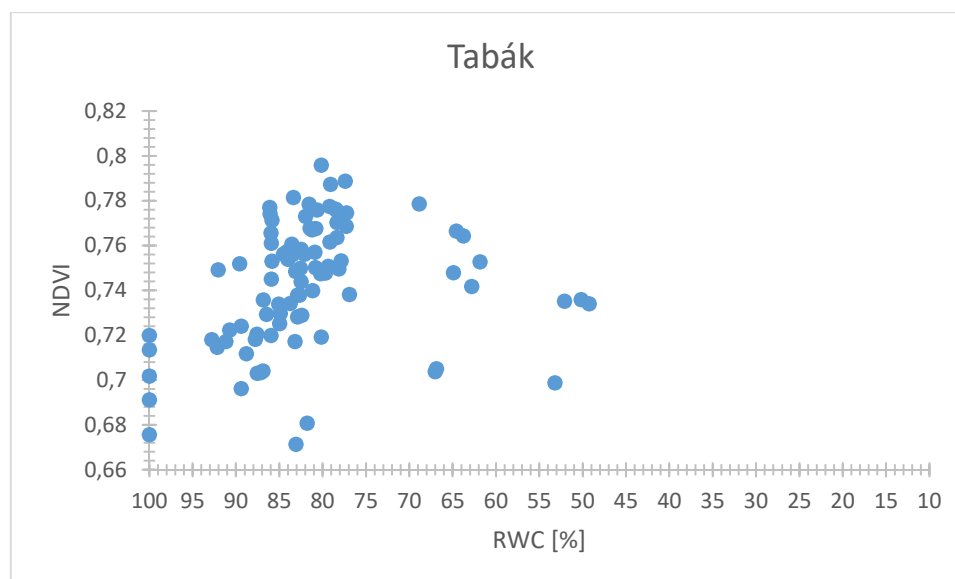
Obrázek 52 - Závislost normalizovaného vegetačního diferenčního indexu (NDVI) na RWC u listů tabáku. Měřeno pomocí přístroje LI-COR. RB udává hodnoty reflektance z abaxiální strany listu. RD udává hodnoty reflektance z adaxiální strany listu. TB udává hodnoty transmitance z abaxiální strany listu. TD udává hodnoty transmitance z adaxiální strany listu.

Index NDVI se primárně využívá pro zjištění obsahu chlorofylu v listech rostlin, my jsme zkoumali jeho závislost na RWC. NDVI bylo vypočítáno ze spekter transmitance a spekter reflektance měřených z adaxiální i abaxiální strany listu pomocí přístroje LI-COR. Na Obr. 51 a 52 vidíme, že NDVI zpočátku roste a od určitého RWC začne klesat. U ječmene (Obr. 51) je nárůst velmi malý (pro transmitanci je průměrný nárůst pro abaxiální a adaxiální stranu kolem 3 %, pro reflektanci je průměrný nárůst pro abaxiální a adaxiální stranu kolem 2 %), výrazný pokles pro všechny změřené hodnoty nastane zhruba při RWC 55 %, a to o zhruba 22 % pro obě transmitance a o cca 16 % pro obě reflektance. Se zmenšujícím se RWC hodnoty NDVI nadále klesají. Zatímco u tabáku (Obr. 52) je počáteční nárůst NDVI výraznější (přibližně o 39 % pro obě měřené transmitance, kolem 17 % pro reflektanci z adaxiální strany a cca o 27 % pro reflektanci z abaxiální strany), výraznější pokles NDVI pro všechny měřené hodnoty nastane při RWC nižším než 50 %, ale tento pokles je mnohem pozvolnější než u listů ječmene a i nadále se snižujícím se RWC NDVI klesá, ale méně strmě než u listů ječmene. V případě ječmene se hodnoty NDVI, změřeného at' už pomocí reflektance nebo pomocí transmitance, z adaxiální a abaxiální strany listu neliší, přičemž hodnoty NDVI změřené pomocí reflektance jsou nižší než hodnoty NDVI změřené pomocí transmitance (Obr. 51). U listů tabáku vidíme, že na hodnoty NDVI změřené pomocí transmitance nemá vliv strana listu, zatímco u hodnot NDVI změřeného pomocí reflektance je velmi výrazný rozdíl mezi adaxiální a abaxiální stranou listu. Hodnoty NDVI změřené z adaxiální strany listu dosahují vyšších hodnot než z abaxiální strany a prolínají se s hodnotami NDVI změřeného pomocí transmitance (Obr. 52).

5.3.2.2. Poly-PlantPen



Obrázek 53 - Závislost normalizovaného vegetačního diferenčního indexu (NDVI) na RWC u listů ječmene. Index byl vypočítaný ze spekter reflektance měřených pomocí přístroje Poly-PlantPen na adaxiální straně listu.



Obrázek 54 - Závislost normalizovaného vegetačního diferenčního indexu (NDVI) na RWC u listů tabáku. Index byl vypočítaný ze spekter reflektance měřených pomocí přístroje Poly-PlantPen na adaxiální straně listu.

K měření NDVI byl také použit přístroj Poly-PlantPen, který měří směrovou reflektanci (na rozdíl od LI-CORu, který měří difúzní reflektanci). Index NDVI byl pomocí přístroje Poly-PlantPen měřen pouze z adaxiální strany listů (Obr. 53 a 54). Index NDVI se u zasychajících listů ječmene zpočátku držel na konstantní hodnotě a až od určité hodnoty RWC (cca 55 %) začal klesat (Obr. 53). Zatímco u listů tabáku index

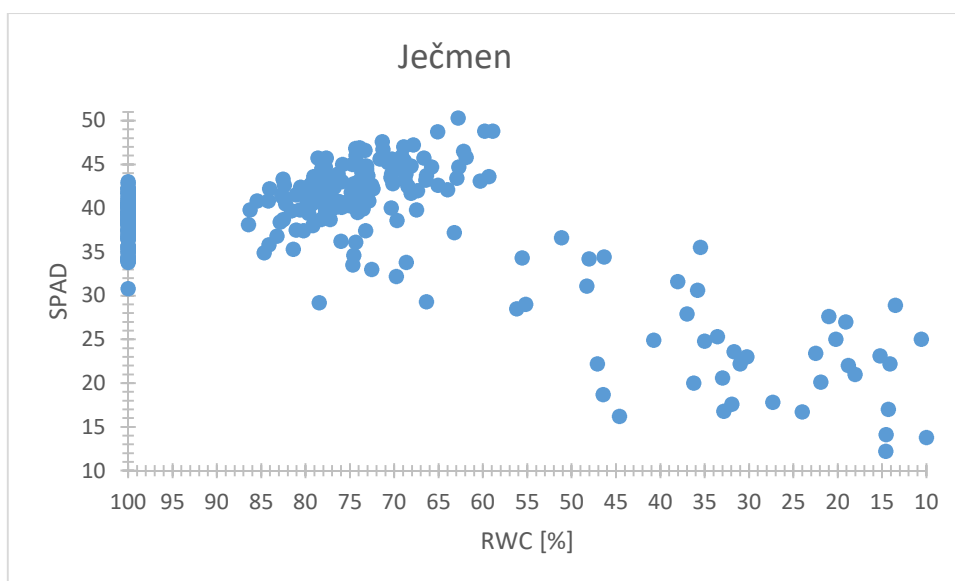
NDVI při počátečních úbytcích RWC rostl, konkrétně v rozmezí RWC 100 % - 75 % hodnota NDVI vzrostla až přibližně o 18 % a až poté došlo k jeho poklesu (Obr. 54).

5.3.2.3. Srovnání NDVI měřeného pomocí přístroje LI-COR a Poly-PlantPen

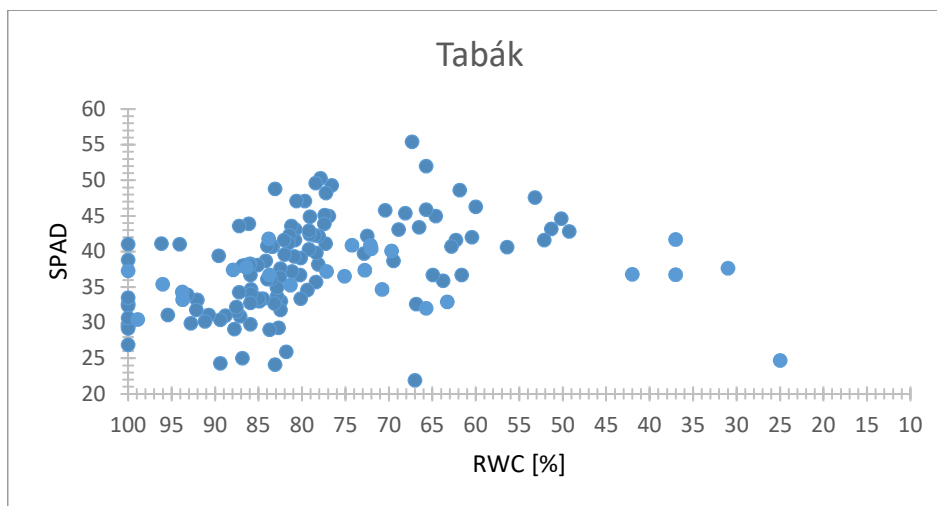
Pokud srovnáme NDVI měřený pomocí LI-CORu a Poly-PlantPenu na adaxiální straně listů ječmene, tak vidíme rozdíl pro hodnoty NDVI vypočítané ze spektra difúzní reflektance změřeného pomocí přístroje LI-COR v porovnání s hodnotami NDVI vypočítanými ze spektra směrové reflektance změřené pomocí Poly-PlantPenu. Hodnoty NDVI vypočítané ze spektra změřeného LI-COREm u listů ječmene v rozmezí RWC 100 – 55 % narůstaly o zhruba 2 % (Obr. 51), zatímco u NDVI vypočítané ze spektra změřeného Poly-PlantPenem tento nárůst nevidíme, hodnoty zde byly konstantní (Obr. 53). Shodně pro oba přístroje začíná hodnota NDVI klesat s RWC 55 % a méně. Rozdíl v hodnotách NDVI změřených LI-COREm a Poly-PlantPenem jsme pozorovali i u listů tabáku (Obr. 52 a Obr. 54). V obou případech hodnoty NDVI sice stoupaly (pro RWC do 50 % pro LI-COR a do RWC 70 % pro Poly-PlantPen), zatímco hodnota NDVI vypočítaná ze spektra změřeného LI-COREm (Obr. 52) narůstá o cca 17 % , a to v rozmezí RWC 100 – 50 %. Hodnota NDVI získaná pomocí Poly-PlantPenu (Obr. 54) vzroste o cca 18 %, ale jen v rozmezí 100 – 70 %. Poté nastane u obou přístrojů pokles hodnoty NDVI (tedy hodnota NDVI získaná pomocí LI-CORu klesá od RWC 50 % a hodnota NDVI získaná pomocí Poly-PlantPenu klesá od RWC 70 %).

Při měření NDVI pomocí Poly-PlantPenu docházelo k velmi výraznému kolísání hodnot pro jednotlivé stejné hodnoty RWC.

