

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA BIOLOGIJO

David GRADINJAN

**VPLIV OBRASTI NA OPTIČNE LASTNOSTI LISTOV
BLEŠČEČEGA IN PRERASLOLISTNEGA DRISTAVCA**

DIPLOMSKO DELO

Univerzitetni študij

**THE EFFECTS OF PERIPHYTON ON OPTICAL PROPERTIES OF
LEAVES IN *Potamogeton lucens* AND *Potamogeton perfoliatus***

GRADUATION THESIS

University studies

Ljubljana, 2015

Diplomsko delo je zaključek Univerzitetnega študija biologije. Opravljeno je bilo na Katedri za ekologijo Oddelka za biologijo Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani. Vzorci rastlin so bili nabrani na Cerknškem jezeru in obdelani v laboratoriju katedre.

Študijska komisija Oddelka za biologijo je za mentorja diplomskega dela imenovala prof. dr. Alenko Gaberščik, za recenzenta pa doc. dr. Igorja Zelnika.

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik: doc. dr. Aleš KLADNIK
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za biologijo

Član: prof. dr. Alenka GABERŠČIK
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za biologijo

Član: doc. dr. Igor ZELNIK
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za biologijo

Datum zagovora:

Delo je rezultat lastnega raziskovalnega dela.

Podpisani se strinjam z objavo svoje naloge v polnem tekstu na spletni strani Digitalne knjižnice Biotehniške fakultete. Izjavljam, da je naloga, ki sem jo oddal v elektronski obliki, identična tiskani verziji.

David Gradinjan

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

- ŠD Dd
DK UDK 582.534.2:551.521.14(043.2)=163.6
KG odbojnost/presevnost/optične lastnosti listov/makrofiti/obrast/epifiton/bleščeči dristavec (*Potamogeton lucens*)/preraslolistni dristavec (*Potamogeton perfoliatus*)
AV GRADINJAN, David
SA GABERŠČIK, Alenka (mentor)
KZ SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
ZA Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za biologijo
LI 2015
IN VPLIV OBRASI NA OPTIČNE LASTNOSTI LISTOV BLEŠČEČEGA IN PRERASLOLISTNEGA DRISTAVCA
TD Diplomsko delo (univerzitetni študij)
OP IX, 59 str., 16 sl., 3 pril., 124 vir.
IJ sl
JI sl/en
AI Proučevali smo vpliv epifitona na optične lastnosti listov bleščečega in preraslolistnega dristavca ter ugotavljali, če in v kolikšni meri lahko variabilnost presevnih in odbojnih spektrov pojasnimo z razlikami v anatomskih in biokemijskih lastnostih listov ter količino in kakovostjo epifitona. Opravili smo meritve anatomskih in biokemijskih parametrov listov ter parametrov obrasti. V območju od 280 do 880 nm smo merili odbojnost in presevnost listov z in brez epifitona. Med vrstama ni bilo večjih anatomskih ali biokemijskih razlik, prav tako ni bilo večjih razlik med parametri epifitona. Diatomeje so bile prevladujoča vrsta alg v epifitonu, z večjo številčnostjo na spodnji strani listov, medtem ko sta bili teža in vsebnost klorofila *a* večja na zgornji strani, kjer je bila prisotna tudi plast kalcijevega karbonata, delci sedimenta ter manjše količine rahlo pritrjenega epifitona. Vpliv obrasti na odbojne in preseвне spektre je bil znaten. Odboj svetlobe se je ob prisotnosti epifitona zmanjšal v skoraj celotnem območju svetlobnega spektra, najbolj pri krajših valovnih dolžinah, najmanj pa v zelenem ter rumenem delu spektra. Še bolj izrazit je bil vpliv na zmanjšanje presevnosti svetlobe skozi list, najbolj v UV, vijoličnem, modrem ter rdečem delu spektra, manj pa v zelenem in najmanj v rumenem ter NIR delu spektra. Rezultate smo pripisali predvsem kremenastim frustulam diatomej ter njihovim pigmentom, manj pa kalcijevemu karbonatu ter sedimentom. 50 % variabilnosti odbojnih in 37 % variabilnosti presevnih spektrov smo s pomočjo RDA analize razložili z različnimi lastnostmi epifitona, predvsem vsebnostjo klorofila *a* in suho maso, medtem ko je ostala variabilnost ostala nepojasnjena.

KEY WORDS DOCUMENTATION

DN Dd
 DC UDC 582.534.2:551.521.14(043.2)=163.6
 CX reflectance/transmittance/leaf optical properties/
 macrophytes/epiphyton/*Potamogeton lucens*/*Potamogeton perfoliatus*
 AU GRADINJAN, David
 AA GABERŠČIK, Alenka (supervisor)
 PP SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
 PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Biology
 PY 2015
 TI THE EFFECTS OF PERIPHYTON ON OPTICAL PROPERTIES OF
 LEAVES IN *POTAMOGETON LUCENS* AND *POTAMOGETON*
PERFOLIATUS
 DT Graduation Thesis (University studies)
 NO IX, 59 p., 16 fig., 3 ann., 124 ref.
 LA sl
 AL sl/en
 AB We studied the effects of epiphyton on optical properties in leaves of *Potamogeton lucens* and *Potamogeton perfoliatus* and tried to determine if and to what extent is the variability of transmittance and reflectance spectra explained by differences in anatomical and biochemical properties of leaves and the quantity and quality of epiphyton. We performed measurements of anatomical and biochemical parameters of leaves and epiphyton parameters. Leaf reflectance and transmittance with and without epiphyton were measured within the range of 300 to 800 nm. There were no significant anatomical and biochemical differences or differences in epiphyton parameters between species. Diatoms were the dominant group of algae in epiphyton, with a greater abundance on the underside of leaves, while dry weight and chlorophyll *a* content were greater on the upper side, where a layer of calcium carbonate, sediment particles and a small quantity of loosely attached epiphyton were also found. Impact on transmittance and reflectance spectra was significant. Reflection of light in the presence of epiphyton decreased in almost entire range of the light spectrum, the effect being greater at shorter wavelengths and being smaller in the green and the yellow part of the spectrum. Even more pronounced was the reduction in transmittance of light through the leaves, mostly in the UV, violet, blue, and red part of the spectrum and to a lesser amount in green and yellow region, effect being smallest in NIR range. The results were mainly attributed to silica frustules and pigments of diatoms and less to calcium carbonate and sediments. Using RDA analysis, we explained 50 % of the variability in reflectance and 37 % of variability in transmittance spectra by the different epiphyton properties, especially by chlorophyll *a* content and dry weight, while the remaining variability remained unexplained.

KAZALO VSEBINE

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA.....	III
KEY WORDS DOCUMENTATION	IV
KAZALO VSEBINE.....	V
KAZALO SLIK.....	VII
KAZALO PRILOG	VIII
OKRAJŠAVE IN SIMBOLI	IX
1 UVOD	1
1.1 HIPOTEZE	2
2 PREGLED OBJAV	3
2.1 OPTIČNE LASTNOSTI LISTOV	3
2.1.1 Absorpcija svetlobe.....	4
2.1.2 Odboj svetlobe	6
2.2 OBRAST.....	7
2.2.1 Vpliv obrasti na makrofite.....	8
2.2.2 Vpliv zunanjih dejavnikov na obrast.....	12
3 MATERIALI IN METODE	16
3.1 RASTLINSKE VRSTE	16
3.2 MERITVE OPTIČNIH LASTNOSTI.....	17
3.3 ANATOMSKE ANALIZE	17
3.3 BIOKEMIJSKE ANALIZE	18
3.3.1 Klorofili in karotenoidi	18
3.3.2 Antociani	19
3.3.2 UV absorbirajoče snovi.....	19
3.4 ANALIZE OBRASTI	20
3.2.6 Statistična obdelava podatkov	20
4 REZULTATI.....	22
4.1 ANATOMIJA LISTOV	22
4.2 BIOKEMIJA LISTOV	24
4.2.1 Klorofili in karotenoidi	24
4.2.2 Antociani	25
4.2.3 UV-absorbirajoče snovi.....	26
4.1 ANALIZA EPIFITONA	27
4.2 ODBOJNOST IN PRESEVNOST LISTA.....	31

4.2.1 Odbojnost	31
4.2.2 Presevnost.....	33
4.2.3 Korelacija med optičnimi lastnostmi ter anatomskimi in biokemijskimi parametri listov ter parametri obrasti.....	35
5 RAZPRAVA.....	38
5.1 VPLIV NA OPTIČNE LASTNOSTI.....	40
6 SKLEPI	45
7 POVZETEK.....	47
8 VIRI	49
ZAHVALA	
PRILOGE	

KAZALO SLIK

Sl. 1: Prečna prereza listov vrste <i>P. lucens</i> in <i>P. perfoliatus</i>	22
Sl. 2: Debelina zg. in sp. povrhnjice, mezofila in celotnega lista.....	22
Sl. 3: Specifična listna površina (SLA).....	23
Sl. 4: Vsebnost klorofilov in karotenoidov na površino lista [mg/m^2].....	24
Sl. 5: Vsebnost antocianov na površino lista [relativne note/ cm^2].....	25
Sl. 6: Vsebnost UV-A in UV-B absorbirajočih snovi na površino lista [relativne enote/ cm^2]	26
Sl. 7: Tesno pritrjen epifiton na površini listov.....	27
Sl. 8: Gostota diatomej na enoto zgornje in spodnje listne površine [mm^2].....	28
Sl. 9: Teža epifitona na enoto zgornje in spodnje listne površine [g/m^2].....	29
Sl. 10: Vsebnost klorofila <i>a</i> v epifitonu na enoto zgornje in spodnje listne površine [mg/m^2].....	30
Sl. 11: Spektri povprečnih vrednosti relativnega odboja od zgornje listne površine za a) <i>P. lucens</i> in b) <i>P. perfoliatus</i>	31
Sl. 12: Spektri povprečnih vrednosti razlik v deležu odbite svetlobe ob prisotnosti epifitona na zgornji listni površini glede na površino brez epifitona.....	32
Sl. 13: Spektri povprečnih vrednosti relativne presevnosti skozi liste za a) <i>P. lucens</i> in b) <i>P.</i> <i>perfoliatus</i>	33
Sl. 14: Spektri povprečnih vrednosti atenuacije svetlobe pri prehodu skozi plast zgornjega oz. spodnjega epifitona na listih a) <i>P. lucens</i> in b) <i>P. perfoliatus</i>	34
Sl. 15: Ordinacijski diagram (RDA), ki prikazuje moč statistično značilnih povezav med okoljskimi dejavniki in različnimi deli odbojnega spektra.....	35
Sl. 16: Ordinacijski diagram (RDA), ki prikazuje moč statistično značilnih povezav med okoljskimi dejavniki in različnimi deli spektra presevnosti.....	36

KAZALO PRILOG

Pril. A: Anatomske parametri listov

Pril. B: Biokemijski parametri listov

Pril. C: Parametri epifitona

OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

Ant	antociani
E ₄₇₀ , E ₅₃₀ , E ₆₄₅ , E ₆₆₂	absorpcije pri posameznih valovnih dolžinah
Kar	karotenoidi
Kl <i>a</i> , Kl <i>b</i>	klorofil <i>a</i> , klorofil <i>b</i>
MIR	srednje infrardeče sevanje (1300 - 2600 nm)
NIR	bližnje infrardeče sevanje (700 - 1400 nm)
PAR	fotosintezno aktivno sevanje (400 – 700 nm)
RDA	redundančna analiza
SD	standardna deviacija
SLA	specifična listna površina
t-test	dvosmerni Studentov t-test
UV	ultravijolično sevanje (100 - 400 nm)
UV abs	UV-absorbirajoče snovi
UV-A	ultravijolično sevanje A z valovno dolžino 320 - 400 nm
UV-B	ultravijolično sevanje B z valovno dolžino 280 - 319 nm

1 UVOD

Sončevo sevanje je temeljnega pomena za dinamiko vodnih ekosistemov. Večina energije, ki omogoča presnovne procese v jezerih in tekočih vodah, izhaja neposredno iz sončne energije, ki se izkorišča v procesu fotosinteze (Wetzel, 2001). Vodni avtotrofi (makrofiti; na rastline, sedimente, skale ter ostale površine pritrjene alge; makroalge; in fitoplankton) zato poleg tekmovanja za prostor in hranila tekmujejo tudi za svetlobo (Havens in sod., 2001). Nanjo vpliva svetlobni režim nad vodno površino, v vodnih ekosistemih pa je omejena iz dveh glavnih vzrokov: Prvi je vodni medij, ki močnejše kot zrak absorbira, razpršuje in s tem odstrani velik delež svetlobe, ki prodre do vodne površine. Drugi vzrok je prestrezanje svetlobe z vodnimi rastlinami, ki spreminjajo svetlobne razmere v vodnem stolpcu pod seboj. Posledice so spremembe v jakosti in spektralni kakovosti svetlobe z globino (Kirk, 2011).

Svetloba je eden od ključnih dejavnikov, ki vplivajo na potopljene makrofite na več ravneh. To vključuje: (1) vpliv na produkcijo biomase; (2) vpliv na morfogenezne procese; in (3) vpliv na fenologijo in reprodukcijo rastlin (Best in sod., 2001).

List, kot osnovni fotosintezni organ, ki absorbira svetlobo, ima lastne optične lastnosti. Različne rastlinske vrste imajo različne listne strukture, kar vpliva na različno količino odbite in prepuščene svetlobe v vidnem in NIR delu spektra, medtem ko so v UV delu te razlike manjše (Yoshimura in sod., 2010). Interakcija elektromagnetnega sevanja z rastlinskimi listi (odboj, presevnost in absorpcija) je odvisna od kemijskih in fizičnih lastnosti teh listov (Jacquemoud in Baret, 1990).

Neugodne rastne razmere povzročijo morfološke, fiziološke in/ali biokemične spremembe, kar vpliva na način interakcije svetlobe z rastlino. Tovrstne optične spremembe listov omogočajo uporabo nedestruktivnih tehnik ugotavljanja stresnih dejavnikov, ki vplivajo na rastline. Meritve spektralnega odboja predstavljajo tudi hitro in nedestruktivno metodo meritve vsebnosti rastlinskih pigmentov in dušika (Jacquemoud in Ustin, 2001; Liew in sod., 2009).

V vodnem okolju na optične lastnosti listov pogosto pomembno vpliva obrast oziroma epifiton, ki je v neposrednem stiku s svojim makrofitom in lahko v odvisnosti od količine

in strukture močno spremeni jakost in spektralno kakovost svetlobe, ki seže do makrofita (Wetzel, 2001). To lahko v določenih ekosistemih povzroči celo izginotje makrofitov (Phillips in sod, 1987) ali pa kot pomemben dejavnik preprečuje njihovo ponovno razrast (Roberts in sod., 2003). Epifiton je tudi eden od dejavnikov, ki jih je potrebno upoštevati pri daljinskem zaznavanju z namenom kartiranja in spremljanja dinamike podvodne vegetacije (Pinnel, 2007).

Namen diplomske naloge je bil ugotoviti, v kakšni meri obrast vpliva na odboj in prehajanje sevanja pri listih dveh potopljenih makrofitov – preraslolistnega dristavca (*Potamogeton perfoliatus*) in bleščečega dristavca (*Potamogeton lucens*). Prav tako nas je zanimalo, kateri anatomski in biokemijski dejavniki v največji meri razložijo variabilnost odbojnih in presevnih spektrov pri listih z obrastjo in brez obrasti.

1.1 HIPOTEZE

1. Predvidevamo, da se optične lastnosti listov rastlin z obrastjo in brez obrasti med seboj razlikujejo.
2. Predvidevamo, da količina in kakovost obrasti ter razlike v anatomskih in biokemijskih lastnostih listov vplivajo na presevnost in odbojnost listov.

2 PREGLED OBJAV

2.1 OPTIČNE LASTNOSTI LISTOV

Rastlinski listi so kompleksne strukture, ki uravnavajo sprejem svetlobe na več ravneh, od biofizikalne zgradbe do prostorske orientacije listov (Ustni in sod., 2001). Interakcija svetlobe z različnimi plastmi celic je odvisna od njihovih biokemijskih in anatomskih značilnosti. Pri tem se del svetlobe od lista odbije, del se absorbira, preostanek pa prehaja skozi list (Lie in sod., 2009).

Splošna zgradba listov vodnih makrofitov se od kopenskih razlikuje. Listi potopljenih rastlin so iz 1-3 plasti celic, fotosintezno aktivne celice so koncentrirane v povrhnjici, kjer so normalno prisotni kloroplasti. Kutikula je tanka in ne predstavlja velike ovire za sprejem hranil in vode, listne reže pa pogosto manjkajo (Cronk in Fennessy, 2001). Kljub temu imajo spektralne značilnosti posameznega zelenega lista višjih rastlin na splošno enak vzorec (Yoshimura in sod., 2010).

Za tipičen zeleni list je značilen majhen odboj v vidnem delu spektra (400-700 nm). Izjema je nekoliko višji odboj zelenih valovnih dolžin (500-600 nm), kar daje listom značilno zeleno barvo. Odboj je še posebno močan v bližnje infrardečem (NIR 700-1300 nm) in srednje infrardečem (MIR 1300-2600 nm) delu spektra, kjer pigmenti več ne absorbirajo sevanja. Absorpcija je visoka v modrem (400-500 nm) in rdečem (600-700 nm) delu spektra, saj to svetlobo rastline izkoriščajo kot vir energije za fotosintezo (Blackburn, 2006; Pinnel, 2007). Značilno je tudi zelo naglo povečanje odbojnosti nad 680 nm valovne dolžine – pojav, ki se imenuje »rdeči rob«. Ta je odvisen od količine klorofila v celicah in je merilo fotosintetske aktivnosti (Ozawa, 2011). Za celotno UV območje sta značilni nizka odbojnost in presevnost ter visoka absorpcija (Yoshimura in sod., 2010).

Različne biokemijske, atomske in morfološke značilnosti imajo različno močne vplive v različnih delih svetlobnega spektra. V UV delu spektra je značilna močna absorpcija zaradi UV-absorbirajočih snovi, kot so flavonoidi, del UV sevanja pa absorbirajo tudi klorofili (Yoshimura in sod., 2010). Značilna močna absorpcija svetlobe v vidnem delu spektra (400-800 nm) je posledica prisotnosti fotosinteznih pigmentov, ki to svetlobo absorbirajo,

medtem ko je v bližnje-infrardečem platoju absorpcija omejena predvsem na suho snov in kjer večkratno sipanje svetlobe, v odvisnosti od notranje strukture lista, določa odboj in presevnost. V srednje-infrardečem delu je absorpcija odvisna predvsem od vsebnosti vode, pri suhih listih pa od suhe snovi (Jacquemoud in Ustin, 2001).

Na optične lastnosti vplivajo tudi različne fiziološke motnje, ki povzročajo sekundarne učinke, kot so spremembe v koncentraciji klorofila, strukturi mezofila in lastnostih listnih površin (Grant, 1987). Tako na primer Carter in Knapp (2001) ugotavljata, da so spremembe v odboju, presevnosti in absorptivnosti, ki se dosledno pojavljajo kot posledica stresa, razložljive s stresnimi spremembami koncentracije klorofila. To še posebej velja v daljno-rdečem in zeleno-rumenem delu spektra, kjer ni vpliva karotenoidov in ostalih pomožnih pigmentov, ki lahko zakrijejo učinek zmanjšanja vsebnosti klorofila v modrem delu spektra, poleg tega pa tu ni močne absorpcije klorofila, ki lahko kljub zmanjšani koncentraciji doseže saturacijske vrednosti med 670 in 680 nm v rdečem delu spektra (Carter in Knapp, 2001).

2.1.1 Absorpcija svetlobe

Absorpcijske značilnosti listnih tkiv so močno odvisne od njihove biokemijske sestave oziroma koncentracij različnih kemijskih snovi, kot so fotosintezni pigmenti, voda, proteini, lignin in celuloza (Curran, 1989). Te snovi absorbirajo določene valovne dolžine sevanja, kar zmanjša odboj v teh delih spektra. Absorpcijski spektri listov se zato odražajo v odbojnih, kar je lahko osnova za nedestruktivne metode ugotavljanja vsebnosti pigmentov (Blackburn, 2006), kar v svoji raziskavi na listih češenj potrjujejo tudi Imanishi in sod. (2010), kjer so bili absorpcijski indeksi za ugotavljanje vsebnosti klorofila primerljivi odbojnim indeksom.

Vzorec spektralne odbojnosti in absorbance zelenih listov v vidnem delu spektra je določen predvsem s koncentracijo klorofilov, čeprav je opazen tudi vpliv karotenoidov (Baltzer in Thomas, 2005).

Pri višjih rastlinah najdemo klorofil *a* kot glavni pigment in klorofil *b* kot pomožni. Oba pigmenta najbolje absorbirata v rdečem in modrem delu vidnega spektra. Absorpcijska

vrhova klorofila *b* sta pri 450 in 640 nm in ležita med absorpcijskima vrhovoma klorofila *a*, ki sta pri 430 in 660 nm. Omenjene vrednosti veljajo za pigmente v topilu, medtem ko so absorpcijski vrhovi klorofilov v celicah pomaknjeni bliže skupaj, in so za klorofil *b* pri 480 nm in 650 nm, ter za klorofil *a* pri 435 nm in 670-680 nm (Rabinowitch in Govindjee, 1969; Lichtenthaler, 1987). Klorofili imajo prevladujoč vpliv na količino sončnega sevanja, ki ga list absorbira, zato listne koncentracije klorofilov določajo fotosintezni potencial in posledično primarno produkcijo (Blackburn, 2006).

Karotenoidi imajo dve glavni funkciji v procesu fotosinteze, bodisi kot zaščita pred fotodestrukcijo ali kot zbiralci svetlobe, ki energijo posredujejo klorofilu (Demmig-Adams, 1996). Ker se absorpcijski pasovi karotenoidov in klorofilov prekrivajo, jih je težko medsebojno ločiti s tehnikami daljinskega zaznavanja. Različni karotenoidi najbolje absorbirajo v različnih delih modrega spektra, zato se pri senescentnih listih, kjer pride do močnega znižanja koncentracije klorofila, zmanjša se tudi absorpcija zelenih in rdečih valovnih dolžin, medtem ko v modrem delu še vedno ostane visoka na račun prisotnih karotenoidov (Zur in sod., 2000).

