

UNIVERZA V LJUBLJANI  
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA  
ODDELEK ZA BIOLOGIJO

Neža KOZAK

**OPTIČNE LASTNOSTI LISTOV IZBRANIH  
RASTLINSKIH VRST NA CERKNIŠKEM JEZERU**

DIPLOMSKO DELO

Univerzitetni študij

Ljubljana, 2016

UNIVERZA V LJUBLJANI  
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA  
ODDELEK ZA BIOLOGIJO

Neža KOZAK

**OPTIČNE LASTNOSTI LISTOV IZBRANIH RASTLINSKIH VRST  
NA CERKNIŠKEM JEZERU**

DIPLOMSKO DELO  
Univerzitetni študij

**LEAF OPTICAL PROPERTIES OF SELECTED PLANT SPECIES ON  
LAKE CERKNICA**

GRADUATION THESIS  
University studies

Ljubljana, 2016

Diplomsko delo je zaključek univerzitetnega študija biologije na Biotehniški fakulteti Univerze v Ljubljani. Vzorci rastlin so bili nabrani na območju Cerknškega jezera, delo je potekalo v laboratoriju Katedre za ekologijo in varstvo okolja, na Oddelku za biologijo Biotehniške fakultete v Ljubljani.

Študijska komisija Oddelka za biologijo je 4. 12. 2015 odobrila predlagano temo in za mentorico imenovala prof. dr. Alenko Gaberščik in za recenzentko prof. dr. Katarino Vogel Mikuš.

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: Prof. dr. Katarina VOGEL MIKUŠ  
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za biologijo

Datum zagovora: 20. 4. 2016

Podpisana izjavljam, da je naloga rezultat lastnega raziskovalnega dela. Izjavljam, da je elektronski izvod identičen tiskanemu. Na univerzo neodplačno, neizključno, prostorsko in časovno neomejeno prenašam pravici shranitve avtorskega dela v elektronski obliki in reproduciranja ter pravico omogočanja javnega dostopa do avtorskega dela na svetovnem spletu preko Digitalne knjižnice Biotehniške fakultete.

Neža Kozak

## KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

ŠD	Dn
DK	UDK 581.5(497.4Cerkniško jezero)(043.2)=163.6
KG	odbojnost/lastnosti listov/bleščeči mleček ( <i>Euphorbia lucida</i> )/vodna perunika ( <i>Iris pseudacorus</i> )/navadni trst ( <i>Phragmites australis</i> )/trstična pisanka ( <i>Phalaris arundinacea</i> )/visoki trpotec ( <i>Plantago altissima</i> )/močvirski grint ( <i>Senecio paludosus</i> )
AV	KOZAK, Neža
SA	GABERŠČIK, Alenka (mentor)/VOGEL-MIKUŠ, Katarina (recenzent)
KZ	SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
ZA	Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za biologijo
LI	2016
IN	OPTIČNE LASTNOSTI LISTOV IZBRANIH RASTLINSKIH VRST NA CERKNIŠKEM JEZERU
TD	Diplomsko delo (univerzitetni študij)
OP	IX, 47 str., 2 pregl., 20 sl., 37 vir.
IJ	sl
JI	sl/en
AL	V diplomskem delu smo proučevali morfološke, biokemijske in optične lastnosti listov treh enokaličnic, vodne perunike ( <i>Iris pseudacorus</i> ), navadnega trsta ( <i>Phragmites australis</i> ) in trstične pisanke ( <i>Phalaris arundinacea</i> ) ter treh dvokaličnic, visokega trpotca ( <i>Plantago altissima</i> ), močvirskega grinta ( <i>Senecio paludosus</i> ) in bleščečega mlečka ( <i>Euphorbia lucida</i> ). Odbojnost listov smo merili pri valovnih dolžinah med 280 in 887 nm. Analizirali smo morfološko zgradbo listov, določili specifično listno površino in vsebnosti barvil ter UV absorbirajočih snovi. Odbojne spektre rastlin smo medsebojno primerjali te ugotavljali, katere spremembe so povezane z izmerjenimi morfološkimi in biokemijskimi značilnostmi. Odbojni spektri listov so se najmanj razlikovali v modrem in rdečem območju spektra. Vrsti z najmanj variabilnim odbojnim spektrom sta bili bleščeči mleček in močvirski grint. Anatomske in morfološke značilnosti rastlin vplivajo na celoten spekter. Najnižjo odbojnost so imele rastline v UV območju odbojnega spektra, kar povezujemo z absorpcijo UV absorbirajočih snovi ter morfološko zgradbo lista. V vidnem območju poleg morfoloških značilnosti vpliva vsebnost pigmentov. V NIR območju je odbojnost listov najvišja. Ugotovili smo, da debelina stebričastega tkiva, debelina gobastega tkiva in vsebnost antocianov skupaj razložijo 61 % variabilnosti odbojnega spektra. Vsebnost antocianov na spekter vpliva negativno, njen vpliv je največji v modrem delu spektra. Debelina fotosinteznih tkiv na spekter vpliva pozitivno. Razlik v odbojnih spektrih enokaličnic in dvokaličnic ne moremo razložiti zgolj z merjenimi lastnostmi.

## KEY WORDS DOCUMENTATION

DN Dn  
 DC UDK 581.5(497.4Cerknisko jezero)(043.2)=163.6  
 CX reflectance/leaf properties/yellow iris (*Iris pseudacorus*)/common reed (*Phragmites australis*)/reed canary grass (*Phalaris arundinacea*)/narrowleaf plantain (*Plantago altissima*)/fen ragwort (*Senecio paludosus*)/shining spurge (*Euphorbia lucida*)  
 AU KOZAK, Neža  
 AA GABERŠČIK, Alenka (supervisor)/VOGEL-MIKUŠ, Katarina (reviewer)  
 PP SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101  
 PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Biology  
 PY 2016  
 TI LEAF OPTICAL PROPERTIES OF SELECTED PLANT SPECIES ON LAKE CERKNICA  
 DT Graduation Thesis (Universty studies)  
 NO IX, 47 p., 2 tab., 20 fig., 37 ref.  
 LA sl  
 AL sl/en  
 AB We examined and evaluated the morphological, biochemical and optical properties of three monocotyledons, yellow iris (*Iris pseudacorus*), common reed (*Phragmites australis*) and reed canary grass (*Phalaris arundinacea*), and three dicotyledons, narrowleaf plantain (*Plantago altissima*), fen ragwort (*Senecio paludosus*) and shining spurge (*Euphorbia lucida*). The reflectance was measured within 280 and 887 nm. We analysed the morphological structure, estimated specific leaf area and measured the content of pigments and UV-absorbing compounds. By comparing leaf optical characteristics among species we tried to evaluate the impact of morphological and biochemical properties on the leaf reflectance spectra. The reflectance spectra of all investigated species were most similar in the blue and red region. Two species, *E. lucida* and *S. paludosus*, had the least variable reflectance spectrum. The anatomical and morphological properties affect reflectance through the whole spectrum. In the UV area, the reflectance was very low on account of absorption of UV-absorbing compounds. In PAR (photosynthetically active radiation), reflectance was mostly affected by pigment content as well as morphological properties. The reflectance was the highest in the NIR (near infrared) region. The redundancy analysis showed that the thickness of palisade and spongy tissue, together with the content of anthocyanins, affects the reflectance spectra significantly, explaining the 61 % of the spectra variability. The anthocyanin content had negatively affected reflectance, while the thickness of the photosynthetic tissues showed a positive correlation with the spectra. With the measured morphological and biochemical properties it was not possible to explain all the differences between the reflectance spectra of monocots and dicots.

## KAZALO VSEBINE

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA.....	III
KEY WORDS DOCUMENTATION .....	IV
KAZALO VSEBINE.....	V
KAZALO PREGLEDNIC.....	VII
KAZALO SLIK.....	VIII
OKRAJŠAVE IN SIMBOLI .....	IX
<b>1 UVOD.....</b>	<b>1</b>
1.2 HIPOTEZE .....	2
<b>2 PREGLED OBJAV.....</b>	<b>3</b>
2.1. VPLIV BIOKEMIJSKIH LASTNOSTI NA ODBOJNOST LISTA .....	4
<b>2.1.1 Fotosintezna barvila .....</b>	<b>4</b>
<b>2.1.2 Antociani .....</b>	<b>4</b>
<b>2.1.3 UV absorbirajoče snovi.....</b>	<b>5</b>
2.2. VPLIV ANATOMSKIH IN MORFOLOŠKIH LASTNOSTI NA ODBOJNOST LISTA .....	5
<b>2.2.1 Debelina lista .....</b>	<b>6</b>
<b>2.2.2 Listna povrhnjica.....</b>	<b>6</b>
<b>2.2.3 Listna sredica .....</b>	<b>6</b>
<b>2.2.4 Specifična listna površina .....</b>	<b>7</b>
<b>3 MATERIAL IN METODE .....</b>	<b>8</b>
3.1 OBMOČJE RAZISKAV.....	8
3.2 OBRAVNAVANE RASTLINSKE VRSTE.....	8
3.3 METODE DELA .....	11
<b>3.2.1 Nabiranje materiala ter delo na terenu in v laboratoriju.....</b>	<b>11</b>
<b>3.2.2 Merjenje odbojnih spektrov .....</b>	<b>11</b>
<b>3.2.3 Fiziološke meritve .....</b>	<b>12</b>
<b>3.2.4 Anatomske in morfološke meritve .....</b>	<b>12</b>
<b>3.2.5 Biokemijske analize .....</b>	<b>13</b>
<b>3.2.6 Statistična analiza podatkov .....</b>	<b>14</b>
<b>4 REZULTATI.....</b>	<b>16</b>
4.1 ANATOMSKE ZNAČILNOSTI .....	16

<b>4.1.1</b>	<b>Specifična listna površina .....</b>	<b>16</b>
<b>4.1.2</b>	<b>Debelina lista .....</b>	<b>17</b>
<b>4.1.3</b>	<b>Debelina povrhnjice.....</b>	<b>17</b>
<b>4.1.4</b>	<b>Debelina listne sredice .....</b>	<b>19</b>
<b>4.1.5</b>	<b>Anatomija rež.....</b>	<b>21</b>
<b>4.2</b>	<b>BIOKEMIJSKE ANALIZE .....</b>	<b>24</b>
<b>4.2.1</b>	<b>Vsebnost klorofila <i>a</i> in <i>b</i>.....</b>	<b>24</b>
<b>4.2.2</b>	<b>Vsebnost karotenoidov .....</b>	<b>26</b>
<b>4.2.3</b>	<b>Vsebnost antocianov .....</b>	<b>27</b>
<b>4.2.4</b>	<b>Vsebnost UV absorbirajočih snovi.....</b>	<b>28</b>
<b>4.3</b>	<b>ODBOJNOST LISTA.....</b>	<b>30</b>
<b>4.3</b>	<b>ANALIZE PODOBNOSTI.....</b>	<b>32</b>
<b>5</b>	<b>RAZPRAVA .....</b>	<b>37</b>
<b>6</b>	<b>SKLEPI.....</b>	<b>42</b>
<b>7</b>	<b>POVZETEK .....</b>	<b>43</b>
<b>8</b>	<b>VIRI .....</b>	<b>45</b>

## KAZALO PREGLEDNIC

Pregl. 1: Dvigi ter padci odbojnosti listov [%] med različnimi svetlobnimi pasovi. Vrednosti so izračunane iz povprečij v posameznih pasovih.....	32
Pregl. 2: Vrednosti Spearmanovega korelacijskega koeficienta, ki prikazujejo stopnjo povezanosti odbojnosti in posameznih lastnosti listov.....	35



## KAZALO SLIK

Sl. 1: Proučevane rastlinske vrste. ....	10
Sl. 2: Specifična listna površina (SLA) [cm <sup>2</sup> g <sup>-1</sup> ]. ....	16
Sl. 3: Debelina lista [mm]. ....	17
Sl. 4: Debelina zgornje in spodnje povrhnjice [mm]. ....	18
Sl. 5: Povrhnjica pri vrsti visoki trpotec ( <i>P. altissima</i> ). ....	18
Sl. 6: Debelina fotosinteznega tkiva [mm]. ....	19
Sl. 7: Razmerje med stebričastim in gobastim tkivom pri visokem trpotcu močvirskem grintu in bleščečem mlečku. ....	20
Sl. 8: Prerezi listov. ....	20
Sl. 9: Število listnih rež na zgornji in spodnji povrhnjici [mm <sup>-2</sup> ]. ....	21
Sl. 10: Zgornja in spodnja povrhnjica z listnimi režami pri bleščečem mlečku. ....	22
Sl. 11: Velikost listnih rež na zgornji in spodnji povrhnjici [μm]. ....	22
Sl. 12: Velikost in pogostost listnih rež pri močvirskem grintu, vodni peruniki, trstični pisaniki, visokem trpotcu in navadnem trstu. ....	23
Sl. 13: Vsebnost klorofila <i>a</i> in <i>b</i> glede na težo suhe mase [mg/g] (A) in vsebnost klorofila <i>a</i> in <i>b</i> glede na površino [mg/cm <sup>2</sup> ] (B). ....	25
Sl. 14: Vsebnost karotenoidov, izražena na maso suhe snovi lista [mg/ss] in površino lista [mg/dm <sup>2</sup> ]. ....	26
Sl. 15: Vsebnost antocianov, izražena na maso suhe snovi lista [rel. enota/ss] in površino lista [rel. enota/dm <sup>2</sup> ]. ....	27
Sl. 16: Vsebnost UV-A absorbirajočih snovi in UV-B absorbirajočih snovi na suho težo [rel. enota/g] (A) in na površino [rel. enota/dm <sup>2</sup> ] (B). ....	29
Sl. 17: Odbojni spektri listov bleščečega mlečka ( <i>E. lucida</i> ), vodne perunike ( <i>I. pseudacorus</i> ), trstične pisanke ( <i>P. arundinacea</i> ), navadnega trsta ( <i>P. australis</i> ), vikokega trpotca ( <i>P. altissima</i> ) in močvirskega grinta ( <i>S. paludosus</i> ). ....	30
Sl. 18: Dendrogram podobnosti odbojnih spektrov rastlin. ....	33
Sl. 19: Dendrogram podobnosti proučevanih rastlin – morfološke, anatomske in biokemijske lastnosti. ....	34
Sl. 20: Vpliv statistično značilnih parametrov na odbojni spekter, rezultati multivariantne analize (RDA). ....	36

## OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

ANOVA	analiza variance
ANT	antociani
E	oznaka za prizadeto vrsto (rdeči seznam praprotnic in semenk)
E <sub>470</sub> , E <sub>530</sub> ,	ekstinskcije pri danih valovnih dolžinah
E <sub>645</sub> , E <sub>662</sub>	
F <sub>m</sub>	maksimalna fluorescenca klorofila <i>a</i> PS II temotno adaptiranega vzorca
F <sub>ms</sub>	maksimalna fluorescenca klorofila <i>a</i> PS II osvetljenega vzorca
F <sub>o</sub>	minimalna fluorescenca klorofila <i>a</i> PS II temotno adaptiranega vzorca
F <sub>s</sub>	minimalna fluorescenca klorofila <i>a</i> PS II osvetljenega vzorca
F <sub>v</sub>	variabilna fluorescenca temotno adaptiranega vzorca
F <sub>v</sub> /F <sub>m</sub>	potencialna fotokemična učinkovitost PSII
IR	infrardeče sevanje
KAR	karotenoidi
Kl <i>a</i> , Kl <i>b</i>	klorofil <i>a</i> , klorofil <i>b</i>
LMA	listna masa, izražena na enoto površine
NIR	bližnje infrardeče sevanje (700-1400 nm)
PAR	fotosintezno aktivno sevanje (400-700 nm)
PPFD	gostota fotonskega fluksa fotosintezno aktivnega dela sevanja ( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ )
PRI	fotokemični odbojni indeks
PSII	fotosistem II
R	odbojnost
RDA	multivariantna redundantna analiza
SD	standardna deviacija
SLA	specifična listna površina
ss	suha masa
t-test	dvosmerni Studentov T-test
UV	ultravijolično sevanje
UV-A	ultravijolični del svetlobnega spektra (320-380 nm)
UV-B	ultravijolični del svetlobnega spektra (280-320 nm)
V	oznaka za ranljivo vrsto (rdeči seznam praprotnic in semenk)
Y	YIELD; dejanska fotokemična učinkovitost PSII

## 1 UVOD

Kemijska in morfološka struktura lista vpliva na usodo svetlobe, ki pade na list. Svetloba različnih valovnih dolžin se lahko odbije, absorbira, ali pa prenaša skozi list. Rezultat teh interakcij je svetlobni odbojni spekter. Na vidni del spektra vpliva vsebnost rastlinskih pigmentov, npr. karotenoidov in klorofilov. Klorofil odbija svetlobo v zelenem delu spektra in jo absorbira drugje v vidnem delu spektra ter s tem daje rastlini zeleno barvo (Blackburn, 2007). Intenzivnost odboja v specifičnem spektralnem pasu nam torej lahko pove veliko o kemični strukturi lista (Levizou in sod., 2004).

Raziskave na področju odbojne spektroskopije so postale precej razširjene. Raziskovalci ugotavljajo povezave med biokemijskimi, morfološkimi in optičnimi lastnostmi listov. Zanima jih predvsem odnos med odbojnimi spektri ter pigmenti (Baldini in sod., 1997; Gitelson in sod., 2003; Gould, 2004; Sims in Gamon, 2002; Ustin in sod., 2009). Ukvarjajo se z vplivi pigmentov na spekter ter iščejo najboljše načine, kako bi na neinvaziven način, torej s pomočjo spektra, lahko ugotavljali vsebnosti pigmentov (Levizou in sod., 2004). Raziskave se ukvarjajo z vplivom epidermisa, epidermalnih struktur in medceličnih zračnih prostorov na odbojnost lista (Baldini in sod., 1997; Slaton in sod., 2001), s pomočjo spektra ugotavljajo pomen vsebnosti antocianov (Gould, 2004; Neill in Gould, 2000; Viña in Gitelson, 2011) ter raziskujejo vpliv in pomen različnih listnih tkiv na optične lastnosti lista (Slaton in sod., 2001; Vogelmann in Martin, 1993).

Spektroskopija se uporablja tudi v kartiranju vegetacijske odeje (Underwood in sod., 2007), pri raziskavah v povezavi s stresom (Baltzer in Thomas, 2005), koncentracijo CO<sub>2</sub> (Male in sod., 1009) ter UV-sevanjem (Fillela in Penuelas, 2012; Gausman in sod., 1975).

Na razmere v okolju se rastline različno prilagajajo. Bolj specifično kot je okolje, več prilagoditev pričakujemo. V diplomskem delu smo proučevali odbojnost listov treh enokaličnic, vodne perunike (*Iris pseudacorus*), navadnega trsta (*Phragmites australis*) in trstične pisanke (*Phalaris arundinacea*) ter treh dvokaličnic, visokega trpotca (*Plantago altissima*), močvirskega grinta (*Senecio paludosus*) in bleščečega mlečka (*Euphorbia lucida*). Vse proučevane rastline rastejo v vlažnem oziroma mokrem okolju. Preiskavo smo izvajali na območju Cerknškega jezera, ki kot presihajoče jezero nudi edinstveno okolje za rastline.

Zanimale so nas razlike in podobnosti med odbojnimi spektri proučevanih rastlin ter povezava le-teh z biokemijskimi in morfološkimi lastnostmi listov.

## 1.2 HIPOTEZE

Pričakovali smo, da se bodo odbojni spektri proučevanih rastlin razlikovali, predvsem bodo razlike prisotne med spektri enokaličnic in dvokaličnic. Predvidevali smo tudi, da bomo razlike v odbojnih spektrih različnih rastlin ter njihove značilnosti lahko razložili z morfološkimi in biokemijskimi značilnostmi listov preiskovanih rastlin. Pričakovali smo nizke odbojnosti v predelu modrega, rdečega dela spektra ter v UV območju.

## 2 PREGLED OBJAV

Sončevo sevanje vsebuje svetlobno in toplotno energijo. Vidni del svetlobnega sevanja predstavlja energetski vir za fotosintezo, osnovni življenjski proces na Zemlji. To je svetloba valovnih dolžin med 400 in 740 nm (fotosintezno aktivni spekter sevanja ali PAR) – v grobem modra (400-500 nm), zelena (500-600 nm) in rdeča (600-700 nm) (Yoshimura in sod., 2010). Dolgovalovna rdeča svetloba (IR) obsega območje od 5000 nm do 100 000 nm. Del svetlobe z valovnimi dolžinami od 740 do 5000 nm predstavlja bližnje infrardeče območje (NIR). Svetloba krajših valovnih dolžin je ultravijolična (UV), od 315 do 380 nm je UV-A, od 280 do 315 nm pa UV-B. Del UV sevanja (pod 280 nm), ki je škodljiv za celice, v celoti zadrži plast ozona v stratosferi, preostali del UV sevanja pa pride na Zemljo (Tome, 2006).

