

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA BIOLOGIJO

Nastassia RAJH VILFAN

**SEZONSKE SPREMEMBE ODBOJNOSTI
SVETLOBNEGA SEVANJA PRI LISTIH VISOKEGA
TRPOTCA NA CERKNIŠKEM JEZERU**

DIPLOMSKO DELO

Univerzitetni študij

Ljubljana, 2013

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA BIOLOGIJO

Nastassia RAJH VILFAN

**SEZONSKE SPREMEMBE ODBOJNOSTI SVETLOBNEGA
SEVANJA PRI LISTIH VISOKEGA TRPOTCA NA CERKNIŠKEM
JEZERU**

DIPLOMSKO DELO
Univerzitetni študij

**SEASONAL CHANGES OF LIGHT REFLECTANCE IN LEAVES OF
Plantago altissima IN LAKE CERKNICA**

GRADUATION THESIS
University studies

Ljubljana, 2013

Diplomsko delo je zaključek univerzitetnega študija biologije na Biotehniški fakulteti Univerze v Ljubljani. Delo je potekalo na terenu na območju Cerkniškega jezera in v laboratoriju Katedre za ekologijo in varstvo okolja na Oddelku za biologijo Biotehniške fakultete v Ljubljani.

Študijska komisija Oddelka za biologijo je 18. maja 2012 odobrila predlagano temo diplomske naloge z naslovom Sezonske spremembe odbojnosti svetlobnega sevanja pri listih visokega trpotca na Cerkniškem jezeru. Za mentorico je imenovala prof. dr. Alenko Gaberščik.

Komisija za oceno in zagovor:

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

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

Recenzentka: doc. dr. Mateja GERM
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za biologijo

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

Datum zagovora: 7. 2. 2013

Naloga je rezultat lastnega raziskovalnega dela.

Nastassia Rajh Vilfan

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

ŠD Dd
DK UDK 581.5:582.933:581.123(043.2)=163.6
KG odbojnost/presevnost/visoki trpotec (*Plantago altissima*)/sezonske spremembe/lastnosti listov
AV RAJH VILFAN, Nastassia
SA GABERŠČIK, Alenka (mentor)
KZ SI-1000 Ljubljana, Večna pot 111
ZA Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za biologijo
LI 2013
IN SEZONSKE SPREMEMBE ODBOJNOSTI SVETLOBNEGA SEVANJA PRI LISTIH VISOKEGA TRPOTCA NA CERKNIŠKEM JEZERU
TD Diplomsko delo (univerzitetni študij)
OP IX, 47 str., 6 pregl., 15 sl., 37 vir.
IJ sl
JI sl/en
AI Proučevali smo sezonske spremembe optičnih lastnosti pri listih visokega trpotca (*Plantago altissima*). Zanimalo nas je, kako so spremembe v odbojnosti in presevnosti povezane s spremembami v anatomskih, morfoloških in biokemijskih lastnostih. Posebej smo primerjali lastnosti vzorcev, nabranih v maju, na poplavljenem in suhem rastišču. Izmerili smo odbojnost in presevnost listov v območju od 292 do 887 nm. Določili smo število in velikost listnih rež in trihomov, specifično listno površino, vsebnost fotosinteznih barvil, antocianov in UV absorbirajočih snovi ter proučili zgradbo lista. Rezultati so pokazali, da se optične lastnosti listov preko sezone spreminjajo; nanje vplivajo biokemijske in morfološke značilnosti lista. V vidnem delu spektra je značilna relativno nizka odbojnost in presevnost, z vrhom v zelenem pasu; glavni vpliv pripisujemo fotosinteznim barvilom. V NIR območju je značilna relativno visoka odbojnost in presevnost, kot posledica nekaterih morfoloških značilnosti listov. Najvišjo odbojnost smo zabeležili pri vzorcih, nabranih maja, najnižjo presevnost so imeli majski vzorci s poplavljenega rastišča. Majski vzorci so se značilno razlikovali v nekaterih anatomskih, morfoloških in biokemijskih lastnostih listov ter v spektrih odbojnosti in presevnosti. Vzrok za razlike pripisujemo različni morfologiji listov.

KEY WORDS DOCUMENTATION

DN Dd
DC UDC 581.5:582.933:581.123(043.2)=163.6
CX reflectance/transmittance/*Plantago altissima*/seasonal changes/leaf properties
AU RAJH VILFAN, Nastassia
AA GABERŠČIK, Alenka (supervisor)
PP SI-1000 Ljubljana, Večna pot 111
PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Biology
PY 2013
TI SEASONAL CHANGES OF LIGHT REFLECTANCE IN LEAVES OF *Plantago altissima* IN LAKE CERKNICA
DT Graduation Thesis (University studies)
NO IX, 47 p., 6 tab., 15 fig., 37 ref.
LA sl
AL sl/en
AB We studied seasonal changes of optical properties in leaves of *Plantago altissima*. We compared leaf optical characteristics for samples collected in May in flooded and dry locations. The relationship among different anatomical and biochemical parameters and reflectance or transmittance of leaves were examined. Leaf reflectance and transmittance were measured within the range of 292 to 887 nm. Stomata and trichome length and density, specific leaf area, photosynthetic pigments, anthocyanins, UV-absorbing compounds and leaf structure were determined. The results showed, that optical properties of leaves change during the season. They were determined by biochemical and morphological traits of the leaf. Characteristic for VIS region of spectra were low reflectance and transmittance, with maximum in green range. They were primarily dependent on photosynthetic pigments. Characteristically high reflectance and transmittance in NIR region were mainly due to internal leaf structure. The lowest transmittance was observed in May samples, collected in the flooded habitat. The highest reflectance was measured in samples collected in May, that significantly differed in some anatomical, morphological and biochemical properties. Differences in optical properties of leaves were due to different morphological traits of leaves.

KAZALO VSEBINE

	KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA	III
	KEY WORDS DOCUMENTATION	IV
	KAZALO VSEBINE	V
	KAZALO PREGLEDNIC	VII
	KAZALO SLIK	VIII
	OKRAJŠAVE IN SIMBOLI	IX
1	UVOD	1
1.1	HIPOTEZE	2
2	PREGLED OBJAV	3
2.1	ZNAČILNOSTI ODBOJNIH SPEKTROV	3
2.2	VPLIVI NA ODBOJNE SPEKTRE	4
2.2.1	Biokemijske značilnosti	5
2.2.1.1	Barvila	5
2.2.1.2	Celuloza in lignin	6
2.2.2	Anatomske in morfološke značilnosti	7
2.2.3	Vsebnost vode	8
2.2.4	Sezonske spremembe	9
3	MATERIALI IN METODE	10
3.1	OBMOČJE RAZISKAV	10
3.2	PREDMET RAZISKAV	11
3.3	METODE DELA	12
3.3.1	Merjenje odbojnih spektrov	12
3.3.2	Anatomske in morfološke analize	13
3.3.2.1	Specifična listna površina in vsebnost vode	13
3.3.2.2	Število in velikost listnih rež in trihomov	13
3.3.2.3	Zgradba lista	14
3.3.3	Biokemijske analize	14
3.3.3.1	Klorofili in karotenoidi	14
3.3.3.2	Antociani	14
3.3.3.3	UV absorbirajoče snovi	15
3.3.4	Statistična obdelava podatkov	15
4	REZULTATI	17
4.1	Primerjava spektrov odbojnosti in presevnosti majskih listov	17
4.1.1	Anatomske, morfološke in biokemijske lastnosti listov	17
4.1.2	Odbojnost listov	18
4.1.3	Presevnost listov	20
4.2	Sezonske spremembe v spektrih odbojnosti in presevnosti listov	21
4.2.1	Anatomske, morfološke in biokemijske lastnosti listov	21

4.2.2	Odbojnost listov	27
4.2.3	Presevnost listov	30
5	RAZPRAVA	34
5.1	Primerjava spektrov odbojnosti in presevnosti majskih listov	34
5.1.1	Anatomske, morfološke in biokemijske lastnosti listov	34
5.1.2	Odbojnost listov	35
5.1.3	Presevnost listov	35
5.2	Sezonske spremembe v spektrih odbojnosti in presevnosti listov	36
5.2.1	Anatomske, morfološke in biokemijske lastnosti listov	36
5.2.2	Odbojnost listov	37
5.2.3	Presevnost listov	38
5.2.4	Majski vzorci, nabrani na poplavljenem rastišču	39
6	SKLEPI	41
7	POVZETEK	42
8	VIRI	44
	ZAHVALA	

KAZALO PREGLEDNIC

Pregl. 1: Nekateri morfološki, anatomski in biokemijski parametri listov visokega trpotca (<i>P. altissima</i>) s poplavljenega in suhega vzorčnega mesta v mesecu maju	17
Pregl. 2: Vrednosti Spearmanovega korelacijskega koeficienta (ρ), ki prikazujejo stopnjo povezanosti odbojnosti in posameznih lastnosti listov pri visokem trpotcu (<i>P. altissima</i>) s poplavljenega in suhega vzorčnega mesta v mesecu maju	19
Pregl. 3: Vrednosti Spearmanovega korelacijskega koeficienta (ρ), ki prikazujejo stopnjo povezanosti presevnosti in posameznih lastnosti listov pri visokem trpotcu (<i>P. altissima</i>) s poplavljenega in suhega vzorčnega mesta v mesecu maju	21
Pregl. 4: Nekateri morfološki, anatomski in biokemijski parametri listov visokega trpotca (<i>P. altissima</i>) v obdobju od maja do septembra	25
Pregl. 5: Vrednosti Spearmanovega korelacijskega koeficienta (ρ), ki prikazujejo stopnjo povezanosti sprememb v odbojnosti in posameznih lastnosti listov pri visokem trpotcu (<i>P. altissima</i>) v obdobju od maja do septembra	29
Pregl. 6: Vrednosti Spearmanovega korelacijskega koeficienta (ρ), ki prikazujejo stopnjo povezanosti sprememb v presevnosti in posameznih lastnosti listov pri visokem trpotcu (<i>P. altissima</i>) v obdobju od maja do septembra	32

KAZALO SLIK

Sl. 1: Visoki trpotec (Rastlinski svet..., 2011).....	12
Sl. 2: Odbojna spektra listov visokega trpotca (<i>P. altissima</i>) s poplavljenega in suhega vzorčnega mesta v mesecu maju.....	18
Sl. 3: Presevna spektra listov visokega trpotca (<i>P. altissima</i>) s poplavljenega in suhega vzorčnega mesta v mesecu maju.....	20
Sl. 4: Specifična listna površina listov trpotca glede na mesec vzorčenja	22
Sl. 5: Debelina listov glede na mesec vzorčenja	22
Sl. 6: Gostote listnih rež na zgornji in spodnji povrhnjici glede na mesec vzorčenja	23
Sl. 7: Gostote trihomov na zgornji in spodnji povrhnjici glede na mesec vzorčenja	23
Sl. 8: Vsebnosti klorofilov <i>a</i> in <i>b</i> , podane na površino glede na mesec vzorčenja	24
Sl. 9: Vsebnosti antocianov, podane na suho snov glede na mesec vzorčenja.....	24
Sl. 10: Dendrogram podobnosti anatomskih, morfoloških in biokemijskih parametrov pri listih visokega trpotca (<i>P. altissima</i>) v obdobju od maja do septembra	26
Sl. 11: Sezonske spremembe odbojnosti sevanja pri listih visokega trpotca (<i>Plantago altissima</i>)	27
Sl. 12: Dendrogram podobnosti odbojnih spektrov pri listih visokega trpotca (<i>P. altissima</i>) v obdobju od maja do septembra	28
Sl. 13: Sezonske spremembe v spektrih presevnosti pri listih visokega trpotca (<i>Plantago altissima</i>)	30
Sl. 14: Dendrogram podobnosti spektrov presevnosti pri listih visokega trpotca (<i>P. altissima</i>) v obdobju od maja do septembra.....	31
Sl. 15: Dendrogram podobnosti listov visokega trpotca (<i>P. altissima</i>) v obdobju od maja do septembra; vključeni so vsi merjeni parametri.....	33

OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

Ant	antociani
E_{470} , E_{530} , E_{645} , E_{662}	ekstinkcije pri danih valovnih dolžinah
IR	infrardeče sevanje
Kar	karotenoidi
Kl <i>a</i> , Kl <i>b</i>	klorofil <i>a</i> , klorofil <i>b</i>
Majp	majski vzorci s poplavljenega rastišča
Majn	majski vzorci s suhega rastišča
NIR	bližnje infrardeče sevanje (700-1400 nm)
PAR	fotosintezno aktivno sevanje (400-700 nm)
ρ	Spearmanov korelacijski koeficient
SD	standardna deviacija
SLA	specifična listna površina
ss	suha masa
t-test	dvosmerni Studentov T - test
UV	ultravijolično sevanje (100 – 400 nm)
UV abs	UV absorbirajoče snovi
UV-A	ultravijolični del svetlobnega spektra z valovno dolžino 320-400 nm
UV-B	ultravijolični del svetlobnega spektra z valovno dolžino 280-320 nm
UV-C	ultravijolični del svetlobnega spektra z valovno dolžino 100-280 nm

1 UVOD

Optične lastnosti listov opisujejo odbojnost, presevnost in absorpcija. Od teh lastnosti so najbolj proučevani spektri odbojnosti in absorpcije. Z njihovo meritvijo lahko določamo biokemijsko sestavo listov, obenem pa moramo poznati tudi biokemijske, anatomske in morfološke lastnosti listov, saj je biokemijska sestava listov začetna stopnja razumevanja proučevanih optičnih lastnosti (Liew in sod., 2008; Chandrasekharan, 2005).

Že več kot tri desetletja znanstveniki proučujejo biološke in fizikalne dejavnike, ki vplivajo na odbojnost in presevnost, vključno z rastlinskimi vrstami, starostjo listov, vsebnostjo klorofila, proteinov, škroba, voskov, lignina in celuloze ter vode v listu (Daughtry in Walthall, 1998; Underwood in sod., 2007). Z uvedbo prenosnih spektrometrov, ki so občutljivi in zanesljivi, je postala odbojna spektroskopija priljubljena v ekofizioloških študijah zaradi svoje preprostosti, hitrosti uporabe in neinvazivne narave. Odbojna spektroskopija nam omogoča tudi sledenje spremembam v vsebnostih barvil preko nekega časovnega obdobja (Levizou in sod., 2005; Liew in sod., 2008).

Odbojne indekse se pogosto uporablja za neinvazivno pridobivanje podatkov o biokemijskih lastnostih listov, še posebej za vsebnosti barvil, ter za okoljske ali razvojne študije. Mnogo truda je bilo vloženega v raziskave odbojnih spektrov listov z namenom, da se določi odbojne indekse, ki so povezani z vsebnostmi barvil pri različnih vrstah in funkcionalnih skupinah (Levizou in sod., 2005). Neugodni rastni pogoji vplivajo na način, na katerega se rastlina odziva na svetlobo, zato lahko spektralne zapise uporabljamo tudi za monitoring rastlinskega zdravja, tako da jih povežemo s specifičnimi rastlinskimi stresi (Liew in sod., 2008).

Eden glavnih razlogov za nadaljnje zanimanje in raziskave optičnih lastnosti listov je razvoj daljinskega zaznavanja (Chandrasekharan, 2005). Daljinsko zaznavanje so raziskovalci razvili, da se lahko ocenjuje biofizikalne ali biokemijske lastnosti listov tudi na ravni krošenj (Kodani in sod., 2002). Razumevanje optičnih lastnosti na ravni listov v območju vidnega dela spektra in bližnje rdeče svetlobe je velikega pomena za pravilno modeliranje vpliva vegetacije na globalno segrevanje in ogljikov cikel (Chandrasekharan, 2005). Optične lastnosti listov nam pomagajo razumeti, kako na rastline vpliva povečano UV-B sevanje (Qi in sod., 2002). Rezultati Yoshimure in sod. (2010) so na primer pokazali, da drevesa in ostale rastline igrajo zelo pomembno vlogo pri razporejanju UV sevanja v okolju na Zemljini površini, tudi v urbanih okoljih. Zanimiv primer je študija, ki ugotavlja, da je daljinsko zaznavanje možen način za monitoring javnih pokrajin glede gojenja marihuane (Daughtry in Walthall, 1998). Daljinsko zaznavanje je uporabno tudi za sledenje invazivnih vrst (Underwood in sod., 2007).

Da lahko preko daljinskega zaznavanja določimo rastlinske vrste in njihovo produktivnost, moramo poznati tudi spektralne lastnosti vegetacije in zemlje ter listov, ki prispevajo največ k odbojnim spektrom vegetacije kot celote (Daughtry in Walthall, 1998). Če poznamo glavne vrste v sestoji in imamo podatke o sezonskih spremembah v njegovih lastnostih, lahko ocenimo sezonske spremembe v odbojnosti za ta sestoj (Kodani in sod., 2002).

V diplomski nalogi smo proučevali sezonske spremembe odbojnosti sevanja pri listih visokega trpotca (*Plantago altissima*). Visoki trpotec je zelnata trajnica in hemikriptofit, ki uspeva na poplavnih travnikih na jugu in jugozahodu Slovenije, drugje je redk (Stergaršek, 2009). Na Cerkniškem polju sestavlja značilno združbo rušnate masnice in visokega trpotca (Martinčič in Leskovar, 2003). Spremenljive razmere na rastišču lahko pomembno vplivajo na rastline in njihove optične lastnosti. Spremembe v odbojnosti in presevnosti preko sezone smo želeli razložiti s spremembami v nekaterih anatomskih, morfoloških in biokemijskih lastnostih listov rastlin. Merili smo parametre, kot so število in gostota listnih rež in trihomov, specifična listna površina, zgradba lista, pa tudi vsebnosti fotosinteznih in UV absorbirajočih snovi ter antocianov.

Namen raziskovalnega dela je bil proučiti razlike v spektrih odbojnosti in presevnosti pri velikem trpotcu v obdobju od maja do septembra ter ugotoviti, kako nanje vplivajo spremembe v različnih lastnostih listov.

1.1 HIPOTEZE

- a) Majske listi se bodo značilno razlikovali med seboj tako v spektrih odbojnosti in presevnosti kot v nekaterih anatomskih, morfoloških in biokemijskih lastnostih.
- b) Pričakujemo, da bosta v UV območju odbojnost in presevnost nizki, v VIS območju bo prevladoval vpliv biokemijskih lastnosti, v NIR območju bosta prevladovala vpliva anatomskih in morfoloških značilnosti lista.
- c) Spektri odbojnosti in presevnosti listov se bodo od maja do septembra spreminjali. Razlike bodo posledica sprememb v anatomskih, morfoloških in biokemijskih lastnostih v istem obdobju.

2 PREGLED OBJAV

Življenje na Zemlji je odvisno od svetlobe, ki je sestavljena iz spektra različnih elektromagnetnih valovanj (Taiz in Zeiger, 2002).

Ultravijolična (UV) svetloba je običajno razdeljena na pasove UV-A (od 320 do 400 nm), UV-B (280 do 320 nm) in UV-C (100 – 280 nm). Krajša kot je valovna dolžina, več energije vsebuje valovanje. V stratosferi Zemljine atmosfere se nahaja ozon, ki UV-C sevanje zadrži popolnoma, UV-B deloma, UV-A pa nemoteno prodira do površja (Yoshimura in sod., 2010). UV-B svetloba je za organizme škodljiva (Holmes in Keiller, 2002), zato so zmanjšane koncentracije ozona skrb vzbujajoče, saj pomenijo več UV-B svetlobe, ki doseže površje Zemlje (Qi in sod., 2002). Rastline so razvile različne mehanizme, s katerimi se zaščitijo pred UV-B sevanjem (Filella in Peñuelas, 1999).