Antociani naj bi poleg ostalih funkcij nudili zaščito pred fotoinhibicijo in poškodbami zaradi abiotских dejavnikov, kot so UV-B in vidna svetloba ter temperaturna nihanja (Andersen in Jordheim, 2010). Najmočnejše absorbirajo zelene in rumene valovne dolžine (500-600 nm), v območju sončnega energijskega maksimuma, v vrzeli med območjem močne absorpcije klorofilov in karotenoidov v modrem delu vidnega spektra (400-500 nm) in območjem močne absorpcije klorofilov v rdečem delu vidnega spektra. Prispevek k celokupni absorpciji je odvisen od količine antocianov in razmerja med količinami antocianov ter ostalih pigmentov (Merzlyak in sod., 2008).

Valovne dolžine nad 1300 nm močno absorbira voda, zato je tu odboj majhen (Knipling, 1970).

2.1.2 Odboj svetlobe

Razlike v vzorcih odbojnosti lahko v veliki meri pripišemo razlikam v listni morfologiji, čeprav imajo pomembno vlogo tudi koncentracije fotosinteznih in pomožnih pigmentov (Fyfe, 2004).

Del svetlobe, ki zadane list, se odbije nazaj k opazovalcu in je sestavljen iz (a) svetlobe, ki se je odbila na stiku kutikule z okoljem, in (b) svetlobe, ki je vstopila v mezofil in se preko vmesnih površin znotraj mezofila odbila nazaj skozi povrhnjico (Vogelmann, 1993). Odbojnost je relativno majhna (5-10 %) v vidnem delu spektra, kjer je absorpcija listnih pigmentov glavni dejavnik, ki vpliva nanjo. V bližnjem IR, kjer je odbojnost visoka, in srednje IR delih spektra ti pigmenti nimajo vpliva, zato odbojnost določa predvsem notranja struktura, v MIR delu spektra pa tudi voda, ki absorbira sevanje in zmanjšuje odbojnost (Grant, 1987; Vogelmann, 1993).

Notranja struktura lista vpliva na presevnost in odbojnost vzdolž celotnega spektra, vendar pa se to najbolj jasno kaže tam, kjer je absorpcija nizka, še posebej v NIR območju (Jacquemoud, 1990). Pri tem ima velik pomen predvsem število prehodov med snovmi z različnimi lomnimi količniki, kot so vlažne celične stene in medcelični zračni prostori, saj na teh mestih prihaja do sipanja in odboja svetlobe. To omogoča, da se velik delež svetlobe vrne nazaj skozi povrhnjico, kar opazimo kot odbito svetlobo (Blackburn, 2006). To še posebej velja za svetlobo z valovnimi dolžinami, ki se težko absorbirajo, zato je tam efekt bolj izražen (Vogelmann, 1993). Poleg tega na sipanje svetlobe znotraj lista in odboj pomembno vplivajo tudi ostale listne komponente z različnimi lomnimi količniki (npr. listne reže, celična jedra, plasti celičnih sten, citoplazma, kristali), ki lahko tudi pri listih brez medceličnih zračnih prostorov prispevajo do 8 % odboja (Woolley, 1971; Gausman, 1977).

Odboj ni močno odvisen od debeline lista, dokler je ta znotraj običajnih vrednosti. Večji vpliv se kaže v presevnosti, še posebej pri valovnih dolžinah, ki jih močno absorbirajo pigmenti in voda (Woolley, 1971). Slaton in sod. (2001) so v svoji raziskavi potrdili le šibko korelacijo med debelino lista in odbojem v NIR, medtem ko je bila močna pozitivna korelacija s površino celic mezofila, ki je izpostavljena zračnim medceličnim prostorom.

Svetloba, ki se odbije neposredno od listne površine, nikoli ne vstopi v celice, zato vsebnost pigmentov in vode nimata vpliva nanjo (Sims in Gamon, 2002). Površinski odboj je v veliki meri neodvisen od valovne dolžine (Woolley, 1971) in se običajno spektralno ne spremeni, pogosto pa se odbita svetloba polarizira (Vogelmann, 1993). Nanj pomembno vpliva debelina kutikule, ki je v pozitivni korelaciji s količino odbite svetlobe (Slaton in sod, 2001). Medtem ko je odboj, ki izvira iz notranjosti lista, difuzen, pa je odboj svetlobe s površine predvsem zrcalen, čeprav prihaja zaradi neravnih površin tudi do sipanja svetlobe (Grant, 1987). Na odboj svetlobe, ki se ne odbije neposredno s površine, vplivajo tudi različni pigmenti, odvisno od njihovih vsebnosti in razmerja med njihovimi koncentracijami ter njihovih spektralnih lastnosti (Curran in sod, 1991).

2.2 OBRAST

Drake in sod. (2003) epifiton definirajo kot kompleks, sestavljen iz vseh organizmov, ki so pritrjeni na ali se plazijo po potopljeni površini makrofita, zunajceličnega matriksa, ki ga ti organizmi izločajo na površino makrofita, ter mineralnih in organskih vključkov v zunajceličnem matriksu (Drake in sod., 2003). Izrazov "epifiton" in "obrast" ne moremo enačiti, saj gre pri izrazu obrast oziroma perifiton za širši pojem, ki ga lahko, odvisno od konteksta, uporabljamo za mikrozdružbe, pritrjene na katerikoli živo, mrtvo ali neživo potopljeno podlago (Wetzel, 2001).

Kompleksnost zgradbe obrasti je poleg zunanjih pogojev odvisna tudi od stopnje mikrosukcesije. Kot so ugotovili Hoagland in sod. (1983) je ta analogna sukcesiji višjih rastlin v smislu spremembe vertikalne strukture od združbe z nizkim v združbo z visokim profilom, spremembo številčne dominanc v korist visokih oblik in progresivna upočasnitev stopnje sukcesije. Sprva se pojavi organska plast z različnimi bakterijami, sledijo nizke diatomeje, ki se s celotno površino pritrjajo na substrat, nad njimi pa kasneje še višje diatomeje na želatinoznih pecljih, velike rozetaste diatomeje in nitaste alge. Sluz, ki jo izločajo diatomeje, prav tako prispeva k strukturi združbe z vezavo delcev in alg (Hoagland in sod., 1983). Podoben potek mikrosukcesije sta na listih vrste *Elodea canadensis* ugotovila tudi Paterson in Wright (1983), ki pa ugotavljata, da se zaradi konstantnega nadomeščanja starih listov z novimi ta ne odvije do konca (Paterson in Wright, 1983). Podoben učinek imajo lahko tudi manj ugodne razmere, kot so močnejši

vodni tok, slabše svetlobne razmere, pritisk strgalcev obrasti in različne okoljske motnje (Hudon in Bourget, 1983).

Na kolonizacijo listnih površin vpliva tudi njihova mikrotopografija, ki povečuje prostorsko heterogenost. Vzrok za to naj bi bil turbulenca, saj alge sprva kolonizirajo mesta, kjer je manj motenj, kot so vdolbine, robovi in baza lista ter mesta ob osrednji žili, nazadnje pa osrednje dele listne lamine med glavno žilo in robom (Paterson in Wright, 1983).

Kot sta ugotovila Steintnar in McIntire (1986) predhodna kolonizacija bakterij ni predpogoj za kolonizacijo diatomej (Steintnar in McIntire, 1986). Vrste diatomej, ki se zmorejo trdno pritrčiti na novo nastalo podlago, so pogosto primarni kolonizatorji oz. pionirske vrste, medtem ko se kasneje pojavijo še bolj rahlo pritrjene vrste klimaksne združbe (Siver, 1978). Prav tako so diatomeje pogosto prevladujoča skupina organizmov v epifitonu (Cattaneo in sod., 1998; Sultana in sod., 2004).

Prispevek epifitona k celotni produkciji se razlikuje med različnimi ekosistemi. V raziskavi na dveh velikih in plitvih jezerih je ta delež znašal le 0,1-0,2 % celotne primarne produkcije litorala (Nõges in sod. 2010), medtem ko so alge v epifitonu manjšega in plitvega jezera prispevale 31,3 % in bile eden glavnih primarnih producentov (Allen, 1971). Raziskava, ki sta jo opravila Vilches in Giorgi (2010) je pokazala, da je lahko epifiton s 54 % deleža celotne produkcije najbolj produktivna združba v potoku.

2.2.1 Vpliv obrasti na makrofite

Obrast vpliva tako na količino, kot na kvaliteto svetlobe, ki jo prejmejo potopljeni makrofiti. Sand-Jensen in Søndergaard (1981) sta v svoji raziskavi ugotovila, da epifiton v jezerih z različnimi koncentracijami silicija in dušika absorbira od 4,8 % do 82,2 % svetlobe, odvisno od njegove biomase. Senčenje zaradi epifitona navajajo kot ključen dejavnik v globinski distribuciji makrofitov in sezonskem vzorcu rasti. Podobne ugotovitve navajata Sand-Jensen in Borum (1984), kjer je epifiton v mezotrofnem jezeru absorbiral 67,4-81,7 % svetlobe in pomladlji premaknil svetlobno kompenzacijsko točko iz 3,5 m na 1 m globine. James in sod. (2010) v svoji raziskavi navajajo, da je obrast na trakovih iz

umetnega materiala na različnih globinah oligotrofnega jezera absorbirala do 70 % fotosintezno aktivne svetlobe, medtem ko so Drake in sod. (2003) v raziskavi na morski travi ugotovili do 36 % absorpcije svetlobe v pasovih maksimalne absorpcije klorofila v oligotrofnem in do 60 % v bolj evtrofnem delu zaliva. Tóth (2013) izpostavlja povečan pomen povratnega sipanja svetlobe do spodnje površine listov, kadar je zgornja pokrita z epifitonom, ki zmanjšuje količino prejete svetlobe. Tovrstna povratna svetloba lahko v takih primerih prispeva do 15 % produkcije makrofitov.

Nekatere od omenjenih raziskav so merile absorpcijo obrasti v suspenziji. Ta način je manj primeren, saj lahko zaradi razlik v sipanju svetlobe močno podceni (Vermaat in Hootsmans, 1994) ali preceni (Drake in sod., 2003) absorpcijo nedotaknjenega epifitona z ohranjeno strukturo. Drake in sod. (2003) zato priporočajo uporabo integracijske sfere.

Učinek, ki ga ima epifitsko zmanjševanje svetlobe na fotosintezo makrofitov je odvisen od spektralne selektivnosti obrasti. Od snovi, ki sestavljajo epifiton, je odvisno, katere valovne dolžine bodo absorbirane, s tem da je presevnost najnižja pri krajših valovnih dolžinah (Nechles, 1993). Različne komponente tvorijo kompleksen optični sistem, kjer struktura in heterogenost teh komponent, še posebej pa absorbirajočih snovi, kot so fotosintezni pigmenti, povzročijo številne interakcije sipanja in absorpcij svetlobe. Najbolj izstopajoča značilnost selektivnega senčenja svetlobe je absorpcija fotosinteznih pigmentov, od katerih prevladuje klorofil *a*. Pomožni pigmenti, kot so klorofil *b* pri zelenih algah, fikocianin pri cianobakterijah in fukoksantin ter klorofil *c* pri diatomejah, prispevajo k razširitvi absorpcijskih pasov klorofila *a* v rdečem in modrem delu absorpcijskega spektra. Kremenaste frustule diatomej, bakterije in kristali kalcijevega karbonata kažejo sorazmeroma nizko in manj selektivno absorpcijo (Loose in Wetzel, 1983). Diatomeje zaradi večje vsebnosti pomožnih rjavih pigmentov absorbirajo več svetlobe na enoto klorofila od zelenih alg (Sand-Jensen in Søndergaard, 1981). Spektralna selektivnost epifitona je zato odvisna od deležev alg v združbi in njihovih pigmentov (Sand-Jensen in Borum, 1984). Na zmanjšanje fotosintezno uporabne svetlobe za makrofite zato vplivajo predvsem prisotni pigmenti, najbolj pa klorofil *a*. Obrast, v kateri prevladujejo alge, kaže absorpcijske maksimume pri 400-500 nm in 650-700 nm (James in sod., 2000; Reader in sod., 2010). Da bi kar najboljše ocenili vpliv epifitona na makrofite, je potrebno opraviti

tako spektralne meritve kot spektralne izračune fotosinteze, na katero nimajo vse valovne dolžine znotraj PAR enakega vpliva (Drake in sod., 2003).

Na presevnost svetlobe skozi obrast ima vpliv tudi njegova struktura. Reader in sod., (2010) v svoji raziskavi ugotavljajo, da je tanjša a kompaktna obrast v oligotrofnem jezeru dosti manj presevna za svetlobo od debelejša a bolj rahlo pritrjene in nestabilne obrasti v evtrofnem jezeru. Iz raziskav, ki so jih opravili Brush in Nixon (2002) ter Van Dijk (1993) je razvidno, da pri zelo nizki masi epifitona vzporedno z njenim naraščanjem strmo narašča tudi dušenje PAR, medtem ko pri veliki masi njeno nadaljnje naraščanje le malo vpliva na zmanjšanje presevnosti. Najbolj dramatičen učinek na zmanjšanje PAR, ki doseže makrofite, ima lahko zato že relativno majhna količina epifitona.

Da bi sevanje vstopilo v list makrofita, mora prodreti skozi mejno ploskev med listno površino in vodo. Odboj svetlobe na tej mejni ploskvi je funkcija lomnih količnikov listne površine in vode, ter kota, pod katerim svetloba zadane list. Zaradi večkratnih odbojev svetlobe na mejni ploskvi med površino obrasti in vodo ter nadaljnjih lomov in uklonov, se lahko izgubi manj svetlobe zaradi odboja, kot pri čisti listni površini. (Loose in Wetzel, 1983).

Epifiton lahko zmanjša tudi količino UV-B sevanja, ki ga prejmejo rastline, in jim s tem prinaša določene koristi, kot sta v svoji študiji na morski travi pokazala Aho in Beck (2011). Ugotovila sta, da je morska trava z obrastjo v plitvih vodah rasla hitreje od tiste brez obrasti. Brandt in Koch (2003) ter Reader in sod. (2010) so v svojih raziskavah prišli do zaključka, da je obrast bolj presevna za PAR kot UV-B sevanje (Brandt in Koch, 2003; Reader in sod., 2010). Koristen učinek obrasti se izgubi, kadar presevnost za PAR doseže vrednosti, ki močno omejujejo fotosintezo (Brandt in Koch, 2003).

Poleg kompeticije za svetlobo, lahko v okoljih z znižanimi koncentracijami raztopljenega anorganskega ogljika med makrofiti in epifitonom pride tudi do kompeticije za prosti CO₂, kar ima negativne posledice na rast makrofitov (Jones in sod., 2002). Obstajata dva mehanizma, preko katerih epifiton moti oskrbo makrofita s CO₂. Fotosinteza alg porablja CO₂ in neposredno zmanjšuje njegovo koncentracijo ob listni površini, poleg tega pa

linearno z debelino epifitona narašča tudi debelina mejne plasti, kjer izmenjava plinov poteka le z difuzijo (Jones in sod., 2000). Makrofiti lahko z različnimi strategijami ublažijo omejitve v dostopnosti CO₂, od katerih je najpogostejša uporaba bikarbonata (HCO₃⁻), kar pa zahteva večji vložek energije v primerjavi z uporabo CO₂ (Madsen in Sand-Jensen, 1991). V evtrofnih vodah, kjer se razvije gosta združba epifitona, lahko ponoči zaradi respiracije pride tudi do anoksije na površini makrofitov, kar rastlinam predstavlja še dodaten okoljski stres (Sand-Jensen in sod., 1985).

Negativen vpliv na makrofite imajo lahko tudi v obrasti prisotne bakterije, kadar skozi poškodovano povrhnjico prodrejo v epidermalne celice, kjer se hitro razmnožijo in začnejo razgrajevati njihove celične stene. To verjetno vsaj deloma prispeva k senescenci listov (Rogers in Breen, 1981).

Asaeda in sod. (2004) ter Sultana in sod. (2010) so preučevali vpliv senčenja, ki ga ima epifiton na fiziološke in morfološke spremembe preraslolistnega dristavca (*P. perfoliatus*). Raziskavi sta pokazali, da so povprečno število listov, njihova širina in dolžina, skupna dolžina novih poganjkov in premeri stebel pri šibki svetlobi večji pri kontrolnih rastlinah brez epifitona. Rastline z epifitonom so večji delež biomase shranile v rizome in korenine, imele pa so tudi večje število odmrlih listov. Prav tako so odkrili, da odziv na šibko svetlobo v okolju in senčenje epifitov ni enak. Rastline, ki so rasle ob šibki svetlobi, so imele daljše internodije glavnega poganjka in višje koncentracije klorofila *a* v primerjavi s tistimi, ki so rastle ob močni svetlobi, medtem ko senčenje epifitona ni imelo takega učinka. Asaeda in sod. (2004) kot morebiten vzrok poleg senčenja navajajo še stresne biološke in mehanske učinke epifitona na listno površino, kar bi lahko imelo negativen vpliv na fotosintezne organele.

Neundorfer in Kemp (1993) sta v svoji raziskavi dokazala, da obstaja obratno sorazmerje med gostoto epifitona in rastjo ter biomaso makrofitov. Podobno v svoji raziskavi ugotavljajo Asaeda in sod. (2004), kjer sta bili nadzemna masa ter neto fotosinteza občutno višji pri rastlinah brez epifitona, ki je imel predvsem ob šibki svetlobi negativen vpliv na rast in produkcijo makrofitov.

Makrofiti, ki so zmožni tvoriti dolga stebila, lahko stres zaradi pomankanja svetlobe zmanjšajo z rastjo proti površini, kjer so boljše svetlobne razmere, medtem ko rozetaste vrste s kratkimi listi te možnosti nimajo in so občutljivejše na senčenje s strani epifitona. Poleg tega lahko rastline učinke epifitona deloma premagajo s hitrejšo zamenjavo starih, z obrastjo prekritih listov, z novimi (Sand-Jensen, 1990). Strategija nekaterih vrst je tudi alelopatija z negativnim vplivom na rast nekaterih alg in še posebej cianobakterij (Erhard in Gross, 2006).

2.2.2 Vpliv zunanjih dejavnikov na obrast

Večanje biomase epifitona je odvisno od različnih okoljskih spremenljivk, vključno z vsebnostjo hranil, jakostjo svetlobe, intenziteto obžiranja, temperaturo in hitrostjo toka (Nechles, 1993).

Razmerje med kemizmom vode in količino obrasti je daleč od preprostega (Liboriusen, 2003). Primerjalna študija v 4 jezerih z različnimi obremenitvami s hranili je dokazala povečano biomaso epifitona ob povišanih koncentracijah anorganskih P, N in Si (Sand-Jensen, 1990). Becares in sod. (2008) so v seriji poskusov v modelnih ekosistemih na različnih geografskih širinah ugotovili močno korelacijo s hranili, Neundorfer in Kemp (1993) pa sta odkrila, da je učinek N in P na biomaso epifitona sinergističen, kar pomeni, da je bil odziv na dodatek N najintenzivnejši ob visoki vsebnosti P in obratno. Do nasprotnih zaključkov so v svoji raziskavi na 4 jezerih prišli Gross in sod. (2003), ki niso našli povezave med kemijskimi spremenljivkami in biomaso epifitona. Podoben je bil rezultat raziskave, ki sta jo na 11 jezerih opravila Lalonde in Downing (1991), in ki ni pokazala statistično značilne korelacije med biomaso epifitona in skupnim dušikom v vodi.

Omenjene raziskave so vključevale zgolj učinek hranil, vendar pa lahko, kot navajata Neundorfer in Kemp (1993), makroinvertebrati, ki obžirajo epifiton, močno omejijo njegovo rast tudi ob povišanih koncentracijah hranil in tako posledično omilijo njihov učinek na makrofite. Jaschinski in sod. (2011) so v svoji raziskavi ugotovili, da je epifiton najpomembnejši vir hrane za večino bentoških nevretenčarjev. Preraslolistni dristavec je bil kot vir hrane nepomemben, njegov vpliv pa je bil z zagotavljanjem prostora za rast obrasti zgolj posreden.

V raziskavi, ki sta jo na evtrofnih do hipertrofnih jezerih opravila Jones in Sayer (2003), je bila gostota nevretenčarjev edini dejavnik, ki je določal biomaso epifitona, medtem ko kemizem vode ni imel nikakršnega vpliva. James in sod. (2000) izpostavljajo vlogo strgalcev, ki nenehno negujejo svoje makrofitske gostitelje z obžiranjem alg in vsedlega sedimenta v obrasti ter s tem pripomorejo k ohranitvi združb makrofitov. Brönmark (1994) je v svoji raziskavi dokazal obstoj trofične kaskade, kjer se je učinek plenilskih rib preko njihovega plena - polžev, ki so obžirali obrast, prenesel vse do makrofitov, katerih rast je bila ob prisotnosti rib oslABLJENA. Rosemond in sod. (2000) so preučevali vpliv hranil, svetlobe in strgalcev na obrast v potoku, ter zaključili, da je njihov vpliv sočasen in odvisen od sezone, s katero se spreminja vpliv omenjenih omejitvenih dejavnikov.

Strgalci vplivajo tudi na strukturo obrasti, saj se prednostno hranijo z nitastimi zelenimi algami in velikimi pecljatimi diatomejami, ki prevladujejo ob njihovi odsotnosti. Kadar so strgalci prisotni, so prevladujoče na obžiranje odporne, majhne in prilegle diatomeje, ki se tesno pritrjajo na podlago, ter toksične ali kako drugače zaščitene modrozeleno cepeljivke (Brönmark in sod., 1992). Rusanov in Khromov (2005) sta opravila raziskavo na epifitonu v reki rastočega preraslolistnega dristavca in ugotovila, da strukturo obrasti določajo svetloba in larve trzač (*Chironomidae*). Ob šibki svetlobi in posledično upočasnjeni rasti alg, so ličinke trzač uspešno odstranjevale zgornjo plast epifitona, kar je privedlo do prevlade tesno prilegajočih diatomej vrste *Cocconeis placentula* v spodnji plasti. Ob močnejši svetlobi in produktivnosti epifitona ličinke trzač niso zmogle preprečiti večanja debeline oziroma biomase zgornje plasti, ki je zavirala rast vrste *C. placentula*.

