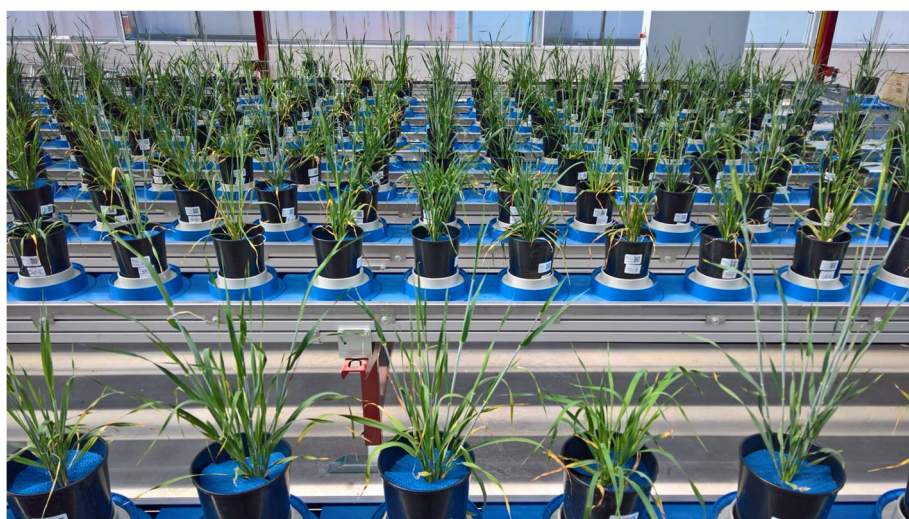


2024

Ústav výzkumu globální změny AV ČR, v. v. i.



CERTIFIKOVANÁ METODIKA



Fenotypování jarního ječmene na odolnost vůči suchu

Karel Klem¹, Hana Findurová¹, Klára Panzarová², Jaromír Pytela², Martin Trtílek², Petr Holub¹

¹ Ústav výzkumu globální změny AV ČR, v. v. i., Bělidla 986/4a, 603 00 Brno

² PSI (Photon Systems Instruments), spol. s r.o., Drásov 470, 664 24 Drásov

Dedikace:

Metodika je výsledkem řešení výzkumného projektu NAZV č. QK1910197 „Strategie minimalizace dopadu sucha na udržitelnou produkci a sladovnickou kvalitu ječmene“

Oponenti:**Ing. Olga Dvořáčková**

Oddělení zkoušek užitné hodnoty

Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský

Hroznová 63/2, Pisárky, 603 00 Brno

doc. Dr. Ing. Pavlína Smutná

Ústav pěstování, šlechtění rostlin a rostlinolékařství

Mendelova univerzita v Brně

Zemědělská 1665/1, 613 00 Brno

Metodika byla certifikována Ústředním kontrolním a zkušebním ústavem zemědělským (ÚKZÚZ), pod osvědčením: 023208/2024

ISBN: 978-80-87902-39-4

Abstrakt

Odolnost rostlin/plodin vůči suchu představuje komplex vlastností, které se různě uplatňují v závislosti na typu, závažnosti a načasování sucha. Proto je nutné poměrně komplexní hodnocení morfologické a fyziologické fenotypové reakce na suchu. Tato metodika se zaměřuje na vývoj postupů a vyhodnocení komplexní fenotypové odezvy genotypů jarního ječmene na suchu pomocí neinvazivně měřených parametrů založených na červeno-zeleno-modrém (RGB) zobrazování, termálním infračerveném zobrazování a zobrazovací fluorescence chlorofylu měřených v rámci automatizované fenotypovací platformy. Vývoj metodiky byl založen na experimentu, ve kterém byly sledovány dynamické změny odezvy šesti genotypů ječmene, reprezentujících širokou škálu tolerance k suchu (od genotypu velmi citlivého až po genotyp velmi tolerantní), na kontinuální vysychání až k bodu vadnutí a následné opětovné zavlažení. Byly identifikovány tři kritické termíny v průběhu sucha a opětovného zavlažení, klíčové pro identifikaci odolnosti jarního ječmene vůči suchu: i) dosažení 50% hladiny dostupné půdní vody, ii) dosažení bodu vadnutí, iii) úplná regenerace rostlin po opětovném zavlažení. Jednotlivé sledované parametry založené na zobrazovacích metodách ovšem ukázaly potenciál pro hodnocení citlivosti na suchu v různých termínech od počátku vysychání či regenerace. Korelace s relativní odezvou výnosu se postupně zvyšovala u projekční listové plochy hodnocené ze strany (SPA) a dosáhla maxima v bodě úplné regenerace po opětovném zavlažení. Aktuální kvantový výtěžek fotosystému II (Φ_{PSII}) vykazoval nejvyšší korelaci s relativním výnosem zrna kolem bodu vadnutí. Naproti tomu relativní rozdíl teploty listů vůči teplotě okolního vzduchu (T_{diff}) vykazoval vysokou korelaci s výnosovou odezvou na suchu dříve, a to již při dosažení 50% úrovně dostupné vody pro rostliny v půdě. Nejvyšší korelace s relativní výnosovou odezvou byly získány u barevné analýzy RGB v bodě vadnutí a po regeneraci, zejména u relativního podílu khaki, béžového, tmavě zeleného a olivově zeleného odstínu. Vícenásobná regrese s parametry poskytujícími Pearsonův korelační koeficient $R > 0,5$ mírně zlepšila odhad relativní odezvy výnosu na suchu, ale zajistila především významné zlepšení odhadu absolutního výnosu zrna při stresu suchem, přičemž přesnost odhadu se v obou případech pohybovala okolo 90 %. Tato metodika ukazuje, že použití kombinace fenotypovacích metod charakterizujících různé morfologické a fyziologické znaky umožňuje nejen hodnocení tolerance k suchu (na základě relativní výnosové reakce na suchu), které je klíčové pro výběr genetických zdrojů pro následný šlechtitelský proces, ale také umožňuje testovat výnosovou výkonnost nových genotypů při stresu suchem.

Klíčová slova: jarní ječmen; *Hordeum vulgare*; sucho; odolnost k suchu; fenotypování; RGB zobrazování; zobrazovací fluorescence chlorofylu; termální infračervené zobrazování; výnos.

Abstract

Drought tolerance is a complex of traits that vary depending on the type, severity, and timing of drought. Therefore, a relatively comprehensive assessment of the morphological and physiological phenotypic response to drought is necessary. This methodology focuses on the development of procedures and evaluation of the complex phenotypic response of spring barley genotypes to drought using non-invasively measured parameters based on red-green-blue (RGB) imaging, thermal infrared imaging, and chlorophyll fluorescence imaging measured within an automated phenotyping platform. The development of the methodology was based on an experiment in which the dynamic changes in the response of six barley genotypes, representing a wide range of drought tolerance (from a very sensitive to a very tolerant genotype), to continuous drying until the point of wilting and subsequent re-watering were monitored. Three critical time points during drought and re-watering were identified, key for detecting drought tolerance: i) reaching 50% of available soil water, ii) reaching wilting point, iii) full plant recovery after re-watering. However, the different imaging-based parameters monitored showed potential for assessing drought sensitivity at different time points from the onset of drying or recovery. The correlation with relative yield response increased progressively for the side projected leaf area (SPA) and reached a maximum at the point of complete recovery after re-watering. The actual quantum yield of photosystem II (Φ_{PSII}) showed the highest correlation with relative grain yield around the wilting point. In contrast, the relative difference of leaf temperature to ambient air temperature (T_{diff}) showed a high correlation with yield response to drought earlier, as early as at the point of reaching 50% of the level of soil water available to plants. The highest correlations with relative yield response were obtained for RGB colour analysis at the wilting point and after recovery, especially for the relative proportion of khaki, beige, dark green, and olive-green hues. Multiple regression with parameters providing a Pearson correlation coefficient $R > 0.5$ slightly improved the estimation of the relative yield response to drought, but mainly provided a significant improvement in the estimation of absolute grain yield under drought stress, with an estimation accuracy of around 90% in both cases. This methodology shows that the use of a combination of phenotyping methods in characterising different morphological and physiological traits not only allows the assessment of drought tolerance (based on relative yield response to drought), which is crucial for the selection of genetic resources for subsequent breeding, but also allows the testing of the yield performance of new genotypes under drought stress.

Keywords: spring barley; *Hordeum vulgare*; drought; drought tolerance; phenotyping; RGB imaging; chlorophyll fluorescence imaging; thermal infrared imaging; yield.

Obsah

| | | |
|-------|--|----|
| 1 | Cíle metodiky..... | 7 |
| 2 | Vlastní popis metodiky | 8 |
| 2.1 | Úvod..... | 8 |
| 2.2 | Odolnost vůči suchu | 12 |
| 2.2.1 | Podmínky prostředí definující typ sucha..... | 13 |
| 2.2.2 | Mechanismy odolnosti vůči suchu | 15 |
| 2.2.3 | Kritická období výskytu sucha | 19 |
| 2.3 | Metody fenotypování odolnosti k suchu | 23 |
| 2.3.1 | RGB zobrazování | 24 |
| 2.3.2 | Termální infračervené zobrazování..... | 25 |
| 2.3.3 | Zobrazovací fluorescence chlorofylu | 27 |
| 2.4 | Materiál a metody..... | 30 |
| 2.4.1 | Kultivace rostlin | 30 |
| 2.4.2 | Platforma pro fenotypování..... | 31 |
| 2.4.3 | RGB zobrazování | 33 |
| 2.4.4 | Zobrazovací fluorescence chlorofylu | 33 |
| 2.4.5 | Termální infračervené zobrazování..... | 34 |
| 2.4.6 | Skližeň..... | 35 |
| 2.4.7 | Statistická analýza dat | 35 |
| 2.5 | Výsledky..... | 36 |
| 2.5.1 | Vlhkost půdy | 36 |
| 2.5.2 | Výnos zrna..... | 37 |
| 2.5.3 | Projekční listová plocha | 38 |
| 2.5.4 | Barevná analýza..... | 39 |
| 2.5.5 | Zobrazovací fluorescence chlorofylu | 43 |
| 2.5.6 | Termální infračervené zobrazování..... | 44 |
| 2.5.7 | Korelace mezi fenotypovanými znaky a odolností vůči suchu | 45 |
| 2.5.8 | Odhad tolerance k suchu a absolutního výnosu zrna pomocí modelu vícenásobné regrese..... | 49 |
| 2.6 | Diskuse | 50 |
| 2.7 | Závěry..... | 55 |
| 3 | Shrnutí dosažených výsledků a přínosy pro praxi | 56 |
| 4 | Srovnání novosti postupů..... | 57 |
| 5 | Popis uplatnění metodiky..... | 57 |
| 6 | Ekonomické aspekty uplatnění metodiky | 58 |

| | | |
|---|--|----|
| 7 | Seznam použité související literatury | 60 |
| 8 | Seznam publikací, které předcházely metodice | 71 |

1 Cíle metodiky

Hlavním cílem této metodiky bylo navrhnout fenotypovací postupy kombinující několik neinvazivních zobrazovacích metod k vyhodnocení odolnosti genotypů jarního ječmene vůči suchu. Vzhledem ke komplexitě znaků, přispívajících k odolnosti ječmene vůči suchu bylo jedním z cílů vyvíjené metodiky poskytnutí komplexní charakteristiky jednotlivých znaků (založených morfologicky, fyziologicky či biochemicky) a určení jejich významu v různých fázích sucha a regenerace rostlin prostřednictvím zkoumání dynamiky změn sledovaných parametrů a vztahu k výnosu zrna. Jedním z hlavních cílů bylo rovněž identifikovat a charakterizovat klíčové časové body v průběhu vysychání půdy a následném opětovném zavlažení, aby bylo možné zjednodušit návrh fenotypovacího experimentu. Identifikace těchto klíčových časových bodů měla za cíl rovněž zlepšení přenositelnosti metodiky do polního fenotypování, kde není možná tak vysoká frekvence měření jako u automatizovaných fenotypovacích platforem.

Snahou proto bylo vytvořit jednoduchý, ale zároveň robustní model, založený na nižší frekvenci měření, umožňující predikci relativní výnosové reakce na suchu a současně odhad potenciálního výnosu genotypů ječmene v podmínkách sucha. Hlavní motivací pro současný odhad relativního a absolutního výnosu v podmínkách sucha je především potřeba, aby šlechtitelé měli informace o tom, zda je odolnost vůči suchu úzce spojena s výnosovou penalizací, což by předem naznačilo možný neúspěch plánovaného hybridizačního procesu, a současně aby bylo možné vyselektovat pro následné nákladné polní zkoušky pouze genotypy, které kromě odolnosti k suchu dávají rovněž předpoklad vysokého výnosového potenciálu v podmínkách sucha.

Zobrazovací metody použité při vývoji metodiky byly vybrány tak, aby se na jedné straně jednalo o výkonné, neinvazivní a relativně dostupné metody, které jsou zároveň přenositelné (alespoň s určitými omezeními) i do polního fenotypování. Současně se jedná o metody, které ve své kombinaci umožňují vyhodnocení vlivu sucha na růst, fyziologii rostliny i na změny obsahu fotosyntetických pigmentů a jsou tak schopné vyhodnotit různé znaky podílející se na komplexní odolnosti ječmene vůči stresu suchem. Jedním z cílů vývoje metodiky bylo rovněž objasnit, do jaké míry je pro vyhodnocení odolnosti k suchu nezbytná fáze opětovného zavlažení a sledování regenerace rostlin.

2 Vlastní popis metodiky

2.1 Úvod

Meteorologické extrémny, jako je sucho či velmi intenzivní srážky, extrémní teploty nebo silný vítr, ohrožují lidskou společnost po celém světě a v celé její historii. V důsledku klimatické změny se však očekává, že jejich četnost, intenzita i délka trvání se v budoucnu bude nadále zvyšovat (IPCC, 2023; Xu a kol., 2019). Sucho je považováno za nejhorší environmentální stres, který snižuje produktivitu plodin více než jakýkoli jiný stres (Lambers a Oliveira, 2019). Dlouhodobé studie ukazují, že suchem jsou nejvíce ohroženy hlavní pěstitelské oblasti, přičemž hlavní příčinou je buď nerovnoměrné rozložení srážek, nebo zvýšená evapotranspirace v důsledku rostoucích teplot (Trnka a kol., 2016). Předpokládá se, že kombinovaný účinek nerovnoměrného rozložení srážek a zvyšující se evapotranspirace zapříčiněné rostoucí teplotou znásobí budoucí problémy se suchem pro rostlinnou výrobu v mnoha zemědělských oblastech světa (Dai, 2011). Zemědělské sucho je definováno jako absence dostatečného množství vláhy potřebného pro normální růst a vývoj rostlin, aby mohly dokončit svůj životní cyklus (Manivannan a kol., 2008). Sucho zásadním způsobem ovlivňuje růst rostlin a jejich vývoj, s následným omezením rychlosti růstu a akumulace biomasy. Hlavními důsledky působení sucha je pak snížení rychlosti buněčného dělení a dlouhivého růstu buněk, redukce velikosti listů, omezení prodlužovacího růstu nadzemních částí i kořenů, narušení přirozeného denního cyklu otevírání a zavírání průduchů, bilance vody a živin s následným poklesem produktivity rostlin (Farooq a kol., 2012).

Šlechtění zemědělských plodin na odolnost vůči suchu se proto stává jednou z hlavních výzev pro současné zemědělství v souvislosti s klimatickou změnou. Znaky tolerance k suchu jsou však často skryté nebo obtížně hodnotitelné, především pokud souvisejí s architekturou kořenů (např. hloubkou zakořenění či hustotou kořenů), fyziologickými (např. průduchovou vodivostí a efektivitou využití vody) nebo biochemickými parametry (např. osmotickým přizpůsobením či antioxidační kapacitou) (Tuberosa, 2012). Projevy sucha se také liší délkou, načasováním (působení sucha v různých fázích růstu a vývoje rostlin), intenzitou, nebo také distribucí dostupnosti vody v půdním profilu, takže pro různé typy sucha jsou relevantní různé znaky odolnosti/tolerance. Kromě toho má selekce na jeden specifický znak často negativní důsledky na výnos, jak se ukázalo například při selekci na zvýšenou efektivitu využití vody v posledních desetiletích (Blum, 2009). To je hlavní důvod, proč hledání univerzální tolerance k suchu nejčastěji pomocí transformace jednoho genu selhává a proč jsou zapotřebí přístupy zaměřené na komplexní znaky přizpůsobené specifickým požadavkům v různých fázích růstu

plodin (Passioura, 2012). Navíc většina znaků spojených s tolerancí k suchu může mít jak pozitivní, tak negativní vliv na růst a výnos v závislosti na scénářích sucha a interakcích s dalšími klimatickými podmínkami, jako je vodní sytostní doplněk vzduchu (ovlivněný zejména relativní vlhkostí vzduchu a jeho teplotou), a tím i potenciál výparu, světlo nebo způsoby pěstování zemědělských plodin (Tardieu, 2012). Proto lze za skutečně odolný vůči suchu považovat pouze genotyp, který poskytuje vyšší výnos zrna ve srovnání s ostatními ve specifických podmínkách sucha (Farooq a kol., 2012), a je třeba použít specifické šlechtitelské strategie pro různá prostředí z pohledu rozložení dostupnosti vody v čase či v hloubkovém profilu půdy (Bodner a kol., 2015).

Šlechtění plodin na odolnost vůči suchu dosáhlo v posledních desetiletích významného pokroku (Cattivelli a kol., 2008). S rozvojem technik molekulární biologie bylo možné lépe charakterizovat genom rostlin a byly zavedeny přesné selekční techniky, jako je selekce s podporou molekulárních markerů (Ghatak a kol., 2017; Heffner a kol., 2009). Navzdory vysoké přesnosti zůstává genomický přístup omezen svými náklady a často silnými interakcemi s prostředím, které se promítají do variabilní exprese genů (Collard a Mackill, 2007). Aby bylo skutečně využito obrovského potenciálu genomické selekce, musí být tyto techniky založené na použití molekulárních markerů kombinovány s postupy vysoce výkonného fenotypování rostlin (High-Throughput Plant Phenotyping, HTPP). Vzhledem ke komplexnímu založení velké části znaků podílejících se na odolnosti/toleranci k suchu se proto má za to, že automatizované metody HTPP mají velký potenciál ve šlechtění nových genotypů odolných k suchu či jiným nepříznivým faktorům prostředí. Jednotlivé postupy využívané v HTPP totiž umožňují hodnotit řadu skrytých nebo obtížně hodnotitelných znaků a jejich dynamiku, účinnost a stabilitu při různých kombinacích faktorů prostředí, které jsou potřebné k identifikaci různých ideotypů tolerance k suchu (Negin a Moshelion, 2016). Hlavní výzvou v oblasti HTPP zaměřeného na toleranci k suchu však zůstává výběr měřených znaků a jejich interpretace. Tyto znaky musí odrážet projevy tolerance k suchu ve výnosu plodin, musí být dostatečně citlivé, aby ukázaly relativně malé rozdíly mezi genotypy, a musí být nedestruktivní a snadno měřitelné. Nedávné studie pak ukázaly značný potenciál HTPP pro takzvané celogenomové asociační studie (Genome-Wide Association Studies, GWAS), které představují perspektivní nástroj pro vyhodnocení kvantitativně založených znaků založených na více genech s malým účinkem (Xiao a kol., 2022). Vzhledem ke komplexitě znaků, které podmiňují toleranci k suchu a v důsledku toho prokázané nízké účinnosti selekce založené

pouze na genetických markerech, se HTPP stává v zásadě klíčovým prvkem pro významnější pokrok v oblasti šlechtění na toleranci k suchu (Bhat a kol., 2020).

HTPP zahrnuje využití pokročilých nástrojů a metod pro kvantitativní měření fenotypu rostlin a jejich popis tak, aby bylo možné pochopit komplexní interakci mezi genotypem a fenotypem na různých úrovních integrace, např. od subcelulární, buněčné, přes tkáňovou nebo orgánovou, až po úroveň celé rostliny (Granier a Vile, 2014). V minulosti se fenotyp rostliny měřil manuálními metodami, například pomocí pravítka, váhy, skeneru a dalšími dostupnými přístroji. Dnes ale HTPP využívá četné neinvazivní a většinou zobrazovací senzory pro analýzu interakce genotypu s prostředím (Fahlgren a kol., 2015), která se projevuje jako fenotyp, s cílem urychlit identifikaci rostlin, které mají vysokou toleranci k biotickému nebo abiotickému stresu a poskytnout vysoce výnosné genotypy, což by mělo pomoci k dosažení celkového cíle vysoké udržitelnosti zemědělství v podmínkách probíhající klimatické změny (Araus a Kefauver, 2018).

Zobrazovací techniky nabízejí širokou škálu použitelných nedestruktivních metod, které umožňují dynamické hodnocení reakcí na abiotické a biotické faktory. Mezi nejčastěji používané patří RGB zobrazování (digitální barevné zobrazování v pásmech červené – zelené a modré barvy), zobrazovací fluorescence chlorofylu, termální infračervené (IR) a hyperspektrální zobrazování (Yang a kol., 2020). Z výsledků použití těchto zobrazovacích metod lze odvodit řadu znaků, jako je výška rostliny, listová plocha, biomasa, stav vody v rostlině, účinnost fotosyntézy, transpirace nebo obsah pigmentů (Araus a Kefauver, 2018; Tolley a kol., 2020; Kim a kol., 2020). Nicméně pro adekvátní popis komplexní povahy odolnosti vůči suchu je nezbytné kombinovat různé neinvazivní (většinou zobrazovací) metody HTPP, které umožňují dynamické hodnocení změn a interakcí fyziologických, biochemických a morfologických znaků (Ghanem a kol., 2015).

Přestože RGB zobrazování představuje jednu z nejlevnějších a technologicky nejméně náročných fenotypovacích metod, jeho výhody spočívají ve vysoké výkonnosti a jednoduchosti analýzy, přičemž je možné v jednom kroku vyhodnocovat jak morfologické charakteristiky rostlin, tak i barevné změny způsobené změnami v obsahu pigmentů v listech (Kim a kol., 2021). Jednou z prvních a nejdůležitějších reakcí rostlin na suchu je zhoršená akumulace uhlíku, která dále vede ke snížení počtu buněk a růstu pletiv, a tím k omezení růstu celých rostlin (Tardieu a kol., 2011). RGB zobrazování přitom představuje jednu z nejspolehlivějších metod pro nedestruktivní a vysoce výkonnou analýzu rychlosti růstu, přičemž současně lze realizovat barevnou analýzu, která poskytuje informace o změnách

obsahu pigmentů a průběhu senescence (Furbank a Tester, 2011). Neilson a kol. (2015) prokázali velmi dobrou schopnost odhadu produkce nadzemní biomasy pomocí RGB zobrazování při fenotypování odezvy rostlin na výživu dusíkem a nedostatek vody. RGB zobrazování dále poskytuje poměrně účinný nástroj pro vyhodnocení dopadu sucha prostřednictvím hodnoty odstínu barvy (hue) (Genangeli a kol., 2023) nebo specificky pro vyhodnocení vlivu sucha na senescenci pomocí analýzy barevné škály nejčastěji se vyskytujících odstínů barev od zelené až po hnědou (Findurová a kol., 2023).

Zobrazovací fluorescence chlorofylu je účinným nástrojem fenotypování rostlin, který umožňuje zobrazovat fyziologické jevy související s fotosyntetickým aparátem, zejména pak stav světlosběrného komplexu a souvisejícího fotosyntetického metabolismu (Yao a kol., 2018). HTPP se zaměřuje především na měření "rychlých" parametrů, které nevyžadují časově náročnou adaptaci na tmu, mohou tak být měřeny prakticky kontinuálně na fenotypovací lince a současně poskytují dostatečnou citlivost odezvy na působení stresových podmínek, jako je například aktuální kvantový výtěžek fotosystému II (Φ_{PSII} ; Murchie a Lawson, 2013), který poskytuje dostatečný kontrast mezi genotypy tolerantními k suchu a genotypy citlivými na sucho (Mishra a kol., 2012).

Infračervené termální zobrazování je jedním z nejslibnějších nástrojů pro nepřímou indikaci aktuálního stavu průduchové vodivosti, rychlosti transpirace a efektivity využití vody (Pineda a kol., 2021). Již dříve bylo prokázáno, že termální infračervené snímkování má potenciál přímo odhadnout genotypové rozdíly v relativním obsahu vody (RWC) nebo rychlosti asimilace CO_2 v reakci na sucho (Klem a kol., 2016).

Přestože je ječmen jarní (*Hordeum vulgare* L.) ve srovnání s jinými obilovinami relativně tolerantní k suchu (Jamieson a kol., 1995), bylo zjištěno, že jeho výnosy se při vystavení vodnímu deficitu mohou snižovat až o 41-75 % (Samarah, 2005; Sánchez-Díaz a kol., 2002). Dosavadní vývoj fenotypování tolerance k suchu u ječmene se zaměřoval především na jednotlivé metody nebo kombinace maximálně dvou metodických přístupů, které obvykle umožňují hodnocení pouze jednotlivých znaků (Cseri a kol., 2013; Neumann a kol., 2015; Rischbeck a kol., 2017). Teprve v poslední době byla věnována zvýšená pozornost komplexnímu hodnocení charakteru víceznakové tolerance k suchu s využitím kombinace více fenotypovacích metod, které umožňují odhad morfologické, fyziologické a biochemické odezvy na sucho, a identifikaci relevantních znaků tolerance k suchu (Marchetti a kol., 2019), a také zpřesněný odhad jejich významu pro odezvu výnosu na sucho (Mikołajczak a kol., 2020).

2.2 Odolnost vůči suchu

Odolnost nebo také rezistenci vůči suchu je možné vnímat ze dvou odlišných pohledů. Z pohledu pěstitel je to především očekávání, že odolná odrůda bude poskytovat i za sucha vysoké výnosy (nebo jen mírně snížené ve srovnání s průměrem), a to za jakéhokoliv typu sucha, tedy bez ohledu na termín/růstovou fázi kdy sucho nastane, půdní podmínky, hladinu podzemní vody, či to, zda je sucho způsobeno vysokými ztrátami vody výparem při nízké relativní vzdušné vlhkosti a vysokých teplotách nebo nedostatkem srážek. Naproti tomu pohled šlechtitele vidí v odolnosti vůči suchu soubor velmi složitých znaků, které jsou založeny na změně metabolismu, fyziologie i morfologie rostliny a jsou do značné míry podmíněny kvantitativně, tedy více geny s malým účinkem. V obou případech jsou očekávání často příliš vysoká a alespoň při současných možnostech šlechtění obtížně dosažitelná. Ve skutečnosti bude vyšlechtění univerzální odrůdy, která by byla schopná v sobě kombinovat více znaků odolnosti vůči suchu tak, aby vykazovala odolnost vůči různým typům sucha z pohledu jejich termínu či charakteru, a současně adekvátní výnosovou úroveň i v podmínkách s dostatkem vody, velmi obtížné. Důvodem je především skutečnost, že jednotlivé znaky odolnosti vůči suchu mohou často stát proti sobě nebo se dokonce vylučovat a pokud pak mohou být dílčí znaky kombinovány, pak je to často na úkor výnosových či kvalitativních parametrů. Typický negativní vztah byl například nalezen mezi vysokou efektivitou využití vody a výnosovým potenciálem genotypu (Blum, 2009). Negativní vztah je rovněž patrný mezi raností odrůd (úniková strategie vhodná proti pozdnímu suchu ke konci vegetace) a stay-green znakem či odolností k předčasné senescenci (strategie snižující negativní efekt sucha ve fázi přechodu do generativní fáze – kvetení až začátek zrání). Proto musí být snaha o vytvoření genotypů s komplexní odolností vůči suchu, alespoň prozatím, nahrazena šlechtěním specifických odrůd, které budou využívat jen vybrané znaky odolnosti, a budou tak nejlépe přizpůsobené odolávat konkrétnímu typu sucha v kombinaci s konkrétními podmínkami daného stanoviště. To ovšem znamená nutnost velmi dobrého poznání konkrétních půdních a klimatických podmínek stanoviště, pro které se šlechtí.