5.3.2.4. SPAD



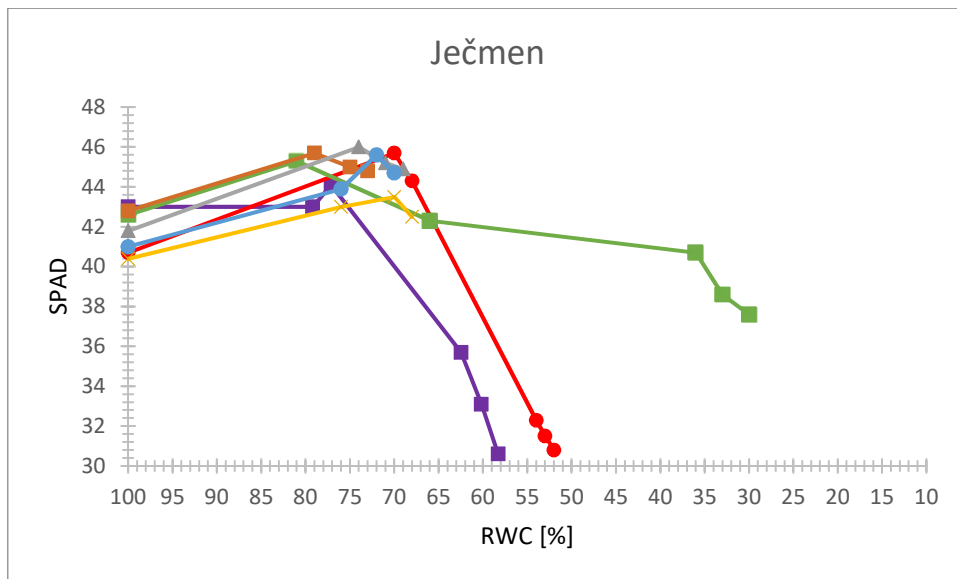
Obrázek 55 - Závislost hodnoty SPAD na RWC u listů ječmene.



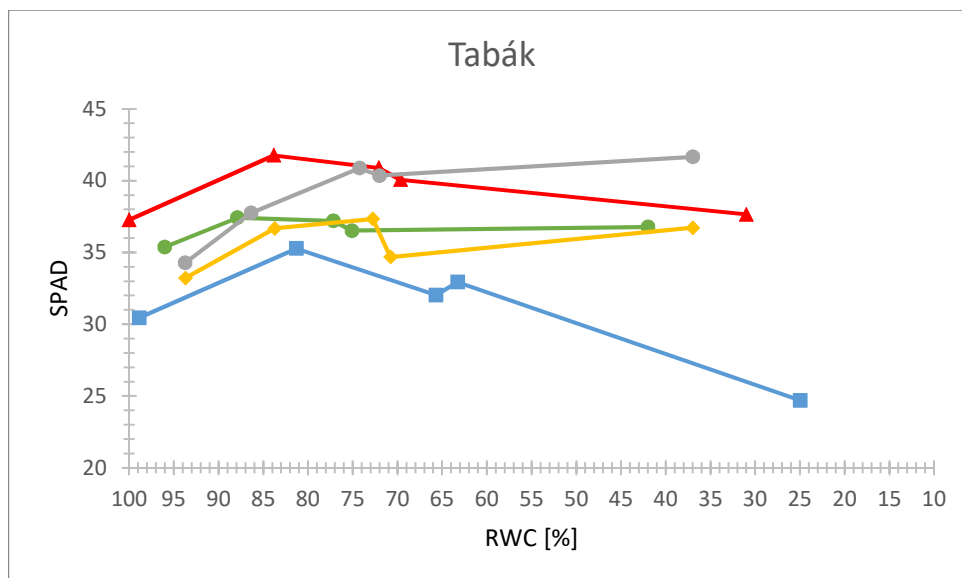
Obrázek 56 - Závislost hodnoty SPAD na RWC u listů tabáku.

Hodnota SPAD nám primárně udává množství chlorofylu v listech, my jsme zjišťovali závislost mezi touto hodnotou a RWC. Z naměřených dat jsme pozorovali stejný jev jako při měření indexu NDVI, tedy že hodnota SPAD v prvních fázích zasychání roste (do RWC 60 % u listů ječmene a do RWC 55 % u listů tabáku), protože se chlorofyl v menší ploše zasychajícího listu nahlučí blíže k sobě, ale od určité hodnoty RWC hodnoty SPAD klesaly, což bylo pravděpodobně způsobeno poklesem obsahu chlorofylu v listech. U ječmene (Obr. 55) vidíme, že hodnoty SPAD v rozmezí RWC 100 – 60 % rostly až o 32 % a při RWC pod 60 % začnou klesat, prvotní pokles je výraznější (o cca 33 % při poklesu RWC na 55 %), poté již hodnoty klesaly pomaleji. U listů tabáku (Obr. 56) takto jasný trend nevidíme, nicméně náznak poklesu kolem RWC 55 % se také objevuje. U listů tabáku bylo problematické dosáhnout nízké hodnoty RWC (na rozdíl od ječmene), jelikož listy velmi dlouho uchovávaly vodu, proto není mnoho hodnot SPAD pro nízké hodnoty RWC.

Prvotní nárůst a následný pokles hodnot SPAD a NDVI byl ověřen opakovaným měřením hodnot SPAD a NDVI (měřeného pomocí přístroje PolyPlantPen) na samostatných listech během jejich zasychání (Obr. 57 – 60). SPAD byl měřen na 7 listech ječmene a na 5 listech tabáku, jednotlivá měření hodnot probíhala v intervalu 1 - 1,5 h. Poté byla vynesena závislost hodnoty SPAD na RWC (Obr. 57 a 58).



Obrázek 57 - Závislost hodnoty SPAD na RWC u 7 listů ječmene (hodnoty daného listu uvedeny stejnou barvou a symbolem).

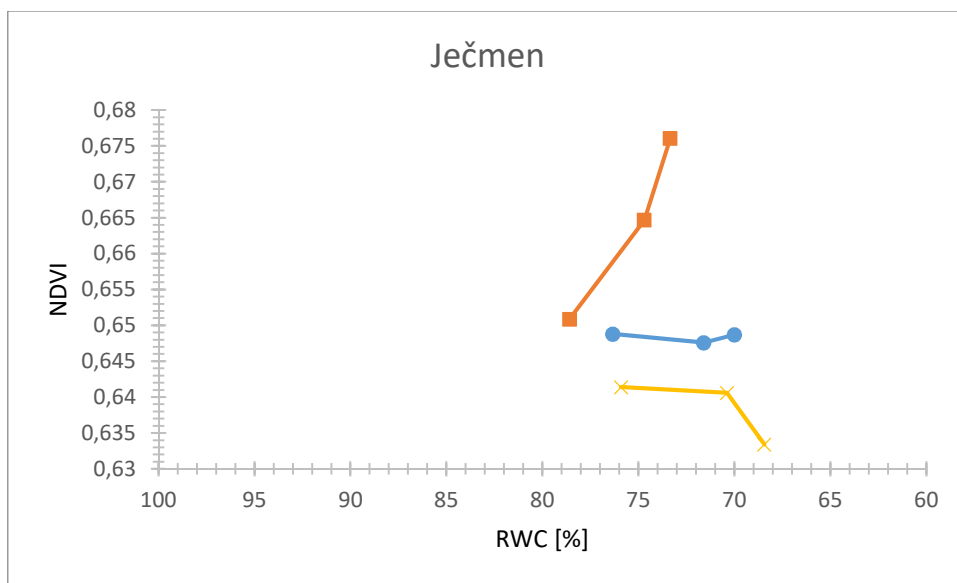


Obrázek 58 - Závislost hodnoty SPAD na RWC u 5 listů tabáku (hodnoty daného listu uvedeny stejnou barvou a symbolem).

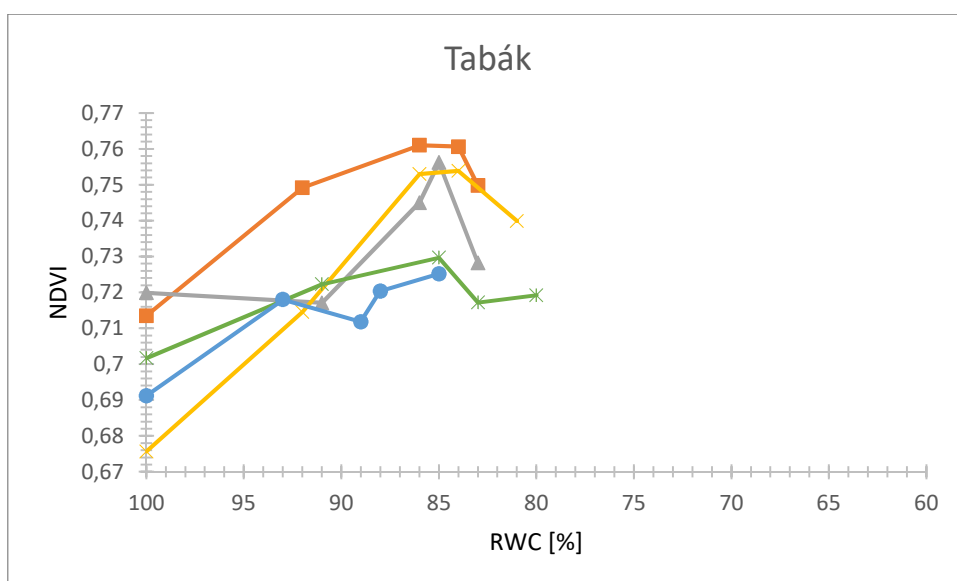
U všech segmentů listů ječmene jsme nejprve pozorovali nárůst hodnoty SPAD o přibližně 8 %. Hodnota SPAD rostla až do RWC kolem 70 %, poté začala klesat (Obr. 57). U dvou vzorků (červená a fialová barva křivky na obrázku 57) byl pokles velmi strmý a výrazný, což mohlo být způsobeno rozdílnou rychlostí zasychání listů. Maximální hodnoty SPAD bylo dosaženo po 1-1,5 hodiny zasychání segmentu listů ječmene. U listů tabáku jsme předpokládali podobný průběh. Experiment ukázal, že u listů tabáku i s velkými ztrátami vody (nízkým RWC) byla většinou stále mírně stoupající tendence hodnoty SPAD (Obr. 58). Nárůst hodnoty SPAD byl zhruba 14 %. U třech měřených listů

z 5 (Obr. 58 barva křivky šedá, zelená a žlutá) i při RWC kolem 35 % nedošlo k výraznějšímu poklesu hodnoty SPAD. U zbylých dvou listů (Obr. 58 barva křivky modrá a červená) k poklesu hodnoty SPAD došlo. Hodnota SPAD u těchto listů začala klesat při RWC kolem 80 %. Vzhledem k převažujícímu trendu stoupající hodnoty SPAD i při nižších hodnotách RWC, lze tento brzký pokles přisuzovat spíše sníženému fitness daných listů, případě jejich stáří, i když byla snaha vybírat k měření stejné listy.

Hodnoty NDVI byly taktéž měřeny i na jednotlivých listech, konkrétně na 3 listech ječmene a 5 listech tabáku, u kterých byl vždy po určitém časovém úseku (cca 1 hodina) změřen index NDVI a poté vynesena závislost NDVI na RWC (Obr. 59 a 60).



Obrázek 59 - Závislost normalizovaného vegetačního diferenčního indexu (NDVI) měřeného pomocí přístroje Poly-PlantPen na RWC u 3 listů ječmene.



Obrázek 60 - Závislost normalizovaného vegetačního diferenčního indexu (NDVI) měřeného pomocí přístroje Poly-PlantPen na RWC u 5 listů tabáku.