Lalonde in Downing (1991) sta med drugim preučevala tudi vpliv sezone in ugotovila, da ta razloži večino variance biomase epifitona v preučevanem jezeru. Podobno so v svoji raziskavi ugotovili Becares in sod. (2008), kjer je imela sezona tudi pomemben vpliv na vrstno sestavo epifitskih alg.

V tekočih vodah je pomemben vpliv hitrosti vodnega toka, ki v veliki meri določa časovno dinamiko sprememb v biomasi obrasti. Strižne sile, ki jih povzroča trenje vode ob površino obrasti, povzročajo odstranjevanje biomase, s čimer nastaja nov prostor za kolonizacijo alg, ki jih prinese vodni tok. Povečanje hitrosti vodnega toka lahko tudi izboljša dostopnost

do hranil v osiromašenih območjih in pospeši odstranjevanje odpadnih produktov ter tako pripomore k višji stopnji razmnoževanja (Saravia in sod., 1998).

Saravia in sod. (1998) so v svoji raziskavi preučevali tudi vpliv temperature in svetlobe na obrast in ugotovili, da so spremembe temperature povzročile znatnejše razlike v biomasi in vrstni sestavi obrasti od razlik v jakosti svetlobe.

Več raziskovalcev je preučevalo, ali so makrofiti zgolj nevtralen substrat za epifiton, ali pa imajo vpliv nanj. Cattaneo in Kalff (1979) sta v svoji raziskavi primerjala biomaso in primarno produkcijo obrasti na makrofitih in morfološko podobnih plastičnih rastlinah ter zaključila, da so žive rastline verjetno nevtralen substrat za rast alg. Kljub temu, da sta opazila manjši prenos P od makrofita k epifitonu, pa je bil ta nepomemben in ni vplival na biomaso ali produkcijo obrasti, ki je bila enaka na umetnih in naravnih površinah. Podobni so bili rezultati raziskave v mezotrofnem jezeru, kjer so makrofiti prispevali le 3,4-9 % celotnega P v epifitonu (Carigan in Kalff, 1982). Do nasprotnih zaključkov je v svoji raziskavi prišel Van Dijk (1993), kjer je bila biomasa obrasti na umetnem substratu manjša od tiste na pravih listih. Burkholder in Wetzel (1989) sta odkrila razlike v strukturi in sukcesiji združb, Albay in Akcaalan (2003) pa veliko hitrejšo izmenjavo taksonov alg na naravnem substratu. Odgovor na nasprotujoče rezultate morda leži v različnih okoljskih razmerah, kot nakazuje raziskava, ki sta jo opravila Eminson in Moss (1980). Ta je pokazala, da so makrofiti z izločanjem hranil iz listnih površin pomemben vir hranil za epifiton, vendar le v oligotrofnih vodah. V bolj evtrofnih vodah, kjer so zadostne količine hranil prisotne v vodi, je ta vpliv substrata zakrit in manj pomemben. Burkholder in Wetzel (1990) sta v svoji raziskavi dokazala, da epifiton v oligotrofnem jezeru prejme 25-60 % dušika od svojega makrofitskega gostitelja (Burkholder in Wetzel, 1990). Alge in bakterije v epifitonu lahko privzemajo tudi zunajcelične fotosintezne produkte, ki se v majhnih količinah izločajo skozi površino listov (Allen, 1971). Do razlik med umetnim in naravnim substratom naj bi prišlo tudi zaradi izločanja CaCO_3 na zgornjih površinah listov, kar lahko predstavlja oviro za združbo tesno pritrjenih epifitskih alg (Cattaneo in Kalff, 1978).

Na epifiton predvsem z razlikami v morfologiji vpliva tudi vrsta makrofita, kot so v svojih raziskavah odkrili Laugaste in Reunanen (2005) ter Lalonde in Downing (1991), kjer je

bila rast epifitona najbolj bogata na vrstah z gosto in tanko razcepljenimi listi kot je npr. klasasti rmanec (*Myriophyllum spicatum*), manj pa na širokolistnih makrofitih, kot je bleščeči dristavec (*Potamogeton lucens*). Razlike so v svoji raziskavi potrdili tudi Toporowska in sod. (2008), a z ravno nasprotnimi rezultati, kar je lahko posledica vpliva sezone in drugih razlik v biotskih in abiotskih dejavnikih različnih jezer (Toporowska in sod., 2008). Do razlik v vrstni sestavi in biomasi obrasti na različnih makrofitih lahko pride tudi zaradi različno močnih oblog CaCO_3 na listih in različnih hitrosti rasti, kar na hitro rastočih vrstah rezultira v prevladi bolj pionirskih vrstah alg, kot je npr. *Cocconeis placentula* (Blindow, 1987). Vpliv imajo tudi razlike v fizični stabilnosti substrata, kar je vzrok za relativno veliko biomaso epifitona na togih steblih navadnega trsta (*Phragmites australis*) v primerjavi z manj stabilnimi površinami gibkih makrofitov (Allen in Ocevski, 1981). Sultana in sod. (2004) so v svoji raziskavi na epifitonu preraslolistnega dristavca (*P. perfoliatus*) našli tudi razlike med apikalnim delom rastline z bolj mozaično združbo in bazalnim delom s skoraj enotno skorjo, ki jo je tvorila diatomeja *C. placentula*.

3 MATERIALI IN METODE

3.1 RASTLINSKE VRSTE

Obe preučevani vrsti spadata v red dristavcev (*Potamogeton*), ki vključuje sladkovodne, pretežno potopljene rastline. Potopljeni listi vrst iz rodu dristavcev so brez palisadnega tkiva, mezofil je iz 1-4 plasti celic, listne reže so redke in nefunkcionalne, kutikula pa je tanka ali skoraj odsotna. Vse celice, z izjemo tistih, ki so povezane z žilami, vsebujejo klorofil (Haynes in sod., 1998; Martinčič in sod., 2007).

Preraslolistni dristavec (*Potamogeton perfoliatus* L.)

Steblo je v prerezu okroglo, z gladko površino, razvejano. Vsi listi so potopljeni, spiralno nameščeni in sedeči, okroglasti ali jajčasti, do 6 cm dolgi in s srčastim dnom, ki skoraj popolnoma obdaja steblo. Med zgornjo in spodnjo povrhnjico je le ena plast celic. Je trajnica, ki uspeva v alkalnih in s hranili bogatih vodah rek, potokov, ribnikov in jezer z blatnim in humoznim dnom. Uspeva tudi v brakičnih vodah (Arber, 1920/2010; Haynes in Hellquist, 2000; Bojnanský in Fargašová, 2007; Martinčič in sod., 2007).

Bleščeči dristavec (*Potamogeton lucens* L.)

Steblo je 20-200 cm dolgo, razvejano. Vsi listi so potopljeni, pecljati, včasih sedeči, do 30 cm dolgi, z valovitim robom in koničastim vrhom ter prosojni. Med zgornjo in spodnjo povrhnjico je le ena plast celic. Površina listov je nezmočljiva, bleščeča in oljnata zaradi velikih oljnih kapljic, ki jih izločajo plastidi celic epidermisa. Je v Evraziji avtohtona trajnica, ki uspeva v alkalnih in s hranili bogatih vodah rek, potokov, ribnikov in jezer z blatnim in humoznim dnom (Arber, 1920/2010; Bojnanský in Fargašová, 2007; Martinčič in sod., 2007).

Rastlinski material smo nabrali julija 2013 v spodnjem toku reke Rak (45° 47' 32", 14° 17' 38"), ki ima presihajoč značaj in spada v hidrološki sistem kraške Ljubljani. Voda je zmerno trda in ima visoke pH vrednosti (Pavlišič, 2012). Obe vrsti sta uspevali v bližini brega, kjer je voda globoka 50-80 cm. Vzorčne rastline smo čim bolj pazljivo položili v plastični zabojnik z vodo iz reke in jih prenesli v laboratorij, kjer smo še isti dan opravili

meritve optičnih lastnosti. Vse meritve smo opravili na 10 paralelnih vzorcih za vsako rastlino.

3.2 MERITVE OPTIČNIH LASTNOSTI

Vse meritve odbojnosti in presevnosti smo opravili s pomočjo prenosnega spektrometra (Jaz Modular Optical Sensing Suite, Ocean Optics, Inc., Dunedin, USA), ki smo ga preko optičnega kabla (QP600-1-SR-BX) povezali z integracijsko sfero (ISP-30-6-R). Meritve smo opravili na osrednjem delu listne lamine, med glavno žilo in listnim robom. Merili smo z 0,3 nm ločljivostjo v območju 280-880 nm.

Pri meritvah presevnosti smo zgornjo stran vsakega lista osvetljevali s svetlobnim virom UV-VIS-NIR (DH-2000, Ocean Optics, Inc., Dunedin, USA), medtem ko smo spodnjo namestili pod integracijsko sfero, ki je zajela vso skozi vzorec prepuščeno svetlobo. Spektrometer smo na 100 % presevnost umerili s pomočjo svetlobnega žarka, ki je neposredno prehajal v notranjost integracijske sfere. Presevne spektre smo izračunali kot razmerje zmanjšanja jakosti svetlobnega žarka po prehodu skozi vzorec.

Pri meritvah odbojnosti smo integracijsko sfero položili na zgornjo stran lista, ki smo ga osvetljevali s svetlobnim virom. Spektrometer smo s pomočjo bele referenčne ploščice (Spectralon®, Labsphere, North Sutton, USA) umerili na 100 % odbojnost. Odbojne spektre smo izračunali kot razmerje med količino svetlobe odbite od vzorca in bele referenčne ploščice.

Na vsakem listu smo opravili meritve optičnih lastnosti: (1) nedotaknjene lista, (2) lista z odstranjenim epifitonom na zgornji strani, (3) in v primeru presevnosti še lista z odstranjenim epifitonom z obeh strani. Epifiton smo z listov odstranili z nežnim drgnjenjem z bombažnimi blazinicami, ki smo jih pred tem stehali.

3.3 ANATOMSKE ANALIZE

Svežim vzorcem listov smo s pomočjo areametra (ΔT , Cambridge, UK) izmerili površino, jih stehali in dali sušiti za 24 h pri 105°C. Po sušenju smo jim izmerili suho maso in s pomočjo dobljenih podatkov izračunali vsebnost vode [%] in specifično listno površino

(SLA) kot listno površino na enoto suhe mase ($\text{m}^2 \text{g}^{-1}$). Za potrebe histološke analize smo na predelu lista, kjer smo opravili meritve optičnih lastnosti, naredili prečne prereze in pripravili poltrajne preparate v glicerolu. Za vsak list smo pri $100\times$ povečavi izmerili debelino zg. in sp. povrhnjice, mezofila in lista. Meritve smo opravili s pomočjo svetlobnega mikroskopa Olympus CX41, povezanega z digitalno kamero Olympus XC30 in programsko opremo CellSens (Olympus, Japan).

3.3 BIOKEMIJSKE ANALIZE

Za biokemijske analize smo s pomočjo luknjača naluknjali sveže liste in dobili vzorce z znano površino, ki smo jih zamrznili do uporabe. Določali smo vsebnosti klorofilov, karotenoidov, antocianov in UV-absorbirajočih snovi.

3.3.1 Klorofili in karotenoidi

Vsebnosti klorofilov *a* in *b* ter karotenoidov smo določili po metodi Lichtenthaler in Buschmann (2001a, b). Vzorce smo strli v terilnici, ekstrahirali v 5 mL acetona (100 % (v/v)) in centrifugirali (4000 rpm, 4°C, 4 min) v centrifugirkah za klorofil. Po centrifugiranju smo odčitali prostornine ekstraktov. Absorbance smo zmerili z UV/VIS spektrometrom (Lambda 25, Perkin-Elmer, Norwalk, USA) pri valovnih dolžinah 470, 645 in 662 nm. Vsebnosti klorofilov (Kl *a*, *b*) in karotenoidov (Kar) smo izrazili na listno površino (m^2):

$$Kl\ a\ [\text{mg}\ \text{m}^{-2}] = c_a * V * 10^{-3} * P^{-1} = (11,24 E_{662} - 2,04 E_{645}) * V * 10^{-3} * P^{-1} \quad \dots (1)$$

$$Kl\ b\ [\text{mg}\ \text{m}^{-2}] = c_b * V * 10^{-3} * P^{-1} = (11,24 E_{645} - 2,04 E_{662}) * V * 10^{-3} * P^{-1} \quad \dots (2)$$

$$Kar\ [\text{mg}\ \text{m}^{-2}] = (1000 E_{470} - 1,9 c_a - 63,14 c_b) * V * 10^{-3} * P^{-1} / 214 \quad \dots (3)$$

$c_{a,b}$ - koncentracija klorofila *a*, oziroma *b*

V - volumen ekstrakta [ml]

P - površina vzorca [m^2]

E - absorpcija pri izbrani valovni dolžini

3.3.2 Antociani

Vsebnosti antocianov smo določili po metodi Khare in Guruprasad (1993). Vzorce smo strli v terilnici, ekstrahirali v 5 mL ekstrakcijske raztopine metanol : HCl (37 %) = 99:1 (v/v) in centrifugirali (4000 rpm, 4°C, 4 min). Po centrifugiranju smo odčitali prostornine ekstraktov in jih za 24 ur shranili v temi (3-5 °C). Absorbance ekstraktov smo z UV/VIS spektrometrom izmerili pri valovni dolžini 530 nm. Vsebnost antocianov (*Ant*) smo izrazili v relativnih enotah na listno površino (m²):

$$Ant \text{ (relativna enota)} = E_{530} * V * P^{-1} \quad \dots (4)$$

E_{530} – absorpcija pri valovni dolžini 530 nm

V – prostornina ekstrakta [ml]

P - površina vzorca [m²]

3.3.2 UV absorbirajoče snovi

Vsebnost UV-B in UV-A absorbirajočih snovi smo določili po metodi Caldwell (1968). Vzorce smo strli v terilnici, ekstrahirali v 10 mL ekstrakcijske raztopine metanol : destilirana voda : HCl (37 %) = 79:20:1 (v/v) in jih 20 minut inkubirali v temi. Vzorce smo nato centrifugirali (4000 rpm, 10°C, 10 min) in odčitali prostornine ekstraktov. S pomočjo UV/VIS spektrometra in kvarčnih kivet smo izmerili absorbance v spektralnem razponu 280–319 (UV-B) in 320–400 (UV-A) nm. Vsebnost UV absorbirajočih snovi smo izračunali kot integral ekstinkcijskih vrednosti v vsakem UV območju in jo izrazili v relativnih enotah na listno površino (m²):

$$UV \text{ abs (relativna enota)} = I * V^{-1} * P^{-1} \quad \dots (5)$$

I - integral absorpcijskih vrednosti v intervalu 280 – 319 nm (UV-B abs) ter 320 – 400 nm (UV-A abs)

V - prostornina ekstrakta [ml]

P - površina vzorca [m²]

3.4 ANALIZE OBRASTI

Epifiton smo s pomočjo bombažnih blazinic, ki smo jim izmerili maso, odstranili s prve serije listov vsake rastline, jih položili na folijo z znano maso in sušili v sušilcu 24 ur pri 75 °C. Po sušenju smo ponovno stekali suho maso obrasti, posebej za zgornjo in spodnjo stran lista, in jo izrazili na m² listne površine.

Vsebnost klorofila *a* v obrasti smo določili po standardni metodi ekstrakcije z metanolom (Talling and Driver, 1963). Vato z obrastjo, odstranjeno z druge serije listov obeh rastlin, smo dali v steklene epruvete, prelili s 5 ml metanola in shranili za 24 ur v temo. Absorbance ekstraktov smo z UV/VIS spektrometrom izmerili pri valovnih dolžinah 665 in 750 nm. Vsebnost klorofila *a* smo posebej za zgornjo in spodnjo stran izrazili na listno površino (m²):

$$Kl a [mg m^{-2}] = (13,9*(A_{665}-A_{750})*V_m)*(P*L)^{-1} \quad \dots (6)$$

A₆₆₅ – absorpcija pri 665 nm

A₇₅₀ – absorpcija pri 750 nm

V_m – volumen metanola [ml]

P – površina lista, s katere je bila odstranjena obrast [m²]

L – širina kivete v spektrometru [cm]

Vrstno sestavo in številčnost diatomej na zgornji in spodnji strani listov smo pregledali s pomočjo svetlobnega mikroskopa pri 400x povečavi.

3.2.6 Statistična obdelava podatkov

Surove podatke smo uredili s pomočjo programa Microsoft Excel Professional Plus 2013 ter izračunali povprečja. Za primerjavo biokemijskih in anatomskih parametrov listov, ter parametrov epifitona med vrstama smo uporabili Studentov dvostranski t-test za neodvisne vzorce oziroma Aspin-Welchov t-test kadar so bile variance različne. Kadar distribucija ni bila normalna smo uporabili Mann-Whitney U test. Za primerjavo parametrov v okviru

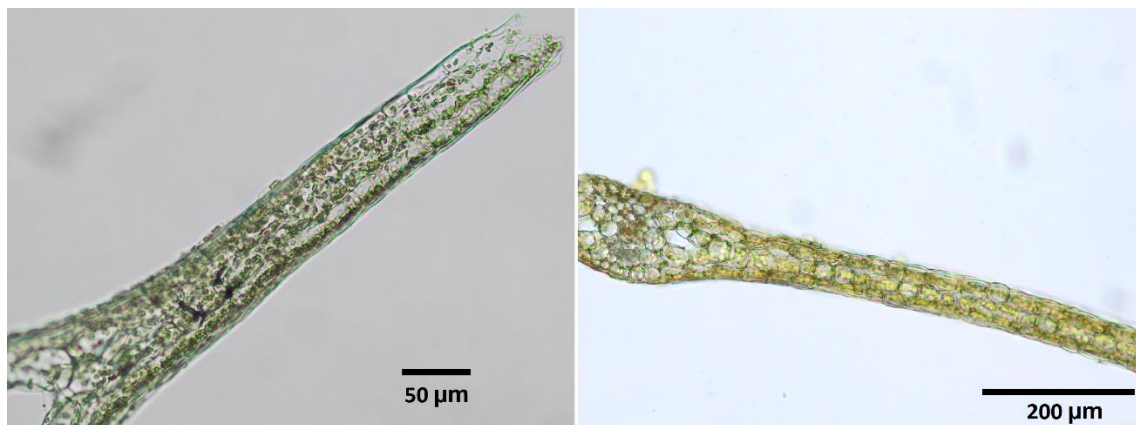
posamezne vrste smo uporabili parni t-test, če so imele razlike normalno distribucijo in neparametrični Wilcoxon-ov test vsote rangov, kadar distribucija ni bila normalna. Za testiranje normalnosti smo uporabili Shapiro-Wilkov test ter d'Agostino K^2 test. Enakost varianc smo testirali z Lavenovim testom. Omenjene statistične teste smo opravili s pomočjo računalniškega programa NCSS 9 (NCSS, LLC Statistical Analysis & Graphics Software).

Povezave med okoljskimi dejavniki (parametri epifitona ter listne biokemije in anatomije) in različni deli spektra odboja oz. presevnosti smo ugotavljali z multivariatno redundančno analizo (RDA) s pomočjo programa CANOCO for Windows 4.5. Statistično značilnost povezav smo testirali z Monte carlo testom z 999 permutacijami. Pojasnjevalne spremenljivke smo vključevali postopno po principu dodajanje naprej (forward selection), da bi se izognili kolinearnosti med njimi.

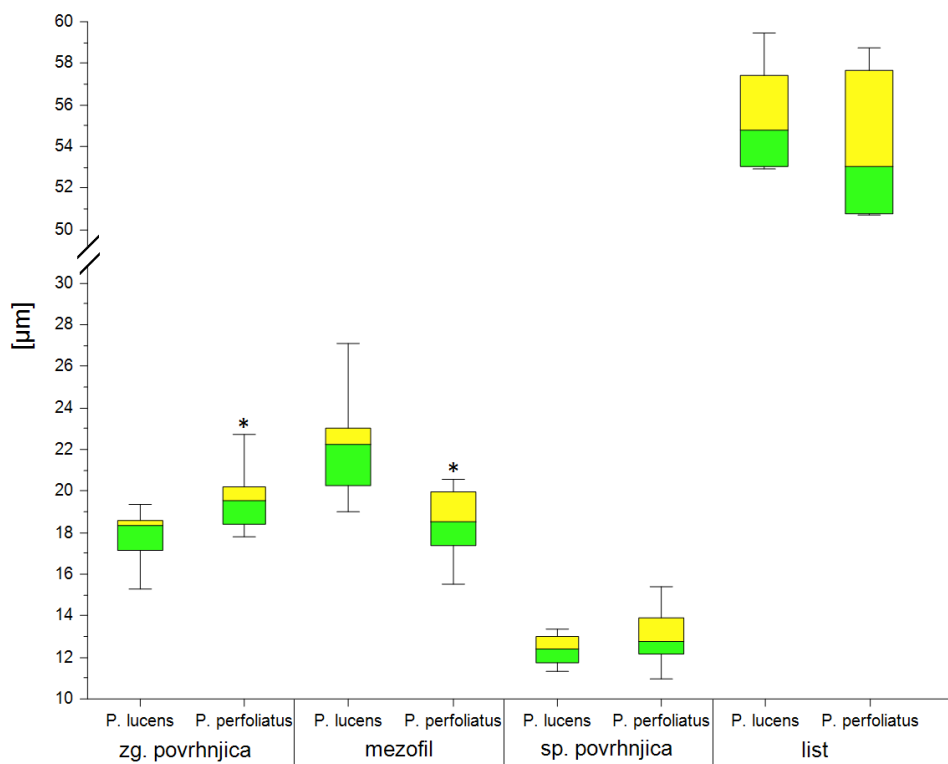
Ničelno hipotezo smo zavrnilo, kadar je bil $p \leq 0,05$ (statistično značilna razlika) oz. $p < 0,01$ (močno statistično značilna razlika).