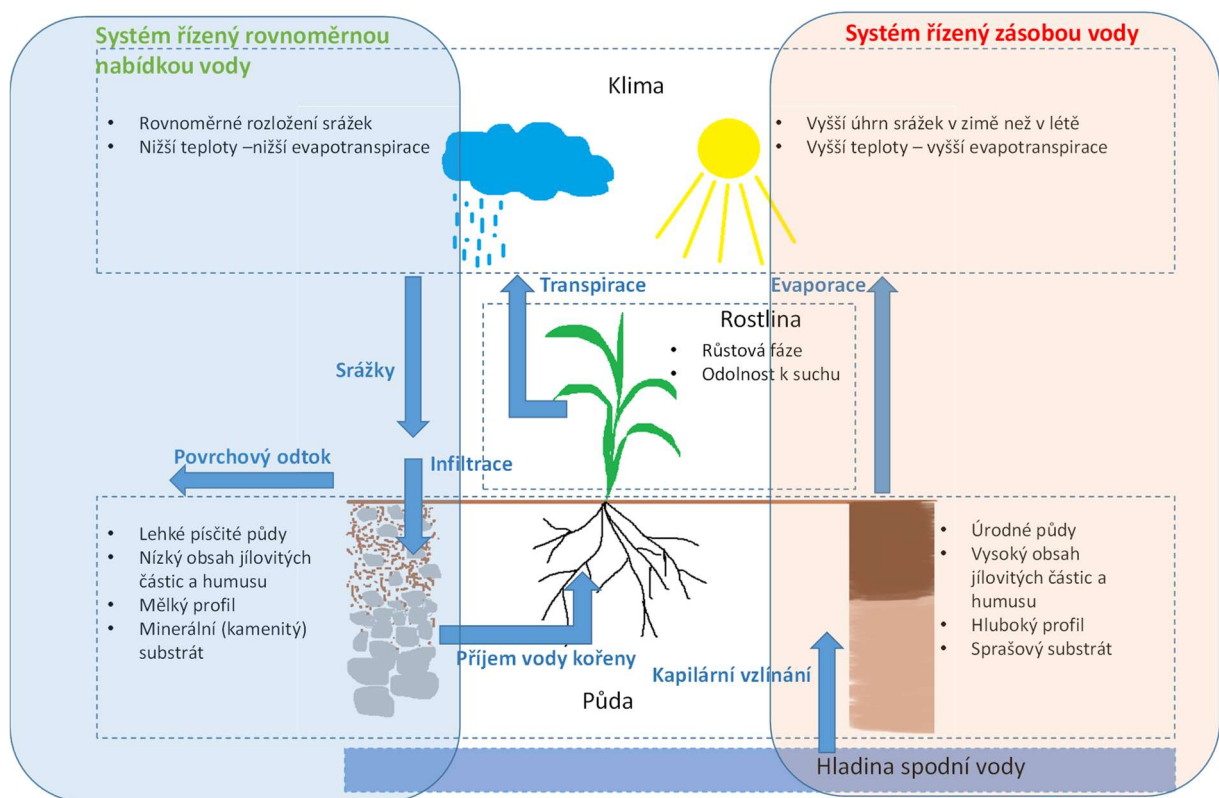
Z těchto zkušeností vyplývá, že šlechtění odrůd musí nejprve předcházet jednoznačné stanovení podmínek a typu sucha, pro které je odrůda určena, a následně je nutno šlechtit na jeden nebo několik málo znaků odolnosti vůči suchu, které odpovídají cílovým podmínkám, a konečně také velmi pečlivě zvažovat přínosy a negativa daných znaků zejména pak z pohledu výnosu a kvality produkce. Pro pěstitel to pak znamená vybírat odrůdu tak, aby co nejlépe

odpovídala kombinaci klimatických a půdních podmínek, včetně hladiny podzemní vody na daném stanovišti, které pak definují nejčastější typ sucha vyskytující se na daném stanovišti.

2.2.1 Podmínky prostředí definující typ sucha

Prostředí, ve kterém probíhá růst rostlin, je z pohledu dostupnosti vody určováno především klimatickými podmínkami, zejména pak množstvím a rozložením srážek v průběhu roku a teplotami, které určují ztráty vody evapotranspirací (výpar z půdy a rostlin), dále půdními podmínkami, zejména pak půdním druhem a obsahem organické hmoty, a konečně pak také hladinou podzemní vody. Pokud dokážeme co nejlépe popsat prostředí pro rostliny z pohledu dostupnosti vody definované těmito třemi klíčovými faktory, je možné vybrat také nejvhodnější typ odolnosti, který je schopen překonávat specifický typ sucha a minimalizovat tak vliv na výnos a kvalitativní parametry. Sucho velmi zjednodušeně vzniká, pokud výdej vody v podobě evapotranspirace přesáhne množství vody, které je doplňováno ve formě srážek nebo je uchováno v půdě či zásobách podzemní vody zejména ze zimního období. Z pohledu kombinace půdního prostředí a klimatických podmínek pak můžeme definovat dva základní nebo spíše hraniční systémy zásobování rostlin vodou, mezi kterými existuje řada přechodných variant: a) systém řízený rovnoměrnou nabídkou vody po celé vegetační období, b) systém řízený zásobou vody v půdě či hladinou podzemní vody (Bodner a kol., 2015). Systém řízený rovnoměrnou nabídkou vody představují obvykle písčité půdy na minerálních substrátech s nízkým obsahem organické hmoty a jílovitých částic a obvykle také s nízkou hladinou podzemní vody (obr. 1). Tyto půdy nejsou schopné zachytit větší objem vody a pro dostatečné zásobení rostlin vodou je nezbytné rovnoměrné rozdělení srážek po celé vegetační období. Tyto podmínky se často (ale ne výhradně) nacházejí ve vyšších chladnějších polohách a vyznačují se proto nižším výdejem vody v podobě evapotranspirace a vyššími ročními úhrny srážek, které jsou také za běžných podmínek rovnoměrněji rozložené (Českomoravská vrchovina, podhorské oblasti). V případě teplého období beze srážek dochází u tohoto systému k velmi rychlému poklesu dostupnosti vody. Sucho tedy může nastat v zásadě v kterémkoliv období vegetace poměrně rychle, ale vzhledem k průběhu teplot a evapotranspirace je častější až ve druhé polovině vegetace, tedy po přechodu do generativní fáze. Druhý systém (řízený zásobou vody) je charakteristický úrodnými půdami, které se vyznačují vyšším obsahem organické hmoty, jílovitých i hlinitých částic, a jsou proto schopné uchovat relativně velké množství vody zejména ze zimního období (obr. 1). Jedná se nejčastěji o teplé oblasti s nižším úhrnem srážek a současně vysokým výdejem vody evapotranspirací. U tohoto systému za běžných podmínek zásoba vody ze zimního období postupně klesá a je častý nedostatek vody především ke konci

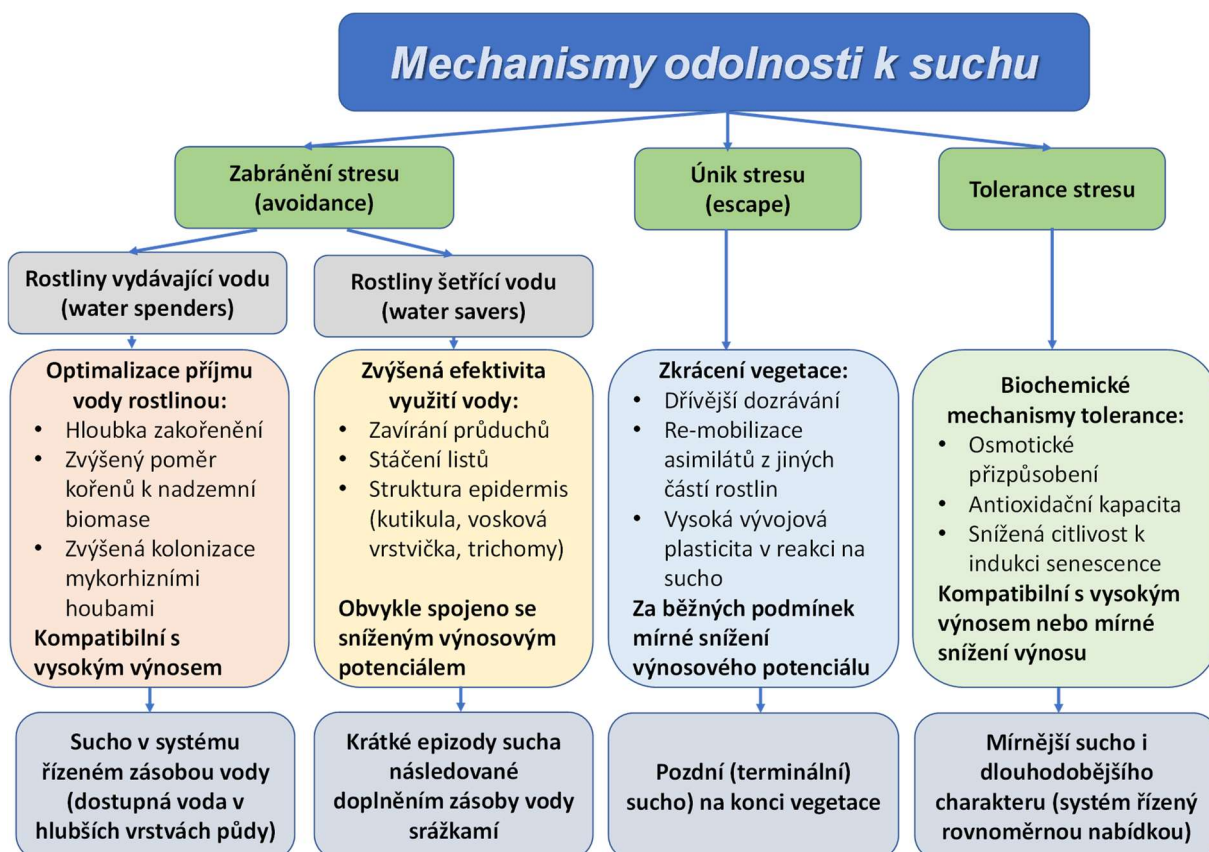
vegetace (tzv. terminální sucho). Pokud ovšem půdní zásoba vody nebyla dostatečně doplněna zimními srážkami nebo srážkami v průběhu vegetace, nastává sucho v tomto systému i dříve a významné škody může způsobovat zejména pokud nastupuje již v době kvetení a počátku zrání. V případě, že hladina podzemní vody není příliš hluboko je systém řízený zásobou vody schopen částečně pokrýt potřebu vody pro rostliny kapilárním vztlínáním a důležitým znakem je zde proto hloubka zakořenění rostlin.



Obrázek 1. Schématické znázornění bilance vody v systému atmosféra-půda-rostlina a vymezení dvou hraničních systémů z pohledu zásobení rostlin vodou: systém řízený rovnoměrnou nabídkou vody (vlevo) a systém řízený zásobou vody (vpravo).

2.2.2 Mechanismy odolnosti vůči suchu

Znaky podmiňující odolnost rostlin vůči suchu byly rozděleny (Lewitt, 1980) do tří základních skupin zahrnujících: a) zabránění dehydratace, b) únikovou strategii, c) tolerance dehydratace (obr. 2).



Obrázek 2. Schematické znázornění rozdělení mechanismů odolnosti rostlin k suchu, vazby na výnosový potenciál a uplatnění těchto mechanismů při různých typech sucha (upraveno a doplněno dle Lewitt, 1980).

Nejvýznamnější skupinu mechanismů odolnosti k suchu charakterizuje zabránění dehydrataci (stress avoidance). V této skupině lze ovšem identifikovat dvě zásadně odlišné podskupiny znaků. První podskupinu reprezentují znaky, které zlepšují příjem vody v podmínkách její snížené dostupnosti. Patří sem především zvýšená hloubka zakořenění, zvýšení poměru kořenů vůči nadzemní biomase, zvýšená hustota kořenů a zvýšená schopnost kolonizace kořenů mykorhizními houbami. Druhá podskupina je pak charakterizována znaky snižujícími výdej vody rostlinou, jako je např. uzavírání průduchů či stáčení listů. Přestože se zdá být snížení výdeje vody (uzavíráním průduchů nebo morfologickými změnami jako je

stáčení listů) a zvýšení efektivity využití vody perspektivním znakem pro odolnost rostlin vůči suchu, opak je pravdou. Pokles transpirace, který je nezbytný pro zvýšení efektivity využití vody je totiž spojený s poklesem výnosového potenciálu, a proto je nutné věnovat pozornost především podskupině znaků zlepšujících příjem vody, tedy znakům souvisejícím s kořenovým systémem (Blum, 2009). Je nutné si ovšem uvědomit, že tyto znaky jsou dobře využitelné v podmínkách systému řízeného zásobou vody (voda je ve zvýšené míře dostupná v hlubších vrstvách půdy), zatímco pro systém řízený rovnoměrnou nabídkou jsou tyto znaky nevhodné, protože v tomto případě směrem do větší hloubky množství dostupné vody klesá.

Šlechtění zaměřené na zlepšení příjmu vody prostřednictvím kořenového systému je značně náročné, protože je kořenový systém skrytý v půdě a každá z metod hodnocení kořenového systému má své nedostatky. Přesto má šlechtění na zlepšený kořenový systém velký potenciál zvýšení odolnosti k suchu zejména pro významné pěstitelské oblasti s úrodnými půdami (Wasson a kol., 2012). Ke znakům, které mohou zlepšit využití zásoby vody v hlubších vrstvách půdy, patří především větší hloubka zakořenění, vyšší větvení kořenů v hlubších vrstvách půdy a vyšší hustota a větší délka kořenového vlášení (Wasson a kol., 2012). Jak ukazují některé studie, genové zdroje, jako jsou např. krajové odrůdy, představují potenciál pro zvýšení hloubky a hustoty zakořenění (Waines a Ehdaie, 2007).

Zlepšení kořenového systému ve smyslu zvýšení hloubky zakořenění a zvýšené intenzity větvení v hlubších vrstvách představuje znak, který je uplatnitelný zejména v systému řízeném zásobou vody. Klíčové pro tento znak je, zda dané půdy jsou schopny i v hlubších vrstvách uchovat dostatečnou zásobu vody ze zimních srážek, nebo zda je dostatečně vysoko hladina podzemní vody, která umožňuje zásobování kořenů kapilárním vztlínáním vody. Naproti tomu v systému řízeném rovnoměrnou nabídkou vody, kde je celkem běžné, že množství dostupné vody za sucha klesá se zvyšující se hloubkou, se více uplatňují znaky založené na vyšším větvení kořenů a vyšší hustotě kořenového vlášení v povrchové vrstvě půdy. U ječmene bylo prokázáno, že genotypy, které vykazují vyšší hustotu kořenového vlášení a s tím spojenou vyšší hmotnost rhizoobalu, mají vyšší schopnost přijímat vodu i fosfor v podmínkách snížené dostupnosti vody (Marin a kol., 2021). Zlepšení kořenového systému je navíc znak univerzální i z pohledu termínu sucha, přičemž má uplatnění v odolnosti vůči suchu prakticky po celou dobu vegetace. Pouze v časných růstových fázích, kdy kořenový systém ještě není dostatečně vyvinutý, hraje tento znak menší roli.

Různé druhy a genotypy mohou vykazovat různou schopnost stimulace kolonizace kořenů mykorrhizními houbami. Klíčovou úlohu zde pravděpodobně sehrává schopnost rostliny

produkovat a kořeny vylučovat hormony strigolaktony, které podněcují vývoj spor, prodlužování hyf či tvorbu chitinových oligosacharidů, a které dále stimulují časnou reakci na symbiózu v hostitelské rostlině (Mitra a kol., 2021).

Úniková strategie má význam především v případě terminálního sucha v době zrání a jen ve velmi malé míře v případě sucha v době vývoje semen. Uplatňuje se proto zejména v systému řízeném zásobou vody v půdě, tedy na půdách s vyšším obsahem humusu, jílovitých a hlinitých částic, které jsou schopny uchovávat větší množství zimní vláhy a současně v podmínkách teplejších s nižším celkovým úhrnem srážek. U tohoto systému dochází k poklesu zásoby vody zejména ke konci vegetace. Úniková strategie se vyznačuje krátkou vegetační dobou a tyto genotypy tak uniknou nejzávažnějšímu terminálnímu suchu, které se stupňuje k závěru vegetace. V podmínkách s dostatkem vláhy ovšem úniková strategie, tedy kratší vegetační doba přináší obvykle nižší výnos než genotypy s delší vegetační dobou (Berger a kol., 2016). Genotypy, které se vyznačují únikovou strategií, mají velmi rychlý počáteční vývoj, ale jsou obvykle náchylné k předčasné indukci senescence. Jestliže tedy sucho nastává dříve než v průběhu zrání, a zejména pak pokud je sucho kombinováno s dalším stresovým faktorem, jako jsou například vysoké teploty, rostliny těchto odrůd začnou předčasně žloutnout, remobilizují zásobní látky z listů do semen. Semena tak dozrají při zachování vysoké reprodukční schopnosti, avšak jejich velikost je výrazně snížena, a tím se snižuje i výnos. Proto odrůdy s únikovou strategií vykazují velký propad výnosu, pokud sucho nastává již dříve během kvetení a začátku vývoje semen.

Zvýšená efektivita využití vody souvisí primárně se sníženou průduchovou vodivostí, při zachování nebo jen mírném snížení rychlosti asimilace CO₂. Ačkoliv rozdíly mezi genotypy ječmene v efektivitě využití vody mohou být značné (de Mezer a kol., 2014) a mohou být relativně snadno vyhodnocovány například pomocí izotopové diskriminace uhlíku (Anyia a kol., 2007), využití tohoto znaku v praktickém šlechtění je jen poměrně malé vzhledem k tomu, že vliv zvýšené efektivitě využití vody se uplatňuje pouze při krátkodobém stresu suchem a současně je zvýšená efektivita využití vody spojena se snížením výnosového potenciálu. Šlechtění by se proto nemělo zaměřovat na obecně vyšší efektivitu využití vody, ale na zvýšenou odezvu průduchů na suchu, a tím i na rychlé přizpůsobení efektivitě využití vody v průběhu sucha (Hossain a kol., 2015). Genotypy, které vykazují vyšší rychlost odezvy průduchů na suchu a současně si zachovávají dostatečnou rychlost asimilace CO₂, se obecně vyznačují menšími průduchy (Drake a kol., 2013).

Tolerance dehydratace byla dříve považována za znak typický pro vyloženě suchomilnou vegetaci a byla spojována s nízkou produktivitou. Nicméně v posledních letech je věnována zvýšená pozornost rovněž pochopení mechanismů tolerance dehydratace a jejich využití ve šlechtění. Tolerance dehydratace, která je založena na osmotickém přizpůsobení, zvýšení stability buněčných membrán a zvýšené akumulaci antioxidantů, je považována za znak přínosný pro podmínky s dlouhotrvajícím a intenzivním suchem. Akumulace osmolytů i antioxidantů totiž vyžaduje velké množství energie, která je využívána na úkor výnosu. Vyšší efekt osmotického přizpůsobení se proto dostavuje zejména v případě odrůd, které vykazují nižší produktivitu bez stresu suchem (Serraj a Sinclair, 2002). Šlechtění na toleranci dehydratace tedy musí brát v úvahu případný negativní dopad na výnos. Akumulace osmolytů v buňce vede k poklesu osmotického potenciálu, a tím k zachování turgoru. Buňka tak zachovává své funkce a je chráněna před poškozením plazmolýzou. K osmotickému přizpůsobení přispívá celá řada látek od anorganických kationtů a aniontů, přes organické kyseliny, cukry až po aminokyseliny. Účinné osmolyty jsou bohaté na hydroxylové skupiny (OH) a patří k nim například mannitol, glycine-betain, rafinóza, trehalóza nebo aminokyselina prolin. Osmolyty rovněž podporují schopnost kořenů přijímat vodu (Chimenti a kol., 2006) a přispívají k ochraně enzymů a jiných organických sloučenin před oxidativním stresem způsobeným reaktivními formami kyslíku (ROS) (Farooq a kol., 2009). Přestože je akumulace osmolytů pro rostlinu energeticky náročný proces, ukazuje se, že schopnost odrůd akumulovat ve zvýšené míře osmolyty může významně přispívat k odolnosti k suchu i bez většího dopadu na výnos (González a kol., 1999). Jak bylo dále zjištěno, rozpustné látky využívané při osmotickém přizpůsobení, jako jsou draselné ionty nebo glycin betain, nepůsobí kompetitivně vůči růstu rostliny (Shabala a Shabala, 2011). V podmínkách stresu nedostatkem vody u 12 druhů zemědělských plodin pak byla ve 24 studiích z celkového počtu 26 zjištěna pozitivní vazba mezi osmotickým přizpůsobením a výnosem (Blum, 2017). Stabilita buněčných membrán vůči osmotickému stresu se rovněž ukazuje jako významný znak pro šlechtění polních plodin na odolnost vůči suchu (Dhanda a kol., 2004).

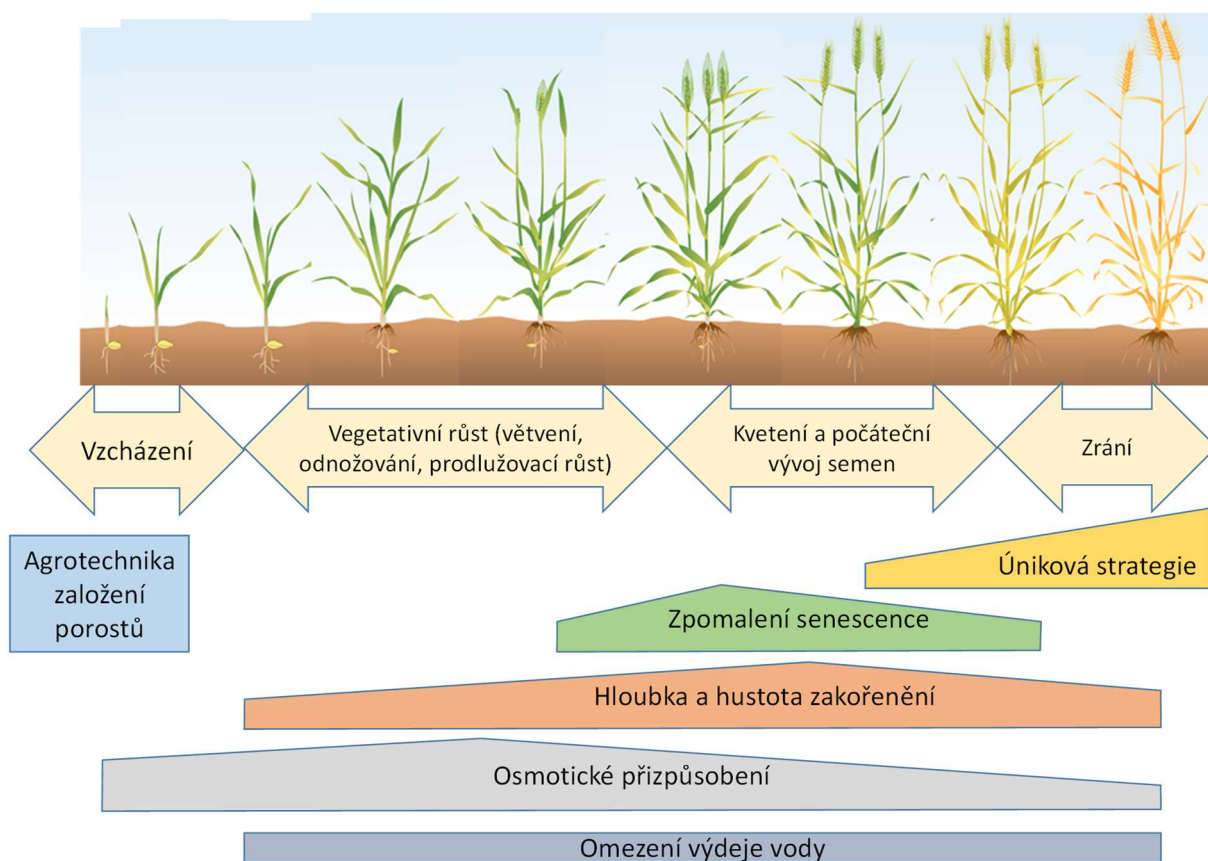
Stres suchem u rostlin je kromě dehydratace provázen také zvýšeným hromaděním reaktivních forem kyslíku (ROS), které vedou k poškození buněčných struktur (zejména pak k oxidaci lipidů v buněčných membránách, denaturaci bílkovin a poškození nukleových kyselin) a následně pak k indukci senescence. Rostliny si ovšem vytváří poměrně rozsáhlý antioxidační systém, který zahrnuje nízkomolekulární fenolické sloučeniny (flavonoidy, taniny), kyselinu askorbovou, glutathion, tokoferoly, karotenoidy a antioxidační enzymy

(Blokchina a kol., 2003). Z antioxidantních enzymů hrají klíčovou úlohu v odolnosti vůči suchu zejména suproxid dismutáza (SOD), kataláza (CAT), peroxidáza (POX), glutathion reduktáza (GR) a askorbát peroxidáza (APX), jejichž syntéza je indukována suchem, ačkoliv i zde mohou být pozorovány určité trade-offs v podobě zpoždění vývoje (Laxa a kol., 2019). V oblasti tolerance dehydratace tedy existuje celá řada molekul, které hrají pozitivní úlohu a mohou být použity jako markery ve šlechtění. Indukce zvýšené akumulace osmolytů či antioxidantů je obvykle spojena s růstovými hormony a jejich rovnováhou v rostlině. Například zvýšené aktivity CAT, APX a SOD společně s vyšší koncentrací kyseliny abscisové (ABA) byly pozorovány po aplikaci brassinolidů (Yuan a kol., 2010). Obecně za sucha se v rostlinách zvyšuje množství hormonů označovaných jako inhibitory růstu, jako je ethylen či ABA, zatímco množství stimulatorů růstu, jako jsou gibbereliny, auxiny či cytokininy, se snižuje (Farooq a kol., 2009). Cytokininy se v podmínkách sucha podílejí zejména na řízení signálů mezi kořeny a nadzemními částmi rostlin (Rivero a kol., 2007). Do skupiny tolerance dehydratace lze také zařadit znak zpomalení senescence (označovaný jako stay-green znak). Zpomalená senescence u stay-green genotypů má význam pro odolnost vůči suchu zejména v období od kvetení do zrání a je spojena se změnou hormonální rovnováhy, zejména pak hormonů zodpovědných za indukci senescence, tedy etylenu a ABA (Kamal a kol., 2019). Stay-green znak byl identifikován v celé řadě zemědělských plodin včetně ječmene (Gous a kol., 2016).

2.2.3 Kritická období výskytu sucha

Dopady sucha na rostlinnou produkci jsou dány třemi hlavními charakteristikami sucha, a to intenzitou sucha, jeho délkou a termínem. Tyto tři charakteristiky byly použity pro vymezení hlavních typů sucha použitými pro stanovení hlavních šlechtitelských směrů CIMMYT (mezinárodní centrum pro šlechtění pšenice a kukuřice). Při velmi hrubém rozdělení se jedná o časné sucho, pozdní sucho a kontinuální sucho, z nichž každý typ sucha vyžaduje specifické znaky odolnosti (van Ginkel a kol., 1998). Na základě výše uvedených nejčastějších kombinací klimatických a půdních podmínek je pro střední Evropu závažnější a častější pozdní sucho, nicméně v posledních letech se setkáváme i s časným suchem, a to samozřejmě nejvíce při kombinaci lehkých půd s nízkým obsahem humusu a teplejších klimatických podmínek s nižší úrovní srážek. Posun sucha do dřívějších termínů je ale spíše obecným jevem, a to i z důvodu nižších zimních srážek, které nedostatečně doplňují zásobu vody v půdě. Z výše uvedeného je zřejmé, že termín výskytu sucha (který je do značné míry určován klimaticko-půdním systémem) je zcela rozhodující pro výběr vhodných znaků odolnosti vůči suchu.