Odbojni spektri zdravih, zelenih in razvitih listov imajo nekaj skupnih značilnosti. V območju UV valovnih dolžin je listna odbojnost izredno nizka, transmitance ni (Gates in sod., 1965). Listi zdravih rastlin imajo nižjo odbojnost tudi v vidnem delu spektra (400 – 720 nm) z viškom v zelenem delu (550 nm) ter visoko v bližnje infrardečem območju (700-1400 nm) (Male in sod., 2009). Odbojnost v vidnem delu spektra (PAR) je višja od odbojnosti v UV-B (Grant in sod., 2003). Odbojnost lista močno naraste ob prehodu iz rdeče v NIR regijo spektra. Na hiter dvig vpliva koncentracija klorofilov, fenološko stanje rastline in stres (Gitelson in sod., 1996). V območju 780-900 nm list šibko absorbira svetlobno energijo (Gates in sod., 1965) in jo relativno močno odbija. Razlike v odbojnih spektrih nam lahko povedo veliko o strukturnih značilnostih lista, saj jih v NIR območju lahko proučujemo brez vpliva biokemijskih lastnosti ter vpliva vsebnosti vode (Slaton in sod., 2001). Na odbojnost lista v NIR območju najbolj vpliva struktura lista, v vidnem delu spektra fotosintezni pigmenti in pri visokih valovnih dolžinah rdeče svetlobe (1350-2500 nm) vsebnost vode (Gates in sod., 1965).

Optične lastnosti lista vplivajo na razpoložljivost fotosintezno aktivnega sevanja na celični ravni, na prehajanje svetlobe skozi rastlinsko odejo ter na energijsko bilanco rastlinskih sestojev (Baltzer in Thomas, 2005). Povezave optičnih lastnosti rastline z njenimi morfološkimimi lastnostmi, vsebnostmi barvil in vode so pomembne pri raziskovanju reflektance in transmitance po celotni rastlinski združbi ter pri raziskovanju odnosa med rastlino in okoljem.

Visoka heterogenost optičnih lastnosti lista je posledica genetike in okoljskih razmer. Razlike med spektri različnih vrst so lahko pomembnejše kot stresni faktorji (Baldini in sod., 1997). Na večjo odbojnost lista vplivajo trihomi (ti povečajo odbojnost v vidnem delu spektra) in voski (povečujejo odbojnost v vidnem in NIR delu spektra). Svetloba, ki v list vstopi, potuje po zapleteni in nepredvidljivi poti notranje odbojnosti ter sipanja (Sims in

Gamon, 2002). Različne rastlinske vrste imajo različne listne strukture, kar vpliva na variabilnost listne prepustnosti za vidno svetlobo (Yoshimura in sod., 2010).

## 2.1. VPLIV BIOKEMIJSKIH LASTNOSTI NA ODBOJNOST LISTA

Biokemijske lastnosti lista so odvisne od okoljskih in genetskih dejavnikov. Povezave med optičnimi in biokemijskimi lastnostmi so predmet mnogo raziskav.

### 2.1.1 Fotosintezna barvila

Življenje na Zemlji je odvisno od fotosinteze. Fotosintezni organizmi so se razvili zgodaj v zemeljski zgodovini in se obdržali 2,5 milijard let.

Kopenske in vodne rastline ter mahovi imajo za razliko od alg, lišajev in bakterij, zelo podoben fotosintezni aparat. Kljub temu se njihovi odbojni spektri razlikujejo, kar se pripisuje razlikam v strukturi in biokemijskih lastnostih (Ustin in sod., 2009).

Karotenoidi in klorofili so glavni pigmenti zelenih listov. Karotenoidi se navadno pojavljajo v obliki dveh karotenov ( $\alpha$  in  $\beta$ ) ter petih ksantofilov (lutein, zeaksantin, violaksantin, anteraksantin in neoksantin). Imajo močno absorpcijo svetlobe v modrem delu spektra in so razporejeni v fotosistemih ter posameznih pigmentno-beljakovinskih kompleksih kloroplastov. Karotenoidi imajo strukturno vlogo v organizaciji tilakoidne membrane, sodelujejo pri sprejemanju in prenašanju energije, znižujejo intenzivnost fluorescence klorofilov v vzbujenem stanju ter prestrezajo škodljive reaktivne kisikove oblike in proste radikale (Gitelson in sod., 2003).

Najpogostejša klorofila v višjih rastlinah sta klorofil *a* in klorofil *b*, vendar obstaja še vsaj osem oblik klorofila, vsaka s svojim značilnim absorpcijskim spektrom (Slaton in sod., 2001). Klorofili *a* in *b* absorbirajo svetlobno energijo in jo prenašajo v fotosintezni aparat. Največ svetlobne energije absorbirajo v rdeči (najvišjo absorpcijo v tem delu imajo pri valovnih dolžinah 660-680 nm) in modri regiji spektra (tu se pokrijejo z absorpcijo karotenoidov) (Sims in Gamon, 2002). Nizka vsebnost klorofila *a* poviša odbojnost in niža absorpcijo v zelenem delu spektra (Gitelson in sod., 1996).

### 2.1.2 Antociani

Antociani so barvila, za katere se je dolgo domnevalo, da so potrata rastlinskih energijskih virov. A raziskave v zadnjem času so pokazale, da pigmenti bistveno vplivajo na način, s katerim se list odzove na okoljski stres. Antociani so povezani s toleranco lista na sušo, UV-B sevanje in težke kovine ter odpornostjo proti herbivorom in patogenim organizmom (Gould, 2004), poleg tega pa ščitijo list pred odvečno svetlobno energijo. Nastajajo v

obdobju senescence lista in ob okoljskem stresu tudi v mladih, še razvijajočih se listih (Viña in Gitelson, 2011).

Antociani pomembno vplivajo na kvaliteto in kvantiteto svetlobe, ki se v listu absorbira. Njihova prisotnost vpliva na nižjo odbojnost predvsem v vidnem delu spektra (Neill in Gould, 2000). Najvišjo absorpcijo imajo pri valovnih dolžinah med 500 in 550 nm (Gould, 2004), v območju vidnega spektra, kjer je absorpcija klorofila *a* in *b* najnižja.

O povezavah med koncentracijo antocianov in optičnimi lastnostmi lista obstaja že kar nekaj raziskav. Neill in Gould (2000) sta ugotavljala, kakšen pomen ima lokacija celic, ki vsebujejo antociane. Ugotovila sta, da ima koncentracija antocianov v listu bistveno večji vpliv na optične lastnosti lista, kot sama histološka razporeditev antocianov. Antociani, ki se nahajajo v nižje ležečih tkivih lista, odbijajo rdečo svetlobo nazaj v plasti, ki so bogate s klorofili in s tem večajo zajem svetlobe. Tovrstna okrepitev koristi rastlinam, ki rasejo v senčnih območjih.

### **2.1.3 UV absorbirajoče snovi**

UV-A sevanje je večinoma za organizme neškodljivo, UV-B pa lahko rastline močno poškoduje, čeprav je v zmernih količinah potrebno (Yoshimura in sod., 2010). Zato imajo organizmi razvite različne obrambne mehanizme pred UV sevanjem.

Glavno zaščito pred UV sevanjem predstavlja absorpcija v epidermisu in epidermalnih strukturah. List višjih rastlin absorbira okoli 95 % UV sevanja, pri večini rastlin je odbojnost v tem območju nižja od 5 % (Yoshimura in sod., 2010). Flavonoidi in drugi fenilpropanoidi, ki ležijo pod kutikulo, absorbirajo UV-A in UV-B sevanje. Lokacija absorbirajočih pigmentov se razlikuje pri različnih vrstah (Grant in sod., 2003). UV sevanje, ki se ne odbije in ga ne absorbirajo UV absorbirajoče snovi, pride do mezofila, kjer ga absorbirata klorofil *a* in klorofil *b* (Yoshimura in sod., 2010).

## **2.2. VPLIV ANATOMSKIH IN MORFOLOŠKIH LASTNOSTI NA ODBOJNOST LISTA**

Anatomija lista vpliva na količino ter kvaliteto svetlobe, ki pride v notranjost lista ter na procese razporejanja svetlobe v notranjosti lista (sipanje, notranja odbojnost). Strukturne in anatomske lastnosti lista imajo največji vpliv na odbojnost lista v NIR območju spektra (Gates in sod., 1965). Razumevanje listnih strukturnih komponent, ki vplivajo na odbojnost lista, je pomembno za interpretacijo in identifikacijo funkcionalnih tipov rastlin.

### 2.2.1 Debelina lista

Tudi anatomske značilnosti lista vplivajo na občutljivost lista na UV-B sevanje. Absorpcija škodljivega UV-B sevanja je močno povezana s specifično listno težo, debelino lista in gostoto trihomov (Filella in Peñuelas, 2012).

Knapp in Carter (1998) ugotavljata, da je debelina lista povezana z odbojnostjo v NIR delu spektra ter da vpliva na sipanje svetlobe v notranjosti lista. Debelina lista vpliva na celoten odbojni spekter, vendar je vpliv v območju NIR zaradi zmanjšane absorpcije barvil najbolj opazen.

### 2.2.2 Listna povrhnjica

Zgornje površine listov absorbirajo 85 % sončne svetlobe pri valovnih dolžinah 400-700 nm (Gates in sod, 1965).

List je sestavljen iz pigmentiranega mezofila z zunanjimi plastmi epidermalnih celic, ki jih pokriva kutikula, ta je lahko pokrita z epikutikularnimi voski. V epidermalnem tkivu ni medceličnih prostorov in celice se medsebojno tesno ujemajo. Določene lastnosti listne površine (voski, oblika epidermalnih celic, debelina kutikule, trihomi) igrajo pomembno vlogo pri variabilnosti optičnih parametrov (Baldini in sod., 1997). Debelejša listna kutikula lahko pomeni večjo odbojnost v območju NIR (Slaton in sod, 2001), debelina povrhnjice same pa vpliva na absorpcijo UV svetlobe (Gausman in sod., 1975). Pigmenti v epidermalnih celicah (večinoma flavonoidi) zmanjšujejo prehajanje UV-B sevanja, s čemer selektivno ščitijo notranja tkiva lista pred škodljivim sevanjem (Gould, 2004).

Večinoma se strukturi zgornje in spodnje povrhnjice razlikujeta, kar vpliva na različne optične lastnosti na zgornji ali spodnji površini lista.

### 2.2.3 Listna sredica

V mezofilu najdemo palisadno tkivo, kjer so celice tesno zložene ena zraven druge, ter rahlejšje, gobasto tkivo.

Palisadne celice imajo cilindrično obliko, 5-20 % njihovega volumna pa predstavlja zrak. Te celice imajo visoko koncentracijo kloroplastov, ki vsebujejo pigmente (večinoma klorofil *a* in *b* ter karotenoide). Koncentracija in razporeditev teh pigmentov kontrolira absorpcijo svetlobe v vidnem delu svetlobnega spektra (Wooley, 1971). Celice palisadnega tkiva prepuščajo vidno svetlobo v globine lista (Vogelmann in Martin, 1993). Običajno se formirajo na strani, kjer svetloba vstopa v list. V večini horizontalnih listov je torej palisadno tkivo prisotno na zgornji strani lista. Če listi rasejo bolj navpično, se lahko palisadno tkivo razvije na obeh straneh. V nekaterih listih stebričastega tkiva ni (Slaton in sod., 2001).



Gobasto tkivo je sestavljeno iz manjših, jajčastih do okroglih celic. Te celice vsebujejo manj kloroplastov, zrak pa predstavlja 50-80 % njihovega volumna. Tudi prostori med mezofilnimi celicami so napolnjeni z zrakom (Wooley, 1971). Sferične celice gobastega mezofila razpršujejo vidno svetlobo v notranjosti lista (Vogelmann in Martin, 1993).

Visoka odbojnost v NIR območju pri zelenih listih se lahko razloži z prisotnostjo zračnih prostorov v gobastem tkivu (Yoshimura in sod., 2010). Vrste z višjim razmerjem med palisadnim in gobastim tkivom naj bi ujele več NIR sevanja in imele zato nižjo odbojnost v tem območju (Vogelmann in Martin, 1993). Kaže, da imajo listi večine enokaličnic s kompaktno strukturo mezofila nižjo reflektanco v NIR območju, kot dorziventralni listi zelnatih dvokaličnic (Daughtry in Walthal, 1998).

#### **2.2.4 Specifična listna površina**

Specifična listna površina (SLA) je količnik med površino ene strani lista in njegovo suho maso. Ker je močno povezana z listno biokemijo in ekofiziologijo rastlin, že leta predstavlja pomemben element pri raziskavah. Razlike v specifični listni površini so povezane z variabilnostjo optičnih lastnosti lista, te pa vplivajo na spremembe v reflektanci celotne rastlinske združbe. Raziskave kažejo, da je specifična listna površina posredno povezana z odbojnim spektrom v zelenem, rdečem, NIR in NIR2 območju (Lymburner in sod., 2000).

Raziskovalci ugotavljajo tudi povezave med listno maso, izraženo na enoto površine (LMA) in optičnimi lastnostmi. Klančnik in sod. (2011) so potrdili, da je LMA povezana z različnimi deli spektra. Redudantna analiza (RDA) je pokazala, da LMA razloži 72 % (pri vrsti *P. amphibium*) in 57 % (pri vrsti *N. luteum*) variabilnosti odbojnega spektra.

### 3 MATERIAL IN METODE

#### 3.1 OBMOČJE RAZISKAV

Terensko delo je potekalo na območju Cerknškega jezera. Cerknško jezero leži v dinarskem krasu, sredi podolja, ki poteka od Planinskega polja na severozahodu, preko Cerknškega in Loškega polja do Babnega polja na hrvaški meji. Podolje je obdano z visokogorskimi kraškimi planotami (Javorniki, Snežnik, Menišija, Rakitniška in Bloška planota). Območje ima karbonatno geološko podlago z apnenci in dolomiti različnih starosti, na nekaterih mestih je dno zasuto s pleistocenskimi naplavinami (Frajman in Bačič, 2012). Na območju je velika pestrost habitatov, od gozdov (bukovi gozdovi, gozdovi črnega gabra, puhastega hrasta, bukovi gozdovi in gozdovi rdečega bora (Zupančič, 2002) do travnikov, pašnikov in ruderalne vegetacije ob območjih naselij. Nekatera območja so del leta poplavljeni, tam najdemo vlagoljubno vegetacijo. Na večjem delu površine jezera torej najdemo močvirske rastline ter vegetacijo mokrotnih travnikov (Gaberščik in Urbanc-Berčič, 2003). Visok vodostaj jezera omogoča optimalne razmere za rast in razvoj vodnih rastlin. Če je jezero poplavljeno čez celoten razvojni krog vodnih rastlin, se te uspešno oprašijo in razvijejo semena. Ko so semena razvita, vodostaj na vodne rastline več nima posebnega vpliva.

Popravljanje in presihanje je nepredvidljivo, zato v takšnem okolju lahko preživijo le določeni organizmi (Germ, 2003). Zaradi izmenjave sušnih in mokrih obdobij se je v tem okolju razvila posebna življenjska združba. Posebnost predstavljajo amfibijske rastline, ki dobro uspevajo tako v kopnem, kot v vodnem okolju. Nekateri vrste (npr. visoki trpotec in močvirski grint) pokažejo amfibijski značaj le v predelih, kjer voda ostane do presahnitve, drugje pa sta močvirski rastlini (Martinčič, 2003).

Na Cerknškem jezeru v predelih, kjer globina vode ne preseže dveh metrov in poplavljenost traja le mesec ali dva, uspevajo številne močvirske združbe: združbe trstičevja, bičkovja, šašja, močvirske site, presličja in trstične pisanke. Ko voda presahne, so tla še vedno dovolj vlažna za nadaljnji razvoj rastlin. Akvatična faza teh rastlin je posledično bistveno krajša od terestične faze (Martinčič in Leskovar, 2002).

Raziskave smo opravljali v obdobju, ko je jezero presahnilo, rastline pa so bile vitalne in v cvetoči fazi.

#### 3.2 OBRAVNAVANE RASTLINSKE VRSTE

Navadni trst (*Phragmites australis*) spada v družino trav (*Poaceae*). Je trajnica, razširjena po vsem svetu, od nižine do montanskega pasu. Rase v plitvi vodi, ob počasi tekočih in stoječih (tudi slanih) vodah, po barjih, močvirjih in vlažnih travnikih (Martinčič in sod.,

1999). Navadni trst tvori obsežne sestoje (*Phragmites australis*), ki veljajo za eno ogroženih okolij in predstavljajo pomemben življenjski prostor za številne ptice, ribe in vodne nevretenčarje. *P. australis* je prevladujoč predstavnik vegetacije na Cerknškem jezeru (Gaberščik, Urbanc-Berčič, 2003).

Trstična pisanka (*Phalaris arundinacea*) prav tako spada v družino trav (*Poaceae*). Cveti od junija do avgusta in je malo čez meter visoka rastlina. Je zelnata trajnica, razširjena od nižine do montanskega pasu. Rase na občasno poplavljenih tleh, na vlažnih travnikih, ob vodah, na prodiščih in ruderalnih mestih (Martinčič in sod., 1999).

Vodna perunika (*Iris pseudacorus*) spada v družino perunikovk (*Iridaceae*) in je od perunikovk, ki uspevajo v Sloveniji, najbolj vezana na vodo. Ima značilne rumene cvetove in zraste do 1,5 m v višino. Cveti od maja do junija. Uspeva v in ob vodnih jarkih, v trstičjih, močvirjih, ob obrežjih ribnikov in počasi tekočih vodah v nižinskem pasu (Martinčič in sod., 1999).

Bleščeči mleček (*Euphorbia lucida*) spada v družino mlečkovk (*Euphorbiaceae*). Uspeva na močvirskih travnikih, med vrbovjem in na bregovih voda (Martinčič in sod., 1999). Cveti od maja do avgusta, izjemoma tudi prej. Bleščeči mleček v Sloveniji uspeva le ob Cerknškem jezeru (Frajman in Jogan, 2007). Na Rdečem seznamu praprotnic in semenk (Pteridophyta & Spermatophyta) v Sloveniji je uvrščen med prizadete vrste (E).

Močvirski grint (*Senecio paludosus*) spada v družino nebinovk (*Asteraceae*). Cveti od junija do avgusta (Martinčič in sod., 1999). Lahko zraste tudi do dveh metrov visoko in je amfibijska rastlina, ki razvojni krog začne v vodi, nadaljuje pa na kopnem. V Rdečem seznamu praprotnic in semenk (Pteridophyta & Spermatophyta) je uvrščena med ranljive vrste (V).

Visoki trpotec (*Plantago altissima*) je zelnata trajnica, ki spada v družino trpotčevk (*Plantaginaceae*). Rastlina doseže višino od 50 do 70 cm. Rase na vlažnih travnikih, ob nabrežjih in na barjih v južni in jugozahodni Sloveniji, drugje je redka. Cveti od maja do septembra (Martinčič in sod., 1999).



Slika 1: Proučevane rastlinske vrste: levo zgoraj navadni trst (*Phragmites australis*), sledijo močvirski grint (*Senecio paludosus*), voda perunika (*Iris pseudacorus*), trstična pisanka (*Phalaris arundinacea*), visoki trpotec (*Plantago altissima*) in bleščeči mleček (*Euphorbia lucida*) (Vir fotografij: arhiv Notranjskega regijskega parka, 2007).

### 3.3 METODE DELA

#### 3.2.1 Nabiranje materiala ter delo na terenu in v laboratoriju

Rastlinski material smo nabirali na Cerknškem jezeru, v času od avgusta do septembra leta 2010, v jasnem in sončnem vremenu. Najprej smo izmerili fotokemično učinkovitost in transpiracijo, nato smo izbrane rastline s koreninami izkopal iz zemlje, jih dali v vrečke ter jih po hitrem postopku, da niso ovene, dostavili v laboratorij. Tam smo jih pripravili za nadaljnje raziskave. V laboratoriju smo jih zaščitili pred pretirano izgubo vlage. Nato smo izbrali čim bolj vitalne, zelene in polno razvite liste. Na njih smo naredili meritve odbojnih spektrov, biokemijske, anatomske in morfološke analize. Vsako meritev smo izvedli v petih paralelkah.