Vidna svetloba (VIS) zavzema le majhen del spektra, z valovnimi dolžinami od 400 do 700 nm. Posamezne dele zaznamo kot barve, ki jih lahko okvirno razdelimo na modro (400 – 500 nm), zeleno (500 – 600) in rdečo svetlobo (600 – 700 nm) (Yoshimura in sod., 2010). Območje vidne svetlobe je izrednega ekofiziološkega pomena, saj so organizmi nanj še posebej prilagojeni. Živali so za zaznavo vidne svetlobe razvile fotoreceptorje, rastline pa jo uporabljajo za fotosintezo, zato ta del spektra imenujemo tudi fotosintezno aktivno sevanje (PAR) (Taiz in Zeiger, 2002).

Infrardeča svetloba (IR) obsega valovne dolžine od 700 nm do približno 1mm. Pas od 700 do 1400 nm imenujemo bližnja infrardeča svetloba (NIR), od 1400 do 2400 nm pa srednja infrardeča svetloba (SWIR) (Liew in sod., 2008).

2.1 ZNAČILNOSTI ODBOJNIH SPEKTROV

Svetloba, ki pade na list, se ali odbije, absorbira, ali pa preseva skozi list (Liew in sod., 2008). Presevnost je izražena kot delež svetlobe, ki preseva, ko zadene nek predmet, odbojnost pa definiramo kot količino odbite svetlobe glede na celotno vpadno svetlobo (Woolley, 1971). Skupna odbojnost in presevnost sta obratno sorazmerni z absorpcijo (Levizou in sod., 2005).

Spektralne lastnosti zelenega lista višjih rastlin so si vsesplošno podobne (Yoshimura in sod., 2010). Za raziskave spektralnih lastnosti tako rastlin kot sestojev se meritve izvajajo predvsem v vidnem, bližnjem in srednjem infrardečem območju spektra (400 – 2500 nm) (Liew in sod., 2008).

Odbojnost določajo biokemijske in strukturne lastnosti listov (Underwood in sod., 2007). Intenziteta odbojnosti v določenem pasu spektra nam lahko poda informacijo o biokemijski sestavi lista (Levizou in sod., 2005), medvrstne razlike v biokemijski sestavi listov pa lahko uporabljamo za identifikacijo posameznih vrst (Underwood in sod., 2007). Tudi presevnost je odvisna od anatomskih, morfoloških in biokemijskih lastnosti listov pri nekaterih valovnih dolžinah, še posebej, kjer absorbirajo voda ali barvila, je močno odvisna od debeline lista (Woolley, 1971).

Večina do danes proučevanih rastlinskih vrst ima odbojnost v UV regiji značilno nižjo od 10 %, presevnosti skoraj ni zaznati, absorpcija pa je nad 90 %, ne glede na vrsto ali sezonske spremembe (Yoshimura in sod., 2010; Qi in sod., 2002, 2003; Holmes in Keiller, 2002). Filella in Peñuelas (1999) v svoji raziskavi še bolj specifično ugotavljata, da sega odbojnost od 5 % v UV-A do 12 % v UV-B območju.

V vidnem pasu lastnosti zelenega lista sovpadajo s fiziološkimi procesi fotosinteze (Yoshimura in sod., 2010). Zeleni in zdravi listi imajo značilen spektralni zapis, izražen z visoko absorpcijo in nizko odbojnostjo (Daughtry in Walthall, 1998). Značilna je močna absorpcija v modrem in rdečem delu spektra ter višji odbojnost in presevnost v zelenem pasu (Qi in sod., 2002; Yoshimura in sod., 2010). Visoko odbojnost v zelenem pasu zaznamo kot živo zeleno barvo ter nizko kot temno zeleno barvo lista (Yoshimura in sod., 2010). Vzorci odbojnosti in presevnosti lista v vidnem območju spektra naj bi bili v prvi vrsti določeni z vsebnostjo klorofilov (Baltzer in Thomas, 2005).

V regiji bližnje rdeče svetlobe (NIR) so za zeleni list značilne visoka odbojnost, visoka presevnost in nizka absorpcija (Yoshimura in sod., 2010; Daughtry in Walthall, 1998). Woolley (1971) v raziskavi ugotavlja, da je vsota odbojnosti in presevnosti za liste soje med 800 in 1100 nm kar 96 %.

Rastlina poskuša neprestano usklajevati absorpcijski profil z medsebojnim prilagajanjem listne anatomije, lege kloroplastov in vsebnosti biokemijskih sestavin v listu, da lahko ob spremembi svetlobnih pogojev dana svetlobo kar najbolje izkoristi (Phillip in sod., 2011).

2.2 VPLIVI NA ODBOJNE SPEKTRE

V območju UV sevanja na odbojnost najbolj vplivajo vsebnosti UV-B absorbirajočih snovi (Qi in sod., 2003) in epikutikularni voski (Holmes in Keiller, 2002). V vidnem delu svetlobnega spektra (VIS) (400 - 700 nm) na odbojnost najbolj vplivajo koncentracije barvil v celicah, še posebej fotosintezna barvila, ki preferenčno absorbirajo pri rdeči in modri svetlobi. Pri odbojnosti v bližnjem infrardečem območju (NIR) (700 – 1400 nm) prevladujeta vpliva notranje listne strukture in vode, na odbojnost pri srednji infrardeči

svetlobi (SWIR: 1400 – 2400 nm) pa značilno vpliva vsebnost vode v tkivih (Liew in sod., 2008; Underwood in sod., 2007).

Razlike v presevnosti v vidnem in NIR območju so posledica prepustnosti lista za svetlobo. V UV območju je presevnost listov ničelna (Yoshimura in sod., 2010), predvsem zaradi vsebnosti UV-B absorbirajočih snovi (Qi in sod., 2003).

2.2.1 Biokemijske značilnosti

2.2.1.1 Barvila

V listih zelenih rastlin najdemo barvila, ki absorbirajo svetlobo v ultravijoličnem in vidnem delu spektra, čemur lahko pripišemo pomanjkanje odbojnosti v teh območjih (Woolley, 1971). Vrste se po vsebnosti barvil v listih močno razlikujejo (Underwood in sod., 2007).

Klorofili so prevladujoča barvila, ki jih najdemo v fotosinteznem tkivu višjih rastlin. Sestavljeni so iz tetrapirolovega obroča s centralno vezanim atomom magnezija na katerega je zaestren dolg hidrofobni fitolni rep (Liew in sod., 2008; Taiz in Zeiger, 2002). Klorofili dajejo rastlinam značilno zeleno barvo (Chandrasekharan, 2005). Pri zelenih rastlinah prevladuje klorofil *a*, medtem ko je klorofil *b* pomožno barvilo in zavzema približno eno tretjino ali manj skupne vsebnosti klorofilov v listu (Liew in sod., 2008; Taiz in Zeiger, 2002). Klorofil *a* ima na mestu C-7 vezano metilno, klorofil *b* pa aldehidno skupino, kar je razlog za razlike v absorpciji med njima (Liew in sod., 2008).

Klorofili imajo značilna vrhova absorpcije v modrem in rdečem pasu (Qi in sod., 2003), klorofil *a* pri 430 in 670 nm, klorofil *b* pri 460 in 650 nm (Underwood in sod., 2007), ter absorpcijski minimum v zelenem pasu (500 – 600 nm), z vrhom pri 550 nm (Liew in sod., 2008).

Absorpcijski spekter klorofilov *a* in *b* se razteza tudi v UV-A in UV-B del spektra (Taiz in Zeiger, 2002). Velik del UV sevanja absorbira povrhnjica, del, ki ga preide, pa absorbirata klorofila *a* in *b* ter energijo nato oddata kot fluorescenco (Yoshimura in sod., 2010). Obsevanje zelenih listov z UV-A ali modro svetlobo vodi v rdečo in daljno rdečo fluorescenco (predvsem klorofila *a*) pri emisijah okoli 690 in 740 nm (Liew in sod., 2008). Fotosintezna barvila torej vplivajo na skupno odbojnost in presevnost lista v UV območju, in tako prispevajo k zaščiti rastline pred UV sevanjem (Yoshimura in sod., 2010).

Različne raziskave so pokazale, da je vsebnost klorofilov v listih močan napovedovalec vzorcev odbojnosti, presevnosti in absorpcije v vidnem delu spektra (Qi in sod., 2003; Kodani in sod., 2002; Baltzer in Thomas, 2005). Vsebnost klorofilov je tudi dober pokazatelj zdravja rastline (Liew in sod., 2008). Študija, ki sta jo izvedla Baltzer in Thomas (2005), je pokazala, da spremembe hranil značilno vplivajo na odbojne spektre, primarno preko sprememb v vsebnosti barvil.

Pokazatelj, da je rastlina pod stresom, so lahko tudi premiki v meji absorpcije klorofila med rdečim in NIR območjem, t.i. rdeči rob ("red edge"). Predstavlja točko maksimalnega naklona krivulje med rdečim pasom vidne svetlobe (okoli 680 nm), kjer je odbojnost nizka zaradi absorpcije klorofila, ter visoko odbojnim bližnje infrardečim območjem (okoli 750 nm). Pri rastlinah, ki so pod stresom, je pogosto zamaknjen v nižje valovne dolžine od normalnih (Liew in sod., 2008).

Karotenoidi so druga skupina asimilacijskih barvil, ki jih najdemo v kloroplastih. Kemijsko so tetraterpeni. Absorbirajo v modrem delu spektra, natančneje od 400 do 500 nm, in imajo tipičen trojni vrh absorpcije. Kot pomožna barvila sprejemajo svetlobno energijo in jo prenašajo na klorofil *a*. Delimo jih na karotene in ksantofile. Prvi so rumene do rdeče barve, drugi pa običajno rumenih odtenkov (Taiz in Zeiger, 2002). Glavni in najpogostejši karotenoidi v funkcionalnih kloroplastih so beta karoteni, lutein, violaksantin in neoksantin (Yoshimura, 2001). Karotenoidi so neposredno vpleteni v zaščito fotosistemov pred UV-B sevanjem, saj uspešno dušijo vpliv aktivnih kisikovih spojin (Filella in Peñuelas, 1999).

Pri zaščiti rastlin pred škodljivo UV svetlobo sodelujejo tudi flavonoidi. Gre za skupino rastlinskih fenolov, kamor med drugim spadajo antociani, flavoni in flavonoli (Taiz in Zeiger, 2002), ki se nahajajo v epidermalnih celicah in z absorpcijo zmanjšajo prodiranje UV-B sevanja skozi povrhnjico. S tem ščitijo notranja tkiva pred obsevanjem, ne da bi ob tem motili procese fotosinteze (Caldwell in sod., 1983, cit. po Filella in Peñuelas, 1999; Qi in sod., 2002). Zgornja povrhnjica absorbira do 90 % UV-B sevanja (Qi in sod., 2002). Sončni listi vsebujejo višje koncentracije UV-B absorbirajočih snovi kot senčni listi, ne glede na nadmorsko višino (Filella in Peñuelas, 1999). Klem in sod. (2012) so pokazali, da se lahko njihovo vsebnost v listih oceni tudi preko odbojnosti v UV delu spektra.

2.2.1.2 Celuloza in lignin

V odpadlem rastlinskem materialu, kot so suhi listi in stebela, zaznamo celulozo in lignin, ki vplivata na absorpcijske lastnosti v infrardečem območju spektra (Liew in sod., 2008), natančneje pri valovnih dolžinah 1700 (1652 – 1778) nm, 2100 (2030- 2218) nm in 2300 (2238 – 2366) nm (Elvidge, 1990, cit. po Underwood in sod., 2007). Woolley (1971) v

svoji raziskavi ugotavlja, da celuloza in lignin vplivata tudi na odbojnost v infrardečem območju suhih listov.

2.2.2 Anatomske in morfološke značilnosti

Na optične lastnosti listov vplivajo anatomske in morfološke značilnosti (Qi in sod., 2002), kot sta relief površine in notranja zgradba (Levizou in sod., 2005; Liew in sod., 2008).

Svetloba se ob prehodu v list postopno razprši (Phillip in sod., 2011). Značilnosti notranje zgradbe, kot so nepravilne površine in medcelični prostori, napolnjeni z zrakom, obkroženi s citoplazmo napolnjenimi celicami z mokrimi celuloznimi stenami, so odgovorne za opazen delež odbite svetlobe (Woolley, 1971). Skupna odbojnost lista je tako fenomen razpršitve svetlobe, ki pride najbolj do izraza v delu spektra, ki ga rastline ne absorbirajo (Chandrasekharan, 2005).

Fotosintezna barvila višjih rastlin ne absorbirajo v bližnjem infrardečem delu spektra, zato je odbojnost lista v NIR območju (700 – 1400 nm) odvisna predvsem od strukture listov. Ker imajo različne rastlinske vrste različne strukture listov, le-ti različno odbijajo in presevajo vidno ter NIR sevanje (Yoshimura in sod., 2010). Vzorec odbojnosti v NIR regiji so pripisali stiku med celicami in zrakom v gobastem tkivu listne sredice (Liew in sod., 2008).

Notranjost lista sestavlja listna sredica, ki jo sestavljata stebričasto in gobasto tkivo (Taiz in Zeiger, 2002). Stebričasto tkivo sestavljajo specializirane parenhimske celice cilindrične oblike, podaljšane pravokotno na listno površino. Te celice so med seboj tesno povezane in vsebujejo mnoge kloroplaste. Pod stebričastim tkivom je gobasto. Sestoji iz običajno manjših celic nepravilne oblike, ki so med seboj slabo povezane in vsebujejo manj kloroplastov (Liew in sod., 2008; Woolley, 1971). V stebričastem tkivu lahko zračni medprostorji zasedajo od 5 do 20 % volumna, v gobastem pa od 50 do 80 % (Woolley, 1971). V mezofil večinoma prodre vidna svetloba, ki je stebričasto tkivo absorbira več kot gobasto. UV svetlobe v listni sredici ni zaznati (Qi in sod., 2002).

Za razliko od odbojnosti je presevnost pri običajnih debelinah listov močno odvisna od debeline lista, še posebej pri valovnih dolžinah, kjer absorbirajo voda ali barvila, se pravi v območjih NIR in VIS (Woolley, 1971; Yoshimura in sod., 2010). Presevnost je tako v območjih NIR in VIS višja pri tanjših listih in nižja pri debelejših. Tudi mladi listi imajo višjo presevnost, saj so tanjši in bolje prepuščajo svetlobo (Yoshimura in sod., 2010).

Dorziventralen list je obdan z zgornjo in spodnjo povrhnjico. Celice povrhnjice so med seboj tesno povezane, brez medceličnih prostorov, stik notranjosti z okolico pa omogočajo

listne reže. Te načeloma najdemo na obeh povrhnjicah, čeprav jih je običajno več na spodnji strani lista (Liew in sod., 2008). Za razliko od celic zapiralk, ki obdajata vsako listno režo, so celice povrhnjice brez kloroplastov oziroma neobarvane (Liew in sod., 2008; Woolley, 1971). Bolj groba in konveksna povrhnjica lahko deluje kot leča in zbira ter usmerja svetlobo do stebričastega tkiva v listu, s čimer se poveča učinkovitost klorofilov (Chandrasekharan, 2005; Liew in sod., 2008).

Povrhnjice listov večine višjih rastlin tvorijo strukture, kot so listni laski in kutikula, ki predstavljajo najbolj zunanjo obrambo pred okoljem. Odlachenost in prisotnost kutikule značilno vplivata na skupno odbojnost (Holmes in Keiller, 2002). Trihomi, kutikula in zgornja povrhnjica skupaj igrajo pomembno vlogo pri zmanjšanju vpliva UV-B sevanja na rastline (Qi in sod., 2002).

Trihomi so laskaste strukture, ki se razvijejo iz celic povrhnjice (Yoshimura in sod., 2010). Lahko so eno ali večcelični, prisotni na eni ali obeh povrhnjicah; njihova zgradba in gostota se na splošno med vrstami močno razlikujeta (Levizou in sod., 2005). Pri mnogih vrstah so mladi listi na gosto pokriti s trihomi, z rastjo lista pa se njihova gostota hitro manjša (Yoshimura in sod., 2010).

Gostota trihomov vpliva na odbojne spektre: visoka gostota listnih laskov vpliva na povečanje odbojnosti v vidnem delu spektra (Liew in sod., 2008; Holmes in Keiller, 2002), vpliv v NIR območju je raznolik (Liew in sod., 2008), na odbojnost v UV delu spektra ne vpliva bistveno (Holmes in Keiller, 2002). Drugače v svoji raziskavi trdijo Liakoura in sod. (1997). Menijo, da listni laski ščitijo pred UV-B svetlobo, in predvidevajo, da je gostota trihomov ter njihova sposobnost absorpcije UV-B sevanja odvisna od obsevanja lista med njegovim razvojem.

Celice povrhnjice so impregnirane z voskasto substanco, ki tvori kutikulo. Ta je običajno bolj razvita na zgornji povrhnjici, njena površina, struktura in debelina pa so močno odvisne od vrste in okoljskih pogojev (Liew in sod., 2008). Voski se zelo razlikujejo v kemijskih in morfoloških značilnostih, imajo širok spekter odbojnosti in dobro odbijajo tako UV kot vidno svetlobo (Holmes in Keiller, 2002). Na odbojne spektre še posebej vpliva debelina kutikule: z debelino se odbojnost povečuje (Baltzer in Thomas, 2005, Liew in sod., 2008).

2.2.3 Vsebnost vode

Odbojnost suhih listov je preko celotnega spektra načeloma večja od odbojnosti svežih. Suhi listi imajo tudi drugačne odbojne spektre v infrardečem območju (Woolley, 1971), kjer pride v SWIR območju do značilnega izpada absorpcije (Chandrasekharan, 2005).

Ugotovili so, da obliko krivulje v srednjem infrardečem delu spektra določa absorpcija vode, z vrhovi absorpcije pri valovnih dolžinah 1400 nm in 1900 nm (Liew in sod., 2008). Po navedbah Underwooda in sod. (2007) ima voda absorpcijska vrhova tudi pri 900 in 1200 nm. Woolley (1971) v svoji raziskavi ugotavlja, da na spektre odbojnosti in presevnosti v infrardečem območju vpliva tudi zamrznitev listov, izguba vode pa ima manjši ali skorajda ničelni vpliv na odbojne spektre.

2.2.4 Sezonske spremembe

Optične lastnosti lista se spreminjajo z njegovim razvojem preko leta (Yoshimura in sod., 2010; Qi in sod., 2003).

Odbojnost in presevnost vidne svetlobe sta najvišji pri na novo razvitem listu, z zorenjem in rastjo lista pa se manjšata; nasprotno se absorpcija v tem času povečuje. Ko list dozori, ostaja spektralni vzorec do konca rastne sezone relativno enak (Qi in sod., 2003). Spektralne lastnosti listov v pasu UV sevanja se preko sezone ne spreminjajo: odbojnost je značilno pod 10 %, presevnost je komaj zaznavna, absorpcija je nad 90 % (Yoshimura in sod., 2010; Qi in sod., 2003). Jeseni pride v območju vidne svetlobe do korenitih sprememb v spektralnih lastnostih, kar je v skladu s senescenco. Po razpadu fotosinteznih barvil se v večjih količinah na novo tvorijo rdeča barvila antocianini (Yoshimura in sod., 2010).