Pozdní sucho, tedy sucho nastupující v období zrání, někdy také označované jako terminální sucho, bylo historicky typické na našem území pro teplé a úrodné oblasti jižní Moravy, případně oblasti Hané a Polabí. Toto sucho obvykle nastává až v době, kdy jsou semena plně vyvinuta (DC79) a následuje fáze zrání typická ukládáním zásobních látek a snižováním vlhkosti semene. Obvykle dochází k předčasnému zasychání semene, snižování jeho hmotnosti a ke změně poměru škrobu a bílkovin, případně k poklesu obsahu oleje. Vzhledem k tomu, že ukládání bílkovin a škrobů do semene je časově posunuto, terminální sucho, při kterém dochází k předčasnému zasychání semene, vede ke zvýšení obsahu bílkovin a snížení obsahu škrobu. To může mít negativní dopad zejména na sladovnickou kvalitu ječmene, kde vedle zvýšeného obsahu bílkovin klesá extrakt (Gous a kol., 2015). Negativně ovšem mohou být ovlivněny také další kvalitativní parametry, zejména pak parametry související s velikostí semen (podíl předního zrna), klíčivostí či enzymatickou aktivitou. Například obsah oleje velmi těsně souvisí s délkou období od začátku vývoje semen až po zralost, která je výrazně zkracována suchem i vysokými teplotami (Faraji, 2012). Ačkoliv u sladovnického ječmene sucho snižuje množství extraktu, vliv sucha na tento a další kvalitativní parametry je značně variabilní v závislosti na genotypu (Mahalingam, 2017). Hlavním znakem, který přispívá k odolnosti vůči terminálnímu suchu, je zkrácená vegetace (úniková strategie), v podmínkách s dostatečnou zásobou vody v hlubších vrstvách půdy nebo s vyšší hladinou podzemní vody pak funguje rovněž zvýšená hloubka zakořenění (zabránění stresu – rostliny vydávající vodu) (obr. 3). K oddálení působení sucha ke konci vegetace může rovněž přispívat vyšší rezpozivita průduchů vedoucí ke krátkodobému zvýšení efektivity využití vody (zabránění stresu – rostliny šetřící vodu).



Obrázek 3. Kritická období sucha v průběhu vývoje plodiny a znaky podmiňující odolnost vůči suchu. Význam znaků pro jednotlivá období vývoje plodiny je znázorněn tloušťkou vodorovného pásu.

Vymezení hranice mezi terminálním suchem a suchem v době kvetení a počátečního vývoje semen je velmi důležité, protože pokud nastává sucho dříve, jsou vyžadovány do značné míry odlišné znaky odolnosti. Jak již bylo řečeno, v souvislosti se změnou klimatu se v oblastech střední Evropy sucho postupně posouvá do časnějších růstových fází, tedy do období kvetení a počátku vývoje semen (DC61-DC79) případně i dříve. Období kvetení a počátečního vývoje semen představuje ovšem nejcitlivější fáze vývoje z pohledu vlivu sucha a vysokých teplot na výnos. Sucho a vysoké teploty v době kvetení a počátku vývoje semen vedou k poškození květních orgánů, nedostatečnému opylení a předčasné aborci semen, což vede ke snížení počtu semen na rostlinu (Saini a Westgate, 1999). Pokud je tento znak ovlivněn jen v menší míře (do 10 %), nedojde k poškození fotosyntetického aparátu a následuje příznivé období pro vývoj a zrání semen (dostatek srážek a nižší teploty), může být následně kompenzován zvýšením hmotnosti semen. Obvykle ale současně s vlivem na počet semen dochází vlivem sucha k indukci senescence a rostliny předčasně dozrávají i v případě, že následuje vlhké období.

V takovém případě pak dochází nejen ke snížení počtu semen na rostlinu ale i k poklesu hmotnosti semen a výsledný dopad na výnos je mnohonásobně vyšší. Klíčovým znakem pro odolnost vůči suchu v období před kvetením, v době kvetení a na začátku vývoje semen je odolnost vůči předčasné indukci senescence (tolerance sucha), která je založena jednak na udržení hormonální rovnováhy, ale také na zvýšené akumulaci osmolytů či antioxidantů (obr. 3). V prostředí řízeném zásobou vody pak významným způsobem k odolnosti přispívá hloubka kořenového systému, v systému řízeném rovnoměrnou nabídkou vody se pak jedná hlavně o schopnost větvení kořenů a hustotu kořenového vlášení v povrchových vrstvách půdy, případně o kombinaci se schopností osmotického přizpůsobení. V případě, že se jedná o krátkou epizodu sucha, pak významnou úlohu v zabránění předčasné senescenci může sehrát také omezení výdeje vody díky rychlému zavírání průduchů a krátkodobému zvýšení efektivity využití vody.

Sucho v průběhu vegetativního růstu od začátku odnožování až do konce metání (DC21-DC59) je pokládáno v podmínkách střední Evropy za méně významné. Důvodem ale nejsou nižší dopady na výnos ale spíše menší intenzita i frekvence sucha v tomto období. Naopak sucho v tomto období může mít podobné nebo i vyšší dopady na výnos jako sucho v době kvetení a počátku zrání. Důvodem je skutečnost že v tomto období se vytváří základy několika výnosových prvků. Sucho nedříve snižuje odnožování či větvení rostlin, následně omezuje tvorbu základů květních orgánů, a nakonec redukuje počet produktivních odnoží či větví. Podobně jako v případě sucha v době kvetení může být výnos zčásti kompenzován zvýšenou hmotností semen, obvykle jsou již ale ztráty na těchto výnosových prvcích tak rozsáhlé, že je tato kompenzace velmi omezená. Porosty ovlivněné suchem v období vegetativního růstu jsou prořídle v důsledku malého počtu produktivních odnoží nebo větví na jednu rostlinu. Mírné sucho, zejména v časných fázích vegetativního růstu (odnožování) může naopak stimulovat vývoj kořenového systému, ať již hlubší zakořenění nebo vyšší hustotu kořenového systému, který pak přispívá ke zvýšené odolnosti rostlin v pozdějších růstových fázích. Závlaha v tomto období (vyjma velmi intenzivního sucha) může naopak působit kontraproduktivně, protože vede k mělkému zakořenění rostlin a následně zvýšené citlivosti vůči suchu v období kvetení až zrání. Vzhledem ke skutečnosti, že hloubka kořenového systému v těchto fázích ještě nemusí být dostatečně vyvinuta, se u tohoto termínu sucha uplatňuje spíše schopnost osmotického přizpůsobení a vyšší hustota kořenů v povrchových vrstvách půdy, včetně zvýšené hustoty kořenového vlášení (obr. 3). Dále platí, že sucho v tomto období bývá v našich podmínkách spíše výjimečné a krátkodobé, může se zde uplatnit rovněž schopnost rychlého zavírání průduchů, které znamená šetření vodou po určité krátké období.

Sucho v době po zasetí, tedy ve fázích klíčení, vzcházení a vývoje prvních listů, má kritický dopad na strukturu porostu. Snižuje se počet vzešlých rostlin, vzcházení je nerovnoměrné a vznikají tak mezerovité porosty. Suchem v období vzcházení trpí nejvíce plodiny, jejichž porosty jsou zakládány v létě nebo později na jaře, a také plodiny, které jsou vysévány mělce. Nejvýznamnější problémy představuje sucho pro zakládání porostů řepky, cukrovky či máku. Více než jakékoliv znaky odolnosti vůči suchu jsou v tomto období klíčová agrotechnická opatření, která snižují ztráty vody z půdy a zachovávají přívod vody z hlubších vrstev půdy kapilárním vztláním (obr. 3). K tomu přispívá zejména ponechání mulče posklizňových zbytků rostlin, nebo mulče mezplodiny na povrchu půdy a také bezorebné technologie. Mulč chrání půdu před nadměrným zahříváním, a tím zásadně omezuje výpar z holé půdy. Naopak bezorebné zakládání porostů vede k tomu, že není narušena přirozená kapilarita a klíčící osivo a vzcházející rostliny tak mají rovnoměrný přísun vláhy i při relativně suchém období.

2.3 Metody fenotypování odolnosti k suchu

Automatizované vysoce výkonné fenotypování rostlin (HTPP) představuje aktuálně klíčový nástroj pro zefektivnění a zrychlení procesu šlechtění nových genotypů lépe adaptovaných na probíhající klimatickou změnu a s ní spojených extrémních projevů počasí. Konkrétně se jedná o šlechtění na znaky spojené s odolností vůči abiotickému a biotickému stresu a znaky související se zvýšenou efektivitou využití zdrojů, zejména pak živin a vody. Vedle narůstající potřeby spojené s probíhající klimatickou změnou je rovněž patrný narůstající tlak na omezení využívání intenzifikačních vstupů, jako jsou hnojiva či pesticidy, které společně s narůstající extremitou podmínek prostředí vedou ke zhoršování kvality půdy a vody a ke ztrátám biologické rozmanitosti (Kesavan a Malarvannan, 2010). To vede k rostoucí potřebě využívání znaků, které na jedné straně zajišťují spolehlivou odolnost vůči abiotickému a biotickému stresu či vysokou efektivitu využití vody či živin, a na straně druhé vykazují vysokou stabilitu, což znamená, že nedochází k jejich rychlému překonání například vlivem změn v populacích patogena. Velká část těchto znaků má tzv. kvantitativní charakter a je tudíž podmíněna velkým počtem genů s malým účinkem. Šlechtění na tyto znaky pouze s použitím genetických markerů je značně problematické a vyžaduje kombinovat genomické nástroje s HTPP tak, aby mohly být vyhodnoceny rovněž klíčové interakce genotypu a prostředí, založené na epigenetice, tedy na expresi genů podmíněné vlivem konkrétních environmentálních podnětů. Aby bylo možné překlenout propast mezi genotypem a fenotypem u komplexních kvantitativních znaků, je nutný další pokrok ve fenotypování, přičemž nové HTPP systémy by měly být schopné integrovat vícerozměrný fyziologický, biochemický a morfologický obraz projevu kvantitativních znaků,

a tím je snadněji kvantifikovat a geneticky studovat (Bazakos a kol., 2017). Tato mezera v podrobné znalosti zejména fyziologického a biochemického fenotypu se ukazuje jako klíčová zejména ve snaze vyšlechtit genotypy odolné k suchu (Tuberosa a kol., 2014). V současné době k metodám, které umožňují svým kombinováním poměrně komplexní vyhodnocení morfologického, fyziologického a biochemického fenotypu, patří především: RGB zobrazování, multispektrální či hyperspektrální zobrazování, zobrazovací fluorescence chlorofylu, termální infračervené zobrazování (Mishra a kol., 2016a).

2.3.1 RGB zobrazování

Nejstarší a jednou z nejdůležitějších HTPP technik je digitální zobrazování ve viditelné oblasti spektra (~400-700 nm), neboli tzv. červeno-zeleno-modré (RGB) zobrazování. Jedná se o rychlou a jednoduchou metodu vyhodnocení morfologických charakteristik rostlin umožňující pravidelné měření a tím vyhodnocování dynamických aspektů morfologie rostlin i rychlosti růstu. Kromě vyhodnocení dynamiky růstu, vývoje a morfologických změn rostliny umožňuje RGB zobrazování díky nízké ceně snímačů zobrazovat rostlinu z různých úhlů, a tím popisovat například pokryvnost, výškový růst či vertikální rozložení listové plochy. RGB zobrazování umožňuje relativně přesné vyhodnocení morfologických znaků rostlin (Li a kol., 2014), výšky rostlin (Volpato a kol., 2021), listové plochy (Ge a kol., 2016), napadení listů chorobami (Alves a kol., 2022), senescence a stay-green znaku (Cao a kol., 2021; Li a kol., 2023), nebo dokonce umožňuje vytvoření 3D modelu rostliny, od něž lze odvozovat celou řadu morfologických charakteristik (Paulus, 2019). RGB zobrazování lze rovněž využít jako velmi jednoduchou multispektrální kameru pro vyhodnocení některých vegetačních indexů (Kim a Chung, 2021). V současné době se RGB snímky pořizují ve velké frekvenci a vysokém prostorovém rozlišení pro analýzu morfologie a rychlosti růstu rostlin, přičemž tyto postupy velmi dobře fungují u menších rostlin nebo rostlin s listovými růžicemi, jako je například *Arabidopsis thaliana* (Granier a kol., 2006; Walter a kol., 2007). V případě rostlin, které mají složitý 3D růst a mají četné odnože či větve, jsou zřejmá určitá omezení, přičemž například Rajendran a kol. (2009) ukázali u pšenice, že RGB zobrazování se stalo méně spolehlivým ukazatelem listové plochy, když tato překročila 100 cm² na jednu rostlinu. Technický pokrok nicméně zlepšil prostorové a časové rozlišení snímků s nebývalou přesností a zvýšená výkonnost představuje obrovskou výzvu pro základní zpracování snímků, charakterizaci a statistickou analýzu velkých souborů dat. Dále se nyní vyvíjejí nové nástroje a metody pro integraci a propojení základních genetických a molekulárních informací s procesy řídicími růst, vývoj a fyziologii rostlin (Sozzani a kol., 2014; Rousseau a kol., 2015). Poměrně zásadní

rozšíření pro analýzu RGB snímků má HSB analýza (Hue - odstín, Saturation - sytost a Brightness - jas). Stále více pak do analýzy RGB snímků vstupují metody strojového učení, které jsou schopny kombinovat morfologické (např. listová plocha, výška rostliny) a biochemické parametry (např. obsah chlorofylu a karotenoidů) při komplexním vyhodnocení fenotypu v reakci na působení environmentálních podmínek (Kolhar a Jagtap, 2023). Kim a kol. (2021) využili RGB zobrazování pro vytěžení celé řady morfologických parametrů včetně analýzy barevného odstínu pro vyhodnocení odlišnosti reakce odolného a citlivého genotypu rýže na sucho. Množství parametrů, které lze z RGB zobrazování získat poměrně levně a s vysokou frekvencí, tak představuje ideální soubor vstupních proměnných pro použití technik strojového učení, a tím vyhodnocení klíčové informace o přítomnosti či expresi komplexních znaků, klíčových pro vyhodnocení tolerance k suchu.

2.3.2 Termální infračervené zobrazování

Aktivita či otevřenost průduchů je jedním z nejdůležitějších fyziologických znaků pro růst a vývoj rostlin. Hraje klíčovou roli v uhlíkové a vodní bilanci rostliny tím, že řídí fotosyntézu a transpiraci (Jones, 2013). Proto průduchová vodivost pro vodu souvisí s výnosem a s tolerancí k abiotickým i biotickým stresům. Otevřenost průduchů silně koreluje s teplotou listů, vzhledem k tomu, že transpirace vody probíhající prostřednictvím otevřených průduchů vede k ochlazení listů vůči teplotě okolního prostředí, zatímco pokud při zavřených průduších k transpiraci nedochází, list se do určité míry zahřívá vlivem absorpce slunečního záření, které se z části proměňuje na tepelnou energii (Prashar a Jones, 2014). Termální kamery představují kalibrované senzory, které snímají a zaznamenávají dlouhovlnné infračervené záření vyzařované objekty v tepelném rozsahu (8-14 μm ; TIR – thermal infrared) a jsou schopné toto záření převádět na hodnoty teploty samostatně pro každý snímaný pixel. Časově náročná kontaktní měření průduchové vodivosti tak mohou být reálně nahrazena termálními snímky vyhodnocujícími nejen fyziologický stav rostliny, ale také variabilitu tohoto stavu na nižší (například na úrovni listu) nebo vyšší prostorové úrovni (například na úrovni porostu či celého pozemku), a to v krátkém časovém úseku bez nutnosti kontaktu s měřenou rostlinou (Pineda a kol., 2021). Nicméně interpretace TIR zobrazování není vždy úplně jednoduchá, protože teplota listů je kromě vlastní průduchové vodivosti ovlivňována rovněž okolními podmínkami prostředí, zejména pak teplotou a vlhkostí vzduchu, rychlostí větru a intenzitou slunečního záření (Maes a Steppe, 2012). Teplota vzduchu a rostoucí vodní sytostní doplněk podobným způsobem snižují rozdíl mezi teplotou listu a teplotou vzduchu (rozdíl se stává více záporným) a obecně se zvýrazňují rozdíly mezi listy s rozdílnou průduchovou vodivostí. Podobně i vyšší

rychlost větru vede k poklesu rozdílu mezi teplotou listu a teplotou vzduchu, nicméně větší rychlost větru rozdíly mezi listy s různou průduchovou vodivostí zmenšuje. Vyšší intenzita slunečního záření pak naopak vede ke zvyšování rozdílu mezi teplotou listu a teplotou vzduchu (rozdíl se stává více kladným) a současně dochází k mírnému zvyšování rozdílu mezi listy s různou průduchovou vodivostí. Odhad průduchové vodivosti mohou ovlivnit také charakteristiky listů, jako je jejich úhel, velikost či albedo, přičemž největší vliv má úhel postavení listu. Rozdíl teplot listu a vzduchu se snižuje (stává se více záporným) s více vertikálním postavením listu, menší listovou plochou, vyšším albedem a rovněž s vyšším poměrem šířky listu k délce (tvar listu se mění z podlouhlého na okrouhlý) (Maes a Steppe, 2012). Vliv podmínek prostředí na teplotu listů, respektive na rozdíl teploty listu a teploty vzduchu může mít zcela zásadní význam při vyhodnocení odezvy průduchů v polních podmínkách. V případě, že snímání teploty listů pomocí termálního infračerveného zobrazování probíhá v delším časovém intervalu a podmínky prostředí jako je rychlost větru či intenzita slunečního záření se rychle mění, může vliv změny podmínek prostředí dokonce převládnout nad vlivem odezvy genotypů, například na působení nedostatku vody. Fenotypování s využitím termálního infračerveného zobrazování by proto mělo v polních podmínkách probíhat za podmínek, kdy se prostředí ovlivňující rozdíl teploty listu a okolního vzduchu mění jen minimálně (bezvětrí a den bez oblačnosti), a současně tak, aby bylo provedeno v co nejkratším časovém úseku (například s využitím dronu nebo leteckého snímání). Z výše uvedeného by podmínky pro fenotypování odezvy průduchů pomocí infračerveného termálního zobrazování měly být optimálně takové, které zvýrazňují rozdíly mezi nízkou a vysokou průduchovou vodivostí, což znamená kromě bezvětrí a vysoké intenzity světla rovněž vysoký vodní sytostní doplněk (VPD), tedy podmínky s vyšší teplotou a nižší relativní vlhkostí vzduchu (Prashar a Jones, 2014). Fenotypování ve skleníkových podmínkách dokáže tyto negativní vlivy prostředí do značné míry eliminovat, nicméně i v těchto podmínkách je nutné počítat s vlivem denního cyklu, tedy zejména intenzity slunečního záření a nárůstu VPD (zvyšování teploty a poklesu vlhkosti vzduchu) na otevírání průduchů v ranních a dopoledních hodinách. Termální infračervené zobrazování by proto mělo být prováděno v době okolo poledne, kdy jsou průduchy nejvíce otevřené, a to tak, aby do doby měření nespadal ranní nárůst průduchové vodivosti a odpolední deprese, vedoucí k zavírání průduchů. Z pohledu porovnání průduchové odezvy jednotlivých genotypů je pak důležité, aby všechny porovnávané genotypy byly pomocí infračerveného termálního zobrazování vyhodnoceny v čase kratším jak 2 hodiny, a současně, aby měření probíhalo po opakováních, což znamená, že jedno opakování od každého genotypu a varianty (například dostatečná závlaha versus

sucho) bude změřeno v čase kratším jak 30 minut. Tímto způsobem je možné do značné míry eliminovat dopady denního cyklu na vyhodnocení odezvy průduchů. Jak v případě polního, tak i skleníkového fenotypování je ale nutné brát v potaz případné morfologické rozdíly mezi genotypy. Pokud vyhodnocování odezvy průduchů probíhá v rámci jednoho druhu, lze vliv velikosti listu, jejich tvaru i albeda považovat za zanedbatelný, protože v rámci jednoho druhu se tyto charakteristiky většinou mění na úrovni jednotek procent a v rámci tohoto rozpětí je dopad na teplotu listu minimální. Významnější je ovšem vliv úhlu listů, který se i v rámci jednoho druhu může měnit od genotypů s planofilními listy (úhel vůči vodorovné poloze blízký 0°) po genotypy s erektofilními listy (úhel vůči vodorovné poloze blízký 90°). Vliv na rozdíl mezi teplotou listu a teplotou vzduchu pak může v extrémním případě činit až 2 °C, což fakticky představuje rozdíl mezi nízkou a vysokou průduchovou vodivostí (Maes a Steppe, 2012). Ještě složitější může být situace s vyhodnocením průduchové odezvy u porostů, které díky své struktuře (širokořádkové plodiny, vinice) mohou díky pozici snímače vůči pozici slunce vykazovat velmi rozdílný podíl osluněných a zastíněných listů. Přitom rozdíl v teplotě listů, které se nacházejí na plném slunci, a listů v hlubokém stínu může činit až 15 °C (Jones a kol., 2009). Z velké části lze tento efekt v rámci fenotypování eliminovat, pokud se provádí porovnání relativních hodnot změny teploty listů, tedy když je vždy vztažena teplota varianty vystavené stresu suchem k dostatečně zavlažované kontrole. V případě, že toto relativní porovnání není možné, je nezbytné vždy provést korekci přepočtem na převládající úhel listů (Maes a Steppe, 2012).

2.3.3 Zobrazovací fluorescence chlorofylu

Fluorescence chlorofylu představuje pouze 2-4 % z celkového množství dopadajícího slunečního záření, ale má vysokou vypovídací schopnost a úspěšně se používá jak v základním, tak i v aplikovaném výzkumu pro měření účinnosti fotosyntézy (zejména fotosystému II) a některých dalších fotochemických i nefotochemických aktivit. To má klíčový význam v praktické detekci působení stresových podmínek na rostliny a pro vyhodnocení odolnosti vůči stresu, protože fluorescence chlorofylu se mění během biotického i abiotického stresu *in vivo* (Baker, 2008; Kalaji a kol., 2014; Kalaji a kol., 2017; Ruban, 2016). Fluorescence chlorofylu vzniká tím, že část absorbovaného slunečního záření, která není efektivně využita ve fotochemických procesech fotosyntézy, ztrácí část energie zejména ve formě tepla, přičemž je zpětně emitována ve vyšší vlnové délce. Emitovaná fluorescence chlorofylu má dvě maxima, a to v červené oblasti s maximem okolo 685 nm a vzdálené červené oblasti (far-red) s maximem okolo 735-740 nm. Vlastnosti těchto fluorescenčních pásů (tj. intenzita, poloha maxima, plocha

pod křivkou emisního spektra) a jejich poměry se často používají jako indikátory stresu u rostlin (Buschmann, 2007; Malenovský a kol., 2009). Například poměr mezi červenou a vzdálenou červenou fluorescencí (F685/F735) klesá se zvyšující se koncentrací chlorofylu, protože červený pás je chlorofylem silně re-absorbován, zatímco vzdálený červený pás nikoli (Buschmann, 2007). Fluorescence chlorofylu je vysoce dynamická a poskytuje nám důležité informace o řadě procesů měřených od zlomku sekundy po minuty (Baker, 2008; Ruban, 2016). Jedním z nejčastěji využívaných parametrů pro detekci vlivu stresu je maximální kvantový výtěžek fotochemie fotosystému II, který je vypočítáván jako poměr variabilní a maximální fluorescence (F_v/F_m ; Govindjee, 2004). Nicméně řada studií ukazuje, že tento parametr je poměrně málo citlivý při detekci časných účinků sucha (Jansen a kol., 2009; Kim a kol., 2020). Naproti tomu několik dalších parametrů fluorescence chlorofylu, jako je například parametr nefotochemického zhášení (NPQ) nebo aktuální kvantový výtěžek fotosystému II (Φ_{PSII} ; ve stavu rostliny adaptovaném na světlo), se ukázaly být citlivější na změny fyziologického stavu rostliny, například při mírném deficitu vody (Mishra a kol., 2012). Vysoká korelace mezi tolerancí k suchu a parametrem NPQ se ovšem projevuje až při delším působení sucha, zatímco Φ_{PSII} vykazuje citlivost i při krátkodobém působení stresu (Sherstneva a kol., 2021). Výhodou měření Φ_{PSII} je rovněž menší časová náročnost, protože není nezbytná adaptace na tmu vyžadující 15-20 minut, a pro měření Φ_{PSII} se používají rostliny adaptované na světlo, přičemž při variabilních světelných podmínkách je dostačující asi 2minutová adaptace na intenzitu aktinického světla využívaného v měřicím protokolu. Při fenotypování odolnosti ječmene vůči suchu vykazoval parametr Φ_{PSII} vyšší korelaci k relativnímu výnosu než termální infračervené zobrazování či citlivé parametry barevného odstínu až po 17 dnech působení sucha (Findurová a kol., 2023). Fluorescence chlorofylu jednoznačně představuje významnou doplňující informaci pro vyhodnocení fyziologického stavu rostliny v důsledku působení stresu suchem, nicméně její samostatné využití pro fenotypování odolnosti k suchu má řadu omezení. Kromě skutečnosti, že sucho má na fotochemické procesy nepřímý efekt a vliv sucha je proto detekován s určitým zpožděním a až při významnějším nedostatku vody, je zde podobně jako v případě termálního infračerveného zobrazování problém se složitější vícevrstvou strukturou rostlin, které větvi či odnožují a výškově pak tvoří několik listových pater. Rozdílná vzdálenost listů od detektoru, jejich nerovnoměrné osvětlení excitačním zdrojem a zejména pak úhel jejich sklonu jsou sice do určité míry kompenzovány použitím relativních parametrů fluorescence chlorofylu, nicméně i tak vnášejí do měřených výsledků značný zdroj variability (Nedbal a Whitmarsh, 2004). Každopádně intenzita aktinického světla dopadajícího na list ovlivňuje i hodnoty klíčových parametrů fluorescence chlorofylu měřených u rostlin adaptovaných na

světlo (jako je například často používaný Φ_{PSII}). Zejména v případě značných morfologických rozdílů mezi genotypy (výška rostliny, počet větví či odnoží a sklon listů) pak může být nalezení rozdílů v odolnosti jen pomocí zobrazovací fluorescence chlorofylu velmi obtížné. V případě fenotypování ve skleníku i v polních podmínkách při použití umělých zdrojů excitace lze vliv úhlu sklonu listu snížit tím, že excitační světla jsou vůči ose kamery postaveny v různých úhlech. Zvýšení citlivosti zobrazovací fluorescence chlorofylu při detekci odolnosti vůči stresu suchem je dále možné s použitím pokročilých statistických diskriminačních metod či s použitím metod umělé inteligence. Mishra a kol. (2016b) využili metodu „kombinatoriálního“ zobrazování fluorescence chlorofylu pro vyhodnocení obsahu vody v listech *A. thaliana*, která přinesla výrazné zpřesnění odhadu vlivu nedostatku vody v porovnání s běžnými parametry chlorofylové fluorescence a rovněž možnost detekce rozdílného efektu sucha ve velmi raném stadiu. Shomali a kol. (2023) využili neuronové sítě pro vyhodnocení oxidativního stresu způsobeného vysokou intenzitou světla u genotypů rajčat, nicméně počet citlivých vstupních proměnných byl omezený, což limituje potenciál výraznějšího zvýšení spolehlivosti. Long a Ma (2022) využili metody umělé inteligence pro vyhodnocení stavu sucha s použitím parametrů fluorescence chlorofylu, přičemž v případě metody podpůrných vektorů (SVM – Support Vector Machines) dosáhli spolehlivosti klasifikace sucha 87 % při 5 použitých vstupních parametrech fluorescence chlorofylu. Zhou a kol. (2019) dále použili neuronové sítě pro klasifikaci vlivu sucha a nedostatku vody a dusíku, přičemž při použití RBF funkce bylo dosaženo nejlepších výsledků při spolehlivosti klasifikace sucha nad 85 % a mírně nižší spolehlivosti detekce deficitu dusíku. V případě kombinace vlivu sucha a deficitu dusíku ovšem spolehlivost klasifikace klesla pod úroveň 70 %. V tomto případě bylo pro trénování neuronové sítě využito 9 parametrů přímo odečítaných z křivek kinetiky fluorescence.