U třech změřených listů ječmene (Obr. 59) nebyl nalezen jednotný trend změn NDVI během poklesu RWC na přibližně 70 %. U prvního listu (hnědá křivka na obrázku 59) hodnota NDVI velmi prudce stoupala. U druhého vzorku (modrá křivka) se hodnota NDVI držela přibližně konstantní. A u třetího vzorku (žlutá křivka) hodnota NDVI klesala od RWC 70 %. Pro vyvození nějakého obecného trendu nebylo množství změřených hodnot dostatečné, bylo by potřeba změřit více listů a ve větším intervalu RWC.

U listů tabáku (Obr. 60) již vidíme podobný trend, jako jsme viděli při měření hodnoty SPAD. Hodnota NDVI zpočátku roste, vzrůst je o 7 % až do RWC kolem 85 % a poté dojde k jejímu poklesu. Zasychání vzorků na hodnotu RWC 85 % probíhalo 3 (u většiny vzorků) – 4 hodiny. Pokud tyto konkrétní hodnoty srovnáme s hodnotami, které jsme získali z grafů na Obr. 52 a 54, vidíme, že nárůst byl výrazně menší než ten, který byl získán ať už z měření pomocí LI-CORu (nárůst o 17 %) nebo pomocí Poly-PlantPenu (nárůst o 18 %). Taktéž pokles hodnoty NDVI zde nastal podstatně dříve (při vyšším RWC) než v obou předešlých měřeních. Tato rozdílnost hodnot může být opět způsobena heterogenitou listů a taktéž tím, že při měření LI-COREm nebo Poly-PlantPenem nebyl měřen jeden list opakovaně, ale pokaždé šlo o jiný list.

Z měření hodnoty SPAD a indexu NDVI jak pro listy ječmene, tak pro listy tabáku vidíme jasný trend vývoje hodnot. Při prvotním zasychání hodnoty SPAD i NDVI stoupají a od určitého RWC začnou klesat (Obr. 51 – 56). Tento trend jsme ověřili u několika samostatných listů, kdy u listů tabáku (Obr. 58 a 60) se tento trend potvrdil jak pro hodnoty SPAD, tak pro index NDVI. Ovšem u listů ječmene (Obr. 57 – 59) se tento trend potvrdil pouze pro hodnoty SPAD, pro index NDVI nikoliv, to však mohlo být způsobeno malým množstvím změřených listů na malém intervalu RWC.

6. Diskuze

Hlavním cílem této práce bylo změřit různými metodami různé parametry vodního stavu v zasychajících listech ječmene a tabáku, porovnat je a posoudit jejich vhodnost a využitelnost při stanovování změn v listech při zasychání.

Byly použity dvě metody stanovení vodního potenciálu listů (psychrometrická a tlaková) a metody založené na měření optických vlastností listů – transmitance a reflektance. Byla měřena jednak spektra difúzní reflektance a transmitance (pomocí spektrálního radiometru LI-COR, z adaxiální i abaxiální strany listu), jednak spektra směrové reflektance (pomocí přístroje Poly-PlantPen, z adaxiální strany listu). Z naměřených spekter byly vypočítány vybrané optické indexy (WI, NDVI), které by měly podle literatury odrážet obsah vody v listech (Peñuelas a Inoue, 1999; Elsayed a kol., 2011). Dále byl k měření použit chlorofylmetr SPAD, který se primárně používá k měření obsahu chlorofylu, nicméně vzhledem k tomu, že tento přístroj měří transmitanci, jsme se rozhodli otestovat, zda hodnota SPAD měřená tímto přístrojem nebude nějakým způsobem odrážet také změny způsobené poklesem obsahu vody v listu. Jako vztažnou veličinu charakterizující obsah vody v listech jsme použili RWC.

Jedna z použitých metod byla **metoda psychrometrická**. Tato metoda je vhodná pro jakýkoliv typ listu, používá se pouze malá část listu, takže není problém ani s listy, které mají malou nebo moc velkou plochu, jak tomu bylo u některých následujících metod. Při měření pomocí psychrometru je eliminována chyba experimentátora při odečítání výsledků i další zasychání listu během měření. Byla získána očekávaná lineární závislost vodního potenciálu na RWC jak u listů ječmene (Obr. 37), tak u listů tabáku (Obr. 38). Rozptyl hodnot byl při této metodě nejmenší ze všech použitých metod, z čehož vyplývá, že tato metoda je velmi přesná. Ukázalo se, že u listů s vyšším RWC je rozptyl hodnot velmi malý, ale se snižujícím se RWC roste variabilita hodnot (u ječmene kolem RWC 20 %, u tabáku kolem 50 %). Tato tendence zvyšující se variability hodnot může být způsobena tím, že při delší době zasychání listu roste heterogenita obsahu vody v listu. Tedy, že různé části listu se od sebe začínají čím dál tím více lišit v obsahu vody a výběr části listu použité pro měření hraje významnou roli. Což je jedno z negativ této metody. Výše zmíněné pozitivum, že na měření stačí pouze malá část listu, může být tedy bráno i jako negativum. Protože tato malá část listu nemusí přesně odrážet vodní stav celého listu, hlavně u listů, které mají nízké RWC. Jako další negativum této metody bych viděla to, že tato metoda je metodou destruktivní, tudíž list již nelze dále využít k dalšímu

měření. Ovšem hlavní negativum této metody je doba trvání měření. Měření psychrometrickou metodou zabralo nejvíce času, měření jednoho vzorku trvalo 2 hodiny.

Měření vodního potenciálu psychrometrickou metodou se k hodnocení vodního stavu rostlin používá poměrně často. Závislostí vodního potenciálu (měřeného pomocí psychrometru) na RWC se ve své práci zabývali např. Chandrababu a kol. (1999). Autoři v této práci zkoumali různé kultivary rýže z hlediska jejich osmotického přizpůsobení. Výsledná závislost vodního potenciál na RWC byla lineární a podobná té, která vyšla při našich měřeních.

Další metodou, která byla v naší práci použita, bylo měření vodního potenciálu pomocí **tlakové komory**. Ač je tato metoda v literatuře hojně využívána, její použití a hlavně přesné odečtení výsledné hodnoty je z technického hlediska značně komplikované. V našich experimentech se první komplikace vyskytly již při umístění listu do tlakové komory. U segmentů listů ječmene bylo upevnění listů pomocí nástavce na ploché listy relativně bez problémů, ovšem u listů tabáku se vyskytl problém, že nástavce s malým kulatým otvorem pro řapík jsou uzpůsobené pro listy s delším řapíkem. Taktéž jsme usoudili, že pro měření touto metodou by byly vhodnější zástupci s pevnějším řapíkem, než má tabák. U této metodiky je taktéž problém se silou, která je potřebná k uchycení listu v tlakové komoře (tento problém byl u obou měřených zástupců). Zjistili jsme, že je takřka nemožné změřit plně nasycené listy, jelikož voda z listu byla vytlačena již při pouhém upevnění listu do tlakové komory. Taktéž byl velký problém měřit u obou rostlin hodně zaschlé listy, s RWC pod 40 % u ječmene a pod 55 % u tabáku, protože list se nesměl v komoře upevnit moc silně, aby nedošlo k zaškrcení cévních svazků, ale zároveň nesměl být upevněn ani moc málo, jelikož zde již byla potřeba vysoký tlak, aby došlo k vymáčknutí vody z listu a pokud byl list upevněn málo, tak z tlakové komory vyletěl.

Z námi změřených výsledků vyplývá (Obr. 39 a 40), že tato metoda je nejvhodnější pro ploché listy s RWC mezi 95 % - 40 % (Obr. 39). V rozmezí těchto RWC probíhalo měření relativně bezproblémově a variabilita hodnot pro stejné RWC není příliš velká. S klesajícím RWC velmi výrazně roste variabilita hodnot. Pro listy s měkkým a krátkým řapíkem tato metoda příliš vhodná nebyla, kvůli problémům s jejich uchycením do tlakové komory. Variabilita hodnot vodního potenciálu pro stejné RWC u těchto listů byla malá pro RWC v rozmezí 95 – 80 % (Obr. 40). Poté již variabilita hodnot opět výrazně rostla. U listů tabáku je tato rozdílnost hodnot větší než u listů ječmene, což může být dáno větší heterogenitou listů tabáku. Velkou variabilitu hodnot při měření listů obou

rostlin si vysvětlují problémem s odečítáním hodnot tlaku ze stupnice přístroje. Vhodný okamžik pro odečet je totiž určen velmi subjektivně podle množství vymáčkuté vody z listu, takže zde podle mého názoru existuje velký prostor na chyby. Další nevýhodu této metody spatřuji v tom, že jde opět o metodu destruktivní. Výhodu této metody spatřuji ve velmi rychlém měření, cca 2 minuty, a možnosti záznamu celého průběhu měření.

Závislostí vodního potenciálu, změřeného pomocí tlakové komory, na RWC se zabývala například práce Díaze-Pérez a kol. (1995), ve které byly měřeny prýty jabloní. Výsledky studie neukazují lineární závislost jako v našem případě, ale velmi se jí blíží. Z výsledků citovaných autorů taktéž vidíme podobně velký rozptyl hodnot vodního potenciálu, jak tomu bylo i v našem případě, což potvrzuje zmíněnou problematickou přesnost této metody. Další práce zabývající se touto závislostí je například práce Karatassiou a kol. (2009), která studovala rostliny z rodu vičenec, konkrétně *Onobrychis aequidentata* Sm., a tolici nejmenší (*Medicago minima* L.). Studie probíhala na oddělených listech rostlin. I přestože výsledná data u *Onobrychis aequidentata* autoři proložili exponenciální křivkou, tak počáteční hodnoty vodního potenciálu odpovídají námi změřeným hodnotám. Poté byl pokles vodního potenciálu změřený autory studie podstatně rychlejší než v našem případě, což může být způsobeno jinou strategií rostlin při úbytku vody. Další prací je např. práce autorů Halder a Burrage (2003), která měřila vodní potenciál listů rýže (*Oryza sativa* L.) a jeho závislost na RWC. Z měření, které prováděli autoři této studie, taktéž vzešla lineární závislost mezi vodním potenciálem listu a RWC, jak tomu bylo v předchozích studiích a jak vyšlo i při našem měření.