#### 3.2.2 Merjenje odbojnih spektrov

Na izbranih listih smo izmerili odbojne spektre. Merili smo jih s spektrofotometrom Jaz Modular Optical Sensing Suite (Ocean Optics, Inc., Dunedin, Florida, USA). Sfero ISP-30-6-R (Ocean Optics, Inc., FL, USA) smo prek optičnih kablov QP600-1-SR-BX (Ocean Optics, Inc., Dunedin, Florida, USA) povezali s svetlobnim virom UV-VIS-NIR (DH-2000, Ocean Optics, Inc., FL, USA) ter s spektrofotometrom. Spektrofotometer smo priključili na računalnik.

Referenčni spekter smo izmerili s pomočjo belega standarda (Ocean Optics, Inc., FL, USA), s čimer smo spektrofotometer umerili na 100 % odbojnost. Temni spekter smo posneli tako, da smo ugasnili svetlobni vir.

Pri merjenju smo pazili, da je sfera postavljena pravokotno na zgornjo listno površino. List smo osvetljevali s svetlobnim žarkom, pri tem pa pazili, da ne osvetljujemo na listni žili. Tako smo dobili spektre vzorčnih listov, ki so bili izračunani po naslednji enačbi (Baltzer in Thomas, 2005):

$$R = (R_v - R_t) / (R_s - R_t) \quad \dots (1)$$

$R_v$  - odboj svetlobe z listne površine

$R_t$  - referenca teme brez prisotnega lista in vira svetlobe

$R_s$  - referenca bele svetlobe brez prisotnega lista.

S spektralnimi zapisi smo operirali v računalniškem programu SpectraSuite (Ocean Optics, Inc., FL, USA). Spekter smo merili pri valovnih dolžinah od 280 do 887 nm, nekje trikrat na

en nm. Kasneje smo natančnost zmanjšali na interval 5 nm, da so bili rezultati bolj pregledni. Meritve smo izvajali v petih paralelkah.

Za lažjo obdelavo in primerjavo smo spektre razdelili na različna območja: UV-B, UV-A, vijolično, modro, zeleno, rumeno, rdeče in NIR.

### 3.2.3 Fiziološke meritve

Meritve na terenu smo opravljali ob sončnem vremenu. Temperatura zraka je bila 25-30 °C, relativna zračna vlaga 30-45 %, jakost fotosintezno aktivnega spektra sevanja (PPFD) pa vsaj 1700  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ .

Meritve smo izvajali na zdravih, zelenih in vitalnih listih. Fluorescenco klorofila *a* fotosistema II (PSII) smo merili z modulacijskim fluorometrom (OS - 500, OPTI-SCIENCES, Tyngsboro, MA, USA). Izbrane liste smo zatemnili za 15 minut, nato pa jih osvetlili s saturacijskim pulzom bele svetlobe (PPFD  $\approx$  8000  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ; trajanje 0,8 s). Nato smo lahko izmerili potencialno fotokemično učinkovitost PSII ( $F_v / F_m$ ). Dejansko fotokemično učinkovitost PSII (*Y*) smo merili na osvetljenih listih, ki smo jih osvetlili s pulzom bele svetlobe saturacijske jakosti (PPFD  $\approx$  9000  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ; trajanje 0,8 s). Potencialno ( $F_v / F_m$ ) in dejansko (*Y*) fotokemično učinkovitost smo izrazili v relativnih enotah:

$$\begin{aligned} F_v / F_m \text{ (relativna enota)} &= (F_m - F_o) / F_m && \dots (2) \\ Y \text{ (relativna enota)} &= (F_{ms} - F_s) / F_{ms} \end{aligned}$$

$F_o$  in  $F_m$  – minimalna in maksimalna fluorescenca temotno adaptiranega vzorca

$F_s$  in  $F_{ms}$  – minimalna in maksimalna fluorescenca svetlobno adaptiranega vzorca

S porometrom DECAGON (Model SC-1, USA) smo na listih izmerili še transpiracijo. Transpiracijo ocenjujemo neposredno preko spremembe vsebnosti vode v določeni časovni enoti ali posredno z izračunavanjem iz razlike v parcialnih vodnih tlakih in skupne difuzijske upornosti.

### 3.2.4 Anatomske in morfološke meritve

Iz svežih listov smo naluknjali krogce znane površine (8 mm). Pet krogcev skupaj je predstavljalo vzorec. Po pet vzorcev na rastlino smo uporabili za določevanje suhe in sveže mase, ostale vzorce pa smo shranili v zamrzovalnik, kjer so počakali na nadaljnje biokemijske analize. S tehtnico z miligramsko natančnostjo (Sartorius) smo stehali po pet vzorcev vsake rastlinske vrste, sveže takoj, suhe pa po 24-tih urah sušenja pri temperaturi 105 °C (sušilnik Sterimatic ST-11, Instrumentaria, Zagreb). Določili smo suho maso vzorcev (mg/ss) ter izračunali specifično listno površino (SLA):

$$SLA [cm^2 mg^{-1}] = P / ss \quad \dots (3)$$

ss - suha masa vzorca [mg]

P - površina vzorca [cm<sup>2</sup>]

Iz sveže nabranih listov smo si pripravili mikroskopske preparate. Čim tanjše prereze listov smo narezali s pomočjo polistirena, v katerega smo zataknil list. Na objektno stekelce smo kanili kapljo vode ter vanjo potopili nekaj prerezov. Preparat smo pokrili s krovnim stekelcem in si ga ogledali s svetlobnim mikroskopom (Olympus CX41, 100x pov.). Izmerili smo debelino lista, povrhnjice, stebričastega in gobastega tkiva oz. debelino enotne listne sredice. Lepše prereze smo tudi fotografirali.

Določali smo tudi število ter velikost listnih rež. Na zgornji in spodnji strani lista smo premazali lak, počakali, da se je posušil, ter ga odlupili z lista. Nato smo odlitke potopili v kapljo vode na objektnem stekelcu ter preparat pokrili s krovnim stekelcem. Pod svetlobnim mikroskopom (Olympus CX41, 400x) smo izmerili velikosti rež ter jih prešteli na enoto površine (mm<sup>2</sup>).

### 3.2.5 Biokemijske analize

Z biokemijskimi meritvami smo določevali vsebnosti klorofilov, karotenoidov, antocianov in UV absorbirajočih snovi. Vse analize smo opravili pri petih vzorcih.

Vsebnosti klorofilov *a* in *b* ter karotenoidov smo določili po metodi Lichtenthaler in Buchmann (2001). Vzorce, ki so vsebovali pet krogcev znane površine (8 mm), smo strli v terilnici. Nato smo naredili ekstrakcijo v 10 mL 100 % acetona (v/v), centrifugirali (Sigma 2-16 PK, Germany, 4000 rpm, 3 min) ter odčitali prostornine ekstraktov. Sledilo je merjenje ekstinkcij z UV/VIS spektrometrom (Lambda 25, Perkin-Elmer, Norwalk, CT, USA) pri valovnih dolžinah 470, 645 in 662 nm. Vsebnosti klorofilov (Kl *a*, Kl *b*) ter karotenoidov (Kar) smo izrazili na suho maso (g) in površino vzorca (cm<sup>2</sup>):

$$Kl\ a [mg\ g^{-1}\ ss; mg\ cm^{-2}] = c_a * V * 10^{-3} * ss^{-1}; c_a * V * 10^{-3} * P^{-1} \quad \dots (4)$$

$$Kl\ b [mg\ g^{-1}\ ss; mg\ cm^{-2}] = c_b * V * 10^{-3} * ss^{-1}; c_b * V * 10^{-3} * P^{-1} \quad \dots (5)$$

$$Kar [mg\ g^{-1}\ ss; mg\ cm^{-2}] = (1000 E_{470} - 1,9 c_a - 63,14 c_b) * V * 10^{-3} * ss^{-1} / 214; \\ (1000 E_{470} - 1,9 c_a - 63,14 c_b) * V * 10^{-3} * P^{-1} / 214 \quad \dots (6)$$

*c<sub>a</sub>* - koncentracija klorofila a (11,24 E<sub>662</sub> - 2,04 E<sub>645</sub>)

*c<sub>b</sub>* - koncentracija klorofila b (20,13 E<sub>645</sub> - 4,19 E<sub>662</sub>)

V - volumen ekstrakta [mL]

ss - suha masa vzorca [g]

P - površina vzorca [cm<sup>2</sup>]

E - ekstinkcija pri izbrani valovni dolžini

Vsebnost antocianov smo določali po Khare-ju in Guruprasad-u (1993). Vzorce s pet krogecev znane površine smo strli v terilnici, jih ekstrahirali v 10 mL ekstrakcijskega medija (metanol : HCl (37 %) = 99 : 1 (v/v)), jih centrifugirali (4000 rpm, 3 min) s centrifugo (Sigma 2-16 PK, Germany) ter odčitali volumen ekstraktov. Nato smo vzorce shranili v temi na 3-5 °C. Po 24-ih urah smo izmerili ekstinkcije pri 530 nm (spektrofotometer Lambda 25, Perkin-Elmer, Norwalk, CT, USA). Vsebnost antocianov (Ant) smo izrazili v relativnih enotah na težo suhe snovi (g) in na površino vzorca (cm<sup>2</sup>):

$$Ant \text{ (relativna enota)} = E_{530} * V * ss^{-1}; E_{530} * V * P^{-1} \quad \dots (7)$$

$E_{530}$  - ekstinkcija pri valovni dolžini 530 nm

V - prostornina ekstrakta [mL]

Ss - suha masa vzorca [g]

P - površina vzorca [cm<sup>2</sup>]

Vsebnost UV-B in UV-A absorbirajočih snovi smo določali po Caldwell-u (1968). Pet vzorcev na rastlinsko vrsto smo strli v terilnici, ekstrahirali v 10 mL ekstrakcijskega medija (metanol : destilirana voda : HCl (37 %) = 79:20:1 (v/v/v)), centrifugirali (10 000 rpm, 10 min) (Sigma 2-16 PK, Germany) ter odčitali volumen ekstraktov. S Spektrofotometrom (UV/VIS, Lambda 12, Perkin-Elmer, Norwalk, CT, USA) smo določili ekstinkcije pri valovnih dolžinah od 280 do 400 nm. Vsebnosti UV absorbirajočih snovi smo izračunali kot integral ekstinkcijskih vrednosti od 280 do 320 nm za UV-B ter od 320 do 400 nm za UV-A absorbirajoče snovi. Vsebnost UV absorbirajočih snovi (UV abs) smo izrazili v relativnih enotah na težo suhe snovi (g) in na površino vzorca (cm<sup>2</sup>):

$$UV \text{ abs (relativna enota)} = I * V^{-1} * ss^{-1}; I * V^{-1} * P^{-1} \quad \dots (8)$$

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

V - prostornina ekstrakta [mL]

ss - suha masa vzorca [g]

P - površina vzorca [cm<sup>2</sup>]

### 3.2.6 Statistična analiza podatkov

Iz meritev smo izračunali povprečje, mediano in standardni odklon. Podatke smo testirali, normalnost smo ugotavljali z Shapiro-Wilkovim testom. Naredili smo analizo variance – kadar so bili podatki razporejeni normalno, smo uporabili enosmerno analizo variance (ANOVA), kadar razporeditev ni bila normalna, pa Kruskal-Wallisov test z Bonferronijevo korekcijo. Rezultate odbojnosti smo zaradi boljše preglednosti preračunali na natančnost 5 nm. Spektre smo razdelili na različna območja: UV-B (280–319,95 nm), UV-A (320-399,73 nm), vijolično (400-454,94 nm), modro (455-499,88 nm), zeleno



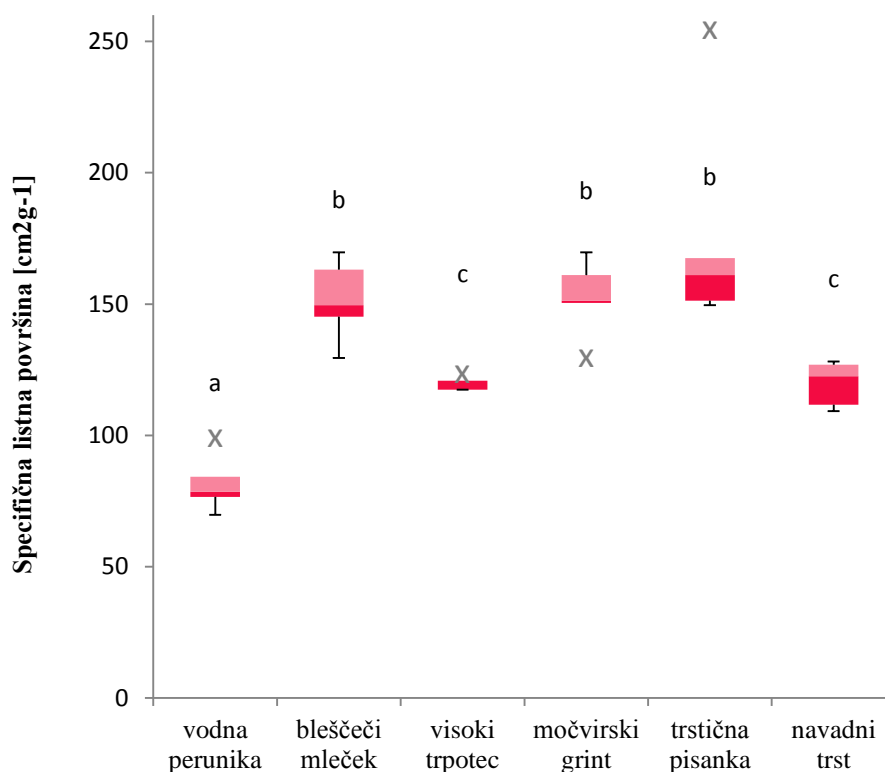
(500-579,74 nm), rumeno (580-619,86 nm), rdeče (620-699,94 nm) in NIR (700-800 nm). Odvisnost med odbojnostjo in posameznimi parametri smo analizirali s pomočjo Spearmanovega korelacijskega koeficienta. Spektre odbojnosti smo primerjali med različnimi vrstami s pomočjo klastrske analize z Wardovo metodo. Naredili smo tudi multivariantno analizo (RDA) za ugotavljanje vpliva izmerjenih parametrov na različne spektre. Za statistično analizo smo uporabili programa SPSS Statistics 19 (SPSS, Inc., IBM Company, ZDA) in Microsoft Excel 2013 z dodatkom (XLSTAT, Addinfost, ZDA). Rezultate smo predstavili z grafi, v obliki okvirjev z ročaji, na njih smo s črkami označili statistično značilne razlike. Verjetnost statističnih razlik smo označili kot  $p \leq 0,05$  in  $p \leq 0,01$ . Grafi z oznakami in razpredelnica so bili izdelani z Microsoft Excelom 2013 (z dodatkom XLSTAT in dodatkom XY Chart Labels).

## 4 REZULTATI

### 4.1 ANATOMSKE ZNAČILNOSTI

#### 4.1.1 Specifična listna površina

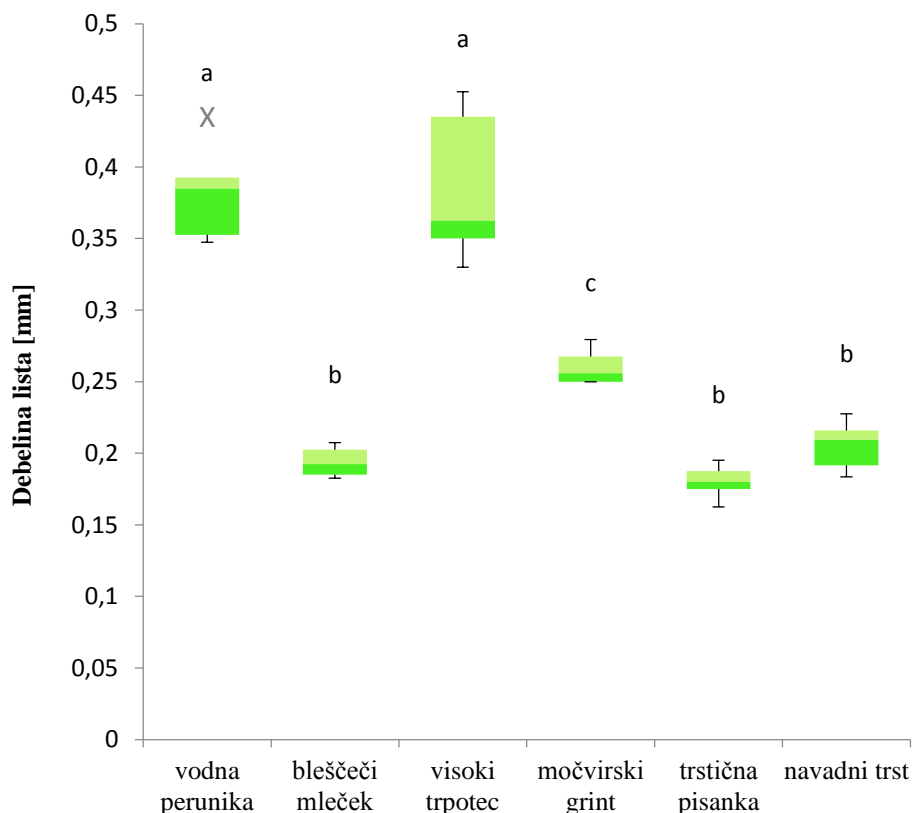
Največjo specifično površino (SLA) imajo listi bleščečega mlečka, močvirskega grinta in trstične pisanke, ki se medsebojno statistično značilno ne razlikujejo. Sledijo listi visokega trpotca in navadnega trsta, med njimi prav tako ni statistično značilnih razlik. Najmanjšo specifično listno površino, ki se od vseh ostalih vrst statistično značilno razlikuje, ima vodna perunika ( $p \leq 0,05$ ) (Slika 2).



Slika 2: Specifična listna površina (SLA). Podatki so prikazani kot okvirji z mediano, ki predstavljajo polovico podatkov, ročaji z neizstopajočimi podatki in oznakami **X**, ki predstavljajo izstopajoče vrednosti;  $n = 5$ . S črkami **a**, **b** in **c** so označene statistično značilne razlike med vrstami ( $p \leq 0,05$ , Kruskal-Wallisov test).

#### 4.1.2 Debelina lista

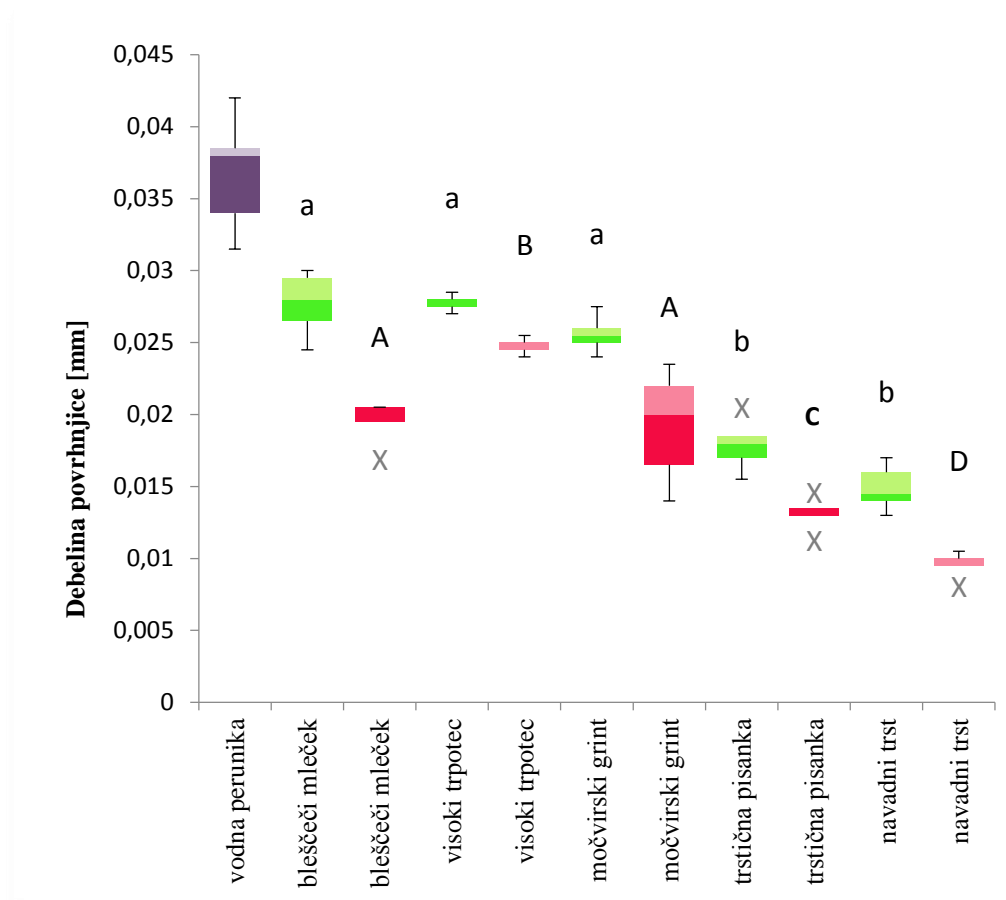
Najdebelejši list imata vodna perunika in visoki trpotec, debelina lista je pri teh dveh vrstah statistično podobna. Močvirski grint se v debelini lista statistično značilno razlikuje od vseh vrst ( $p \leq 0,05$ , Kruskal-Wallisov test). Statistično podobne in najmanjše debeline listov imajo bleščeči mleček, trstična pisanka in navadni trst (Slika 3).