2.4 Materiál a metody

2.4.1 Kultivace rostlin

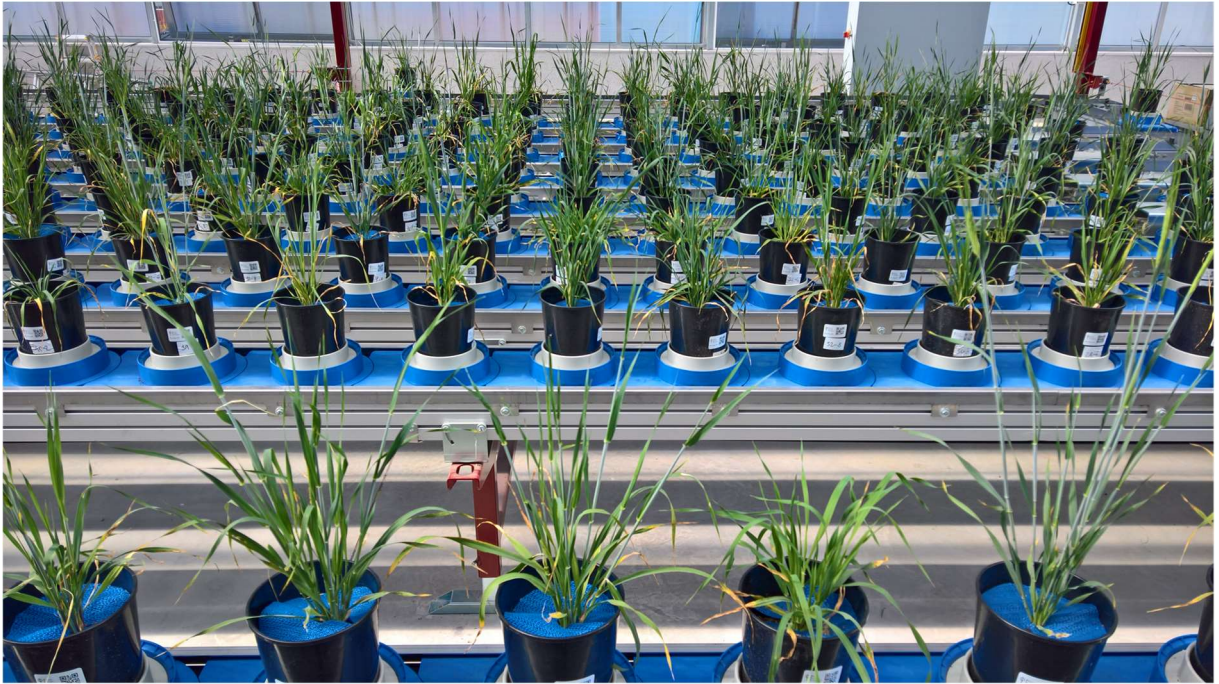
Fenotypovací pokus byl proveden v roce 2017 (od 17. dubna do 15. srpna) s 29 genotypy jarního ječmene (*Hordeum vulgare* L.), jejichž osivo poskytla Genová banka ječmene Zemědělského výzkumného ústavu Kroměříž, s. r. o., Česká republika. Pro vlastní vývoj metod vyhodnocení odolnosti bylo vybráno šest genotypů na základě kontrastní výnosové reakce na sucho: dva genotypy citlivé na sucho (Abyssinian 1125 a Persicum 64), dva genotypy se střední reakcí na sucho (Laudis 550 a Maresi) a dva genotypy tolerantní k suchu (Herse a Sara) a zároveň reprezentující vysoký rozsah absolutního výnosu zrna při stresu suchem, aby bylo možné prokázat korelace mezi jednotlivými měřenými parametry a jak relativním (výnos zrna rostlin stresovaných suchem dělený výnosem zrna dostatečně zavlažovaných rostlin), tak absolutním výnosem zrna. Semena byla před založením experimentu předklíčena po dobu tří dnů při pokojové teplotě na vlhkém filtračním papíru. Pouze naklíčená semena byla poté vysazena do květináčů (průměr 16 cm, objem 3 l) naplněných směsí hnojeného zahradnického substrátu (TS2/420, Klasmann-Deilmann, DE), světlého rašelinového substrátu (Base Substrate 2/422, Klasmann-Deilmann) a křemičitého písku frakce 0-2 mm (KP 401, KM Beta, Hodonín, CZ) v poměru 1:1:1. Pro každý genotyp bylo založeno osm květináčů po jedné rostlině na květináč (4 květináče/opakování reprezentující dostatečně zavlažovanou kontrolu a 4 květináče stresované suchem). Rostliny byly pěstovány na zahradě výzkumného centra PSI Research Centre v Drásově, CZ, dokud většina genotypů nedosáhla růstové fáze počátku sloupkování (DC30). Rostliny byly zavlažovány dvakrát týdně dávkou vody přibližně 10 l m⁻².

Květináče byly poté 6. června přesunuty do automatické fenotypovací platformy PlantScreen (PSI, Drásov, CZ) a pěstovány v částečně řízených skleníkových podmínkách. Teplota ve skleníku byla řízena systémem automatického otevírání oken a aktivní intenzitou ventilace, která zajišťovala, že teplota vzduchu nestoupala o více než +5 °C oproti teplotě okolního vzduchu. Snížení fotosyntetického aktivního záření se pohybovalo mezi 15 a 25 % v závislosti na úhlu dopadu slunečního záření. Rostliny byly náhodně rozděleny do kontrolní skupiny (dobře zavlažované) a skupiny vystavené stresu suchem se čtyřmi opakováními pro každou kombinaci genotypu a ošetření. Kontrolní skupina byla na základě automatického vážení a zavlažování pravidelně zavlažována až do úrovně přibližně 80 % vodní kapacity substrátu (35 % objemové vlhkosti), zatímco skupina vystavená stresu suchem byla ponechána postupnému vysychání až do bodu vadnutí (18 % objemové vlhkosti půdy, obr. 8). Aby se zabránilo rozdílné rychlosti vysychání skupiny vystavené stresu suchem v důsledku rozdílů v rychlosti transpirace

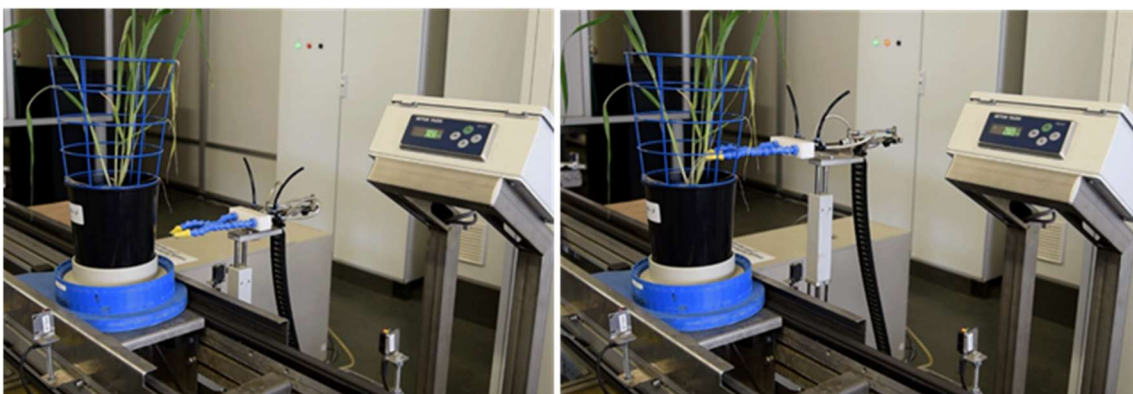
(způsobené zejména rozdíly v ploše listů), bylo po každém měření hmotnosti květináčů následně přidáno automaticky takové množství vody, aby se obsah vody v substrátu v rámci skupiny vystavené stresu suchem vyrovnal na úroveň květináče s maximálním obsahem vody. V případě vyššího množství vody, které bylo třeba doplnit, bylo zalévání a vážení rozděleno do 2-3 cyklů, což umožnilo lepší infiltraci vody a eliminovalo vliv odpařování z povrchu půdy. Na základě měření hmotnosti květináčů tak byla vlhkost půdy v celé skupině vystavené ošetření suchem po každém zavlažování srovnatelná. Bodu vadnutí bylo dosaženo 21. den a poté byla aplikována závlaha na úroveň kontrolní skupiny (opětovné zavlažování až do úrovně 80 % vodní kapacity), aby bylo možné vyhodnotit regeneraci rostlin v průběhu následujících deseti dnů. V průběhu pokusu byla v pravidelných intervalech ≤ 4 dny (s výjimkou některých poruch zařízení) prováděna měření boční projekční plochy rostliny kalibrovanou RGB kamerou (boční pohled), aktuálního kvantového výtěžku fotosystému II (Φ_{PSII}) otevřenou fluorescenční kamerou (horní pohled) a rozdílu teploty listů oproti teplotě vzduchu termální infračervenou kamerou (horní pohled). Po skončení období měření byly rostliny vráceny na zahradu výzkumného centra PSI a pěstovány až do zralosti pod pravidelnou závlahou (dvakrát týdně s dávkou cca 10 l m⁻²).

2.4.2 Platforma pro fenotypování

Během období měření byly rostliny pěstovány na fenotypizační platformě PlantScreen™ Modular System v PSI Research Centre (Drásov, CZ; obr. 4). Ta je vybavena zobrazovací jednotkou, aklimačním tunelem, který zajišťuje stejné podmínky před vstupem do zobrazovací jednotky (3 minuty aklimace na světle před měřením zobrazovací fluorescence chlorofylu a 1 minuta aklimace ve tmě před termálním zobrazením), a vážicí a zavlažovací stanicí (obr. 5). Květináče byly umístěny v přepravních discích, které slouží k přemísťování mezi pěstební plochou, zobrazovacími jednotkami a zavlažovací stanicí pomocí dopravníků. Zobrazovací jednotka je vybavena zobrazovacím systémem RGB, fluorescenční kamerou a termokamerou. Zobrazovací měření byla prováděna ve dnech 0, 6, 11, 17, 21, 24 a 31 od začátku stresu suchem, zatímco fáze regenerace (opětovné zavlažování) začala 21. den (ihned po měření v tento den). Rostliny byly v rámci opakování uspořádány náhodně, přičemž měření v průběhu dne byla prováděna pro celé opakování v jedné dávce, tak aby byly minimalizovány případné rozdíly mezi variantami a genotypy způsobené denním cyklem. Fenotypovací měření byla prováděna mezi 9:00-13:00 hodinou SEČ, aby se minimalizoval vliv ranní indukce a odpolední fotosyntetické deprese. Poloha opakování v rámci platformy byla po každém měření změněna, aby se eliminovaly případné artefakty způsobené stejnou polohou v rámci platformy.



Obrázek 4. Pohled na kultivační halu/skleník fenotypizační platformy PlantScreen™ Modular System v PSI Research Centre Drásov s testovanými genotypy ječmene v první polovině indukce sucha. Jednotlivé květináče představují jedno opakování pro kombinaci varianty genotyp ječmene x dostupnost vody (dostateční závlaha a stres suchem). Úzké pěstební stoly představují současně dopravníkový systém zajišťující automatizovanou přepravu rostlin do zobrazovací jednotky a zavlažovací/vážící stanice.



Obrázek 5. Vážící a zavlažovací stanice. Vlevo průběh vážení a vpravo průběh zavlažování.

2.4.3 RGB zobrazování

Červeno-zeleno-modré (RGB) snímky byly pořízeny RGB kamerou (SV-0814H, VS Technology, JP) z horního pohledu a z několika úhlů z bočního pohledu (7,5 megapixelové snímky, rozlišení 2560 x 2956 pixelů; obr. 6). Software PlantScreen Data Analyser byl použit k extrakci bočně promítnuté listové plochy a k analýze barevného indexu. Pro vyhodnocení indexu barvy listů bylo automaticky vygenerováno 8 odstínů zelené barvy, přičemž jako vstupní údaje byly použity snímky RGB pořízené během celého období fenotypování z boku. Segmentace barev a hodnocení zeleně bylo provedeno podle Awlia a kol. (2016). Osm dominantních odstínů lze charakterizovat pomocí jejich R,G,B desetinného kódu: tmavě šalvějově zelená (100,113,91), olivově zelená (88,103,68), tmavě zelená (72,88,57), borovicově zelená (56,63,51), tmavě khaki (122,115,73), khaki (147,133,93), béžová (178,158,121) a hnědá (105,84,69). Takové barevné členění dobře dokumentuje změny v obsahu chlorofylu způsobené abiotickým stresem.

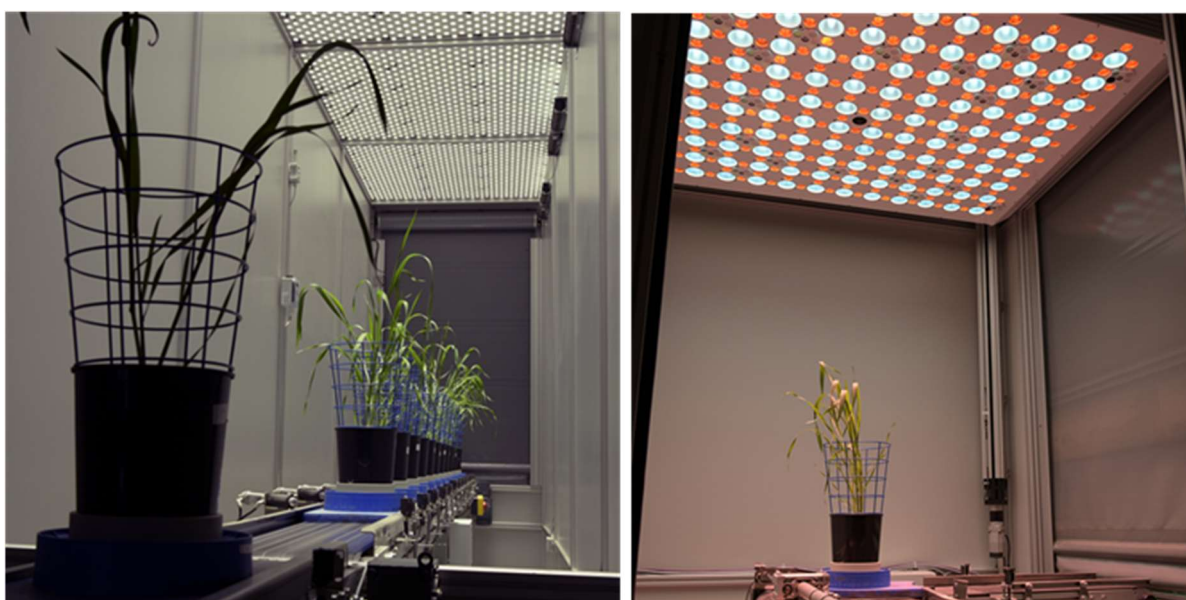


Obrázek 6. Jednotka RGB zobrazování s horní a boční RGB kamerou

2.4.4 Zobrazovací fluorescence chlorofylu

Před vlastním měřením zobrazovací fluorescence chlorofylu byly rostliny pomocí automatického dopravníku přesunuty do aklimačního tunelu (obr. 7), kde byly po dobu 3 minut adaptovány na konstantní intenzitu světla. Intenzita světla LED světelného zdroje (chladné bílé aktinické světlo, PSI, Drásov, ČR) použitého pro adaptaci byla $500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Stejná intenzita světla byla použita v průběhu měření zobrazovací fluorescence jako aktinický zdroj.

Měření probíhala během slunečných dnů, takže rostliny byly před vstupem do aklimačního tunelu vždy přizpůsobeny na světlo s intenzitou PAR vyšší než $500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Aklimační tunel sloužil tedy především ke standardizaci světelných podmínek před měřením. Poté byly rostliny pomocí dopravníku přesunuty do jednotky pro zobrazování fluorescence chlorofylu. Fluorescence chlorofylu byla měřena z horního pohledu pomocí fluorometru FluorCam (PSI, Drásov, ČR; obr. 7) s pulzní amplitudovou modulací chlorofylu (Abdelhakim a kol., 2021). Doba trvání saturačního světelného impulzu pro vyvolání F_m' (maximální fluorescence chlorofylu při stavu adaptovaném na světlo) byla 800 ms s intenzitou $2730 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. F_t (ustálený stav fluorescence při dané intenzitě aktinického světla) byla měřena při zapnutém aktinickém světle. Hodnoty F_m' a F_t byly vyhodnoceny pomocí softwaru FluorCam 7 (PSI). Aktuální kvantový výtěžek fotosystému II (Φ_{PSII}) byl stanoven jako $(F_m' - F_t) / F_m'$.



Obrázek 7. Aklimační tunel ve kterém probíhá aklimace rostlin na standardní světelné podmínky před měřením zobrazovací fluorescence chlorofylu (vlevo) a fluorescenční kamera FluorCam pro vyhodnocení zobrazovací fluorescence chlorofylu.

2.4.5 Termální infračervené zobrazování

Termosnímky byly získány pomocí termální infračervené kamery FLIR A615 (FLIR Systems Inc., Boston, MA, USA) použité v režimu skenování s rozlišením 640×710 pixelů, tepelnou citlivostí $< 50 \text{ mK}$ a hodnotou tepelné emisivity nastavenou standardně na 0,95 (Paul a kol., 2019). Snímání termální kamerou proběhlo po 1 minutě adaptace na tmou v aklimačním tunelu tak, aby se eliminovala variabilita přímého ohřevu listů dopadajícím zářením způsobená různým úhlem a polohou listů na rostlině. Snímky byly pořízeny ve tmě z bočního pohledu. Pro

automatickou extrakci teploty povrchu listů byl použit analyzátor dat PlantScreen™ (PSI). Aby se omezil vliv okolních podmínek, byla získaná teplota povrchu listů normalizována odečtením teploty okolního vzduchu, čímž se získala hodnota teplotního rozdílu (T_{diff}).

2.4.6 Sklizeň

Po dosažení plné zralosti (DC89-92) byla provedena ruční sklizeň. Rostliny byly odštíženy u povrchu půdy a následně sušeny v sušárně při 70 °C po dobu 48 hodin tak, aby se stanovila celková nadzemní biomasa na jednu rostlinu. Poté byly klasy ručně vydroleny a vydrolené zrno bylo vyčištěno nejprve proudem vzduchu a následně na síť 2,2 mm. Do výnosu zrna tak byl započítán pouze podíl zrna nad sítí 2,2 mm. Zrno bylo následně zváženo a stanoven výnos na jednu rostlinu. Relativní výnos byl pro každé opakování varianty vystavené stresu suchem vypočítán jako podíl výnosu na rostlinu pro dané opakování a průměru výnosů všech opakování variant dostatečně zavlažovaných v rámci jednoho genotypu.

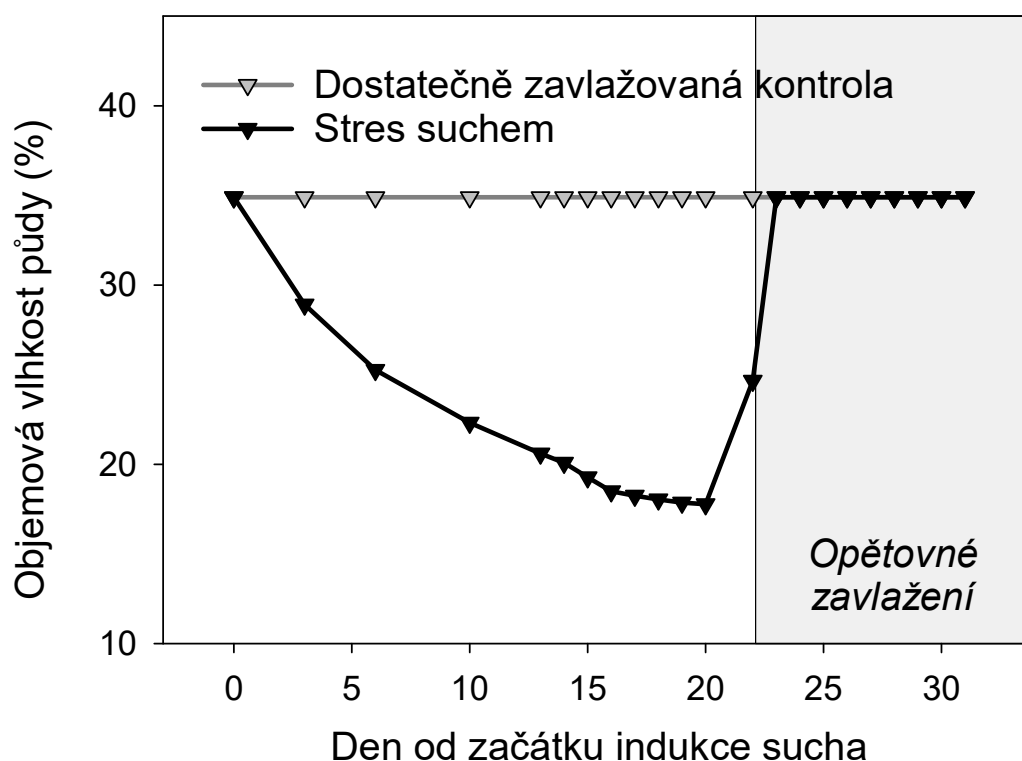
2.4.7 Statistická analýza dat

Data byla zpracována v programu R 4.0.2 (R Core Team, 2020) pomocí balíčku tidyverse (Wickham, 2016). Pro posouzení efektu sucha a termínu od nástupu sucha na jednotlivé měřené znaky byla provedena dvoufaktorová analýza variance (ANOVA). Tukeyho post-hoc test byl poté použit k určení homogenních skupin a tím k posouzení rozdílů mezi průměry v rámci jednoho genotypu. Korelační analýza (Pearsonovy korelační koeficienty) byla provedena jak pro relativní výnos s relativními měřenými parametry (poměr jednotlivých opakování při stresu suchem k průměru dobře zavlažované kontroly v rámci jednoho genotypu), tak pro absolutní výnos zrna při stresu suchem s absolutními hodnotami měřených fenotypovacích parametrů při stresu suchem pro každý den měření. Byla vypočtena vícenásobná regrese s použitím předem vybraných fenotypovacích parametrů a dat vykazujících Pearsonův korelační koeficient $R > 0,5$. Data byla vizualizována pomocí balíčku R ggplot2 (Wickham, 2016) a softwaru SigmaPlot 14 (Systat Software, San Jose, CA). Analýza redundance (RDA) a biplot výsledků RDA byly vyhodnoceny v programu CANOCO 5 (Microcomputer Power, Ithaca, NY, USA).

2.5 Výsledky

2.5.1 Vlhkost půdy

Objemová hmotnost kontrolní, dostatečně zavlažované varianty, byla udržována po celou dobu experimentu na úrovni 35 % (obr. 8). Tato hodnota představovala asi 80 % množství dostupné vody pro rostliny, tedy rozdílu mezi polní vodní kapacitou (objemová vlhkost asi 40 %) a bodem vadnutí (objemová vlhkost asi 18 %). Objemová vlhkost půdy klesala velmi rychle v prvních 6 dnech, kdy bylo dosaženo úrovně zhruba 50 % vody dostupné pro rostliny (polovina rozpětí mezi plnou vodní kapacitou a bodem vadnutí). Následně se pokles objemové vlhkosti půdy zpomaloval, přičemž bodu vadnutí bylo dosaženo až 21. den po začátku sucha. Hodnoty blízké bodu vadnutí (pod 20 % objemové vlhkosti) byly ovšem dosaženy již po 15. dnu od začátku sucha. Po dosažení bodu vadnutí byly varianty stresované suchem opětovně zavlaženy. Následně byly rovněž varianty vystavené stresu suchem dovlaženy na úroveň vlhkosti půdy 35 %, tak aby mohla být vyhodnocena schopnost regenerace.

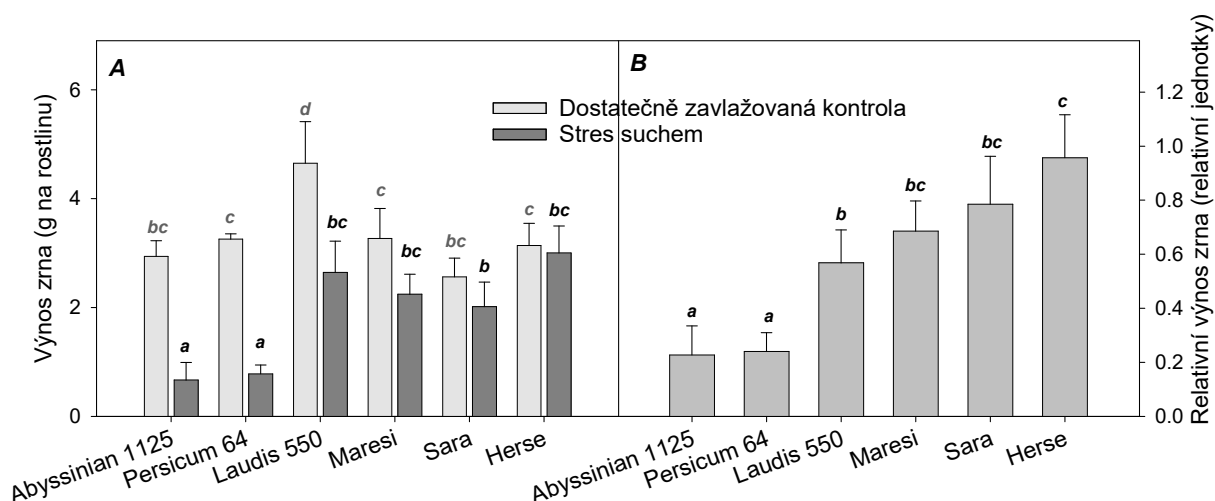


Obrázek 8. Vývoj objemové vlhkosti půdy u varianty dostatečně zavlažované (šedé trojúhelníky a čára) a varianty vystavené stresu suchem (černé trojúhelníky a čára). Uváděné hodnoty jsou vypočteny na základě vážení po zavlažení na určenou hmotnost.

2.5.2 Výnos zrna

Výnos zrna u kontrolních (dostatečně zavlažovaných) rostlin v absolutním vyjádření vykazoval významné rozdíly mezi genotypy (obr. 9A). Nejvyšší výnos zrna na jednu rostlinu byl zjištěn u genotypu *Laudis 550*. Mezi ostatními genotypy ovšem byly rozdíly v rámci kontrolní varianty poměrně malé a většinou statisticky nevýznamné, přičemž nejnižší výnos zrna byl pozorován u genotypu *Sara*. Naproti tomu absolutní výnos zrna na jednu rostlinu při stresu suchem byl nejvyšší u genotypu *Herse*, následovaný genotypy *Laudis 550*, *Maresi*, *Sara*, *Persicum 64* a *Abyssinian 1125*, který společně s genotypem *Persicum 64* vykazoval nejnižší absolutní výnos zrna po vystavení stresu suchem (obr. 9A).