4 REZULTATI

4.1 ANATOMIJA LISTOV

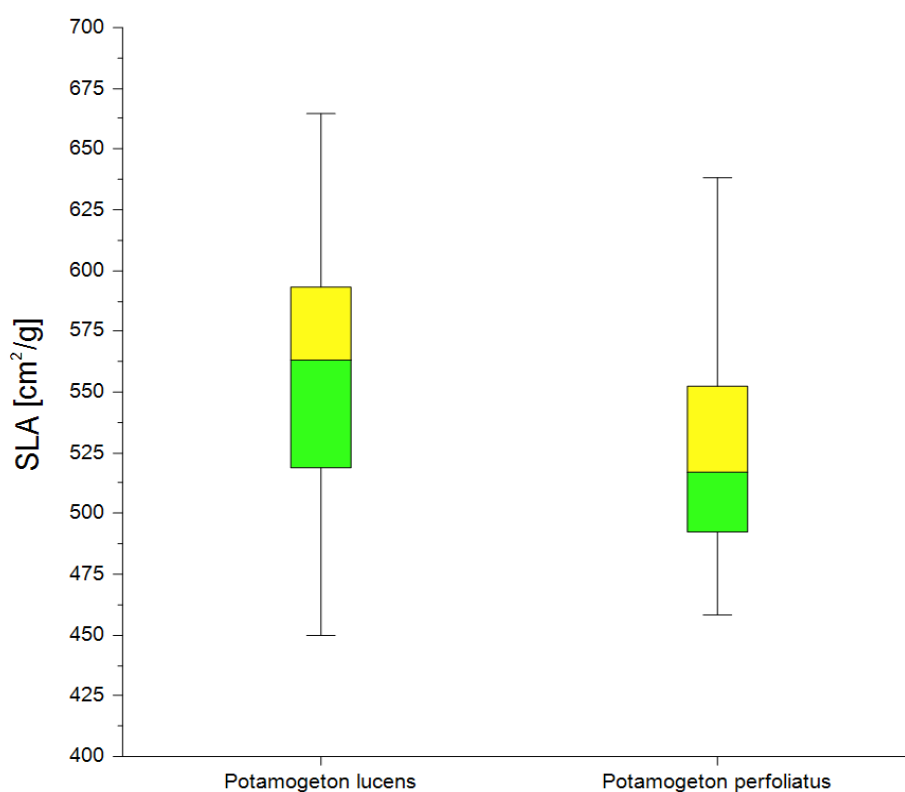


Slika 1: Prečna prereza listov vrste *P. lucens* (levo) in *P. perfoliatus* (desno)



Slika 2: Debelina zg. in sp. povrhnjice, mezofila in celotnega lista. Kvantilni diagrami prikazujejo mediane, okvire, kjer je 50 % vseh vrednosti, ter ročaje z neizstopajočimi podatki. Simbol * označuje statistično značilno razliko med vrstama za obravnavani parameter ($p \leq 0,05$; dvostranski t-test za neodvisne vzorce).

Na prečnih prerezih listov je opazen enoten mezofil iz ene plasti celic, prisotnost kloroplastov v epidermisu in podobna anatomija listov obeh vrst (Slika 1). Med vrstama obstajajo statistično značilne razlike v debelini zg. povrhnjice in mezofila, vendar razlike niso velike. Zgornja povrhnjica je debelejša pri vrsti *P. perfoliatus* ($p = 0,011$), mezofil pa pri vrsti *P. lucens* ($p < 0,01$), medtem ko razlika v debelini spodnje povrhnjice ni statistično značilna. Pri obeh vrstah je zgornja povrhnjica debelejša od spodnje. Debelina listov med vrstama prav tako ni statistično značilna (Slika 2; Priloga A).

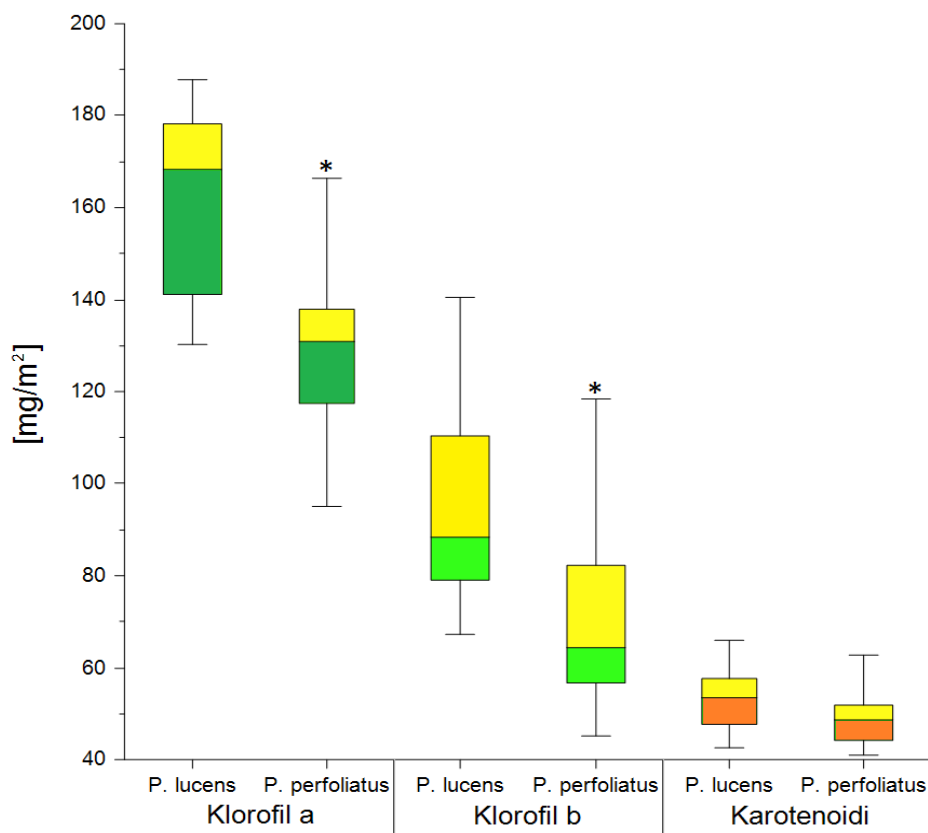


Slika 3: Specifična listna površina (SLA). Kvartilna diagrama prikazujeta mediani, okvirja, kjer je 50 % podatkov, ter ročaje z neizstopajočimi podatki.

Specifična listna površina (SLA) je nekoliko večja pri vrsti *P. lucens* (Slika 3), vendar razlika ni statistično značilna ($p = 0,22$; dvostranski t-test za neodvisne vzorce).

4.2 BIOKEMIJA LISTOV

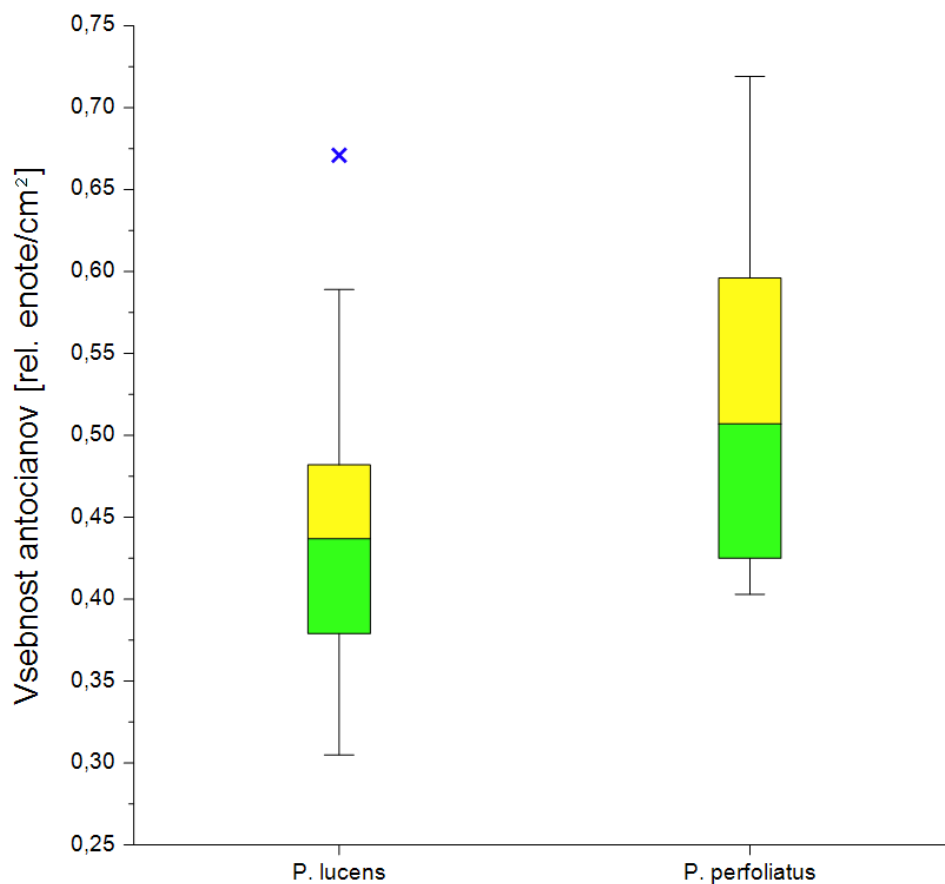
4.2.1 Klorofili in karotenoidi



Slika 4: Vsebnost klorofilov in karotenoidov na površino lista [mg/m^2]. Kvantilni diagrami prikazujejo mediane, okvire, kjer je 50 % vseh vrednosti, ter ročaje z neizstopajočimi podatki. Simbol * označuje statistično značilno razliko med vrstama za obravnavani parameter ($p \leq 0,05$; dvostranski t-test za neodvisne vzorce).

Vsebnost klorofila *a* in *b* se statistično značilno razlikuje med vrstama ($p = 0,001$ oz. $p = 0,013$) in je večja pri vrsti *P. lucens*. Pri vrsti *P. lucens* je večja tudi vsebnost karotenoidov, vendar razlika ni statistično značilna ($p = 0,16$). Obe vrsti vsebujeta več klorofila *a* v primerjavi s klorofilom *b* (Slika 4; Priloga B).

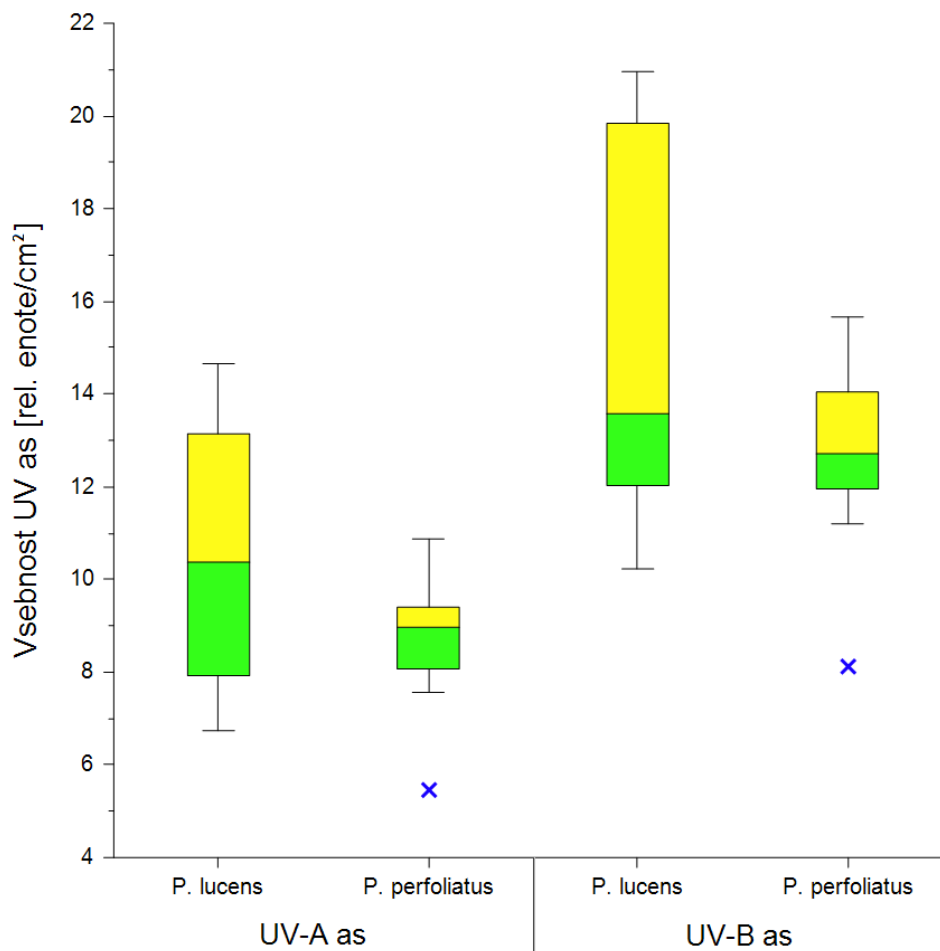
4.2.2 Antociani



Slika 5: Vsebnost antocianov na površino lista [relativne enote/cm²]. Kvantilna diagrama prikazujeta mediani, okvirja, kjer je 50 % vseh vrednosti, ročaje z neizstopajočimi podatki in simbol x, ki označuje izstopajočo vrednost.

Vsebnost antocianov je bila nekoliko višja pri vrsti *P. perfoliatus*, vendar razlika ni statistično značilna ($p = 0,17$; dvostranski t-test za neodvisne vzorce) (Slika 5; Priloga B).

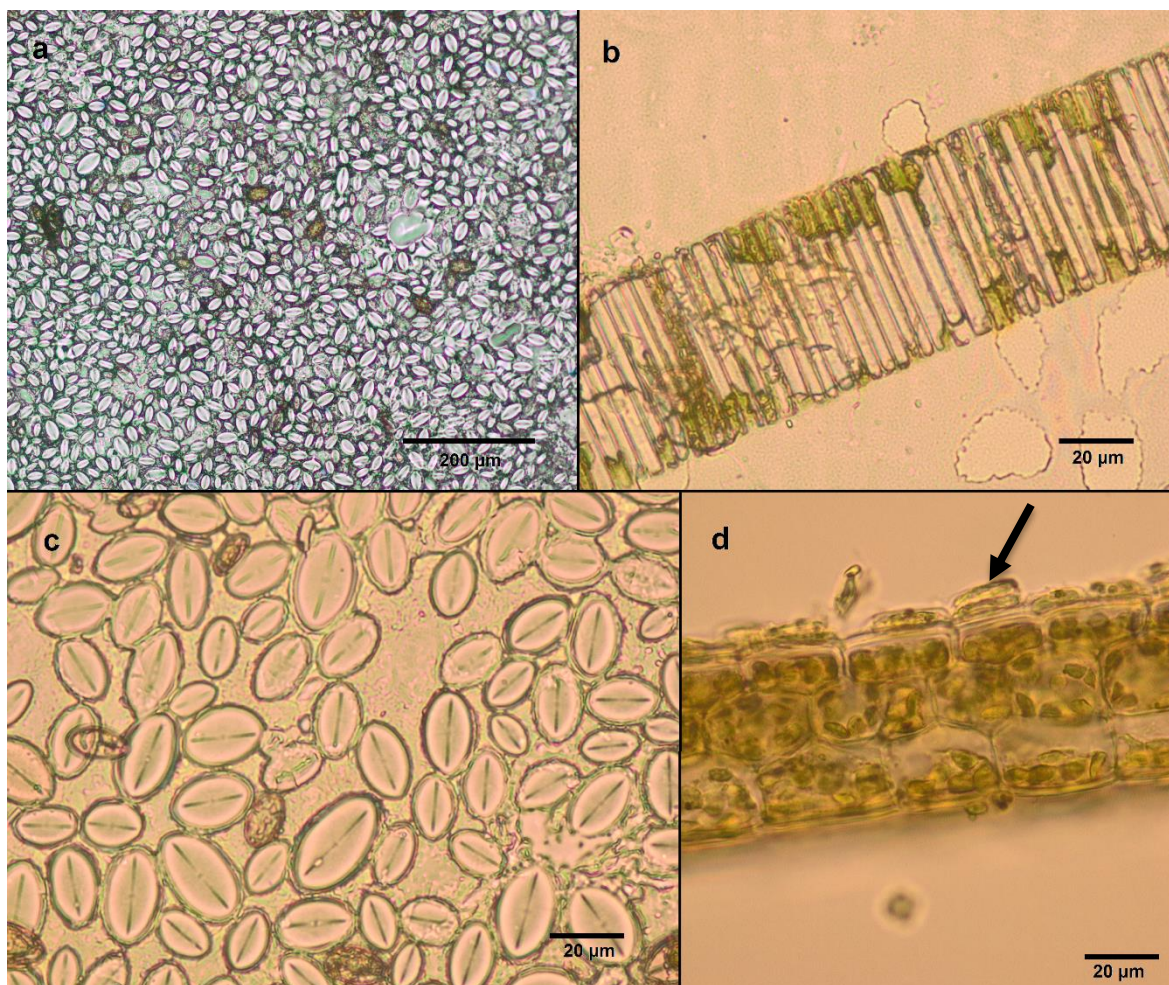
4.2.3 UV-absorbirajoče snovi



Slika 6: Vsebnost UV-A in UV-B absorbirajočih snovi na površino lista [relativne enote/cm²]. Kvantilni diagrami prikazujejo mediane, okvire, kjer je 50 % vseh vrednost, ročaje z neizstopajočimi podatki in simbole x, ki označujejo izstopajoče vrednosti.

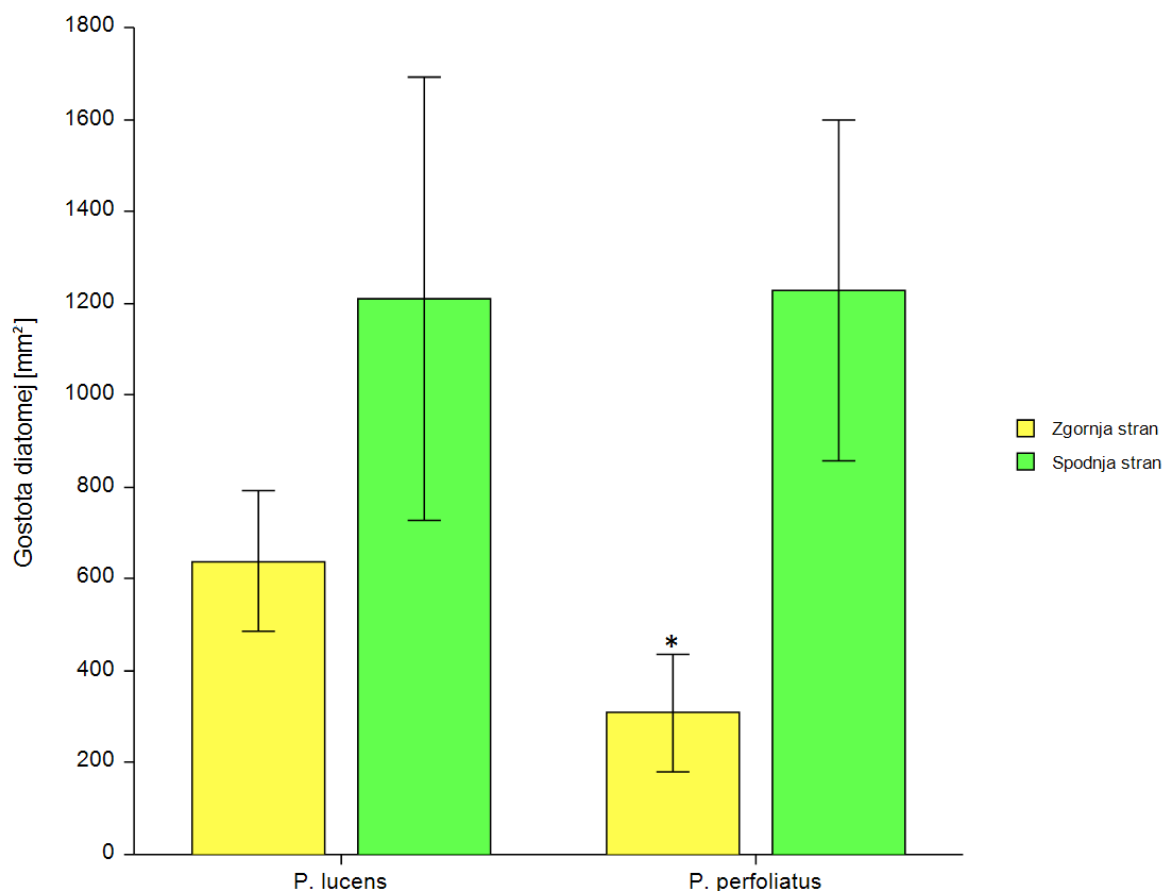
Vsebnost UV-A in UV-B absorbirajočih snovi je nekoliko višja pri vrsti *P. lucens*, vendar razlike niso statistično značilno različne ($p = 0,1$; aspin-welch t-test, za UV-A in $p = 0,13$; dvostranski t-test za neodvisne vzorce, za UV-B). Obe vrsti vsebujeta več UV-B kot UV-A absorbirajočih snovi (Slika 6; Priloga B).

