

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA BIOLOGIJO

Polona VALIČ

**OPTIČNE LASTNOSTI LISTOV PRI IZBRANIH MOČVIRSKIH
RASTLINSKIH VRSTAH**

DIPLOMSKO DELO

Univerzitetni študij

**LEAF OPTICAL PROPERTIES OF SELECTED WETLAND PLANT
SPECIES**

GRADUATION THESIS

University studies

Ljubljana, 2012

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

Študijska komisija Oddelka za biologijo je za mentorja diplomskega dela imenovala prof. dr. Alenko Gaberščik.

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednica:	doc. dr. Jasna Dolenc Koce Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za biologijo
Mentorica:	prof. dr. Alenka Gaberščik Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za biologijo
Recenzentka:	doc. dr. Katarina Vogel Mikuš Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za biologijo

Datum zagovora: 4. junij 2012

Delo je rezultat lastnega raziskovalnega dela.

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.

Polona Valič

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

ŠD	Dn
DK	581.5(497.4 Cerknško jezero)(043.2)=163.6
KG	odbojnost/lastnosti listov/navadna božja milost (<i>Gratiola officinalis</i>)/močvirski grint (<i>Senecio paludosus</i>)/ rušnata masnica (<i>Deschampsia caespitosa</i>)/modra stožka (<i>Molinia caerulea</i>)
AV	VALIČ, Polona
SA	GABERŠČIK, Alenka (mentor)
KZ	SI-1000 Ljubljana, Večna pot
ZA	Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za biologijo
LI	2012
IN	OPTIČNE LASTNOSTI LISTOV PRI IZBRANIH MOČVIRSKIH RASTLINSKIH VRSTAH
TD	Diplomsko delo (univerzitetni študij)
OP	X, 48 str., 2 pregl., 18 sl., 6 pril., 34 vir.
IJ	sl
JI	sl/en
AI	Proučevali smo optične, anatomske in biokemijske lastnosti listov pri štirih različnih vrstah rastlin; pri navadni božji milosti (<i>Gratiola officinalis</i>), močvirskemu grintu (<i>Senecio paludosus</i>), rušnati masnici (<i>Deschampsia caespitosa</i>) in modri stožki (<i>Molinia caerulea</i>). Ugotavljali smo, kateri parametri in v kakšni meri vplivajo na odbojnost in prepustnost lista v posameznih delih svetlobnega spektra. Zanimalo nas je, ali se optične lastnosti med vrstami razlikujejo in ali obstaja značilna razlika med odbojnimi in presevnimi spektri med travama in dvokaličnicama. Izmerili smo odbojnost in prepustnost listov v območju med 300 in 800 nm. Določili smo specifično listno površino (SLA), vsebnost fotosinteznih barvil, antocianov in UV-absorbirajočih snovi ter analizirali zgradbo lista. Ugotovili smo, da na optične lastnosti lista vplivajo biokemijske in morfološke značilnosti lista ter da so te značilnosti med sabo tesno povezane. Zaradi fotosinteznih barvil je bila največja absorpcija svetlobe v vidnem delu spektra v modrem in rdečem območju in najmanjša v zelenem. Razlike v absorpciji med vrstami smo pripisali predvsem različni zgradbi lista. V območju bližnjega infrardečega sevanja (NIR) barvila ne absorbirajo svetlobe, zato na optične lastnosti lista vpliva notranja zgradba lista. Prepustnost lista je v tem območju najbolj povezana z debelino lista in SLA, kar je najbolj opazno pri rušnati masnici.

KEY WORDS DOCUMENTATION

DN	Dn
DC	581.5(497.4 Cerknško jezero)(043.2)=163.6
CX	reflectance/leaf properties/ <i>Gratiola officinalis</i> / <i>Senecio paludosus</i> / <i>Deschampsia caespitosa</i> / <i>Molinia caerulea</i>
AU	VALIČ, Polona
AA	GABERŠČIK, Alenka (supervisor)
PP	SI-1000 Ljubljana, Večna pot
PB	University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Biology
PY	2012
TI	LEAVES OPTICAL PROPERTIES OF SELECTED WETLAND PLANT SPECIES
DT	Graduation Thesis (University studies)
NO	X, 48 p., 2tab., 18 fig., 6 ann., 34 ref.
LA	sl
AL	sl/en
AB	The measurements of optical, anatomical and biochemical properties of leaves were performed on four different types of species; <i>Gratiola officinalis</i> , <i>Senecio paludosus</i> , <i>Deschampsia caespitosa</i> and <i>Molinia caerulea</i> . The relationship among different anatomical and biochemical parameters and reflectance or transmittance of leaves were examined. We compared leaf optical characteristics among species and between grasses and two herbaceous dicots. Leaf reflectance and transmittance were measured within the range of 300 to 800 nm. Specific leaf area (SLA), photosynthetic pigments, anthocyanins, UV- absorbing compounds and leaf structure were determined. We conclude that leaf optical properties are determined by biochemical and morphological characteristics of leaf, which are closely correlated. The high absorption in the blue and red light of visible range and low absorption in the green light are due to photosynthetic pigments. The differences in absorption between species are primarily due to different anatomical properties. Because of the low pigment absorption in the NIR wavelength region, the optical properties in this region are mainly due to internal leaf structure. Transmittance in the NIR region is correlated with leaf thickness and SLA, which is most evident at <i>D. caespitosa</i> species.

KAZALO VSEBINE

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA.....	iii
KEY WORDS DOCUMENTATION	iv
KAZALO VSEBINE.....	v
KAZALO SLIK.....	vii
KAZALO PREGLEDNIC.....	viii
KAZALO PRILOG	ix
OKRAJŠAVE IN SIMBOLI	x
1 UVOD	1
2 PREGLED OBJAV	3
2.1 VPLIV BIOKEMIJSKIH PARAMETROV NA ODBOJNOST IN PREPUSTNOST LISTA.....	3
2.1.1 Fotosintezna barvila	4
2.1.2 UV-absorbirajoče snovi.....	5
2.1.3. Antociani	5
2.2 VPLIV ANATOMIJE LISTA NA ODBOJNOST IN PREPUSTNOST LISTA	6
2.2.1 Povrhnjica in kutikula	6
2.2.2 Listna sredica.....	7
2.2.3 Debelina lista.....	7
3 MATERIALI IN METODE	9
3.1 OBRAVNAVANE RASTLINSKE VRSTE.....	9
3.2 METODE DELA	10
3.2.1 Nabiranje materiala	10
3.2.2 Merjenje odbojnosti in prepustnosti listov	11
3.2.3 Masa sveže in suhe snovi	12
3.2.4 Biokemijske analize	12
3.2.4.1 Klorofili in karotenoidi.....	12
3.2.4.2 Antociani	13
3.2.4.3 UV-absorbirajoče snovi.....	14
3.2.5 Meritve anatomije listov.....	14
3.2.6 Statistična obdelava podatkov	15