Relativní výnos zrna, vypočtený jako poměr mezi výnosem rostlin stresovaných suchem a průměrem kontrolních rostlin daného genotypu, obecně ukázal velmi variabilní reakci jednotlivých genotypů na sucho (obr. 9B). Relativní výnos zrna se pohyboval od 0,23 do 0,96 (23 až 96 % kontrolní varianty). Ve skupině genotypů citlivých na sucho (*Abyssinian 1125* a *Persicum 64*) byly průměrné hodnoty 0,23 a 0,28, ve skupině genotypů středně odolných suchu (*Laudis 550* a *Maresi*) 0,63 a 0,76 a ve skupině genotypů odolných k suchu (*Sara* a *Herse*) 0,87 a 0,96. Na základě relativní reakce výnosu zrna na stres suchem se genotypy seřadily od nejméně po nejvíce odolné k suchu takto: *Abyssinian 1125* < *Persicum 64* < *Laudis 550* < *Maresi* < *Sara* < *Herse*. Při porovnání relativní a absolutní reakce výnosu na sucho vykazovaly dané genotypy rozdílné pořadí, ačkoliv odrůdy s nejvyšším a nejnižším relativním výnosem (*Herse* a *Abyssinian 1125*) zůstaly stejné i při absolutním vyjádření výnosu zrna v podmínkách sucha. Rozdíly mezi relativním výnosem a absolutním výnosem v podmínkách sucha se projevily zejména ve skupině genotypů se střední odolností (*Laudis 550* a *Maresi*), které v absolutním výnosu v podmínkách sucha překonaly výnos odolné odrůdy *Sara*. Tyto rozdíly v relativní výnosové reakci na stres suchem a v absolutním výnosu za podmínek sucha tak vytvořily předpoklad pro možnost nezávislého testování relativních a absolutních odhadů výnosu na stejném souboru dat.

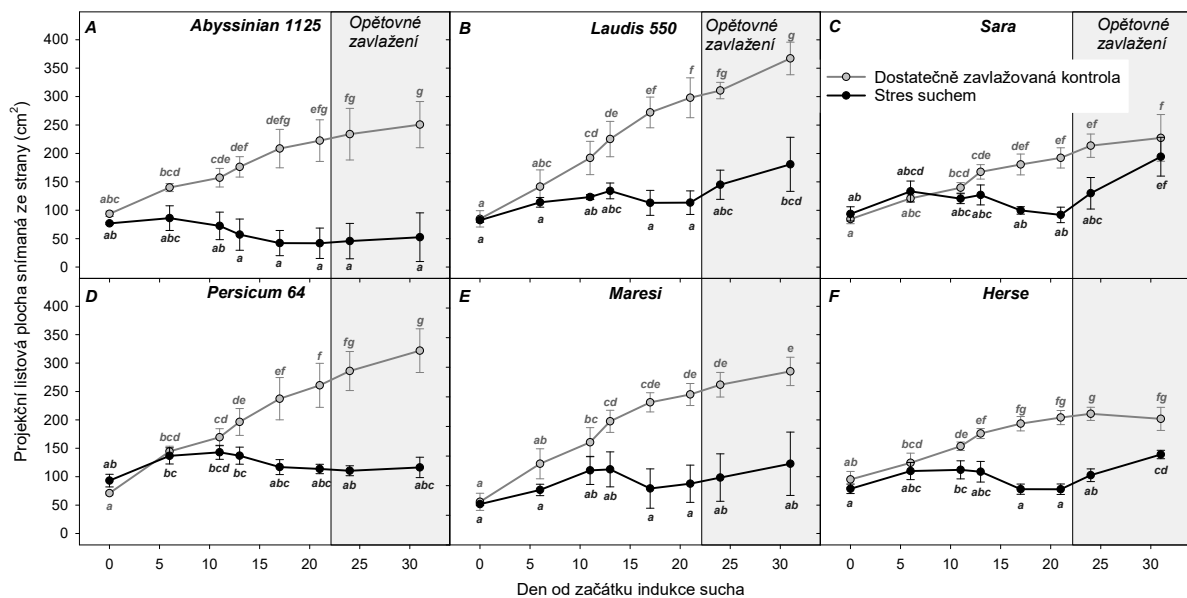


Obrázek 9. Absolutní (A) a relativní výnos zrna (B, poměr výnosu zrna rostlin vystavených stresu suchem k průměrnému výnosu zrna kontrolních, dobře zavlažovaných rostlin v rámci daného genotypu) pro jednotlivé genotypy jarního ječmene. Absolutní výnos zrna pro kontrolní (dobře zavlažované; světle šedé sloupce) a stresované suchem (tmavě šedé sloupce) je zobrazen samostatně. V grafech jsou znázorněny průměry (sloupce) a směrodatné odchylky (chybové úsečky) ($n=4$). Rozdílná písmena označují významné rozdíly ($p \leq 0,05$) mezi průměry na základě Tukeyho ANOVA post-hoc testu.

2.5.3 Projekční listová plocha

Genotypy ječmene se lišily v rychlosti růstu kontrolní (dostatečně zavlažované) varianty, jak ukazuje graf vývoje projekční listové plochy rostliny snímané ze strany (obr. 10). Nejvyšší rychlost růstu v dostatečně zavlažovaných podmínkách vykazovaly genotyp Laudis 550, který patří do skupiny střední tolerance k suchu, a genotyp Persicum 64, který je citlivý k suchu. Naproti tomu genotypy Herse a Sara, které jsou tolerantní k suchu, vykazovaly nejpomalejší rychlost růstu listové plochy. U všech genotypů byla rychlost růstu listové plochy ovlivněna indukcí stresu suchem. Statisticky významný vliv sucha na listovou plochu byl pozorován u genotypů Abyssinian 1125, Laudis 550 a Herse od 11. dne, u genotypů Persicum 64 a Maresi od 13. dne a u genotypu Sara od 16. dne od začátku indukce sucha. Hlavní rozdíly mezi skupinou citlivou na sucho a ostatními genotypy byly patrné v reakci na opětovné zavlažování (fáze regenerace). Zatímco u genotypů citlivých na sucho nedošlo k výraznému obnovení listové plochy (obr. 10A, D), u ostatních genotypů došlo k obnovení růstu listové plochy po opětovném zavlažení. Toto zvýšení bylo pozorováno u obou genotypů ze skupiny tolerantní k

suchu a u genotypu Laudis 550 ze skupiny středně tolerantní k suchu. U genotypu Sara byl rovněž pozorován menší rozdíl v listové ploše mezi dostatečně zavlažovanou kontrolou a variantou vystavenou stresu suchem. Dále se během fáze regenerace tento rozdíl zmenšil do té míry, že v posledním dni měření již nebyl statisticky průkazný (obr. 10C).



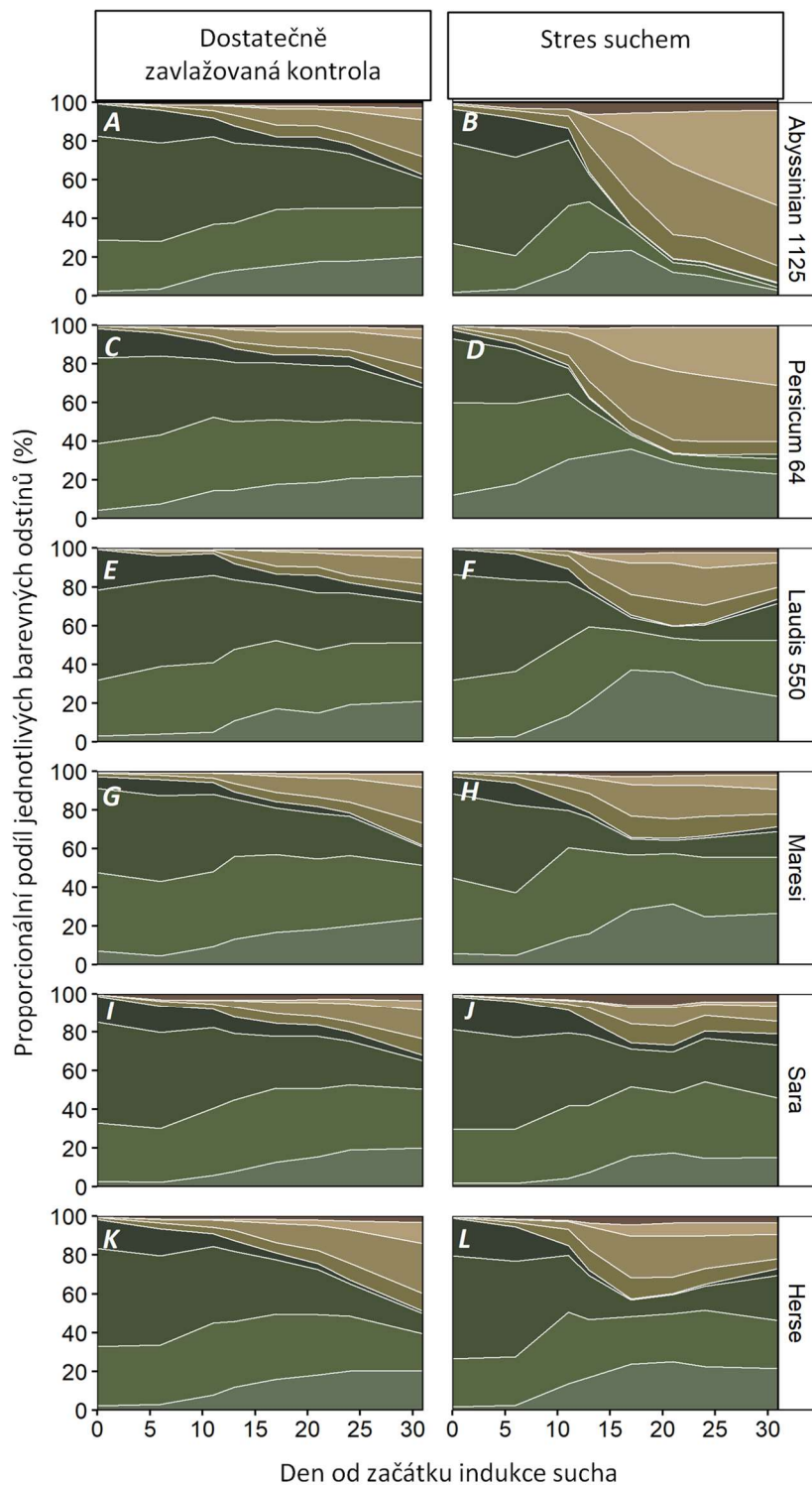
Obrázek 10. Dynamika změn v projekční listové ploše rostlin snímaných ze strany pro jednotlivé genotypy jarního ječmene (A - Abyssinian 1125, B - Laudis 550, C - Sara, D - Persicum 64, E - Maresi, F - Herse), pro kontrolní (dostatečně zavlažovanou) variantu (šedé body a čáry) a variantu vystavenou stresu suchem (černé body a čáry). Šedě vyplněná plocha představuje období opětovného zavlažování. V grafech jsou znázorněny průměry (body) a směrodatné odchylky (chybové úsečky) ($n=4$). Rozdílná písmena označují statisticky průkazné rozdíly ($p \leq 0,05$) mezi průměry v rámci jednotlivých genotypů na základě Tukeyova ANOVA post-hoc testu.

2.5.4 Barevná analýza

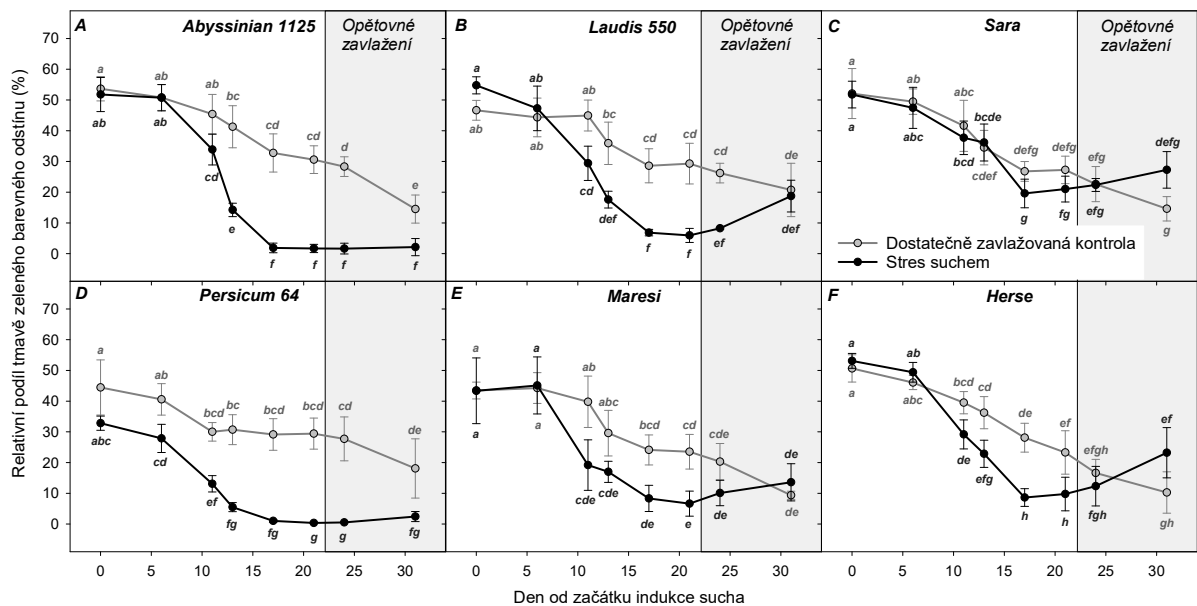
Poměry barev rostlin byly popsány osmi dominantními odstíny (obr. 11). Mezi nimi byly nejvýraznější změny v důsledku působení sucha pozorovány u tmavě zelené barvy (DG; RGB 72,84,57; obr. 12), která negativně souvisela se stresem suchem a jeho délkou, a khaki barvy (KH; RGB 147,133,93; obr. 13), která vykazovala pozitivní souvislost s působením sucha a jeho délkou. Zatímco podíl odstínu DG se snižoval, podíl odstínu KH se při stresu suchem zvyšoval (obr. 11). Podíl odstínu DG se rovněž rovnoměrně snižoval u dostatečně

zavlažovaných kontrol, avšak pokles způsobený stresem suchem byl mnohem strmější, zejména u genotypů citlivých na sucho (obr. 12). Zatímco u genotypu Sara nebyly rozdíly mezi dostatečně zavlažovanou kontrolou a ošetřením stresem suchem významné, genotyp Herse vykazoval statisticky významné rozdíly od 13. dne, genotypy Laudis 550, Maresi a Abyssinian 1125 od 11. dne a genotyp Persicum 64 již od 6. dne. Podíl odstínu DG se v průběhu opětovného zavlažení u genotypů tolerantních k suchu (Sara a Herse) obnovil na hodnoty dokonce vyšší než podíl DG u dostatečně zavlažované kontroly, zatímco podíl DG u genotypů citlivých k suchu zůstal i po opětovném zavlažení na minimální úrovni. U genotypů se střední tolerancí k suchu se podíl odstínu DG vrátil na úroveň kontrolních dostatečně zavlažovaných rostlin.

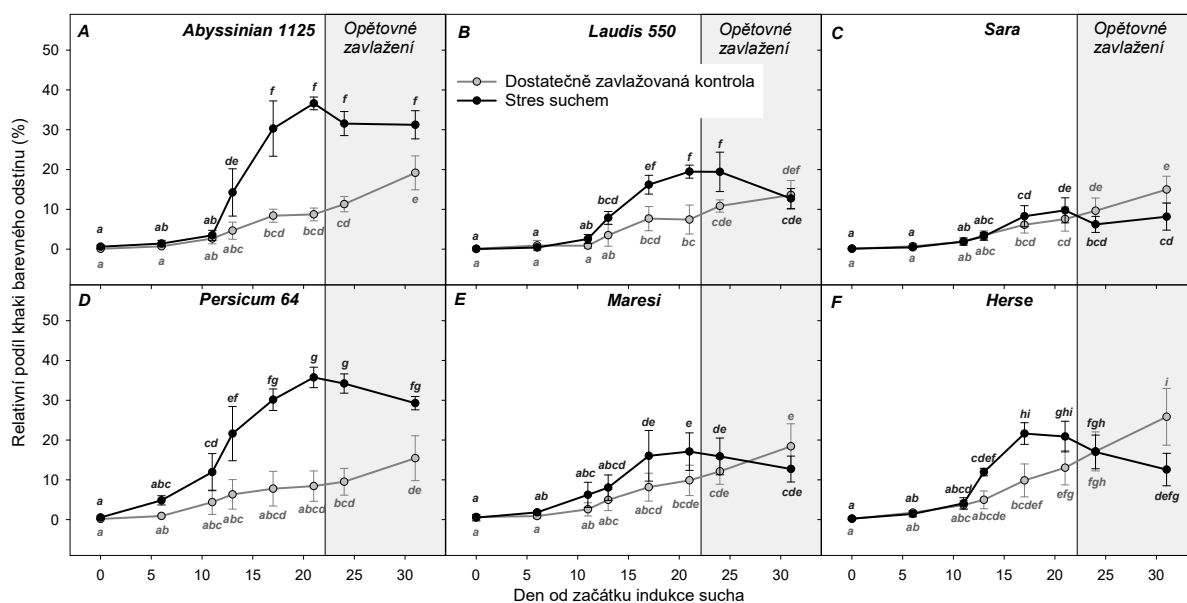
Podíl odstínu KH se u dostatečně zavlažovaných kontrol rovnoměrně zvyšoval a průběh změn byl u všech testovaných genotypů velmi podobný (obr. 13). Naproti tomu dynamika změn podílu odstínu KH při stresu suchem vykazovala významné rozdíly mezi genotypy. Podíl odstínu KH u genotypu Sara byl stresem suchem ovlivněn méně a nebyl statisticky významný ve srovnání s dostatečně zavlažovanou kontrolou (obr. 13C). Rozdíly mezi kontrolou a stresem suchem byly převážně statisticky nevýznamné také u genotypu Maresi. Genotypy Herse a Laudis 550 vykazovaly statisticky průkazné rozdíly v podílu odstínu KH mezi dostatečně zavlažovanou kontrolou a stresem suchem od 16. dne. U všech výše uvedených genotypů však došlo k obnovení podílu odstínu KH během fáze opětovného zavlažování. Na druhé straně dva genotypy citlivé na sucho vykazovaly rychlý nárůst podílu odstínu KH (statisticky významný oproti dostatečně zavlažované kontrole od 13. dne) a jen velmi malou regeneraci (návrat k hodnotám na úrovni dostatečně zavlažované kontroly) během fáze opětovného zavlažování (obr. 13A, D).



Obrázek 11. Změny relativního podílu jednotlivých barev analyzovaných ze snímků RGB (boční pohled). Barvy odspodu nahoru v grafech jsou charakterizovány jejich číselným kódem R,G,B: tmavě šalvějově zelená (100,113,91), olivově zelená (88,103,68), tmavě zelená (72,88,57), borovicově zelená (56,63,51), tmavě khaki (122,115,73), khaki (147,133,93), béžová (178,158,121) a hnědá (105,84,69).



Obrázek 12. Změny tmavě zeleného odstínu (RGB 72,84,57) analyzované ze snímků RGB z bočního pohledu pro jednotlivé genotypy jarního ječmene (A - Abyssinian 1125, B - Laudis 550, C - Sara, D - Persicum 64, E - Maresi, F - Herse), pro kontrolní (dostatečně zavlažované) varianty (šedé body a čáry) a varianty stresované suchem (černé body a čáry). Vyplněná šedá plocha představuje období opětovného zavlažování. V grafech jsou znázorněny průměry (body) a směrodatné odchylky (chybové úsečky) ($n=4$). Rozdílná písmena označují průkazné rozdíly ($p \leq 0,05$) mezi průměry v rámci jednotlivých genotypů na základě Tukeyova ANOVA post-hoc testu.

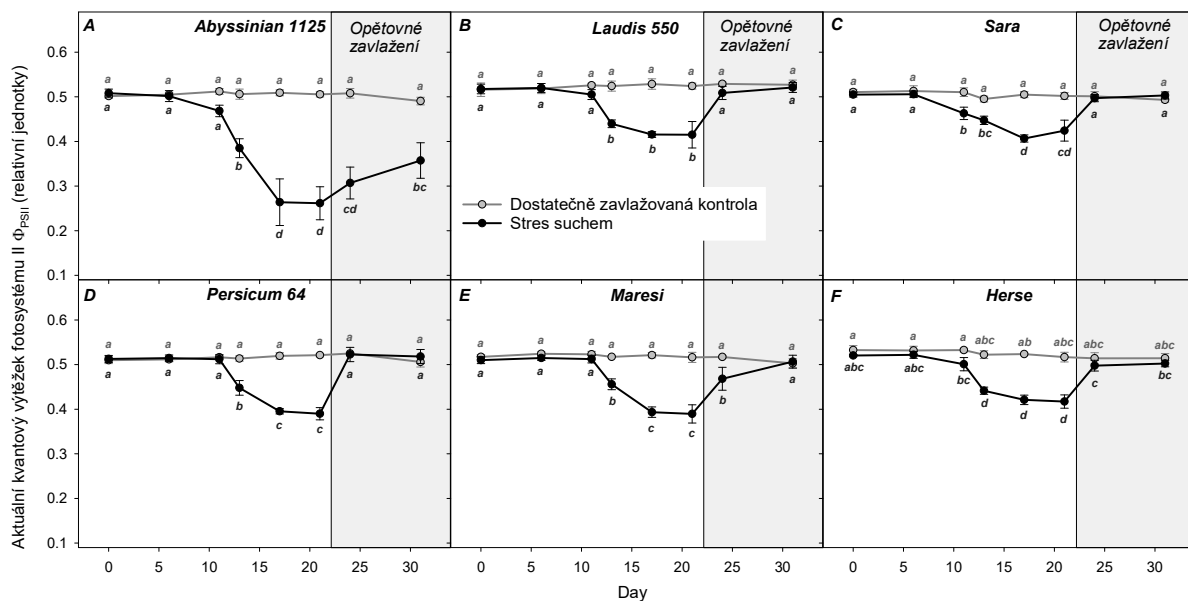


Obrázek 13. Změny khaki odstínu (RGB 72,84,57) analyzované ze snímků RGB z bočního pohledu pro jednotlivé genotypy jarního ječmene (A - Abyssinian 1125, B - Laudis 550, C - Sara, D - Persicum 64, E - Maresi, F - Herse), pro kontrolní (dostatečně zavlažované) varianty (šedé body a čáry) a varianty stresované suchem (černé body a čáry). Vyplněná šedá plocha představuje období opětovného zavlažování. V grafech jsou znázorněny průměry (body) a směrodatné odchylky (chybové úsečky) ($n=4$). Rozdílná písmena označují průkazné rozdíly ($p \leq 0,05$) mezi průměry v rámci jednotlivých genotypů na základě Tukeyova ANOVA post-hoc testu.

2.5.5 Zobrazovací fluorescence chlorofylu

Aktuální kvantový výtěžek fotosystému II (Φ_{PSII}) zůstal u všech genotypů v kontrolním (dostatečně zavlažovaném) režimu stabilní na úrovni hodnot okolo 0,5 po celou dobu experimentu (obr. 14). Rozdíly ve Φ_{PSII} byly u kontrolních variant statisticky neprůkazné. Naopak pokles Φ_{PSII} u rostlin vystavených stresu suchem byl statisticky průkazný u genotypů citlivých na sucho a genotypů se střední tolerancí k suchu od 13. dne. U genotypů tolerantních k suchu (Sara a Herse) byl průkazný pokles Φ_{PSII} pozorován dokonce již v 11. dni (obr. 14C, F). Absolutní pokles Φ_{PSII} byl však největší u genotypů citlivých na sucho, zejména u genotypu Abyssinian 1125, a nejmenší u genotypů tolerantních k suchu (Sara a Herse). S výjimkou genotypu Abyssinian 1125 se Φ_{PSII} u všech genotypů po opětovném zavlažení vrátil na výchozí hodnotu, což znamená, že rozdíly mezi stresem suchem a dostatečně zavlažovanou kontrolou se staly statisticky neprůkaznými. Regenerace Φ_{PSII} byla pozorována také u genotypu

Abyssinian 1125, ale hodnoty se nevrátily na úroveň dostatečně zavlažované kontroly (obr. 14A).

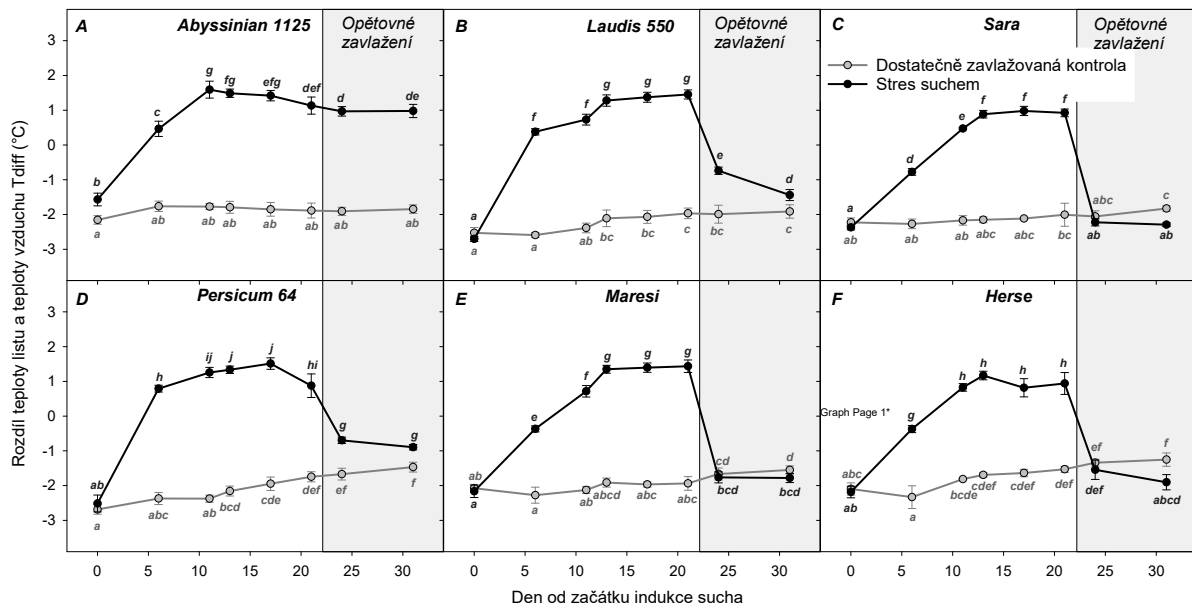


Obrázek 14. Změny aktuálního kvantového výtěžku fotosystému II Φ_{PSII} (snímání zobrazovací fluorescence chlorofylu shora) pro jednotlivé genotypy jarního ječmene (A - Abyssinian 1125, B - Laudis 550, C - Sara, D - Persicum 64, E - Maresi, F - Herse), pro kontrolní (dostatečně zavlažované) varianty (šedé body a čáry) a varianty stresované suchem (černé body a čáry). Vyplněná šedá plocha představuje období opětovného zavlažování. V grafech jsou znázorněny průměry (body) a směrodatné odchylky (chybové úsečky) ($n=4$). Rozdílná písmena označují průkazné rozdíly ($p \leq 0,05$) mezi průměry v rámci jednotlivých genotypů na základě Tukeyova ANOVA post-hoc testu.

2.5.6 Termální infračervené zobrazování

Rozdíl mezi teplotou listů a teplotou vzduchu (T_{diff}) byl znakem, který nejrychleji reagoval na působení stresu suchem. Zatímco u dostatečně zavlažované kontroly zůstávaly hodnoty T_{diff} na relativně stabilní úrovni při záporných hodnotách (okolo -2 °C) nebo se v průběhu experimentu mírně navyšovaly, při stresu suchem se hodnoty T_{diff} výrazně zvýšily a již šest dní po začátku sucha byly rozdíly ve srovnání s dostatečně zavlažovanou kontrolou statisticky průkazné (obr. 15). Rozdíly mezi genotypy se tedy projeví spíše v rychlosti dosažení maximálních hodnot, zejména v obnově hodnot T_{diff} v období opětovného zavlažování. Genotypy Sara, Herse a Maresi vykazovaly podobný průběh reakce T_{diff} na suchu charakterizovaný pomalejším nárůstem hodnot T_{diff} a jejich úplnou regenerací na úroveň dostatečně zavlažované kontroly během období opětovného zavlažování (obr. 15C, F, E).