3 MATERIALI IN METODE

3.1 OBMOČJE RAZISKAV

Terensko delo je potekalo na območju Cerknškega jezera.

Cerkniško polje zavzema 38 km² in je največje kraško polje v podolju, ki se razteza od Ljubljanskega barja do doline reke Kolpe. Podolje se je izoblikovalo vzdolž enega najpomembnejših tektonskih jarkov v Sloveniji, t.j. Idrijski prelom. Cerkniško polje sestavljajo karbonatne kamnine, mezozojski apnenci in dolomiti. Posledica zakrasevanja je poglobljanje polja, ki je na dnu depresije globoko 40 m (Kranjc, 2003a).

Na podnebje Cerknškega polja vplivajo tako bližina morja kot Panonske nižine in Alp. Povprečna letna temperatura v okolici jezera znaša -1,5 °C v Januarju in 17,5 °C v mesecu Juliju. Podobno kot v drugih dolinah po Sloveniji, tudi tukaj pogosto pride do pojava temperature inverzije. Za razliko od temperature, na padavine značilno vpliva bližina morja. Povprečna letna količina padavin znaša 1,700 mm. Največ padavin beležijo novembra, ko zapade okoli 200 mm padavin, in junija. Najbolj suh mesec po količini dežja je februar, ko povprečno pade le okoli 100 mm dežja. Dno Cerknškega polja je s snegom pokrito povprečno 60 dni na leto (Zupančič, 2003).

Na dnu Cerknškega polja se nahaja presihajoče Cerknško jezero, ki lahko poplavi območje do 27 km² (Kranjc, 2003a). Jezero pripada povodju Ljubljanice, ki ima snežno-dežni režim z rahlim vplivom Mediterana. Prispevno območje obsega 475 km². Voda prispe v jezero z višje ležečih kraških polj (Bloke in Javorniki) ter neposredno s padavinami. 80 % pritokov v jezero je kraških in 15 % površinskih. Edini površinski in vsaj v zgornjem delu nekraški dotok na Cerknško polje je Cerknščica. Del vode iz pritokov se zbira v glavnem toku Strženu, ki se ob nizkem vodostaju vije preko jezera. Odtok Cerknškega jezera je v celoti kraški. Voda odteka preko požiralnikov, ponikev, ponorov, estavel, vrtač, grezi in rup. Največje ponikve najdemo v osrednjem delu polja, od Rešeta preko Vodonosa, Sitarice, Retij do Velike, Srednje in Male Ponikve. Cerkniško polje je poplavljen nekaj več kot 9 mesecev na leto in suho le malo več kot dva meseca poleti. Jezerska gladina doseže koto 550 m oziroma običajni obseg dvakrat letno, spomladi in pozno jeseni. Glavni razlog za presihanje jezera je ogromna razlika v razmerju toka pritočne in odtočne vode. Jezero se lahko polni s hitrostjo 211 – 240 m³/s, odtekanje vode pa doseže 40 – 90 m³/s in je popolnoma kraško oziroma podzemno. Voda lahko doseže običajni obseg v enem dnevu, odteka pa nato 3 – 4 tedne. Jezero je precej muhasto, lahko zamudi, izostane, ali pa voda sploh ne odteče popolnoma (Kranjc, 2003b).

Cerkniško jezero je *locus typicus* za presihajoča jezera in kraška polja. Sukcesija je neprestano motena s spremembami vodnega režima, zaradi česar se je razvila značilna življenjska združba (Gaberščik in Urbanc-Berčič, 2003b) s pestro floro. Na pestrost rastlinske združbe vplivajo tudi tla, ki močno variirajo v strukturi, vsebnosti organskih snovi in pH. Število pravih vodnih vrst je majhno, pogoji za uspevanje amfibijskih rastlin pa so optimalni. Na predelih, ki so le občasno poplavljeni, uspevajo tudi barjanske združbe, še posebej v predelu Dujice, ter združbe mokrotnih travnikov (Martinčič, 2003).

Združbo vlažnih travnišč predstavljata modro stožkovje ter združba rušate masnice in visokega trpotca. Da se pestra združba rušate masnice in visokega trpotca (*Deschampsio-Plantaginetum altissimae* Ilijanić 1979) ohranja, te travnike enkrat letno kosijo za steljo, in sicer v poznem poletju. Združba je razvita na obrobjih jezera, kamor voda praktično ne seže več, zavzema pa le manjše površine (Martinčič in Leskovar, 2003).

Ohranjanje naravnega režima vode je ključnega pomena za ohranitev ekosistema, ki se nahaja na Cerkniskem polju (Gaberščik in Urbanc-Berčič, 2003b). Pospeseno kroženje snovi je del naravnega stanja, vendar pa se obremenjenost jezerske vode povečuje, predvsem preko površinskih pritokov (Gaberščik in Urbanc-Berčič, 2003a).

3.2 PREDMET RAZISKAV

Proučevali smo rastlinsko vrsto visoki trpotec (*Plantago altissima*) (Slika 1).

Visoki trpotec (*Plantago altissima* L.) spada v družino trpotčevk (Plantaginaceae). Je zelnata trajnica in hemikriptofit. Cveti od maja do julija (Martinčič in sod., 2007). Iz vodoravne korenike požene od 50 do 70 cm v višino, ima pokončno štrleče ozkosuličaste liste, ki tvorijo pritlično rozeto. Socvetje je gosto, tvorijo ga majhni in neopazni štiri števnici cvetovi z belimi prašnicami. Venčni in čašni listi so suhokožnati. Uspeva na poplavnih travnikih, v glavnem na jugu in jugozahodu Slovenije, drugje je redek. Zelo je podoben ozkolistnemu trpotcu, ki je veliko pogostejši in veliko manjši (Stergašek, 2009). Na Cerkniskem polju ga najdemo v združbi rušate masnice in visokega trpotca (*Deschampsio-Plantaginetum altissimae*), ki jo je opisal Ilijanić leta 1979 (Martinčič in Leskovar, 2003).



Slika 1: Visoki trpotec (Rastlinski svet..., 2011)

3.3 METODE DELA

Nabiranje vzorcev je potekalo od maja do septembra 2011. Na terenu smo nabrali rastline za nadaljnje raziskave in jih pripeljali v laboratorij. Shranili smo jih v vrečke, da bi kljub poti od Cerkniškega jezera do Ljubljane ostale čim bolj sveže. V laboratoriju smo opravili meritve odbojnih spektrov, biokemijske ter anatomske in morfološke analize.

Preko sezone leta 2011 smo vzorčili štirikrat, in sicer 11. maja, 15. junija, 25. julija in 14. septembra. Ker je bil v mesecu maju del lokacije poplavljen, smo za delo izbrali vzorce tako s poplavljenega kot s suhega predela. V ostalih mesecih je bilo rastišče suho. Pri vsakem vzorčenju smo nabrali po 10 celih rastlin. Od vsake rastline smo izbrali en list, na katerem smo nato izvedli meritve odbojnih spektrov ter ostale analize.

Rastline smo preko sezone nabirali na isti lokaciji. Pazili smo, da smo izbirali rastline z zelenimi, polno razvitimi listi, ki so si bili med seboj čim bolj podobni po velikosti in barvi, da smo lahko dobili primerljive podatke.

3.3.1 Merjenje odbojnih spektrov

Odbojne spektre smo merili na dan vzorčenja, s spektrofotometrom Jaz Modular Optical Sensing Suite (Ocean Optics, Inc., Dunedin, Florida, USA). Svetlobni vir UV-VIS-NIR

(DH-2000, Ocean Optics, Inc., FL, USA) smo preko optičnega kabla QP600-1-SR-BX (Ocean Optics, Inc., Dunedin, Florida, USA) povezali s sfero ISP-30-6-R (Ocean Optics, Inc., FL, USA), ki smo jo priključili na spektrofotometer, le-tega pa smo priključili na računalnik. Za operiranje s spektralnimi zapisi smo uporabljali program SpectraSuite (Ocean Optics, Inc., FL, USA). Najprej smo uporabili bel standard (Ocean Optics, Inc., FL, USA), s pomočjo katerega smo inštrument umerili na 100 % odbojnost. Nato smo izmerili še spekter v temi, tako da smo vir svetlobe izklopili. Sledile so meritve spektrov odbojnosti in presevnosti na listih. S svetlobnim virom smo osvetlili zgornjo stran vzorčnega lista, v osrednjem delu lista in hkrati ne na listni žili. Presevnost smo merili na spodnji povrhnjici listov, in sicer smo z virom svetlobe osvetlili zgornjo stran lista, s sfero pa smo na spodnji strani zajemali podatke. Skupno smo zapisovali odbojne spektre pri valovnih dolžinah od 292 do 887 nm, z intervalom vzorčenja približno 0,3 nm. Meritve odbojnosti in presevnosti smo naknadno preračunali kot razmerje med posameznim spektrom in referenčnim spektrom. Za vsako od desetih nabranih rastlin smo izmerili odbojnost in presevnost na dveh mestih v osrednjem delu istega lista pri majskih in na treh mestih pri vseh ostalih vzorcih. Pri statističnih analizah smo za lažjo obdelavo in primerjavo spektre razdelili na različna območja: UV-B, UV-A, vijolično, modro, zeleno, rumeno, rdeče in NIR.

3.3.2 Anatomske in morfološke analize

3.3.2.1 Specifična listna površina in vsebnost vode

Iz sveže nabranih listov smo naluknjali krožce z znano površino. Iz vsakega od desetih izbranih listov smo pridobili največje možno število krožcev s premerom 9 mm, ki smo jih pozneje uporabili tudi pri biokemijskih raziskavah. Sveže krožce smo stehali z miligramsko tehtnico Sartorius in jih 24 ur sušili pri temperaturi 105 °C (sušilnik Sterimatic ST-11, Instrumentaria, Zagreb). Nato smo določili še suho maso [mg ss], vsebnost vode [%] in specifično listno površino (SLA), ki smo jo izračunali kot količnik med površino vzorca in njegovo suho maso [cm² mg⁻¹].

3.3.2.2 Število in velikost listnih rež in trihomov

Število in velikost listnih rež in trihomov smo določali tako na spodnji kot zgornji povrhnjici. List smo premazali s tanko plastjo laka in počakali, da se je posušil. Prelepili smo ga z lepilnim trakom, ki smo ga odstranili in prelepili na objektno stekelce. Pod svetlobnim mikroskopom (Motic, 100x/400x) smo analizirali dolžino listnih rež (μm) in trihomov ter njihovo gostoto na zgornji in spodnji povrhnjici [cm²]. Za vsak list iz vzorca smo pri ustrezni povečavi analizirali 5 vidnih polj.

3.3.2.3 Zgradba lista

Naredili smo mikroskopske preparate prečnih prerezov sveže nabranih listov in pod svetlobnim mikroskopom (Motic, 100x/400x) pri ustrezni povečavi izmerili debelino lista, stebričastega in gobastega tkiva, debelini spodnje in zgornje povrhnjice ter debelino kutikule. Za vsak list smo merili parametre na petih mestih, izogibali smo se žilam in robnim delom lista.

3.3.3 Biokemijske analize

3.3.3.1 Klorofili in karotenoidi

Vsebnosti klorofilov *a* in *b* ter karotenoidov smo določali po metodi Lichtenthaler in Buschmann (2001a, 2001b). Vzorce iz posameznih vzorčenj (10x po dva krožca s premerom 9 mm), ki smo jih tekom raziskave shranjevali v zamrzovalniku, smo strli v terilnici, ekstrahirali v 10 ml acetona (100 % (v/v)), centrifugirali (4000 obratov na minuto, 4°C, 4 min) (Sigma 2-16 PK, Germany) ter odčitali prostornine ekstraktov. Nato smo zmerili ekstinkcije z UV/VIS spektrofotometrom (Lambda 25, Perkin-Elmer, Norwalk, CT, USA) pri valovnih dolžinah 470, 645 in 662 nm. Vsebnosti klorofilov (Kl *a+b*) in karotenoidov (Kar) smo izrazili na suho maso in površino vzorca (Formula 1).

Formula ...(1)

$$\text{Kl } a [\text{mg g}^{-1}\text{ss; mg dm}^{-2}] = ca * V * 10^{-3} * \text{ss}^{-1}; ca * V * 10^{-3} * P^{-1}$$

$$\text{Kl } b [\text{mg g}^{-1}\text{ss; mg dm}^{-2}] = cb * V * 10^{-3} * \text{ss}^{-1}; cb * V * 10^{-3} * P^{-1}$$

$$\text{Kar} [\text{mg g}^{-1}\text{ss; mg cm}^{-2}] = c(x+c) * V * 10^{-3} * \text{ss}^{-1}; c(x+c) * V * 10^{-3} * P^{-1}$$

$$c(x+c) = (1000 E_{470} - 1,9 ca - 63,14 cb) / 214$$

ca - koncentracija klorofila *a* (11,24 E662-2,04 E645); cb - koncentracija klorofila *b* (20,13 E645-4,19 E662); E - absorpcija pri izbrani valovni dolžini; V - prostornina ekstrakta [ml]; ss - suha masa vzorca [g]; P - površina vzorca [cm²]

3.3.3.2 Antociani

Vsebnost antocianov smo določali po Khareju in Guruprasadu (1993). Vzorce iz posameznih vzorčenj (10x po dva krožca s premerom 9 mm), ki smo jih tekom raziskave shranjevali v zamrzovalniku, smo strli v terilnici in ekstrahirali v 10 ml ekstrakcijskega medija (metanol : HCl (37 %) = 99:1 (v/v)), centrifugirali (4000 obratov na minuto, 4°C, 4 min) (Sigma 2-16 PK, Germany) in odčitali prostornine ekstraktov. Vzorce smo za 24 ur

postavili v temo pri 3-5 °C. Ekstinkcije smo izmerili pri 530 nm z UV/VIS spektrofotometrom (Lambda 25, Perkin-Elmer, Norwalk, CT, USA). Vsebnost antocianov (*Ant*) smo izrazili v relativnih enotah (Formula 2).

Formula ...(2)

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

E_{530} - ekstinkcija pri izbrani valovni dolžini; V - prostornina ekstrakta [ml]; ss - suha masa [g]; P - površina vzorca [cm^2]

3.3.3.3 UV absorbirajoče snovi

Vsebnost UV-B in UV-A absorbirajočih snovi (UV-B 280-320 nm, UV-A 320-400 nm) smo določali po Caldwellu (1968). Vzorce iz posameznih vzorčenj (10x po dva krožca s premerom 9 mm), ki smo jih tekom raziskave shranjevali v zamrzovalniku, smo strli v terilnici in ekstrahirali v 10 ml ekstrakcijskega medija (metanol : destilirana voda : HCl (37 %) = 79:20:1 (v/v)). Nato smo jih inkubirali 20 min v temnem in hladnem prostoru. Po inkubaciji je sledilo centrifugiranje (4000 obratov na minuto, 10°C, 10 min) (Sigma 2-16 PK, Germany) in odčitavanje prostornine ekstraktov. Ekstinkcije smo izmerili pri valovnih dolžinah od 280 do 400 nm z UV/VIS spektrofotometrom (Lambda 25, Perkin-Elmer, Norwalk, CT, USA). Vsebnosti UV absorbirajočih snovi smo izračunali kot integral ekstinkcijskih vrednosti od 280 do 320 nm in od 320 do 400 nm ter jih izrazili v relativnih enotah (Formula 3).

Formula ...(3)

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

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 [g]; P - površina vzorca [cm^2]

3.3.4 Statistična obdelava podatkov

Iz pridobljenih podatkov smo izračunali povprečja in standardne odklone. Za testiranje normalnosti podatkov smo uporabili Shapiro-Wilkov test. Pri listih visokega trpotca (*P. altissima*), nabranih v mesecu maju, smo primerjali povprečja različnih parametrov glede na območje rasti (poplavljen in suho). Značilnosti razlik med majskimi listi smo določili s Studentovim t-testom oziroma z Mann-Whitneyevim testom. Merjeni spekter smo razdelili na posamezna območja (UV-B (300–319,95 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)). Povprečne vrednosti prepustnosti oziroma odbojnosti za vsak del spektra smo primerjali s posameznimi anatomskimi, morfološkimi in biokemijskimi parametri, pri čemer smo naredili analize odvisnosti s Spearmanovim korelacijskim koeficientom (ρ). Analize smo naredili posebej za majska vzorca ter za celotno obdobje vzorčenja - od meseca maja do septembra. Za klustersko analizo smo uporabili Wardovo metodo s kvadratom evklidske razdalje. Uporabljali smo statistična programa R (R Core Team, 2012) in IBM SPSS Statistics 19 (SPSS, Inc., IBM Company, ZDA). Za pripravo podatkov v programu R smo uporabili paket reshape2 (Wickham, 2007), za risanje paket ggplot2 (Wickham, 2009). V preglednicah so statistično značilne razlike označene z dvema zvezdicama ($p < 0.01$) oz. eno zvezdico ($p < 0.05$).

4 REZULTATI

4.1 PRIMERJAVA SPEKTROV ODBOJNOSTI IN PRESEVNOSTI MAJSKIH LISTOV

4.1.1 Anatomske, morfološke in biokemijske lastnosti listov

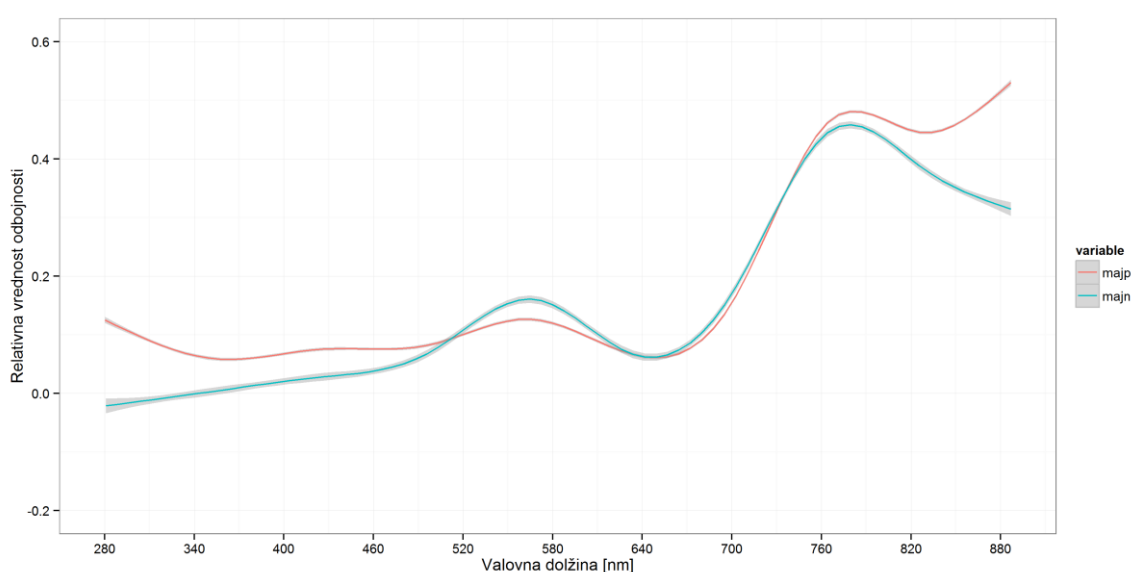
Vzorci se v nekaterih morfoloških, anatomskih in biokemijskih parametrih statistično razlikujejo, razlike so še posebej opazne pri biokemijskih parametrih. V splošnem je za prikazane parametre značilno (Preglednica 1), da imajo vzorci s poplavljenega rastišča vse vrednosti višje od vzorcev s suhega.