4 REZULTATI	16
4.1 ODBOJNOST IN PREPUSTNOST LISTA	16
4.2 BIOKEMIJSKE ANALIZE	18
4.2.1 Klorofili in karotenoidi.....	18
4.2.2 UV-absorbirajoče snovi.....	19
4.2.3 Antociani	21
4.3 ANATOMSKE ZNAČILNOSTI	22
4.3.1 Specifična listna površina.....	22
4.3.2 Debelina lista.....	23
4.3.3 Debelina kutikule	24
4.3.4 Debelina povrhnjice	25
4.3.5 Debelina listne sredice	26
4.3.6 Anatomija rež.....	27
4.4 ODVISNOST MED OPTIČNIMI IN BIOKEMIJSKIMI OZIROMA ANATOMSKIMI LASTNOSTMI LISTA	29
4.4.1 Odbojnost lista.....	30
4.4.2 Prepustnost lista.....	31
5 RAZPRAVA IN SKLEPI	35
5.1 RAZPRAVA	35
5.1.1 Povezava med odbojnimi spektri in biokemijskimi ter anatomskimi značilnostmi lista	36
5.1.2 Povezava med presevnimi spektri in biokemijskimi ter anatomskimi značilnostmi lista.....	39
5.2.SKLEPI.....	41
6 POVZETEK	43
7 VIRI	45
ZAHVALA	
PRILOGE	

KAZALO SLIK

Sl. 1: Odbojni spektri listov vrst <i>D. caespitosa</i> , <i>G. officinalis</i> in <i>S. paludosus</i>	16
Sl. 2: Relativna prepustnost listov vrst <i>D. caespitosa</i> , <i>G. officinalis</i> , <i>M. caerulea</i> in <i>S. paludosus</i>	17
Sl. 3: Vsebnost klorofila <i>a</i> in klorofila <i>b</i> , izražena na površino lista (A) in maso suhe snovi lista (B)	18
Sl. 4: Vsebnost karotenoidov, izražena na maso suhe snovi lista (mg/g) in površino lista (mg/dm ²)	19
Sl. 5: Vsebnost UV-B-absorbirajočih snovi in UV-A-absorbirajočih snovi, izražena na površino lista (A) in na maso suhe snovi lista (B).....	20
Sl. 6: Vsebnost antocianov, izražena na maso suhe snovi lista (mg/g) in površino lista (mg/dm ²)	21
Sl. 7: Prečni prerez listov vrst <i>G. officinalis</i> in <i>M. caerulea</i>	22
Sl. 8: Površina lista in prerez lista vrste <i>D. caespitosa</i>	22
Sl. 9: Specifična listna površina (SLA)	23
Sl. 10: Debelina lista.....	24
Sl. 11: Debelina zgornje in spodnje kutikule.....	25
Sl. 12: Debelina zgornje in spodnje povrhnjice.....	26
Sl. 13: Debelina stebričastega tkiva, gobastega tkiva in enotne listne sredice.	27
Sl. 14: Reže v zgornji povrhnjici vrste <i>M. caerulea</i> in reže v spodnji povrhnjici vrste <i>S. paludosus</i>	27
Sl. 15: Gostota rež v zgornji in spodnji povrhnjici.....	28
Sl. 16: Dolžina rež v zgornji in spodnji povrhnjici	29
Sl. 17: Dendrogram podobnosti odbojnih spektrov pri vrstah <i>G. officinalis</i> , <i>S. paludosus</i> in <i>D. caespitosa</i>	33
Sl. 18: Dendrogram podobnosti presevnih spektrov pri vrstah <i>G. officinalis</i> , <i>S. paludosus</i> , <i>D. caespitosa</i> in <i>M. caerulea</i>	34

KAZALO PREGLEDNIC

Pregl. 1: Spearman-ov koeficient soodvisnosti med odbojem lista in nekaterimi anatomskimi in biokemijskimi parametri vrst.....	29
Pregl. 2: Spearman-ov koeficient soodvisnosti med presevnostjo lista in nekaterimi anatomskimi in biokemijskimi parametri vrst.....	30

KAZALO PRILOG

Pril. A: Biokemijski parametri posameznih vrst

Pril. B: Anatomske značilnosti posameznih vrst

Pril. C: Spearman-ov koeficient soodvisnosti (r) med odbojnostjo in prepustnostjo lista ter nekaterimi anatomskimi in biokemijskimi parametri vrste *G. officinalis*

Pril. D: Spearman-ov koeficient soodvisnosti (r) med odbojnostjo in prepustnostjo lista ter nekaterimi anatomskimi in biokemijskimi parametri vrste *S. paludosus*

Pril. E: Spearman-ov koeficient soodvisnosti (r) med odbojnostjo in prepustnostjo lista ter nekaterimi anatomskimi in biokemijskimi parametri vrste *D. caespitosa*

Pril. F: Spearman-ov koeficient soodvisnosti (r) med prepustnostjo lista in nekaterimi anatomskimi in biokemijskimi parametri vrste *M. caerulea*

OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

Abs	absorpcija
ANOVA	analiza variance
Ant	antociani
E ₄₇₀ , E ₅₃₀ , E ₆₄₅ , E ₆₆₂	absorpcije pri posameznih valovnih dolžinah
IR	infrardeče sevanje
Kar	karotenoidi
Kl <i>a</i> , Kl <i>b</i>	klorofil <i>a</i> , klorofil <i>b</i>
NIR	bližnje infrardeče sevanje (700-1400 nm)
R	odbojnost
SD	standardna deviacija
SLA	specifična listna površina
ss	suha masa
T	prepustnost
t-test	dvosmerni Studentov t-test
UV	ultravijolično sevanje (100 – 400 nm)
UV abs	UV-absorbirajoče snovi
UV-A	ultravijolično sevanje A z valovno dolžino 320-400 nm
UV-B	ultravijolično sevanje B z valovno dolžino 280-320 nm

1 UVOD

Listi rastlin so zbiralci svetlobe, ki se uporabi za fotokemične procese ali tako imenovano fotokemično delo. Del svetlobe se odda tudi kot toplota ali fluorescenca (Taiz in Zeiger, 2006). Vendar se ne absorbira vsa svetloba, ki pride do lista. Nekaj se je odbije nazaj v atmosfero, nekaj pa je preseva skozi list. Količina odbite svetlobe je odvisna od različnih morfoloških in biokemijskih lastnosti lista.

Večina dosedanjih študij na področju odbojnih spektrov je razlagala predvsem odnos med odbojnostjo in fotosintezniimi barvili. Veliko raziskav je obravnavalo rastline v povezavi s stresom, dostopnostjo svetlobe ali hranilnih snovi. Cilj raziskovalcev je, da bi brez posega v rastlino lahko ocenili vsebnost barvil v listu rastline. S pomočjo optičnih lastnosti lista lahko v kratkem času, brez uničenja tkiv rastline, v naravnem okolju rastlin, določimo njihovo fiziološko stanje (Blackburn, 1999; Sims in Gamon, 2002).