Při porovnání výsledků obou metod jsme zjistili, že u listů ječmene i tabáku byly hodnoty vodního potenciálu změřeného pomocí psychrometru nižší než hodnoty vodního potenciálu změřeného pomocí tlakové komory (Obr. 41 a 42). Výjimku představovaly listy ječmene do RWC zhruba 70 %, kdy jsou hodnoty vodního potenciálu naměřené oběma metodami srovnatelné. Srovnáním těchto dvou metod se ve své práci zabýval Turner a kol. (1984). Autoři našli rozdílnou závislost mezi hodnotou vodního potenciálu změřenou pomocí psychrometru a pomocí tlakové komory pro různé druhy rostlin. Zjistili, že hodnoty vodního potenciálu změřeného pomocí obou metod se rovnaly u *Vigna unguiculata*. Tato rostlina má velmi drobné lístky, takže by se tato závislost dala porovnat s námi měřenými listy ječmene, pro který se hodnoty vodního potenciálu změřeného pomocí obou metod do RWC 70 % prolínají. Autoři dále v této práci zjistili, že u druhu *Helianthus* byl vodní potenciál změřený pomocí psychrometru nižší než ten, který je změřen pomocí tlakové komory. To odpovídá našim výsledkům pro listy tabáku

(Obr. 42). Autoři ve své práci odůvodňují tento rozdíl tím, že tlaková komora měří vodní potenciál hlavně těch buněk, které jsou blízko středovému žeburu (Turner a kol., 1984). Já se s tímto názorem ztotožňuji, jelikož hlavně u listů tabáku s vysokým RWC stačilo k vymáčknutí vody z řapíku pouze upevnění listu do tlakové komory, takže si myslím, že tlakovou komorou je převážně změřen vodní potenciál z cévních svazků a buněk v jejich blízkém okolí a ne z celého listu. Při měření listů tabáku pomocí psychrometru byl vyříznut segment mimo hlavní žilky listu, a proto pravděpodobně byla hodnota vodního potenciálu změřeného pomocí psychrometru nižší než vodní potenciál změřený pomocí tlakové komory. Menší rozdíly mezi vodním potenciálem změřeným pomocí psychrometru a tlakové komory u listů ječmene můžou být vysvětleny tím, že ječmen má rovnoběžné cévní svazky. Tudiž segment použitý k měření psychrometrem obsahoval i cévní svazky listu. Z tohoto porovnání vidíme, že je rozdíl, jestli měříme jednoděložné nebo dvouděložné rostliny. U jednoděložných rostlin je možné očekávat menší rozdíl hodnot vodního potenciálu měřeného psychrometricky a pomocí tlakové komory, než je tomu u rostlin dvouděložných, a to pravděpodobně z důvodu rovnoměrnější distribuce cévních svazků v ploše listů. Při měření těmito dvěma metodami lze obecně říci, že hodnoty vodního potenciálu listů ječmene jsou pro danou hodnotu RWC velmi podobné, zatímco pro listy tabáku jsou hodnoty rozdílnější. Tento fakt může být způsoben větší heterogenitou listů tabáku, tedy že různé listy zasychají různou rychlostí, i když byla snaha vybírat listy stejně velké a podobně staré.

Pro zjišťování vodního stavu listů byly v této práci taktéž využity **optické metody**. Využívání optických metod při zkoumání vodního stavu rostlin a hlavně rostlinných porostů je velmi se rozvíjející oblast. Při použití optických metod pro měření obsahu vody v rostlině se využívá převážně odrazivosti (reflektance) rostlin, protože reflektanci je možné měřit shora pomocí družice nebo letadla nad porostem rostlin. Měření obsahu vody v rostlinách pomocí reflektance se využívá při takzvaném dálkovém průzkumu Země, kdy jsou pořizovány snímky krajiny pomocí družice nebo letadla. Jejich vyhodnocením se pak určuje obsah vody v porostu (Vinciková, 2015). Hlavní výhodou většiny optických metod je jejich nedestruktivnost.

My jsme pro měření použili **spektroradiometr LI-1800 a integrační kouli LI-COR 1800-12** a měřili jsme jak spektra difúzní reflektance z adaxiální i abaxiální strany listu, tak i spektra difúzní transmitance z obou stran listu. Na rozdíl od literatury a praxi, kdy je obvykle měřena pouze reflektance z adaxiální strany. Ze spekter byl následně vypočítán vodní index (WI) a normalizovaný vegetační diferenční index (NDVI). Při

měření touto metodou bylo zapotřebí vyplnit vzorkem kruhový otvor o průměru 1,45 cm. Tedy pro listy ječmene se u této metodiky vyskytl problém, jelikož listy byly moc úzké. U ječmene bylo tedy nutné využít při měření zároveň 3- 4 listy, podle míry zaschnutí listů. Pro měření byly vybírány listy se stejnou nebo blízkou hodnotou RWC. U měření listů tabáku se u této metody vyskytl opačný problém, kdy byl list příliš velký, neměřená plocha překážela při manipulaci. Proto bylo nutné vyříznout pouze segment listu. Samotné měření touto metodou trvalo cca 30 minut. Další problém této metodiky je, že byl list při měření osvětlován silným světlem, takže (v kombinaci se zmíněnou dobou měření) docházelo k jeho dalšímu zasychání v průběhu měření. U listů ječmene jsme tento fakt korigovali tím, že byla změřena hodnota RWC u všech listů před měřením a po změření spekter a vypočítán průměrný RWC. U listů tabáku tato korekce nebyla možná, jelikož se použil pouze segment původního listu, u kterého byl RWC určen.

V literatuře je využíváno mnoho optických indexů (g 6, 7 a 9), jejich souhrn lze najít např. v pracích Govender a kol. (2009) a Lukáš a kol. (2019). Mezi indexy s nejlepší korelací s RWC (a tudíž nejčastěji používané) se řadí vodní index (WI) a normalizovaný vegetační diferenční index (NDVI), proto jsme se i my v této práci rozhodli zabývat těmito dvěma indexy.

WI měl tendenci klesat (ať už byl vypočítán z propustnosti nebo odrazivosti měřené z abaxiální nebo adaxiální strany listu). Pokles je však velmi malý, představuje asi 2 - 3 % u listů obou rostlinných druhů s nejmenším RWC (Obr. 49 a 50.). U ječmene i tabáku zůstávají hodnoty WI při zasychání listů dlouhou dobu téměř konstantní a až od určitého RWC započne mírný pokles hodnoty WI. U ječmene (Obr. 49) tento pokles začíná kolem RWC 65 %, zatímco u tabáku (Obr. 50) až u RWC kolem 35 %. Což může být způsobeno delším udržením objemové koncentrace vody v listu tabáku, takže její úbytek se projeví až později při nižším RWC. Ale taktéž zmenšováním plochy listu při zasychání, takže koncentrace vody vzhledem k ploše listu zůstává delší dobu stejná. Obecně pro oba měřené zástupce je WI vypočítán ze spektra transmitance nižší než WI vypočítáný ze spektra reflektance. Ani u jednoho měřeného zástupce nebyla prokázána závislost WI na měření listu z adaxiální a abaxiální strany, i přestože listy mají jinou strukturu, tudíž se zdá, že stavba listu nemá na toto měření vliv.

Ze všech spekter změřených pomocí spektrometru jsme taktéž zjišťovali hodnoty indexu NDVI a jeho závislost na RWC (Obr. 51 a 52). I když primární využití indexu NDVI je pro zjištění obsahu chlorofylu v listech, jeho hodnota by mohla odrážet rovněž i vnitřní změny listu například následkem dehydratace. Při dehydrataci listu

dochází ke ztrátě vody z buněk, které zmenšují svůj objem, což má za následek, že se zmenšuje plocha celého listu. Jelikož dochází k zmenšování plochy listu, tak koncentrace vody v listu na dané ploše zůstává v počátečních fázích zasychání přibližně stejná. Zmenšením plochy listu dojde k přiblížení všech komponent uvnitř listu (např. chlorofylu). Proto v počátečních fázích zasychání může docházet k nárůstu hodnoty NDVI nebo SPAD. Při vyšším úbytku vody, tedy při delší době zasychání, může docházet k rozpadu chlorofylů, což by mělo způsobit pokles hodnoty NDVI a SPAD. Tedy při vyšším stupni zasychání a nižším RWC pravděpodobně převládne efekt poklesu obsahu chlorofylu (vedoucí k poklesu hodnot NDVI a SPAD) nad efektem strukturních změn v listu (vedoucím k nárůstu hodnot NDVI a SPAD).

U ječmene má NDVI při nízkém poklesu RWC velmi mírnou tendenci narůstat a od RWC pod 60 % začne jeho pokles (Obr. 51). Nárůst hodnoty je pravděpodobně spojen se zmenšováním plochy listu v průběhu zasychání, kdy se zvyšuje koncentrace chlorofylu na jednotku plochy. Po nějaké době zasychání se začne chlorofyl rozkládat, proto hodnota NDVI klesá. NDVI změřené na listech tabáku (Obr. 52) vykazovaly stejné chování, ale nárůst NDVI do RWC 50 % je zde podstatně výraznější než u listů ječmene. Ovšem zatímco u ječmene nebyl skoro žádný rozdíl mezi adaxiální a abaxiální stranou listu (ať už u transmitance nebo u reflektance) (Obr. 51), u tabáku vidíme velký rozdíl při měření reflektance z abaxiální a adaxiální strany listu, zatímco při transmitanci je tento rozdíl nepatrný (Obr. 52). Rozdíl v hodnotách NDVI vypočtených z reflektance mezi adaxiální a abaxiální stranou je patrně způsoben rozdílnou stavbou listu z adaxiální a abaxiální strany listu tabáku. Tedy pokud porovnáme výsledky, které jsme získali při měření listu ječmene a tabáku, vidíme, že při výpočtu NDVI z reflektance z adaxiální a abaxiální strany hraje velký význam stavba listu, je vidět rozdíl mezi monofaciálním a bifaciálním listem.

Měření optických spekter touto metodou je velmi snadné a celé spektrum je zaznamenáno počítačem i s jednotlivými hodnotami transmitance/reflektance pro danou vlnovou délku, takže odpadá chyba v odečtení výsledku experimentátorem. Taktéž zde není přílišná variabilita hodnot vypočtených indexů pro danou hodnotu RWC. Její použití pro stanovení vodního stavu listu prostřednictvím výpočtu WI je ale vhodnější pro listy s RWC 50 % a méně než pro listy s vyšším RWC. Malá citlivost pro listy s vyššími hodnotami RWC je více patrná u bifaciálních listů, zatímco u monofaciálních listů jsou patrné změny hodnot WI i při vyšších hodnotách RWC. Co se týče využití přístroje pro stanovení vodního stavu rostliny pomocí indexu NDVI, tak zde je citlivost přístroje vyšší

u obou typů listů (než tomu bylo v případě WI). Změny v hodnotě NDVI jsou patrné i při malém poklesu RWC. Ovšem výraznější korelace mezi NDVI a RWC je patrná u listů tabáku. Zatímco pro listy ječmene je nárůst hodnoty do RWC 60 % velmi malý a výraznější rozdíly se projeví až po RWC 60 %. Tato metoda ale není vhodná k měření v terénu, je využitelná spíše pro měření v laboratoři. Ze zkušenosti při měření bych i tuto metodu zařadila spíše mezi metody destruktivní, i když při vhodné velikosti listu to tak být nemusí.

Běžně se pro výpočet optických indexů měří pouze spektrum reflektance z adaxiální strany listu. V našich experimentech bylo prokázáno, že hodnoty optických indexů vypočítané ze spektra reflektance a transmitance se odlišují. Při výpočtu WI u obou rostlinných druhů dosahovaly hodnoty WI vypočítané ze spektra reflektance z adaxiální/abaxiální strany listu vyšších hodnot než hodnoty WI vypočítané ze spektra transmitance z adaxiální/abaxiální strany listu. U indexu NDVI tomu bylo naopak, tedy vyšších hodnot dosahovaly hodnoty NDVI vypočítané ze spektra transmitance. Výjimku tvořily hodnoty NDVI vypočítané ze spektra reflektance z adaxiální strany listu tabáku, které se prolínaly s hodnotami NDVI, který byl vypočítán z obou spekter transmitance. Naopak při našich experimentech nebyl při výpočtu WI ze spekter reflektance/transmitance prokázán žádný výrazný rozdíl mezi adaxiální a abaxiální stranou listu, a to jak u monofaciálního, tak u bifaciálního listu. Zatímco při výpočtu NDVI u listu tabáku, ze spektra reflektance, se ukázal výrazný rozdíl mezi adaxiální a abaxiální stranou listu, u listů ječmene žádný rozdíl patrný nebyl. U hodnot NDVI vypočítaného ze spektra transmitance nebyl žádný výrazný rozdíl mezi adaxiální a abaxiální stranou listu, a to jak u monofaciálního listu, tak i u bifaciálního listu.