Genotypy *Laudis 550* a *Persicum 64* vykazovaly poměrně rychlou změnu T_{diff} při stresu suchem a částečnou regeneraci hodnot během opětovného zavlažení. Kontrastním genotypem s ohledem na tento znak byl *Abyssinian 1125*, který nevykazoval žádné známky regenerace T_{diff} během opětovného zavlažení (obr. 15A).



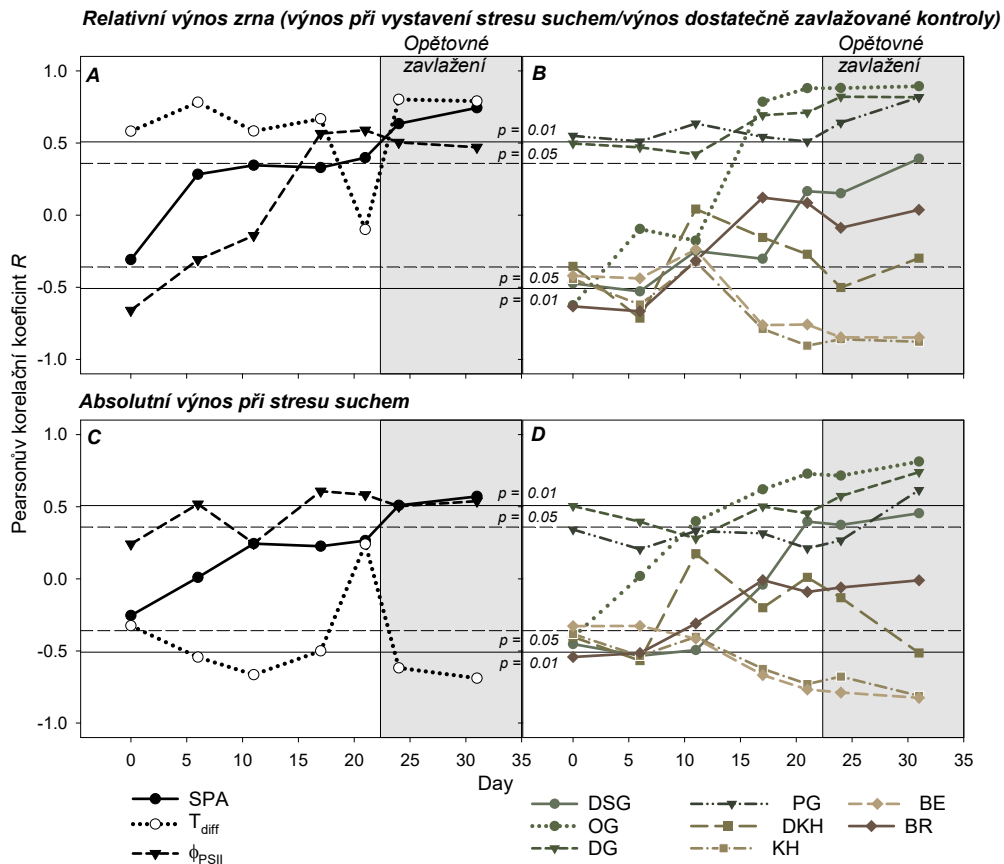
Obrázek 15. Změny rozdílu teploty listu a teploty vzduchu (T_{diff}) (infračervené termální zobrazování ze strany) pro jednotlivé genotypy jarního ječmene (A - *Abyssinian 1125*, B - *Laudis 550*, C - *Sara*, D - *Persicum 64*, E - *Maresi*, F - *Herse*), pro kontrolní (dostatečně zavlažované) varianty (šedé body a čáry) a varianty stresované suchem (černé body a čáry). Vyplněná šedá plocha představuje období opětovného zavlažování. V grafech jsou znázorněny průměry (body) a směrodatné odchylky (chybové úsečky) ($n=4$). Rozdílná písmena označují průkazné rozdíly ($p \leq 0,05$) mezi průměry v rámci jednotlivých genotypů na základě Tukeyova ANOVA post-hoc testu.

2.5.7 Korelace mezi fenotypovanými znaky a odolností vůči suchu

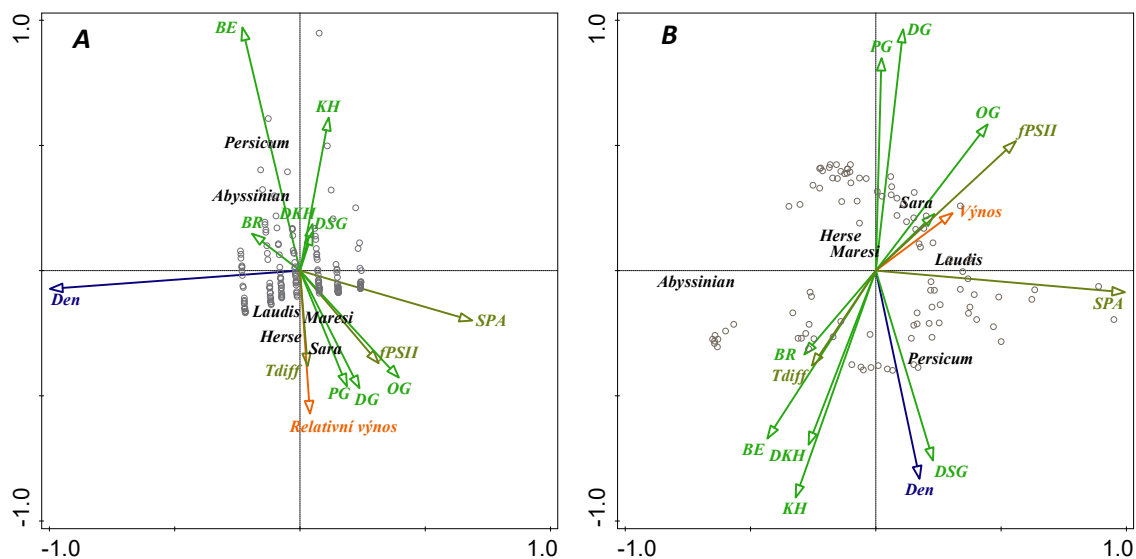
Za účelem vyhodnocení schopnosti fenotypovaných znaků indikovat odolnost genotypů k suchu a současně odhadovat výnosovou výkonnost genotypů v podmínkách stresu suchem byla provedena korelační analýza měřených parametrů s relativním nebo absolutním výnosem zrna. V případě korelací s relativním výnosem byly rovněž použity relativní hodnoty jednotlivých fenotypovaných parametrů (tedy vyjádřené jako poměr hodnoty u varianty vystavené stresu suchem k průměru dostatečně zavlažované kontroly v rámci daného genotypu), zatímco v případě korelací s absolutními hodnotami výnosu v podmínkách stresu sucha byly použity absolutní hodnoty fenotypovaných znaků. Nejlepší korelace s relativním výnosem zrna byly

získány pro relativní změnu odstínu KH ve dnech 21 (dosažení bodu vadnutí), 24 a 31 (opětovné zvlážení) od začátku indukce stresu suchem, přičemž Pearsonův korelační koeficient (R) dosáhl hodnot -0,90, -0,89 a -0,86 (obr. 16D). Podobné výsledky byly získány pro relativní změnu béžového odstínu (BE), přičemž R dosáhl hodnot -0,76, -0,84 a -0,85, a olivově zeleného odstínu (OG) s R 0,88, 0,88 a 0,89 pro 21., 24. a 31. den (obr. 16B). Poněkud slabší korelace byly pozorovány u relativní změny T_{diff} a projekční listové plochy snímané ze strany (SPA; obr. 16A). Relativní změna T_{diff} dosáhla nejvyššího R ve dnech opětovného zavlažení, tedy ve dnech 24 a 31 (0,80 a 0,79) a 6. den (0,78). SPA vykazovala nejvyšší R ve dnech opětovného zavlažení (0,63 ve 24. a 0,74 ve 31. dni). Φ_{PSII} vykazoval obecně nejnižší R ze všech měřených znaků s významnými korelacemi ve dnech 0 (-0,66), 17 (0,57), 21 (0,59) a 31 (0,5). Korelace absolutního výnosu zrna při stresu suchem s absolutními hodnotami měřených fenotypovaných znaků měřených v rámci variant vystavených stresu suchem vykazovaly obecně nižší hodnoty R , opačný směr korelací pro T_{diff} a také částečně odlišnou dynamiku vývoje R v čase. U analýzy barevných odstínů byly nejvyšší hodnoty R pozorovány na konci období opětovného zavlažení (-0,83, -0,81 a 0,81 pro barvy BE, KH a OG). T_{diff} vykazovala nejvyšší R s absolutním výnosem zrna při stresu suchem 11. den (-0,67) a poté na konci období opětovného zavlažení (31. den, -0,69). SPA vykazovala nejvyšší R rovněž 31. den (0,57) a Φ_{PSII} 17. a 21. den (0,61, resp. 0,58).

Analýza hlavních komponent (PCA), provedená samostatně pro relativní výnos zrna a absolutní výnos zrna při stresu suchem a příslušné relativně nebo absolutně vyjádřené fenotypové parametry měřené v průběhu experimentu, ukázala odlišný vzorec vazeb (obr. 17). Jak u relativního, tak u absolutního výnosu byl vysoký podíl variability vysvětlen dnem měření, což prokazuje významné změny v čase s postupem působení sucha. Den měření vykazoval negativní korelaci s relativní změnou projekční listové plochy snímané ze strany (SPA), pozitivní korelaci s tmavě šalvějově zeleným odstínem (DSG) a negativní s hodnotami borovicově zeleného (PG) a tmavě zeleného (DG) odstínu. U relativního výnosu zrna byla zjištěna pozitivní asociace s T_{diff} , odstíny PG, DG, OG a Φ_{PSII} , zatímco negativní asociace byla prokázána zejména u odstínů BE a KH (obr. 17A). Absolutní výnos zrna při stresu suchem vykazoval pozitivní asociaci s Φ_{PSII} a odstínem OG a negativní asociaci s odstíny BE, KH, tmavou khaki (DKH) a méně s hnědou barvou (BR) a T_{diff} (obr. 17B).



Obrázek 16. Změny Pearsonova korelačního koeficientu R pro vztahy mezi relativním výnosem zrna (A, B) nebo absolutním výnosem zrna při stresu suchem (C, D) a jednotlivými fenotypovanými parametry. Korelace byly počítány pro všechny genotypy a opakování ($n=24$). Hranice významných korelací jsou vyznačeny čárkovaně ($p = 0,05$) a plnou čarou ($p = 0,01$). SPA - boční projektovaná plocha rostliny, T_{diff} - teplotní rozdíl mezi listem a vzduchem, Φ_{PSII} - aktuální kvantový výtěžek fotosystému II, parametry barevné analýzy RGB: DSG - tmavě šalvějově zelená [100,113,91], OG - olivově zelená [88,103,68], DG - tmavě zelená [72,88,57], PG - borovicově zelená [56,63,51], DKH - tmavě khaki [122,115,73], KH - khaki [147,133,93], BE - béžová [178,158,121] a BR - hnědá [105,84,69].

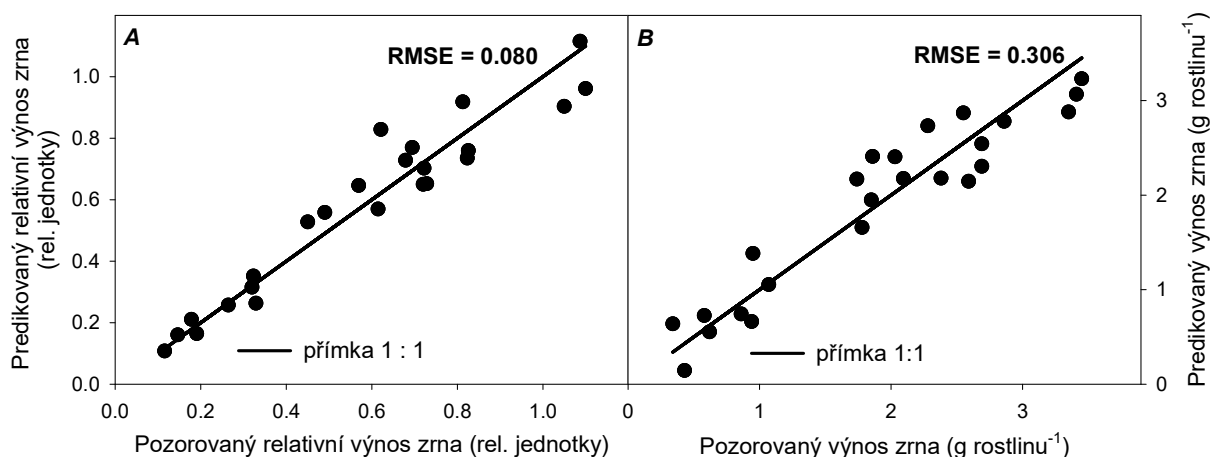


Obrázek 17. Výsledky PCA analýzy (zobrazení grafu komponentů PC1 – osa x a PC2 – osa y), které ukazují souvislosti mezi relativním výnosem zrna (A, poměr výnosu zrna dosaženého při stresu suchem k výnosu zrna dostatečně zavlažované kontroly) nebo absolutními hodnotami výnosu zrna v rámci varianty vystavené stresu suchem (B) a dnem vystavení suchu (modrá šipka), měřenými fyziologickými nebo morfologickými parametry (tmavě zelené šipky, Tdiff - teplotní rozdíl mezi listem a vzduchem, SPA – projekční listová plocha rostliny ze strany, fPSII - aktuální kvantový výtěžek fotosystému II - Φ_{PSII}), parametry barevné analýzy RGB (DSG - tmavě šalvějově zelená [100,113, 91], OG - olivově zelená [88,103,68], DG - tmavě zelená [72,88,57], PG - borovicově zelená [56,63,51], DKH - tmavě khaki [122,115,73], KH - khaki [147,133,93], BE - béžová [178,158,121] a BR - hnědá [105,84,69]). Pro PCA byly použity relativní hodnoty (poměr varianty vystavené stresu suchem a dostatečně zavlažované kontroly), pokud se vztahovaly k relativnímu výnosu, a absolutní hodnoty jednotlivých měřených parametrů v podmínkách stresu suchem, pokud se vztahovaly k absolutnímu výnosu zrna v podmínkách stresu suchem.

2.5.8 Odhad tolerance k suchu a absolutního výnosu zrna pomocí modelu vícenásobné regrese

Vzhledem k vysoké autokorelaci měřených parametrů v časovém rozmezí ± 5 dnů pro každý časový bod a rovněž vzhledem ke snaze vytvořit zjednodušený obecný design experimentu a model, který by umožnil dosáhnout robustních výsledků odhadu tolerance k suchu i při nižší frekvenci měření, a byl by tak lépe přenositelný i pro polní fenotypování, byly pro tvorbu modelu odhadu tolerance k suchu použity pouze časové body vysychání půdy a opětovného zavlažování, které mají největší přínos pro hodnocení relativního vlivu sucha na výnos i pro hodnocení výnosového potenciálu v podmínkách sucha.

Pro vytvoření modelu vícenásobné regrese tak byly vybrány dny představující rychlé změny fyziologických charakteristik rostlin při stresu suchem (6. den, 50 % snížení množství dostupné vody pro rostliny v půdě), dosažení bodu vadnutí (21. den) a úplná regenerace po opětovném zavlažení (31. den), které pokrývaly nejvyšší korelace s relativním i absolutním výnosem téměř všech měřených fenotypovaných parametrů. Z těchto dat byly použity pouze ty fenotypové parametry, které vykazovaly hodnoty Pearsonova korelačního koeficientu $R > 0,5$ pro korelaci s příslušným výnosovým parametrem a zároveň poskytovaly vysokou kombinaci skóre PCA1 a PCA2 v rámci PCA analýzy. Jednalo se o parametr T_{diff} a odstín KH při 50% snížení množství dostupné vody (6. den), Φ_{PSII} a odstíny OG, DG, KH a BE při bodu vadnutí (21. den) a SPA, T_{diff} , odstíny OG, DG, KH a BE při plné regeneraci (31. den). Následně byl vytvořen model vícenásobné regrese s použitím těchto parametrů relativním vyjádření pro vyhodnocení relativního výnosu a v absolutním vyjádření pro vyhodnocení absolutního výnosu na rostlinu v podmínkách sucha. Dosažená střední kvadratická chyba (RMSE) byla 0,08 pro model předpovídající relativní výnos zrna, a 0,31 pro model předpovědi absolutního výnosu zrna v podmínkách sucha. Vysvětlená variabilita modelu na základě adjustovaného R^2 činila 92,5 % pro model predikce relativního výnosu a 89,8 % pro model predikce absolutního výnosu zrna v podmínkách sucha. Model vícenásobné regrese ve srovnání s jednoduchou regresí zlepšuje predikční schopnost zejména u absolutního výnosu zrna, kde byly Pearsonovy korelační koeficienty ve srovnání s relativním výnosem zrna výrazně nižší (obr. 18). Významnými vstupními parametry pro model předpovídající relativní výnos zrna byly: Φ_{PSII} , odstíny KH a BE v bodě vadnutí (21. den) a odstíny OG a DG při regeneraci po opětovném zavlažení (31. den). Pro model odhadující absolutní výnos zrna při stresu suchem byly významnými vstupními parametry: Φ_{PSII} při 50 % rostlině dostupné vody (6. den), odstíny BE a OG v bodě vadnutí (21. den) a SPA při regeneraci.



Obrázek 18. Porovnání pozorovaných dat a hodnot predikovaných pomocí modelu vícenásobné regrese pro relativní výnos zrna (A, poměr výnosu zrna dosaženého při stresu suchem k výnosu zrna dostatečně zavlažované kontroly) a absolutní hodnoty výnosu zrna v rámci stresu suchem (B), s přímkou 1 : 1.

2.6 Diskuse

Toleranci k suchu nelze chápat jako jediný znak, ale jako soubor znaků (často založených kvantitativně – tedy více geny s malým účinkem), které mají často velmi odlišné fyziologické, morfologické nebo biochemické pozadí a které se liší v závislosti na délce trvání sucha, růstové fázi plodiny nebo typu sucha, jako je atmosférické sucho (zvýšený vodní sytostní doplněk – VPD a tudíž i zvýšená evapotranspirace), půdní sucho (celkový pokles obsahu vody v půdě) nebo pokles hladiny podzemní vody (Cattivelli a kol., 2008).

Situaci dále komplikuje skutečnost, že tyto znaky jsou nejen vždy aditivní nebo synergické, ale mohou být i vzájemně antagonistické v závislosti na typu sucha. Typickým příkladem je úniková strategie u velmi časně dozrávajících genotypů. Úniková strategie má za cíl dokončit reprodukci před nástupem sucha (Kooyers, 2015) a zajišťuje tak toleranci k pozdnímu (terminálnímu) suchu. Naopak rostliny vystavené dřívějšímu nástupu sucha vyžadují schopnost obnovit růst a fotosyntetickou asimilaci po suchu pro zajištění výnosů, což je typické pro tzv. genotypy stay-green, které mají schopnost odolávat předčasně indukované senescenci (Khanna-Chopra a Chauhan, 2015). Tyto dvě strategie jsou však natolik odlišné a vylučující, že je není možné kombinovat v jednom genotypu, protože úniková strategie vyžaduje, aby senescence naopak probíhala velmi rychle. Mnoho znaků se také projevuje genovou expresí pouze za specifických podmínek sucha, čímž se spouští kaskáda mechanismů, kterými se rostlina brání negativním dopadům sucha. Nejprve dochází ke zpomalení růstu meristémů, následně k

uzavírání průduchů, biochemické zpětnovazebné regulaci (snížení) fotosyntézy, indukci biosyntézy antioxidantů a osmolytů, a nakonec k předčasnému stárnutí starších pletiv a redistribuci zdrojů do mladších listů a zejména do generativních orgánů (Chaves a kol., 2003; Fahad a kol., 2017; Osakabe a kol., 2014). Dalším problémem souvisejícím s tolerancí k suchu je, že některé slibné znaky související s tolerancí k suchu, jako je například zvýšená efektivita využití vody, mají negativní korelaci s produktivitou, takže jejich praktické využití je omezené (Blum, 2009).

Je tedy zřejmé, že šlechtění, a tedy i fenotypování pro toleranci k suchu, se musí zaměřit na řadu velmi odlišných znaků, které budou užitečné za určitých podmínek načasování, trvání a intenzity nástupu sucha. Vzhledem k tomu, že některé znaky je velmi obtížné kombinovat a že variabilita sucha z hlediska načasování a trvání se zvyšuje, bude nutné zvýšit diverzitu pěstovaných odrůd, např. prostřednictvím směsí genotypů kombinujících různé znaky tolerance k suchu.

Výběru genotypů pro rozmanitost požadovaných znaků, které mohou být morfologické, fyziologické a biochemické, mohou výrazně napomoci metody vysoce výkonného automatického fenotypování (HTPP), pomocí nichž je možné v krátkém čase sledovat dynamickou morfologickou, fyziologickou a biochemickou reakci rostliny na suchu, a tedy kaskádu procesů, které na sebe navazují a vzájemně se doplňují. Tím je možné vyhodnotit nejen komplex odolnosti k suchu skládající se z více znaků, ale i jejich kvantitativní podstatu a mechanismy jejich spouštění vlivem exprese genů, vyvolanou buďto vnějšími podmínkami prostředí přímo nebo nepřímo prostřednictvím biochemických či fyziologických změn, vyvolaných těmito podmínkami, jako je například hromadění reaktivních forem kyslíku (ROS).

V rámci této studie jsme prokázali, že jednoduché digitální RGB snímkování může poskytnout cenné informace o toleranci jarního ječmene k suchu, zejména pak pomocí změn odstínů barev khaki (KH) a tmavě zelené (DG). Je ovšem zřejmé že u ječmene a dalších plodin, které vykazují zjevný vertikální gradient senescence, a tím i odezvy na působení stresových podmínek (Klem a kol., 2014; Miersch a kol., 2000), by RGB snímky měly být pořizovány z boku, protože barevné změny v reakci na suchu se nejprve projevují u starších listů, které se nacházejí v nižších vrstvách vertikálního profilu rostliny, a proto jsou při snímání z horního pohledu zastoupeny jen ve velmi omezené míře. Snímkování RGB je rovněž jednoznačně vhodnou metodou pro HTPP vzhledem ke své rychlosti, nízkým nákladům a v současné době se rutinně používá například ke stanovení výšky rostliny a projekční listové plochy snímané ze

strany (Kim a kol., 2020; Tolley a kol., 2020). Podrobná barevná analýza ovšem poskytuje další informace, jako je výskyt nekróz a žloutnutí listů způsobené abiotickým či biotickým stresem. Podobně jako v této metodice změny zelené a žluté barvy odrážejí odolnost rýže vůči suchu (Kim a kol., 2020). De Swaef a kol. (2021) rovněž zjistili, že barevné indexy odstínů odvozené ze snímků RGB jsou dobrým ukazatelem pro odhad tolerance pícních trav k suchu, zejména v blízkosti bodu trvalého vadnutí. Relativní podíl odstínů DG a KH dobře odrážel toleranci k suchu i v naší studii. To je rovněž v souladu s předchozími zjištěními, která ukazují, že s tolerancí k suchu souvisí znak "stay-green", který zabraňuje předčasné senescenci vyvolané například suchem (Thomas a Ougham, 2014; Tuberosa, 2012). Barevná analýza RGB snímků má společnou vlastnost v tom, že účinky sucha se projeví na relativním podílu odstínů barev zelené až po delším období (De Swaef a kol., 2021; Kim a kol., 2020). V našem případě se účinek sucha projevil 13. den od indukce sucha u nejcitlivější odrůdy Abyssinian 1125. Kromě tolerance k suchu ve vztahu k výnosu bylo u *Vitis vinifera* zjištěno, že podíl tmavě zeleného odstínu listů souvisí také s vodním potenciálem (Briglia a kol., 2019). Barevná analýza RGB je v podstatě multispektrální analýzou využívající široké pásy viditelného spektra, kterou lze dále zdokonalit pomocí hyperspektrálního zobrazování pro lepší detekci změn, například v přeměně pigmentů xantofylového cyklu, poměru karotenoidů a chlorofylu pro lepší indikaci senescence rostlin a rozšířením spektra do vzdálené červené oblasti (red-edge), či oblastí NIR a SWIR pro další zpřesnění změn v obsahu chlorofylu nebo vody v listech rostlin (Mertens a kol., 2021).

U experimentů s kratšími obdobími sucha jsou preferovány rychleji reagující znaky, jako je například T_{diff} snímané pomocí termálního infračerveného zobrazování, který v této studii vykazoval rychlý nástup reakce na suchu i na opětovné zavlažování, ale později s dalším postupem sucha se rozdíly mezi genotypy snížily na minimum.

Na rozdíl od našich výsledků u ječmene se termální infračervené zobrazování jeví jako vhodný nástroj pro kategorizaci úrovně tolerance odrůd kukuřice k suchu i při dlouhodobějším působení sucha (Casari a kol., 2019). Podobně bylo zjištěno, že rozdíl mezi teplotou vzduchu a teplotou listů je dobrým prediktorem výnosu zrna žita (Graß a kol., 2020). Tyto rozdíly ve schopnosti parametru T_{diff} indikovat odolnost genotypů vůči suchu mohou být vysvětleny rozdíly mezi rostlinami pěstovanými v nádobách a na poli. Jak upozorňují Negin a Moshelion (2016), vznik stresu vyvolaného suchem je u nádobových experimentů mnohem rychlejší než u rostlin pěstovaných na poli. Přestože byla v rámci tohoto experimentu aplikována postupná indukce stresu suchem, je zřejmé, že dynamika nástupu stresu se stále liší od dynamiky polního sucha.

Odezvu T_{diff} na působení sucha mohou dále ovlivňovat druhově specifické rozdíly v odezvě průduchů a interakce s dalšími faktory, jako je koncentrace CO_2 v atmosféře, světlo nebo relativní vlhkost vzduchu (Merilo a kol., 2014), které se mohou značně lišit při porovnání skleníkových a polních podmínek. Každopádně by měly být faktory ovlivňující odezvu průduchů a tím i odezvu T_{diff} na působení sucha zohledňovány při plánování délky trvání experimentu a frekvence měření pomocí termálního infračerveného zobrazování.

Projekční listová plocha snímaná ze strany a odvozená rychlost růstu ukazují v této studii poměrně velké odlišnosti v růstové strategii testovaných genotypů. Tolerantní genotypy Sara a Herse vykazovaly nižší listovou plochu vzhledem k růstové fázi a rovněž pomalejší rychlost růstu. To pravděpodobně vedlo k nižšímu množství transpirované vody, a tedy ke zvýšené dostupnosti vody v krátkodobém měřítku, a to i přesto, že dostupnost vody byla u všech genotypů v rámci skupiny vystavené stresu suchem pravidelně vyrovnávána na úroveň květináče s nejvyšším obsahem vody. Vyšší listová plocha citlivých genotypů tak mohla v obdobích mezi pravidelnou závlahou vést k rychlejší indukci negativní odezvy, jako je například předčasná senescence. V souladu s tím se uvádí, že aplikace růstových regulátorů, které snižují růst rostlin a plochu listů, zlepšuje výkonnost plodin v podmínkách sucha tím, že oddaluje nástup sucha (Robertson a Greenway, 1973).

Nejvyšší Pearsonovy korelační koeficienty (R) pro vztahy mezi relativní projekční listovou plochou ze strany (SPA) a relativním výnosem zrna byly v této studii získány po opětovném zavlažení. Schopnost obnovit turgor a růst listů po opětovném zavlažování byla tedy důležitější než zachování listové plochy během sucha. V souladu s tím Avramova a kol. (2016) v pokusu bez období regenerace po opětovném zavlažení uvedli, že listová plocha nepředstavovala dostatečně citlivý znak, aby odhalil rozdíly v toleranci kukuřice k suchu.