Cerkniško jezero je s svojim značajem nepredvidljivih poplavljanj in presihanj območje, ki omogoča preživetje le določenim organizmom (Germ, 2003). Večji del jezerske površine prekriva močvirska vegetacija in vegetacija mokrotnih travnikov (Gaberščik in Urbanc-Berčič, 2003). Posebnost so tudi amfibijske rastline, ki zelo dobro uspevajo tako v vodnem kot kopnem okolju. Cerkniško jezero je območje nahajanja proučevanih rastlinskih vrst: navadne božje milosti (*Gratiola officinalis*), močvirskega grinta (*Senecio paludosus*), rušnate masnice (*Deschampsia caespitosa*) in modre stožke (*Molinia caerulea*).

V diplomski nalogi smo proučevali optične, anatomske in biokemijske lastnosti listov omenjenih štirih rastlinskih vrst ter ugotavljali, katere od naštetih lastnosti in v kolikšni meri vplivajo na odbojnost in prepustnost lista. Obravnavane vrste se med sabo precej razlikujejo. Obe dvokaličnici, navadna božja milost in močvirski grint, spadata med amfibijske rastline, medtem ko rušnata masnica in modra stožka spadata med trave. Zanimalo nas je, ali se optične lastnosti listov med vrstami razlikujejo in ali obstaja značilna razlika med odbojnimi in presevnimi spektri med travama in dvokaličnicama.

Na podlagi dosedanjih raziskav smo postavili nekaj hipotez:

1. Odbojni in presevni spektri se bodo med proučevanimi vrstami razlikovali, kar je povezano z njihovimi morfološkimi in biokemijskimi lastnostmi.
2. Največji vpliv na optične lastnosti lista v vidnem delu spektra imajo fotosintezna barvila. Večina svetlobe v modrem in rdečem delu spektra se absorbira, zato sta odbojnost in prepustnost lista nizki.
3. V UV-območju spektra imajo listi nizko odbojnost in nizko prepustnost, kar pomeni, da se večina UV-sevanja v listu absorbira.
4. V območju NIR-sevanja listna barvila svetlobe ne absorbirajo, zato na optične lastnosti vplivajo predvsem anatomske značilnosti lista.

2 PREGLED OBJAV

Življenje na Zemlji je odvisno od sončne energije. Sevanje, ki prihaja od Sonca uporabljajo rastline v procesu fotosinteze, v katerem nastajajo ogljikove spojine, kot stranski produkt pa kisik. Svetloba ima lastnosti tako delcev kot valov. Val označujemo z valovno dolžino (λ), ki je razdalja med dvema sosednjima vdolbinama vala. Vsak delec svetlobe, foton, vsebuje določeno količino energije. Sončna svetloba je tako valovanje fotonov z različnimi frekvencami. Naše oči so občutljive samo na majhen del teh frekvenc. Ta del spektra imenujemo vidna svetloba ($\lambda = 400-700\text{nm}$). Svetloba, ki ima krajšo valovno dolžino je v ultravijoličnem (UV) delu spektra, svetloba daljše valovne dolžine pa j v infrardečem (IR) delu spektra (Taiz in Zeiger, 2006).

Svetloba, ki prihaja do površine lista se lahko odbije, absorbira ali prehaja skozi listno tkivo. Absorptivnost je visoka v vidnem delu spektra svetlobe (400-700 nm), v IR-delu spektra (>700 nm) pa se zmanjša (Baldini, 1997).

Optične lastnosti lista vplivajo na pomembne fiziološke procese v rastlini, kot so fotosinteza, morfogeneza ter vodno in energijsko ravnovesje. Listi kažejo v svojih optičnih lastnostih veliko heterogenost, ki ni odvisna samo od genetskih danosti, ampak tudi od okoljskih razmer, v katerih rastlina uspeva in prilagoditev rastline nanje. Razlike v spektrih med vrstami so lahko pomembnejše od razlik, ki jih povzroča stres (Baldini, 1997). Odbojni spektri nam lahko na podlagi sprememb v biokemiji in anatomiji lista, ki jih povzroči biotski in abiotski stres, podajo veliko podatkov o fiziološkem stanju rastline (Liew, 2008).

2.1 VPLIV BIOKEMIJSKIH PARAMETROV NA ODBOJNOST IN PREPUSTNOST LISTA

Kemične lastnosti lista so osnovne determinante rastlinske fiziologije in biokemičnih procesov pri rastlinah, ki uspevajo tako na kopnem kot tudi v vodi. Različna barvila so bistvenega pomena pri zbiranju in izkoriščanju svetlobe, rastlino pa tudi ščitijo pred škodljivimi posledicami močnega sevanja (Asner in Martin, 2008).

2.1.1 Fotosintezna barvila

Fotosintezna barvila imajo različne vloge v procesu fotosinteze. Njihova koncentracija je odvisna od različnih dejavnikov, kot so fenologija, stopnja razvitosti rastline, hranilne snovi in vlage v tleh ter tudi stopnje in vrste okoljskega stresa. Zato lahko relativne in absolutne ocene koncentracij klorofila *a* (kl *a*), klorofila *b* (kl *b*) ter karotenoidov (kar) podajo dokaj natančne informacije o fiziološkem stanju rastline (Blackburn, 1999).

Fotosintezna barvila imajo absorpcijske vrhove pri različnih valovnih dolžinah, kar nam daje možnost za ločevanje vpliva barvil na odbojni spekter (Blackburn, 1999). Obenem pa se absorpcije barvil pri večini valovnih dolžin tudi delno prekrivajo, saj vsa absorbirajo modro svetlobo, kl *a* in kl *b* pa tudi rdečo svetlobo (Blackburn, 1999; Sims in Gamon, 2002).

Večina narejenih študij se je osredotočila na klorofile. Veliko teh študij izpostavlja dve spektralni območji, ki sta najbolj povezani s koncentracijo klorofilov; valovno dolžino okoli 680 nm, ki predstavlja absorpcijski vrh kl *a* in valovno dolžino 550 nm, pri kateri je minimalna absorpcija v vidnem delu spektra (Blackburn, 1999; Asner in Martin, 2008). Blackburn (1999) tudi navaja, da so s kl *a* povezane tudi valovne dolžine 530 nm, 630 nm in blizu 700 nm.

Baltzer in Thomas (2005) navajata, da se lahko koncentracija klorofilov zmanjša kot odgovor na povečano svetlobno sevanje. Ta odziv naj bi bil povezan s povečano odbojnostjo lista.

Vzorca odbojnosti in absorptivnosti sta prvotno izpeljana iz koncentracije klorofilov. S povečano količino klorofila, se učinkovitost sprejemanja svetlobe katerekoli molekule klorofila zmanjša, saj pride do prekrivanja molekul. Na optične lastnosti lista pa izmed fotosinteznih barvil ne vplivajo samo klorofili ampak tudi karotenoidi. Karotenoidi močno absorbirajo svetlobo v modrem delu spektra, še posebej v delu od 500-520 nm. Ker je njihova koncentracija takoj za koncentracijo klorofilov največja, lahko opazimo njihov

vpliv na optične lastnosti lista (Baltzer in Thomas, 2005). Tudi Zur in sodelavci (2000) navajajo, da lahko optične lastnosti lista pri 520 nm povezujemo z vsebnostjo karotenoidov.