Preglednica 1: Nekateri morfološki, anatomski in biokemijski parametri listov visokega trpotca (*P. altissima*) s poplavljenega in suhega vzorčnega mesta v mesecu maju; prikazane so povprečne vrednosti \pm SD; n = 10; ter značilnosti razlik med njimi, podane s pomočjo *t*-testa ali neparametričnega Mann – Whitney testa; prikazane so le statistično značilne razlike * $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$, x – mejna vrednost

Parameter	Maj poplavljeno	Maj suho	poplavljeno-suho
Specifična listna površina (SLA) [cm ² /mg]	0,9 \pm 0,2	0,6 \pm 0,1	**
Delež vode [%]	90 \pm 3	86 \pm 3	*
Debelina lista [μ m]	524 \pm 63	459 \pm 67	x
Debelina stebričastega tkiva [μ m]	282 \pm 36	241 \pm 25	**
Zgornja povrhnjica			
Dolžina rež [μ m]	35 \pm 4	39 \pm 2	*
Biokemijski parametri			
Klorofil a [mg/g ss]	18,3 \pm 1,9	9,1 \pm 2,1	**
Klorofil a [mg/dm ²]	8,6 \pm 1,4	5,9 \pm 1	**
Klorofil b [mg/g ss]	10,5 \pm 2,4	6,8 \pm 2,2	**
Karotenoidi [mg/g ss]	4,7 \pm 0,4	2,5 \pm 0,6	**
Karotenoidi [mg/dm ²]	2,2 \pm 0,3	1,6 \pm 0,3	**
Antociani na ss [relativna enota]	298 \pm 33	145 \pm 17	**
Antociani na P [relativna enota]	140 \pm 18	97 \pm 18	**
UV-A absorbirajoče snovi na ss [relativna enota]	2935 \pm 308	1562 \pm 509	**
UV-A absorbirajoče snovi na P [relativna enota]	1387 \pm 237	1022 \pm 281	**
UV-B absorbirajoče snovi na ss [relativna enota]	1639 \pm 205	945 \pm 263	**
UV-B absorbirajoče snovi na P [relativna enota]	771 \pm 117	620 \pm 146	*

4.1.2 Odbojnost listov

Odbojnost listov je relativno nizka v UV (280 – 400 nm) območju in v vidnem območju (400 – 700 nm), kjer doseže vrh v pasu zelene pri približno 560 nm. Relativno visoka je v NIR (700 – 887 nm) delu spektra, kjer doseže vrh pri približno 780 nm. Odbojna spektra sta si najbolj podobna v pasu od 620 do 740 nm, z minimumom v območju rdeče pri približno 650 nm. Največje razlike med krivuljama so v UV in NIR delu, kjer je odbojnost vzorcev s poplavljenega predela višja od vzorcev s suhega, v pasu zelene v VIS pa je nižja. V območju 840 – 887 nm odbojnost vzorcev majp močno narašča, vzorcev majn pa pada (Slika 2).



Slika 2: Odbojna spektra listov visokega trpotca (*P. altissima*) s poplavljenega (majp) in suhega (majn) vzorčnega mesta v mesecu maju; prikazane so vse vrednosti, n=10

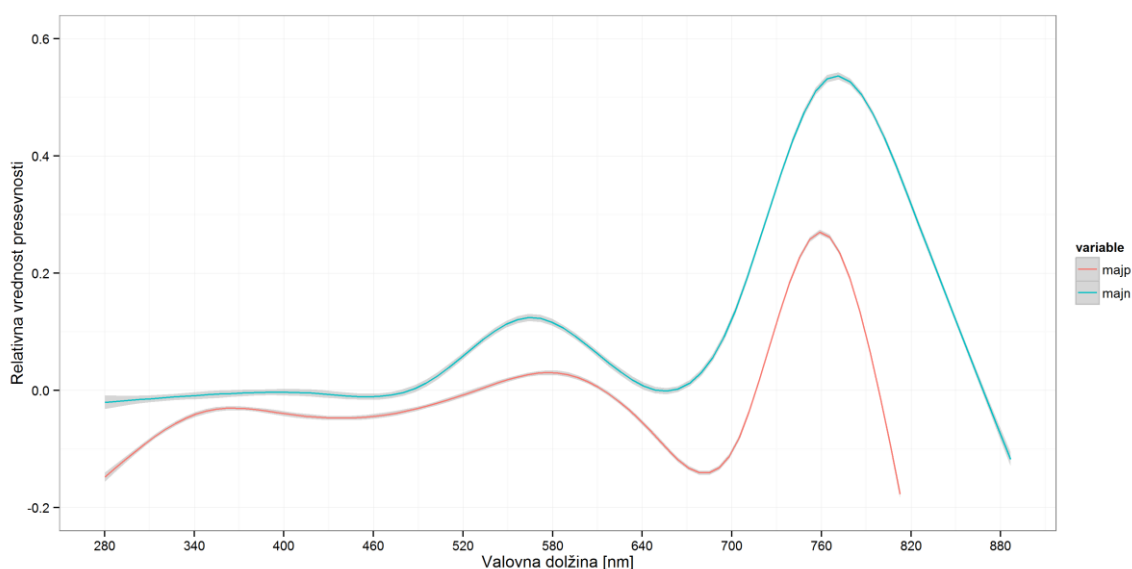
Rezultati analize povezanosti odbojnosti in posameznih lastnosti majskih listov visokega trpotca kažejo (Preglednica 2), da so spektralna območja močno povezana z biokemijskimi lastnostmi: vsi parametri (izjema je vsebnost klorofila *b*) so značilno povezani z UV, vijoličnim in modrim ter NIR območjem. Fotosintezna barvila in antociani imajo negativno povezavo v pasu zelene in rumene. Pas rdeče ni značilno povezan z nobenim merjenim parametrom. Od anatomskih in morfoloških parametrov so z UV delom spektra značilno povezani SLA, debelina stebričastega tkiva, gostota rež na obeh povrhnjicah. Dolžina rež na zgornji povrhnjici kaže obratno sorazmernost. Z odbojnostjo v NIR območju so značilno povezani SLA, delež vode, debelina lista, gostota rež na zgornji povrhnjici in debelina stebričastega ter gobastega tkiva.

Preglednica 2: Vrednosti Spearmanovega korelacijskega koeficienta (ρ), ki prikazujejo stopnjo povezanosti odbojnosti in posameznih lastnosti listov pri visokem trpotcu (*P. altissima*) s poplavljenega in suhega vzorčnega mesta v mesecu maju; prikazani so le parametri s statistično značilno stopnjo povezanosti z odbojnostjo; $n = 34$; * $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$

Parameter	UV-B	UV-A	vijolična	modra	zelena	rumena	rdeča	NIR
Specifična listna površina	0,615**	0,610**	0,670**	0,691**			-0,507*	0,561*
Delež vode			0,516*	0,544*				0,458*
Debelina lista								0,641**
Debelina stebričastega tkiva	0,526*	0,542*						0,745**
Debelina gobastega tkiva								0,580**
Zgornja povrhnjica								
Gostota rež	0,537*	0,526*	0,493*					0,480*
Dolžina rež	-0,540*	-0,532*	-0,513*					
Spodnja povrhnjica								
Gostota rež	0,480*	0,484*						
Biokemijski parametri								
Klorofil <i>a</i> (ss)	0,586**	0,607**	0,604**	0,628**	-0,644**	-0,665**		0,628**
Klorofil <i>a</i> (na površino)	0,512*	0,565*	0,504*	0,509*	-0,709**	-0,700**		0,616**
Klorofil <i>b</i> (ss)				0,481*	-0,481*	-0,461*		
Karotenoidi (ss)	0,665**	0,665**	0,693**	0,704**	-0,532*	-0,598**		0,663**
Karotenoidi (na površino)	0,635**	0,658**	0,588**	0,600**	-0,628**	-0,646**		0,712**
Antociani (ss)	0,616**	0,651**	0,649**	0,644**	-0,758**	-0,779**		0,654**
Antociani (na površino)	0,581**	0,658**	0,561*	0,544*	-0,828**	-0,812**		0,658**
UV-A absorbirajoče snovi (ss)	0,774**	0,711**	0,728**	0,811**				0,740**
UV-A absorbirajoče snovi (na površino)	0,625**	0,623**	0,525*	0,612**				0,698**
UV-B absorbirajoče snovi (ss)	0,735**	0,686**	0,719**	0,804**				0,707**
UV-B absorbirajoče snovi (na površino)	0,567*	0,547*	0,474*	0,591**				0,625**

4.1.3 Presevnost listov

Slika 3 prikazuje presevna spektra listov visokega trpotca nabranih v mesecu maju. Presevna spektra sta relativno nizka v UV (280 – 400 nm) in v vidnem območju (400 – 700 nm), z vrhom v zelenem pasu, ter relativno visoka v NIR (700 – 887 nm) delu. Presevnost vzorcev maj poplavljenega je preko celotnega spektra nižja od vzorcev maj suho, še posebej se razlikujeta v vidnem pasu od 500 nm dalje vse do konca NIR območja. Minimum presevnosti dosežeta krivulji v rdečem območju. Zeleni vrh in rdeči rob sta pri vzorcih maj poplavljenega nižja in zamaknjena v daljše valovne dolžine, vrh v NIR območju pa vzorci maj poplavljenega dosežejo pri krajši valovni dolžini (760 nm) kot maj suho (780 nm). Od vrha v NIR območju spektrov presevnosti ima krivulja vzorcev maj poplavljenega veliko večji naklon padanja, kot ga ima krivulja vzorcev maj suho.



Slika 3: Presevna spektra listov visokega trpotca (*P. altissima*) s poplavljenega (majp) in suhega (majn) vzorčnega mesta v mesecu maju; prikazane so vse vrednosti, n=10

Rezultati analize povezanosti presevnosti in posameznih lastnosti majskih listov visokega trpotca (Preglednica 3) kažejo, da so spektralna območja izjemno povezana z biokemijskimi parametri: med vsemi parametri in spektralnimi pasovi obstaja obratna sorazmernost. vzdolž celotnega spektra negativno korelirata tudi debelina stebričastega tkiva in SLA. V modrem, zelenem, rumenem in rdečem pasu značilno vplivata na presevnost delež vode in debelina lista, v zelenem in rumenem ima značilen vpliv tudi debelina gobastega tkiva.

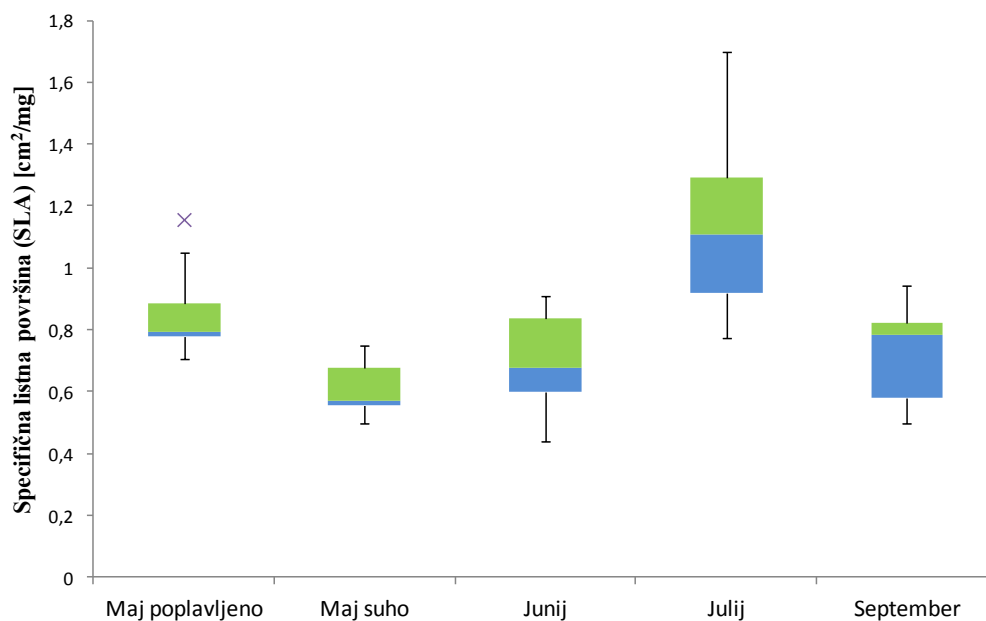
Preglednica 3: Vrednosti Spearmanovega korelacijskega koeficienta (ρ), ki prikazujejo stopnjo povezanosti presevnosti in posameznih lastnostih listov pri visokem trpotcu (*P. altissima*) s poplavljenega in suhega vzorčnega mesta v mesecu maju; prikazani so le parametri s statistično značilno stopnjo povezanosti s presevnostjo; $n = 34$; * $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$

Parameter	UV-B	UV-A	vijolična	modra	zelena	rumena	rdeča	NIR
Specifična listna površina	-0,699**	-0,699**	-0,703**	-0,707**	-0,632**	-0,625**	-0,697**	-0,689**
Delež vode				-0,447*	-0,486*	-0,504*	-0,487*	
Debelina lista				-0,465*	-0,591**	-0,609**	-0,515*	
Debelina stebričastega tkiva	-0,479*	-0,479*	-0,478*	-0,602**	-0,705**	-0,721**	-0,654**	-0,524*
Debelina gobastega tkiva					-0,514*	-0,535*		
Biokemijski parametri								
Klorofil <i>a</i> (ss)	-0,699**	-0,699**	-0,702**	-0,707**	-0,749**	-0,741**	-0,720**	-0,717**
Klorofil <i>a</i> (na površino)	-0,641**	-0,641**	-0,639**	-0,647**	-0,725**	-0,725**	-0,663**	-0,653**
Klorofil <i>b</i> (ss)	-0,589**	-0,589**	-0,592**	-0,582**	-0,598**	-0,583**	-0,591**	-0,632**
Karotenoidi (ss)	-0,662**	-0,662**	-0,665**	-0,674**	-0,710**	-0,710**	-0,674**	-0,681**
Karotenoidi (na površino)	-0,629**	-0,629**	-0,621**	-0,632**	-0,726**	-0,741**	-0,623**	-0,659**
Antociani (ss)	-0,710**	-0,710**	-0,719**	-0,734**	-0,785**	-0,782**	-0,753**	-0,704**
Antociani (na površino)	-0,692**	-0,692**	-0,704**	-0,713**	-0,821**	-0,821**	-0,749**	-0,707**
UV-A absorbirajoče snovi (ss)	-0,750**	-0,750**	-0,738**	-0,758**	-0,680**	-0,681**	-0,738**	-0,773**
UV-A absorbirajoče snovi (na površino)	-0,606**	-0,606**	-0,595**	-0,630**	-0,589**	-0,592**	-0,624**	-0,656**
UV-B absorbirajoče snovi (ss)	-0,758**	-0,758**	-0,755**	-0,761**	-0,645**	-0,641**	-0,740**	-0,773**
UV-B absorbirajoče snovi (na površino)	-0,544*	-0,544*	-0,529*	-0,537*	-0,450*	-0,451*	-0,508*	-0,586**

4.2 SEZONSKE SPREMEMBE V SPEKTRIH ODBOJNOSTI IN PRESEVNOSTI LISTOV

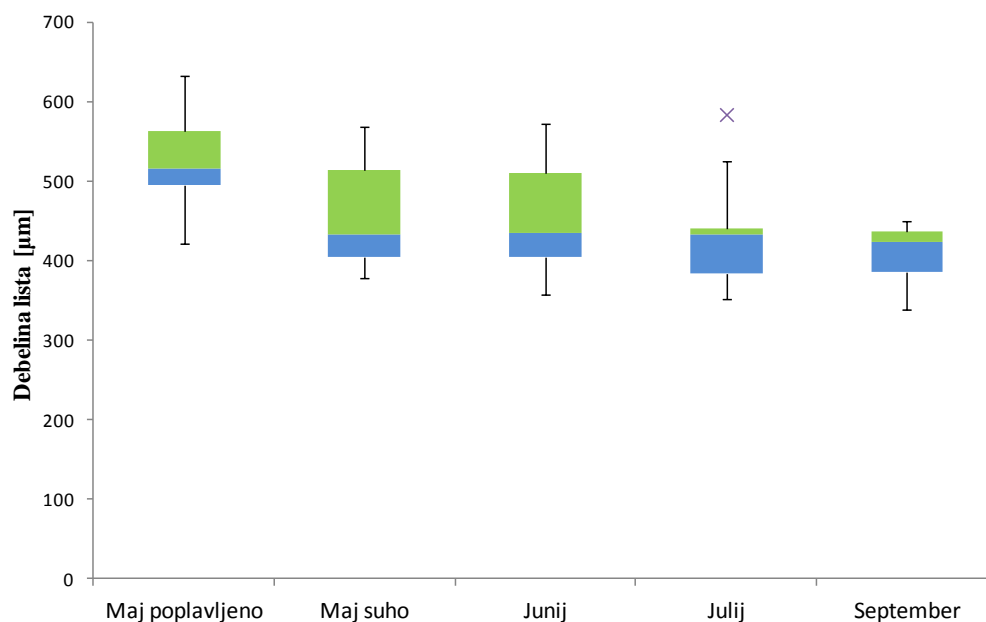
4.2.1 Anatomske, morfološke in biokemijske lastnosti listov

Specifična listna površina (SLA) je izrazito najvišja v mesecu juliju, rahlo izstopajo tudi majski vzorci s poplavljenega območja (Slika 4).



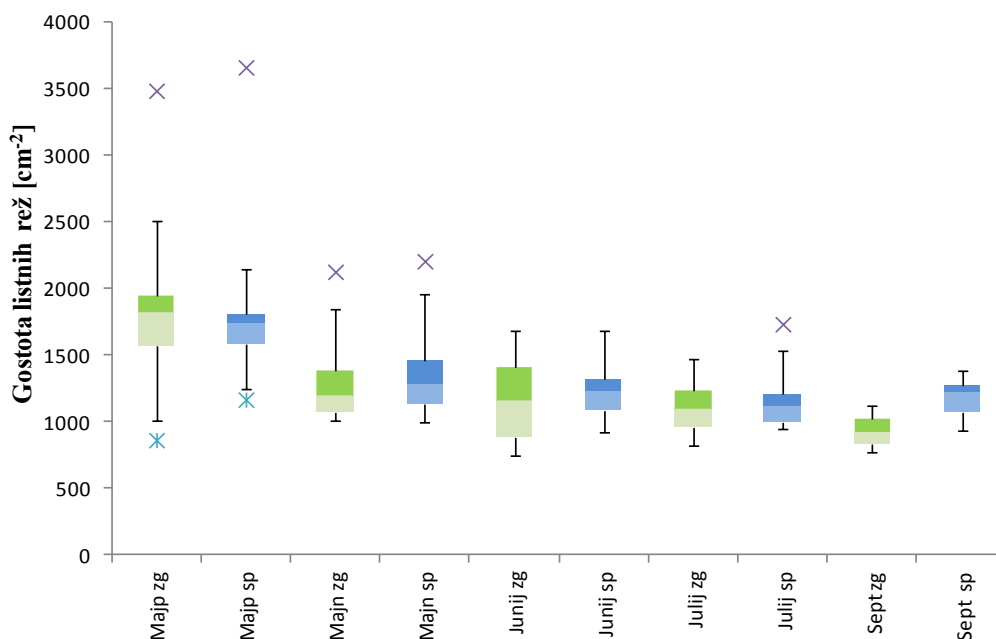
Slika 4: Specifična listna površina (SLA) [cm²/mg] listov trpotca glede na mesec vzorčenja. Podatki so prikazani kot okvirji z mediano, ki predstavljajo polovico podatkov, ročaji z neizstopajočimi podatki in oznakami x, ki predstavljajo izstopajoče (ekstremne) vrednosti ; n=10.