Parametry fluorescence chlorofylu se běžně používají k popisu změn účinnosti využití světelné energie. Φ_{PSII} vyjadřuje podíl světla využitého ve fotochemii fotosystému II (PSII), a proto je negativně ovlivněn stresovými podmínkami (Maxwell a Johnson, 2000; Skowron a Trojak, 2021). Všechny genotypy ječmene v této studii vykazovaly snížení tohoto parametru za sucha. Tento znak však nebyl dostatečně citlivý, aby bylo možné rozlišit mírné rozdíly v toleranci k suchu. Na rozdíl od všech ostatních měřených znaků se nejsilnější korelace Φ_{PSII} s relativním výnosem zrna projevila na konci stresu suchem, nikoliv v období regenerace po opětovném zavlažení. Dřívější pokles Φ_{PSII} u genotypů tolerantních k suchu také naznačuje potenciální roli rychlé zpětnovazebné regulace fotosyntézy v ochranných mechanismech proti suchu. U nejcitlivějšího genotypu Abyssinian 1125 je zřejmé, že došlo k nevratnému poškození

PSII, které brání obnově Φ_{PSII} po opětovném zavlažení. Jiné studie naznačují, že maximální kvantový výtěžek PSII (Fv/Fm) může poskytovat přesnější informace o toleranci k suchu než Φ_{PSII} (Hasanuzzaman a kol., 2022), ale byl zaznamenán i opak (Oukarroum a kol., 2007).

Vícenásobná regrese využívající vybrané parametry kombinující všechny fenotypovací metody použité v rámci tohoto experimentu z klíčových časových bodů reprezentujících mírný stres suchem (snížení množství dostupné vody v rostlině na 50 %), silný stres suchem (bod vadnutí) a úplnou regeneraci po opětovném zavlažení poskytuje zlepšení přesnosti odhadu tolerance k suchu na přibližně 90 % jak pro relativní výnos zrna, tak pro odhad absolutního výnosu zrna v podmínkách sucha. Identifikace pouze klíčových okamžiků průběhu sucha z hlediska odhadu relativní tolerance genotypů i absolutní úrovně výnosu v podmínkách sucha umožňuje zjednodušit návrh fenotypovacích experimentů a také snadnější implementaci těchto metod v polním fenotypování, kde obecně není možné provádět vysokou frekvenci měření. Tato studie ukazuje, že pomocí kombinace fenotypovacích metod v kritických časových bodech průběhu vysychání a opětovného zavlažení půdy je možné vyhodnotit dvě nejdůležitější charakteristiky každého genotypu: i) toleranci k suchu bez ohledu na výnosový potenciál měřenou jako relativní výnos zrna, která je důležitá pro selekci genetických zdrojů pro další šlechtění, a ii) produktivitu za stresu suchem měřenou jako absolutní výnos zrna, která je důležitá při výběru nových perspektivních odrůd pro další zkoušení tak, aby současně s tolerancí k suchu zajišťovaly rovněž dostatečnou výnosovou úroveň. Přesnost odhadu relativního a absolutního výnosu by vyžadovala ověření modelu na větším počtu genotypů, nicméně i tak je možné na základě této studie konstatovat, že kombinací několika zobrazovacích fenotypovacích metod hodnocených ve třech klíčových fázích průběhu sucha a regenerace rostlin po opětovném zavlažení umožňuje podstatné zlepšení odhadu, zejména v případě absolutního výnosu ve srovnání s odhadem založeným na jednotlivých parametrech. Slibné výsledky, kterých bylo dosaženo kombinací fenotypovacích metod v kritických časových bodech sucha a vícenásobné regrese, nám také umožňují předpokládat další zlepšení spolehlivosti předpovědi s využitím metod strojového učení, což však bude vyžadovat větší soubor trénovacích a validačních dat.

2.7 Závěry

- V této studii bylo prokázáno, že většina hodnocených fenotypovacích znaků vykazovala nejsilnější korelaci s relativním výnosem zrna při dosažení bodu vadnutí a následně ve fázi regenerace po opětovném zavlažení.
- Ve fázi regenerace po opětovném zavlažení lze toleranci k suchu nejlépe přímo odhadnout pomocí parametrů barevné analýzy RGB, zejména pak vyhodnocením relativního podílu olivově zeleného, tmavě zeleného, béžového a khaki odstínu.
- Nejčasnější detekci tolerance k suchu poskytla teplotní diference listů a vzduchu T_{diff} , vyhodnocená pomocí termálního infračerveného zobrazování, která odpovídá velmi rychlé reakci průduchů na suchu.
- Kombinace fenotypových znaků z klíčových časových bodů (50 % dostupné vody v rostlině, bod vadnutí a plná regenerace) umožňuje v modelu vícenásobné regrese výrazně zlepšit odhad absolutní úrovně výnosu zrna při stresu suchem, což je klíčové pro konečný výběr nových genotypů poskytujících vysokou produktivitu v podmínkách sucha.
- Fenotypování v laboratorních podmínkách nezajistí konečný výběr genotypů tak aby mohly být bezprostředně předány do odrůdových zkoušek. Jedná se o pomocný nástroj, který zefektivňuje a zrychluje následné testování v polních podmínkách, které je ale vždy nezbytné, protože s ohledem na komplexitu znaků tolerance vůči suchu se může odezva v polních podmínkách lišit.

3 Shrnutí dosažených výsledků a přínosy pro praxi

Metodika přináší návrh postupů fenotypování jarního ječmene pro rychlé vyhodnocení odolnosti vůči stresu suchem. S využitím kombinace metod RGB zobrazování a od něj odvozené analýzy projekční listové plochy rostliny ze strany a také barevné analýzy odstínů zelené, dále zobrazovací fluorescence chlorofylu a z něj získaného aktuálního kvantového výtěžku fotosystému II (Φ_{PSII}) a konečně také metody termálního infračerveného zobrazování a z něj odvozené teplotní diference listů a vzduchu (T_{diff}) může být s přesností více jak 90 % provedeno vyhodnocení relativní tolerance genotypu vůči suchu (bez ohledu na výnosový potenciál) a s téměř 90% přesností provedeno vyhodnocení výnosového potenciálu genotypu v podmínkách sucha.

Oba tyto znaky jsou naprosto klíčové pro šlechtitele nových odrůd ječmene. Vyhodnocení relativní tolerance genotypu k suchu umožňuje výběr genetických zdrojů odolnosti k suchu a jejich efektivní začlenění do hybridizačních programů tak, aby mohly být do nových odrůd introdukovány nové morfologické, fyziologické a biochemické vlastnosti rostlin, přispívající ke kvantitativně zvýšené odolnosti vůči suchu. Vyhodnocení výnosu daného genotypu v podmínkách sucha pak umožňuje rychlý výběr kříženců nejen z pohledu jejich odolnosti k suchu, ale především schopnosti poskytovat vysoký výnos i v podmínkách sucha.

Vzhledem ke skutečnosti, že komplex znaků, které odpovídají za odolnost vůči suchu, je velmi podobný rovněž pro jiné plodiny, zejména pak obiloviny, lze očekávat, že popsaná metodika bude, po nezbytné kalibraci metod a vývoji specifického modelu vyhodnocení dat, využitelná rovněž pro výběr genetických zdrojů odolných vůči suchu a pro vyhodnocení výnosového potenciálu v podmínkách sucha i pro další plodiny.

Fenotypovací metody založené na RGB zobrazování, termálním infračerveném zobrazování a v omezené míře i na zobrazovací fluorescenci chlorofylu je možné potenciálně poměrně snadno aplikovat i v polních podmínkách, s určitými předpoklady zajištění stability prostředí, jako je například stabilní intenzita slunečního záření, bezvětří apod.

Znalosti a zkušenosti získané při vývoji této metodiky mohou rovněž sloužit při vývoji metod monitoringu variability výnosových dopadů sucha v rámci pozemku a jejich využití v postupech precizního zemědělství, zejména pak při cílené aplikaci živin a fungicidů, jejichž výnosový efekt je do značné míry závislý na dostatečném zásobení rostlin vodou.

4 Srovnání novosti postupů

Předložená metodika využívá zobrazovací metody, které jsou již pro detekci odezvy rostlin na sucho experimentálně zkoušeny více jak 10 let. Unikátní je z tohoto pohledu jejich kombinování a současně sledování dynamiky odezvy, které umožňuje posouzení komplexního pozadí odolnosti založeného na více morfologických, fyziologických a biochemických znacích, a jejich uplatnění v různých fázích působení sucha. Unikátní je rovněž vytvoření modelu vícerozměrné regrese, využívajícího nejcitlivější parametry v kritických fázích působení sucha. Tento model umožňuje šlechtitelům, kromě možnosti vyhodnocení relativní odolnosti k suchu (bez ohledu na výnosový potenciál), rovněž vyhodnotit výnosovou úroveň daných genotypů v podmínkách působení sucha. Znalost výnosového potenciálu v podmínkách sucha je pro zefektivnění procesu šlechtění klíčová, protože umožní eliminovat případné negativní vazby (tzv. trade offs) mezi odolností vůči suchu a výnosovým potenciálem, které jsou pro některé znaky důležité pro odolnost vůči suchu poměrně běžné. Do následujících polních zkoušek pak již mohou vstupovat pouze genotypy, které jsou perspektivní jak z pohledu odolnosti vůči suchu, tak i z pohledu poskytování vysokého výnosového potenciálu. Inovativní je rovněž způsob vyhodnocení RGB snímků, a to zejména tím, že v případě plodin, které mají typický vertikální gradient stáří listů, ukazuje tato metodika, jak je zásadní provádět analýzu barevných odstínů snímkováním ze strany, protože při pohledu shora převažují v záběru nejnovější listy, u kterých se působení stresu projevuje fakticky nejpozději. Druhým inovativním aspektem je použití barevných odstínů zelené pro vyhodnocení vlivu sucha na indukci senescence. Pokud je zkombinováno snímání z boku a barevná analýza odstínů zelené, vzniká tak metoda, která z pohledu vyhodnocení relativní odolnosti vůči suchu dokonce překonává nákladnější metody termálního infračerveného zobrazování a zobrazovací fluorescence chlorofylu.

5 Popis uplatnění metodiky

Metodika slouží pro několik skupin uživatelů, z nichž hlavními koncovými uživateli jsou šlechtitelé, a to nejen šlechtitelé jarního ječmene, ale rovněž šlechtitelé dalších plodin, u kterých jsou minimálně použité techniky fenotypování, vyhodnocování jejich výsledků a kombinování pro odhad odolnosti vůči suchu či výnosového potenciálu v podmínkách sucha velmi dobře uplatnitelné. Je samozřejmé, že nejen pro různé plodiny, ale rovněž pro různé podmínky, při kterých jsou genotypy pěstovány, a také pro odlišný typ sucha, který je indukován, jsou nezbytné nové kalibrace metod a úprava modelu. Nicméně základní principy, které byly v rámci této metodiky prezentovány, jako je způsob snímání zobrazovacími metodami, vyhodnocované

parametry a klíčové termíny z pohledu vyhodnocení odolnosti k suchu, jsou přenositelné i pro jiné fenotypovací experimenty včetně fenotypování u jiných plodin.

Druhou skupinu uživatelů představují výrobci fenotypovacích platforem, zařízení a senzorů, kteří jednak mohou využít výsledky metodiky ke zvýšení citlivosti a spolehlivosti jednotlivých fenotypovacích metod a jednak mohou do vyhodnocovacích algoritmů, začlenit principy kombinování jednotlivých metod, které by přineslo jak zpřesnění selekce genotypů s vysokou tolerancí k suchu, a tak i možnost odhadu výnosového potenciálu testovaných genotypů v podmínkách sucha.

Poslední skupinou uživatelů jsou zemědělci, a to v zásadě dvojím způsobem, i když v obojím nepřímě. V první řadě se jedná o využívání nových odrůd jarního ječmene, které budou zajišťovat vysokou toleranci vůči suchu a současně poskytovat vysoké výnosy zrna nejen v podmínkách sucha, ale i při dostatečné dostupnosti vody. Ačkoliv úspěšnost introdukovaných genotypů se zvýšenou odolností vůči suchu závisí do značné míry na typu sucha a komplexnosti znaků odolnosti, lze podle dosavadních zkušeností očekávat snížení negativních dopadů sucha na výnos jarního ječmene až o 50 %, což pro zemědělce znamená rovněž významný ekonomický efekt. Druhý způsob využití výsledků metodiky pro zemědělce představuje využití metod vyvíjených v rámci této metodiky pro vyhodnocení variability dopadů sucha v rámci pozemku. Pro tyto účely se jeví jako nejvhodnější použití termálního infračerveného snímkování a RGB snímkování případně multispektrálního snímkování, kde jsou pásma RGB doplněna ještě o pásmo NIR. Tyto metody jsou relativně levné a použitelné i pro snímkování velkých ploch pomocí dronů či leteckého dálkového průzkumu. Vyhodnocení variability dopadů sucha v rámci pozemku umožňuje přizpůsobit zemědělci výši vstupů hnojiv a fungicidů, které při silném ovlivnění porostu suchem nepřinášejí výnosový efekt a často pak jejich aplikace u porostu stresovaného suchem znamená ekonomickou ztrátu. Variabilní aplikace hnojiv či pesticidů tak umožňuje především zvýšení ziskovosti produkce v podmínkách sucha.

6 Ekonomické aspekty uplatnění metodiky

Hlavní ekonomický přínos metodiky spočívá především v potenciálu snížení negativních dopadů na výnos i kvalitu jarního ječmene. Ačkoliv jsou odhady poklesu výnosů způsobené suchem poměrně složité, protože nemáme k dispozici v různých podmínkách kontrolní plochy, které by byly zavlažované nebo jiným způsobem dostatečně zásobené vodou, a meziroční variabilita výnosů tak může být způsobena rovněž vysokými či nízkými teplotami, nebo

výskytem chorob a škůdců, je možné odhadnout, že v ročnících silně ovlivněných suchem může činit pokles výnosů jarního ječmene v nejvíce ovlivněných lokalitách (např. jižní Morava) až 40 % a v nejméně ovlivněných lokalitách (vlhčí oblasti Vysočiny) do 5 %. V průměru lze tedy uvažovat v nepříznivých letech s poklesy výnosů na úrovni okolo 20 % pro celou Českou republiku. Rovněž černost výskytu sucha je velmi problematické odhadnout, protože v posledním desetiletí jsou poměrně běžné výskyty silného sucha i v několika letech po sobě. Pokud bychom ale vzali v potaz, že frekvence sucha se budou všude dále zvyšovat, dá se považovat odhad výskytu silného sucha jednou za 3 roky za poměrně realistický.

Při této kalkulaci, rozsahu pěstování jarního ječmene na ploše asi 200 tis. ha a průměrném výnosu 5 t ha⁻¹, lze očekávat průměrnou roční ztrátu produkce jarního ječmene v ČR ve výši ca 66 tis. tun. Jestliže předpokládáme efektivnost odolných odrůd vůči silnému suchu na úrovni asi 50 %, lze očekávat díky zavedení pěstování odolných odrůd snížení ročních ztrát v produkci ječmene o 33 tis. tun.

V současnosti se zhruba 60 % ječmene používá na výrobu sladu, který se prodává za cenu okolo 6 000 Kč za tunu, zatímco cena krmného ječmene se pohybuje okolo 3 800 Kč za tunu (https://www.szif.cz/cs/CmDocument?rid=%2Fapa_anon%2Fcs%2Fzpravy%2Ftis%2Fzpravy_o_trhu%2F05%2F1701956018299.pdf). Při tomto podílu a ceně pak může činit úspora vyjádřená ve finančních prostředcích až 168 milionů Kč. To samozřejmě za předpokladu, že postupně budou pěstovány pouze odrůdy, které budou vykazovat komplexní znaky odolnosti vůči suchu.

Další přínosy lze spatřovat v úsporách nákladů hnojiv a fungicidů, které budou aplikovány variabilně podle výnosového potenciálu. Očekávané úspory dle kalkulace redukce výnosů lze očekávat ve výši okolo 5 % ročně, ačkoliv tyto úspory budou rovněž značně kolísat podle ročníku. Při kalkulaci nákladů na hnojiva, fungicidy a případně i regulátory růstu u ječmene v odhadované výši 2 000 Kč na ha to představuje úspory ve výši 100 Kč na ha a pro celou ČR odhadem asi 20 milionů Kč za rok.

Další ekonomické přínosy se projeví nepřímo například v podpoře českého šlechtění a tím i prodeje odrůd vyšlechtěných v ČR, dále se projeví ve zvýšené konkurenceschopnosti firem zabývajících se vývojem technologií pro fenotypování a také pro dálkový průzkum, se zvýšeným potenciálem jejich uplatnění na zahraničních trzích.

7 Seznam použité související literatury

- Abdelhakim, L.O.A., Rosenqvist, E., Wollenweber, B., Spyroglou, I., Ottosen, C.-O., Panzarová, K., 2021. Investigating Combined Drought- and Heat Stress Effects in Wheat under Controlled Conditions by Dynamic Image-Based Phenotyping. *Agronomy* 11, 364. <https://doi.org/10.3390/agronomy11020364>
- Alves, K.S., Guimarães, M., Ascari, J.P., Queiroz, M.F., Alfenas, R.F., Mizubuti, E.S.G., Del Ponte, E.M., 2022. RGB-based phenotyping of foliar disease severity under controlled conditions. *Trop. plant pathol.* 47, 105–117. <https://doi.org/10.1007/s40858-021-00448-y>
- Anyia, A.O., Slaski, J.J., Nyachiro, J.M., Archambault, D.J., Juskiw, P., 2007. Relationship of Carbon Isotope Discrimination to Water Use Efficiency and Productivity of Barley Under Field and Greenhouse Conditions. *Journal of Agronomy and Crop Science* 193, 313–323. <https://doi.org/10.1111/j.1439-037X.2007.00274.x>
- Araus, J.L., Kefauver, S.C., 2018. Breeding to adapt agriculture to climate change: affordable phenotyping solutions. *Current Opinion in Plant Biology*, AGRI 2017 45, 237–247. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2018.05.003>
- Avramova, V., Nagel, K.A., AbdElgawad, H., Bustos, D., DuPlessis, M., Fiorani, F., Beemster, G.T.S., 2016. Screening for drought tolerance of maize hybrids by multi-scale analysis of root and shoot traits at the seedling stage. *Journal of Experimental Botany* 67, 2453–2466. <https://doi.org/10.1093/jxb/erw055>
- Awlia, M., Nigro, A., Fajkus, J., Schmoeckel, S.M., Negrão, S., Santelia, D., Trtílek, M., Tester, M., Julkowska, M.M., Panzarová, K., 2016. High-Throughput Non-destructive Phenotyping of Traits that Contribute to Salinity Tolerance in *Arabidopsis thaliana*. *Frontiers in Plant Science* 7.
- Baker, N.R., 2008. Chlorophyll Fluorescence: A Probe of Photosynthesis In Vivo. *Annual Review of Plant Biology* 59, 89–113. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.59.032607.092759>
- Bazakos, C., Hanemian, M., Trontin, C., Jiménez-Gómez, J.M., Loudet, O., 2017. New Strategies and Tools in Quantitative Genetics: How to Go from the Phenotype to the Genotype. *Annual Review of Plant Biology* 68, 435–455. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-042916-040820>
- Berger, J., Palta, J., Vadez, V., 2016. Review: An integrated framework for crop adaptation to dry environments: Responses to transient and terminal drought. *Plant Science* 253, 58–67. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2016.09.007>
- Bhat, J.A., Deshmukh, R., Zhao, T., Patil, G., Deokar, A., Shinde, S., Chaudhary, J., 2020. Harnessing High-throughput Phenotyping and Genotyping for Enhanced Drought Tolerance in Crop Plants. *Journal of Biotechnology* 324, 248–260. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2020.11.010>
- Blokhina, O., Virolainen, E., Fagerstedt, K.V., 2003. Antioxidants, Oxidative Damage and Oxygen Deprivation Stress: a Review. *Annals of Botany* 91, 179–194. <https://doi.org/10.1093/aob/mcf118>

- Blum, A., 2017. Osmotic adjustment is a prime drought stress adaptive engine in support of plant production. *Plant, Cell & Environment* 40, 4–10. <https://doi.org/10.1111/pce.12800>
- Blum, A., 2009. Effective use of water (EUW) and not water-use efficiency (WUE) is the target of crop yield improvement under drought stress. *Field Crops Research* 112, 119–123. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2009.03.009>
- Bodner, G., Nakhforoosh, A., Kaul, H.-P., 2015. Management of crop water under drought: a review. *Agron. Sustain. Dev.* 35, 401–442. <https://doi.org/10.1007/s13593-015-0283-4>
- Briglia, N., Montanaro, G., Petrozza, A., Summerer, S., Cellini, F., Nuzzo, V., 2019. Drought phenotyping in *Vitis vinifera* using RGB and NIR imaging. *Scientia Horticulturae* 256, 108555. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.108555>
- Buschmann, C., 2007. Variability and application of the chlorophyll fluorescence emission ratio red/far-red of leaves. *Photosynth Res* 92, 261–271. <https://doi.org/10.1007/s11120-007-9187-8>
- Cao, X., Liu, Y., Yu, R., Han, D., Su, B., 2021. A Comparison of UAV RGB and Multispectral Imaging in Phenotyping for Stay Green of Wheat Population. *Remote Sensing* 13, 5173. <https://doi.org/10.3390/rs13245173>
- Casari, R.A.C.N., Paiva, D.S., Silva, V.N.B., Ferreira, T.M.M., Souza, J., Oliveira, N.G., Kobayashi, A.K., Molinari, H.B.C., Santos, T.T., Gomide, R.L., Magalhães, P.C., Sousa, C.A.F., 2019. Using Thermography to Confirm Genotypic Variation for Drought Response in Maize. *International Journal of Molecular Sciences* 20, 2273. <https://doi.org/10.3390/ijms20092273>
- Cattivelli, L., Rizza, F., Badeck, F.-W., Mazzucotelli, E., Mastrangelo, A.M., Francia, E., Marè, C., Tondelli, A., Stanca, A.M., 2008. Drought tolerance improvement in crop plants: An integrated view from breeding to genomics. *Field Crops Research* 105, 1–14. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2007.07.004>
- Chaves, M.M., Maroco, J.P., Pereira, J.S., 2003. Understanding plant responses to drought — from genes to the whole plant. *Functional Plant Biol.* 30, 239–264. <https://doi.org/10.1071/fp02076>
- Chimenti, C.A., Marcantonio, M., Hall, A.J., 2006. Divergent selection for osmotic adjustment results in improved drought tolerance in maize (*Zea mays* L.) in both early growth and flowering phases. *Field Crops Research* 95, 305–315. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2005.04.003>
- Collard, B.C.Y., Mackill, D.J., 2007. Marker-assisted selection: an approach for precision plant breeding in the twenty-first century. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 363, 557–572. <https://doi.org/10.1098/rstb.2007.2170>
- Cseri, A., Sass, L., Torjek, O., Pauk, J., Vass, I., Dudits, D., 2013. Monitoring drought responses of barley genotypes with semi-robotic phenotyping platform and association analysis between recorded traits and allelic variants of some stress genes. *Australian Journal of Crop Science* 7, 1560–1570. <https://doi.org/10.3316/informit.619120292011087>
- Dai, A., 2011. Drought under global warming: a review. *WIREs Climate Change* 2, 45–65. <https://doi.org/10.1002/wcc.81>

- de Mezer, M., Turska-Taraska, A., Kaczmarek, Z., Glowacka, K., Swarczewicz, B., Rorat, T., 2014. Differential physiological and molecular response of barley genotypes to water deficit. *Plant Physiology and Biochemistry* 80, 234–248. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2014.03.025>
- De Swaef, T., Maes, W.H., Aper, J., Baert, J., Cougnon, M., Reheul, D., Steppe, K., Roldán-Ruiz, I., Lootens, P., 2021. Applying RGB- and Thermal-Based Vegetation Indices from UAVs for High-Throughput Field Phenotyping of Drought Tolerance in Forage Grasses. *Remote Sensing* 13, 147. <https://doi.org/10.3390/rs13010147>
- Dhanda, S.S., Sethi, G.S., Behl, R.K., 2004. Indices of Drought Tolerance in Wheat Genotypes at Early Stages of Plant Growth. *Journal of Agronomy and Crop Science* 190, 6–12. <https://doi.org/10.1111/j.1439-037X.2004.00592.x>
- Drake, P.L., Froend, R.H., Franks, P.J., 2013. Smaller, faster stomata: scaling of stomatal size, rate of response, and stomatal conductance. *Journal of Experimental Botany* 64, 495–505. <https://doi.org/10.1093/jxb/ers347>
- Fahad, S., Bajwa, A.A., Nazir, U., Anjum, S.A., Farooq, A., Zohaib, A., Sadia, S., Nasim, W., Adkins, S., Saud, S., Ihsan, M.Z., Alharby, H., Wu, C., Wang, D., Huang, J., 2017. Crop Production under Drought and Heat Stress: Plant Responses and Management Options. *Frontiers in Plant Science* 8.
- Fahlgren, N., Gehan, M.A., Baxter, I., 2015. Lights, camera, action: high-throughput plant phenotyping is ready for a close-up. *Current Opinion in Plant Biology* 24, 93–99. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2015.02.006>
- Faraji, A., 2012. Oil concentration in canola (*Brassica napus* L.) as a function of environmental conditions during seed filling period. *International Journal of Plant Production*.
- Farooq, M., Hussain, M., Wahid, A., Siddique, K.H.M., 2012. Drought Stress in Plants: An Overview, in: Aroca, R. (Ed.), *Plant Responses to Drought Stress: From Morphological to Molecular Features*. Springer, Berlin, Heidelberg, pp. 1–33. https://doi.org/10.1007/978-3-642-32653-0_1
- Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D., Basra, S.M.A., 2009. Plant Drought Stress: Effects, Mechanisms and Management, in: Lichtfouse, E., Navarrete, M., Debaeke, P., Véronique, S., Alberola, C. (Eds.), *Sustainable Agriculture*. Springer Netherlands, Dordrecht, pp. 153–188. https://doi.org/10.1007/978-90-481-2666-8_12
- Findurová, H., Veselá, B., Panzarová, K., Pytela, J., Trtílek, M., Klem, K., 2023. Phenotyping drought tolerance and yield performance of barley using a combination of imaging methods. *Environmental and Experimental Botany* 209, 105314. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2023.105314>
- Furbank, R.T., Tester, M., 2011. Phenomics – technologies to relieve the phenotyping bottleneck. *Trends in Plant Science* 16, 635–644. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2011.09.005>
- Ge, Y., Bai, G., Stoerger, V., Schnable, J.C., 2016. Temporal dynamics of maize plant growth, water use, and leaf water content using automated high throughput RGB and hyperspectral imaging. *Computers and Electronics in Agriculture* 127, 625–632. <https://doi.org/10.1016/j.compag.2016.07.028>