V območjih 400-500 nm in 660-680 nm listi, zaradi fotosinteznih barvil, absorbirajo skoraj 80 % prejetega sevanja. V območju zelene svetlobe vidnega dela spektra sta odbojnost in prepustnost lista najvišji. V tem delu spektra listi absorbirajo le 20-50 % prejetega sevanja, vendar so razlike v optičnih značilnostih lista med vrstami največje prav v tem območju. Razlike bi lahko bile posledica različnih pomožnih barvil kot so karotenoidi in antociani (Durako, 2007).

2.1.2 UV-absorbirajoče snovi

Rastline imajo različne mehanizme za zaščito pred UV-B sevanjem. Odbojnost z listne površine bi lahko bila prva obrambna linija pred škodljivim UV-sevanjem, vendar se vloga odbojnosti kot zaščitni mehanizem razlikuje od vrste do vrste. Pri večini rastlin je odbojnost v tem delu spektra manjša od 10 % doseženega sevanja. Nekatere vrste imajo ta delež tudi višji (Filella in Peñuelas, 1999).

V UV-območju naj bi imele vse semenke podobne optične lastnosti, in sicer nizko odbojnost (okoli 5 %) in prepustnost (blizu 0 %). To pomeni, da posamezen zeleni list absorbira 95 % ultravijoličnega sevanja, kar pripisujemo predvsem vplivu UV-absorbirajočih snovi kot so flavonoidi. Del UV-sevanja, ki se od listne površine ne odbije ali ga ne absorbirajo flavonoidi, pride do kloroplastov v mezofilu lista, kjer ga absorbirata kl *a* in kl *b* in se nato odda kot fluorescenca. Tako tudi fotosintezna barvila pripomorejo k odvajanju UV-energije (Yoshimura in sod., 2009).

2.1.3. Antociani

Antociani absorbirajo zeleno in rumeno svetlobo valovne dolžine 500-600 nm (Gould, 2004). Rastlini nudijo zaščito pred premočnim sevanjem v vidnem delu svetlobnega spektra ter pred UV-sevanjem. Primarno so povezani s tkivom, kjer se nahaja klorofil, saj

pomembno vplivajo na kvaliteto in kvantiteto svetlobe, ki jo prejmejo kloroplasti (Gould in sod. 2002). Klančnik in sodelavci (2012) omenjajo značilno povezavo med antociani in celotnim odbojnim spektrom, razen območja zelene svetlobe.

Antociani nastajajo v večjih količinah jeseni, ko se klorofili razgradijo. Jesenske liste obarvajo značilno rdeče. Yoshimura in sodelavci (2009) navajajo, da starajoči se listi niso pokazali sprememb absorpcije v UV-delu spektra. Odbojnost in prepustnost obarvanih listov sta torej enaki odbojnosti in prepustnosti zelenih listov ($R=5\%$, $T=0\%$).

2.2 VPLIV ANATOMIJE LISTA NA ODBOJNOST IN PREPUSTNOST LISTA

Odbojnost v vidnem delu spektra (400-700 nm) je povezana predvsem s fotosinteznimi barvili, v območju kratkovalovnega IR-sevanja (750-1350 nm) pa je odvisna predvsem od strukture listov. Analiza odbojnosti v območju kratkovalovnega IR-sevanja (NIR) omogoča oceno vpliva strukturnih lastnosti lista. Pri tem na odbojnost ne vplivajo biokemične lastnosti lista kot so vsebnost kl *a* in *b* ter vsebnost vode (Slaton in sod., 2001; Asner in Martin, 2008). Spremembe v anatomiji lista lahko preko pomembne vloge, ki jo ima anatomija pri porazdelitvi svetlobe znotraj lista, posredno vplivajo na optične lastnosti lista (Baltzer in Thomas, 2005).

Specifična listna površina (SLA) je strukturna lastnost lista, ki je povezana tudi z obsegom kemičnih in fotosinteznih procesov (Asner in Martin, 2008).

2.2.1 Povrhnjica in kutikula

Odbojni spekter lista je med drugim odvisen tudi od njegove površine. Celice povrhnjice so zelo tesno skupaj in so razen listnih rež brez vmesnih medceličnih prostorov. Njihove celične stene so, še posebej na zgornji strani lista, impregnirane s kutinom, ki tvori kutikulo. Kutikula, ki je glede na vrsto in razmere v okolju različno debela, pomembno vpliva na odbojnost (Liew in sod., 2008).

Slaton in sodelavci (2001) za debelo listno kutikulo navajajo kutikulo, ki je debelejša od enega mikrometra ($>1 \mu\text{m}$). Menijo, da debelejša listna kutikula lahko pomeni večjo odbojnost v območju NIR.

Barvila v povrhnjici, predvsem flavonoidi in antociani, zmanjšajo prodiranje UV-sevanja skozi povrhnjico in s tem zaščitijo notranje ležeča tkiva (Filella in Peñuelas, 1999).

2.2.2 Listna sredica

Listna sredica ali mezofil lista je lahko različna. Pri nekaterih listih je sestavljena iz gostega sloja stebričastih celic in rahlega sloja gobastih celic. Nekatere vrste imajo enotno listno sredico. Cilindrične stebričaste celice vsebujejo veliko kloroplastov, ki vsebujejo barvila. Gobasto tkivo je sestavljeno iz manjših ovalnih do okroglih celic, ki vsebujejo manj kloroplastov. Delež zračnega prostora v gobastem tkivu je 50-80 %, medtem ko je leta v palisadnem tkivu 5-20 % (Baranoski, 1997). Gobasto tkivo v listu svetlobo razprši, medtem ko stebričasto tkivo prepušča vidno svetlobo globlje v listno notranjost. Iz tega sledi, da imajo listi z večjim deležem stebričastega mezofila nižjo odbojnost, in sicer zaradi večje porazdelitve sevanja proti notranjosti lista. To verjetno drži v primeru vidne svetlobe (400-700 nm), ne pa tudi v primeru NIR-sevanja. Močnejše povezave med razmerjem stebričastega in gobastega tkiva in listno odbojnostjo v območju NIR niso našli (Slaton in sod., 2001).

2.2.3 Debelina lista

Knapp in Carter (1998) menita, da obstaja močna povezava med debelino lista in optičnimi lastnostmi lista. V svoji raziskavi navajata, da se z večanjem debeline lista odbojnost v območju NIR-sevanja praviloma poveča, prepustnost pa zmanjša. Da imajo tanjši listi večjo prepustnost v območju IR-sevanja kot debeli listi, trdijo tudi Yoshimura in sodelavci (2009). K temu še dodajajo, da enako velja tudi za območje vidne svetlobe.

Pri raziskavi ocene odbojnosti v območju NIR-sevanja glede na strukturne karakteristike lista, ki so jo opravili Slaton in sodelavci (2001), niso odkrili značilne povezave med

odbojnostjo v območju NIR-sevanja in debelino lista. Pričakovali so, da bo listna odbojnost večja pri debelejših listih, ki imajo več medceličnega zračnega prostora, vendar so ugotovili, da je ta povezava šibka in da je pomembnejši dejavnik razmerje med površino celic listne sredice, ki so izpostavljene medceličnemu zračnemu prostoru in površino lista.