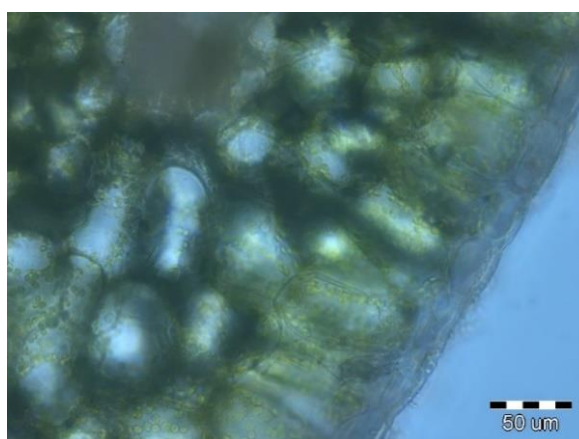
Slika 3: Debelina lista. Podatki so prikazani kot okvirji z mediano, ki predstavljajo polovico podatkov, ročaji z neizstopajočimi podatki in ozako X za izstopajočo vrednost;  $n = 5$ . S črkami **a**, **b** in **c** so označene statistično značilne razlike ( $p \leq 0,05$ , Kruskal-Wallisov test).

#### 4.1.3 Debelina povrhnjice

Najdebelejšo zgornjo povrhnjico ima list bleščečega mlečka, sledita visoki trpotec in močvirski grint. Te tri vrste so si v debelini zgornje povrhnjice statistično podobne in se značilno razlikujejo od trstične pisanke in navadnega trsta ( $p \leq 0,05$ , Kruskal-Wallisov test). Najdebelejšo spodnjo povrhnjico ima visoki trpotec. V debelini spodnje povrhnjice se vse vrste, razen bleščečega mlečka in močvirskega grinta, statistično značilno razlikujejo ( $p \leq 0,05$ ). List navadnega trsta ima obe povrhnjici najtanjši (Slika 4).



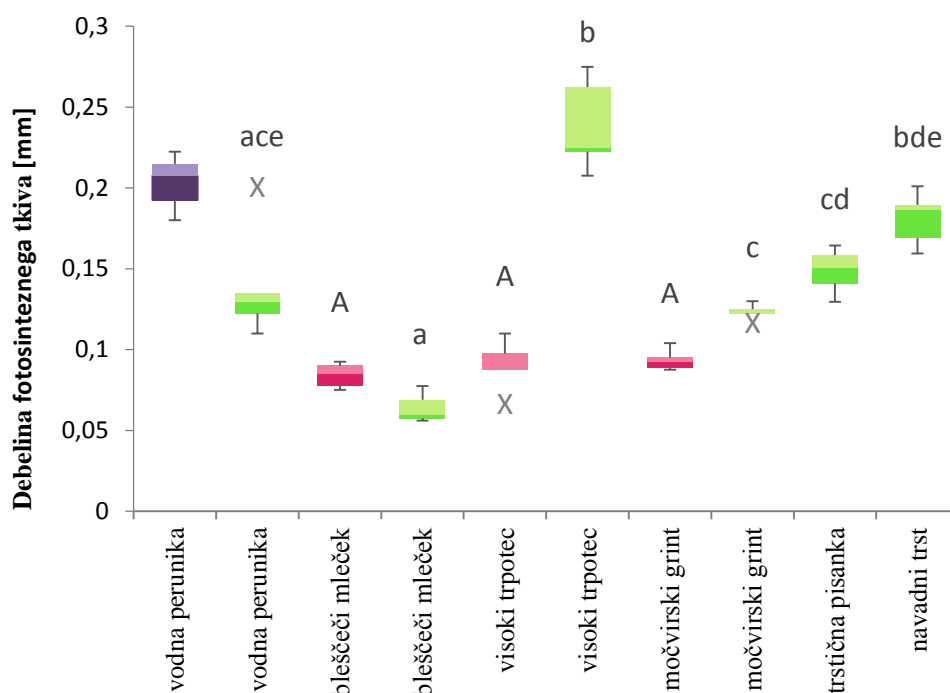
Slika 4: Debelina povrhnjice (zg. povrh. – zelena, sp. povrh. – rdeča, skupna - vijolična). Podatki so prikazani kot okvirji z mediano, križci predstavljajo izstopajoče vrednosti;  $n = 5$ . S črkami so označene statistično značilne razlike ( $p \leq 0,05$ , Kruskal-Wallisov test).



Slika 5: Povrhnjica pri visokem trpotcu (*P. altissima*).

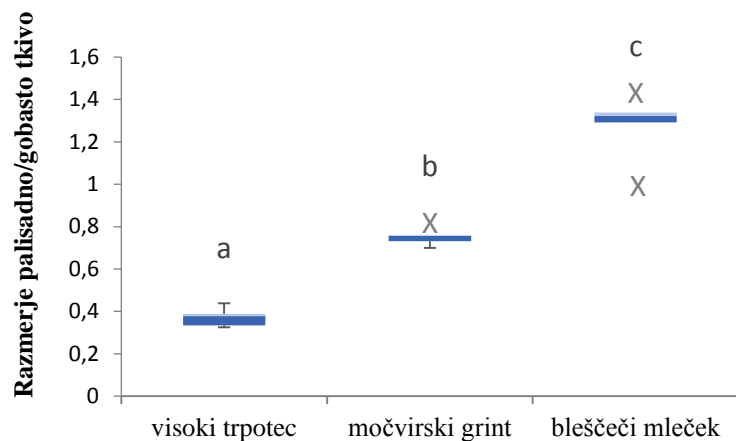
#### 4.1.4 Debelina listne sredice

Aerenhim je prisoten le v listu vodne perunike, stebričasto tkivo pa v listih bleščečega mlečka, visokega trpotca in močvirskega grinta. V debelini stebričastega tkiva med rastlinami ni statistično značilnih razlik. Drugače je pri gobastem tkivu, kjer je prisotnih kar nekaj statističnih razlik (Slika 6). Največ gobastega tkiva ima list visokega trpotca, najmanj pa list bleščečega mlečka.

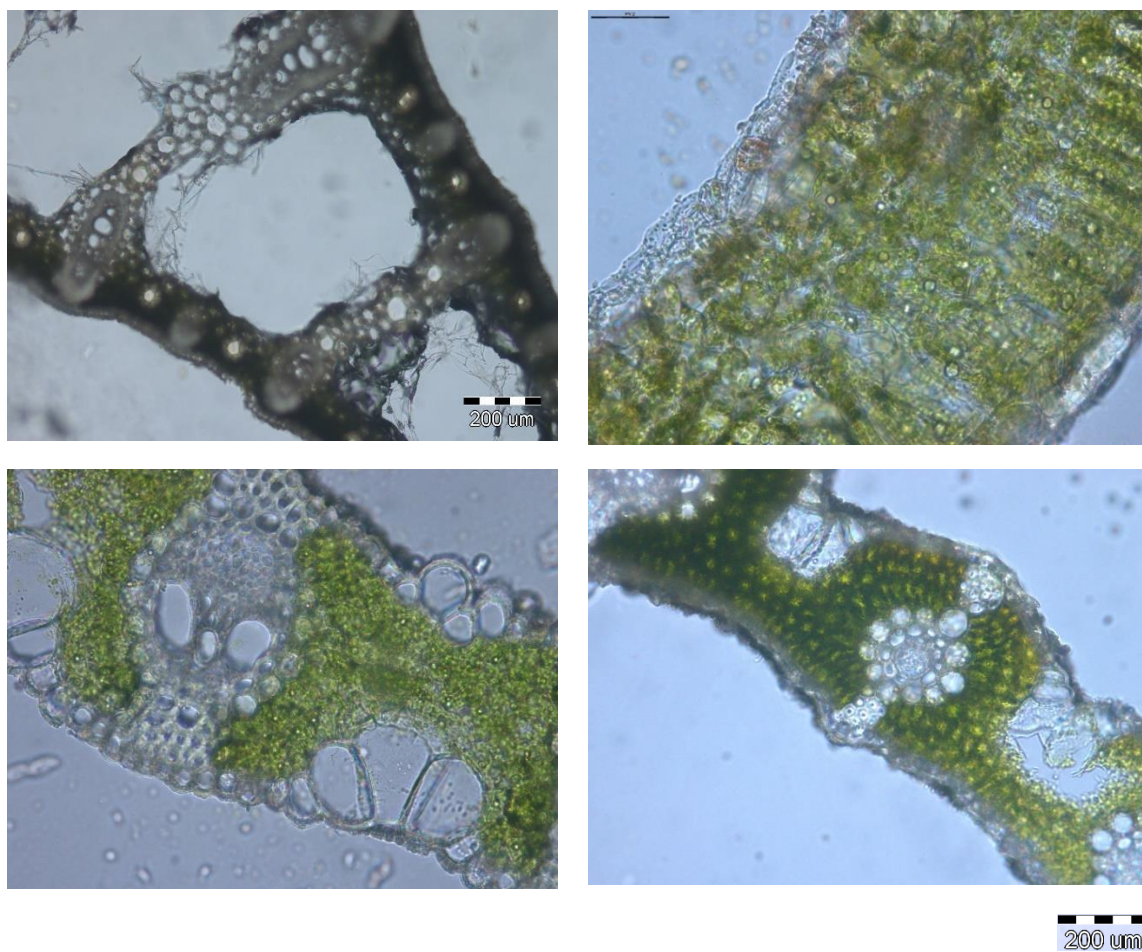


Slika 6: Debelina fotosinteznega tkiva (aerenhim – vijolična, stebričasto tkivo – rdeča, gobasto tkivo – zelena). Aerenhim je prisoten le pri vrsti *I. pseudacorus*. Podatki so predstavljeni kot okvirji z mediano, z oznako X so označene izstopajoče vrednosti; n = 5. S črkami so označene statistično značilne razlike ( $p \leq 0,05$ , ANOVA).

Razmerje med stebričastim in gobastim tkivom se pri vseh treh vrstah, ki so imele prisotni obe tkivi, statistično značilno razlikuje ( $p \leq 0,01$ ). List bleščečega mlečka ima daleč najvišje razmerje med stebričastim in gobastim tkivom, sledi list močvirskega grinta, najnižje razmerje ima list visokega trpotca (Slika 7).



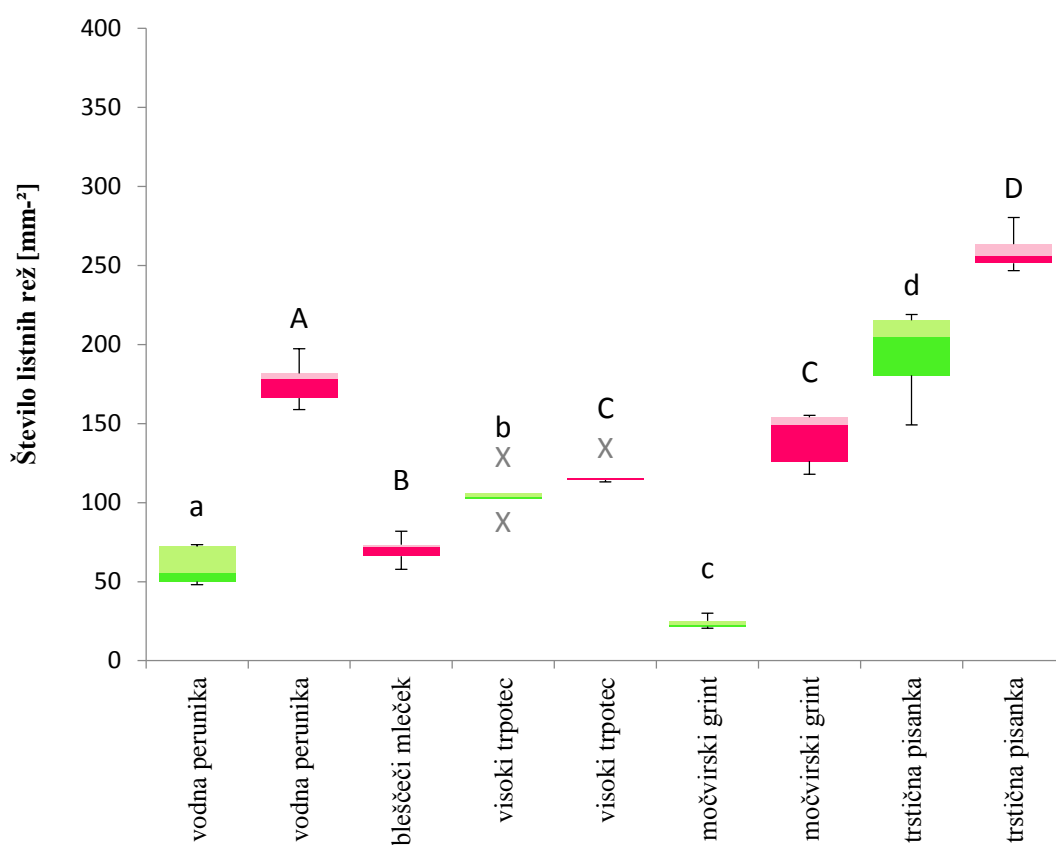
Slika 7: Razmerje med stebričastim in gobastim tkivom pri visokem trpotcu (*P. altissima*), močvirskem grintu (*S. paludosus*) in bleščečem mlečku (*E. lucida*); Rezultati so predstavljeni kot okvirji z mediano, ekstremne vrednosti so označene z X. Črke a, b in c predstavljajo statistično značilne razlike, n = 5 ( $p \leq 0,01$ , Kruskal-Walisov test).



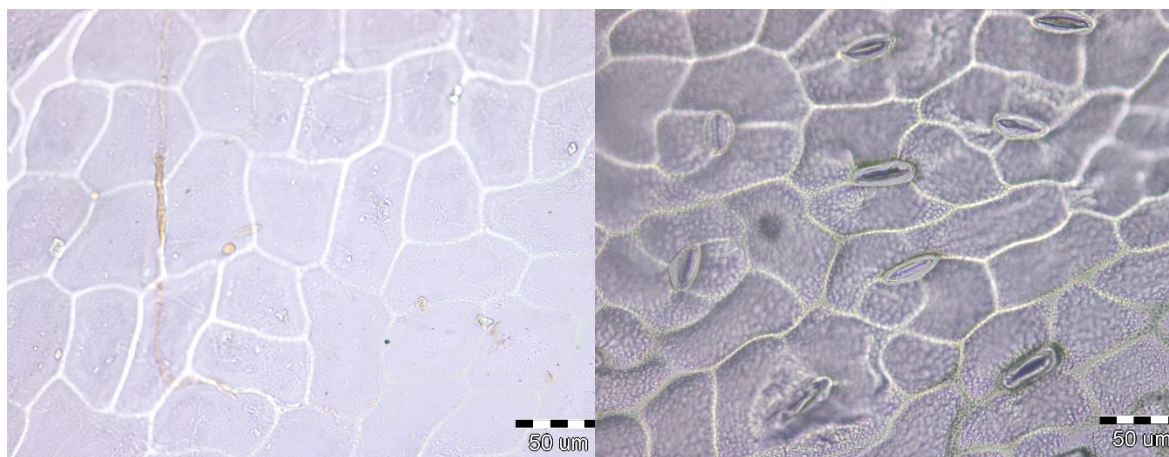
Slika 8: Prezezi listov. Levo zgoraj vodna perunika (*I. pseudacurus*), desno zgoraj močvirski grint (*S. paludosus*), levo spodaj trstična pisanka (*P. arundinacea*), desno spodaj navadni trst (*P. australis*).

#### 4.1.5 Anatomija rež

Daleč največ listnih rež v zgornji in spodnji povrhnjici je prisotnih pri navadnem trstu. Najmanj na zgornji povrhnjici jih ima močvirski grint, najmanj na spodnji pa bleščeči mleček. Število rež na zgornji povrhnjici se pri vseh vrstah statistično značilno razlikuje ( $p \leq 0,05$ ). Močvirski grint in visoki trpotec sta si statistično podobna v prisotnosti listnih rež na spodnji povrhnjici, vse ostale vrste se razlikujejo (Slika 9). Pri listu navadnega trsta je število listnih rež na spodnji povrhnjici daleč najvišje in se statistično značilno razlikuje od števila rež pri vseh ostalih vrstah pri  $p \leq 0,05$ . List bleščečega mlečka ima reže prisotne le na spodnji povrhnjici (Slika 10).

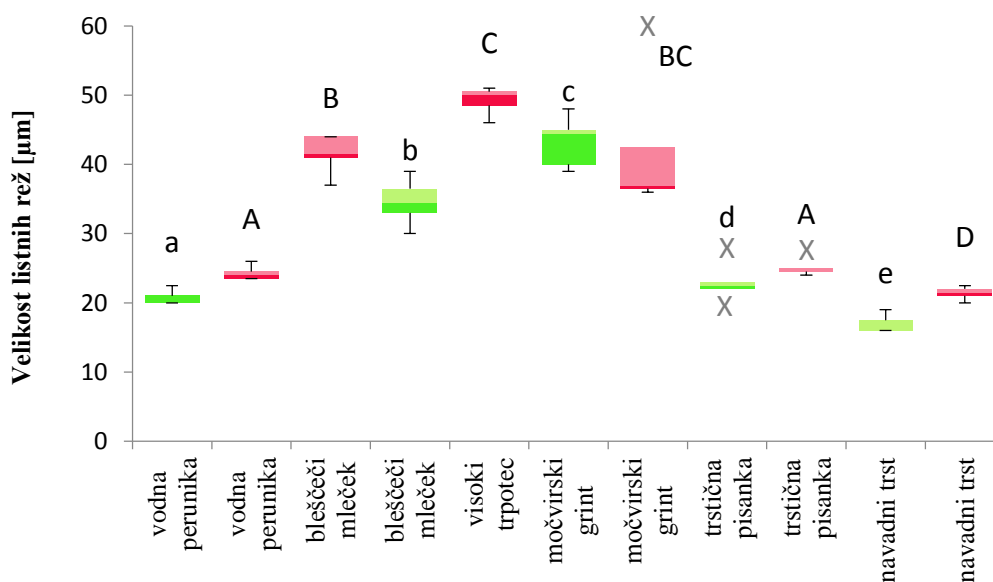


Slika 9: Število listnih rež (Reže na zgornji povrhnjici – zelena, reže na spodnji povrhnjici – rdeča). Rezultati so predstavljeni kot okvirji z mediano, ekstremsne vrednosti so označene z X;  $n = 5$ . Črke označujejo statistično značilno različnost ( $p \leq 0,05$ , Kruskal-Wallisov test); zaradi boljše preglednosti na grafu ni prikazanega števila listnih rež pri navadnem trstu (*P. australis*), ki nekajkrat presega vrednosti ostalih rastlin.