Debelina listov se v obdobju od maja do septembra zmanjšuje, največja je v mesecu maju pri poplavljenih rastlinah. Listi so najtanjši v mesecih julij in september (Slika 5).



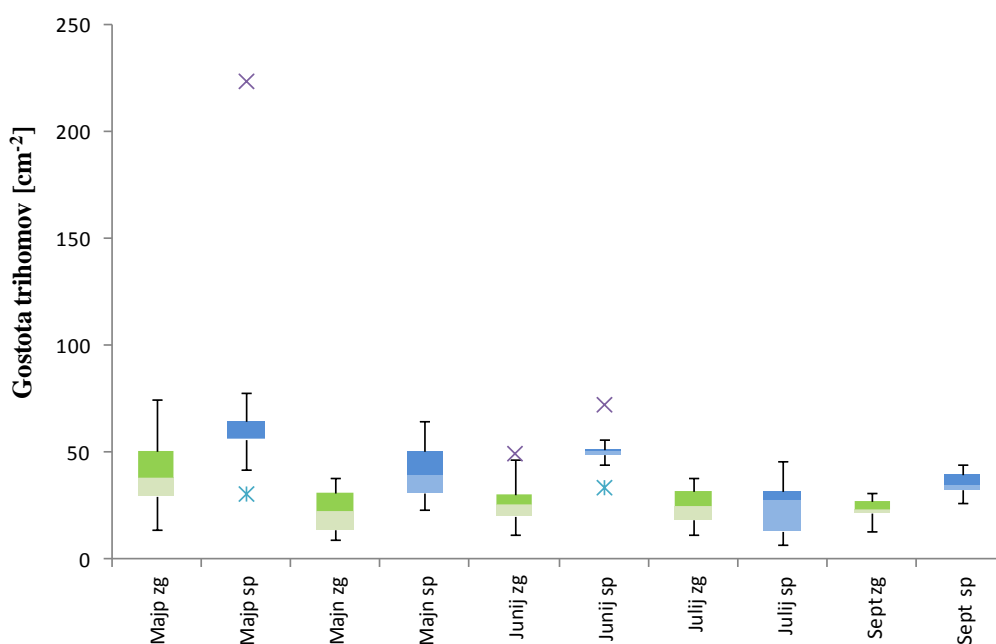
Slika 5: Debelina listov [µm] glede na mesec vzorčenja. Podatki so prikazani kot okvirji z mediano, ki predstavljajo polovico podatkov, ročaji z neizstopajočimi podatki in oznakami x, ki predstavljajo izstopajoče (ekstremne) vrednosti ; n=10.

Gostota listnih rež je na obeh povrhnjicah najvišja pri vzorcih maj poplavljen, do konca sezone pa vrednosti počasi upadajo (Slika 6).



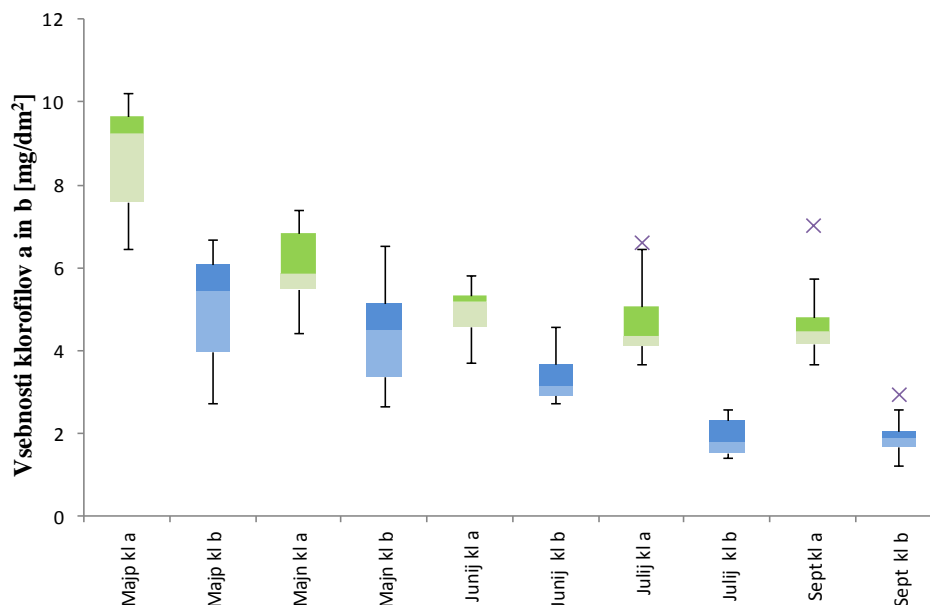
Slika 6: Gostote listnih rež [cm⁻²] na zgornji (zelena) in spodnji (modra) povrhnjici glede na mesec vzorčenja. Oznake x predstavljajo izstopajoče (ekstremne) vrednosti ; n=10.

Gostota trihomov je preko sezone višja na spodnji povrhnjici kot na zgornji. Najvišja je maja na poplavljenem mestu vzorčenja (Slika 7).



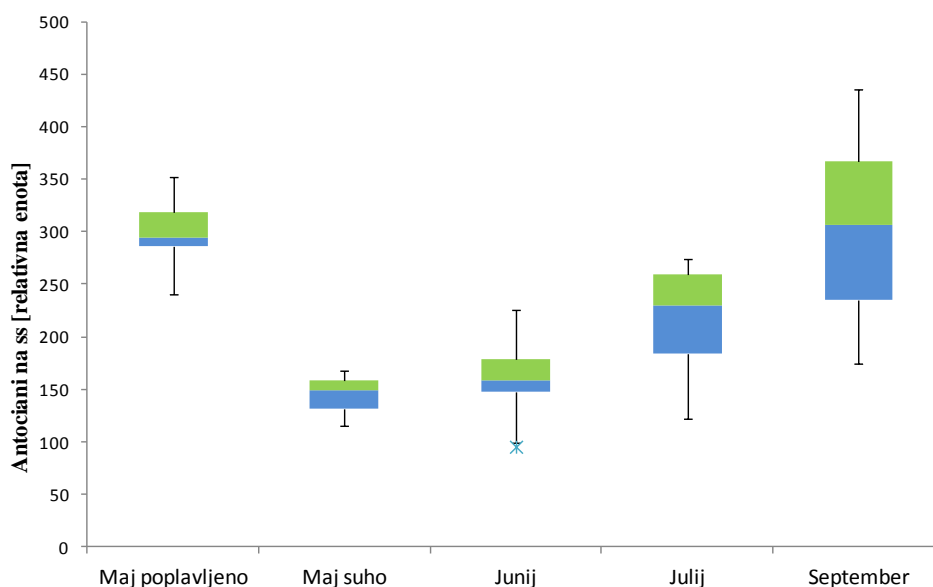
Slika 7: Gostote trihomov [cm⁻²] na zgornji (zelena) in spodnji (modra) povrhnjici glede na mesec vzorčenja. Oznake x predstavljajo izstopajoče (ekstremne) vrednosti; n=10.

Vsebnosti klorofilov *a* in *b*, izražene na površino, so najvišje pri vzorcih maj poplavljen. Od majskih do julijskih vzorcev vrednosti upadajo, pri julijskih in septembrskih vzorcih pa so vrednosti dokaj podobne (Slika 8).



Slika 8: Vsebnosti klorofilov *a* (zelena) in *b* (modra), podane na površino [mg/dm²] glede na mesec vzorčenja. Oznake x predstavljajo izstopajoče (ekstremne) vrednosti; n=10.

Vsebnosti antocianov, izražene na suho snov, naraščajo od vzorcev maj suho do septembrskih vzorcev, ko je vsebnost najvišja. Izjema so vzorci maj poplavljen, ki imajo podobno povprečno vsebnost kot septembrski (Slika 9).

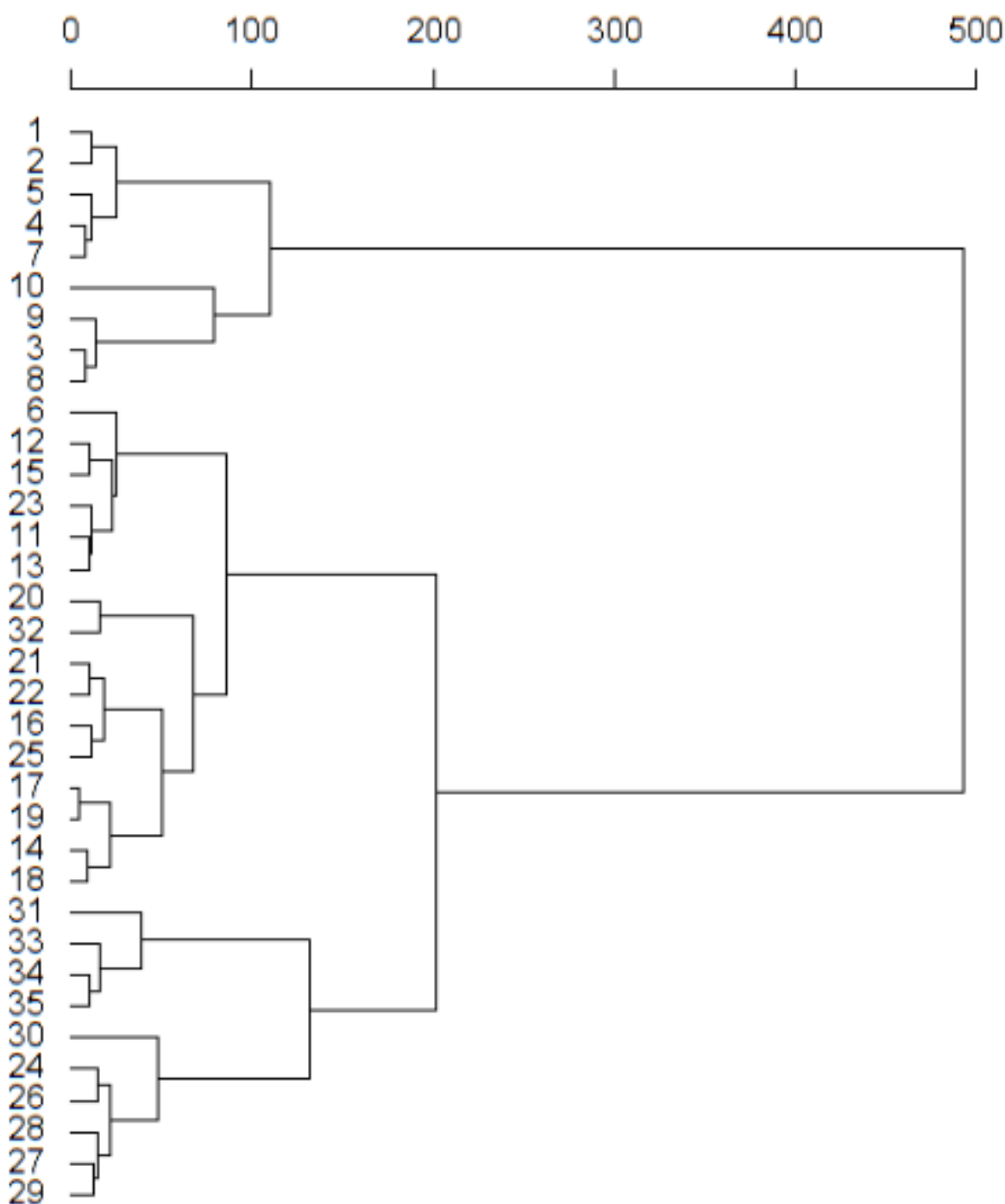


Slika 9: Vsebnosti antocianov, podane na suho snov glede na mesec vzorčenja. Oznake x predstavljajo izstopajoče (ekstremne) vrednosti; n=10.

Preglednica 4: Nekateri morfološki, anatomski in biokemijski parametri listov visokega trpotca (*P. altissima*) v obdobju od maja do septembra 2011; prikazane so povprečne vrednosti \pm SD; n = 10

Parameter	Maj				
	poplavljeno	Maj suho	Junij	Julij	September
Specifična listna površina (SLA) [cm ² /mg]	0,9 \pm 0,2	0,6 \pm 0,1	0,7 \pm 0,2	1,1 \pm 0,3	0,7 \pm 0,2
Delež vode [%]	90 \pm 3	86 \pm 3	85 \pm 4	91 \pm 2	84 \pm 3
Debelina listov [μ m]	524 \pm 63	459 \pm 67	454 \pm 68	434 \pm 69	409 \pm 40
Debelina kutikule [μ m]	4 \pm 0,7	4,2 \pm 0,3	4,1 \pm 0,7	3,3 \pm 0,6	3,7 \pm 0,7
Debelina stebričastega tkiva [μ m]	282 \pm 36	241 \pm 25	229 \pm 32	222 \pm 38	221 \pm 22
Debelina gobastega tkiva [μ m]	212 \pm 33	181 \pm 35	185 \pm 40	182 \pm 33	159 \pm 24
Zgornja povrhnjica					
Gostota rež [cm ⁻²]	1824 \pm 706	1312 \pm 362	1154 \pm 331	1098 \pm 208	929 \pm 131
Gostota trihomov [cm ⁻²]	40 \pm 17	23 \pm 13	27 \pm 12	25 \pm 13	23 \pm 5
Spodnja povrhnjica					
Gostota rež [cm ⁻²]	1842 \pm 677	1406 \pm 420	1222 \pm 235	1159 \pm 243	1181 \pm 155
Gostota trihomov [cm ⁻²]	75 \pm 57	42 \pm 15	51 \pm 11	25 \pm 15	36 \pm 6
Biokemijski parametri					
Klorofil a [mg/g ss]	18,3 \pm 1,9	9,1 \pm 2,1	9,7 \pm 2,1	12,7 \pm 3	8,3 \pm 1,6
Klorofil a [mg/dm ²]	8,6 \pm 1,4	5,9 \pm 1	5 \pm 0,6	4,6 \pm 0,9	4,7 \pm 0,9
Klorofil b [mg/g ss]	10,5 \pm 2,4	6,8 \pm 2,2	5,9 \pm 1,8	5,3 \pm 1,7	3,4 \pm 0,9
Klorofil b [mg/dm ²]	5 \pm 1,4	4,4 \pm 1,2	3,3 \pm 0,6	1,9 \pm 0,4	1,9 \pm 0,5
Karotenoidi [mg/g ss]	4,7 \pm 0,4	2,5 \pm 0,6	2,6 \pm 0,5	3,2 \pm 0,6	2,1 \pm 0,4
Karotenoidi [mg/dm ²]	2,2 \pm 0,3	1,6 \pm 0,3	1,5 \pm 0,2	1,2 \pm 0,3	1,2 \pm 0,2
Antociani na ss [relativna enota]	298 \pm 33	145 \pm 17	160 \pm 35	218 \pm 50	303 \pm 84
Antociani na P [relativna enota]	140 \pm 18	97 \pm 18	92 \pm 15	79 \pm 9	166 \pm 30
UV-A absorbirajoče snovi na ss [relativna enota]	2935 \pm 308	1562 \pm 509	1948 \pm 228	1939 \pm 400	1831 \pm 538
UV-A absorbirajoče snovi na P [relativna enota]	1387 \pm 237	1022 \pm 281	1162 \pm 299	721 \pm 172	1026 \pm 296
UV-B absorbirajoče snovi na ss [relativna enota]	1639 \pm 205	945 \pm 263	1212 \pm 172	1140 \pm 260	1064 \pm 327
UV-B absorbirajoče snovi na P [relativna enota]	771 \pm 117	620 \pm 146	730 \pm 237	426 \pm 119	599 \pm 185

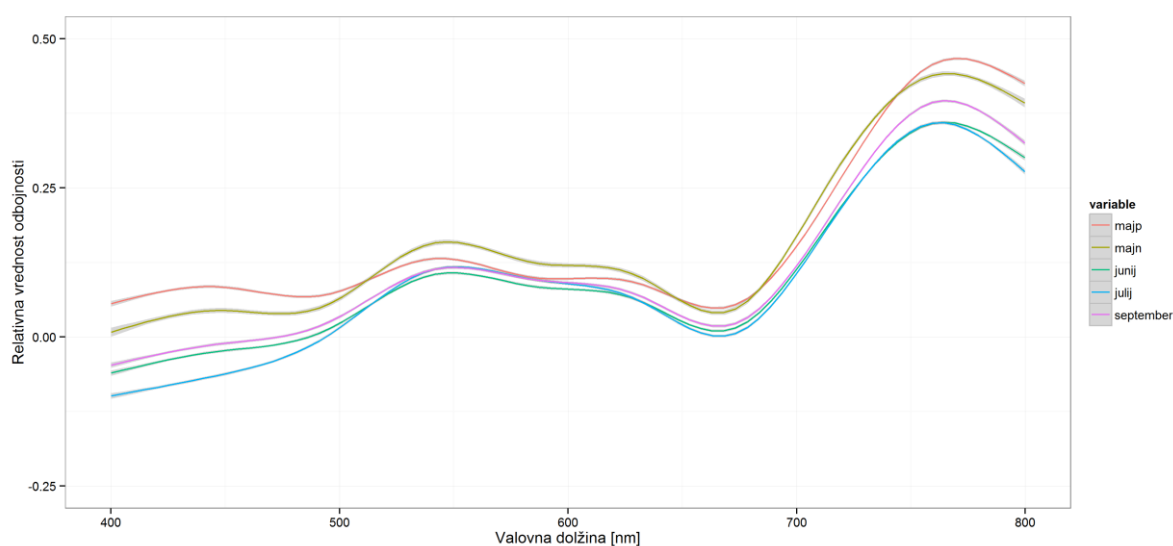
Dendrogram podobnosti, v katerega so vključeni anatomski, morfološki in biokemijski parametri (Slika 10), prikazuje združevanje listov visokega trpotca (*P. altissima*) glede na mesec vzorčenja. Od ostalih se najbolj razlikujejo majski vzorci s poplavljenega območja. V drugi skupini se po podobnosti združujejo vzorci maj suho in junijski vzorci ter julijski in septembrski vzorci.