3 MATERIALI IN METODE

3.1 OBRAVNAVANE RASTLINSKE VRSTE

Navadna božja milost (*Gratiola officinalis* L.)

Vrsta spada v družino črnobinovk (*Scrophulariaceae*). Navadna božja milost je pokončna trajnica amfibijskega značaja, ki lahko doseže velikost od 15-40 cm. Votlo in golo steblo je lahko enostavno ali razraslo. Nasprotno razvrščeni listi so sedeči, suličasti, z nazobčanim robom in goli. Cvetovi z blede rožnatimi venčnimi krpami in rumenkasto venčno cevjo poženejo posamično iz zalistja stebelnih listov. Cveti od junija do septembra. Navadna božja milost uspeva na močvirnih travnikih, ob vodnih jarkih in mlakah v nižinskem pasu po vsej Sloveniji. Na podlagi Rdečega seznama ogroženih praprotnic in semenk SR Slovenije spada med ranljive vrste (Wraber, 2007a; Stergaršek in sod., 2009; Martinčič, 2003; Martinčič in Leskovar, 2003).

Močvirski grint (*Senecio paludosus* L.)

Vrsta spada v družino nebinovk (*Asteraceae*). Gre za zelo opazno amfibijsko vrsto, saj lahko doseže velikost od 60 cm pa vse do 2m. Visoko steblo nosi večinoma številne rumene koške in črtalastosuličaste liste, ki so koničasto nazobčani in po spodnji strani volnatodlakavi. Cveti od junija do avgusta. To zelnato trajnico najdemo le na nekaj nahajališčih v notranjosti Slovenije, predvsem v dinarskem območju, in sicer na vlažnih travnikih in močvirjih. Na Cerkniskem jezeru uspeva na mestih, kjer se voda najdlje zadržuje. Na podlagi Rdečega seznama ogroženih praprotnic in semenk SR Slovenije spada med ranljive vrste (Wraber, 2007b; Stergaršek in sod., 2009; Martinčič, 2003; Martinčič in Leskovar, 2003).

Rušnata masnica (*Deschampsia caespitosa* L.)

Vrsta spada v družino trav (*Poaceae*). Tvori goste šope jalovih in cvetočih poganjkov. Doseže lahko velikost od 40-100 cm. Listi, ki so široki od 2-7 mm so na zgornji strani

izrazito vzdolžno žlebasti. Po robu imajo ostre, nazaj usmerjene zobce, s katerimi se lahko urežemo. Cveti od junija do avgusta. Uspeva na vlažnih travnikih, ob gozdnih robovih, na gozdnih jasah, na močvirnatih tleh in ob vodah po vsej Sloveniji. Rušnata masnica je pomembna predstavnik mokrotnih travnikov Cerkniškega jezera (Jogan, 2007; Stergaršek in sod., 2009; Martinčič, 2003; Martinčič in Leskovar, 2003).

Modra stožka (*Molinia caerulea* L.)

Vrsta spada v družino trav (*Poaceae*). Šopasta trajnica, ki lahko doseže od 30-100 cm v višino ima številne znotrajnožnične poganjke. Korenine in pritlični internodiji so odebeljeni. Stebla so pokončna, s kolenci, ki izraščajo pri dnu stebel. Listi so široki do 8 mm. Drobni, neopazni cvetovi oblikujejo delno socvetje – klasek, ki je pogosto modrovijoličaste barve. Cveti od julija do septembra. Uspeva na pustih, vlažnih, več ali manj zakisanih tleh, kot tudi na močvirnih travnikih, barjih, gozdnih jasah po vsej Sloveniji. Modra stožka je na območju Cerkniškega jezera zelo pogosta in pomembna vrsta. Najdemo jo v obrobni predelih, ki so poplavljeni kratek čas ali pa so izven nivoja vsakoletnih poplav (Jogan, 2007; Stergaršek in sod., 2009; Martinčič, 2003; Martinčič in Leskovar, 2003).

3.2 METODE DELA

3.2.1 Nabiranje materiala

Nabiranje materiala je potekalo od maja do avgusta 2011 na območju Cerkniškega jezera. Vzorčenje posamezne vrste je bilo odvisno predvsem od vremenskih razmer, saj smo vzorce nabirali samo ob jasnem, sončnem vremenu, in pa samega stanja rastlin. Vrste smo nabirali v času njihovega cvetenja, kar nam je olajšalo določevanje vrste. Same rastline pa so v tem času tudi najbolj razvite. Z lopatko smo izkopali rastline s koreninami vred in jih shranili v plastične vreče, v katerih smo jih prenesli v laboratorij. V laboratoriju smo dali v vreče še z vodo namočene papirnate brisače, da so rastline ostale čim dlje sveže. Vse meritve in analize smo opravljali na zdravih listih. Čas od samega nabiranja rastlin do meritev, pripravljanja preparatov in priprave vzorcev za analize, je bil odvisen predvsem

od števila vrst rastlin, ki smo jih nabrali v enem dnevu in količine nabranega materiala, vendar nikoli ni bil daljši od 24 ur.

3.2.2 Merjenje odbojnosti in prepustnosti listov

Optične lastnosti listov smo izmerili v največ 24 urah po nabiranju vzorcev. Meritve smo opravili s prenosnim spektrometrom Jaz Modular Optical Sensing Suite (Ocean Optics, Inc., Dunedin, FL, ZDA).

Pod integracijsko sfero ISP-30-6-R (Ocean Optics, Inc., FL, ZDA), ki smo jo s spektrometrom povezali z optičnim kablom QP600-1-SR-BX (Ocean Optics, Inc., Dunedin, FL, ZDA) smo namestili čiste in suhe liste, ob tem smo se izogibali glavni žili. V kolikor so bili listi preozki (rušnata masnica), smo vzporedno namestili dva ali tri liste. Za modro stožko smo izmerili transmisijske spektre, za preostale vrste pa odbojne in transmisijske spektre na listih desetih rastlin ($n=10$) in sicer na dveh mestih na osrednjem delu lista. Odbojnost smo merili na zgornji površini lista, prepustnost pa na spodnji. Merili smo valovne dolžine med 300 in 800 nm, na 0.3 nm natančno. Za osvetljevanje listov smo uporabljali vir svetlobe UV-VIS-NIR (DH-2000, Ocean Optics, Inc., FL, ZDA). Pred meritvami smo izmerili referenčne vrednosti bele svetlobe (100% odbojnost) in teme (0% odbojnost). Odbojnost smo izračunali po enačbi:

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

R_v - odboj svetlobe z listne površine

R_t - referenca teme brez prisotnega lista in vira svetlobe

R_s - referenca bele svetlobe brez prisotnega lista.

Prepustnost smo izračunali po enačbi:

$$T=(T_v-T_t)/(T_s-T_t) \quad \dots(2)$$

T_v - prepustnost svetlobe skozi list

T_t - referenca teme brez prisotnega lista in vira svetlobe

T_s - referenca bele svetlobe brez prisotnega lista

Enačbi 1 in 2 smo povzeli po Baltzer in Thomas (2005).