4.1 ANALIZA EPIFITONA



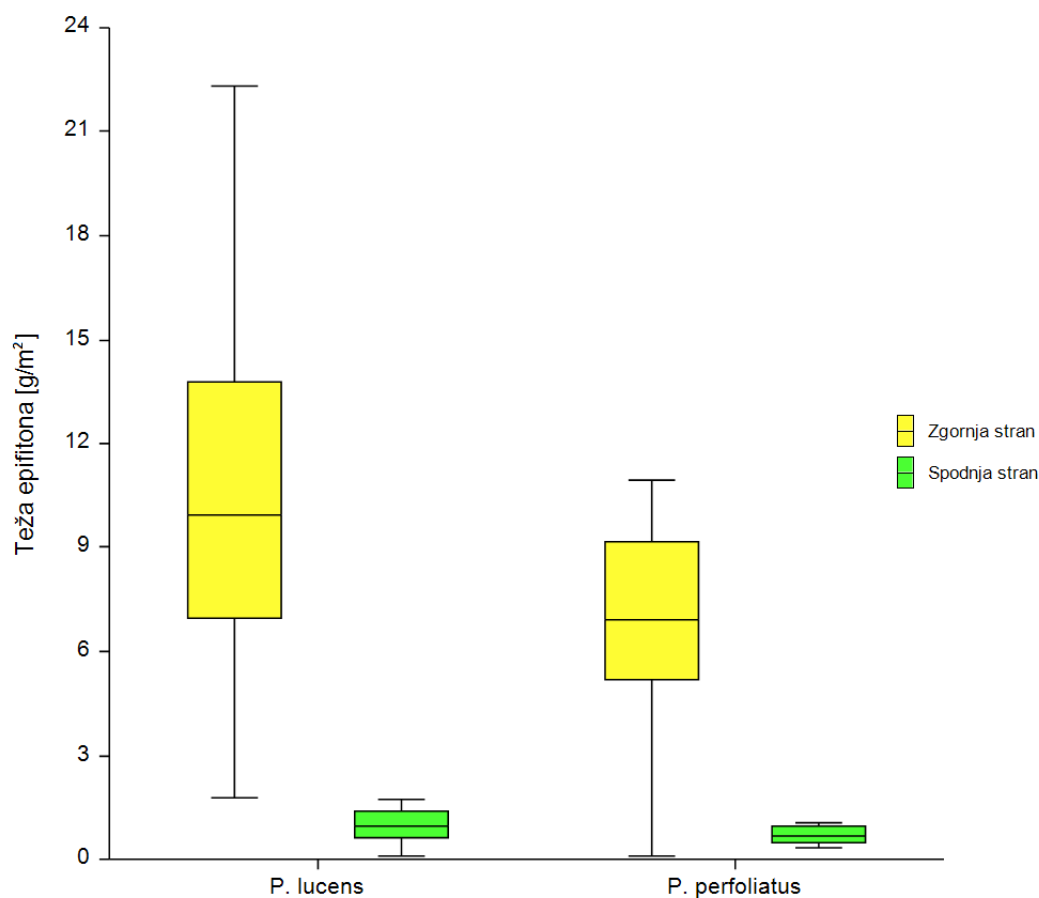
Slika 7: Tesno pritrjen epifiton na površini listov. Sliki **a**) in **c**) prikazujeta številne diatomeje vrste *C. placentula*, ki tvorijo tesno pritrjeno skorjo na površini listov vrste *P. lucens*. Slika **b**) prikazuje diatomeje rodu *Fragilaria*, ki tvorijo kolonijo, prav tako na vrsti *P. lucens*. Slika **d**) prikazuje prečni prerez vrste *P. perfoliatus*, z vidnimi diatomejami na površini lista (označeno s puščico).

V združbi epifitskih alg je pri obeh vrstah prevladovala diatomeja vrste *Cocconeis placentula*. Poleg nje smo našli še nekaj primerkov iz rodu *Fragilaria*, posamezne nitaste alge in številne delce apnenca, ki so bili prisotni le na zgornji površini lista (Slika 7).



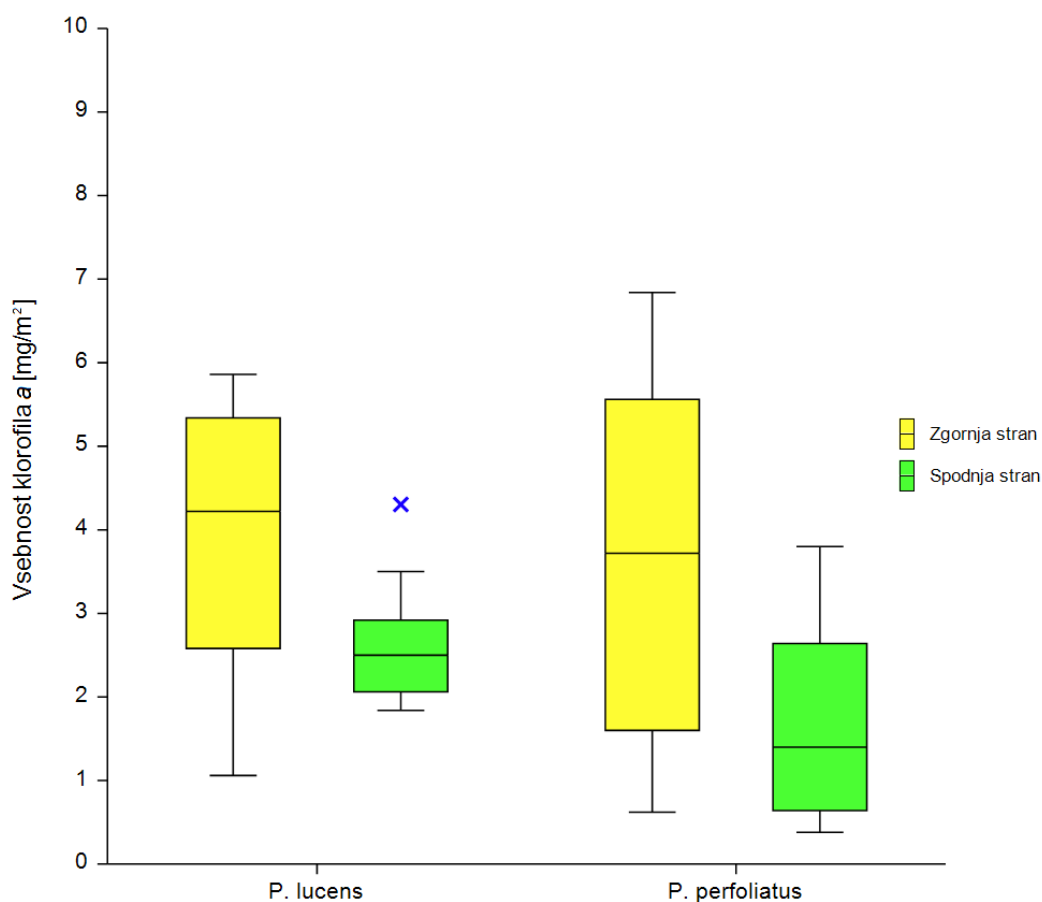
Slika 8: Gostota diatomej na enoto zgornje in spodnje listne površine [mm²]. Podatki so prikazani kot povprečne vrednosti \pm SD. Simbol * označuje statistično značilno razliko med povprečjema obeh vrst za obravnavani parameter ($p \leq 0,05$; dvostranski t-test za neodvisne vzorce).

Gostota diatomej na zgornji strani je bila večja pri vrsti *P. lucens* ($p < 0,01$), medtem ko je bila razlika v gostoti na spodnji strani le neznatna in statistično neznačilna. Pri obeh vrstah je bila gostota diatomej na spodnji strani večja in statistično značilno različna v primerjavi z zgornjo stranjo ($p = 0,011$ za *P. lucens* oz. $p \leq 0,01$ za *P. perfoliatus*; t-test za odvisne vzorce) (Slika 8; Priloga C).



Slika 9: Teža epifitona na enoto zgornje in spodnje listne površine [g/m²]. Kvantilni diagrami prikazujejo mediane, okvire, kjer je 50 % vseh vrednost in ročaje z neizstopajočimi podatki.

Teža epifitona je bila na tako na zgornji kot spodnji površini večja pri vrsti *P. lucens*, vendar razlike niso statistično značilne ($p = 0,068$ za zgornjo in $p = 0,123$ za spodnjo stran; dvostranski t-test za neodvisne vzorce). Teža epifitona je bila pri obeh vrstah večja na zgornji v primerjavi s spodnjo stranjo lista ($p \leq 0,01$ za obe vrsti; t-test za odvisne vzorce) (Slika 9; Priloga C).

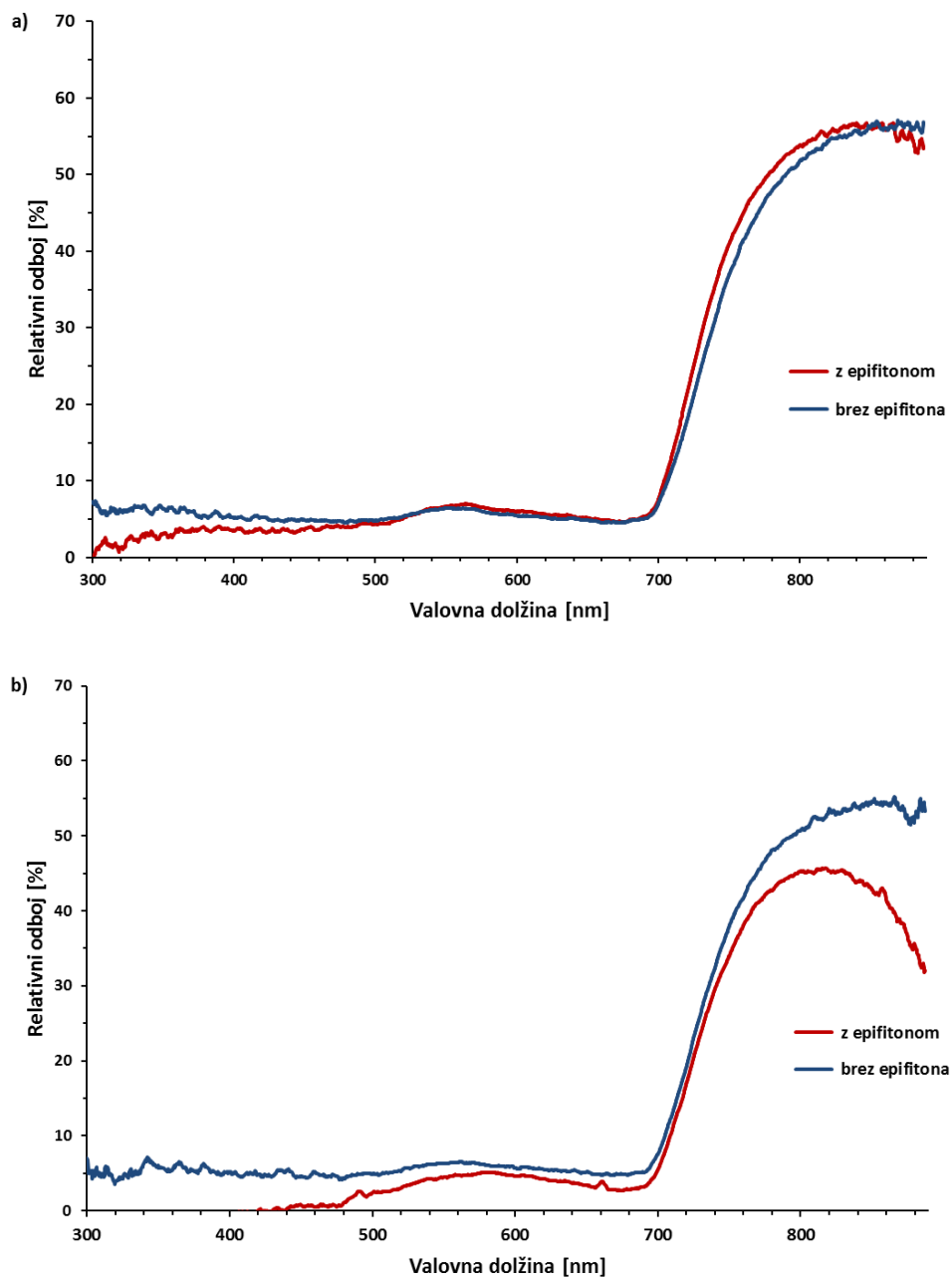


Slika 10: Vsebnost klorofila *a* v epifitonu na enoto zgornje in spodnje listne površine [mg/m²]. Kvantilni diagrami prikazujejo mediane, okvire, kjer je 50 % vseh vrednost, ročaje z neizstopajočimi podatki in simbol *x*, ki označuje izstopajočo vrednost.

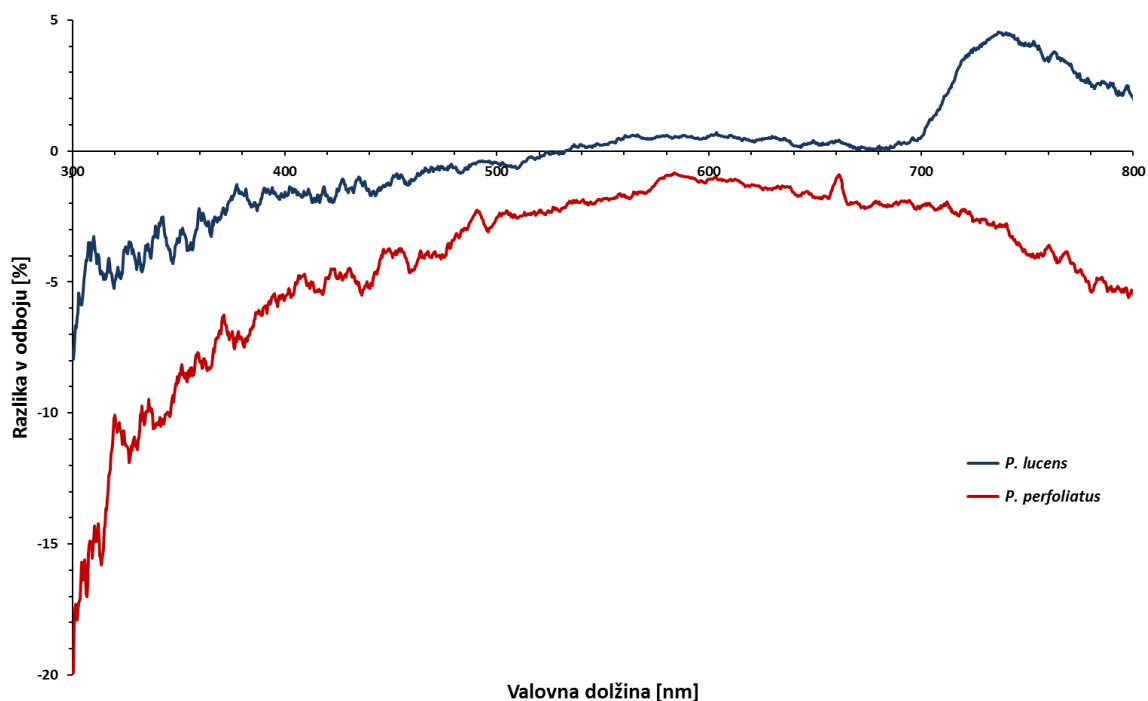
Vsebnost klorofila *a* v epifitonu na enoto listne površine je na obeh straneh višja pri vrsti *P. lucens*, vendar razlika ni statistično značilna ($p = 0,77$; dvostranski t-test za neodvisne vzorce, za zgornjo površino in $p = 0,07$; Mann-whitney U test, za spodnjo površino lista). Pri obeh vrstah je vsebnost klorofila *a* višja na zgornji površini lista, s statistično značilno razliko ($p = 0,031$ za *P. lucens* in $p = 0,003$ za *P. perfoliatus*; t-test za odvisne vzorce) (Slika 10; Priloga C).

4.2 ODBOJNOST IN PRESEVNOST LISTA

4.2.1 Odbojnost



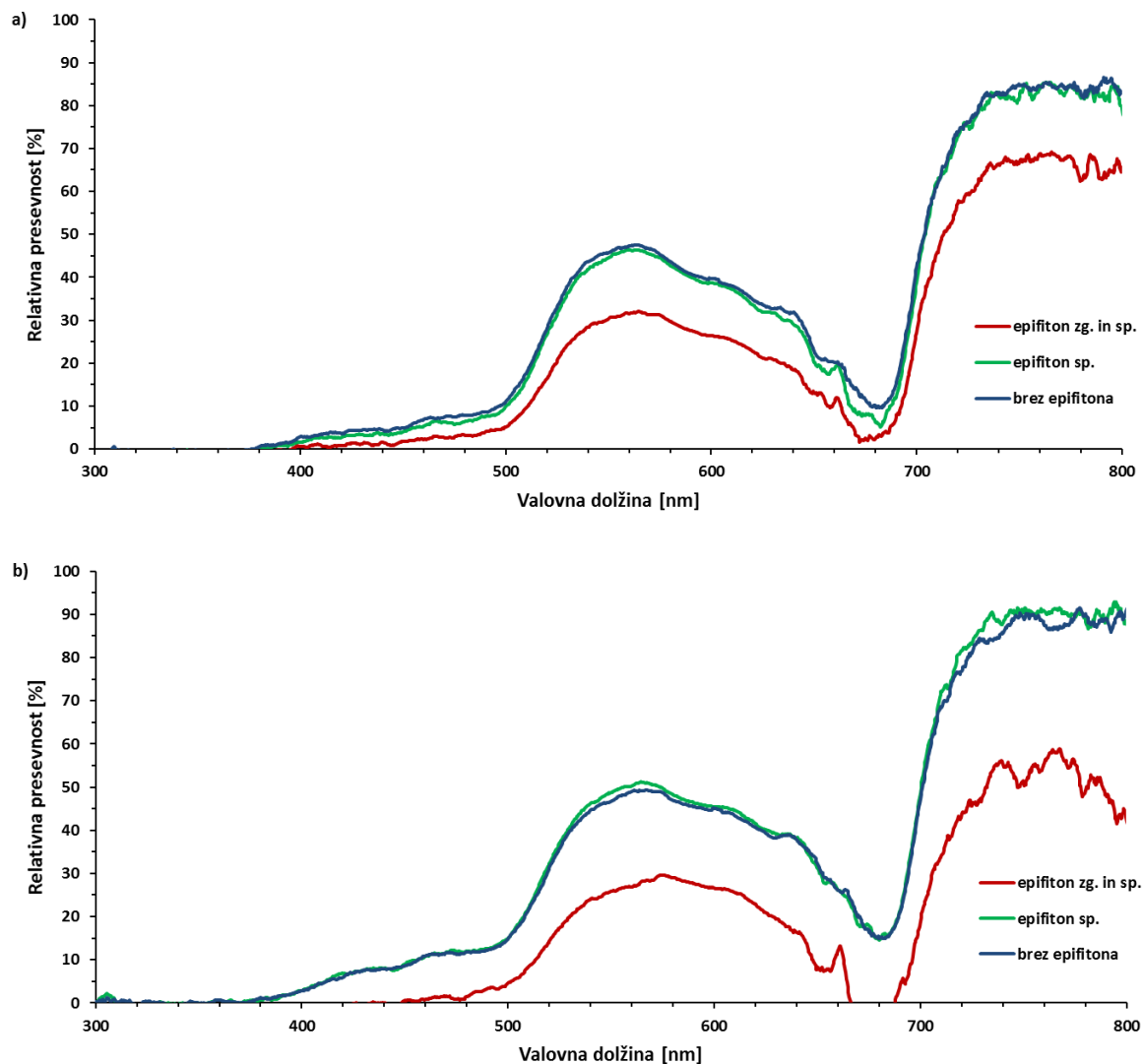
Slika 11: Spektri povpreĉnih vrednosti relativnega odboja od zgornje listne površine za **a)** *P. lucens* in **b)** *P. perfoliatus*. Pri obeh vrstah je prikazan odboj z in brez epifitona. Podatki so povpreĉja 5-nm intervalov (n=10).



Slika 12: Spektri povprečnih vrednosti razlik v deležu odbite svetlobe ob prisotnosti epifitona na zgornji listni površini glede na površino brez epifitona. Negativne vrednosti označujejo manjši in pozitivne vrednosti večji odboj ob prisotnosti epifitona. Podatki so povprečja 5-nm intervalov (n=10).

Razlike v spektrih odbojnosti pri listih z in brez obrasti se kažejo predvsem v UV, vijoličnem in modrem delu spektra, kjer listi brez obrasti močneje odbijajo svetlobo. V preostalem delu vidnega spektra so razlike le majhne ali neznatne, kar še posebej velja za rumeno območje. Učinek obrasti se med vrstama razlikuje predvsem v NIR delu spektra, kjer je pri vrsti *P. lucens* odboj od listov z obrastjo strmo naraste in je večji, pri *P. perfoliatus* pa manjši v primerjavi z listi brez obrasti. Učinek epifitona je izrazitejši pri vrsti *P. perfoliatus* (Sliki 11 in 12).

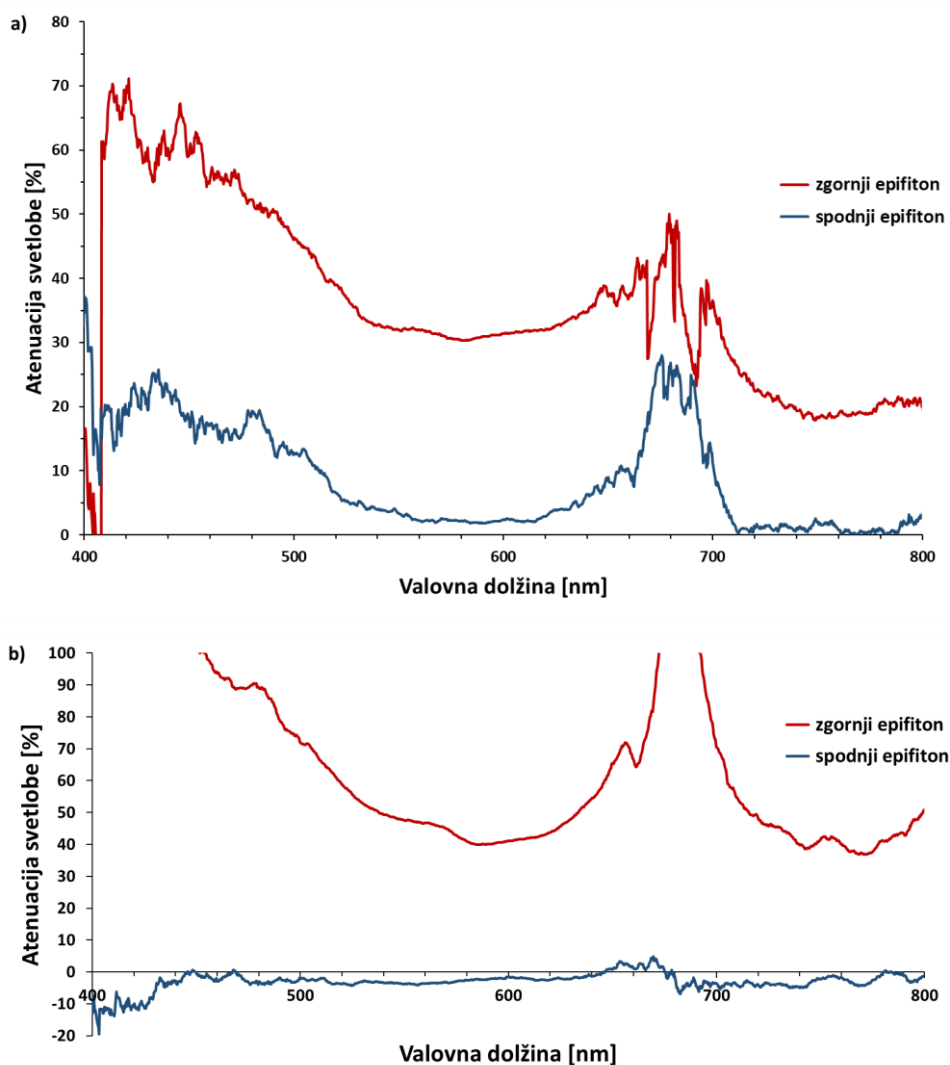
4.2.2 Presevnost



Slika 13: Spektri povprečnih vrednosti relativne presevnosti skozi liste za **a)** *P. lucens* in **b)** *P. perfoliatus*. Prikazana je presevnost listov z epifitonom na obeh straneh, z odstranjenim zgornjim epifitonom in brez epifitona. Podatki so povprečja 5-nm intervalov ($n=10$).