- Genangeli, A., Avola, G., Bindi, M., Cantini, C., Cellini, F., Grillo, S., Petrozza, A., Riggi, E., Ruggiero, A., Summerer, S., Tedeschi, A., Gioli, B., 2023. Low-Cost Hyperspectral Imaging to Detect Drought Stress in High-Throughput Phenotyping. *Plants* 12, 1730. <https://doi.org/10.3390/plants12081730>
- Ghanem, M.E., Marrou, H., Sinclair, T.R., 2015. Physiological phenotyping of plants for crop improvement. *Trends in Plant Science* 20, 139–144. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2014.11.006>
- Ghatak, A., Chaturvedi, P., Weckwerth, W., 2017. Cereal Crop Proteomics: Systemic Analysis of Crop Drought Stress Responses Towards Marker-Assisted Selection Breeding. *Frontiers in Plant Science* 8.
- González, A., Martín, I., Ayerbe, L., 1999. Barley yield in water-stress conditions.: The influence of precocity, osmotic adjustment and stomatal conductance. *Field Crops Research* 62, 23–34. [https://doi.org/10.1016/S0378-4290\(99\)00002-7](https://doi.org/10.1016/S0378-4290(99)00002-7)
- Gous, P.W., Gilbert, R.G., Fox, G.P., 2015. Drought-proofing barley (*Hordeum vulgare*) and its impact on grain quality: A review. *Journal of the Institute of Brewing* 121, 19–27. <https://doi.org/10.1002/jib.187>
- Gous, P.W., Hickey, L., Christopher, J.T., Franckowiak, J., Fox, G.P., 2016. Discovery of QTL for stay-green and heat-stress in barley (*Hordeum vulgare*) grown under simulated abiotic stress conditions. *Euphytica* 207, 305–317. <https://doi.org/10.1007/s10681-015-1542-9>
- Govindjee, 2004. Chlorophyll a Fluorescence: A Bit of Basics and History, in: Papageorgiou, G.C., Govindjee (Eds.), *Chlorophyll a Fluorescence: A Signature of Photosynthesis, Advances in Photosynthesis and Respiration*. Springer Netherlands, Dordrecht, pp. 1–41. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-3218-9_1
- Granier, C., Aguirrezabal, L., Chenu, K., Cookson, S.J., Dauzat, M., Hamard, P., Thioux, J.-J., Rolland, G., Bouchier-Combaud, S., Lebaudy, A., Muller, B., Simonneau, T., Tardieu, F., 2006. PHENOPSIS, an automated platform for reproducible phenotyping of plant responses to soil water deficit in *Arabidopsis thaliana* permitted the identification of an accession with low sensitivity to soil water deficit. *New Phytologist* 169, 623–635. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2005.01609.x>
- Granier, C., Vile, D., 2014. Phenotyping and beyond: modelling the relationships between traits. *Current Opinion in Plant Biology, Genome Studies and Molecular Genetics* 18, 96–102. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2014.02.009>
- Graß, R., Böttcher, U., Lilienthal, H., Wilde, P., Kage, H., 2020. Is canopy temperature suitable for high throughput field phenotyping of drought resistance of winter rye in temperate climate? *European Journal of Agronomy* 120, 126104. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2020.126104>
- Hasanuzzaman, M., Shabala, L., Brodribb, T.J., Zhou, M., Shabala, S., 2022. Understanding the Role of Physiological and Agronomical Traits during Drought Recovery as a Determinant of Differential Drought Stress Tolerance in Barley. *Agronomy* 12, 2136. <https://doi.org/10.3390/agronomy12092136>
- Heffner, E.L., Sorrells, M.E., Jannink, J.-L., 2009. Genomic Selection for Crop Improvement. *Crop Science* 49, 1–12. <https://doi.org/10.2135/cropsci2008.08.0512>

- Hossain, Md.M., Lam, H.-M., Zhang, J., 2015. Responses in gas exchange and water status between drought-tolerant and -susceptible soybean genotypes with ABA application. *The Crop Journal* 3, 500–506. <https://doi.org/10.1016/j.cj.2015.09.001>
- IPCC AR6 Synthesis Report: Climate Change 2023 — IPCC, n.d. URL <https://www.ipcc.ch/report/sixth-assessment-report-cycle>.
- Jamieson, P.D., Martin, R.J., Francis, G.S., 1995. Drought influences on grain yield of barley, wheat, and maize. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science* 23, 55–66. <https://doi.org/10.1080/01140671.1995.9513868>
- Jansen, M., Gilmer, F., Biskup, B., Nagel, K.A., Rascher, U., Fischbach, A., Briem, S., Dreissen, G., Tittmann, S., Braun, S., Jaeger, I.D., Metzclaff, M., Schurr, U., Scharr, H., Walter, A., 2009. Simultaneous phenotyping of leaf growth and chlorophyll fluorescence via GROWSCREEN FLUORO allows detection of stress tolerance in *Arabidopsis thaliana* and other rosette plants. *Functional Plant Biol.* 36, 902–914. <https://doi.org/10.1071/FP09095>
- Jones, H.G., 2013. *Plants and Microclimate: A Quantitative Approach to Environmental Plant Physiology*, 3rd ed. Cambridge University Press, Cambridge. <https://doi.org/10.1017/CBO9780511845727>
- Jones, H.G., Serraj, R., Loveys, B.R., Xiong, L., Wheaton, A., Price, A.H., 2009. Thermal infrared imaging of crop canopies for the remote diagnosis and quantification of plant responses to water stress in the field. *Functional Plant Biol.* 36, 978–989. <https://doi.org/10.1071/FP09123>
- Kalaji, H.M., Schansker, G., Brestic, M., Bussotti, F., Calatayud, A., Ferroni, L., Goltsev, V., Guidi, L., Jajoo, A., Li, P., Losciale, P., Mishra, V.K., Misra, A.N., Nebauer, S.G., Pancaldi, S., Penella, C., Pollastrini, M., Suresh, K., Tambussi, E., Yanniccari, M., Zivcak, M., Cetner, M.D., Samborska, I.A., Stirbet, A., Olsovska, K., Kunderlikova, K., Shelonzek, H., Rusinowski, S., Bąba, W., 2017. Frequently asked questions about chlorophyll fluorescence, the sequel. *Photosynth Res* 132, 13–66. <https://doi.org/10.1007/s11120-016-0318-y>
- Kalaji, H.M., Schansker, G., Ladle, R.J., Goltsev, V., Bosa, K., Allakhverdiev, S.I., Brestic, M., Bussotti, F., Calatayud, A., Dąbrowski, P., Elsheery, N.I., Ferroni, L., Guidi, L., Hogewoning, S.W., Jajoo, A., Misra, A.N., Nebauer, S.G., Pancaldi, S., Penella, C., Poli, D., Pollastrini, M., Romanowska-Duda, Z.B., Rutkowska, B., Serôdio, J., Suresh, K., Szulc, W., Tambussi, E., Yanniccari, M., Zivcak, M., 2014. Frequently asked questions about in vivo chlorophyll fluorescence: practical issues. *Photosynth Res* 122, 121–158. <https://doi.org/10.1007/s11120-014-0024-6>
- Kamal, N.M., Gorafi, Y.S.A., Abdelrahman, M., Abdellatef, E., Tsujimoto, H., 2019. Stay-Green Trait: A Prospective Approach for Yield Potential, and Drought and Heat Stress Adaptation in Globally Important Cereals. *International Journal of Molecular Sciences* 20, 5837. <https://doi.org/10.3390/ijms20235837>
- Kesavan, P.C., Malarvannan, S., 2010. Green to evergreen revolution: ecological and evolutionary perspectives in pest management. *Current Science* 99, 908–914.
- Khanna-Chopra, R., Chauhan, S., 2015. Wheat cultivars differing in heat tolerance show a differential response to oxidative stress during monocarpic senescence under high

- temperature stress. *Protoplasma* 252, 1241–1251. <https://doi.org/10.1007/s00709-015-0755-z>
- Kim, J., Chung, Y.S., 2021. A short review of RGB sensor applications for accessible high-throughput phenotyping. *J. Crop Sci. Biotechnol.* 24, 495–499. <https://doi.org/10.1007/s12892-021-00104-6>
- Kim, M., Lee, C., Hong, S., Kim, S.L., Baek, J.-H., Kim, K.-H., 2021. High-Throughput Phenotyping Methods for Breeding Drought-Tolerant Crops. *International Journal of Molecular Sciences* 22, 8266. <https://doi.org/10.3390/ijms22158266>
- Kim, S.L., Kim, N., Lee, H., Lee, E., Cheon, K.-S., Kim, M., Baek, J., Choi, I., Ji, H., Yoon, I.S., Jung, K.-H., Kwon, T.-R., Kim, K.-H., 2020. High-throughput phenotyping platform for analyzing drought tolerance in rice. *Planta* 252, 38. <https://doi.org/10.1007/s00425-020-03436-9>
- Klem, K., Mishra, K.B., Novotná, K., Rapantová, B., Hodaňová, P., Mishra, A., Kováč, D., Urban, O., 2016. Distinct growth and physiological responses of *Arabidopsis thaliana* natural accessions to drought stress and their detection using spectral reflectance and thermal imaging. *Functional Plant Biol.* 44, 312–323. <https://doi.org/10.1071/FP16194>
- Klem, K., Rajsnerová, P., Novotná, K., Miša, P., Křen, J., 2014. Changes in Vertical Distribution of Spectral Reflectance within Spring Barley Canopy as an Indicator of Nitrogen Nutrition, Canopy Structure and Yield Parameters. *Agriculture (Pol'nohospodárstvo)* 60, 50–59. <https://doi.org/10.2478/agri-2014-0006>
- Kolhar, S., Jagtap, J., 2023. Plant trait estimation and classification studies in plant phenotyping using machine vision – A review. *Information Processing in Agriculture* 10, 114–135. <https://doi.org/10.1016/j.inpa.2021.02.006>
- Kooyers, N.J., 2015. The evolution of drought escape and avoidance in natural herbaceous populations. *Plant Science* 234, 155–162. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2015.02.012>
- Lambers, H., Oliveira, R.S., 2019. *Plant Physiological Ecology*. Springer International Publishing, Cham. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-29639-1>
- Laxa, M., Liebthal, M., Telman, W., Chibani, K., Dietz, K.-J., 2019. The Role of the Plant Antioxidant System in Drought Tolerance. *Antioxidants* 8, 94. <https://doi.org/10.3390/antiox8040094>
- Lewitt, J., 1980. Responses of plants to environmental stresses. Volume II. Water, radiation, salt, and other stresses (No. Ed. 2). Academic Press.
- Li, L., Hassan, M.A., Song, J., Xie, Y., Rasheed, A., Yang, S., Li, H., Liu, P., Xia, X., He, Z., Xiao, Y., 2023. UAV-based RGB imagery and ground measurements for high-throughput phenotyping of senescence and QTL mapping in bread wheat. *Crop Science* 63, 3292–3309. <https://doi.org/10.1002/csc2.21086>
- Li, L., Zhang, Q., Huang, D., 2014. A Review of Imaging Techniques for Plant Phenotyping. *Sensors* 14, 20078–20111. <https://doi.org/10.3390/s141120078>
- Long, Y., Ma, M., 2022. Recognition of Drought Stress State of Tomato Seedling Based on Chlorophyll Fluorescence Imaging. *IEEE Access* 10, 48633–48642. <https://doi.org/10.1109/ACCESS.2022.3168862>

- Maes, W.H., Steppe, K., 2012. Estimating evapotranspiration and drought stress with ground-based thermal remote sensing in agriculture: a review. *Journal of Experimental Botany* 63, 4671–4712. <https://doi.org/10.1093/jxb/ers165>
- Mahalingam, R., 2017. Phenotypic, physiological and malt quality analyses of US barley varieties subjected to short periods of heat and drought stress. *Journal of Cereal Science* 76, 199–205. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2017.06.007>
- Malenovský, Z., Mishra, K.B., Zemek, F., Rascher, U., Nedbal, L., 2009. Scientific and technical challenges in remote sensing of plant canopy reflectance and fluorescence. *Journal of Experimental Botany* 60, 2987–3004. <https://doi.org/10.1093/jxb/erp156>
- Manivannan, P., Jaleel, C.A., Chang-Xing, Z., Somasundaram, R., Azooz, M.M., Panneerselvam, R., 2008. Variations in Growth and Pigment Composition of Sunflower Varieties under Early Season Drought Stress.
- Marchetti, C.F., Ugena, L., Humplík, J.F., Polák, M., Čavar Zeljković, S., Podlešáková, K., Fürst, T., De Diego, N., Spíchal, L., 2019. A Novel Image-Based Screening Method to Study Water-Deficit Response and Recovery of Barley Populations Using Canopy Dynamics Phenotyping and Simple Metabolite Profiling. *Frontiers in Plant Science* 10.
- Marin, M., Feeney, D.S., Brown, L.K., Naveed, M., Ruiz, S., Koebernick, N., Bengough, A.G., Hallett, P.D., Roose, T., Puértolas, J., Dodd, I.C., George, T.S., 2021. Significance of root hairs for plant performance under contrasting field conditions and water deficit. *Annals of Botany* 128, 1–16. <https://doi.org/10.1093/aob/mcaa181>
- Maxwell, K., Johnson, G.N., 2000. Chlorophyll fluorescence—a practical guide. *Journal of Experimental Botany* 51, 659–668. <https://doi.org/10.1093/jexbot/51.345.659>
- Merilo, E., Jõesaar, I., Brosché, M., Kollist, H., 2014. To open or to close: species-specific stomatal responses to simultaneously applied opposing environmental factors. *New Phytologist* 202, 499–508. <https://doi.org/10.1111/nph.12667>
- Mertens, S., Verbraeken, L., Sprenger, H., Demuyneck, K., Maleux, K., Cannoot, B., De Block, J., Maere, S., Nelissen, H., Bonaventure, G., Crafts-Brandner, S.J., Vogel, J.T., Bruce, W., Inzé, D., Wuyts, N., 2021. Proximal Hyperspectral Imaging Detects Diurnal and Drought-Induced Changes in Maize Physiology. *Frontiers in Plant Science* 12.
- Miersch, I., Heise, J., Zelmer, I., Humbeck, K., 2000. Differential Degradation of the Photosynthetic Apparatus During Leaf Senescence in Barley (*Hordeum vulgare* L.). *Plant Biol (Stuttg)* 2, 618–623. <https://doi.org/10.1055/s-2000-16632>
- Mikołajczak, K., Ogrodowicz, P., Ćwiek-Kupczyńska, H., Weigelt-Fischer, K., Mothukuri, S.R., Junker, A., Altmann, T., Krystkowiak, K., Adamski, T., Surma, M., Kuczyńska, A., Krajewski, P., 2020. Image Phenotyping of Spring Barley (*Hordeum vulgare* L.) RIL Population Under Drought: Selection of Traits and Biological Interpretation. *Frontiers in Plant Science* 11.
- Mishra, K.B., Iannacone, R., Petrozza, A., Mishra, A., Armentano, N., La Vecchia, G., Trtílek, M., Cellini, F., Nedbal, L., 2012. Engineered drought tolerance in tomato plants is reflected in chlorophyll fluorescence emission. *Plant Science, Abiotic stress tolerances* 182, 79–86. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2011.03.022>

- Mishra, K.B., Mishra, A., Klem, K., Govindjee, 2016a. Plant phenotyping: a perspective. *Ind J Plant Physiol.* 21, 514–527. <https://doi.org/10.1007/s40502-016-0271-y>
- Mishra, K.B., Mishra, A., Novotná, K., Rapantová, B., Hodaňová, P., Urban, O., Klem, K., 2016b. Chlorophyll a fluorescence, under half of the adaptive growth-irradiance, for high-throughput sensing of leaf-water deficit in *Arabidopsis thaliana* accessions. *Plant Methods* 12, 46. <https://doi.org/10.1186/s13007-016-0145-3>
- Mitra, D., Rad, K.V., Chaudhary, P., Ruparelia, J., Sagarika, M.S., Boutaj, H., Mohapatra, P.K.D., Panneerselvam, P., 2021. Involvement of strigolactone hormone in root development, influence and interaction with mycorrhizal fungi in plant: Mini-review. *Current Research in Microbial Sciences* 2, 100026. <https://doi.org/10.1016/j.crmicr.2021.100026>
- Murchie, E.H., Lawson, T., 2013. Chlorophyll fluorescence analysis: a guide to good practice and understanding some new applications. *Journal of Experimental Botany* 64, 3983–3998. <https://doi.org/10.1093/jxb/ert208>
- Nedbal, L., Whitmarsh, J., 2004. Chlorophyll Fluorescence Imaging of Leaves and Fruits, in: Papageorgiou, G.C., Govindjee (Eds.), *Chlorophyll a Fluorescence: A Signature of Photosynthesis, Advances in Photosynthesis and Respiration*. Springer Netherlands, Dordrecht, pp. 389–407. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-3218-9_14
- Negin, B., Moshelion, M., 2016. The advantages of functional phenotyping in pre-field screening for drought-tolerant crops. *Functional Plant Biol.* 44, 107–118. <https://doi.org/10.1071/FP16156>
- Neilson, E.H., Edwards, A.M., Blomstedt, C.K., Berger, B., Møller, B.L., Gleadow, R.M., 2015. Utilization of a high-throughput shoot imaging system to examine the dynamic phenotypic responses of a C4 cereal crop plant to nitrogen and water deficiency over time. *Journal of Experimental Botany* 66, 1817–1832. <https://doi.org/10.1093/jxb/eru526>
- Neumann, K., Klukas, C., Friedel, S., Rischbeck, P., Chen, D., Entzian, A., Stein, N., Graner, A., Kilian, B., 2015. Dissecting spatiotemporal biomass accumulation in barley under different water regimes using high-throughput image analysis. *Plant, Cell & Environment* 38, 1980–1996. <https://doi.org/10.1111/pce.12516>
- Osakabe, Y., Osakabe, K., Shinozaki, K., Tran, L.-S., 2014. Response of plants to water stress. *Frontiers in Plant Science* 5.
- Oukarroum, A., Madidi, S.E., Schansker, G., Strasser, R.J., 2007. Probing the responses of barley cultivars (*Hordeum vulgare* L.) by chlorophyll a fluorescence OLKJIP under drought stress and re-watering. *Environmental and Experimental Botany* 60, 438–446. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2007.01.002>
- Passioura, J.B., 2012. Phenotyping for drought tolerance in grain crops: when is it useful to breeders? *Functional Plant Biol.* 39, 851–859. <https://doi.org/10.1071/FP12079>
- Paul, K., Sorrentino, M., Lucini, L., Roupheal, Y., Cardarelli, M., Bonini, P., Miras Moreno, M.B., Reynaud, H., Canaguier, R., Trtílek, M., Panzarová, K., Colla, G., 2019. A Combined Phenotypic and Metabolomic Approach for Elucidating the Biostimulant Action of a Plant-Derived Protein Hydrolysate on Tomato Grown Under Limited Water Availability. *Frontiers in Plant Science* 10.

- Paulus, S., 2019. Measuring crops in 3D: using geometry for plant phenotyping. *Plant Methods* 15, 103. <https://doi.org/10.1186/s13007-019-0490-0>
- Pineda, M., Barón, M., Pérez-Bueno, M.-L., 2021. Thermal Imaging for Plant Stress Detection and Phenotyping. *Remote Sensing* 13, 68. <https://doi.org/10.3390/rs13010068>
- Prashar, A., Jones, H.G., 2014. Infra-Red Thermography as a High-Throughput Tool for Field Phenotyping. *Agronomy* 4, 397–417. <https://doi.org/10.3390/agronomy4030397>
- Rajendran, K., Tester, M., Roy, S.J., 2009. Quantifying the three main components of salinity tolerance in cereals. *Plant, Cell & Environment* 32, 237–249. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2008.01916.x>
- Rischbeck, P., Cardellach, P., Mistele, B., Schmidhalter, U., 2017. Thermal phenotyping of stomatal sensitivity in spring barley. *Journal of Agronomy and Crop Science* 203, 483–493. <https://doi.org/10.1111/jac.12223>
- Rivero, R.M., Kojima, M., Gepstein, A., Sakakibara, H., Mittler, R., Gepstein, S., Blumwald, E., 2007. Delayed leaf senescence induces extreme drought tolerance in a flowering plant. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 104, 19631–19636. <https://doi.org/10.1073/pnas.0709453104>
- Robertson, G.A., Greenway, H., 1973. Effects of CCC on Drought Resistance of *Triticum aestivum*, L and *Zea mays*, L. *Annals of Botany* 37, 929–934. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aob.a084761>
- Rousseau, D., Chéné, Y., Belin, E., Semaan, G., Trigui, G., Boudehri, K., Franconi, F., Chapeau-Blondeau, F., 2015. Multiscale imaging of plants: current approaches and challenges. *Plant Methods* 11, 6. <https://doi.org/10.1186/s13007-015-0050-1>
- Ruban, A.V., 2016. Nonphotochemical Chlorophyll Fluorescence Quenching: Mechanism and Effectiveness in Protecting Plants from Photodamage. *Plant Physiology* 170, 1903–1916. <https://doi.org/10.1104/pp.15.01935>
- Saini, H.S., Westgate, M.E., 1999. Reproductive Development in Grain Crops during Drought, in: Sparks, D.L. (Ed.), *Advances in Agronomy*. Academic Press, pp. 59–96. [https://doi.org/10.1016/S0065-2113\(08\)60843-3](https://doi.org/10.1016/S0065-2113(08)60843-3)
- Samarah, N.H., 2005. Effects of drought stress on growth and yield of barley. *Agronomy for Sustainable Development* 25, 145–149.
- Sánchez-Díaz, M., García, J.L., Antolín, M.C., Araus, J.L., 2002. Effects of Soil Drought and Atmospheric Humidity on Yield, Gas Exchange, and Stable Carbon Isotope Composition of Barley. *Photosynthetica* 40, 415–421. <https://doi.org/10.1023/A:1022683210334>
- Serraj, R., Sinclair, T.R., 2002. Osmolyte accumulation: can it really help increase crop yield under drought conditions? *Plant, Cell & Environment* 25, 333–341. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3040.2002.00754.x>
- Shabala, S., Shabala, L., 2011. Ion transport and osmotic adjustment in plants and bacteria 2, 407–419. <https://doi.org/10.1515/BMC.2011.032>
- Sherstneva, O., Khlopkov, A., Gromova, E., Yudina, L., Vetrova, Y., Pecherina, A., Kuznetsova, D., Krutova, E., Sukhov, V., Vodeneev, V., Allakhverdiev, S., 2021.

- Analysis of chlorophyll fluorescence parameters as predictors of biomass accumulation and tolerance to heat and drought stress of wheat (*Triticum aestivum*) plants. *Functional Plant Biol.* 49, 155–169. <https://doi.org/10.1071/FP21209>
- Shomali, A., Aliniaiefard, S., Bakhtiarizadeh, M.R., Lotfi, M., Mohammadian, M., Vafaei Sadi, M.S., Rastogi, A., 2023. Artificial neural network (ANN)-based algorithms for high light stress phenotyping of tomato genotypes using chlorophyll fluorescence features. *Plant Physiology and Biochemistry* 201, 107893. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2023.107893>
- Skowron, E., Trojak, M., 2021. Effect of exogenously-applied abscisic acid, putrescine and hydrogen peroxide on drought tolerance of barley. *Biologia* 76, 453–468. <https://doi.org/10.2478/s11756-020-00644-2>
- Sozzani, R., Busch, W., Spalding, E.P., Benfey, P.N., 2014. Advanced imaging techniques for the study of plant growth and development. *Trends in Plant Science* 19, 304–310. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2013.12.003>
- Tardieu, F., 2012. Any trait or trait-related allele can confer drought tolerance: just design the right drought scenario. *Journal of Experimental Botany* 63, 25–31. <https://doi.org/10.1093/jxb/err269>
- Tardieu, F., Granier, C., Muller, B., 2011. Water deficit and growth. Co-ordinating processes without an orchestrator? *Current Opinion in Plant Biology* 14, 283–289. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2011.02.002>
- Thomas, H., Ougham, H., 2014. The stay-green trait. *Journal of Experimental Botany* 65, 3889–3900. <https://doi.org/10.1093/jxb/eru037>
- Tolley, S., Yang, Y., Mohammadi, M., 2020. High-throughput phenotyping identifies plant growth differences under well-watered and drought treatments. *Journal of Integrative Agriculture* 19, 2429–2438. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(20\)63154-9](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(20)63154-9)
- Trnka, M., Balek, J., Petr Štěpánek, Zahradníček, P., Možný, M., Eitzinger, J., Zdeněk Žalud, Formayer, H., Turňa, M., Nejedlík, P., Semerádová, D., Hlavinka, P., Brázdil, R., 2016. Drought trends over part of Central Europe between 1961 and 2014. *Climate Research* 70, 143–160. <https://doi.org/10.3354/cr01420>
- Tuberosa, R., 2012. Phenotyping for drought tolerance of crops in the genomics era. *Frontiers in Physiology* 3.
- Tuberosa, R., Turner, N.C., Cakir, M., 2014. Two decades of InterDrought conferences: are we bridging the genotype-to-phenotype gap? *Journal of Experimental Botany* 65, 6137–6139. <https://doi.org/10.1093/jxb/eru407>
- van Ginkel, M., Calhoun, D.S., Gebeyehu, G., Miranda, A., Tian-you, C., Pargas Lara, R., Trethowan, R.M., Sayre, K., Crossa, J., Rajaram, S., 1998. Plant traits related to yield of wheat in early, late, or continuous drought conditions. *Euphytica* 100, 109–121. <https://doi.org/10.1023/A:1018364208370>
- Volpato, L., Pinto, F., González-Pérez, L., Thompson, I.G., Borém, A., Reynolds, M., Gérard, B., Molero, G., Rodrigues, F.A., 2021. High Throughput Field Phenotyping for Plant Height Using UAV-Based RGB Imagery in Wheat Breeding Lines: Feasibility and Validation. *Frontiers in Plant Science* 12.

- Waines, J.G., Ehdaie, B., 2007. Domestication and Crop Physiology: Roots of Green-Revolution Wheat. *Annals of Botany* 100, 991–998. <https://doi.org/10.1093/aob/mcm180>
- Walter, A., Scharr, H., Gilmer, F., Zierer, R., Nagel, K.A., Ernst, M., Wiese, A., Virnich, O., Christ, M.M., Uhlig, B., Jünger, S., Schurr, U., 2007. Dynamics of seedling growth acclimation towards altered light conditions can be quantified via GROWSCREEN: a setup and procedure designed for rapid optical phenotyping of different plant species. *New Phytologist* 174, 447–455. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2007.02002.x>
- Wasson, A.P., Richards, R.A., Chatrath, R., Misra, S.C., Prasad, S.V.S., Rebetzke, G.J., Kirkegaard, J.A., Christopher, J., Watt, M., 2012. Traits and selection strategies to improve root systems and water uptake in water-limited wheat crops. *Journal of Experimental Botany* 63, 3485–3498. <https://doi.org/10.1093/jxb/ers111>
- Wickham, H., 2016. Data Analysis, in: Wickham, H. (Ed.), *Ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis, Use R!* Springer International Publishing, Cham, pp. 189–201. https://doi.org/10.1007/978-3-319-24277-4_9
- Xiao, Q., Bai, X., Zhang, C., He, Y., 2022. Advanced high-throughput plant phenotyping techniques for genome-wide association studies: A review. *Journal of Advanced Research* 35, 215–230. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2021.05.002>
- Xu, L., Chen, N., Zhang, X., 2019. Global drought trends under 1.5 and 2 °C warming. *International Journal of Climatology* 39, 2375–2385. <https://doi.org/10.1002/joc.5958>
- Yang, W., Feng, H., Zhang, X., Zhang, J., Doonan, J.H., Batchelor, W.D., Xiong, L., Yan, J., 2020. Crop Phenomics and High-Throughput Phenotyping: Past Decades, Current Challenges, and Future Perspectives. *Molecular Plant* 13, 187–214. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2020.01.008>
- Yao, J., Sun, D., Cen, H., Xu, H., Weng, H., Yuan, F., He, Y., 2018. Phenotyping of Arabidopsis Drought Stress Response Using Kinetic Chlorophyll Fluorescence and Multicolor Fluorescence Imaging. *Frontiers in Plant Science* 9.
- Yuan, G.-F., Jia, C.-G., Li, Z., Sun, B., Zhang, L.-P., Liu, N., Wang, Q.-M., 2010. Effect of brassinosteroids on drought resistance and abscisic acid concentration in tomato under water stress. *Scientia Horticulturae* 126, 103–108. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2010.06.014>
- Zhou, C., Le, J., Hua, D., He, T., Mao, J., 2019. Imaging analysis of chlorophyll fluorescence induction for monitoring plant water and nitrogen treatments. *Measurement* 136, 478–486. <https://doi.org/10.1016/j.measurement.2018.12.088>

8 Seznam publikací, které předcházely metodice

Findurová, H., Veselá, B., Panzarová, K., Pytela, J., Trtílek, M., Klem, K., 2023. Phenotyping drought tolerance and yield performance of barley using a combination of imaging methods. *Environmental and Experimental Botany* 209, 105314.
<https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2023.105314>

Metodika z této publikace přímo vychází a doplňuje ji o praktické aspekty a význam jednotlivých znaků v odolnosti vůči suchu.



Ústav výzkumu globální změny AV ČR, v. v. i.

2024