3.2.3 Masa sveže in suhe snovi

Deset svežih listov vsake vrste smo osušili s papirnato brisačko in jih naluknjali z luknjačem z znanim premerom oziroma narezali na delčke znane velikosti s pomočjo milimetrskega papirja. Premer krožcev navadne božje milosti je bil 10 mm in premer krožcev močvirskega grinta 12 mm. Delčki rušate masnice in modre stožke so bili veliki 1 cm². Krožce in delčke listov smo nato stehali in jih posušili pri 105 °C (sušilnik Sterimatic ST-11, Instrumentaria, Zagreb). Po 24 urah sušenja smo jih ponovno stehali in tako dobili maso suhe snovi. Izračunali smo specifično listno površino (cm²g⁻¹).

3.2.4 Biokemijske analize

Z biokemijskimi analizami smo določili vsebnosti klorofilov in karotenoidov, antocianov in UV-absorbirajočih snovi. Vse analize smo opravili pri desetih vzorcih.

3.2.4.1 Klorofili in karotenoidi

Vsebnosti klorofilov *a* in *b* ter karotenoidov smo določili po metodi Lichtenthaler in Buschmann (2001). Sveže vzorce z znano površino, ki smo jih predhodno shranili v zamrzovalniku pri - 20°C, smo strli v terilnici, ekstrahirali v 10 mL 100 % acetona (v/v) in centrifugirali (4000 rpm, 4°C, 4 min). Po centrifugiranju smo odčitali prostornine ekstraktov. Absorpcijo smo zmerili s spektrofotometrom UV/VIS (Lambda 25, Perkin-Elmer, Norwalk, CT, ZDA) pri valovnih dolžinah 470, 645 in 662 nm. Vsebnosti klorofilov (Kl *a*, *b*) ter karotenoidov (Kar) smo izrazili na težo suhe snovi (g) in površino vzorca (dm²). Uporabili smo naslednje enačbe:

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

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

$$Kar [mg\ g^{-1}ss; mg\ dm^{-2}] = (1000E_{470} - 1,9c_a - 63,14c_b) * V * 10^{-3} * ss^{-1} / 214; \\ (1000E_{470} - 1,9c_a - 63,14c_b) * V * 10^{-3} * P^{-1} / 214 \quad \dots(5)$$

c_a - koncentracija klorofila a (11,24 E_{662} -2,04 E_{645})

c_b - koncentracija klorofila b (20,13 E_{645} -4,19 E_{662})

V - volumen ekstrakta [ml]

ss - suha masa vzorca [g]

P - površina vzorca [dm²]

E - absorpcija pri izbrani valovni dolžini

3.2.4.2 Antociani

Vsebnost antocianov smo določili po Khareju in Guruprasadu (1993). Sveže vzorce z znano površino, ki smo jih predhodno shranili v zamrzovalniku pri - 20°C, smo strli v terilnici in jih ekstrahirali v 10 mL ekstrakcijske raztopine metanol : HCl (37 %) = 99:1 (v/v). Nato smo vzorce centrifugirali (4000 rpm, 4°C, 4 min) in odčitali prostornine ekstraktov. Vzorce smo za 24 ur shranili v hladilniku (3-5 °C). Absorpcijo smo izmerili pri 530 nm s spektrofotometrom UV/VIS (Lambda 25, Perkin-Elmer, Norwalk, CT, ZDA). Vsebnost antocianov (*Ant*) smo izrazili v relativnih enotah na težo suhe snovi (g) in na površino vzorca (dm²). Uporabili smo naslednjo enačbo:

$$Ant\ (relativna\ enota) = E_{530} * V * ss^{-1}; E_{530} * V * P^{-1} \quad \dots(6)$$

E_{530} – absorpcija pri valovni dolžini 530 nm

V – prostornina ekstrakta [ml]

ss - suha masa vzorca [g]

P - površina vzorca [dm²]

3.2.4.3 UV-absorbirajoče snovi

Vsebnost UV-B (280-320 nm) in UV-A (320-400 nm) absorbirajočih snovi, smo določili po Caldwellu (1968). Sveže vzorce z znano površino, ki smo jih predhodno shranili v zamrzovalniku pri - 20°C, smo strli v terilnici, ekstrahirali v 10 mL ekstrakcijske raztopine metanol : destilirana voda : HCl (37 %) = 79:20:1 (v/v), in jih 20 minut inkubirali v temi. Nato smo vzorce centrifugirali (4000 rpm, 10°C, 10 min), odčitali prostornine ekstraktov in spektrofotometrično izmerili absorpcijo pri valovnih dolžinah od 280 do 400 nm (spektrofotometer UV/VIS (Lambda 25, Perkin-Elmer, Norwalk, CT, ZDA)). Pri tem smo uporabljali kvarčne kivete. Vsebnosti UV-absorbirajočih snovi smo izračunali kot integral absorpcijskih vrednosti od 280 do 320 nm za UV-B ter od 320 do 400 nm za UV-A absorbirajoče snovi. Vsebnost UV-absorbirajočih snovi smo izrazili v relativnih enotah na težo suhe snovi (g) in na površino vzorca (dm²). Uporabili smo naslednjo enačbo:

$$UV\ abs\ (relativna\ enota) = I \cdot V^{-1} \cdot ss^{-1}; I \cdot V^{-1} \cdot P^{-1} \quad \dots(7)$$

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

V – prostornina ekstrakta [ml]

ss - suha masa vzorca [g]

P - površina vzorca [dm²]

3.2.5 Meritve anatomije listov

Pri vsaki vrsti smo naredili ročne prečne prereze desetih listov in pripravili poltrajne preparate v glicerolu. Preparate smo pregledali pod svetlobnim mikroskopom (Motic, B1 Series), pri 100x ali 400x povečavi in izmerili naslednje parametre: debelino lista, debelino kutikule (zgornje in spodnje, v kolikor je le-ta bila prisotna), debelino spodnje in zgornje povrhnjice, debelino stebričastega in gobastega tkiva oziroma debelino enotne listne sredice. Parametre smo v vsakem listu izmerili v petih vidnih poljih (tj. 50 meritev/vrsto).

Izmerili smo tudi število in velikost listnih rež. List smo na spodnji in zgornji povrhnjici premazali s tanko plastjo prozornega laka za nohte in počakali, da se je lak posušil. Nato smo list prelepili s prozornim lepilnim trakom in ga previdno, skupaj s strjenim lakom, odstranili in prilepili na objektno stekelce. Odtise povrhnjice smo pregledali s svetlobnim mikroskopom (Motic, B1 Series) pri 400x povečavi. V petih vidnih poljih na odtis smo prešteli listne reže in izmerili njihovo dolžino. V kolikor je bilo število rež v vidnem polju večje od 10, smo izmerili dolžine le desetih rež.