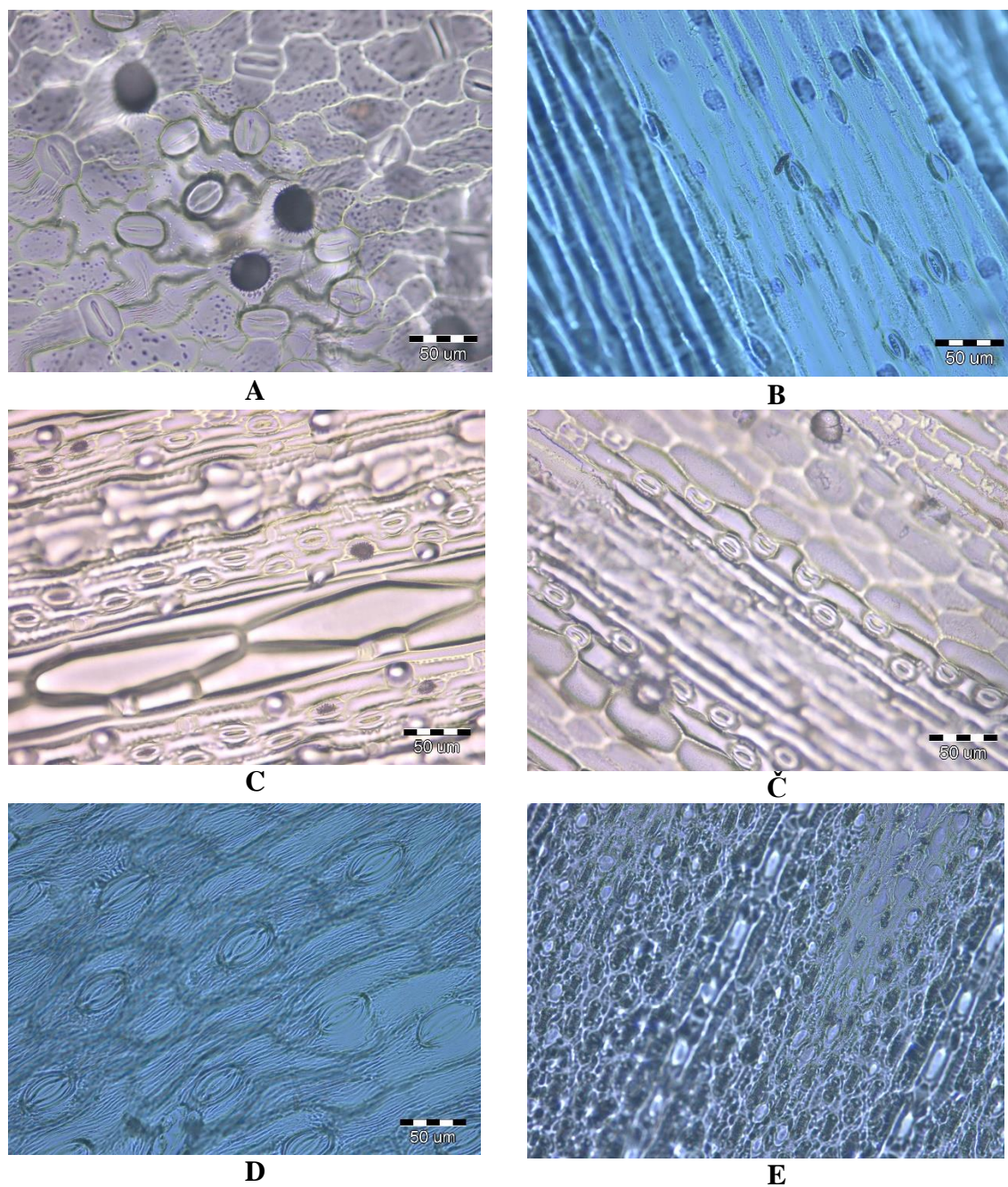
Slika 10: Zgornja povrhnjica (levo) in spodnja povrhnjica z listnimi režami (desno) pri bleščecem mlečku (*E. lucida*).

Na zgornji povrhnjici ima največje listne reže list močvirskega grinta, na spodnji pa list visokega trpotca. Vodna perunika in navadni trst imata na obeh povrhnjicah manjše listne reže, kot ostale vrste, sledi jima trstična pisanka. Največja razlika v velikosti rež na zgornji in spodnji povrhnjici je prisotna pri visokem trpotcu, ki ima reže na spodnji povrhnjici znatno večje. Vse proučevane rastline se v velikosti listnih rež na zgornji povrhnjici statistično značilno razlikujejo. Na spodnji povrhnjici sta si podobna list vodne perunike in list trstične pisanke, močvirski grint pa je v številu rež na spodnji povrhnjici statistično podoben bleščecem mlečku in visokemu trpotcu ( $p \leq 0,05$ ) (Slika 11).



Slika 11: Velikost listnih rež na zgornji (zelena) in spodnji (rdeča) povrhnjici. Rezultati so predstavljeni kot okvirji z mediano in ročaji, ekstremne vrednosti so označene s X. Z velikimi (sp. povrh.) in malimi (zg. povrh.) črkami so označene statistično značilne razlike ( $n = 5$ ,  $p \leq 0,05$ , Kruskal-Wallisov test).





Slika 12: Velikost in pogostost listnih rež. Močvirski grint (*S. paludosus*) - spodnja povrhnjica (A), vodna perunika (*I. pseudacorus*) (B), trstična pisanka (*P. arundinacea*) - spodnja (C) in zgornja (Č) povrhnjica, visoki trpotec (*P. altissima*) - spodnja povrhnjica (D) in navadni trst (*P. australis*) - spodnja povrhnjica (E); slikano pri 40x povečavi.

## 4.2 BIOKEMIJSKE ANALIZE

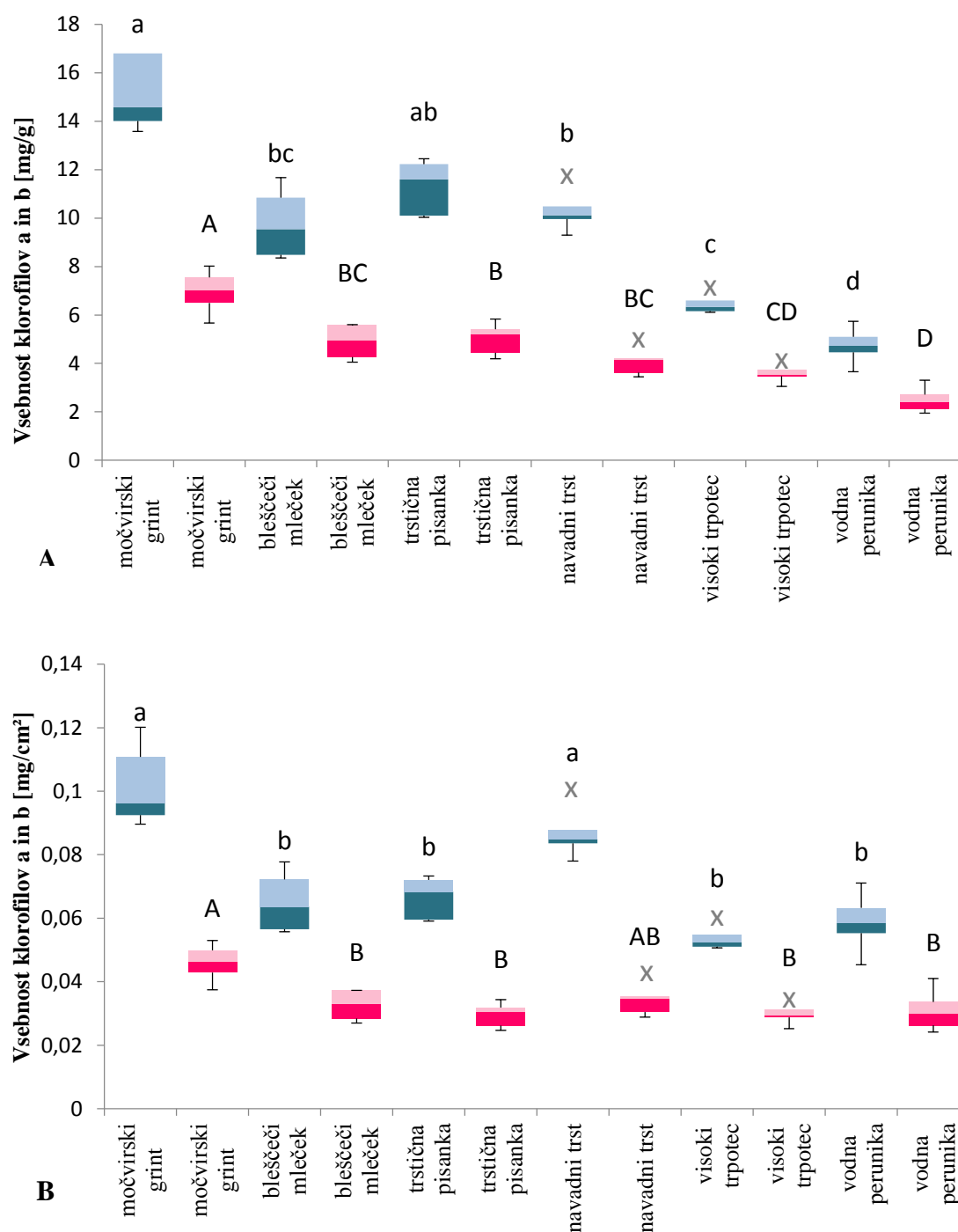
### 4.2.1 Vsebnost klorofila *a* in *b*

Vse proučevane vrste imajo opazno več klorofila *a*, kot *b*. Največ obeh vsebuje list močvirskega grinta. List navadnega trsta ima glede na površino več klorofila *a*, kot list trstične pisanke, a vsebnost glede na suho težo je podobna. Po vsebnosti klorofila *a* glede na suho maso so si statistično podobni bleščeči mleček, navadni trst in trstična pisanka. Vodna perunika in visoki trpotec se od vseh vrst v vsebnosti klorofila *a* na suho maso statistično značilno razlikujeta, močvirski grint pa se razlikuje od vseh vrst, razen od trstične pisanke ( $p \leq 0,05$ ) (Slika 13, A).

Drugače pa je pri vsebnosti klorofila *a* na površino. List navadnega trsta se statistično razlikuje od vseh, razen od lista močvirskega grinta. Pri ostalih vrstah ni statistično značilnih razlik (Slika 13, B).

Največ klorofila *b* vsebuje list močvirskega grinta. Ta vrsta se v vsebnosti klorofila *b* glede na suho maso tudi statistično značilno razlikuje od vseh ostalih vrst ( $p \leq 0,05$ ). List vodne perunike se v vsebnosti klorofila *b* na suho maso razlikuje od listov vseh vrst, razen od lista visokega trpotca. Listi bleščečega mlečka, navadnega trsta in trstične pisanke so si statistično podobni v vsebnosti klorofila *b* glede na suho maso (Slika 13, A).

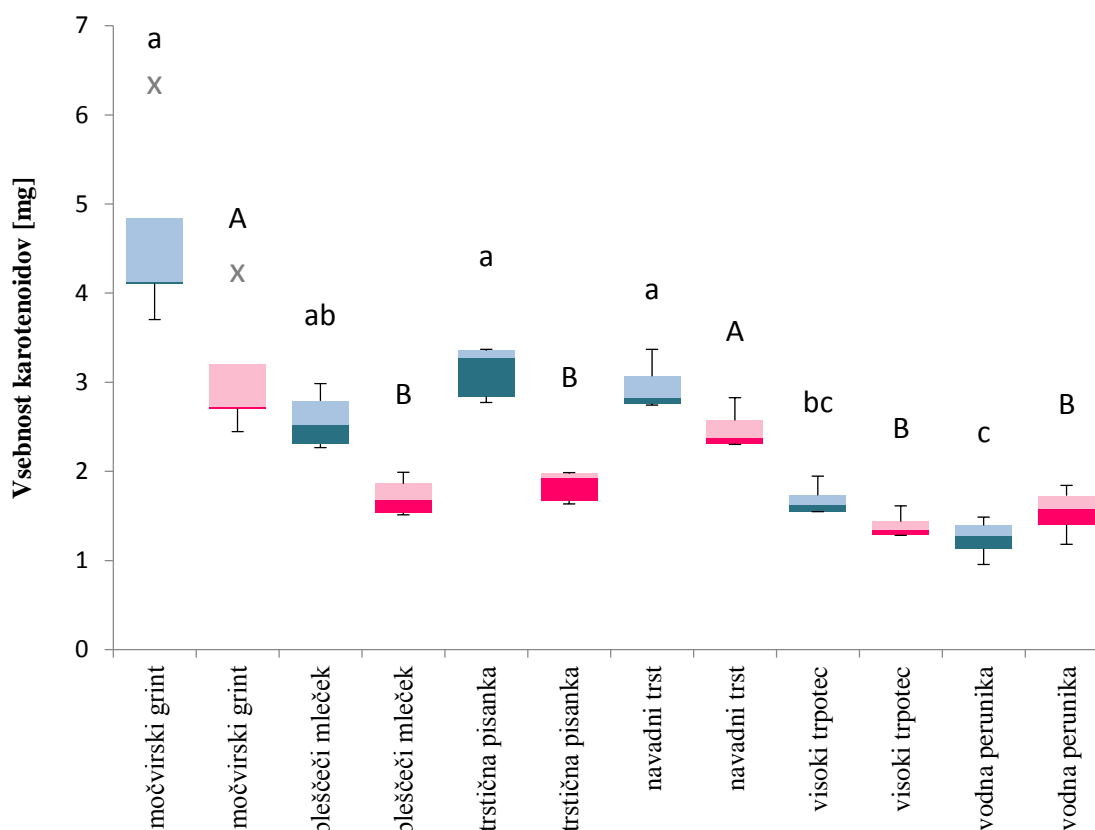
Pri vsebnosti klorofila *b* glede na površino se list močvirskega grinta razlikuje od vseh vrst, razen od lista navadnega trsta. Pri drugih vrstah ni opaziti statistično značilnih razlik ( $p \leq 0,05$ ) (Slika 13, B).



Slika 13: Vsebnost klorofila *a* in *b*. **A** – vsebnost kl. *a* (modra) in *b* (rdeča) glede na težo suhe mase [mg/g], **B** - vsebnost kl. *a* in *b* glede na površino [mg/cm<sup>2</sup>]; podatki so predstavljeni kot okvirji z mediano in ročaji, oznake **X** predstavljajo izstopajoče vrednosti; n = 5. Male (kl. *a*) in velike (kl. *b*) črke predstavljajo statistično značilne razlike ( $p \leq 0,05$ , test ANOVA).

#### 4.2.2 Vsebnost karotenoidov

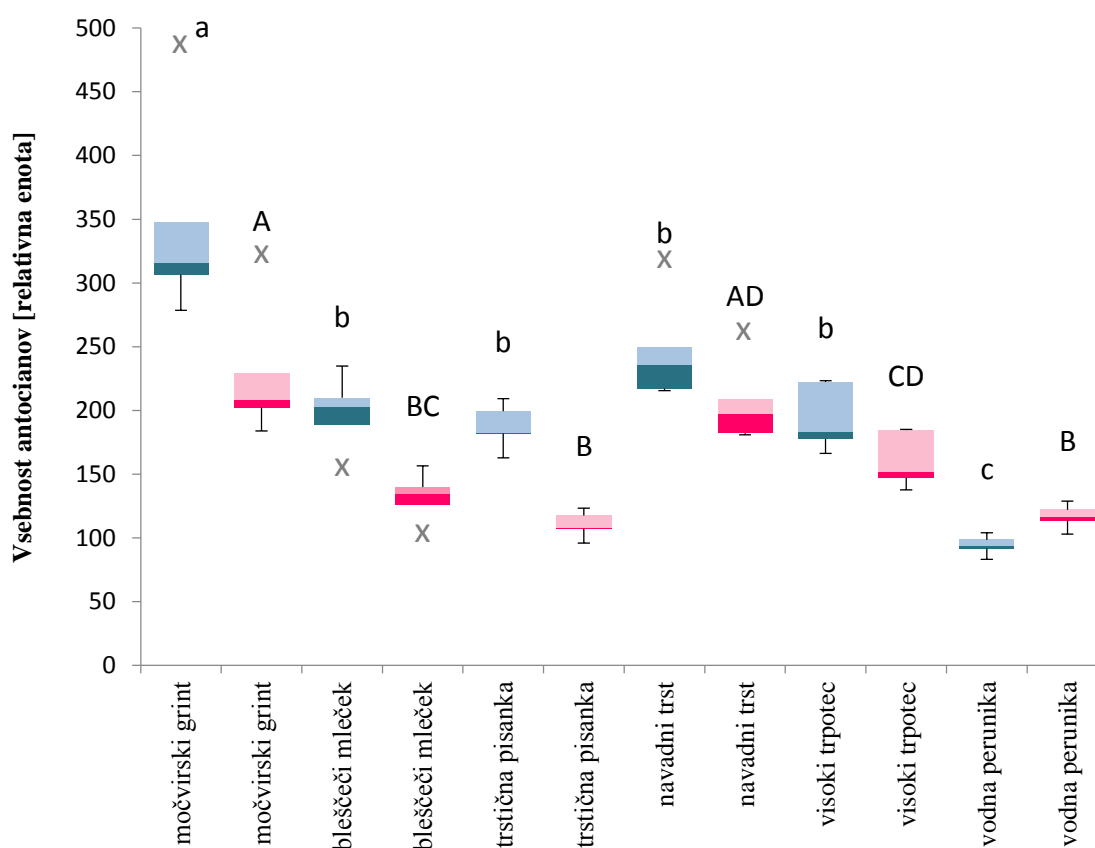
Največ karotenoidov (KAR) na suho snov in na površino lista ima močvirski grint. Najnižjo vsebnost KAR smo izmerili pri visokem trpotcu in vodni peruniki. Vse vrste, razen vodne perunike, imajo vsebnosti KAR višje glede na suho maso, kot glede na površino. List vodne perunike se po vsebnosti KAR na suho maso statistično značilno razlikuje od listov vseh vrst, razen od lista visokega trpotca, medtem ko je po vsebnosti KAR na površino statistično podoben listom bleščečega mlečka, visokega trpotca in trstične pisanke ( $p \leq 0,05$ ). Bleščeči mleček, navadni trst in trstična pisanka se po vsebnosti KAR na suho snov statistično značilno ne razlikujejo, po vsebnosti na površino pa se navadni trst razlikuje od obeh vrst ( $p \leq 0,05$ ). Močvirski grint se po vsebnosti KAR na suho snov statistično razlikuje od visokega trpotca in vodne perunike, glede na vsebnost na površino pa od vseh vrst, razen od navadnega trsta (Slika 14).



Slika 14: Vsebnost karotenoidov, izražena na maso suhe snovi lista [mg/g ss] (modra) in površino lista [mg/dm<sup>2</sup>] (rdeča). Podatki so prikazani kot okvirji z mediano, ki predstavljajo polovico podatkov, ročaji z neizstopajočimi podatki in oznakami X, ki predstavljajo izstopajoče vrednosti; n = 5; črke predstavljajo statistično značilne razlike ( $p \leq 0,05$ , test ANOVA).

### 4.2.3 Vsebnost antocianov

Najvišjo vsebnost antocianov (ANT) na suho snov ima močvirski grint, sledi mu navadni trst. Podobno je tudi pri vsebnosti antocianov na površino. Vse vrste, razen vodne perunike, imajo vsebnosti ANT višje glede na suho maso, kot glede na površino. Vodna perunika in močvirski grint se v vsebnosti ANT na suho snov statistično značilno razlikujeta od vseh vrst ( $p \leq 0,01$ ). Med listi visokega trpotca, bleščečega mlečka, navadnega trsta in trstične pisanke ni prisotnih statistično značilnih razlik v vsebnosti ANT na suho maso. V vsebnosti ANT na površino lista se vodna perunika značilno razlikuje od visokega trpotca, močvirskega grinta in navadnega trsta ( $p \leq 0,05$ ). Prav tako pa so prisotne statistično značilne razlike med listi visokega trpotca, močvirskega grinta in trstične pisanke. Močvirski grint se značilno razlikuje od vseh vrst, razen od navadnega trsta. Bleščeči mleček se v vsebnosti ANT na površino statistično razlikuje od močvirskega grinta in navadnega trsta (Slika 15).



Slika 15: Vsebnost antocianov, izražena na maso suhe snovi lista [rel. enota/g ss] (modra) in površino lista [rel. enota/dm<sup>2</sup>] (rdeča). Podatki so prikazani kot okvirji z mediano, ki predstavljajo polovico podatkov, ročaji z neizstopajočimi podatki in oznakami X, ki predstavljajo izstopajoče vrednosti; n = 5. S črkami so označene statistično značilne razlike ( $p \leq 0,05$ , test ANOVA).