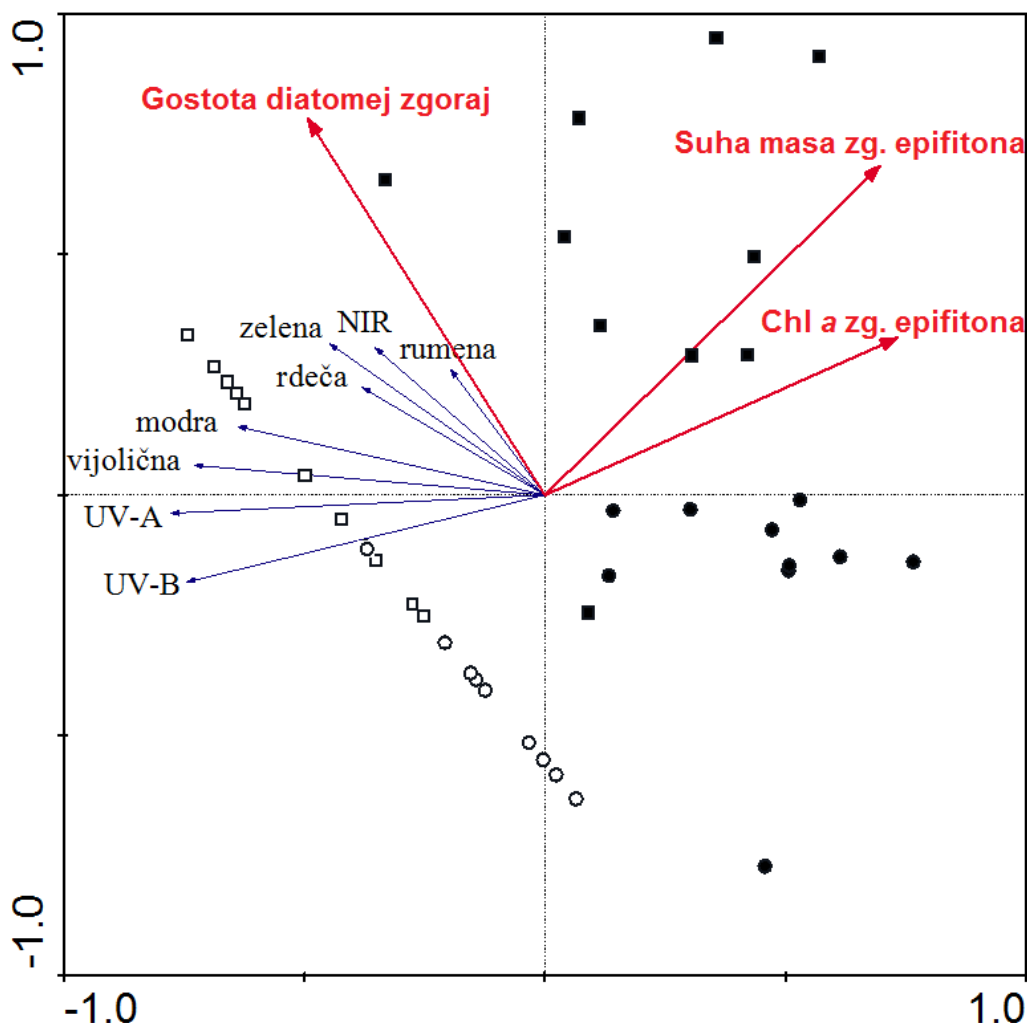
Prisotnost obrasti zmanjša presevnost skozi list preko celotnega obsega valovnih dolžin, s tem da je v UV delu spektra, zaradi zelo nizke presevnosti listov, vpliv epifitona težje razbrati. Vpliv epifitona je še posebno velik v modrem in rdečem, manj pa v zelenem, rumenem ter NIR delu spektra. Spektralna selektivnost zgornjega in spodnjega epifitona je podobna, vendar ima zgornji epifiton večji vpliv od spodnjega, še posebej pri vrsti *P.*

perfoliatus. Vpliv epifitona na zgornji strani je večji pri vrsti *P. perfoliatus*, medtem ko je pri epifitonu na spodnji strani ravno obratno (Sliki 13 in 14).

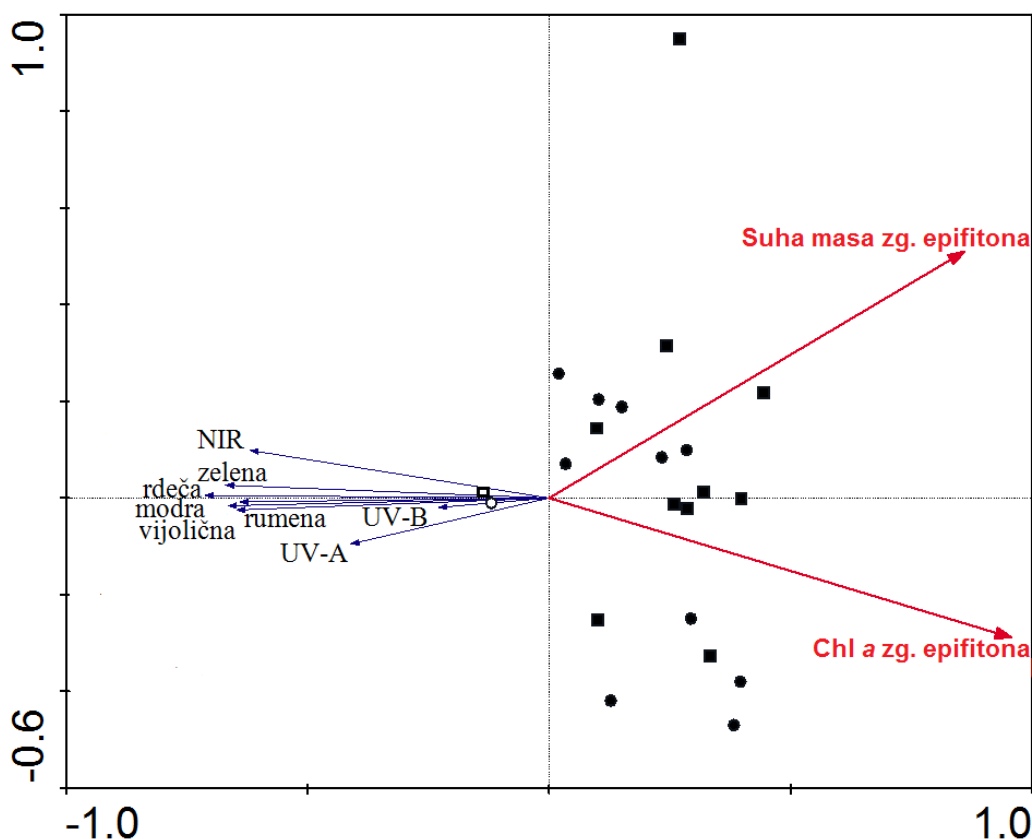


Slika 14: Spektri povprečnih vrednosti atenuacije svetlobe pri prehodu skozi plast zgornjega oz. spodnjega epifitona na listih **a)** *P. lucens* in **b)** *P. perfoliatus*. Pri tem je potrebno upoštevati, da gre pri spodnjem epifitonu za atenuacijo v odnosu na svetlobo, ki je že prešla skozi list, zato bi bile vrednosti atenuacije svetlobe iz svetlobnega vira, ki sveti na zgornjo stran lista, precej nižje. Pri izračunu podatkov je upoštevana eksponentna atenuacija svetlobe. Podatki so povprečja 14-nm intervalov (n=10).

4.2.3 Korelacija med optičnimi lastnostmi ter anatomskimi in biokemijskimi parametri listov ter parametri obrasti



Slika 15: Vpliv parametrov obrasti na variabilnost odbojnih spektrov. Ordinacijski diagram (RDA – redundančna analiza) prikazuje moč statistično značilnih povezav med okoljskimi dejavniki (pojasnjevalne spremenljivke, označene z rdečimi puščicami) in različnimi deli odbojnega spektra (odzivne spremenljivke, označene z modrimi puščicami). Lastni vrednosti prvih dveh osi sta 0.471 in 0.025. Kosinusi kotov med puščicami pojasnjevalnih in odzivnih spremenljivk so približki korelacij med njimi. Posamezne skupine vzorcev so označene z različnimi simboli: \blacksquare *P. lucens* z epifitonom; \bullet *P. perfoliatus* z epifitonom; \square *P. lucens* brez zgornjega epifitona; \circ *P. perfoliatus* brez zgornjega epifitona. Njihove pravokotne projekcije na puščico pojasnjevalne spremenljivke so približki vrednosti vzorcev za to spremenljivko.



Slika 16: Vpliv parametrov obrasti na variabilnost presevnih spektrov. Ordinacijski diagram (RDA - redundančna analiza) prikazuje moč statistično značilnih povezav med okoljskimi dejavniki (pojasnjevalne spremenljivke, označene z rdečimi puščicami) in različnimi deli spektra presevnosti (odzivne spremenljivke, označene z modrimi puščicami). Lastni vrednosti prvih dveh osi sta 0.364 in 0.003. Kosinusi kotov med puščicami pojasnjevalnih in odzivnih spremenljivk so približki korelacij med njimi. Posamezne skupine vzorcev so označene z različnimi simboli: ■ *P. lucens* z epifitonom; ● *P. perfoliatus* z epifitonom; □ *P. lucens* brez epifitona; ○ *P. perfoliatus* brez epifitona. Njihove pravokotne projekcije na puščico pojasnjevalne spremenljivke so približki vrednosti vzorcev za to spremenljivko.

Z uporabo redundančne analize (RDA) smo ugotavljali, kateri dejavniki najbolj razložijo variabilnost odbojnih in presevnih spektrov. Izmed proučevanih dejavnikov je na odbojnost najbolj vplivala vsebnost klorofila *a* v zgornjem epifitonu, ki je razložila 26 % variabilnosti v spektrih odbojnosti ($p < 0,01$). Statistično značilna sta bila še vpliva gostote diatomej na zgornji listni površini, ki je razložila 17 % variabilnosti ($p < 0,01$), ter suhe mase zgornjega epifitona, ki je razložila 7 % variabilnosti ($p = 0,018$). Vsebnost klorofila *a* ter suha masa zgornjega epifitona sta negativno korelirala z odbojnimi spektri, še posebej z UV, vijoličnim ter modrim delom spektra. Gostota diatomej na zgornji strani je z

odbojnimi spektri korelirala pozitivno, najbolj z rumenim, zelenim, rdečim ter NIR območjem (Slika 15). Ostali parametri obrasti ter anatomske in biokemijske parametri listov niso imeli statistično značilnega vpliva na variabilnost odbojnih spektrov.

Na variabilnost presevnih spektrov je statistično značilno vplivala predvsem vsebnost klorofila *a* v zgornjem epifitonu, ki je razložila 33 % variabilnosti ($p < 0,01$), manj pa suha masa zgornjega epifitona, ki je razložila 4 % variabilnosti ($p = 0,043$). Oba dejavnika sta negativno korelirala s celotnim obsegom presevnih spektrov (Slika 16). Ostali obravnavani dejavniki niso imeli statistično značilnega vpliva na variabilnost presevnih spektrov.

5 RAZPRAVA

Glavni namen naloge je bil raziskati vpliv biokemijskih in anatomskih lastnosti listov ter lastnosti epifitona na odbojnost in presevnost listov dveh vrst potopljenih makrofitov iz družine dristavčevk (*Potamogetonaceae*), bleščečega (*P. lucens*) in preraslolistnega (*P. perfoliatus*) dristavca.

Raziskave biokemijskih in anatomskih lastnosti so pokazale veliko podobnost med vrstama. Vsebnosti UV absorbirajočih snovi, antocianov in karotenoidov, debelina spodnje povrhnjice in celega lista ter SLA se med vrstama niso statistično značilno razlikovali, medtem ko sta bili vsebnosti klorofila *a* in *b* ter debelini zgornje povrhnjice in mezofila med vrstama sicer statistično značilno različni, vendar razlike kljub temu niso bile velike (Slike 1-6; Prilogi A in B). Omenjene podobnosti med vrstama so bile posledica podobnih rastnih razmer, rastne oblike ter rastne strategije obeh vrst. Kot navaja Kaplan (2007), sta vrsti zaradi precejšnega prekrivanja arealov simpatrični in zasedata podobne habitate, zato ju včasih najdemo rasti skupaj na istem rastišču, ponekod pa so prisotni tudi njuni hibridi (Kaplan, 2007). Variabilnost zaradi velike fenotipske plastičnosti, na katero vplivajo različni okoljski dejavniki, je pri vrstah iz rodu *Potamogeton* večja od variabilnosti zaradi različnih genotipov (Kaplan, 2002), zato niso presenetljive podobne lastnosti teh dveh sorodnih vrst, ki sta rastle v istih razmerah na istem rastišču.

Analize epifitona so pokazale njegovo prisotnost tako na zgornji kot spodnji površini listov. Medtem, ko je bila pri obeh vrstah biomasa epifitona večja na zgornji strani, pa je bila gostota diatomej večja na spodnji strani lista (Slike 8 in 9; Priloga C). Večjo biomaso epifitona na zgornji listni površini lahko razložimo z nekoliko večjo maso bolj rahlo pritrjenega epifitona, ki so ga sestavljale različne vrste nitastih alg, predvsem pa s precipitacijo kalcijevega karbonata, ki je bila omejena le na zgornjo listno površino. Vzrok za to je pri širokolistnih vrstah, kot je npr. *P. lucens*, privzem anorganskega ogljika skozi spodnjo in sproščanje hidroksidnih ionov (OH^-) skozi zgornjo listno površino, zaradi česar naraste pH na zgornji površini, kjer posledično pride do precipitacije CaCO_3 (Gaberščik in Mazej, 1995; O'Sullivan in Reynolds, 2004). Med delci apnenca so bili prisotni še različni fini delci sedimentov, ki so dodatno prispevali k večji masi. Toporowska in sod. (2008)

zato opozarjajo, da suha masa epifitona zaradi kontaminacije s CaCO_3 ni dober indikator biomase alg, čeprav je v študijah pogosto uporabljena.

Sloj kompaktnega epifitona je bil pri obeh vrstah sestavljen večinoma iz alg vrste *Cocconeis placentula* (Slika 7), kar lahko razložimo z njeno široko ekološko valenco do večjega števila dejavnikov. Te počasi gibajoče diatomeje živijo posamično in so tipična pionirska vrsta, ki se s celotno ploskvijo tesno pritrja na površino novo nastalih listov (Siver, 1978; Kawamura in Hirano, 1992). Kljub temu, da je pionirska vrsta, pa pogosto ostane najbolj številčna vrsta tudi na starejših listih (Rogers in Breen, 1981; Sultana in sod., 2004) in se neselektivno pritrja na različne makrofite (Eminson in Moss, 1980). Odporna je na mnoge stresne dejavnike, kot sta na primer močnejši vodni tok ob neurjih (Blenkinsopp in Lock, 1994), zaradi česar jo najdemo tudi na bolj izpostavljenih delih listov (Dickman in Gochnauer, 1987), povišana temperatura (Squires in sod., 1979), ter obremenitev vode z organskimi snovmi (Lebkuecher in sod., 2013). Kot so v svoji raziskavi dokazali (Moore, 1975; Underwood in Thomas, 1990), je *C. placentula* zaradi svoje majhnosti, poleg oblike, tesnega pritrjanja in trdote odporna na obžiranje s strani polžev, izopodov, amfipodov ter ostalih makroinvertebratov, zaradi česar je pogosto prevladujoča tudi tam, kjer obstaja velik pritisk omenjenih strgalcev obrasti.

Večjo gostoto diatomej na slabše osvetljeni spodnji listni površini si lahko razložimo z neobčutljivostjo diatomeje *C. placentula* na različne svetlobne razmere ter pH. Sultana in sod. (2004) so v svoji raziskavi primerjali številčnost in vrstno sestavo diatomej na vrsti *P. perfoliatus* v pogojih močne in šibke svetlobe ter ugotovili, da je bila vrsta *C. placentula* v obeh primerih prevladujoča, tako na apikalnem kot bazalnem delu rastline. Da je vrsta *C. placentula* tolerantna do različnih intenzitet svetlobe in dobro prenaša senčne razmere, so v svojih raziskavah ugotovili tudi Müller (1999) ter Hudon in Bourget (1983). Poleg tega raste pri širokem razponu pH (DeNicola, 2000), zato njena rast na zgornji in spodnji listni površini obeh dristavcev, kjer lahko pH na spodnji strani pade tudi na tako nizko raven, kot je 3,5 (Miedema in Prins, 1992), ni presenetljiva. Manjša gostota diatomej na zgornji listni površini ima verjetno dva vzroka. Cattaneo in Kalff (1978) sta v svoji raziskavi primerjala rast epifitona na dristavcu *Potamogeton richardsonii* in primerljivi plastični rastlini. Ugotovila sta, da je bil rahlo pritrjen epifiton bolj razvit na naravnih listih, medtem ko je

bil kompakten in tesno pritrjen epifiton, s pomembnim deležem vrste *C. placentula*, bolje razvit na rastlini iz umetnega materiala. Ugotovila sta tudi, da je bila plast tesno pritrjenega epifitona dosti bolj razvita na spodnji strani listov prave rastline, medtem ko pri umetni rastlini ni bilo razlike med zgornjo in spodnjo stranjo. Razlike sta pripisala plasti CaCO_3 , ki zaradi polarnosti listov, kot posledice fotosintezne aktivnosti, nastaja na naravnih listih, predvsem pa na njihovi zgornji površini, in tam ovira rast tesno pritrjenih diatomej. Sand-Jensen (1983) navaja še drugi možni vzrok, ki je prav tako posledica omenjene polarnosti listov. Sproščanje hidroksidnih ionov lahko namreč omeji dostopnost CO_2 in s tem zniža stopnjo fotosinteze epifitov, zaradi česar je njihova rast na zgornji strani ovirana, kar predstavlja tudi prednost za makrofita, saj je rast epifitona na zgornji strani listov bolj kritična za svetlobne razmere (Sand-Jensen, 1983). Vodni tok sicer vpliva na debelino mejne plasti ob površini makrofitov, kjer izmenjava plinov poteka le z difuzijo, vendar pa je lahko ta tudi v hitro tekočih vodah debela do 150 μm (Walker in sod., 1979. po Kirk, 2011).

Statistično značilnih razlik v preučevanih parametrih epifitona med obema vrstama ni bilo, z izjemo gostote diatomej na spodnji strani, ki je bila višja pri vrsti *P. lucens* (Slika 8). Pri obeh vrstah je bila koncentracija klorofila *a* v epifitonu višja na zgornji strani. To je morda posledica zmožnosti diatomej, da v pogojih šibke svetlobe, ki ne zadostuje za fotosintezo, preidejo iz avtotrofnega v heterotrofni način metabolizma (Azim in sod., 2005; Tuchman in sod., 2007), kar bi lahko razložilo manjše vsebnosti klorofila *a* v obrasti na osenčeni spodnji površini listov. Gilpin in sod. (2004) so v svoji raziskavi pokazali, da je povezava med biomaso in koncentracijo klorofila *a* pri diatomejah močno nelinearna, razen v času eksponente rasti.

5.1 VPLIV NA OPTIČNE LASTNOSTI

Odbojni in presewni spektri obeh vrst (Sliki 11 in 13) so bili karakteristični za zelene rastline (Yoshimura in sod., 2010), z močno absorpcijo v UV, vijoličnem, modrem in rdečem delu spektra (280-500 nm; 620-700 nm), presewnostjo v zelenem, rumenem in NIR delu spektra (500-620 nm; 700-900 nm), ter nekoliko povečanim odbojem v zelenem in rumenem predvsem pa NIR delu spektra. Opazen je tudi »rdeči rob« oz. naglo povečanje

odboja v NIR delu spektra. Pri omenjenih značilnostih spektrov absorpcije, presevnosti in odboja imajo glavno vlogo predvsem fotosintezni in antenski pigmenti (Blackburn, 2006). Epifiton je poleg svetlobnega režima nad vodno gladino ter zmanjševanja svetlobe zaradi fitoplanktona, anorganskih delcev in raztopljenih snovi v vodnem stolpcu eden od primarnih dejavnikov, ki vplivajo na svetlobne pogoje za makrofite (Raeder in sod., 2010). Močan vpliv obrasti na odboj, predvsem pa presevnost svetlobe, potrjujejo tudi naši rezultati. Pri obeh vrstah je prišlo do občutnih razlik v odboju ob prisotnosti epifitona predvsem v UV in vijoličnem delu spektra, pri vrsti *P. perfoliatus*, kjer je imel epifiton večji vpliv na zmanjšanje odboja, pa je do statistično značilnih razlik prišlo tudi v ostalih delih spektra, z izjemo rumenega ter NIR do 835 nm valovne dolžine. V vseh delih spektra se je odboj po odstranitvi obrasti povečal, izjema je bilo le zmanjšanje odboja v NIR območju pri vrsti *P. lucens* (Sliki 11 in 12). Do zaključka, da epifiton povzroči razlike v krivulji spektra odbojnosti, je v svoji raziskavi na morskih travah prišel tudi Fyfe (2003), ki ugotavlja, da je učinek v veliki meri odvisen od vrstne sestave epibiontov, ki lahko vplivajo na zmanjšanje ali povečanje odboja v različnih delih odbojnega spektra. Kot v svoji raziskavi navajata Losee in Wetzel (1983), lahko večkratni odboji na mejni ploskvi med površino obrasti ter vodo in nadaljnji lomi in ukloni svetlobe zmanjšajo količino odbite svetlobe. Na odbojne spektre vsekakor vplivajo tudi različni pigmenti, ki so prisotni v algah. V delih spektra, kjer je absorpcija zaradi fotosinteznih in antenskih pigmentov visoka, je odboj relativno manjši v primerjavi z odbojem v delih spektra, kjer je absorpcija nizka. Vidimo lahko, da je bilo zmanjšanje odboja zaradi epifitona najmanjše ravno v rumenem delu spektra, kjer v diatomejah prisotni klorofili in karotenoidi absorbirajo najbolj šibko. To je razvidno tudi iz RDA diagrama (Slika 15), ki je pokazal najmanjši vpliv klorofila v zelenem, rumenem ter NIR delu spektra.