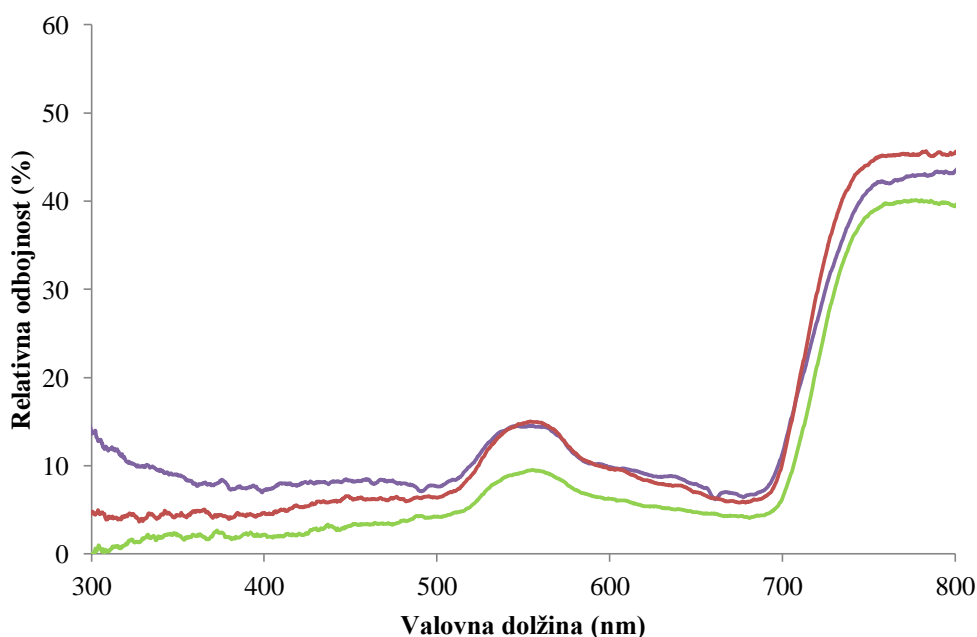
3.2.6 Statistična obdelava podatkov

Iz pridobljenih podatkov smo izračunali povprečje, mediano in standardni odklon. Rezultate smo predstavili tudi v grafih, v obliki okvirjev z ročaji. Za testiranje normalnosti podatkov smo uporabili Shapiro-Wilk-ov test. Opravili smo analizo variance, in sicer kadar so bili podatki normalno porazdeljeni smo uporabili test ANOVA oziroma Kruskal-Wallis test z Bonferronijevo korekcijo, kadar porazdelitev ni bila normalna. Značilnost razlik med stebričastim in gobastim tkivom dvokaličnic in debelino spodnje kutikule trav smo določili s Studentovim t-testom (normalno porazdeljeni podatki) oziroma z Mann-Whitney-evim testom (porazdelitev ni normalna). Pri rezultatih odbojnosti in prepustnosti listov smo zaradi boljše preglednosti natančnost zmanjšali na približno 5 nm. Spektre smo razdelili na različna 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). Analizo odvisnosti med odbojnostjo in prepustnostjo listov ter posameznimi parametri listov smo naredili s Spearmanovim korelacijskim koeficientom (r), pri čemer smo povprečne vrednosti odbojnosti oziroma prepustnosti posameznega območja primerjali z anatomskimi in biokemijskimi parametri listov. Statistično analizo smo opravili s statističnim programom IBM SPSS Statistics 19 (SPSS, Inc., IBM Company, ZDA). Za klustersko analizo smo uporabili Wardovo metodo s kvadratom evklidske razdalje (program R 2.13.1). Primerjali smo podobnost odbojnih in presevnih spektrov listov med vrstami v posameznih območjih spektra (UV-A, UV-B, vijolično, modro, zeleno, rumeno, rdeče in NIR). Pri grafičnih predstavitev so statistično različni rezultati označeni z različnimi črkami. Verjetnost značilnih razlik smo označili kot $p \leq 0,05$ in $p \leq 0,01$.

4 REZULTATI

4.1 ODBOJNOST IN PREPUSTNOST LISTA

Vsi spektri odbojnosti in prepustnosti imajo podobno obliko. Pri vseh treh vrstah sta odbojnost in prepustnost listov značilno manjši v območju vidne svetlobe (400–700 nm), z vrhom v zeleni svetlobi (550 nm) in višjo vrednostjo v območju NIR-sevanja (> 700 nm) (Sliki 1 in 2).

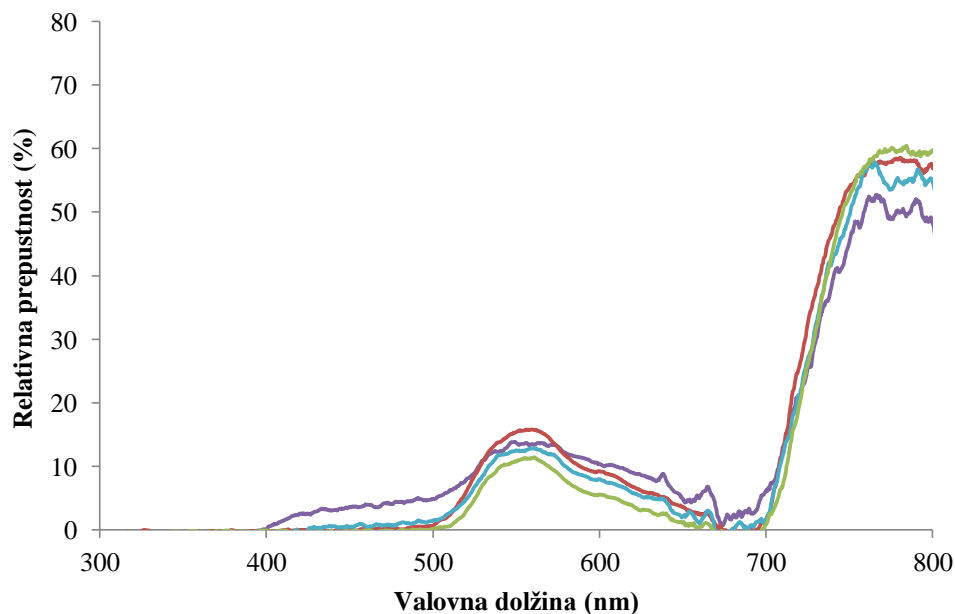


Slika 1: Odbojni spektri listov vrst *D. caespitosa* (—), *G. officinalis* (—) in *S. paludosus* (—). Prikazane so povprečne vrednosti; n=10.

Največjo odbojnost v UV-območju, vijoličnem in modrem delu vidnega spektra ima vrsta *D. caespitosa* (Slika 1). V območju zelene svetlobe ima enako odbojnost vrsta *G. officinalis*. V ostalem delu vidne svetlobe sta njuna spektra podobna, ločita se v območju NIR-sevanja, kjer ima vrsta *G. officinalis* najvišji odboj (Slika 1). Vrsta *S. paludosus* ima v celotnem delu spektra najmanjšo odbojnost.

Analiza odbojnosti listov je pokazala značilno razliko ($p \leq 0,05$) v celotnem delu spektra med vrstama *G. officinalis* in *S. paludosus*. Značilna razlika v spektru je tudi med vrstama

D. caespitosa in *S. paludosus*, razen v delu območja NIR (725 – 800 nm). Vrsti *D. caespitosa* in *G. officinalis* se značilno razlikujeta v UV-delu spektra, vijolični, modri in zeleni svetlobi do 520 nm. Značilna razlika med njima se kaže tudi v območju absorpcijskega vrha klorofila *a* (660 - 690 nm) (Slika 1).