Korelací relativního obsahu vody v listu a WI se ve své práci zabývá Caturegli a kol. (2020). V této práci byla měřena spektra reflektance pomocí ručního spektrometru FieldSpec 4 nové generace s vysokým rozlišením (Analytical Spectral Devices, Boulder, Co, USA) u listů hybridní trávy *Cynodon dactylon* (L.) Pers. X *Cynodon transvaalensis* Burt Davy, která byla pěstována ve skleníku. Rostliny byly před měřením vystaveny různému vodnímu deficitu, konkrétně se měřily rostliny, které nebyly zalévány 0, 1, 4, 7, 10, 13 a 16 dní. Výsledky ukázaly lineární závislost mezi WI a RWC listu. Tato práce se také zabývala závislostí NDVI na zasychání listu. Závislost NDVI na RWC měla klesající charakter, tedy nedocházelo k nárůstu hodnoty NDVI jako tomu bylo při našem výzkumu. Ovšem hodnoty NDVI byly v této práci odečítány po delším časovém úseku zasychání (v rámci dnů) než tomu bylo při našem výzkumu. Při našich

měřeních se zvýšení hodnoty NDVI se projevilo v průběhu zasychání v rámci hodiny, což patrně bude důvod, proč se v práci Caturegli a kol. (2020) neprojevovalo zvýšení hodnoty NDVI při počátečním zaschnutí listů.

Korelací WI a NDVI s relativním obsahem vody se taktéž zabývala práce Peñuelas and Inoue (1999), která ukázala, že u pšenice (*Triticum aestivum* L.) a u podzemnice olejné (*Arachis hypogea* L.) WI koreluje s relativním obsahem vody v rostlině. Autoři ale uvádějí, že lépe než samostatný WI nebo NDVI koreloval s RWC jejich poměr ($\frac{WI}{NDVI}$).

Další přístroj použitý pro výpočet indexu NDVI byl **PolyPlant-Pen**. Tento přístroj na rozdíl od spektrometru LI-1800 a integrační koule LI-COR 1800-12 měří pouze spektrum směrové odrazivosti, ze kterého pak vypočítá daný index. Primární využití PolyPlant-Penu je pro měření obsahu chlorofylu v listech. Tímto přístrojem se dají měřit jakkoliv velké listy a jedná se o metodu nedestruktivní, tudíž listy lze použít na další měření. Taktéž je tento přístroj velmi malý a snadno přenosný, tudíž se dá snadno použít v terénu. Měření je velmi rychlé, zabere pouze pár sekund. Tato metoda vykazuje mnohem větší variabilitu hodnot NDVI pro stejné RWC oproti LI-CORu (Obr. 53 a 54). V tomto případě hodnoty NDVI pro listy ječmene (Obr. 53) zůstávají konstantní do RWC 55 % a poté začnou klesat. Tedy u hodnot NDVI vypočítané pomocí Poly-PlantPenu nevidíme prvotní nárůst hodnot NDVI, jak tomu bylo u hodnot vypočítaných z měření pomocí LI-CORu (Obr. 51). U listů tabáku (Obr. 54) již vidíme stejný průběh hodnot NDVI jako jsme viděli u hodnot NDVI získaných pomocí LI-CORu (Obr. 52). Tedy hodnoty NDVI při prvotních úbytcích vody stoupají a od RWC 75 % začne jejich pokles. Vzhledem k velkému rozptylu hodnot NDVI pro stejné hodnoty RWC není tato metoda moc vhodná pro zjišťování vodního stavu listů. S pomocí této metody se ale dá sledovat zasychání jednotlivých listů.

Korelaci mezi obsahem vody a spektrálními parametry zkoumali ve své studii Elsayeda kol. (2011). Autoři provedli šest experimentů v kontrolovaných podmínkách klimatické komory. Testování probíhalo na rostlinách pšenice (*Triticum aestivum* L. cv. Triso) a kukuřice (*Zea mays* L. cv. Agromax). Měření probíhalo jak na zalévaných rostlinách, tak na rostlinách stresovaných suchem po dobu 6 dnů. Výsledky studie ukázaly, že u pšenice vybrané optické indexy (hlavně index $\frac{R_{94}}{NDVI}$, kde NDVI bylo počítáno ze vzorce $\frac{R_{780}-R_{670}}{R_{780}+R_{670}}$) korelovaly s vodním potenciálem rostliny. U kukuřice ale

žádná významná korelace prokázána nebyla. Autoři taktéž zjistili, že index WI/NDVI silně koreluje s relativním obsahem vody. Dalším výsledkem studie bylo, že samotný index NDVI koreluje s vodním potenciálem rostliny u dobře zalévaných rostlin (Elsayed a kol., 2011).

Autoři této práce tedy prokázali jistou míru korelace mezi vybranými optickými indexy a vodním potenciálem, ale tato korelace závisí na druhu rostliny a míře jejího nasycení vodou. My jsme zjišťovali závislost NDVI na relativním obsahu vody a závislost vyšla pouze u hodnot NDVI vypočítaných ze spekter změřených pomocí LICORu. Ze spektra reflektance změřeném pomocí Poly-PlantPen se žádná závislost mezi hodnotou NDVI a RWC neprojevila.

Poslední přístroj, který byl použit pro měření vodního stavu listu, byl přístroj **SPAD**. I tento přístroj stejně jako předchozí je velmi malý, snadno přenosný a měření s jeho pomocí je nedestruktivní, velmi snadné a rychlé, v rámci několika sekund. I tento přístroj se primárně využívá pro měření obsahu chlorofylu, my jsme v této studii otestovali jeho využití pro zjištění vodního stavu v rostlinách. Z grafů vidíme, že závislost hodnoty SPAD na RWC má podobný průběh jako v případě indexu NDVI (Obr. 55 a 56). A i zde vidíme, že existuje velká variabilita hodnot SPAD pro stejné RWC, tudíž i tato metoda není příliš vhodná pro zjišťování vodního stavu v rostlině. Stejně jako předešlá metoda se dá pouze využít pro sledování zasychání individuálního listu.

Změnami hodnot SPAD během zasychání se zabývala např. také práce Rahimi a kol. (2010), ve které byla sledována závislost hodnoty SPAD na vodním deficitu u rostlin jitrocele vejčitého (*Plantago ovata* Forssk.) a jitrocele písečného (*Plantago psyllium* L.), které byly pěstovány ve skleníku. Stres byl u rostlin navozen nezaléváním po dobu 2, 4, 6, 8 a 10 dnů. Studie ukázala, že hodnota SPAD ze začátku s ubývajícím RWC stoupá a až od určité hodnoty začne klesat, což se shoduje taktéž s našimi poznatky. Autoři z výsledků vyvozují, že snížení relativního obsahu vody není doprovázeno snížením obsahu chlorofylu v počátečních fázích zasychání u jimi měřených rostlin (Rahimi a kol., 2010).

Pokud **shrňeme všechny metody** použité při výzkumu v této práci, tak jako nejužitečnější metodu na měření vodního stavu v rostlině bych zvolila psychrometrickou metodu. I když měření touto metodou trvá nejdéle, naměřené hodnoty vodního potenciálu byly nejméně variabilní pro stejné hodnoty RWC. Tato metoda je zároveň jediná z námi použitých, která je vhodná pro měření vodního potenciálu listů s libovolným RWC.

Taktéž jako velmi vhodnou metodu na zjištění vodního stavu rostliny bych uvedla i měření spekter pomocí spektrometru LI-1800 a integrační koule LI-COR 1800-12 a následný výpočet optických indexů z těchto spekter. Hodnoty indexů vypočítané z těchto spekter prokazovaly malou variabilitu a převážně klesající tendenci se snižujícím se RWC. Měření s tímto přístrojem je ovšem nevhodné pro terénní měření. A taktéž indexy lépe reagují až při větším poklesu RWC (kolem 50 % a méně). Tato metoda tedy není příliš citlivá a tedy moc vhodná pro stanovení vodního stavu listů v počátečních fázích zasychání.

Naopak za málo spolehlivou a nepříliš vhodnou metodu považuji tlakovou komoru, kde bylo mnoho technických problémů při měření a velká pravděpodobnost chyby při odečítání výsledků. Měření touto metodou se ukázalo vhodné, pokud jde o ploché listy, v rozmezí RWC 95 % - 40%, a pokud jde o listy s měkkým a krátkým řapíkem, pro RWC pouze v rozmezí 95 % - 80 %. Pro jiné hodnoty RWC byla zjištěna velká variabilita hodnot vodního potenciálu.

Jako naprosto nevhodné pro zjištění vodního stavu v rostlinách se ukázaly oba přenosné přístroje PolyPlant-Pen a SPAD, které se využívají při terénním měření obsahu chlorofylu v rostlině. Naměřené hodnoty zde byly velmi variabilní pro stejnou hodnotu RWC. Pomocí těchto přístrojů lze pouze sledovat (kromě primárního účelu stanovení obsahu chlorofylu) zasychání listu, jelikož závislost hodnoty NDVI a SPAD vykazují během tohoto procesu specifické změny. Při kratší době zasychání narůstají a od určité hodnoty RWC klesají.

7. Didaktická část

Jelikož pořízení přístrojů používaných v této diplomové práci je finančně náročné a pro školy spíše nepraktické, rozhodla jsem didaktickou část zaměřit na úplné počáteční měření, které jsem u této práce musela udělat, a to určení úbytku hmotnosti (UH) a relativního úbytku vody (RWC) listů při zasychání.

Tato měření nejsou materiálně a finančně náročná, ovšem jsou náročná časově, takže by měření určitě nebylo pouze na jednu hodinu. Z materiálního vybavení by žákům stačily pouze skalpel, laboratorní váhy a milimetrový papír. Co se týká rostlinného materiálu, tak lze použít listy z libovolné rostliny, ani všichni žáci nemusí mít stejný rostlinný druh, aspoň by tak vzniklo porovnání, jak rychle zasychají listy různých rostlinných druhů, např. druhů odolnějších vůči suchu, které mají tuhé, kožovité listy a zasychají pomalu (oleandr, fikus, ibišek), a druhů málo odolných vůči suchu, jejichž listy zasychají rychle (tabák).

Žáci při tomto cvičení budou rozvíjet mnohé dovednosti, ať už psychomotorické, při obkreslování listu na milimetrový papír, technické při práci s laboratorními váhami a logické při výpočtu plochy listu, UH a RWC. Toto cvičení se dá použít jak na základní škole, tak na střední, jelikož je velmi snadné a názorné. V rámci RVP se dá toto téma zařadit vlastně kamkoliv v rámci biologie rostlin nebo ekologie, ideálně při probírání vztahu rostlin a vnějších vlivů (nebo jak na rostliny působí sucho). Výstupem ze cvičení by byl pracovní list.

7.1. Vzor pracovního listu – zasychání listu rostliny

Pracovní list: Zasychání listu rostliny

7.1.1. Teoretický úvod

Nedostatek vody na naší planetě je čím dál častěji řešený problém. V tomto cvičení si ukážeme, jak rychle ztrácejí listy rostlin vodu, tedy jak zasychají. Použijeme listy oddělené od rostliny, které žáci nechají zasychat a budeme je průběžně vážit, z čehož vypočítáme UH, RWC, a měřit plochu listu. Výsledkem bude ukázka závislosti UH a změny plochy listu na RWC.