#### 4.2.4 Vsebnost UV absorbirajočih snovi

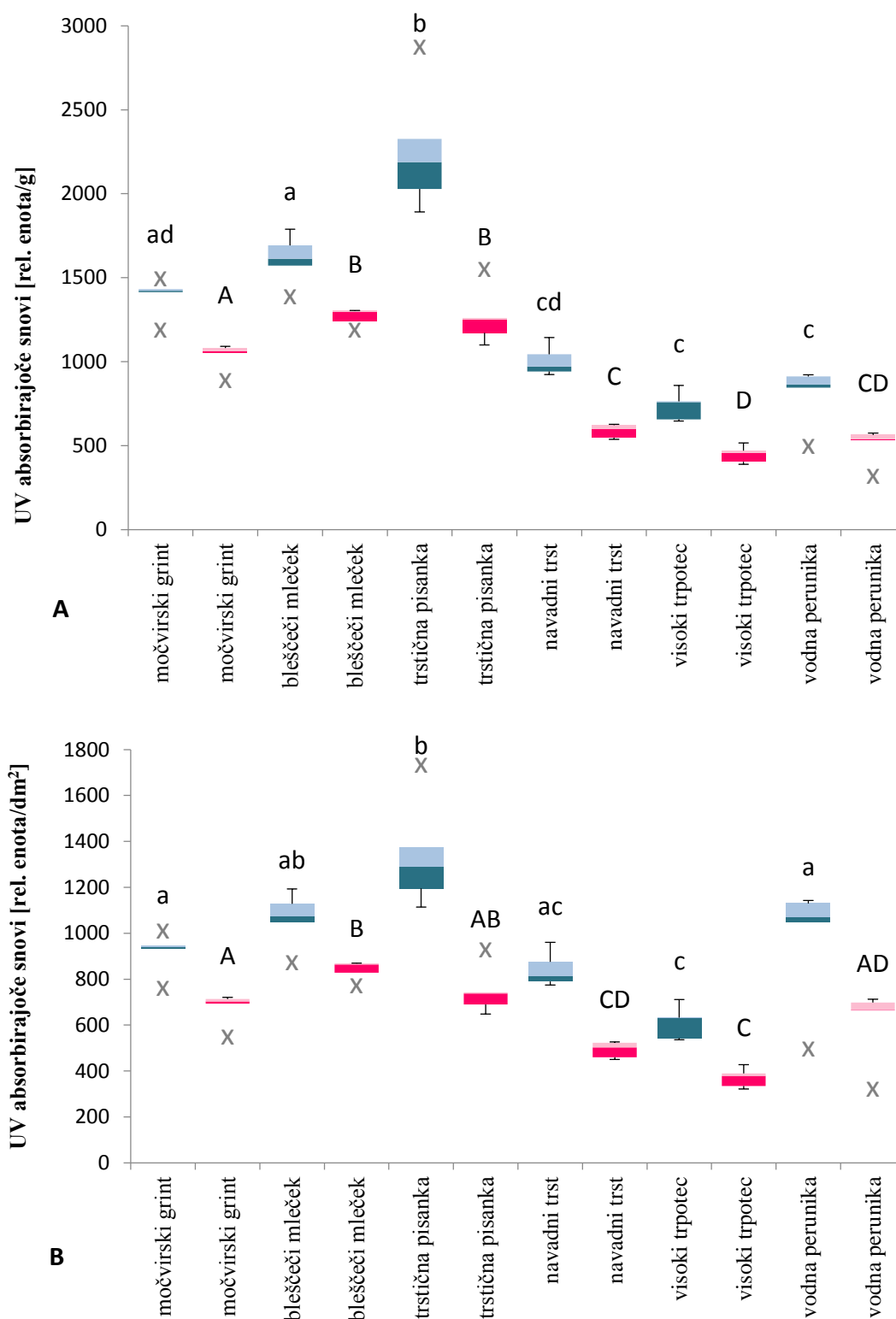
Vse vrste imajo več UV-A, kot UV-B absorbirajočih snovi. Največja razlika v vsebnosti UV-A in UV-B absorbirajočih snovi je prisotna pri trstični pisanke, ki ima v listu tudi najvišjo vsebnost UV-A absorbirajočih snovi. Najnižje vrednosti UV abs. snovi so prisotne pri visokem trpotcu.

V vsebnosti UV-A abs. snovi na suho maso ni statistično značilnih razlik med vodno peruniko, visokim trpotcem in navadnim trstom, prav tako tudi ne med močvirskim grintom in bleščečim mlečkom ter močvirskim grintom in navadnim trstom. Med vsemi ostalimi so prisotne statistično značilne razlike ( $p \leq 0,01$ , test ANOVA) (Slika 16, A).

V vsebnosti UV-A abs. snovi, izraženi na površino lista, se visoki trpotec statistično razlikuje od vseh, razen od navadnega trsta. Trstična pisanka se značilno razlikuje od vseh vrst, razen od bleščečega mlečka. Vodna perunika se statistično razlikuje od visokega trpotca in trstične pisanke ( $p \leq 0,05$ , test ANOVA) (Slika 16, B).

List vodne perunike je v vsebnosti UV-B abs. snovi na suho maso statistično podoben listom visokega trpotca in navadnega trsta. Podobna sta si tudi lista trstične pisanke in bleščečega mlečka. Vse ostale vrste se medsebojno statistično značilno razlikujejo ( $p \leq 0,05$ , Kruskal-Wallisov test) (Slika 16, A).

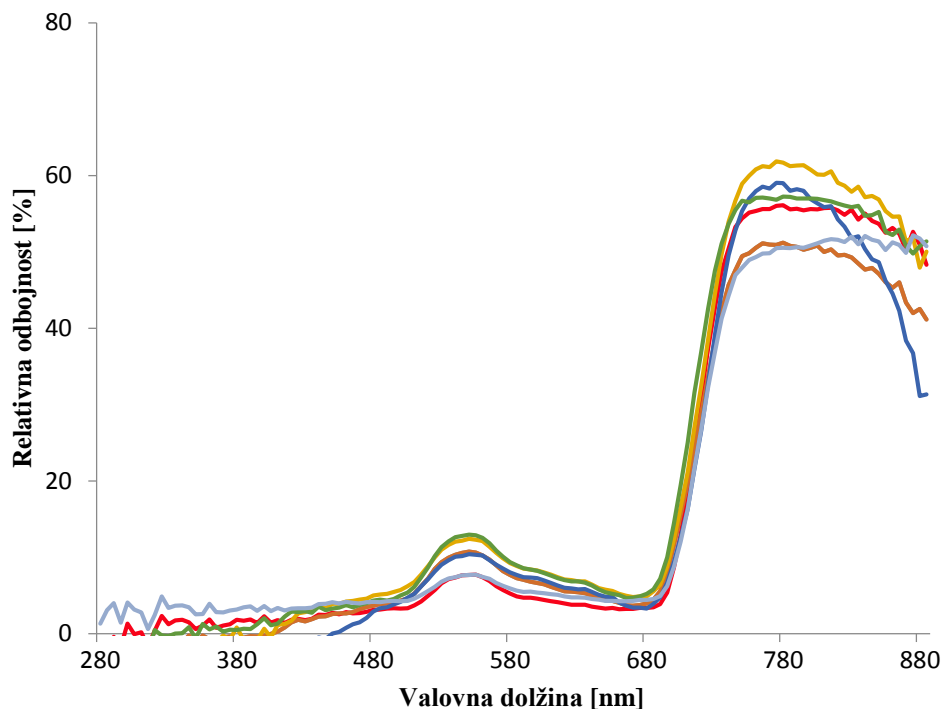
V vsebnosti UV-B abs. snovi, izraženi na površino lista, se statistično značilno medsebojno razlikujejo vodna perunika, visoki trpotec in bleščeči mleček, prav tako pa tudi močvirski grint, bleščeči mleček in navadni trst. Trstična pisanka se v vsebnosti UV-B abs. snovi na površino statistično značilno razlikuje od visokega trpotca in navadnega trsta ( $p \leq 0,01$ , test ANOVA) (Slika 16, B).



Slika 16: Vsebnost UV-A absorbirajočih snovi (modra) in UV-B absorbirajočih snovi (rdeča) na suho težo [rel. enota/g] (A) in na površino [rel. enota/dm<sup>2</sup>] (B). Podatki so prikazani kot okvirji z mediano, ki predstavljajo polovico podatkov, ročaji z neizstopajočimi podatki in oznakami X, ki predstavljajo izstopajoče vrednosti; n = 5. Črke predstavljajo statistično značilne razlike ( $p \leq 0,05$ , Kruskal-Wallisov test in test ANOVA).

### 4.3 ODBOJNOST LISTA

Oblika odbojnega spektra je pri vseh rastlinah podobna. Odbojnost je občutno najvišja v območju NIR sevanja (od vključno 700 nm naprej) in najnižja v območjih UV-B (od vključno 300 do 400 nm) in UV-A (od vključno 320 do 400 nm). V vidnem delu spektra je pri vseh vrstah opazen vrh v zeleni svetlobi (550 nm) (Slika 17).



Slika 17: Odbojni spektri listov bleščečega mlečka (*E. Lucida*) (—), vodne perunike (*I. pseudacorus*) (—), trstične pisanke (*P. arundinacea*) (—), navadnega trsta (*P. australis*) (—), visokega trpotca (*P. altissima*) (—) in močvirskega grinta (*S. paludosus*) (—); prikazane so povprečne vrednosti.

Statistično značilne razlike so prisotne tekom celotnega spektra. V UV območju (UV-A in UV-B) najbolj izstopata odbojna spektra navadnega trsta in močvirskega grinta, ki se statistično značilno razlikujeta od spektrov vseh proučevanih vrst. Tudi v vijoličnem območju se navadni trst razlikuje od vseh ostalih. Statistično značilna razlika pa je v vijoličnem območju prisotna tudi med močvirskim grintom in bleščečim mlečkom. V modrem delu spektra je med vrstami manj razlik: navadni trst se statistično značilno razlikuje od močvirskega grinta, visokega trpotca in trstične pisanke, razlika pa je tudi med močvirskim grintom in bleščečim mlečkom. Ostale vrste so si v modrem delu spektra statistično podobne. V zelenem delu spektra se vrste medsebojno večinoma precej razlikujejo. Statistično podobni so si le pari: vodna perunika in navadni trst, trstična pisanika in visoki trpotec (te dve vrsti imata v tem območju najvišjo odbojnost) ter močvirski grint in bleščeči mleček (najnižja odbojnost). Tudi v rumenem delu spektra je precej razlik med rastlinami. Vodna perunika, navadni trst in visoki trpotec so si medsebojno statistično



podobni, prav tako visoki trpotec in trstična pisanka ter močvirski grint in bleščeči mleček, med ostalimi vrstami prihaja do statistično značilnih razlik. Najnižjo odbojnost v rumenem delu spektra ima bleščeči mleček. V rdečem delu spektra so si vrste precej podobne, še posebno v delu, kjer se odbojnost strmo povečuje. Kljub temu pa se bleščeči mleček statistično značilno razlikuje od vseh ostalih vrst. Značilna razlika je prisotna tudi med močvirskim grintom in trstično pisanko. Najvišjo odbojnost v NIR delu spektra smo izmerili pri trstični pisanki, ki se statistično značilno razlikuje od vodne perunike, navadnega trsta in močvirskega grinta v celotnem NIR območju, od bleščečega mlečka in visokega trpotca pa v prvi polovici NIR območja.

Odbojna spektra bleščečega mlečka in močvirskega grinta sta razen v zelenem in rumenem delu spektra statistično različna. Odbojna spektra bleščečega mlečka in visokega trpotca sta si podobna v vidnem in rdečem delu. Odbojna spektra navadnega trsta in bleščečega mlečka sta si v celoti statistično različna. Odbojnosti lista vodne perunike in trstične pisanke sta si različni v vidnem delu spektra in v NIR območju. Vodna perunika in navadni trst imata podobno odbojnost le v NIR delu spektra. Odbojnosti visokega trpotca in vodne perunike se razlikujeta le v vidnem delu spektra in NIR. Trstična pisanka in navadni trst imata celoten odbojni spekter statistično različen, razen v rdečem delu spektra. Podoben odbojni spekter imata trstična pisanka in visoki trpotec, nekaj značilnih razlik se pojavi le v NIR območju spektra. Odbojnost lista navadnega trsta se v večini spektra značilno razlikuje od odbojnosti listov visokega trpotca in močvirskega grinta .

Odbojnost različno hitro narašča in pada tekom svetlobnega spektra (Preglednica 1). Pri vseh vrstah odbojnost naraste na prehodu iz UV-B v UV-A območja spektra, največja sprememba se pojavi pri navadnem trstu. Odbojnost naraste tudi na prehodih iz UV-A v vijolični, iz vijoličnega v modri in iz modrega v zeleni del spektra. Tudi pri teh prehodih so največje razlike pri navadnem trstu, najbolj položen dvig pa ima močvirski grint. Odbojnost nato pri vseh vrstah pade (tu med vrstami ni večjih razlik). Ponoven dvig se pojavi na prehodu iz rdečega dela spektra v NIR. Najvišji vzpon v tem območju se pojavi pri trstični pisanki, bleščečem mlečku in visokem trpotcu.

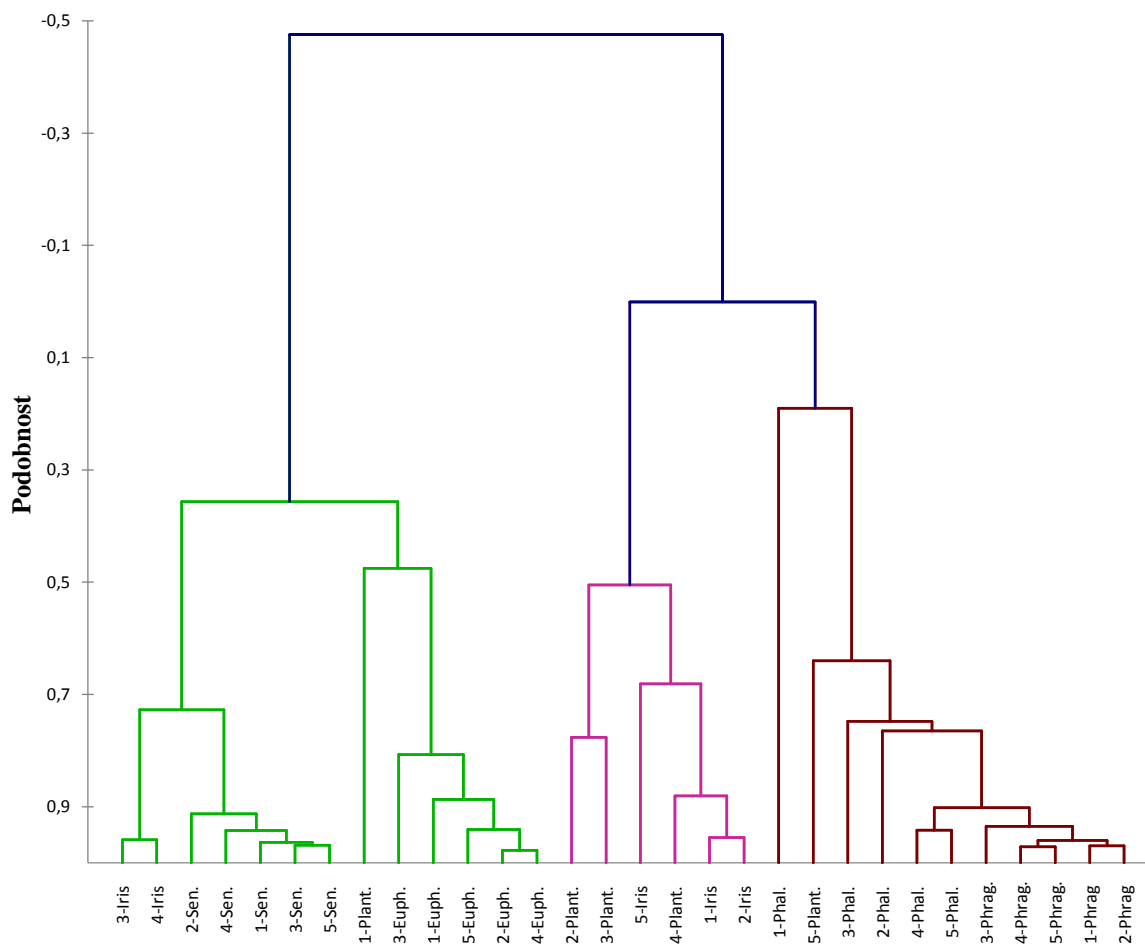
Preglednica 1: Dvigi ter padci odbojnosti listov [%] med različnimi svetlobnimi pasovi. Vrednosti so izračunane iz povprečij v posameznih pasovih.

	<b>UV-B → UV-A</b>	<b>UV-A → Vijolična</b>	<b>Vijolična → Modra</b>	<b>Modra → Zelena</b>	<b>Zelena → Rumena</b>	<b>Rumena → Rdeča</b>	<b>Rdeča → NIR</b>
Vodna perunika	4,73	2,17	1,87	5,36	-1,62	-2,03	39,64
Visoki trpotec	3,77	2,08	1,37	6,41	-1,79	-2,35	45,32
Močvirski grint	0,77	0,2	0,6	2,34	-0,91	-0,86	41
Bleščeči mleček	2,77	0,61	0,83	3,21	-1,33	-1,07	45,83
Navadni trst	13,65	6,15	4,64	6,82	-1,02	-2,52	41,96
Trstična pisanka	5,85	3,33	2,39	5,67	-1,68	-2,38	46,8

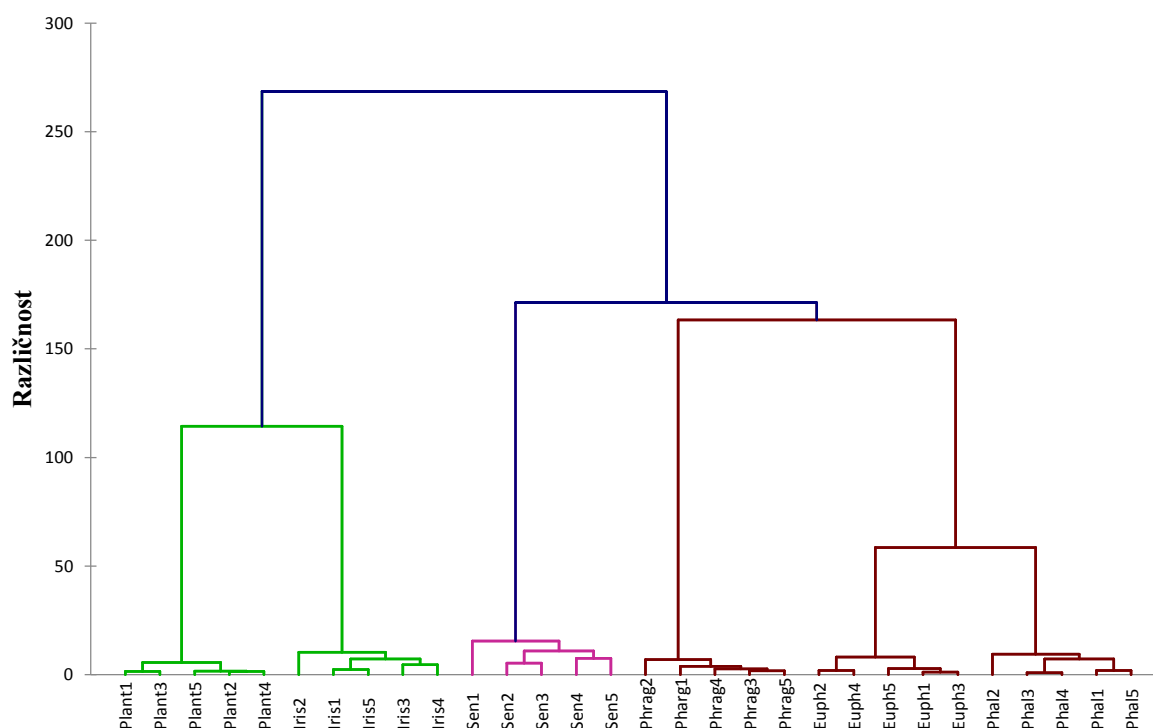
#### 4.3 ANALIZE PODOBNOSTI

Dendrogram podobnosti odbojnosti listov pri različnih rastlinah (Slika 18) prikazuje združevanje listov močvirskega grinta in bleščečega mlečka, prav tako sta združena trstična pisanka in navadni trst. Kaže se trend združevanja enokaličnic in dvokaličnic. Vzorec trstične pisanke je razpršen. Pri analizi so upoštevane izmerjene odbojne vrednosti posameznih vrst.

Dendrogram podobnosti anatomskih, morfoloških in biokemijskih lastnosti listov proučevanih rastlin (Slika 19) najbližje združuje vrsti bleščeči mleček in trstična pisanka ter vrsti visoki trpotec in vodna perunika. Pri analizi so upoštevani vsi merjeni morfološki in biokemijski parametri.



Slika 18: Dendrogram podobnosti odbojnih spektrov rastlin; **Iris** - vodna perunika (*I. pseudacorus*), **Sen.** - močvirski grint (*S. paludosus*), **Plant.** - visoki trpotec (*P. altissima*), **Euph.** - bleščeči mleček (*E. lucida*), **Phal.** - trstična pisanka (*P. arundinacea*), **Phrag.** - navadni trst (*P. australis*); vzorci 1-5; graf je podan s pomočjo klasterne analize z Wardovo metodo.



Slika 19: Dendrogram podobnosti proučevanih rastlin. Vključene so morfološke, anatomske in biokemijske lastnosti; **Iris** – vodna perunika (*I. pseudacorus*), **Sen** – močvirski grint (*S. paludosus*), **Plant** – visoki trpotec (*P. altissima*), **Euph** – bleščeči mleček (*E. lucida*), **Phal** – trstična pisanka (*P. arundinacea*), **Phrag** – navadni trst (*P. australis*); vzorci 1-5; graf je podan s pomočjo klastrske analize z Wardovo metodo.