Slika 10: Dendrogram podobnosti anatomskih, morfoloških in biokemijskih parametrov pri listih visokega trpotca (*P. altissima*) v obdobju od maja do septembra 2011 (n1-10 maj poplavljen, n11-20 maj suho, n21-25 junij, n26-30 julij, n31-35 september); podan s pomočjo klastrske analize z Bray-Curtisovim indeksom podobnosti

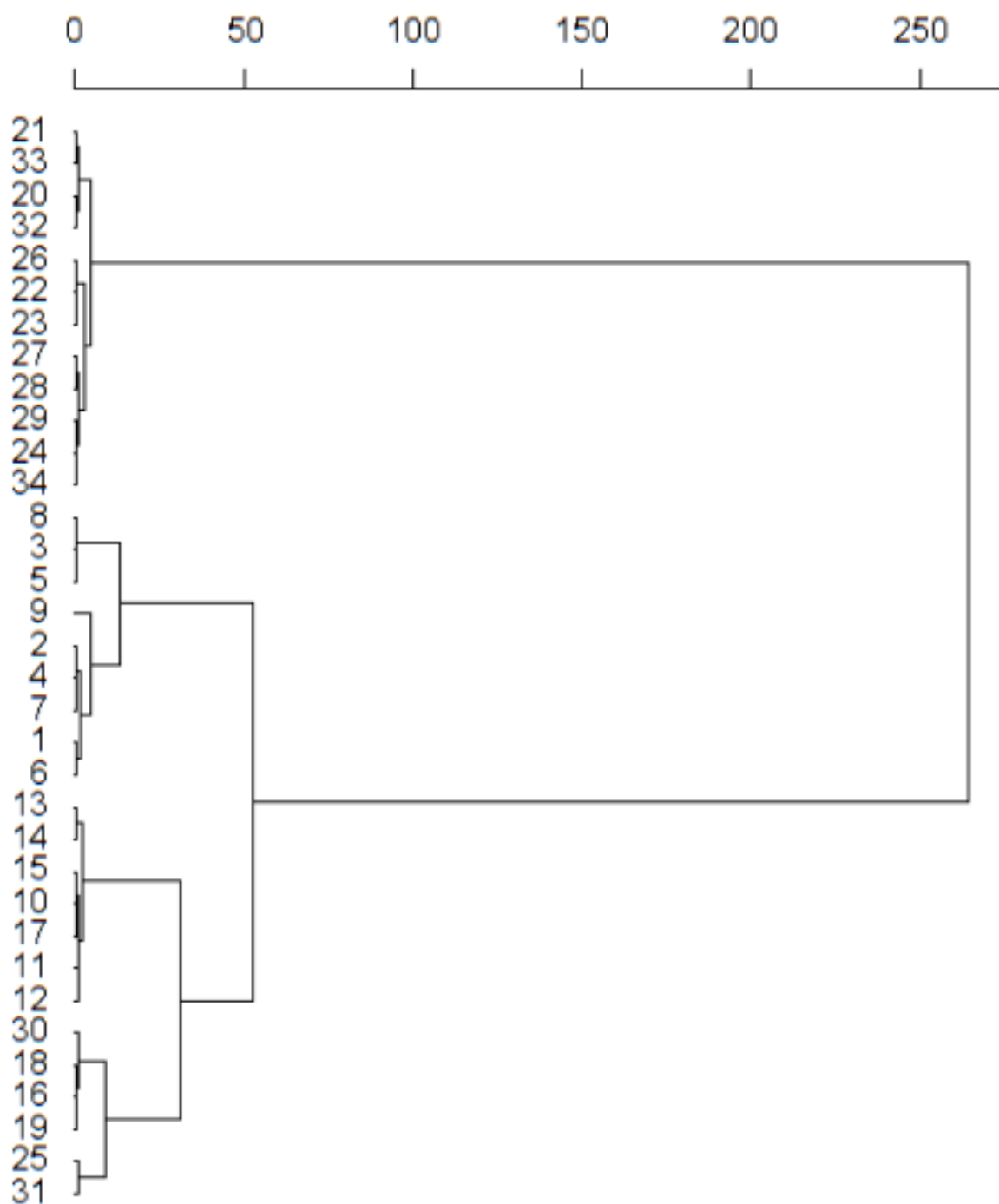
4.2.2 Odbojnost listov

Slika 11 prikazuje sezonske spremembe odbojnosti sevanja pri listih visokega trpotca. Odbojnost listov je relativno nizka v vidnem območju (400 – 700 nm), kjer v vseh mesecih dosega vrh v pasu zelene pri približno 550 nm. Relativno visoka je v NIR (700 – 887 nm) delu spektra, kjer je vrh za vse mesece pri približno 770 nm. Odbojni spektri se najbolj ujemajo v pasu zelene in rdeče (500 – 700 nm). Julijski vzorci kažejo najnižjo odbojnost preko celotnega spektra, sledijo jim junijski in septembrski vzorci, najvišja odbojnost pa je vseskozi pri vzorcih, nabranih v maju.



Slika 11: Sezonske spremembe odbojnosti sevanja pri listih visokega trpotca (*Plantago altissima*); prikazane so vse vrednosti, n=9 za majp, n=10 za majn, n=5 za junij, julij in september

Dendrogram podobnosti odbojnih spektrov (Slika 12) prikazuje združevanje listov visokega trpotca (*P. altissima*) glede na mesec vzorčenja. V prvo skupino se združujejo junijski, julijski in večina septembrskih vzorcev, v drugo pa majski vzorci, ki se med seboj precej bolj razlikujejo, kot se med seboj razlikujejo vzorci v prvi skupini.



Slika 12: Dendrogram podobnosti odbojnih spektrov pri listih visokega trpotca (*P. altissima*) v obdobju od maja do septembra 2011 (n1-9 maj poplavljeno, n10-19 maj suho, n20-24 junij, n25-29 julij, n30-34 september); podan s pomočjo klastrske analize z Bray-Curtisovim indeksom podobnosti

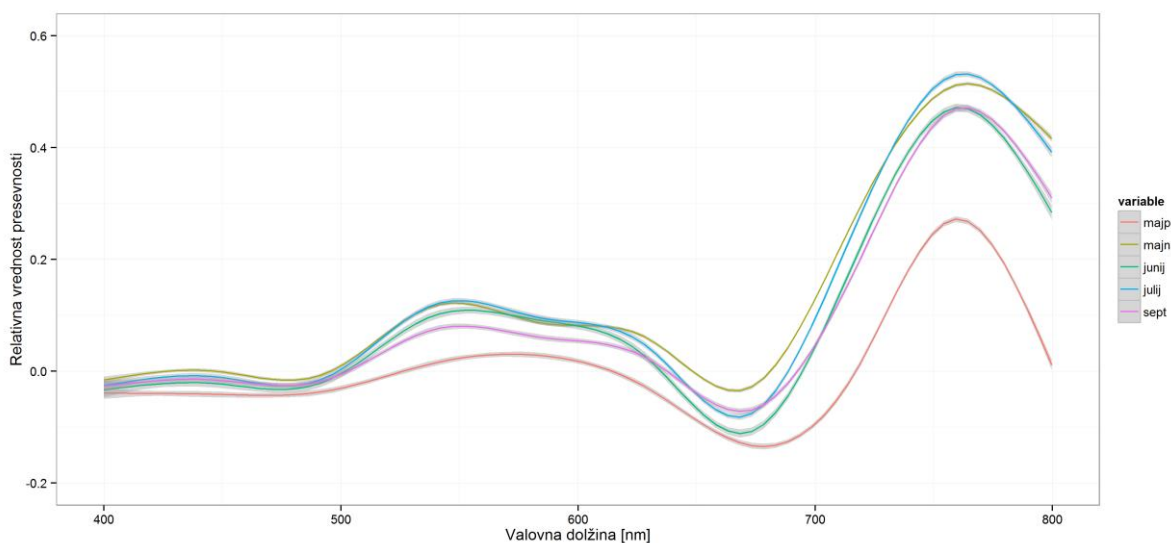
Rezultati analize povezanosti sprememb v odbojnih spektrih in posameznih lastnostih listov visokega trpotca v obdobju od maja do septembra kažejo, da so spremembe v vijoličnem in modrem pasu značilno povezane s spremembami pri vseh prikazanih parametrih (Preglednica 5), razen s spremembami v SLA in vsebnosti antocianov. S spremembami v zelenem in rumenem pasu so značilno povezane spremembe v gostotah rež na obeh povrhnjicah ter spremembe v vsebnostih antocianov. Spremembe samo v zeleem pasu so povezane s spremembami v gostotah trihomov na spodnji povrhnjici, v vsebnostih klorofilov *a* in *b* na površino ter v SLA. Spremembe v rdečem in NIR delu odbojnega spektra so značilno povezane z debelino lista, kutikule in stebričastega tkiva, gostoti rež na obeh povrhnjicah, gostota trihomov na spodnji povrhnjici, fotosintezna barvila in UV absorbirajoče snovi na površino ter vsebnosti klorofila *b* na suho snov. Samo s spremembami v NIR pasu pa so značilno povezane še spremembe v SLA, debelini gobastega tkiva ter gostoti trihomov na zgornji povrhnjici.

Preglednica 5: Vrednosti Spearmanovega korelacijskega koeficienta (ρ), ki prikazujejo stopnjo povezanosti sprememb v odbojnosti in posameznih lastnostih listov pri visokem trpotcu (*P. altissima*) v obdobju od maja do septembra 2011; prikazani so le parametri s statistično značilno stopnjo povezanosti z odbojnostjo; $n = 34$; * $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$

Parameter	vijolična	modra	zelena	rumena	rdeča	NIR
Specifična listna površina			-0,352*			-0,367*
Debelina lista	0,484**	0,451**			0,348*	0,565**
Debelina kutikule	0,276	0,387*			0,386*	0,440**
Debelina stebričastega tkiva	0,562**	0,548**			0,410*	0,611**
Debelina gobastega tkiva	0,451**	0,396*				0,524**
Zgornja povrhnjica						
Gostota rež	0,737**	0,677**	0,532**	0,480**	0,607**	0,607**
Gostota trihomov	0,392*	0,453**				0,402*
Spodnja povrhnjica						
Gostota rež	0,646**	0,603**	0,388*	0,344*	0,507**	0,468**
Gostota trihomov	0,533**	0,572**	0,382*		0,536**	0,491**
Biokemijski parametri						
Klorofil <i>a</i> (ss)	0,450**	0,405*				
Klorofil <i>a</i> (na površino)	0,754**	0,736**	0,340*		0,576**	0,649**
Klorofil <i>b</i> (ss)	0,596**	0,557**			0,404*	0,396*
Klorofil <i>b</i> (na površino)	0,656**	0,648**	0,412*		0,580**	0,612**
Karotenoidi (ss)	0,538**	0,484**				
Karotenoidi (na površino)	0,749**	0,741**			0,583**	0,621**
Antociani (ss)			-0,393*	-0,391*		
UV-A absorbirajoče snovi (ss)	0,457**	0,416*				
UV-A absorbirajoče snovi (na površino)	0,636**	0,642**			0,547**	0,538**
UV-B absorbirajoče snovi (ss)	0,444**	0,414*				
UV-B absorbirajoče snovi (na površino)	0,595**	0,620**			0,535**	0,515**

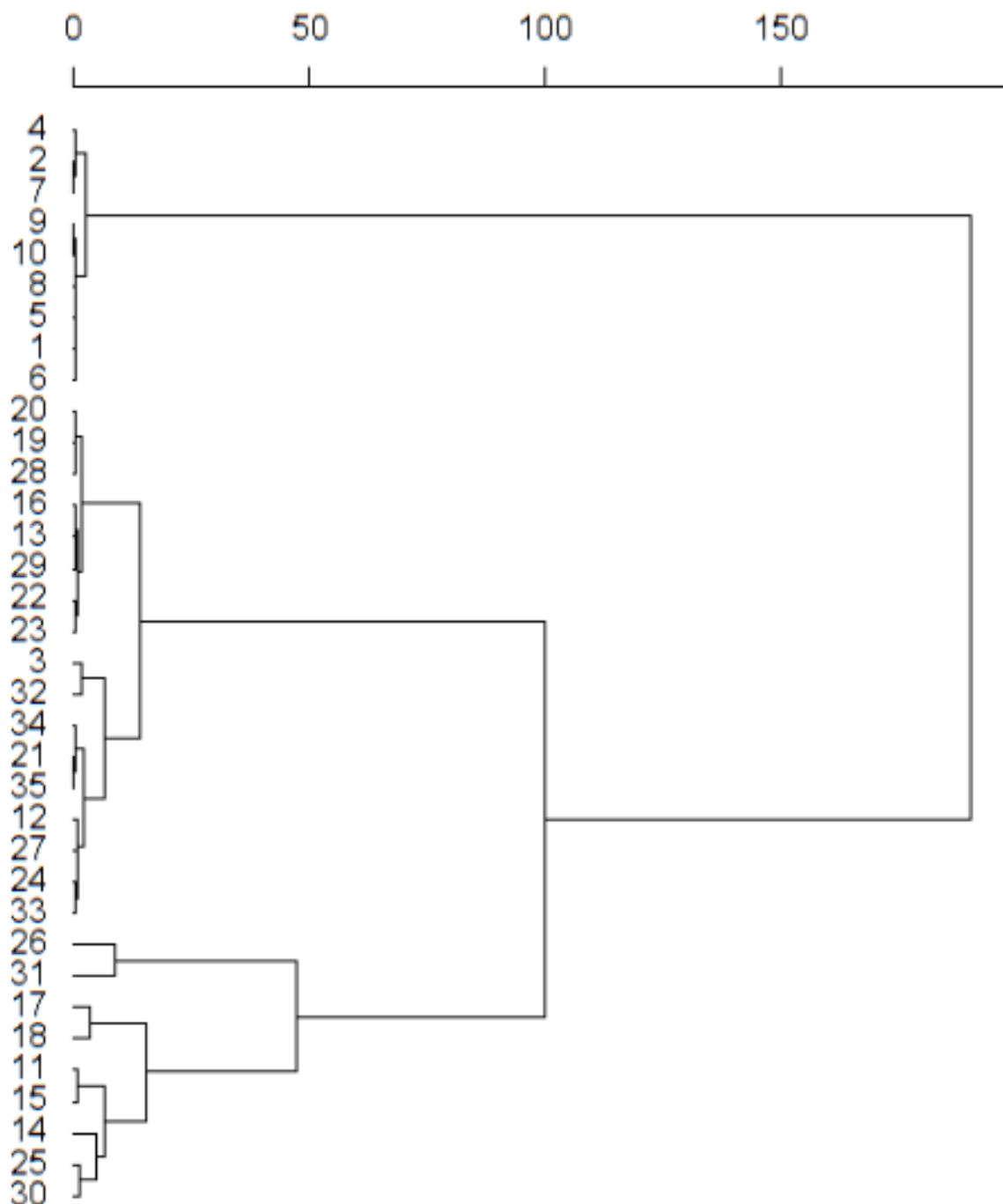
4.2.3 Presevnost listov

Presevnost listov je relativno nizka v vidnem območju (400 – 700 nm) (Slika 13), kjer v vseh mesecih dosega vrh v pasu zelene pri približno 550 nm. Relativno visoka je v NIR (700 – 887 nm) delu spektra, kjer je vrh za vse mesece pri približno 760 nm. Spektri presevnosti se najbolj ujemajo v modrem pasu (400 – 500 nm). Vzorci maj poplavljenega kažejo preko celotnega spektra najnižjo presevnost, izrazito nižja je v območju 550 – 650 nm ter v NIR pasu (700 – 800 nm), rdeči rob pa je zamaknjen v daljše valovne dolžine kot pri ostalih mesecih.



Slika 13: Sezonske spremembe v spektrih presevnosti pri listih visokega trpotca (*Plantago altissima*); prikazane so vse vrednosti, n=10 za majp in majn, n=5 za junij, julij in september

Dendrogram podobnosti presevnih spektrov (Slika 14) prikazuje združevanje listov visokega trpotca (*P. altissima*) glede na mesec vzorčenja. Od ostalih se najbolj razlikujejo majski vzorci s poplavljenega območja.



Slika 14: Dendrogram podobnosti spektrov presevnosti pri listih visokega trpotca (*P. altissima*) v obdobju od maja do septembra 2011 (n1-10 maj poplavljen, n11-20 maj suho, n21-25 junij, n26-30 julij, n31-35 september); podan s pomočjo klastrske analize z Bray-Curtisovim indeksom podobnosti

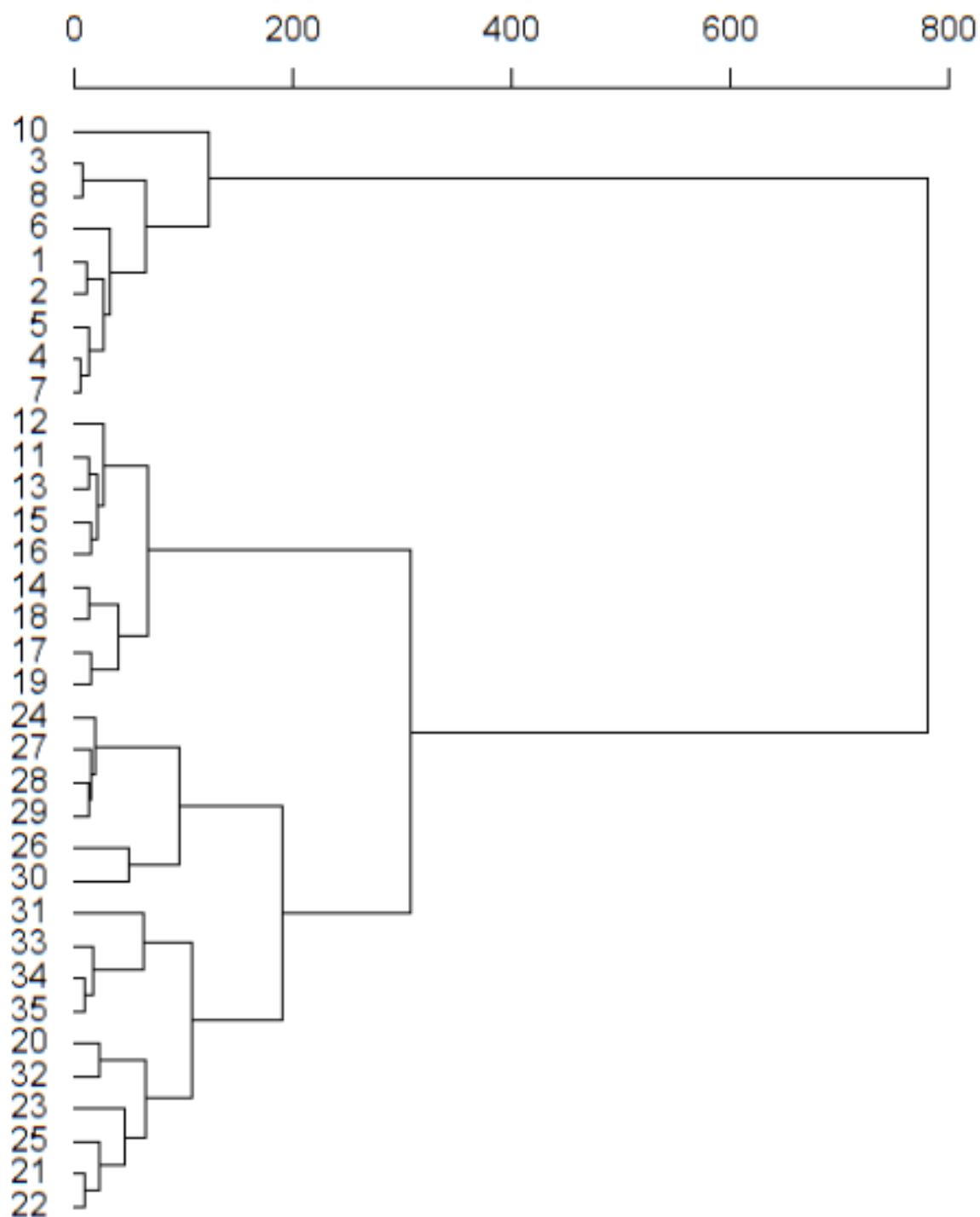
Rezultati analize povezanosti sprememb v spektrih presevnosti in v posameznih lastnostih listov visokega trpotca (*P. altissima*) v obdobju od maja do septembra (Preglednica 6) kažejo, da so spremembe v debelini lista, stebričastega in gobastega tkiva, vsebnosti klorofila *a*, karotenoidov in UV-A absorbirajočih snovi na površino značilno povezane s spremembami v presevnosti preko celotnega spektra, razen v modrem pasu, ki je značilno

povezan le s spremembami v vsebnostih antocianov na suho snov. S spremembami v zelenem, rumenem, rdečem in NIR območju je značilno povezanih večina prikazanih parametrov. Vse prikazane korelacije so negativne.