UH – úbytek hmotnosti; udává, jak se změnila hmotnost listu oproti původní hmotnosti

(ihned po oddělení) v průběhu času. UH vypočteme podle vzorce $UH = \left(1 - \left(\frac{FW}{FW_0}\right)\right) * 100$ [%]

FW₀ – hmotnost listu ihned po odříznutí

FW - hmotnost zasychajícího listu

RWC – relativní obsah vody; udává, kolik vody je v rostlině (listu) oproti stavu plného nasycení vodou. Vypočteme ho podle vzorce $RWC = \frac{FW-DW}{TW-DW} * 100 [\%]$, kde

FW – hmotnost zasychajícího listu

TW – hmotnost plně nasyceného listu (u dobře zalévané rostliny se $TW = FW_0$)

DW – hmotnost sušiny listu

Změna plochy ukáže, o kolik se list smrštil v průběhu času v důsledku ztráty vody.

7.1.2. Úkol: Vytvořte závislosti změny plochy listu a UH na RWC

Použité pomůcky a materiál: NEPOŠKOZENÉ listy libovolné rostliny (dodá učitel) vypěstované a zalévané v květináči), skalpel, milimetrový papír, tužka, laboratorní váhy, tácek, malá krabička

Postup: Pomocí skalpelu odřízneme list na rostlinách určených učitelem. Ihned po uříznutí list zvážíme s co největší přesností (hmotnost označíme FW_0) a po té list obkreslíme na milimetrový papír. List položíme na tácek a necháme zasychat. Mezitím vypočteme plochu listu z obrysu na milimetrovém papíru. Každých 10 minut opakujeme vážení (FW_1, FW_2, FW_3) a obkreslování, hodnoty pečlivě zaznamenáváme. Po posledním vážení a měření před koncem hodiny vložíme list do krabičky a dáme ho ideálně na slunné místo usychat do příštího cvičení. Následující cvičení list opatrně vyjmeme z krabičky a tentokrát už jenom zvážíme, hodnotu označíme DW, NEOBKRESLUJEME. Z naměřených hodnot vypočítáme UH, RWC a plochu listu.

Výsledky: (vyplní žák)

1. Vypočtené hodnoty UH_1, UH_2 a UH_3 ze vzorce v teoretickém úvodu, za FW dosazujeme $FW_1 - FW_3$.
2. Vypočtené hodnoty RWC_1, RWC_2 a RWC_3 ze vzorce v teoretickém úvodě, za FW dosazujeme $FW_1 - FW_3$.
3. Graf závislosti změny plochy listu na čase
4. Graf závislosti změny plochy listu na RWC
5. Graf závislosti UH na RWC

Závěr: (doplň žák)

Shrnutí poznatků.

8. Závěr

Cílem této práce bylo srovnání změn parametrů vodního stavu při zasychání listů měřených různými metodami a taktéž posouzení vhodnosti a citlivosti jednotlivých metod při zjišťování vlivu vodního deficitu na rostliny.

Z našeho měření vyplynulo, že nejvhodnější metodou pro zjištění vodního stavu rostliny je psychrometrická metoda. Pomocí této metody se dají změřit listy s libovolným RWC a výsledné hodnoty vodního potenciálu pro stejné hodnoty RWC mají malou variabilitu. Oproti tomu při měření pomocí tlakové komory se ukázala spousta technických problémů (např. problémy s uchycením listu). Taktéž touto metodou bylo možné spolehlivě změřit vodní potenciál pouze u listů s RWC v určitém rozmezí (95 % - 40 % pro listy ječmene a pouze 95 % - 80 % pro listy tabáku). Výsledné hodnoty vodního potenciálu vykazovaly značnou variabilitu pro stejné hodnoty RWC. Provedli jsme taktéž srovnání hodnot vodního potenciálu naměřených pomocí těchto dvou metod, které ukázalo, že hodnoty vodního potenciálu změřené psychrometricky dosahují zpravidla nižších hodnot než hodnoty vodního potenciálu změřené pomocí tlakové komory. Jedinou výjimkou byly listy ječmene do RWC 70 %, kde se hodnoty vodního potenciálu naměřené oběma metodami prolínaly. Tato rozdílnost naměřených hodnot vodního potenciálu pro listy tabáku může být způsobena tím, že pro psychrometrické měření byl vyříznut segment listu mimo hlavní žebra, zatímco při měření tlakovou komorou je měřen hlavně vodní potenciál cévních svazků a buněk v jejich blízkém okolí. Listy ječmene mají rovnoběžné cévní svazky, tudíž byly cévní svazky obsažené i v segmentu, který byl použit v psychrometrické metodě, čímž může být vysvětleno prolínání hodnot vodního potenciálu změřeného oběma metodami u listů ječmene do RWC 70 %.

Jako další relativně spolehlivá metoda pro zjištění vodního stavu rostlin se ukázalo měření pomocí spektrometru LI-1800 a integrační koule LI-COR 1800-12. Z naměřených spekter reflektance a transmitance z adaxiální a abaxiální strany listu byly vypočítány hodnoty WI a NDVI. Byla zjišťována závislost obou indexů na RWC. WI, vypočítaný z reflektance/transmitance z adaxiální/abaxiální strany listu, měl s nižšími hodnotami RWC tendenci klesat. Ale do RWC 65 % u listů ječmene a do RWC 35 % u listů tabáku byl tento pokles velmi nepatrný, tedy tato metoda není citlivá při menším poklesu RWC a je tedy vhodnější pro měření více zaschlých listů. Hodnota indexu NDVI (vypočítaná ze všech 4 spekter) při prvních úbytcích vody stoupá do RWC 60 % u listů ječmene a do RWC 50 % u listů tabáku a od této hodnoty započne její pokles. Naměřené hodnoty obou indexů vykazují malou variabilitu hodnot. Naše měření ukázalo, že WI

vypočítaný ze spekter reflektance, dosahuje u obou rostlinných druhů vyšší hodnoty než WI vypočítaný ze spekter transmitance. U NDVI je tomu opačně, tedy vyšších hodnot dosahuje NDVI vypočítaný ze spekter transmitance. Taktéž jsme zjistili, že při výpočtu WI ze spekter reflektance/transmitance nezáleží na straně listu (adaxiální/abaxiální), a to u obou rostlinných druhů. U indexu NDVI se u listů ječmene opět ukázala podobnost v hodnotách NDVI vypočítaného z adaxiální a abaxiální strany listu při měření reflektance i transmitance. Zatímco u listů tabáku je tato podobnost hodnot NDVI a adaxiální a abaxiální strany pouze při výpočtu NDVI ze spektra transmitance. NDVI vypočítaný ze spektra reflektance z adaxiální strany listu dosahuje vyšší hodnoty (stejně jako NDVI vypočítaný z obou spekter transmitance) než NDVI vypočítaný ze spektra reflektance z abaxiální strany listu.

Jako nevhodné se pro posouzení vodního stavu rostlin ukázaly přístroje Poly-PlantPen a SPAD. Hodnoty NDVI a SPAD mají sice s klesajícím RWC typický průběh (při počátečním zasychání listů stoupají a od určité hodnoty RWC začnou klesat), ale variabilita naměřených hodnot NDVI a SPAD je příliš velká, aby tyto přístroje bylo možné využít pro přesné určení vodního stavu rostliny.

V didaktické části je uveden návrh využití tématu a jeho přiblížení žákům v biologickém praktiku na střední škole, případně na vyšším stupni základní školy.

9. Použitá literatura

ARNON D. I. *Copper enzymes in isolated chloroplasts: Polyphenoloxidase in Beta vulgaris*. Plant Physiology 24, 1-15, 1949

BARÁNKOVÁ B., Lazár D., Nauš J., *Analysis of the effect of chloroplast arrangement on optical properties of green tobacco leaves*. Remote Sensing of Environment 174, 181-196, 2016

BOYER J. S., KRAMER P. J. *Measuring the water status of plants and soils*. Academic Press, San Diego, Calif., 1995. ISBN 0121222608

BRAVO C., West J., Bravo C., Oberti R., Lemaire D., Moshou D., McCartney H. *The potential of optical canopy measurement for targeted control of field crop diseases*. Annual Review of Phytopathology 41, 593-614, 2003

BUSCHMANN C., Lenk S., Lichtenthaler H. *Reflectance spectra and images of green leaves with different tissue structure and chlorophyll content*. Israel Journal of Plant Sciences 60, 49-64, 2012

CARTER A. G. *Primary and secondary effects of water content on the spectral reflectance of leaves*. American Journal of Botany 78, 916-924, 1991

CARTER A. G., Knapp A. *Leaf optical properties in higher plants: Linking spectral characteristics to stress and chlorophyll concentration*. American Journal of Botany 88, 677-684, 2001

CARTER A. G., McCain C. D. *Relationship of leaf spectral reflectance to chloroplast water content determined using NMR microscopy*. Remote Sensing of Environment 46, 305-310, 1993

CATUREGLI L., Matteoli S., Gaetani M., Grossi N., Magni S., Minelli A., Corsini G., Remorini D., Volterrani M. *Effects of water stress on spectral reflectance of bermudagrass*. Scientific Report 10, 2020

DÍAZ-PÉREZ J., Shackel K., Sutter E. *Relative water content and water potential of tissue-cultured apple shoots under water deficits*. Journal of Experimental Botany 46, 111-118, 1995

ELSAYED S., Mistele B., Schmidhalter U. *Can changes in leaf water potential be assessed spectrally?*. Functional Plant Biology 38, 523-533, 2011

ERBEN J. *Hodnocení vodního stresu porostu pomocí metod dálkového průzkumu povrchu*. Diplomová práce, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, 2017

GAO B. C. *Normalized difference water index for remote sensing of vegetation liquid water from space*. Remote Sensing of Environment 58, 257-266, 1996

GATES M. D., Keegan H. J., Schleter C. J., Weidner R. V. *Spectral properties of plants*, Applied Optics 4, 11-20, 1965

GAUSMAN W. H. *Evaluation of factors causing reflectance differences between sun and shade leaves*. Remote Sensing of Environment 15, 177-181, 1984

GOVENDER M., Dye P., Weiersbye I., Witkowski E., Ahmed F. *Review of commonly used remote sensing and ground-based technologies to measure plant water stress*. Water SA 35, 741-752, 2009

HALDER K. P., Burrage S. W. *Drought stress effects on water relations of rice grown in nutrient film technique*. Pakistan Journal of Biological Sciences 6, 441-444, 2003

HAMLIN G. J. *Monitoring plant and soil water status: established and novel methods revisited and their relevance to studies of drought tolerance*. Journal of Experimental Botany 58, 119–130, 2007

HONKOVÁ M. *Mapování vegetace s využitím spektrálních indexů*. Diplomová práce, Masarykova univerzita Brno, 2008

CHANDRABABU R., Pathan S., Blum A., Nguyen H. *Comparison of measurement methods of osmotic adjustment in rice cultivars*. Crop Science 39, 150–158, 1999

JONES H. G. *Plants and microclimate: a quantitative approach to environmental plant physiology*. Cambridge University Press, New York, USA, 1992. ISBN 0521425247.

KARATASSIOU M., Noitsakis B., Koukoura Z. *Drought adaptation ecophysiological mechanisms of two annual legumes on semi-arid mediterranean grassland*. Scientific Research and Essays 4, 2009

KIRKHAM M. B. *Principles of soil and plant water relations*. Elsevier Academic Press, New York, USA, 2005. ISBN 0124097510.

LARCHER, W. *Fyziologická ekologie rostlin*. Academia, Praha, ČR, 1988.