Analiza odvisnosti z izračunavanjem Spearmanovega koeficienta korelacije v splošnem kaže večjo povezanost med odbojnostjo in anatomskimi ter morfološkimi lastnostmi lista, kot med odbojnostjo in biokemijskimi parametri lista (Preglednica 2).

V UV-B, UV-A in vijolični regiji se je pokazala pozitivna odvisnost pri debelini povrhnjice (tako zgornje, kot spodnje) ter pri dolžini rež na zgornji in spodnji povrhnjici. Negativno povezano s tem delom spektra je število listnih rež, ki je pozitivno povezano z zelenim in rumenim delom spektra.

Debelina stebričastega tkiva je pozitivno povezana z UV-B, UV-A, vijolično in modro regijo. Debelina gobastega tkiva je negativno povezana z UV regijo ter pozitivno z zeleno, rumeno in rdečo. Tudi razmerje med stebričastim in gobastim tkivom je pozitivno vezano na UV-B, UV-A, vijolični in modri del spektra. Debelina aerenhima je negativno povezana z zelenim in rumenim delom spektra.

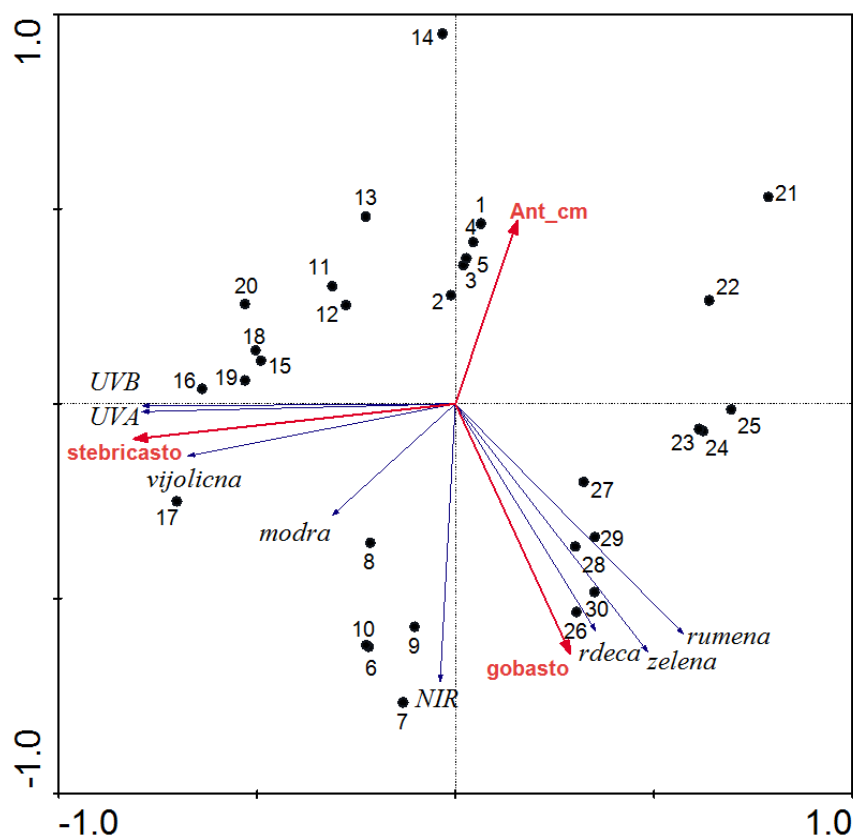
Vsebnost klorofila *a*, klorofila *b*, karotenoidov, antocianov in UV-B absorbirajočih snovi se kaže v vidnem delu spektra ter ima negativno povezavo (Preglednica 2).

Z NIR območjem obstaja povezava le z SLA in vsebnostjo klorofila *b* ( $p \leq 0,05$ ).

Preglednica 2: Vrednosti Spearmanovega korelacijskega koeficienta, ki prikazujejo stopnjo povezanosti odbojnosti in posameznih lastnosti listov; \*  $p \leq 0,05$ ; \*\*  $p \leq 0,01$ ; prikazani so le statistično značilni parametri.

	UV - B	UV - A	Vijolična	Modra	Zelena	Rumena	Rdeča	NIR
Specifična listna površina [ $\text{cm}^2/\text{g}$ ]	0,22	0,20	0,17	-0,03	-0,21	-0,24	-0,17	0,36*
Debelina zg. povrhnjice [mm]	0,59**	0,58**	0,49*	0,25	-0,18	-0,26	-0,17	0,14
Debelina sp. povrhnjice [mm]	0,62**	0,61**	0,60**	0,43*	0,06	0,00	0,12	0,25
Razmerje zg./sp. povrhnjica	-0,31	-0,31	-0,40*	-0,39	-0,38	-0,36	-0,44*	-0,37
Debelina aerenhima [mm]	-0,60	-0,60	-0,60	-0,60	-1,00**	-0,90*	-0,60	-0,60
Debelina stebričastega tkiva [mm]	0,57*	0,58*	0,76**	0,76**	0,41	0,42	0,37	0,13
Debelina gobastega tkiva [mm]	-0,44*	-0,44*	-0,24	0,02	0,75**	0,74**	0,69**	0,22
Razmerje stebričasto/gobasto tkivo	0,59*	0,59*	0,70**	0,76**	0,23	0,43	0,49	-0,38
Dolžina rež na zg. povrhnjici [ $\mu\text{m}$ ]	0,83**	0,84**	0,83**	0,65**	-0,10	-0,20	0,12	0,11
Dolžina rež na sp. povrhnjici [ $\mu\text{m}$ ]	0,59**	0,60**	0,56**	0,41*	-0,08	-0,15	0,02	0,27
Št. rež na zgornji povrhnjici [ $\text{mm}^{-2}$ ]	-0,75**	-0,73**	-0,65**	-0,34	0,45*	0,60**	0,32	0,37
Št. rež na spodnji povrhnjici [ $\text{mm}^{-2}$ ]	-0,55**	-0,56**	-0,42*	-0,15	0,37*	0,46**	0,35	-0,15
Klorofil a [ $\text{mg}/\text{cm}^2$ ]	0,09	0,09	0,03	-0,07	-0,47*	-0,32	-0,24	-0,36
Klorofil b [ $\text{mg}/\text{g}$ ]	0,37*	0,38*	0,34	0,28	-0,36	-0,26	-0,12	0,10
Klorofil b [ $\text{mg}/\text{cm}^2$ ]	0,33	0,32	0,23	0,04	-0,46*	-0,36	-0,20	-0,38*
Klorofil a in b [ $\text{mg}/\text{cm}^2$ ]	0,16	0,16	0,09	-0,05	-0,51**	-0,37*	-0,26	-0,38*
Karotenoidi [ $\text{mg}/\text{cm}^2$ ]	0,05	0,05	0,00	-0,08	-0,45*	-0,30	-0,24	-0,34
Antociani [rel. enota/g ss]	0,18	0,18	0,15	-0,52*	-0,38*	-0,24	-0,19	-0,12
UV-B abs [rel. enota/ $\text{cm}^2$ ]	0,30	0,32	0,18	0,05	-0,49**	-0,52**	-0,47**	0,05

Multivariantna analiza rezultatov kaže, da lahko 61,2 % variabilnosti odbojnega spektra razložimo z debelino stebričastega tkiva (38 %), debelino gobastega tkiva (16 %) in vsebnostjo antocianov (7 %) (Slika 20). Vsebnost antocianov ima močno negativno korelacijo z modrim delom spektra, a vpliva negativno na celoten spekter. Debelina stebričastega tkiva je pozitivno povezana z UV-A, UV-B in vijoličnim delom spektra, kaže se tudi pozitivna korelacija z modrim območjem. Debelina gobastega tkiva pozitivno vpliva najbolj na rdeči in zeleni del spektra, malo manj na NIR in rumeni del. Podatki kažejo tudi, da je najbolj homogeni vzorci vodne perunike, najbolj razpršeni pa vzorci močvirskega grinta. Na RDA grafu se pokaže, da imajo antociani najvišji vpliv pri vodni peruniki, gobasto tkivo pri trstični pisanki in stebričasto pri bleščečem mlečku.



Slika 20: Vpliv statistično značilnih parametrov na odbojni spekter, rezultati multivariantne analize (RDA). Z rdečo so označeni parametri, ki vplivajo na spekter (**Ant\_cm**: vsebnost antocianov, izražena na površino lista [ $\text{mg}/\text{cm}^2$ ]; **stebricasto**: debelina stebricastega tkiva [ $\text{mm}$ ]; **gobasto**: debelina gobastega tkiva [ $\text{mm}$ ],  $p \leq 0,05$ ); z modrimi vektorji so prikazani deli spektra; s številkami so označeni posamezni vzorci (1-5: vodna perunika, 6-10: visoki trpotec, 11-15: močvirski grint, 16-20: bleščeči mleček, 21-25: navadni trst in 26-30: trstična pisanka);

## 5 RAZPRAVA

Svetloba, ki pade na list, se deloma odbije, deloma absorbira, del pa je prehaja skozi list. V nalogi smo proučevali svetlobo, ki se odbije. Odbojnost svetlobne energije smo poskušali razložiti z anatomskimi, morfološkimi in biokemijskimi značilnostmi listov proučevanih rastlin. Odbojne spektre treh enokaličnic, navadnega trsta (*P. australis*), trstične pisanke (*P. arundinacea*) in vodne perunike (*I. pseudacorus*), ter treh dvokaličnic, močvirskega grinta (*S. paludosus*), bleščečega mlečka (*E. lucida*) in visokega trpotca (*P. altissima*), smo primerjali tudi med seboj in ugotavljali podobnosti ter različnosti v optičnih značilnostih med vrstami.

Največ statistično značilnih razlik se med rastlinami pojavi pri anatomskih in morfoloških lastnostih listov. Najbolj variabilna lastnost je velikost listnih rež, pri kateri se statistično značilne razlike pojavijo pri vseh vrstah. Listne reže so prisotne pri vseh rastlinah, razen na zgornji povrhnjici lista bleščečega mlečka. Precej variabilna je tudi debelina gobastega tkiva, medtem ko pri debelini stebričastega tkiva ni statistično značilnih razlik. Razmerje med stebričastim in gobastim tkivom se pri vseh treh vrstah, ki imajo v listih stebričasto tkivo, statistično razlikuje. Pri debelini lista izstopata vodka perunika in visoki trpotec, ki imata precej debelejša liste od ostalih vrst. V specifični listni površini razlike niso zelo opazne, izstopa le perunika z najnižjo SLA. Manj opazne, čeprav še vedno statistično značilne razlike, se pojavijo pri biokemijskih lastnostih. V vsebnosti klorofila *b* v splošnem ni izrazitejših razlik med rastlinami. Več razlik je v vsebnosti klorofila *a* in karotenoidov. Najvišjo vsebnost vseh barvil (klorofilov *a* in *b*, karotenoidov ter antocianov) ima list močvirskega grinta. Najnižjo vsebnost UV absorbirajočih snovi opazimo pri vrsti visoki trpotec. Največja razlika med vsebnostjo UV-A in UV-B absorbirajočimi snovmi je prisotna pri trstični pisanki.

Odbojni spektri zdravih, zelenih in razvitih listov imajo nekaj skupnih značilnosti (Underwood in sod., 2007). Odbojnost je nizka v UV delu spektra in območju vidne svetlobe, kjer se pojavi vrh v zelenem delu (pri 550 nm). V prehodu iz rdeče svetlobe v NIR območje odbojnost strmo naraste in ostane visoka v NIR območju (Gates in sod., 1965). Tudi odbojni spektri, izmerjeni v naši raziskavi, imajo podobno obliko. Kljub relativno variabilnim merjenim morfološkim in biokemijskim parametrom imata najmanj variabilen spekter odbojnosti vrsti bleščeči mleček in močvirski grint (Preglednica 1). Sklepamo, da je na njun spekter vplivalo še mnogo dejavnikov, ki jih nismo spremljali. Od vrst izstopa trstična pisanka, katere odbojnost je v splošnem najvišja, razen v UV območju (Slika 17), poleg tega pa je njen odbojni spekter relativno variabilen (Preglednica 1). Vzorci te vrste so sodeč po analizah (RDA) najbolj razpršeni. Mogoče je, da so bili nekateri listi te vrste starejši oz. v različnih fizioloških stanjih.

Statistično značilne razlike med rastlinami se pojavljajo čez celoten spekter. Največ razlik je v UV območju, v zelenem, rumenem in NIR delu spektra. Vrste so si najbolj podobne v

modrem in rdečem delu, domnevno zato, ker ima v tem območju na spekter največji vpliv vsebnost fotosinteznih barvil, ki se pri proučevanih vrstah ne razlikuje bistveno. Daleč najmanj razlik se v odbojnem spektru pokaže pri trstični pisanki in visokem trpotcu, ki se statistično značilno razlikujeta le v NIR delu spektra. Največ statistično značilnih razlik se pojavi med enokaličnico navadni trst ter vsemi tremi dvokaličnicami.

V dendrogramu podobnosti odbojnih spektrov (Slika 18) lahko opazimo trend združevanja listov enokaličnic in dvokaličnic. Vodna perunika, trstična pisanka in navadni trst so z izjemo nekaj vzorcev združene v svoj del dendrograma, pri čemer sta si bolj podobna navadni trst in trstična pisanka. Vodna perunika se od vseh proučevanih vrst razlikuje tudi v morfoloških značilnostih – velik del njenega lista zavzema aerenhim. Podobna sta si tudi močvirski grint in bleščeči mleček, vzorci visokega trpotca so bolj razpršeni. Razpršenost vzorcev lahko razložimo z vplivom rastišča ter razmer, v katerih je vzorčena rastlina rasla. V dendrogramu podobnosti anatomskih, morfoloških in biokemijskih lastnosti listov (Slika 19) se vrste združujejo popolnoma drugače: najbolj podobna sta si visoki trpotec in vodna perunika ter bleščeči mleček in trstična pisanka. Rezultat kaže na to, da so morfološke, anatomske in biokemijske razlike med proučevanimi enokaličnicami in dvokaličnicami manjše, kot razlike med posameznimi vrstami. Zato domnevamo, da razlik v odbojnih spektrih med eno in dvokaličnicami ne moremo razložiti zgolj z merjenimi biokemijskimi in morfološkimi značilnostmi rastlin.

Multivariantna analiza podatkov (RDA) nam je pokazala, da na odbojni spekter od merjenih lastnosti najbolj vplivajo debelina stebričastega tkiva (razloži 38 % variabilnosti spektra;  $p \leq 0,01$ ), debelina gobastega tkiva (razloži 16 % variabilnosti spektra;  $p \leq 0,01$ ) in vsebnost antocianov na površino lista (razloži 7 % variabilnosti spektra;  $p \leq 0,05$ ) (Slika 20). Vsebnost antocianov vpliva negativno, največji vpliv ima na moder del spektra. To je razumljivo, saj višja vsebnost pigmentov zaradi njihove absorpcije svetlobe povzroči nižjo odbojnost. Graf RDA nam nakazuje najvišji vpliv vsebnosti antocianov pri močvirskem grintu in vodni peruniki. Domnevamo, da je vpliv mogoče razložiti z visoko (pri močvirskem grintu) in zelo nizko (pri vodni peruniki) vsebnostjo antocianov. Relativno močno je vsebnost antocianov pomembna tudi pri navadnem trstu. Negativno povezanost vsebnosti antocianov z vidnim delom odbojnega spektra je potrdil tudi izračun Spearmanovega koeficienta (Preglednica 2).

Debelina stebričastega in gobastega tkiva sta z odbojnostjo v pozitivni korelaciji. Debelina stebričastega tkiva ima močen vpliv na UV-A, UV-B in vijoličen del spektra, kar poleg redundantne analize potrdi tudi korelacijska analiza Spearmanovega koeficienta (Slika 20, Preglednica 2). Njen vpliv je najmočnejši pri bleščečem mlečku, kar se lahko razloži s tem, da ima od opazovanih vrst najvišje razmerje med stebričastim in gobastim tkivom. Debelina gobastega tkiva je močno povezana najbolj z rdečim, pa tudi z zelenim, rumenim in NIR delom spektra (RDA analiza). Izračun Spearmanovega koeficienta ravno tako kaže pozitivno



korelacijo gobastega tkiva z omenjenimi deli spektra, vendar kaže tudi negativno korelacijo z UV območjem. Sferične celice gobastega tkiva vsebujejo manj kloroplastov (kar zaradi barvil vpliva na odbojnost v vidnem delu spektra) in več zraka od stebričastega tkiva. Tudi med celicami gobastega tkiva je veliko zračnih prostorov, kar povzroči višjo odbojnost v NIR delu spektra (Yoshimura in sod., 2010). Vzorci visokega trpotca in trstične pisanke se na RDA grafu nahajajo zelo blizu vektorja, ki prikazuje vpliv gobastega tkiva. List visokega trpotca ima najdebelejšo gobasto tkivo od listov proučevanih vrst, veliko ga ima tudi list trstične pisanke, zato je verjetno pri teh dveh vrstah vpliv najmočnejši.

Vse vrste imajo izredno nizko odbojnost v celotnem UV območju (200-400 nm). Nizko odbojnost v tem delu spektra pripisujemo predvsem absorpciji UV absorbirajočih snovi. V območju UV-B svetlobe je pri vseh proučevanih rastlinah nižja odbojnost, kot v UV-A. Odbojnost v UV-B območju bi lahko bila povezana tudi z vsebnostjo karotenoidov in antocianov, barvil, ki list ščitijo pred škodljivim UV-B sevanjem (Gould, 2004). Poleg biokemijskih lastnosti na UV del odbojnega spektra vplivajo tudi anatomske in morfološke značilnosti, kot so specifična listna teža, debelina lista, gostota trihomov (Filella in Peñuelas, 2012) in debelina povrhnjice (Gausman in sod., 1975). Vpliv debeline povrhnjic na odbojnost v UV območju se potrди tudi v naši preiskavi (Preglednica 2).

Pri merjenju odbojnosti se nam je v UV območju pojavilo veliko negativnih vrednosti, kar kaže na šum. Pri vodni peruniki, navadnem trstu in trstični pisanki so vrednosti večinoma negativne, zato sklepamo, da imajo listi teh vrst zelo nizko odbojnost v UV območju, v vrednosti blizu nič. V interpretaciji rezultatov se bomo držali le spektrov rastlin, pri katerih smo dobili pozitivne rezultate. Če primerjamo močvirski grint, bleščeči mleček in visoki trpotec, opazimo, da ima list močvirskega grinta najvišjo odbojnost, list visokega trpotca pa najnižjo odbojnost v UV delu spektra (Slika 17). Visoki trpotec ima sicer od teh treh vrst najnižjo vsebnost UV-A in UV-B absorbirajočih snovi, najvišjo ima bleščeči mleček (Slika 16). Najvišjo odbojnost pri močvirskem grintu morda lahko pripišemo drugim značilnostim: ta vrsta ima od omenjenih treh najvišjo vsebnost antocianov (Slika 15) in karotenoidov (Slika 14), relativno debelo zgornjo in spodnjo povrhnjico (Slika 4), prav tako pa lahko na odbojnost vplivajo parametri, ki v nalogi niso bili izmerjeni (debelina kutikule, voski). Korelacijske analize (izračun Spearmanovega koeficienta) so pokazale, da so razlike v odbojnosti v UV območju značilno povezane z debelino zgornje in spodnje povrhnjice, debelino stebričastega tkiva, debelino gobastega tkiva, razmerjem med stebričastim in gobastim tkivom ter dolžino in gostoto rež (Preglednica 2). Morda lahko najvišjo odbojnost pri bleščečem mlečku in močvirskem grintu delno razložimo tudi z listnimi režami. List bleščečega mlečka jih na zgornji povrhnjici nima, list močvirskega grinta pa jih ima izredno malo (Slika 9, Slika 10). Tako listu ostane več epidermalne površine, pokrite s kutikulo in voski, ki pomembno vplivajo na odbojnost (Baltzer in Thomas, 2005). Dolžina in gostota rež sta pri rastlinah pogosto negativno povezani (Sreelakshmi in sod., 2014). V naši

raziskavi se je pokazala negativna korelacija med odbojnostjo v UV območju in številom listnih rež ter pozitivna z njihovo dolžino.

V vidnem delu spektra na odbojnost najbolj vpliva vsebnost fotosinteznih pigmentov (Gates in sod., 1965). Odbojnost je pri vseh proučevanih rastlinah nizka v modrem in rdečem delu spektra, saj v teh predelih najmočneje absorbirajo svetlobo klorofili in karotenoidi. Pri vseh šestih vrstah je odbojnost nižja v modrem, kot v rdečem delu spektra. Ta razlika je pričakovana, saj karotenoidi absorbirajo modro svetlobo, klorofila *a* in *b* pa imata najvišjo absorpcijo v rdečem in modrem delu spektra (Sims in Gamon, 2002). Tako je v modrem delu spektra absorpcija svetlobe višja. Odbojnost v vidnem delu spektra (PAR) je višja od odbojnosti v UV-B (Grant in sod., 2003), kar potrди tudi naša raziskava (Slika 17). Korelacijska analiza je pokazala statistično značilno negativno povezanost med vsebnostjo fotosinteznih pigmentov (klorofila *a* in *b* ter karotenoidov) ter vsebnostjo antocianov in odbojnostjo v zelenem delu spektra (Preglednica 2). Povezava je razumljiva, saj ravno vsebnost pigmentov v vidnem delu spektra najbolj vpliva na odbojnost.