Preglednica 6: Vrednosti Spearmanovega korelacijskega koeficienta (ρ), ki prikazujejo stopnjo povezanosti sprememb v presevnosti in posameznih lastnostih listov pri visokem trpotcu (*P. altissima*) v obdobju od maja do septembra 2011; prikazani so le parametri s statistično značilno stopnjo povezanosti s presevnostjo; $n = 35$; * $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$

Parameter	vijolična	modra	zelena	rumena	rdeča	NIR
Debelina lista	-0,511**		-0,512**	-0,516**	-0,516**	-0,540**
Debelina stebričastega tkiva	-0,466**		-0,605**	-0,609**	-0,609**	-0,596**
Debelina gobastega tkiva	-0,477**		-0,434**	-0,449**	-0,449**	-0,458**
Zgornja povrhnjica						
Gostota trihomov			-0,623**	-0,611**	-0,611**	-0,565**
Spodnja povrhnjica						
Gostota rež			-0,342*	-0,364*	-0,364*	
Gostota trihomov	-0,456**					-0,417*
Biokemijski parametri						
Klorofil <i>a</i> (ss)			-0,424*	-0,438**	-0,438**	-0,423*
Klorofil <i>a</i> (na površino)	-0,412*		-0,468**	-0,488**	-0,488**	-0,428*
Klorofil <i>b</i> (ss)				-0,335*	-0,335*	
Klorofil <i>b</i> (na površino)	-0,423*					
Karotenoidi (ss)			-0,411*	-0,432**	-0,432**	-0,442**
Karotenoidi (na površino)	-0,487**		-0,459**	-0,471**	-0,471**	-0,495**
Antociani (na površino)			-0,630**	-0,614**	-0,614**	-0,509**
Antociani (ss)		-0,373*	-0,688**	-0,663**	-0,663**	-0,566**
UV-A absorbirajoče snovi (ss)			-0,520**	-0,498**	-0,498**	-0,582**
UV-A absorbirajoče snovi (na površino)	-0,442**		-0,461**	-0,429*	-0,429*	-0,532**
UV-B absorbirajoče snovi (ss)			-0,500**	-0,471**	-0,471**	-0,560**
UV-B absorbirajoče snovi (na površino)	-0,449**		-0,375*			-0,469**

Dendrogram podobnosti, v katerega so vključeni vsi merjeni parametri, vključno s spektri odbojnosti in presevnosti, prikazuje združevanje listov visokega trpotca (*P. altissima*) glede na mesec vzorčenja (Slika 15). Majski vzorci s poplavljenega območja se najbolj razlikujejo od vseh ostalih, ki se nadaljnje združujejo v dve skupini. V prvi skupini so majski vzorci s suhega območja, v drugi pa se združujejo julij, junij in september, od katerih sta si najbolj podobna junij in september.



Slika 15: Dendrogram podobnosti listov visokega trpotca (*P. altissima*) v obdobju od maja do septembra 2011 (n1-10 maj poplavljen, n11-20 maj suho, n21-25 junij, n26-30 julij, n31-35 september); vključeni so vsi merjeni parametri, tudi odbojnost in presevnost; graf je podan s pomočjo klastrske analize z Bray-Curtisovim indeksom podobnosti

5 RAZPRAVA

V diplomskem delu smo proučevali sezonske spremembe v odbojnosti in presevnosti listov visokega trpotca (*Plantago altissima*). Posebej smo primerjali majske vzorce, ki so se razlikovali v razmerah na rastišču (poplavljen in suh). Zanimalo nas je, kako so spremembe v odbojnosti in presevnosti povezane s spremembami v anatomskih, morfoloških in biokemijskih lastnostih. Potrdili smo, da lahko na podlagi sprememb v intenziteti spektralnega podpisa pri določenih valovnih dolžinah sklepamo na kemijo listov (Levizou in sod., 2005).

Spektri presevnosti in odbojnosti listov visokega trpotca večinoma kažejo tipične značilnosti zdravega lista. Imajo relativno nizko odbojnost in presevnost v vidnem (400 – 700 nm) ter visoko v NIR območju (700 – 887 nm). Vrh spektri značilno dosegajo v zelenem pasu (560 nm) in v NIR območju pri približno 780 nm (Daughtry in Walthall, 1998; Underwood in sod., 2007; Yoshimura in sod., 2010). Spektralni zapis majskih vzorcev nam pokaže še relativno nizko odbojnost in presevnost v UV območju, kar ustreza dosedanjim raziskavam (Yoshimura in sod., 2010; Qi in sod., 2002). Kot smo predvidevali, lahko nizko odbojnost in presevnost listov v vidnem spektru pripišemo barvilom, ki absorbirajo vidno svetlobo (Woolley, 1971).

Krivulje presevnosti imajo ostrejše vrhove kot krivulje odbojnih spektrov, kar Woolley (1971) razlaga s pojavom, da delež odbite svetlobe komajda prodre v list, in tako ne vpliva na barvila. Predvidevamo, da na krivuljo vpliva tudi močna absorpcija barvil pri določenih valovnih dolžinah, kar zoža spekter presevane svetlobe. Posebej značilna je absorpcija v modrem in rdečem območju, kar pripisujejo absorpciji klorofilov *a* in *b* ter karotenoidov (Yoshimura in sod., 2010; Underwood in sod., 2007).

5.1 PRIMERJAVA SPEKTROV ODBOJNOSTI IN PRESEVNOSTI MAJSKIH LISTOV

5.1.1 Anatomske, morfološke in biokemijske lastnosti listov

Majski vzorci se značilno razlikujejo v nekaterih anatomskih, morfoloških in biokemijskih parametrih. Opazna je težnja, da so vrednosti merjenih parametrov pri poplavljenih vzorcih višje kot pri suhih: poplavljeni vzorci imajo bistveno višjo specifično listno površino, veliko več stebričastega tkiva ter veliko večje vsebnosti vseh barvil. Vzrok za razlike so verjetno različne morfološke lastnosti, ki pogojujejo tudi biokemijske lastnosti, izražene na suho snov ali površino.

5.1.2 Odbojnost listov

Pri majskih vzorcih opazimo velike razlike v spektrih odbojnosti in presevnosti. Glede na odbojne spektre se majski vzorci najbolj razlikujejo v UV in NIR območju, kjer je odbojnost vzorcev poplavljenega predela višja od vzorcev suhega, v pasu zelene v VIS pa je nižja. Analiza povezanosti nam pokaže, da so razlike v odbojnosti med vzorci predvsem posledica različnih koncentracij barvil. Visokega naklona krivulje vzorcev maj poplavljenega v UV-B območju ne moremo razložiti z UV absorbirajočimi snovmi, saj glede na raziskave višje koncentracije UV absorbirajočih snovi pomenijo nižjo odbojnost (Yoshimura in sod., 2010), v našem primeru pa je ravno obratno. V UV in vijoličnem pasu imajo vpliv vsa barvila, razen klorofili *b*, ki se priključijo v modrem pasu. Ker imajo UV absorbirajoče snovi, klorofili, karotenoidi in antociani vpliv na odvajanje odvečne energije, ki jo dovede UV sevanje, je rezultat smiseln (Yoshimura in sod., 2010; Filella in Peñuelas, 1999; Steyn in sod., 2002). Na odbojnost v zelenem in rumenem delu spektra po pričakovanjih vplivajo fotosintezna barvila, pa tudi antociani. Negativne povezave pomenijo manjšo odbojnost v zelenem pasu ob večjih koncentracijah klorofilov in antocianov. Antociani absorbirajo v zelenem delu spektra. Z visokimi koncentracijami pri vzorcu maj poplavljenega lahko dodatno nižajo odbojnost v zelenem pasu (Steyn in sod., 2002). V modrem pasu je vpliv barvil v nasprotju s pričakovanji, saj klorofili in karotenoidi modro barvo absorbirajo in ne odbijajo.

Na odbojne spektre v pasu bližnje infrardeče svetlobe vplivata predvsem zgradba lista in vsebnost vode (Underwood in sod., 2007). Ker fotosintezna barvila višjih rastlin ne absorbirajo v NIR območju (Yoshimura in sod., 2010), je povezanost barvil s tem območjem verjetno le naključna. Z NIR območjem so značilno povezani SLA, delež vode, debeline lista in tkiv. Vpliv vode lahko zanemarimo, saj ima absorpcija vode značilen vpliv v srednjem infrardečem delu spektra (Liew in sod., 2008), kar je izven našega območja merjenja. Debelejše gobasto tkivo ima večje površine celice-zrak, kar močno vpliva na odbojnost pri 800 nm (Slaton in sod., 2001), čemur pripisujemo tudi visok naklon odbojne krivulje vzorca maj poplavljenega pri valovnih dolžinah nad 820 nm. Večina raziskav ugotavlja, da gostota trihomov in prisotnost kutikule značilno vplivajo na odbojne spektre (Holmes in Keiller, 2002; Qi in sod., 2002), vendar v našem primeru značilne povezave ni.

5.1.3 Presevnost listov

Rezultati analize povezanosti presevnosti in posameznih lastnosti majskih listov visokega trpotca (*P. altissima*) po pričakovanjih kažejo, da so spektralna območja zelo povezana z vsebnostmi barvil, s čimer si tudi razlagamo dejstvo, da je spekter presevnosti v UV in VIS območjih nižji pri vzorcu maj poplavljenega kot pri vzorcu maj suho. Večje vsebnosti barvil imajo za posledico nižje presevne spektre (Qi in sod., 2003; Baltzer in Thomas, 2005).

Vzorec maj poplavljen ima rdeči rob zamaknjen v daljše valovne dolžine z minimumom presevnosti pri 670 nm, kar potrjuje višje vsebnosti klorofila *a*, ki imajo pri tej valovni dolžini enega od vrhov absorpcije (Filella in Peñuelas, 1994). Nižjo presevnost v zelenem pasu pripisujemo visoki vsebnosti antocianov (Steyn in sod., 2002). V UV-B območju so za razlike v presevnosti verjetno najbolj odgovorni UV-B absorbirajoče snovi. Poleg njih glede na analizo statistično značilno vplivata še SLA in debelina stebričastega tkiva, ki pa sta manj verjetna kandidata. Razlike v spektrih presevnosti v VIS območju so glede na strukturo lista veliko bolj izrazite, kakor pri odbojnih spektrih, kar so ugotovili tudi Yoshimura in sod. (2010). S presevnostjo v pasu modre, zelene, rumene in rdeče so značilno povezani SLA, delež vode, debelina lista ter debelina stebričastega tkiva, ki so vsi medsebojno povezani. Z debelino lista se njegova prepustnost za svetlobo manjša (Woolley, 1971). Z večjo debelino stebričastega tkiva lahko pričakujemo večje vsebnosti barvil. Gobasto tkivo je značilno povezano z zelenim in rumenim pasom, njegov vpliv pa bi lahko bil posreden, preko antocianov, ki se kopičijo v njem (Steyn in sod., 2002).

Presevnih spektrov v območju bližnjega infrardečega sevanja ne razložita ne SLA, ne debelina stebričastega tkiva, ki sta edina strukturna parametra, ki statistično značilno vplivata v tem pasu. Glede na raziskavo Woolley (1971), smo pričakovali značilen vpliv debeline lista in vsebnosti vode.

5.2 SEZONSKE SPREMEMBE V SPEKTRIH ODBOJNOSTI IN PRESEVNOSTI LISTOV

Kot smo domnevali, se od maja do septembra spreminjajo tako spektri odbojnosti in presevnosti listov kot anatomske, morfološke ter biokemijske lastnosti. Lastnosti vzorcev maj poplavljen odstopajo do take mere, da bomo te vzorce obravnavali posebej in do nadaljnjega niso vključeni v obravnavo. Rastišče vseh ostalih vzorcev je bilo suho.

5.2.1 Anatomske, morfološke in biokemijske lastnosti listov

Vsebnosti fotosinteznih barvil, izraženih na površino, od maja suho do julija upadajo, julija in septembra pa so vrednosti dokaj podobne. Drugače ugotavljajo Qi in sod. (2003), da vsebnosti klorofilov naraščajo od aprila do julija, nato pa ostajajo vrednosti približno enake, iz česar izpeljejo zaključek, da so njihovi listi dosegli poln razvoj v mesecu juliju. Pri visokem trpotcu od maja suho do julija naraščajo vsebnosti fotosinteznih barvil, izraženih na suho snov (vsebnosti klorofila *a* in karotenoidov), nato do septembra ponovno upadejo. Specifična listna površina (SLA) in vsebnost vode prav tako naraščata do julija. Debelina listov preko sezone kaže težnjo po upadanju. Listi so najtanjši v mesecih julij in september. Vse skupaj združujemo v sklep, da se preko sezone listi visokega trpotca širijo

in tanjšajo. Visoka razlika v vsebnostih klorofila *a* na suho snov in na površino je tako posledica tankega lista z višjo vsebnostjo vode in nižjo vsebnostjo suhe snovi na enako površino. Pričakovali smo, da bodo listi preko sezone postajali debelejši, kar bi bilo skladno z zaključki Qi in sod. (2003).

Preko sezone so se spreminjale tudi vsebnosti UV absorbirajočih snovi (Qi in sod., 2002), ki najvišje vrednosti dosegajo junija. Gostota listnih rež je na obeh povrhnjicah v mesecu maju nekoliko višja, vrednosti v poletnih mesecih pa so si dokaj podobne. Gostota trihomov je nekoliko višja le v juniju. Vsebnost antocianov na suho snov narašča od maja suho do septembra, ko je vsebnost izrazito najvišja. Yoshimura in sod. (2010) razložijo, da jeseni, ko se razgrajujejo klorofili in karotenoidi, na novo in v velikih količinah nastajajo antociani. Kopičenje antocianov zahteva svetlobo in običajno sovпада z obdobji, ko je ravnovesje med količino ujete svetlobe, asimilacijo CO₂ in porabo ogljikovih hidratov porušeno, zaradi česar je povečana možnost fotooksidativnih poškodb. Obstajajo dokazi, da antociani liste v senescenci varujejo pred fotodestrukcijo (Steyn in sod., 2002). Glede na dendrogram podobnosti strukturnih in biokemijskih parametrov sta si najbližje meseca maj suho in junij ter julij in september, kar sovпада z dosedanjimi ugotovitvami.

5.2.2 Odbojnost listov

Optične lastnosti listov v vidnem in NIR območju se preko sezone spreminjajo (Qi in sod., 2003; Kodani in sod., 2002; Daughtry in Walthall, 1998). Vzorce odbojnih spektrov v vidnem območju primarno napovedujejo koncentracije klorofilov, pa tudi karotenoidov (Baltzer in Thomas, 2005). Odbojni spektri se najbolj ujemajo v pasu zelene in rdeče (500 – 700 nm), v pasovih modre in NIR pa so razlike preko sezone večje. Odbojnost je najvišja pri majskih vzorcih, ki se glede na dendrogram podobnosti odbojnih spektrov najbolj razlikujeta od ostalih, julija doseže najnižje vrednosti, do septembra pa ponovno naraste. Rast odbojnosti od julija do konca sezone sta opazila tudi Daughtry in Walthall (1998) pri vrsti *Cannabis sativa*. Vredno je omeniti, da je odbojnost julija v rdečem in modrem pasu najnižja, kar nakazuje na najvišje vsebnosti klorofilov in karotenoidov, v zelenem pasu pa višja kot junija. Analiza povezanosti potrjuje, da spremembe v vsebnosti klorofilov statistično značilno vplivajo na spremembe v odbojnosti v zelenem, modrem in rdečem pasu, v modrem pasu je značilen tudi vpliv karotenoidov (Qi in sod., 2003). Višjo odbojnost v zelenem pasu julija pripisujemo manjši vsebnosti barvil na površino lista; temu ustreza obratno sorazmerje specifične listne površine in odbojnosti v zelenem območju. S spremembami odbojnosti v zelenem in rumenem pasu je v obratnem sorazmerju vsebnost antocianov: z naraščanjem koncentracij preko sezone odbojnost v tem delu spektra upada, kar sovпада z lastnostmi absorpcije antocianov (Steyn in sod., 2002). Klem in sod. (2012) so ugotovili, da lahko vsebnosti flavonolov ocenimo preko odbojnosti v vijolični oziroma

rdeči regiji (okoli 680 nm), kar drži za vsebnosti UV absorbirajočih snovi v listih visokega trpotca, ki korelirajo tako v vijoličnem kot rdečem pasu.

Od strukturnih lastnosti listov na odbojne spektre v VIS območju značilno vplivajo debelina lista in kutikule (Baltzer in Thomas, 2005) ter gostota trihomov (v modrem, vijoličnem in rdečem). Raziskave Levizou in sod. (2005) ter Holmes in Keiller (2002) potrjujejo, da gostota trihomov značilno vpliva na odbojnost v vidnem spektru.

V skladu z ugotovitvami Slaton in sod. (2001) v NIR območju značilno vplivajo debelina kutikule, debelina gobastega tkiva in gostota trihomov. V nasprotju z njihovimi opažanji v našem primeru značilno vpliva tudi debelina listov. Drugače sta v svoji raziskavi opazila Daughtry in Walthall (1998), da sezonske spremembe odbojnih spektrov v območju 700 – 1000 nm ne kažejo jasnih trendov. Statistično značilna povezanost vsebnosti barvil in odbojnosti v NIR je verjetno posledica posrednih povezav med parametri.

5.2.3 Presevnost listov

Preko sezone se spreminjajo tudi spektri presevnosti. Kot preberemo v literaturi (Daughtry in Walthall, 1998) se najbolj razlikujejo v območju 550 – 650 nm ter v NIR pasu (700 – 800 nm). Vzorec maj poplavljen ima za razliko od ostalih mesecev najnižjo presevnost ter rdeči rob zamaknjen v daljše valovne dolžine. Spektri presevnosti se najbolj ujemajo v modrem pasu (400 – 500 nm), kar sovпада z odsotnostjo značilnih povezav strukturnih in biokemijskih parametrov listov s spremembami v modri svetlobi. V pasu 400 – 600 nm ter v IR območju imata najvišja preseвна spektra maj suho in julij, v rdečem pa maj suho. V skladu s pričakovanji je presevnost v vidnem spektru povezana z vsebnostmi barvil. Na presevnost v pasu zelene, rumene in rdeče statistično značilno vplivajo vsebnosti klorofila *a*, karotenoidov, antocianov in UV absorbirajoče snovi, izražene tako na suho snov kot na površino. Večje vsebnosti barvil pomenijo nižje presevnosti pri valovnih dolžinah, ki jih barvila absorbirajo. Negativno povezanost klorofilov s presevnostjo so ugotovili tudi Qi in sod. (2003). Precej nižjo presevnost septembra v pasu zelene razlagamo z visoko vsebnostjo antocianov.