LATIMER P. *A wave-optics effect which enhances light absorption by chlorophyll in vivo*. Photochemistry and Photobiology. 40, 193-199, 1984

LICHTENTHALER H. K. *Chlorophylls and carotenoids. Pigments of photosynthetic biomembranes*. Methods in Enzymology 148, 350-382, 1987

LUKÁŠ J., Haberle J., Chrpová J., Kroulík M., Brant V., Sova J., Kovář J., Švestka A. *Metodika detekce vodního stresu polních plodin termokamerovým systémem*. Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., Praha, ČR, 2019. ISBN: 978-80-7427-304-9

manuál k přístroji – LI-COR, Inc. (1983), 1800-12 Integrating Sphere/Instruction Manual. USA.

manuál k přístroji – PMS Instrument Company (2018), MODEL 600, Pressure chamber instrument, operating instructions. USA.

manuál k přístroji – Poly-PlantPen RP400 (2012), Photon Systems Instruments, Operation Manual. ČR.

manuál k přístroji - SPAD 502 (2003). Konica Minolta sensing ing. Japonsko

manuál k přístroji – WESCOR (1988), HR 33T DEX POINT MICROVOLTMETR, instruction/service manual. USA.

MARTINEZ D., Guiamet J. *Distortion of the SPAD 502 chlorophyll meter readings by changes in irradiance and leaf water status*. Agronomie 24, 41–46, 2004

McCLEDON J.H., Fukshansky L. *On the interpretation of absorption spektra of leaves–II. The nonabsorbed ray od the sieve effect and the mean optical pathlength in the remainder of the leaf*. Photochemistry and Photobiology 51, 211-216, 1990

Měření vodního a osmotického potenciálu psychrometricky, „Wescorem“ [online]. [cit. 2021-03-19]. Dostupné z: https://ecitydoc.com/download/princip-meni_pdf

NEUWIRTHOVÁ E. *Vliv anatomické struktury na optické vlastnosti listu vybraných dřevin - vztah k vodnímu režimu*. Diplomová práce, Univerzita Karlova Praha, 2015

PEÑUELAS J., Inoue Y. *Reflectance indices indicative of changes in water and pigment contents of peanut and wheat leaves*. Photosynthetica 36, 355–360, 1999

PEÑUELAS J., Pinol J., Ogaya R., Filella I. *Estimation of plant water concentration by the reflectance water index WI (R900/R970)*. International Journal of Remote Sensing 18, 2869-2875, 1997

PEÑUELAS J., Filella I., Biel C., Serrano L., Savé R. *The reflectance at the 950-970 region as an indicator of plant water status*. International Journal of Remote Sensing 14, 1887-1905, 1995

PORRA R. J., Thompson W. A., Kreidemann P. E. *Determination of accurate extinction coefficients and simultaneous equations for assaying chlorophylls a and b extracted with four different solvents: verification of the concentration of chlorophyll standards by atomic absorption spectroscopy*. Biochimica et Biophysica Acta 975, 384-394, 1989

Praktikum experimentálních metod fyziologie rostlin: Měření vodního potenciálu listu. Katedra biofyziky [online]. Univerzita Palackého v Olomouci [cit. 2021-03-19]. Dostupné z: http://biofyzika.upol.cz/userfiles/file/VODNI_POTENCIAL_2020.docx

RAHIMI A., Hosseini M. S., Pooryoosof M., Fateh I. *Variation of leaf water potential, relative water content and SPAD under gradual drought stress and stress recovery in two medicinal species of Plantago ovata and P. psyllium*. Plant Ecophysiol 2, 53-60, 2010

Rostlina a voda, minerální prvky a vnější prostředí: Vodní režim rostliny. Katedra experimentální biologie [online]. Masarykova univerzita [cit. 2021-03-19]. Dostupné z: http://kfrserver.natur.cuni.cz/studium/prednasky/pavlova/fyzrost/5_Vodni_rezim.pdf

RP-400 Poly-PlantPen [online]. [cit. 2021-03-19]. Dostupné z: <https://eu.ictinternational.com/products/rp-400/rp-400-poly-plantpen/>

SLAVÍK B. *Metody studia vodního provozu rostlin*. Nakladatelství Československé akademie věd, Praha, ČR, 1965.

TARDIEU F., Simonneau T. *Variability among species of stomatal control under fluctuating soil water status and evaporative demand: modelling isohydric and anisohydric behaviours*, Journal of Experimental Botany 49, 419-432, 1998

TRUEBA S., Pan R., Scoffoni C., John G. P., Davis S. D., Sack L. *Thresholds for leaf damage due to dehydration: declines of hydraulic function, stomatal conductance and cellular integrity precede those for photochemistry*. New Phytologist 223, 134-149, 2019

TURNER N. C., Spurway R. A., Schulze E. D. *Comparison of water potentials measured by in situ psychrometry and pressure chamber in morphologically different species*. Plant Physiology 74, 316-319, 1984

VINCIKOVÁ H. *Krajinné struktury, využití území a kvalita povrchových vod: Studium vzájemných vztahů nástroji DPZ*. Disertační práce, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, 2015

9.1. Zdroje obrázků

eBay. *Electronics, Cars, Fashion, Collectibles & More | eBay* [online]. Dostupné z: <https://www.ebay.co.uk/itm/Li-cor-LI-1800-Portable-Spectroradiometer-LI-1800-22-/283145599114>

Envco [online]. Copyright © [cit. 19.03.2021]. Dostupné z: <http://envcoglobal.com/files/product/image/mo-spc-spad-v20.jpg>

Fyziologie rostlin: 1. ČÁST - TRANSPORTNÍ PROCESY [online]. Masarykova univerzita [cit. 2021-03-19]. Dostupné z: https://is.muni.cz/el/1431/jaro2011/Bi4060/Skripta1_Transport_2011.pdf

ResearchGate | Find and share research [online]. Dostupné z: https://www.researchgate.net/figure/Li-cor-integrating-sphere-operational-schematic-diagram-Internal-left-and-external_fig4_27516002https://www.researchgate.net/figure/Li-cor-integrating-sphere-operational-schematic-diagram-Internal-left-and-external_fig4_27516002

10. Seznam obrázků a tabulek

Obrázek 1 - Gradient vodního potenciálu v rostlině a jejím okolí

Obrázek 2 – Mapa rozložení extrémně aridních a extrémně humidních oblastí na povrchu Země

Obrázek 3 – Ukázka změny srážek, potencionálního výparu, vegetační doby, záření, průměrné roční teploty, složení vegetace a půdy v Rusku od severozápadu na východ

Obrázek 4 – Změny transpirace rostliny během dne při zmenšujícím se množství vody v půdě (1 až 4). Šipky označují otevírání (šipka nahoru) nebo zavírání (šipka dolů) průduchů, které vyvolává pokles nebo růst vodní bilance rostliny. 1 – transpirace při dostatečném obsahu vody v půdě (bez omezení otevřeností průduchů); 2 – polední snížení transpirace, které je způsobené částečným zavřením průduchů; 3 – transpirace při úplném zavření průduchů přes poledne; 4 – transpirace při úplném uzavření průduchů po celý den; 5 – snížená kutikulární transpirace, která je zapříčiněná vysycháním a smršťováním listů

Obrázek 5 – Graf snášenlivosti rozsahu osmotického tlaku buněčné šťávy listů některých rostlinných druhů. Hodnoty jsou stanoveny podle nejnižšího a nejvyššího osmotického tlaku, který se u daného ekologického typu rostlin vyskytuje (názorně je to zobrazeno u lučních druhů). U lučních druhů byli změřeni tyto zástupci: 1 - hadí kořen větší (*Polygonum bistorta* L.), 2 - pampeliška lékařská (*Taraxacum officinale* auct. non Wigg.), 3 - svízel povázka (*Galium mollugo* L.) a zvonek okrouhloolistý (*Campanula rotundifolia* L.), 4 - řebríček obecný (*Achillea millefolium* L.), 5 - kozí brada luční (*Tragopogon pratensis* L.), 6 - lipnice luční (*Poa pratensis* L.), 7 - silenka šírolistá bílá (*Silene latifolia* subsp. *alba* Mill.), 8 - troskut prstnatý (*Cynodon dactylon* L.) a jílek vytrvalý (*Lolium perenne* L.), 9 - ovsík vyvýšený (*Arrhenatherum elatius* (L.) J. Presl et C. Presl subsp.)

Obrázek 6 – Přehled mechanismů přežívání xerofytů v suchých oblastech

Obrázek 7 – Citlivost buněčných funkcí na pokles vodního potenciálu a změny v rostlinách při jejich vysychání. 1- růst buněk; 2- tvorba buněčných stěn; 5 – nárůst koncentrace kyseliny abscisové; 7 – zavírání průduchů; 8 – inhibice fotosyntézy; 9 – poruchy dýchání; 12 – vadnutí; 13 – zastavení pohybu protoplazmy

Obrázek 8 - Zhoršení funkcí listů v závislosti na klesajícím relativním obsahu vody. Červené pruhy jsou průměrné hodnoty pro každou prahovou hodnotu. Obdélníky znázorňují rozmezí 25. a 75. percentilu a pruhy označují minimální a maximální hodnoty. Barvy ilustrují různé prahové hodnoty vodivosti listů (K_{leaf} – hydraulická vodivost listu, K_x – mimo-xylémová vodivost listu, K_{ox} – xylémová vodivost listu; modrá), stomatální

vodivosti (g_s ; žlutá), bodu ztráty turgoru (TLP; oranžová), ztráty kapacity rehydratace (PLRC; zelená) a poklesu F_v/F_m (PLCF; fialová). Číslo vedle každé prahové hodnoty označuje procenta ztráty funkce

Obrázek 9 - Zhoršení funkcí listů v závislosti na klesajícím vodním potenciálu. Červené pruhy jsou průměrné hodnoty pro každou prahovou hodnotu. Obdélníky ukazují rozmezí 25. a 75. percentilu a pruhy označují minimální a maximální hodnoty. Barvy ilustrují různé prahové hodnoty vodivosti listů (K_{leaf} , K_x , K_{ox} ; modrá), stomatální vodivosti (g_s ; žlutá), bodu ztráty turgoru (TLP; oranžová) a ztráty rehydratační kapacity (PLRC; zelená). Číslo vedle každé prahové hodnoty označuje procenta ztráty funkce

Obrázek 10 – Schéma termočláňkového psychrometru

Obrázek 11 - Napěťové výstupy mikrovoltmetru HR-33T: **a)** metoda rosného bodu, **b)** psychrometrická metoda, **c)** kombinace metody rosného bodu a psychrometrické

Obrázek 10 – Schéma termočláňkového psychrometru

Obrázek 12 - HR-33T Dew Point Microvoltmeter, komora C-52 (Wescor, USA)

Obrázek 13 - Princip měření vodního potenciálu pomocí tlakové komory

Obrázek 14 - Tlaková komora PMS 600

Obrázek 15 - Závislost vodního potenciálu měřeného pomocí psychrometru a pomocí tlakové komory pro šest druhů rostlin. Kvůli přehlednosti jsou body vyneseny pouze pro dva druhy *Helianthus* (prázdná kolečka) a *Corylus avellana* (plná kolečka). Plné čáry znázorňují přímky lineární regrese, které měly R^2 0,81; 0,88; 0,90; 0,76 a 0,74 pro *Corylus avellana*, *Nerium oleander*, *Pistachio vera*, *Vigna unguiculata* a dva druhy *Helianthus*

Obrázek 16 – Dopad elektromagnetického záření na list a jeho následný průchod, absorpce a odraz

Obrázek 17 – Schéma úplného odrazu elektromagnetického záření na adaxiální straně listu