Še večji je bil vpliv epifitona na presevnost listov obeh vrst, ki je bila ob prisotnosti epifitona precej manjša (Sliki 13 in 14), rezultati pa so bili v skladu z presevnimi spektri skozi epifiton, kjer prevladujejo diatomeje (James in sod., 2000). Presevnost se je ob prisotnosti epifitona v večjem delu spektra zmanjšala za več kot 50 %, v določenih delih pa je list postal praktično nepreseven za svetlobo. Največji vpliv je imel v vijoličnem, modrem ter rdečem delu spektra, medtem ko je vpliv v UV delu spektra zaradi siceršnje nepresevnosti listov za UV sevanje in večjega relativnega vpliva šuma, težje razbrati.

Kljub temu lahko ob upoštevanju, da je bil odboj svetlobe v UV delu spektra ob prisotnosti epifitona občutno manjši, prav tako pa smo zaznali manjšo presevnost, sklepamo, da je imel epifiton pomembno vlogo tudi pri absorpciji UV sevanja. Manjši, a kljub temu občuten vpliv, se je kazal tudi v zelenem in rumenem ter NIR delu spektra. Opisani vplivi veljajo predvsem za zgornji epifiton, medtem ko je bil vpliv spodnjega manjši, pri vrsti *P. perfoliatus*, pa skoraj neznamenit, kar lahko deloma pripišemo tudi najnižji vsebnosti klorofila ter suhi masi. Predvidevamo lahko, da s tem svetloba, ki zaradi povratnega sipanja v vodnem mediju do lista prihaja s spodnje strani, pridobi na pomenu, kot v svoji raziskavi na vrsti *P. perfoliatus* zaključuje tudi Tóth (2013).

Različne komponente epifitona imajo različne vplive na optične lastnosti v posameznih delih svetlobnega spektra (Brandt in Koch, 2003). Za kremenaste frustule diatomej je značilna velika poroznost (Cox, 2011), svetloba, ki vstopa skozi številne pore, pa se zaradi nanostruktur notranjega dela frustul sipa, kar poveča možnost absorpcije fotonov, predvsem v vijoličnem in modrem delu spektra (Yamanaka in sod., 2008). Svetlobo v vijoličnem in modrem delu spektra učinkovito absorbirajo tudi pri diatomejah prisotni pigmenti, kot sta klorofila *a* in *c*, z absorpcijskim vrhom pri 445 - 460 nm, ter fukoksantin, karotenoid iz skupine ksantofilov, ki maksimalno absorbira med 444 - 449 nm valovne dolžine (Iverson in Curl, 1973; Rowan, 1989). Vpliv absorpcije modre svetlobe zaradi epifitona, je za makrofite v vodnih okoljih, kjer je fotosintezna učinkovitost rdeče svetlobe zaradi hitrega zmanjševanja teh valovnih dolžin v vodnem mediju močno zmanjšana, še posebej pomemben (Van Dijk, 1991). Če ima lahko močno zmanjševanje svetlobe v modrem delu spektra negativne posledice za fotosintezno učinkovitost rastline, pa lahko epifiton predstavlja tudi pomemben filter za UV svetlobo, in tako prispeva k večji zaščiti pred UV sevanjem slabo zaščitenih vodnih rastlin (Brandt in Koch, 2003; Aho in Beck, 2011). Tovrstna zaščita pred škodljivimi učinki UV sevanja lahko temelji bodisi na odboju UV fotonov, k čemur lahko, kot je to pri kopenskih travah, prispevajo silificirane listne strukture v bližini povrhnjice (Klančnik in sod., 2014), ali pa na povečani absorpciji, kot je v našem primeru. Da je lahko delež UV sevanja, ki ga absorbira epifiton, relativno visok, so v svojih raziskavah potrdili Brandt in Koch (2013) ter Reader in sod. (2010), kjer je bila presevnost sevanja v UV občutno nižja od presevnosti v PAR delu spektra.

Največja presevnost epifitona je bila v rumenem delu spektra, medtem ko lahko nekoliko zmanjšano presevnost v zelenem delu spektra verjetno razložimo z že omenjenim pigmentom fukoksantinom, ki je pri diatomejah pomemben tudi zaradi absorpcijskega pasu v zelenem delu spektra (500-560 nm), ki leži med absorpcijskima vrhovoma klorofila v modrem in rdečem delu spektra (Kirk, 2011). Del sevanja v rumenem in zelenem, vendar tudi v drugih delih spektra, so verjetno absorbirali kristali CaCO_3 ter različni delci sedimentov oziroma nečistoče, katerih absorpcija je nizka, in ki sevanje absorbirajo razmeroma nespecifično, preko celotnega preučevanega spektra (Losee in Wetzel, 1983; James in sod., 2000).

Zmanjšano presevnost v rdečem delu spektra lahko razložimo predvsem s prisotnostjo klorofila *a*, z *in vivo* absorpcijskim maksimumom v rdečem absorpcijskem pasu pri približno 680 nm (James in sod., 2000), kar je v skladu z našimi rezultati (Sliki 13 in 14). Presevnost skozi list je bila sicer najvišja v NIR delu spektra, kjer pigmenti ne absorbirajo sevanja.

Opazimo lahko, da je bil vpliv epifitona na optične lastnosti listov kljub majhni masi oz. vsebnosti klorofila *a* razmeroma velik. Tak rezultat lahko deloma razložimo z diatomejami, kot prevladujočo vrsto alg v epifitonu. Te imajo namreč zaradi višje vsebnosti rjavih antenskih pigmentov v primerjavi z zelenimi algami večjo absorpcijo svetlobe na enoto klorofila *a* (Sand-Jensen in Søndergaard, 1981). Poleg tega pa je pri mikroalgah, pri katerih so pigmenti razporejeni bolj homogeno, specifična absorpcija na enoto klorofila višja kot pri makrofitih, kjer so molekule klorofila zapakirane v kloroplastih, celicah in nazadnje tkivih ter organih, zaradi česar je zmanjševanje svetlobe učinkovitejše v združbah mikroalg v primerjavi z združbami makrofitov (Krause-Jensen in Sand-Jensen, 1998). Ta efekt je najbolj izražen pri valovnih dolžinah, kjer je absorpcija najmočnejša (Kirk, 2011), kar je v našem primeru v rdečem delu spektra, predvsem pa pri kratkih valovnih dolžinah, kjer diatomeje svetlobo absorbirajo najučinkoviteje. Za kompakten epifiton, kakršen se je razvil tudi na obeh dristavcih, je tudi sicer značilna majhna presevnost (Reader in sod., 2010).

Pri učinku epifitona na optične lastnosti listov je potrebno upoštevati, da vpliv epifitona ni bilo moč oceniti povsem natančno, saj z uporabljenimi metodami ni mogoče s substrata odstraniti vseh alg. To še posebej velja za tesno pritrjene diatomeje, kot je *Cocconeis*, ki jih ni mogoče povsem učinkovito odstraniti niti ob uporabi bolj agresivnih metod, kot je v svoji raziskavi potrdil Delbecq (1985). Upoštevajoč to dejstvo, lahko sklepamo, da je učinek obrasti na optične lastnosti še večji, kot so pokazali naši rezultati.

Občuten vpliv obrasti na optične lastnosti listov se kaže tudi pri rezultatih RDA analize, ki je pokazala, da lahko del opažene variabilnosti presevnih in odbojnih spektrov razložimo z različnimi parametri epifitona, ne pa tudi z biokemijskimi ali anatomskimi značilnostmi listov (Sliki 15 in 16). Največji delež variabilnosti tako presevnih kot odbojnih spektrov je tako razložila vsebnost klorofila *a* v zgornjem epifitonu, kar potrjuje ugotovitev, da imajo fotosintezni in antenski pigmenti prevladujočo vlogo v absorpciji svetlobe, med njimi predvsem klorofil *a* (Loose in Wetzel, 1983). Del variabilnosti odbojnih spektrov smo lahko razložili še z gostoto diatomej ter suho maso epifitona na zgornji listni površini, ki je razložila tudi del variabilnosti presevnih spektrov. S pomočjo naštetih parametrov epifitona smo uspeli razložiti 50 % celotne variabilnosti odbojnih ter 37 % celotne variabilnosti presevnih spektrov, katerih variabilnost je bila večja v primerjavi z odbojnimi. Kot je razvidno iz RDA diagramov, je bila med vsemi omenjenimi parametri obrasti ter odbojem oz. presevnostjo negativna korelacija, izjema je le korelacija med gostoto diatomej na zgornji listni površini ter spektri odboja, predvsem v zelenem, rumenem ter NIR delu spektra, kjer diatomeje tudi absorbirajo najbolj šibko in zato lahko pride do povečanja odboja te svetlobe.

6 SKLEPI

V diplomski nalogi so nas zanimala lastnosti ter zgradba epifitona, ki se je razvil na preraslolistnem ter bleščečem dristavcu, predvsem pa njegov vpliv ter vpliv anatomskih in biokemijskih lastnosti obeh vrst na optične lastnosti listov. V ta namen smo si zadali dve hipotezi, kateri smo poskušali potrditi s pomočjo anatomskih in biokemijskih analiz listov obeh vrst, analizo različnih parametrov epifitona, meritvami optičnih lastnosti listov z in brez epifitona ter statističnimi analizami tako pridobljenih podatkov.

Našo prvo hipotezo (optične lastnosti listov z in brez epifitona se med seboj razlikujejo) podpirajo rezultati meritev presevnosti in odboja svetlobe pri listih z in brez epifitona, ki se med seboj občutno razlikujejo. Pri listih s prisotnim epifitonom na zgornji listni površini sta bila v primerjavi z listi brez zgornjega epifitona manjša tako odboj kot presevnost svetlobe, s tem da je bil vpliv na presevnost večji. Pri presevnosti smo preverjali tudi učinek spodnjega epifitona, ki je imel manjši učinek od zgornjega. Učinek epifitona je bil najbolj izrazit pri krajših valovnih dolžinah – v UV, vijoličnem in modrem delu spektra, pri presevnosti pa tudi v rdečem delu spektra. Učinek je bil najmanjši v zelenem in predvsem rumenem delu spektra. Hipotezo lahko torej v celoti potrdimo.

Pravilnost druge hipoteze (količina in kakovost obrasti ter razlike v anatomskih in biokemijskih lastnostih listov vplivajo na variabilnost odbojnih ter presevnih spektrov) lahko s pomočjo RDA analize, ki je temeljila na anatomskih in optičnih lastnostih listov ter parametrih epifitona, potrdimo le deloma. Ugotovili smo, da lahko variabilnost presevnih ter odbojnih spektrov razložijo različne lastnosti zgornjega epifitona, med njimi predvsem klorofil *a* in nekoliko manj suha masa, ki sta negativno korelirala s spektri, pri odbojnih spektrih pa še število diatomej na zgornji strani lista, ki je pozitivno koreliralo predvsem z zelenim, rumenim ter NIR delom spektra. Ker biokemijski ter anatomske parametri listov niso pokazali statistično značilnega vpliva na variabilnost odbojnih in presevnih spektrov, ne moremo potrditi drugega dela hipoteze, za kar je lahko vzrok tudi majhna variabilnost omenjenih parametrov v kombinaciji z napakami in nenatančnostjo, do katerih pride pri eksperimentalnem delu oz. meritvah ter omejitvami uporabljenih statističnih metod, zaradi

česar je težje zaznati subtilne korelacije številnih dejavnikov z opaženimi razlikami v optičnih lastnostih.

Na temelju dobljenih rezultatov lahko zaključimo, da je epifiton eden od dejavnikov s pomembnim vplivom na količino in kakovost svetlobe, ki je dostopna makrofitom, katerih površine prekrivajo, ter da sta količina in kakovost epifitona ključna dejavnika, ki določata variabilnost odbojnih ter presevnih spektrov listov obeh dristavcev.

7 POVZETEK

V diplomski nalogi smo proučevali vpliv epifitona na optične lastnosti listov bleščečega (*P. lucens*) in preraslolistnega (*P. perfoliatus*) dristavca ter ugotavljali, če in v kolikšni meri lahko variabilnost presevnih in odbojnih spektrov pojasnimo z razlikami v anatomskih in biokemijskih lastnostih listov ter količini in kakovosti epifitona. Zanimala nas je tudi sestava obrasti ter primerjava obeh rastlinskih vrst. Obe vrsti, ki smo jih nabrali v reki Rak, smo analizirali v laboratoriju oddelka za biologijo Biotehniške fakultete, UL. Opravili smo meritve anatomskih (suha masa, SLA, debelina lista, povrhnjic ter mezofila) in biokemijskih (vsebnost klorofila *a* in *b*, karotenoidov, antocianov, UV – absorbirajočih snovi) parametrov ter parametrov obrasti (suha masa, vsebnost klorofila *a*, gostota diatomej) posebej za zgornjo in spodnjo listno površino. S pomočjo spektrometra smo v posameznih območjih spektra svetlobe (280 – 880 nm, z ločljivostjo 0,3 nm) merili odbojnost listov z in brez zgornjega epifitona ter presevnost z epifitonom na obeh straneh, brez zgornjega in brez epifitona na obeh straneh.

Med vrstama kljub statistično značilnim razlikam v debelini zgornje povrhnjice in mezofila ter vsebnosti klorofila *a* in *b* ni bilo večji anatomskih ali biokemijskih razlik. Z izjemo gostote diatomej na zgornji strani, ki je bila višja pri vrsti *P. lucens*, ni bilo statistično značilnih razlik med parametri epifitona za eno in drugo vrsto. Diatomeje vrste *Cocconeis placentula* so bile prevladujoča vrsta alg v epifitonu, njihova številčnost pa je bila pri obeh vrstah večja na spodnji strani listov, medtem ko sta bili teža epifitona in vsebnost klorofila *a* večja na zgornji strani. Na zgornji strani je bila prisotna tudi plast kalcijevega karbonata, delci sedimentov oziroma nečistoče ter manjše količine rahlo pritrjenega epifitona.

Vpliv obrasti na sicer za zelene rastline tipične odbojne in preseвне spektre je bil znaten. Odboj svetlobe se je ob prisotnosti epifitona zmanjšal v celotnem območju svetlobnega spektra, izjema je bil le povečan odboj NIR svetlobe pri vrsti *P. lucens*. Vpliv je bil najbolj izrazit pri krajših valovnih dolžinah, predvsem v UV ter vijoličnem, najmanj pa v zelenem ter rumenem delu spektra. Še bolj izrazito je bilo zmanjšanje presevnost svetlobe skozi list, najbolj v UV, vijoličnem, modrem ter rdečem delu spektra, manj pa v zelenem in najmanj v rumenem ter NIR delu spektra. Te rezultate smo pripisali predvsem kremenastim

frustulam diatomej, ki najbolj učinkovito absorbirajo kratke valovne dolžine (UV, vijolična ter modra svetloba) ter njihovim fotosinteznim in antenskimi pigmentom, kot so klorofil *a* ter verjetno tudi fukoksantin, manj pa kalcijevega karbonata ter sedimentom, ki absorbirajo bolj neselektivno. Vpliv spodnjega epifitona na presevnost je bil v primerjavi z zgornjim precej manjši, predvsem pri vrsti *P. perfoliatus*.

Del variabilnosti presevnih in odbojnih spektrov smo s pomočjo RDA analize razložili z različnimi lastnostmi epifitona, kot so vsebnost klorofila *a*, suha masa in gostota diatomej, medtem ko je ostala variabilnost ostala nepojasnjena, saj anatomski in biokemijski dejavniki listov niso imeli statistično značilnega vpliva nanje.

8 VIRI

- Aho K., Beck E., 2011. Effects of Epiphyte Cover on Seagrass Growth Rates in Two Tidal Zones. *Dartmouth Undergraduate Journal of Science*, Spring 2011: 43-44
http://dujs.dartmouth.edu/wp-content/uploads/2011/06/11s_final-43-44.pdf
(3. feb. 2015)
- Albay M., Akcaalan R. 2003. Comparative study of periphyton colonisation on common reed (*Phragmites australis*) and artificial substrate in a shallow lake, Manyas, Turkey. *Hydrobiologia*, 506-509,1-3: 531-540
- Allen H. L. 1971. Primary productivity, chemo-organotrophy, and nutritional interactions of epiphytic algae and bacteria on macrophytes in the littoral of a lake. *Ecological Monographs*, 41, 2: 97-127
- Allen H. L., Ocevski B. T. 1981. Comparative primary productivity of algal epiphytes on three species of macrophyte in the littoral zone of lake Ohrid, Yugoslavia. *Holarctic Ecology*, 4, 3: 155-160
- Andersen Ø. M., Jordheim M. 2010. Anthocyanins V: *Encyclopedia of Life Sciences*. Hetherington A. M. (ed.). Chichester, Wiley: 1-12
- Arber A. 2010 [1920]. *Water plants: A study of aquatic angiosperms*. New York, Cambridge University Press: 460 str.
- Asaeda T., Sultana M., Manatunge J., Fujino T. 2004. The effect of epiphytic algae on the growth and production of *Potamogeton perfoliatus* L. in two light conditions. *Environmental and Experimental Botany*, 52: 225-238
- Azim M. E., Beveridge M. C. M., van Dam A. A., Verdegem M. C. J. 2005. Periphyton and aquatic production: an introduction. V: *Periphyton – Ecology, Exploitation and Management*. Azim M. E., Verdegem M. C. J., van Dam A. A., Beveridge M. C. M. (eds.). Wallingford, CABI Publishing: 1-14
- Baltzer J. L., Thomas S. C. 2005. Leaf optical responses to light and soil nutrient availability in temperate deciduous trees. *American Journal of Botany*, 92: 214-223
- Becares E., Goma J., Alaez M. F., Alaez C. F., Romo S., Miracle M. R., Delbanco A. S., Hansson L. A., Gyllstrom M., Van de Bund W. J., Donk E. V., Kairesalo T., Hietala J., Stephen D., Balayla D., Moss B. 2008. Effects of nutrients and fish on periphyton

- and plant biomass across a European latitudinal gradient. *Aquatic Ecology*, 42: 561-574
- Best E.P.H., Buzzelli C.P., Bartell S.M., Wetzel R.L., Boyd W.A., Doyle R.D. & Campbell K.R. 2001. Modeling submersed macrophyte growth in relation to underwater light climate: modeling approaches and application potential. *Hydrobiologia*, 444: 43-70
- Blackburn G. A. 2006. Hyperspectral remote sensing of plant pigments. *Journal of Experimental Botany*. 58, 4: 855-867
- Blenkinsopp S. A., Lock, M. A. 1994. The impact of storm-flow on river biofilm architecture. *Journal of Phycology*, 30, 5: 807–818
- Blindow I. 1987. The composition and density of epiphyton on several species of submerged macrophytes – the neutral substrate hypothesis tested. *Aquatic Botany*, 29, 2: 157-168
- Bojnanský V., Fargašová A. 2007. Atlas of seeds and fruits of central and east - European flora: the Carpathian mountains region. Dordrecht, Springer: 1046 str.
- Brandt L. A., Koch W.E. 2003. Periphyton as a UV-B filter on seagrass leaves: a result of different transmittance in the UV-B and PAR ranges. *Aquatic Botany*, 76, 4: 317-327
- Brönmark C. 1994. Effects of tench and perch on interactions in a freshwater, benthic food chain. *Ecology*, 75, 6: 1818-1828
- Brönmark C., Klosiewski S. P., Stein R. A. 1992. Indirect effects of predation in a freshwater, benthic food chain. *Ecology*, 73, 5: 1662-1674
- Brush M. J., Nixon S.W. 2002. Direct measurements of light attenuation by epiphytes on eelgrass *Zostera marina*. *Marine Ecology Progress Series*, 238: 73–79
- Burkholder J. M., Wetzel R. G. 1990. Epiphytic alkaline phosphatase on natural and artificial plants in an oligotrophic lake: Re-evaluation of the role of macrophytes as a phosphorus source for epiphytes. *Limnology and Oceanography*, 35: 736-747
- Burkholder J. M., Wetzel, R. G. 1989. Microbial colonization on natural and artificial macrophytes in a phosphorus-limited, hardwater lake. *Journal of Phycology*, 25: 55-65
- Carigan R., Kalff, J. 1982. Phosphorus release by submerged macrophytes: Significance to epiphyton and phytoplankton. *Limnology and Oceanography*, 27, 3: 419-427
- Carter G. A., Knapp A. K. 2001. Leaf optical properties in higher plants: linking spectral characteristics to stress and chlorophyll concentration. *American Journal of Botany*, 88: 677-684

- Cattaneo A., Galanti G., Gentinetta S., Romo S. 1998. Epiphytic algae and macroinvertebrates on submerged and floating-leaved macrophytes in an Italian lake. *Freshwater Biology*, 39: 725-740
- Cattaneo A., Kalff J. 1978. Seasonal changes in the epiphyte community of natural and artificial macrophytes in lake memphremagog. *Hydrobiologia*, 60, 2: 135-144
- Cattaneo A., Kalff J. 1979. Primary production of algae growing on natural and artificial aquatic plants: A study of interactions between epiphytes and their substrate. *Limnology and Oceanography*, 24, 6: 1031-1037
- Cox E. J. 2011. Morphology, cell wall, cytology, ultrastructure, and morphogenetic studies. Overview and specific observations. V: *The diatom world. Cellular origin, life in extreme habitats and astrobiology*, Vol. 19. Seckbach J., Kociolek J. P. (eds.). Dordrecht, Springer: 21-45
- Cronk J. K., Fennessy M. S. 2001. *Wetland Plants: Biology and Ecology*. Boca Raton, Fla, Lewis Publishers: 482 str.
- Curran P. J. 1989. Remote sensing of foliar chemistry. *Remote Sensing of Environment*, 30: 271-278
- Curran P. J., Dungan J. L., Macler B. A., Plummer S. E. 1991. The effect of a red leaf pigment on relationship between red edge and chlorophyll concentration. *Remote Sensing of Environment*, 35, 1: 69-76
- Delbecq E. J. P. 1985. Periphyton on nymphaeids: An evaluation of methods and separation techniques. *Hydrobiologia*, 124: 85-93
- Demmig-Adams B., Gilmore A. M., Adams III W. W. 1996. In vivo functions of carotenoids in higher plants. *The Journal of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 10, 4: 403-412
- DeNicola, D. M. 2000. A review of diatoms found in highly acidic environments. *Hydrobiologia* 433: 111-122
- Dickman M. D. Gochnauer M. B. 1978. Impact of sodium chloride on the microbiota of a small stream. *Environmental Pollution*, 17: 109-126
- Drake L. A., Dobbs F. C., Zimmerman R. C. 2003. Effects of epiphyte load on optical properties and photosynthetic potential of the seagrasses *Thalassia testudinum* Banks ex König and *Zostera marina* L.. *Limnology and Oceanography*, 48: 456-463