Presevni spektri so močno odvisni od debeline lista, še posebej v območjih NIR in VIS (Woolley, 1971; Yoshimura in sod., 2010). Presevnost je načeloma višja pri tanjših listih in nižja pri debelejših, vendar pa pri naših rezultatih ujemanje ni popolno. Zato sklepamo, da v VIS območju vpliv debeline prekrije vpliv barvil, v NIR pasu pa vplivajo tudi druge lastnosti. Od drugih anatomskih in morfoloških lastnosti na preseвне spektre v vidnem območju značilno vplivajo še debelina stebričastega in gobastega tkiva ter gostota trihomov in listnih rež. V skladu s tanjšanjem listov se zmanjšujeta tudi količini stebričastega in gobastega tkiva, s čimer se nižajo vsebnosti fotosinteznih barvil, ki pomembno vplivajo na količino presevane svetlobe. Ker celice zapiralke, ki obdajajo listne

reže, vsebujejo barvila, (Liew in sod., 2008), sklepamo, da razlike v gostotah listnih rež vplivajo posredno preko vsebnosti fotosinteznih barvil. Glede na to, da trihomi vplivajo na odbojne spektre, sklepamo, da bi lahko vplivali tudi na presevnost. Študij, ki bi navedbo potrjevale, nismo našli. Pas bližnje infrardeče svetlobe je značilno povezan z debelino lista, kar smo tudi pričakovali (Woolley, 1971).

V literaturi preberemo (Qi in sod., 2003; Yoshimura in sod., 2010), da so mladi listi v primerjavi s starejšimi na splošno tanjši in imajo slabše razvito listno strukturo. Pri mnogo vrstah so pokriti s trihomi, katerih gostota se s širjenjem listov manjša. Spektri odbojnosti in presevnosti v območjih vidne in NIR svetlobe so najvišji pri novo razvitih listih, s starostjo se nižajo. Vzorci maj suho ustrezajo večini trditev, zato sklepamo, da nabrani listi še niso dosegli polnega razvoja.

5.2.4 Majski vzorci, nabrani na poplavljenem rastišču

Listi, nabrani v mesecu maju na poplavljenem rastišču, se po lastnostih popolnoma razlikujejo od ostalih. Izstopajo tako glede na anatomske, morfološke in biokemijske parametre, kot glede na spektre odbojnosti in presevnosti. Pojav potrjuje tudi dendrogram podobnosti, v katerega so vključeni popolnoma vsi merjeni parametri.

Vzorci maj poplavljeni dosegajo najvišje vrednosti pri vseh strukturnih in biokemijskih lastnostih, izjema je specifična listna površina, kjer izstopa julij. Preko celotnega spektra imajo najnižjo presevnost v sezoni, odbojnost pa imajo najvišjo skupaj z vzorci maj suho, kar lahko razberemo iz dendrograma podobnosti glede na odbojne spektre, kjer se združujejo v svojo skupino.

Postavlja se vprašanje, zakaj imajo vzorci maj poplavljeni, kljub tako različnim vrednostim vseh ostalih lastnosti, podobno odbojnost kot maj suho. Predpostavljamo, da je povečana odbojnost posledica trenutnega stresa, ki ga predstavlja poplavljenost rastline. Sprva je bila povečana dostopnost vode ugoden dejavnik za razvoj rastline. V skladu s trditvijo so povišane vsebnosti fotosinteznih barvil in daleč najvišja gostota listnih rež na obeh povrhnjicah, kar bi lahko nakazovalo na povečano izmenjavo plinov ter posredno na povišano stopnjo fotosinteze. Kasneje je količina vode v jezeru narasla in rastlino poplavela, odziv rastline pa opazimo predvsem v višji odbojnosti in večji koncentraciji antocianov. Antociane smo omenjali že v povezavi s senescenco, tvorijo pa se tudi v deetilirajočih tkivih in v rastlinah, ki se razvijajo ali so pod stresom (Steyn in sod., 2002). Najnižje presevnosti ima maj poplavljeni verjetno zaradi najvišjih vsebnosti barvil in največje debeline lista, kar pa nam ne poda informacije o trenutnem stresu. Ob poplavi se tudi zmanjša dostopnost hranil, kar vpliva na koncentracije barvil (Baltzer in Thomas, 2005; Filella in Peñuelas, 1994). Carter in Knapp (2001) povzemata, da se pri rastlinah pod

stresom odbojnost poveča pri valovnih dolžinah okoli 700 nm. Pri minimumu rdeče svetlobe (okoli 680 nm), kjer primarno absorbira klorofil *a*, opazimo, da je odbojnost rahlo višja od odbojnosti maj suho, kar nakazuje na spremembe v koncentraciji klorofilov. Kljub vsemu imamo premalo podatkov, da bi lahko iz njih potegnili trdne zaključke.

Rastne razmere na Cerkniškem jezeru so nepredvidljive in močno spremenljive. Sukcesija je neprestano motena s spremembami vodnega režima (Gaberščik in Urbanc-Berčič, 2003b). Posledično se morajo rastline neprestano prilagajati spremenjenim razmeram na rastišču, kar se odraža v morfologiji in biokemijskih lastnostih listov. Razmere na rastišču so se v času razvoja pri vzorcih maj poplavljeni verjetno močno razlikovale od razmer, v katerih so se razvijale rastline, ki so bile vzorčene v maju na suhi lokaciji in v drugih mesecih, saj so listi rastlin razvili tako samosvojo morfologijo in biokemijske lastnosti.

6 SKLEPI

Listi visokega trpotca so imeli nekatere skupne spektralne lastnosti: relativno nizke odbojnosti in presevnosti v vidnem območju (400 – 700 nm) z vrhom v zelenem pasu pri 550 nm, ter visoke odbojnosti in presevnosti v NIR območju (700 – 887 nm). Spektralni zapis majskih vzorcev kaže tudi značilno relativno nizko odbojnost in presevnost v UV območju (280 – 400 nm).

Spektri odbojnosti in presevnosti listov se v vidnem in NIR območju od maja do septembra spreminjajo. Razlike sovpadajo s spremembami v anatomskih, morfoloških in biokemijskih lastnostih listov v istem obdobju, kar dokazujejo analize povezanosti optičnih lastnosti listov s strukturnimi in biokemijskimi parametri. V vidnem območju prevladuje vpliv barvil. V NIR območju prevladuje vpliv listne strukture: odbojni spektri so značilno povezani z debelino gobastega tkiva in kutikule ter z gostoto trihomov, na spektre presevnosti pa vpliva predvsem debelina listov.

Majski listi se med seboj značilno razlikujejo tako v spektrih odbojnosti in presevnosti kot v nekaterih anatomskih, morfoloških in biokemijskih lastnostih. Na optične lastnosti v UV in vidnem delu spektra značilno vplivajo barvila. V območju bližnje infrardeče svetlobe na odbojnost značilno vpliva predvsem debelina gobastega tkiva. Na presevnost značilno vpliva tudi debelina lista, vendar le v vidnem območju.

Majski listi s poplavljenega rastišča se po lastnostih močno razlikujejo od ostalih. Izstopajo glede na anatomske, morfološke in biokemijske lastnosti ter dosegajo najvišje vrednosti merjenih parametrov. Izstopajo tudi glede optičnih lastnosti: imajo najvišjo odbojnost ter najnižjo presevnost. Predvidevamo, da je vzrok za razlike v drugačnih razmerah na rastišču v času razvoja vzorcev. Pojava najvišje odbojnosti z merjenimi parametri ne moremo zadovoljivo razložiti.

7 POVZETEK

V diplomski nalogi smo proučevali sezonske spremembe odbojnosti sevanja pri listih visokega trpotca (*Plantago altissima*). Zanimalo nas je, kako so spremembe v odbojnosti in presevnosti povezane s spremembami v anatomskih, morfoloških in biokemijskih lastnostih. Posebej smo primerjali vzorce, nabrane v maju, ki so se razlikovali v razmerah na rastišču (poplavljen in suho).

Terensko delo je potekalo na območju Cerknškega jezera od maja do septembra 2011. V laboratoriju smo na sveže nabranih listih opravili meritve odbojnosti in presevnosti. Določili smo vsebnosti fotosinteznih barvil, antocianov in UV absorbirajočih snovi, specifično listno površino ter velikost in gostoto listnih rež in trihomov. Proučili smo tudi zgradbo lista. Spektre odbojnosti in presevnosti smo merili v območju od 292 do 887 nm.

Spektri presevnosti in odbojnosti listov visokega trpotca so večinoma kazali tipične značilnosti zdravega lista. Ugotovili smo nekatere skupne spektralne lastnosti: relativno nizke odbojnosti in presevnosti v vidnem območju (400 – 700 nm) z vrhom v zelenem pasu pri 550 nm ter relativno visoke odbojnosti in presevnosti v NIR območju (700 – 887 nm). Spektralni zapis majskih vzorcev je pokazal tudi značilno relativno nizko odbojnost in presevnost v UV območju (280 – 400 nm). V vidnem delu svetlobnega spektra so na odbojnost in presevnost značilno vplivale predvsem koncentracije barvil v celicah, še posebej velik vpliv so imela fotosintezna barvila, ki preferenčno absorbirajo pri rdeči in modri svetlobi.

Majski vzorci so se značilno razlikovali v nekaterih anatomskih, morfoloških in biokemijskih parametrih; vrednosti merjenih parametrov pri vzorcih s poplavljenega rastišča so bile višje kot pri vzorcih s suhega. Vzrok za razlike je bila verjetno različna morfologija. Pri majskih vzorcih smo opazili velike razlike v spektrih odbojnosti in presevnosti. Razlike v odbojnosti med rastlinami z obeh rastišč v UV in vidnem območju so bile predvsem posledica različnih koncentracij barvil in UV absorbirajočih snovi. Opazili smo tudi vpliv antocianov, ki se je odražal predvsem v zelenem delu vidnega spektra. Pri odbojnosti v bližnjem infrardečem območju sta prevladovala vpliva debeline gobastega tkiva in vode; značilne povezave odbojnih spektrov z gostoto trihomov in prisotnostjo kutikule rezultati niso pokazali. Presevnosti ni zadovoljivo razložil noben parameter.

Od maja do septembra so se spreminjali tako spektri odbojnosti in presevnosti listov kot anatomske, morfološke ter biokemijske lastnosti. Vsebnosti fotosinteznih barvil, izraženih na površino, so od maja suho do julija upadale, julija in septembra so bile vrednosti dokaj podobne. Ko smo lastnosti izrazili na suho snov, so vrednosti naraščale. Sklepamo, da so spremembe razmer na rastišču skozi sezono vplivale tako, da so na novo razviti listi

visokega trpotca postajali vse širši in tanjši. Glede na strukturne in biokemijske lastnosti so si bili med seboj najbolj podobni vzorci maj suho in junijski vzorci ter julijski in septembrski vzorci. V vidnem območju so vzorce odbojnih in presevnih spektrov primarno napovedovale koncentracije klorofilov, pa tudi karotenoidov. Močno so se spreminjale koncentracije antocianov, kar je vplivalo na odbojnost in presevnost listov v zelenem delu spektra. Odbojnost je bila najvišja pri majskih vzorcih, ki so se tudi glede na podobnost odbojnih spektrov najbolj razlikovali od ostalih, julija je dosegla najnižje vrednosti, do septembra je ponovno narasla. Od strukturnih lastnosti listov sta na odbojne spektre v VIS območju značilno vplivala debelina kutikule in gostota trihomov. V NIR območju so značilno vplivali debelina kutikule, debelina gobastega tkiva in gostota trihomov. Najnižjo presevnost smo zabeležili pri rastlinah, nabranih maja na poplavljenem rastišču. Večje vsebnosti barvil so pomenile nižje presevnosti pri valovnih dolžinah, ki jih barvila absorbirajo. NIR območje je bilo značilno povezano z debelino lista.

Lastnosti listov vzorcev maj poplavljenega so močno odstopale od vseh ostalih vzorcev, kar smo pripisali drugačni morfologiji kot posledici drugačnega rastišča. Preko celotnega spektra so imele rastline najnižjo presevnost v sezoni, odbojnost pa najvišjo skupaj z vzorci maj suho.

8 VIRI

- 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
- Belluco E., Camuffo M., Ferrari S., Modenese L., Silvestri S., Marani A., Marani M. 2006. Mapping salt-marsh vegetation by multispectral and hyperspectral remote sensing. *Remote sensing of environment*, 105, 1: 54-67
- Carter G.A., Knapp A.K. 2001. Leaf optical properties in higher plants: Linking spectral characteristics to stress and chlorophyll concentration. *American Journal of Botany*, 88, 4: 677-684
- Chandrasekharan R. 2005. Optical properties of leaves. 13. dec 2005
- 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
- Davis P.A., Caylor S., Whippon C.W., Hangarter R.P. 2011. Changes in leaf optical properties associated with light-dependent chloroplast movements. *Plant, Cell and Environment*, 34, 12: 2047-2059
- Filella I., Peñuelas J. 1994. The red edge position and shape as indicators of plant chlorophyll content, biomass and hydric status. *International Journal of Remote Sensing*, 15, 7: 1459-1470
- Filella I., Peñuelas J. 1999. 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
- Gaberščik A., Urbanc-Berčič O. 2003a. Kakovost vode v jezeru in njegovih pritokih. V: Jezero, ki izginja – Monografija o Cerknškem jezeru. Gaberščik A. (ur.). Ljubljana, Društvo ekologov Slovenije: 44-49
- Gaberščik A., Urbanc-Berčič O. 2003b. Ekosistem, ki ga ustvarja igra vode. V: Jezero, ki izginja – Monografija o Cerknškem jezeru. Gaberščik A. (ur.). Ljubljana, Društvo ekologov Slovenije: 50-57
- Holmes M.G., Keiller D.R., 2002, Effects of pubescence and waxes on the reflectance of leaves in the ultraviolet and photosynthetic wavebands: a comparison of a range of species. *Plant, Cell and Environment*, 25, 1: 85-93

- Klem K., Ač A., Holub P., Kováč D., Špunda V., Robson T.M., Urban O. 2012. Interactive effects of PAR and UV radiation on the physiology, morphology and leaf optical properties of two barley varieties. *Environmental and Experimental Botany*, 75: 52-64
- Kodani E., Awaya Y., Tanaka K., Matsumura N. 2002. Seasonal patterns of canopy structure, biochemistry and spectral reflectance in a broad-leaved deciduous *Fagus crenata* canopy. *Forest Ecology and Management*, 167, 3: 233-249
- Kranjc A. 2003a. Geologija in geomorfologija. V: Jezero, ki izginja – Monografija o Cerkniskem jezeru. Gaberščik A. (ur.). Ljubljana, Društvo ekologov Slovenije: 18-25
- Kranjc A. 2003b. Hidrološke značilnosti. V: Jezero, ki izginja – Monografija o Cerkniskem jezeru. Gaberščik A. (ur.). Ljubljana, Društvo ekologov Slovenije: 26-37
- Levizou E., Drilias P., Psaras G.K., Maneta Y. 2005. 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
- Liakoura V., Stefanou M., Manetas Y., Cholevas C., Karabourniotis G. 1997. Trichome density and its UV-B protective potential are affected by shading and leaf position on the canopy. *Environmental and Experimental Botany*, 38, 3:223-229
- Liew O.W., Chong P.C.J., Li B., Asundi A.K. 2008. Signature optical cues: Emerging technologies for monitoring plant health. *Sensors*, 8: 3205-3239
- Martinčič A. 2003. Praprotnice in semenke. V: Jezero, ki izginja – Monografija o Cerkniskem jezeru. Gaberščik A. (ur.). Ljubljana, Društvo ekologov Slovenije: 72-79
- Martinčič A., Leskovar I. 2003. Vegetacija. V: Jezero, ki izginja – Monografija o Cerkniskem jezeru. Gaberščik A. (ur.). Ljubljana, Društvo ekologov Slovenije: 80-95
- Martinčič A., Wraber T., Ravnik V., Jogan N., Podobnik A., Turk B., Vreš B., Frajman B., Strgulc-Krajšek S., Trčak B., Bačič T., Fischer M.A., Eler K., Surina B. 2007. Mala flora Slovenije. Ljubljana, Tehniška založba Slovenije: 967 str.
- Qi Y.D., Bai S., Vogelmann T.C., Heisler, G.M., Qin J., 2002. Methodology for comprehensive evaluation of UV-B tolerance in trees. *Ultraviolet Ground- and Space-based Measurements, Models, and Effects, Proceedings of SPIE 4482*: 367-380

- Qi Y., Bai S., Heisler G.M. 2003. Changes in ultraviolet-B and visible optical properties and absorbing pigment concentrations in pecan leaves during a growing season. *Agricultural and Forest Meteorology* 120, 1: 229-240
- Rastlinski svet notranjskega parka. 2011. Notranji regijski park. <http://www.notranjski-park.si/index.php?actionprint=print&catid=184&cntnid=&lang=slo> (27. dec. 2012)
- R Core Team. 2012. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <http://www.R-project.org/>
- Slaton M. R., Hunt Jr. E. R., Smith W. K. 2001. Estimating near-infrared leaf reflectance from leaf structural characteristics. *American Journal of Botany*, 88, 2: 278-284
- Stergaršek J., Vasilevska T., Drobnič S., Vončina Gnezda M., Schein V., Likar I. 2009. Cvet skrivnosti. Vodnik po rastlinskem svetu Cerkniskega jezera in okolice. 1. izdaja. Cerknica, Notranjski regijski park: 204 str.
- Steyn W.J., Wand S.J.E., Holcroft D.M., Jacobs G. 2002. Anthocyanins in vegetative tissues: a proposed unified function in photoprotection. *New Phytologist*, 155, 349-361.
- Taiz L., Zeiger E. 2002. *Plant Physiology*. 3rd edition. Sinauer Associates: 690 str.
- Trošt Sedej T. 2005. *Ekologija rastlin. Priročnik za vaje*. Ljubljana, Študentska založba: 81 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. *Environmental management*, 39, 1: 63-83
- Yoshimura H. 2001. Spectral properties of leaves affected by carotenoid components. *Journal of Japanese Society of Revegetation Technology*, 26, 4: 327-336 (in Japanese, with English abstract)
- 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
- Wickham H. 2007. Reshaping Data with the reshape Package. *Journal of Statistical Software*, 21, 12: 1-20. <http://www.jstatsoft.org/v21/i12/>

Wickham H. 2009. ggplot2: elegant graphics for data analysis. New York, Springer.

Woolley J. R. 1971. Reflectance and transmittance of light by leaves. *Plant Physiology*, 47, 5: 656-662

Zupančič B. 2003. *Klima. V: Jezero, ki izginja – Monografija o Cerkniškem jezeru.*
Gaberščik A. (ur.). Ljubljana, Društvo ekologov Slovenije: 4-17

ZAHVALA

Zahvaljujem se prof. dr. Alenki Gaberščik za mentorstvo, strokovno pomoč, prijazen odnos in neizčrpno pozitivno energijo.

Hvala Katji Klančnik in Romanu Luštriku za vse nasvete in pomoč pri statistični obdelavi podatkov. Hvala Draganu Abramcu za tehnično pomoč in dobro voljo.

Hvala recenzentki doc. dr. Mateji Germ in predsednici komisije doc. dr. Katarini Vogel Mikuš za hiter pregled naloge in prijaznost.

Hvala Igorju, mami, Ani, Lukcu in Danieli za podporo in pomoč tekom celotnega študija. Hvala Davidu in Špeli za ljubezen, potrpežljivost in razumevanje.