Obrázek 18 – Rozdíl difúzní reflektance adaxiální a abaxiální strany listu

Obrázek 19 – Difúzní reflektance listu tabáku virginského (*Nicotiana tabacum* L. cv. Samsun) z abaxiální strany (R_B , plná čára) a z adaxiální strany (R_D , přerušovaná čára)

Obrázek 20 – Spektrum difúzní reflektance listu rostliny *Magnolia grandiflora* s vyznačenými oblastmi (modré šipky) absorpce pigmentů a vody ve viditelné a infračervené části spektra

Obrázek 21 – Schematické znázornění vlivu obsahu vody (RWC) na spektra reflektance listu

Obrázek 22 - Schématické znázornění integrační koule, uspořádání vstupů a komponenty integrační koule LI-COR 1800-12

Obrázek 23- Spektroradiometr LI-1800

Obrázek 24 - Poly-PlantPen RP 400

Obrázek 25 – Relativní absorbance chlorofylu *a*, *b* v 80 % acetonu

Obrázek 26 – Spad 502

Obrázek 27 - Vliv relativního obsahu vody (RWC) na vztah mezi obsahem extrahovatelného chlorofylu a hodnotou SPAD v listech pšenice. Odečty SPAD byly provedeny na čerstvých segmentech listu (průměr RWC = 94%, plné kruhy, souvislá čára, $y = 0,56x + 8,54$, $R^2 = 0,69$), dehydratovaných segmentech (RWC = 87%, prázdné kruhy, přerušovaná čára, $y = 0,49x + 15,48$, $R^2 = 0,68$) a rehydratovaných segmentech v destilované vodě po dobu 4 h (plné trojúhelníky, tečkovaná čára, $y = 0,58x + 6,85$, $R^2 = 0,83$)

Obrázek 28 – Závislost vodního potenciálu na výstupním napětí pro komoru 1. Zobrazena je rovnice lineární regrese s hodnotou spolehlivosti R^2

Obrázek 29 – Závislost vodního potenciálu na výstupním napětí pro komoru 2. Zobrazena je rovnice lineární regrese s hodnotou spolehlivosti R^2

Obrázek 30 – Závislost vodního potenciálu na výstupním napětí pro komoru 3. Zobrazena je rovnice lineární regrese s hodnotou spolehlivosti R^2

Obrázek 31 – Závislost vodního potenciálu na výstupním napětí pro komoru 4. Zobrazena je rovnice lineární regrese s hodnotou spolehlivosti R^2

Obrázek 32 – Závislost vodního potenciálu na výstupním napětí pro komoru 5. Zobrazena je rovnice lineární regrese s hodnotou spolehlivosti R^2

Obrázek 33 - Korelace úbytku hmotnosti a relativního obsahu vody u listů ječmene a kalibrační rovnice

Obrázek 34 - Korelace úbytku hmotnosti a relativního obsahu vody u listů tabáku a kalibrační rovnice

Obrázek 35 - Závislost RWC na době zasychání listu ječmene

Obrázek 36 - Závislost RWC na době zasychání listu tabáku

Obrázek 37 - Závislost psychrometricky změřeného vodního potenciálu na RWC u listů ječmene

Obrázek 38 - Závislost psychrometricky změřeného vodního potenciálu na RWC u listů tabáku

Obrázek 39 - Závislost vodního potenciálu změřeného pomocí tlakové metody na RWC u listů ječmene

Obrázek 40 - Závislost vodního potenciálu změřeného pomocí tlakové metody na RWC u listů tabáku

Obrázek 41 - Srovnání vodního potenciálu změřeného pomocí psychrometrické metody (Ψ_p) a pomocí tlakové metody (Ψ_t) a jeho závislost na RWC u listů ječmene

Obrázek 42 - Srovnání vodního potenciálu změřeného pomocí psychrometrické metody (Ψ_p) a pomocí tlakové metody (Ψ_t) a jeho závislost na RWC u listů tabáku

Obrázek 43 - Spektra reflektance a transmitance z adaxiální a abaxiální strany listu ječmene s RWC = 98 %. Měřeno pomocí přístroje LI-COR. Záznam spekter byl po 2 nm. RB - reflektance z abaxiální strany listu. TB - transmitance z abaxiální strany listu. RD - reflektance z adaxiální strany listu. TD - transmitance z adaxiální strany listu

Obrázek 44 - Spektra reflektance a transmitance z adaxiální a abaxiální strany listu ječmene s RWC = 54 %. Měřeno pomocí přístroje LI-COR. Záznam spekter byl po 2 nm. RB - reflektance z abaxiální strany listu. TB - transmitance z abaxiální strany listu. RD - reflektance z adaxiální strany listu. TD - transmitance z adaxiální strany listu

Obrázek 45 - Spektra reflektance a transmitance z adaxiální a abaxiální strany listu ječmene s RWC = 8 %. Měřeno pomocí přístroje LI-COR. Záznam spekter byl po 2 nm. RB - reflektance z abaxiální strany listu. TB - transmitance z abaxiální strany listu. RD - reflektance z adaxiální strany listu. TD - transmitance z adaxiální strany listu

Obrázek 46 - Spektra reflektance a transmitance z adaxiální a abaxiální strany listu tabáku s RWC = 100 %. Měřeno pomocí přístroje LI-COR. Záznam spekter byl po 2 nm. RB - reflektance z abaxiální strany listu. TB - transmitance z abaxiální strany listu. RD - reflektance z adaxiální strany listu. TD - transmitance z adaxiální strany listu

Obrázek 47 - Spektra reflektance a transmitance z adaxiální a abaxiální strany listu tabáku s RWC = 53 %. Měřeno pomocí přístroje LI-COR. Záznam spekter byl po 2 nm. RB - reflektance z abaxiální strany listu. TB - transmitance z abaxiální strany listu. RD - reflektance z adaxiální strany listu. TD - transmitance z adaxiální strany listu

Obrázek 48 - Spektra reflektance a transmitance z adaxiální a abaxiální strany listu tabáku s RWC = 0 %. Měřeno pomocí přístroje LI-COR. Záznam spekter byl po 2 nm. RB - reflektance z abaxiální strany listu. TB - transmitance z abaxiální strany listu. RD - reflektance z adaxiální strany listu. TD - transmitance z adaxiální strany listu

Obrázek 49 - Závislost vodního indexu (WI) na RWC u listů ječmene. RB udává hodnoty WI vypočítané z reflektance z abaxiální strany listu. Měřeno pomocí přístroje

LI-COR. RD udává hodnoty WI vypočítané z reflektance z adaxiální strany listu. TB udává hodnoty WI vypočítané z transmitance z abaxiální strany listu. TD udává hodnoty WI vypočítané z transmitance z adaxiální strany listu

Obrázek 50 - Závislost vodního indexu (WI) na RWC u listů tabáku. RB udává hodnoty WI vypočítané z reflektance z abaxiální strany listu. Měřeno pomocí přístroje LI-COR. RD udává hodnoty WI vypočítané z reflektance z adaxiální strany listu. TB udává hodnoty WI vypočítané z transmitance z abaxiální strany listu. TD udává hodnoty WI vypočítané z transmitance z adaxiální strany listu

Obrázek 51 - Závislost normalizovaného vegetačního diferenčního indexu (NDVI) na RWC u listů ječmene. Měřeno pomocí přístroje LI-COR. RB udává hodnoty reflektance z abaxiální strany listu. RD udává hodnoty reflektance z adaxiální strany listu. TB udává hodnoty transmitance z abaxiální strany listu. TD udává hodnoty transmitance z adaxiální strany listu

Obrázek 52 - Závislost normalizovaného vegetačního diferenčního indexu (NDVI) na RWC u listů tabáku. Měřeno pomocí přístroje LI-COR. RB udává hodnoty reflektance z abaxiální strany listu. RD udává hodnoty reflektance z adaxiální strany listu. TB udává hodnoty transmitance z abaxiální strany listu. TD udává hodnoty transmitance z adaxiální strany listu

Obrázek 53 - Závislost normalizovaného vegetačního diferenčního indexu (NDVI) na RWC u listů ječmene. Index byl vypočítán ze spekter reflektance měřených pomocí přístroje Poly-PlantPen na adaxiální straně listu

Obrázek 54 - Závislost normalizovaného vegetačního diferenčního indexu (NDVI) na RWC u listů tabáku. Index byl vypočítán ze spekter reflektance měřených pomocí přístroje Poly-PlantPen na adaxiální straně listu

Obrázek 55 - Závislost hodnoty SPAD na RWC u listů ječmene

Obrázek 56 - Závislost hodnoty SPAD na RWC u listů tabáku

Obrázek 57 - Závislost hodnoty SPAD na RWC u 7 listů ječmene (hodnoty daného listu uvedeny stejnou barvou a symbolem)

Obrázek 58 - Závislost hodnoty SPAD na RWC u 5 listů tabáku (hodnoty daného listu uvedeny stejnou barvou a symbolem)

Obrázek 59 - Závislost normalizovaného vegetačního diferenčního indexu (NDVI) měřeného pomocí přístroje Poly-PlantPen na RWC u 3 listů ječmene

Obrázek 60 - Závislost normalizovaného vegetačního diferenčního indexu (NDVI) měřeného pomocí přístroje Poly-PlantPen na RWC u 5 listů tabáku

Tabulka 1 - Vodní (Ψ), osmotický (Ψ_s) a tlakový potenciál (Ψ_p) buňky v různém hydratačním stavu, za předpokladu, že matriční a gravitační potenciál (Ψ_m) a (Ψ_g) jsou rovny 0

Tabulka 2 – Specifická doba přežití, spotřeba vody po úplném uzavření průduchů (kutikulární transpirace) a množství dostupné vody od uzavření průduchů do prvních příznaků poškození odříznutých listů různých rostlinných druhů při rychlosti vypařování $0,5 \text{ ml H}_2\text{O}\cdot\text{h}^{-1}$

Tabulka 3 - Subjektivní hodnocení míry použitelnosti různých metod a parametrů k posouzení procesů, které souvisí s vodním stavem rostliny

Tabulka 4 - Technické parametry psychrometru HR-33T Dew Point Microvoltmeter se vzorkovou komorou C-52 (Wescor, Inc., Logan, Utah 84321, USA)

Tabulka 5 - Technické parametry tlakové komory PS 600 (PMS Instrument Company, Albany, USA)

Tabulka 6 – Přehled dalších indexů používaných pro stanovení obsahu vody v rostlinách. V celé tabulce R značí reflektanci v příslušné vlnové délce

Tabulka 7 - Tabulka významných studií v oblasti použití optických indexů rostlin

Tabulka 8 - Technické parametry přístroje spektrometr LI-1800 a integrační koule LI-COR 1800-12 (LI-COR, Nebraska, USA)

Tabulka 9 – Indexy, které lze pomocí Poly-PlantPen RP 400 změřit. R značí reflektanci v příslušné vlnové délce

Tabulka 10 - Technické parametry přístroje Poly-PlantPen RP 400 (Photon Systems Instruments (PSI), Drásov, ČR)

Tabulka 11 - Technické parametry SPAD 502 (Konica Minolta Sensing, Inc., Osaka, Japan)

Tabulka 12 - Změny v hodnotě SPAD měřené pomocí přístroje SPAD 502 v reakci na změnu relativního obsahu vody v listu. Měřené listy byly od rostlin pšenice odříznuty brzo ráno. RWC a hodnoty SPAD byly změřeny u listů hned po odřezání, u dehydratovaných listů a poté u plně turgidních listů, které byly rehydratovány v destilované vodě po dobu 4 h. Hodnoty v závorkách představují standardní chybu měření