V drugih delih vidnega spektra so korelacije med pigmenti in reflektanco statistično neznačilne ( $p \geq 0,05$ ). Ta rezultat lahko razložimo s tem, da med vsebnostjo klorofila *b* pri posameznih vrstah ni bilo večjih statistično značilnih razlik, prav tako pa so bile precej podobne tudi vsebnosti karotenoidov, med katerimi sicer je nekaj statistično značilnih razlik, a variabilnost dobljenih rezultatov ni visoka (Slika 13, Slika 14). Kljub temu, da smo pričakovali močno povezanost vsebnosti fotosinteznih barvil z odbojnostjo v celotnem vidnem spektru, lahko razlike v nekaterih delih spektra razložimo le z vsebnostjo antocianov ter morfološkimi lastnostmi listov.

Najnižjo odbojnost v vidnem delu spektra imata močvirski grint in bleščeči mleček, najbolj opazno se od ostalih vrst razlikujeta v zelenem delu spektra, kjer imata precej položnejši vrh, kot ostale rastline (Slika 17, Preglednica 1). Te razlike najverjetneje lahko razložimo z anatomskimi značilnostmi – močvirski grint in bleščeči mleček imata mezofil lista diferenciran v gobasto in stebričasto tkivo. Listi z višjim razmerjem med stebričastim in gobastim tkivom naj bi imeli nižjo odbojnost v vidnem delu spektra, saj stebričasto tkivo prepušča svetlobo v notranjost lista (Slaton in sod., 2001). Tudi visoki trpotec ima v listu prisotno stebričasto tkivo, a ima razmerje med stebričastim in gobastim tkivom precej nižje od omenjenih vrst (Slika 8) in zato lahko sklepamo, da je vpliv tega tkiva pri tej vrsti manjši. Najbolj položen prehod iz modrega v zeleni del spektra opazimo pri močvirskem grintu. Ta vrsta ima od vseh najvišjo vsebnost karotenoidov, ki absorbirajo svetlobo tudi v zelenem delu spektra. Negativno korelacijo med vsebnostjo karotenoidov in odbojnostjo v vidnem delu spektra potrди tudi korelacijska analiza (Preglednica 2).

Korelacijske analize so pokazale tudi pozitivno korelacijo med številom listnih rež in odbojnostjo v zelenem delu spektra. Vsaka reža ima dve celici zapiralki, ki vsebujeta kloroplaste. V epidermalnih celicah drugače kloroplastov ni (Sreelakshmi in sod., 2014).

Fotosintezni pigmenti, ki se nahajajo v celicah zapiralkah, v zelenem delu spektra ne odbijajo svetlobe, zato bi število celic zapiralk lahko vplivalo na višjo odbojnost. V modrem delu spektra je korelacija s številom rež negativna, kar je razumljivo, saj pigmenti v tem delu spektra svetlobo absorbirajo (Preglednica 2). Najbolj se ti vplivi vidijo pri navadnem trstu, ki ima daleč največ listnih rež od vseh vrst, visoko vsebnost klorofila *a*, v modrem delu spektra najnižjo odbojnost ter v zelenem delu relativno visoko (Slika 17).

Trstična pisanka, pri kateri smo od enokaličnic izmerili najvišjo odbojnost v zelenem delu spektra, ima tudi najnižjo vsebnost antocianov na površino (Slika 15), kar je verjetno povezano, saj antociani absorbirajo svetlobo v zelenem delu spektra (Viña in Gitelson, 2011). Vsa barvila v območju vidne svetlobe negativno korelirajo z odbojnim spektrom (Preglednica 2). Na odbojnost v vidnem delu spektra sodeč po izračunih Spearmanovega koeficienta pozitivno vpliva tudi debelina gobastega tkiva in negativno debelina aerenhima (pri vodni peruniki).

Pri vodni peruniki, trstični pisanki in navadnem trstu, enokaličnicah z listi z enotno strukturo, smo pričakovali nižjo odbojnost v NIR območju, kot pri dvokaličnicah. To drži le pri vodni peruniki in navadnem trstu. Dvig odbojnosti na prehodu iz rdečega v NIR območje je v nasprotju z našimi pričakovanji najvišji pri trstični pisanki (Preglednica 1), kar bi morda vsaj deloma lahko razložili z visoko vsebnostjo gobastega tkiva, katere vpliv je potrdila tudi redundantna analiza (Slika 20) in pa z dejstvom, da ima omenjena vrsta višjo SLA od drugih dveh enokaličnic. Na hiter dvig vpliva tudi koncentracija klorofilov, fenološko stanje rastline in stres (Gitelson in sod., 1996). Porast odbojnosti listov pri visokem trpotcu in bleščečem mlečku je visok, pri močvirskem grintu pa izjemno nizek. Na nizko odbojnost listov močvirskega grinta bi lahko imela vpliv visoka vsebnost klorofila *a* ter parametri, ki v preiskavi niso bili merjeni. Vpliv vsebnosti klorofila *a* in *b* na NIR območje spektra potrди korelacijska analiza. Barvila sicer v tem delu spektra svetlobe ne absorbirajo, zato ta vpliv ni čisto jasen. Izračun Spearmanovega koeficienta nam kaže tudi pozitivno korelacijo med SLA in NIR območjem.

## 6 SKLEPI

- Odbojni spektri proučevanih rastlin se med seboj razlikujejo. Največ razlik med spektri je prisotnih v območjih UV, zelene, rumene svetlobe in NIR. Najbolj so si bili spektri podobni v območju modre in rdeče svetlobe, kjer imajo največji vpliv na odbojnost fotosintezna barvila. Najmanj razlik v odbojnem spektru se pokaže pri trstični pisanki in visokem trpotcu, ki se statistično značilno razlikujeta le v NIR delu spektra. Največ statistično značilnih razlik je med enokaličnico navadnim trstom ter vsemi tremi dvokaličnicami.
- Razlike v odbojnih spektrih različnih vrst lahko vsaj deloma razložimo z merjenimi morfološki in biokemijski značilnostmi listov. Od biokemijskih dejavnikov ima največji vpliv na odbojni spekter vsebnost antocianov, ki negativno vpliva predvsem v vidnem delu. V zelenem delu spektra se kaže tudi negativni vpliv klorofilov *a* in *b* ter karotenoidov. Morfološke lastnosti vplivajo na celoten spekter. Najbolj pomemben vpliv se kaže pri debelini stebričastega in gobastega tkiva, ki sodeč po RDA analizi razložita skupno 54 % odbojnega spektra ( $p \leq 0,01$ ).
- Morfološke in biokemijske razlike med proučevanimi enokaličnicami in dvokaličnicami so manjše, kot razlike med posameznimi vrstami. Razlik v odbojnih spektrih enokaličnic in dvokaličnic ne moremo v celoti razložiti z merjenimi parametri.
- Pri vseh proučevanih rastlinah se je pokazala nizka odbojnost v območju UV, modre in rdeče svetlobe. Večina UV svetlobe se v listu absorbira, k čemur pripomorejo UV absorbirajoče snovi. V vidnem delu spektra svetlobo absorbirajo pigmenti. Odbojnost v modrem delu spektra je nižja, kot v rdečem delu, saj je absorpcija v modrem območju zavoljo barvil višja. Odbojnost v vidnem delu spektra (PAR) je višja od odbojnosti v UV-B. Daleč najvišjo odbojnost imajo listi v NIR območju.
- Na odbojni spekter lista vpliva mnogo izmerljivih in neizmerljivih dejavnikov. Zaradi kompleksnosti neposrednih in posrednih vplivov na odbojnost težko ločimo bistvene dejavnike ali z gotovostjo ocenjujemo moč njihovega vpliva.

## 7 POVZETEK

V diplomskem delu smo proučevali odbojnost listov treh enokaličnic, vodne perunike (*Iris pseudacorus*), navadnega trsta (*Phragmites australis*) in trstične pisanke (*Phalaris arundinacea*) ter treh dvokaličnic, visokega trpotca (*Plantago altissima*), močvirskega grinta (*Senecio paludosus*) in blešččega mlečka (*Euphorbia lucida*). Preiskavo smo izvajali na območju Cerknškega jezera, ki kot presihajoče jezero nudi edinstveno okolje za rastline. Zanimale so nas razlike in podobnosti med odbojnimi spektri proučevanih rastlin ter povezava le-teh z biokemijskimi in morfološkimi lastnostmi listov. Zanimale so nas tudi morebitne razlike med odbojnimi spektri enokaličnic in dvokaličnic.

Rastline, ki smo jih uporabili za meritve, so bile vitalne in cvetoče. Njihovo stanje smo ocenili tudi s pomočjo fizioloških meritev na terenu (transpiracija, fotokemična učinkovitost). V laboratoriju smo analizirali zgradbo lista (izmerili debeline fotosinteznih tkiv, povrhnjice in lista, določili specifično listno površino, prešteli in izmerili listne reže), določili vsebnosti pigmentov (klorofilov, karotenoidov, antocianov in UV absorbirajočih snovi) ter opravili meritve odbojnih spektrov. Odbojne spektre smo merili v območju 280 do 887 nm.

Vsi izmerjeni odbojni spektri imajo nekaj skupnih značilnosti. Odbojnost je najnižja v UV-B območju, sledi UV-A, modra ter rdeča regija. V vidnem delu spektra se vsem listom povzdigne odbojnost v tipični vrh (550 nm). Na vidni del spektra poleg vsebnosti pigmentov vpliva tudi morfološka zgradba lista. Zaradi zmanjšane absorpcije barvil je odbojnost lista najvišja v NIR območju.

Tako morfološki kot biokemijski dejavniki vplivajo na odbojnost lista. Vplivi dejavnikov so kompleksni, zato njihov pomen za spremembe v odbojnih spektrih z gotovostjo lahko določimo šele, kadar izločimo ostale vplive. Kljub temu pa se z dokaj visoko verjetnostjo kažejo določeni vplivi. V UV območju spektra spremembe v odbojnosti pripisujemo predvsem UV absorbirajočim snovem, ki sevanje absorbirajo dovolj učinkovito, da je odbojnost izredno nizka. V vidnem območju je poglobitnejši vpliv vsebnosti pigmentov. Pigmenti absorbirajo svetlobe različnih valovnih dolžin, kar povzroči značilno obliko odbojnega spektra v vidnem delu. V NIR območju imajo poglobitno vlogo strukturne značilnosti lista, saj pigmenti svetlobe pri teh valovnih dolžinah ne absorbirajo. Struktura lista vpliva na celoten spekter, saj določena tkiva povečujejo razprševanje svetlobe v notranjosti lista, transmitanco ter absorpcijo.

Listi proučevanih rastlin se v biokemijskih značilnostih ne razlikujejo bistveno, zato so si najbolj podobni v rdečem in modrem delu spektra. Od biokemijskih značilnosti je na odbojnost najbolj vplivala vsebnost antocianov, korelacija je negativna. Več variabilnosti smo izmerili pri morfoloških in anatomskih značilnostih. Največji vpliv na potek spektra sta

imeli debelina stebričastega in gobastega tkiva, ki skupaj razložita 54 % odbojnega spektra. Najbolj variabilna morfološka lastnost je bilo število listnih rež.

Fotosintezno tkivo je bilo pri proučevanih dvokaličnicah diferencirano na stebričasto in gobasto tkivo. Stebričasto tkivo prevaja svetlobo globlje v list, gobasto pa z zračnimi prostori vpliva na višjo odbojnost. Dendrogram podobnosti odbojnih spektrov združuje enokaličnice ter dvokaličnice. Kljub temu pa se razlik v spektrih enokaličnic in dvokaličnic ne da v celoti razložiti z izmerjenimi biokemijskimi in morfološkimi lastnostmi, saj so razlike med spektri različnih vrst večje.

## 8 VIRI

- Baldini E., Facini O., Nerozzi F., Rossi F., Rotondi A. 1997. Leaf characteristics and optical properties of different woody species. *Trees*, 12, 2: 73-81
- 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, 2: 214–223
- Blackburn G. A. 2007. Hyperspectral remote sensing of plant pigments. *Journal of Experimental Botany*, 58, 4: 855-867
- Daughtry C. S. T., Walthall C. L. 1998. Spectral discrimination of *Cannabis sativa* L. Leaves and canopies. *Remote sensing of environment*, 64, 2: 192-201
- Filella I., Peñuelas J. 2012. Altitudinal differences in UV absorbance, UV reflectance and related morphological traits of *Quercus ilex* and *Rhododendron ferrugineum* in the Mediterranean region. *Plant Ecology*, 145, 1: 157-165
- Frajman B., Bačič T. 2012. Prispevek k poznavanju flore Cerknškega polja z okolico (Notranjska, Slovenija). *Hladnikia*, 29: 19-36
- Frajman B., Jogan N. 2007. Mlečki (rod *Euphorbia*) Slovenije. *Scopolia*, 62: 1-68
- Gaberščik A., Urbanc-Berčič O. 2003. Ekosistem, ki ga ustvarja igra vode. V: Jezero, ki izginja: monografija o Cerknškem jezeru. Gaberščik A. (ur.). Ljubljana, Društvo ekologov Slovenije: 51–57
- Gates D. M., Keegan H. J., Schleter J. C., Weidner V. R. 1965. Spectral properties of plants. *Applied Optics*, 4, 1: 11-20
- Gausman H. W., Rodriguey R. R., Escobar D. E. 1975. Ultraviolet radiation reflectance, transmittance, and absorptance by plant leaf epidermises. *Agronomy Journal*, 67, 5: 720-724
- Germ M. 2003. Močvirska spominčica in lasastolistna vodna zlatica v spremenljivem okolju. V: Jezero, ki izginja: monografija o Cerknškem jezeru. Gaberščik A. (ur.). Ljubljana, Društvo ekologov Slovenije: 107-115
- Gitelson A. A., Gritz Y., Merzlyak M. N. 2003. Relationships between leaf chlorophyll content and spectral reflectance and algorithms for non-destructive chlorophyll assessment in higher plant leaves. *Journal of Plant Physiology*, 160: 271-282
- Gitelson A. A., Kaufman Y. J., Merzlyak M. N. 1996. Use of a green channel in remote sensing of global vegetation from EOS-MODIS. *Remote Sensing of Environment*, 58, 3: 289-298

- Gould K. S. 2004. Nature's Swiss Army Knife: The Diverse Protective Roles of Anthocyanins in Leaves. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 5: 314-320
- Grant R. H., Heisler G. M., Gao W., Jenks M. 2003. Ultraviolet leaf reflectance of common urban trees and the prediction of reflectance from leaf surface characteristics. *Agriculture and Forest Meteorology*, 120: 127-139
- Klančnik K., Mlinar M., Gaberščik A. 2011. Heterophylly results in a variety of "spectral signatures" in aquatic plant species. *Aquatic Botany*, 98: 20-26
- Knapp A., Carter G. 1998. Variability in leaf optical properties among 26 species from a broad of habitats. *American Journal of Botany*, 85, 7: 940
- Levizou E., Drilias P., Psaras G. K., Manetas Y. 2004. Nondestructive assessment of leaf chemistry and physiology through spectral reflectance measurements may be misleading when changes in trichome density co-occur. *New Phytologist*, 165, 2: 463-472
- Lymburner L., Beggs P. J., Jacobson S. J. 2000. Estimation of canopy-average surface-specific leaf area using Landsat TM data. *Photogrammetric Engineering & Remote Sensing*, 66, 2: 183-191
- Male E. J., Pickles W. L., Silver E. A., Hoffmann G. D., Lewicki J., Apple M., Repasky K., Burton E. A. 2009. Using hyperspectral signatures for CO<sub>2</sub> sequestration field experiment in Bozeman, Montana. *Environmental Earth Sciences*, 60, 2:251-261
- Martinčič A., Leskovar I. 2002. Vegetacija. V: Jezero, ki izginja: monografija o Cerknškem jezeru. Gaberščik A. (ur.). Ljubljana, Društvo ekologov Slovenije: 72-79
- Martinčič A., Wraber T., Jogan N., Podobnik A., Turk B., Vreš B. 1999. Mala flora Slovenije. Ključ za določanje praprotnic in semenk. Ljubljana, Tehniška založba Slovenije: 845 str.
- Martinčič A., 2003. Praprotnice in semenke. V: Jezero, ki izginja: monografija o Cerknškem jezeru. Gaberščik A. (ur.). Ljubljana, Društvo ekologov Slovenije: 73-80
- Neill S., Gould K. S. 2000. Optical properties of leaves in relation to anthocyanin concentration and distribution. *Canadian Journal of Botany*, 77, 12: 1777-1782
- 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, 2-3: 337-354
- Slaton M. R., Hunt R. E., Smith W. K. 2001. Estimating near-infrared leaf reflectance from leaf structural characteristics. *American Journal of Botany*, 88, 2: 278-284



- Sreelakshmi V. V., Sruthy E. P. M., Shereena J. 2014. Relationship between the leaf area and taxonomic importance of foliar stomata. *IMPACT: International Journal of Research in Applied, Natural and Social Sciences*, 2, 7: 53-60
- Tome D. 2006. *Ekologija: organizmi v prostoru in času*. Ljubljana, Tehniška založba Slovenije: 344 str.
- Underwood E. C., Ustin S. L., Ramirez C. M. 2007. A comparison of spatial and spectral image resolution for mapping invasive plants in coastal California. *Environment Management*, 39, 1: 63-83
- Ustin S. L., Gitelson A. A., Jacquemound S., Schaepman M., Asner G. P., Gamon J. A., Zarko-Tejada P. 2009. Retrieval of foliar information about plant pigment systems from high resolution spectroscopy. *Remote Sensing of Environment*, 113, 1: S67-S77
- Viña A., Gitelson A. A. 2011. Sensitivity to foliar anthocyanin content of vegetation indices using green reflectance. *IEEE geoscience and remote sensing letters*, 8, 3: 463-467
- Vogelmann T. C., Martin G. 1993. The functional significance of palisade tissue: penetration of directional versus diffuse light. *Plant, Cell & Environment*, 16, 1: 65 – 72
- Wooly T. J. 1971. Reflectance and transmittance of light by leaves. *Plant Physiology*, 47, 5: 656-662
- Wraber T., Skoberne P., Watton I. 1989. Rdeči seznam ogroženih praprotnic in semenk SR Slovenije. *Varstvo narave*, 14-15  
[https://www.uradni-list.si/files/RS\\_-2002-082-04055-OB~P001-0000.PDF#/pdf](https://www.uradni-list.si/files/RS_-2002-082-04055-OB~P001-0000.PDF#/pdf)  
(december, 2015)
- Rastlinski svet Notranjskega regijskega parka. 2007. Notranjski regijski park.  
<http://www.notranjski-park.si/index.php?catid=11&lang=slo> (marec, 2016)
- 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 biometeorology*, 54, 2: 179–191
- Zupančič M., 2002. *Gozdna vegetacija okolice Cerknškega jezera*. V: *Jezero, ki izginja: monografija o Cerknškem jezeru*. Gaberščik A. (ur.). Ljubljana, Društvo ekologov Slovenije, Ljubljana: 97-105

## ZAHVALA

Zahvaljujem se mentorici prof. dr. Alenki Gaberščik za izjemno prijaznost, razumevanje in vso pomoč. Hvala tudi Katji Klančnik za potrpežljivo pomoč pri obdelavi podatkov.

Hvala recenzentki prof. dr. Katarini Vogel Mikuš za tehten pregled in predsedniku komisije doc. dr. Alešu Kladniku za hitro odzivnost in prijaznost.

Za prijaznost se zahvaljujem tudi knjižničarki Lučki Glavač in referentki Zdenki Repanšek Tavčar.

Za vztrajno spodbudo se zahvaljujem vsem v moji obširni družini, najbolj mami in Jerneju, ki sta mi omogočila študij in me podpirala na moji predolgi poti. Hvala tudi Katri, ki je reševala Wordove zagonetke, Anžetu za popravke pri prevodu in Doki, ker nad mano ni popolnoma obupala.

Posebna hvala gre Urški in Kobri, avtorjema Než'ne poezije, za izvirno in vztrajno podporo moji samozavesti. Poezije ne znam pisati, ilustrirati tudi ne, zato vama posvečam svojo čudovito diplomsko nalogo.