- Eminson D., Moss B. 1980. The composition and ecology of periphyton communities in freshwaters. The influence of host type and external environment on community composition. *British Phycological Journal*, 15, 4: 429-446
- Erhard D., Gross E. M. 2006. Allelopathic activity of *Elodea canadensis* and *Elodea nuttallii* against epiphytes and phytoplankton. *Aquatic Botany*, 85, 3: 203-211
- Fyfe S. K. 2003. Spatial and temporal variation in spectral reflectance: Are seagrass species spectrally distinct? *Limnology and Oceanography*, 48, 2. del: 464-479
- Fyfe S. K. 2004. Hyperspectral studies of New South Wales seagrasses with particular emphasis on the detection of light stress in Eelgrass *Zostera capricorni*. Doktorska disertacija. Wollongong, University of Wollongong: 389 str.
- Gaberščik, A., Mazej, Z., 1995. Photosynthetic performance and photoinhibition in two species of *Potamogeton* from lake Bohinj (Slovenia). *Acta Botanica Gallica*, 142: 667-672.
- Gausman H. W. 1977. Reflectance of leaf components. *Remote Sensing of Environment*, 6: 1-9
- Gilpin L.C., Davidson K., Roberts E. 2004. The influence of changes in nitrogen: silicon ratios on diatom growth dynamics. *Journal of Sea Research*, 51: 21-35
- Grant L. 1987. Diffuse and Specular Characteristics of Leaf Reflectance. *Remote Sensing of Environment*, 22: 309-322
- Gross E. M., Feldbaum C., Graf A. 2003. Epiphyte biomass and elemental composition on submersed macrophytes in shallow eutrophic lakes. *Hydrobiologia*, 506-509, 1-3: 559-565
- Havens K.E., Hauxwell J., Tyler A.C., Thomas S., McGlathery K.J., Cebrian J., Valiela I., Steinman A.D., Soon-Jin Hwang. 2001. Complex interactions between autotrophs in shallow marine and freshwater ecosystems: implications for community responses to nutrient stress. *Environmental Pollution*, 113, 1: 95-107
- Haynes R. R., Les D. H., Holm-Nielsen L. B. 1998. *Potamogetonaceae*. V: The families and genera of vascular plants. Kubitzki K. (ed.). Berlin, Springer, 4: 408-415
- Haynes, R. R., Hellquist C. B. 2000. *Potamogetonaceae*. V: Flora of North America Editorial Committee eds. *Flora of North America North of Mexico*, Vol. 22: Magnoliophyta: Alismatidae, Arecidae, Commelinidae (in part), and Zingiberidae. New York, Oxford University Press: 47-74

- Hoagland K. D., Roemer S. C., Rosowski J. R. 1982. Colonization and community structure of two periphyton assemblages, with emphasis on the diatoms (Bacillariophyceae). *American Journal of Botany*, 69, 2: 188-213
- Hudon C., Bourget E. 1983. The effect of light on the vertical structure of epibenthic diatom communities. *Botanica Marina*, 26: 317-330
- Imanishi J., Suzuki Y., Nakayama A., Imanishi A., Morimoto Y., Ueda N., Yoneda M. 2010. Nondestructive determination of leaf chlorophyll content in two flowering cherries using reflectance and absorptance spectra. *Landscape and Ecological Engineering*, 6, 2: 219-234
- Iverson R. L., Curl H. 1973. Action Spectrum of Photosynthesis for *Skeletonema costatum* Obtained with Carbon-14. *Physiologia Plantarum*, 28: 498-502
- Jacquemoud S, Ustin S. L. 2001. Leaf optical properties: a state of the art. V: 8th International Symposium of Physical Measurements & Signatures in Remote Sensing, CNES, Aussois, Francija 2001: 223-232
- Jacquemoud S., Baret F. 1990. Prospect: A model of leaf optical properties spectra. *Remote Sensing of Environment*, 34: 75-91
- James M. R., Hawes I., Weatherhead M. 2000. Removal of settled sediments and periphyton from macrophytes by grazing invertebrates in the littoral zone of a large oligotrophic lake. *Freshwater Biology*, 44: 311-32
- Jaschinski S., Sommer U., Brepohl D. C. 2011. The trophic importance of epiphytic algae in a freshwater macrophyte system (*Potamogeton perfoliatus* L.): stable isotope and fatty acid analyse. *Aquatic Sciences*, 73: 91-101
- Jones J. I., Eaton J. W., Hardwick K. 2000. The influence of periphyton on boundary layer conditions: a pH microelectrode investigation. *Aquatic Botany*, 67, 3: 191-206
- Jones J. I., Sayer C. D. 2003. Does the fish-invertebrate-periphyton cascade precipitate plant loss in shallow lakes? *Ecology*, 84, 8: 2155-2167
- Jones, J. I., Young, J. O., Eaton, J. W. and Moss, B. 2002. The influence of nutrient loading, dissolved inorganic carbon and higher trophic levels on the interaction between submerged plants and periphyton. *Journal of Ecology*, 90: 12-24
- Kaplan Z. 2002. Phenotypic plasticity in *Potamogeton* (Potamogetonaceae). *Folia Geobotanica*, 37: 141-170

- Kaplan Z. 2007. First record of *Potamogeton* × *salicifolius* for Italy, with isozyme evidence for plants collected in Italy and Sweden. *Plant Biosystems*, 141, 3: 344-351
- Kawamura T., Hirano R. 1992. Seasonal changes in benthic diatom communities colonizing glass slides in Aburatsubo bay, Japan. *Diatom Research*, 7, 2: 227-239
- Kirk T. O. 2011. *Light and photosynthesis in aquatic ecosystems*. 3rd ed. Cambridge, Cambridge University Press: 662 str.
- Klančnik K., Vogel-Mikuš K., Gaberščik A. 2014. Silicified structures affect leaf optical properties in grasses and sedge. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 130: 1-10
- Knipling E. B. 1970. Physical and physiological basis for the reflectance of visible and near-infrared radiation from vegetation. *Remote Sensing of Environment*, 1: 155-159
- Krause-Jensen D., Sand-Jensen K. 1998. Light attenuation and photosynthesis of aquatic plant communities. *Limnology and Oceanography*, 43, 3: 396-407
- Lalonde S., Downing J. A. 1991. Epiphyton biomass is related to lake trophic status, depth, and macrophyte architecture. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 48: 2285-2291
- Laugaste R., Reunanen M. 2005. The composition and density of epiphyton on some macrophyte species in the partly meromictic Lake Verevi. *Hydrobiologia*, 547: 137-150
- Lebkuecher J., Craft J., Hankenson R., Johnson J., Martin J. 2013. Impacts of nonpoint-source pollution on periphyton characteristics in the West Fork of the Red River in north-central Tennessee. *Phytoneuron*, 2014, 95: 1-7
- Liboriussen L. 2003. *Production, regulation and ecophysiology of periphyton in shallow freshwater lakes*. Doktorska disertacija, Denmark: National Environmental Research Institute: 48 str.
- Lichtenthaler, H.K., Buschmann, C., 2001a. Extraction of photosynthetic tissues: chlorophylls and carotenoids. V: *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. New York, Wiley: F.4.2.1–F.4.2.6.
- Lichtenthaler, H.K., Buschmann, C., 2001b. Chlorophylls and carotenoids: measurement and characterisation by UV–VIS. V: *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. New York, Wiley: F.4.3.1–F.4.3.8.

- Lichtenthaler H. K. 1987. Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in enzymology*, 148: 350-382
- Liew O.W., Chong P.C.J., Li B., Asundi A.K. 2008. Signature optical cues: Emerging technologies for monitoring plant health. *Sensors*, 8: 3205-3239
- Losee R. F., Wetzel R. G. 1983. Selective light attenuation by the periphyton complex. V: *Periphyton of Freshwater Ecosystems. Developments in Hydrobiology*, 17. Wetzel R. G. (ed.). The Hague, Dr W. Junk Publishers: 89-96
- Madsen T. V., Sand-Jensen K. 1991. Photosynthetic carbon assimilation in aquatic macrophytes. *Aquatic Botany*, 41, 1-3: 5-40
- Martinčič A., Wraber T., Jogan N., Podobnik A., Turk B, Vreš B., Ravnik V., Frajman B., Strgulc-Krajšek S., Trčak B., Bačič T., Fischer M.A., Eler K. Surina B. 2007. Mala flora Slovenije: Ključ za določevanje praprotnic in semenk. Ljubljana, Tehniška založba Slovenije: 719 str.
- Merzlyak M. N., Chivkunova O. B., Solovchenko A. E., Naqvi K. R. 2008. Light absorption by anthocyanins in juvenile, stressed, and senescing leaves. *Journal of Experimental Botany*, 59, 14: 3903-3911
- Miedema H., Prins H. B. A. 1992. Coupling of proton fluxes in the polar leaves of *Potamogeton lucens* L.. *Journal of Experimental Botany*, 43, 7: 907-914
- Moore J. W. 1975. The role of algae in the diet of *Asellus aquaticus* L. and *Gammarus pulex* L.. *Journal of Animal Ecology*, 44, 3: 719-730
- Müller U. 1999. The vertical zonation of adpressed diatoms and other epiphytic algae on *Phragmites australis*. *European Journal of Phycology*, 34, 5: 487-496
- Nechles H. A. 1993. The role of epiphytes in seagrass production and survival: microcosm studies and simulation modeling. V: *Proceedings and Conclusions of Workshops on: Submerged Aquatic vegetation Initiative and Photosynthetically Active Radiation*, Special publication SJ93-SP13. Morris L. J., Tomasko D. A. (eds.). Palatka, FL: St. Johns River Water Management District: 310 str.
- Neundorfer, J.V., Kemp, W.M. 1993. Nitrogen versus phosphorus enrichment of brackish waters: responses of the submersed plant *Potamogeton perfoliatus* and its associated algal community. *Marine Ecology Progress Series*, 94: 71-82

- Nõges T., Luup H., Feldmann T. 2010. Primary production of aquatic macrophytes and their epiphytes in two shallow lakes (Peipsi and Võrtsjärv) in Estonia. *Aquatic Ecology*, 44, 1: 83-92
- O'Sullivan P.E., Reynolds C. S. 2004. *The Lakes Handbook, Volume 1: Limnology and Limnetic Ecology*. Oxford, Blackwell Publishing: 780 str.
- Ozawa A., Oomizo N., Fujinami R., Imaichi R., Hajime Imai H. 2011. Spectroscopic studies on aquatic angiosperm. *Optical Review*, 18, 1: 69-71
- Paterson D. M., Wright S. J. L. 1986. The epiphyllous algal colonization of *Elodea canadensis* Michx.: community structure and development. *New Phytologist*, 103: 809-819
- Pavlišič B. 2012. Kemijska analiza kraškega porečja Ljubljanice s hitrimi testi. Diplomsko delo. Ljubljana, Pedagoška fakulteta: 76 str.
- Phillips D.L., Eminson D., Moss B. 1987. A mechanism to account for macrophyte decline in progressively eutrophicated freshwaters. *Aquatic Botany*, 4: 103-126
- Pinnel N. 2007. A method for mapping submerged macrophytes in lakes using hyperspectral remote sensing. Doktorska disertacija. Limnologische Station, WZW, Department für Ökologie, München, Technische Universität: 164 str.
- Rabinowitch E., Govindjee 1969. *Photosynthesis*. New York, Wiley: 273 str.
- Raeder U., Ruzicka J., Goos C. 2010. Characterization of the light attenuation by periphyton in lakes of different trophic state. *Limnologica*, 40: 40-46
- Roberts E., Kroker J., Körner S., Nicklisch A. 2003. The role of periphyton during the recolonization of a shallow lake with submerged macrophytes. *Hydrobiologia*, 506-509, 1-3: 525-530
- Rogers K. H., Breen C. M. 1981. Effects of Epiphyton on *Potamogeton crispus* L. Leaves. *Microbial Biology*, 7: 351-363
- Rosemond A. D., Mulholland P. J., Brawley S. H. 2000. Seasonally shifting limitation of stream periphyton: response of algal populations and assemblage biomass and productivity to variation in light, nutrients, and herbivores. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 57: 66-75
- Rowan K.S. 1989. *Photosynthetic pigments of algae*. Cambridge, Cambridge University Press: 334 str.

- Rusanov A. G., Khromov V. M. 2005. Seasonal succession of lotic epiphyton: effects of macrophyte cover and grazing by chironomid larvae. *Zhurnal Obsheei Biologii*, 66, 1: 55-67
- Sand-Jensen K. 1983. Photosynthetic Carbon Sources of Stream Macrophytes. *Journal of Experimental Botany*, 34, 139: 198-210
- Sand-Jensen K. 1990. Epiphyte shading: its role in resulting depth distribution of submerged aquatic macrophytes. *Folia Geobotanica & Phytotaxonomica*, 25, 3: 315-320
- Sand-Jensen K., Borum J. 1984. Epiphyte shading and its effect on photosynthesis and diel metabolism of *Lobelia dortmanna* L. during the spring bloom in a danish lake. *Aquatic Botany*, 20, 1-2: 109-119
- Sand-Jensen K., Revsbech N. P., Jorgensen B. B. 1985. Microprofiles of oxygen in epiphyte communities on submerged macrophytes. *Marine Biology*, 89: 55-62
- Sand-Jensen K., Søndergaard M. 1981. Phytoplankton and epiphyte development and their shading effect on submerged macrophytes in lakes of different nutrient status. *Internationale Revue der gesamten Hydrobiologie und Hydrographie*, 66, 4: 529-552
- Saravia L.A., Momo F., Boffi Lissin L.D. 1998. Modelling periphyton dynamics in running water. *Ecological Modelling*, 114, 1: 35-47
- Sims D. A., Gamon J. A. 2002. Relationships between leaf pigment content and spectral reflectance across a wide range of species, leaf structures and developmental stages. *Remote Sensing of Environment* 81: 337-354
- Siver P. A. 1978. Development of diatom communities on *Potamogeton robbinsii* oakes. *Rhodora*, 80, 823: 417-430
- Slaton M. R., Hunt Jr. E. R., Smith W. K. 2001. Estimating near-infrared leaf reflectance from leaf structural characteristics. *American Journal of Botany* 88, 2: 278-284
- Squires L. E., Rushforth S. R., Brotherson J. D. 1979. Algal response to a thermal effluent: study of a power station on the Provo river, Utah, USA. *Hydrobiologia*, 63, 1: 17-32
- Steintnar A. D., McIntire D. C. 1986. Effects of current velocity and light energy on the structure of periphyton assemblages in laboratory streams. *Journal of Phycology*, 22: 352-361
- Sultana M., Asaeda T., Azim M. E., Fujino T. 2010. Morphological responses of a submerged macrophyte to epiphyton. *Aquatic Ecology*, 44: 73-81

- Sultana M., Asaeda T., Manatunge J., Ablimit A. 2004. Colonisation and growth of epiphytic algal communities on *Potamogeton perfoliatus* under two different light regimes. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research*, 38, 4: 585-594
- Toporowska M., Pawlik-Skowrońska B., Wojtal A. Z. 2008. Epiphytic algae on *Stratiotes aloides* L., *Potamogeton lucens* L., *Ceratophyllum demersum* L. and *Chara* spp. in a macrophyte-dominated lake. *Oceanological and Hydrobiological Studies*, 37, 2: 51-63
- Tóth V. R. 2013. The effect of periphyton on the light environment and production of *Potamogeton perfoliatus* L. in the mesotrophic basin of Lake Balaton. *Aquatic Sciences*, 75, 4: 523-534
- Tuchman N. C., Schollett M. A., Rier S. T., Geddes P. 2006. Differential heterotrophic utilization of organic compounds by diatoms and bacteria under light and dark conditions. *Hydrobiologia*, 561: 167-177
- Underwood G. J. C., Thomas J. D. 1990. Grazing interactions between pulmonate snails and epiphytic algae and bacteria. *Freshwater Biology*, 23, 3: 505-522
- Ustin S. L., Jacquemoud S., Govaerts Y. 2001. Simulation of photon transport in a three-dimensional leaf: implications for photosynthesis. *Plant, Cell & Environment*, 24: 1095-1103
- Van Dijk G. M. 1991. Light climate and its impact on *Potamogeton pectinatus* L. in a shallow eutrophic lake. Doktorska disertacija. Wageningen, Agricultural University: 125 str.
- Van Dijk G. M. 1993. Dynamics and attenuation characteristics of periphyton upon artificial substratum under various light conditions and some additional observations on periphyton upon *Potamogeton pectinatus* L.. *Hydrobiologia*, 252, 2: 143-161
- Vermaat J. E., Hootsmans M. J. M. 1994. Periphyton dynamics in a temperature-light gradient. V: Lake Veluwe, a Macrophyte-dominated System under Eutrophication Stress. Van Vierssen W., Hootsmans M. J. M., Vermaat J. E. (eds.). Amsterdam, Kluwer Academic Publishers: 193-212
- Vilches C., Giorgi A. 2010. Metabolism in a macrophyte-rich stream exposed to flooding. *Hydrobiologia*, 654, 1: 57-65
- Vogelmann T. C. 1993. Plant tissue optics. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 44: 231-251

- Wetzel, R.G. 2001. *Limnology: Lake and River Ecosystems*. 3rd ed. San Diego, Academic Press: 1006 str.
- Woolley J.T. 1971. Reflectance and transmittance of light by leaves. *Plant Physiology*, 47: 656-662
- Yamanaka S., Yano R., Usami H., Hayashida N., Ohguchi M., Takeda H., Yoshino K. 2008. Optical properties of diatom silica frustule with special reference to blue light. *Journal of Applied Physics*, 103, 074701
- Yoshimura H., Zhu H., Wu Y., Ma R. 2010. Spectral properties of plant leaves pertaining to urban landscape design of broad-spectrum solar ultraviolet radiation reduction. *International Journal of Biometeorolgy*, 54: 179-191
- Zur Y., Gitelson A. A., Chivkunova O. B., Merzlyak M. N. 2000. The spectral contribution of carotenoids to light absorption and reflectance in green leaves. V: *Proceedings of the Second International Conference on Geospatial Information in Agriculture and Forestry*, Lake Buena Vista, FL, 10. - 12. januar 2000, 2: 1-7

ZAHVALA

Zahvaljujem se mentorici prof. dr. Alenki Gaberščik za mentorstvo, vzpodbude in prijaznost. Zahvaljujem se tudi dr. Katji Klančnik za nasvete in pomoč pri terenskem in laboratorijskem delu ter statističnih obdelavah.

Hvala recenzentu doc. dr. Igorju Zelniku za hiter pregled naloge, kljub pomankanju časa, ter predsedniku komisije doc. dr. Alešu Kladniku za popravke.

Zahvaljujem se družini za vso podporo pri študiju in potrpežljivost.

Še posebej se zahvaljujem Kristini za neskončno ljubezen in nagovarjanja k vztrajnosti.

PRILOGE

Priloga A

Anatomski parametri listov. Vrednosti so povprečja \pm SD. Simbol * označuje statistično značilno razliko med vrstama za obravnavani parameter ($p \leq 0,05$; dvostranski t-test za neodvisne vzorce; $n=10$).

Anatomski parameter	<i>P. lucens</i>	<i>P. perfoliatus</i>
SLA ($\text{cm}^2 \text{g}^{-1}$)	5.56 \pm 0.59	5.24 \pm 0.52
Debelina lista (μm)	52.49 \pm 2.51	51.04 \pm 3.25
Debelina zg. povrhnjice (μm)	17.86 \pm 1.20	19.56 \pm 1.48 *
Debelina mezofila (μm)	22.27 \pm 2.39	18.48 \pm 1.58 *
Debelina sp. povrhnjice (μm)	12.36 \pm 0.70	12.99 \pm 1.25

Priloga B

Biokemijski parametri listov. Vrednosti so povprečja \pm SD. Simbol * označuje statistično značilno razliko med vrstama za obravnavani parameter ($p \leq 0,05$; dvostranski t-test za neodvisne vzorce; $n=10$).

Biokemijski parameter	<i>P. lucens</i>	<i>P. perfoliatus</i>
Klorofil <i>a</i> (mg/m ²)	163 \pm 20	130 \pm 20 *
Klorofil <i>b</i> (mg/m ²)	94 \pm 22	70 \pm 21 *
Karotenoidi (mg/m ²)	53 \pm 7.3	49 \pm 6.5
Antociani (rel. enote/cm ²)	0.45 \pm 0.10	0.52 \pm 0.10
UV-A as (rel. enote/ cm ²)	10.48 \pm 2.77	8.73 \pm 1.47
UV-B as (rel. enote/cm ²)	14.85 \pm 4.00	12.62 \pm 2.02

Priloga C

Parametri epifitona. Vrednosti so povprečja \pm SD. Simbol * označuje statistično značilno razliko med vrstama za obravnavani parameter ($p \leq 0,05$; dvostranski t-test za neodvisne vzorce; $n=10$).

Parametri epifitona	<i>P. lucens</i>	<i>P. perfoliatus</i>
Zgornja listna površina		
Gostota diatomej (mm ²)	638 \pm 152	309 \pm 127 *
Teža epifitona (g/m ²)	10.75 \pm 5.69	6.79 \pm 3.03
Klorofil a epifitona (mg/m ²)	3.86 \pm 1.61	3.61 \pm 2.17
Spodnja listna površina		
Gostota diatomej (mm ²)	1209 \pm 483	1229 \pm 371
Teža epifitona (g/m ²)	0.99 \pm 0.52	0.69 \pm 0.25
Klorofil a epifitona (mg/m ²)	2.62 \pm 0.76	1.69 \pm 1.24