Slika 2: Relativna prepustnost listov vrst *D. caespitosa* (—), *G. officinalis* (—), *M. caerulea* (—) in *S. paludosus* (—). Prikazane so povprečne vrednosti; n=10.

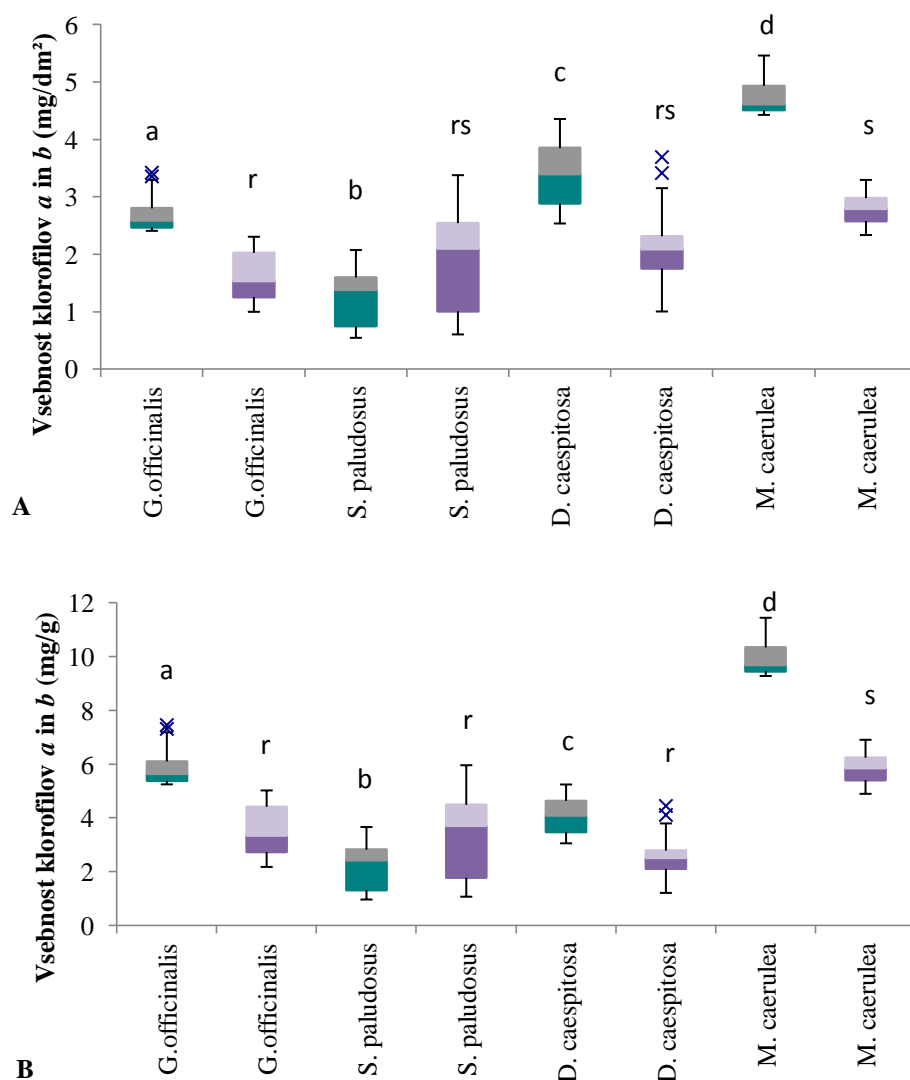
Prepustnost v UV-območju je za vse vrste zelo nizka (blizu nič). V vidnem delu spektra imata največjo prepustnost vrsti *D. caespitosa* (vijoličen, moder in rdeč del spektra) in *G. officinalis* (zelen del spektra). V območju NIR-sevanja imata največjo prepustnost dvokaličnici, vrsti *S. paludosus* in *G. officinalis*. Najmanjšo prepustnost v območju NIR-sevanja ima vrsta *D. caespitosa*.

Analiza prepustnosti listov je pokazala, da se od preostalih spektrov najbolj razlikuje vrsta *D. caespitosa* ($p \leq 0,05$). Največjo podobnost sta imeli vrsti *G. officinalis* in *M. caerulea* (Slika 2).

4.2 BIOKEMIJSKE ANALIZE

4.2.1 Klorofili in karotenoidi

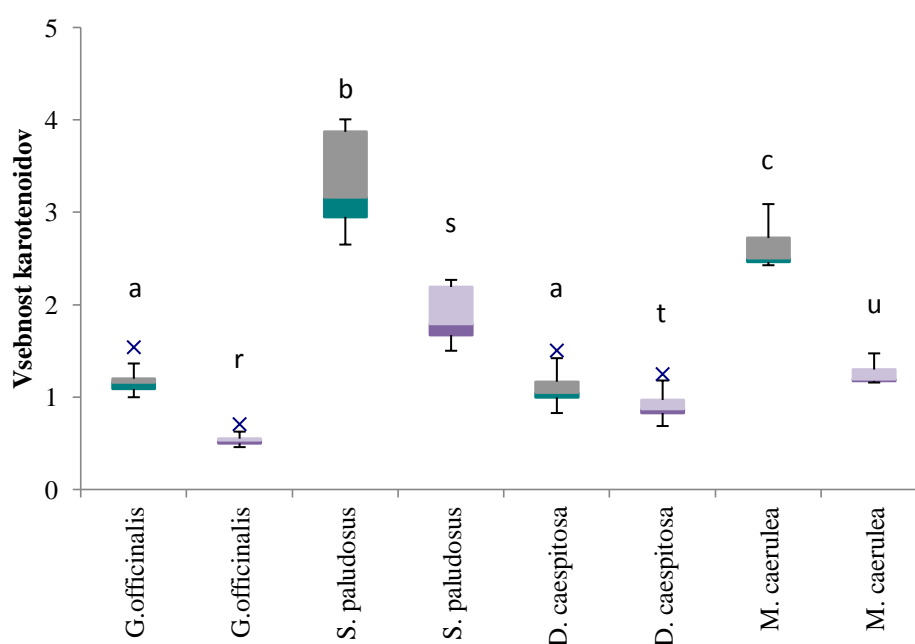
Vsebnost klorofila *a* se med vrstami razlikuje z značilno razliko $p \leq 0,01$. Najnižjo vsebnost klorofila *a* ima vrsta *S. paludosus*, najvišjo *M. caerulea*. Vsebnosti klorofila *b* so med vrstami podobne, z opazno višjo vsebnostjo izstopa le vrsta *M. caerulea*. Vse vrste, razen *S. paludosus* imajo več klorofila *a* v primerjavi s klorofilom *b* (Slika 3).



Slika 3: Vsebnost klorofila *a* (zelena) in klorofila *b* (vijolična), izražena na površino lista (A) in maso suhe snovi lista (B). 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. Črke a, b, c,

d označujejo statistično značilne razlike v vsebnosti klorofila *a*, črki *r*, *s* označujeta statistično značilne razlike v vsebnosti klorofila *b*. Različne črke nad okvirji z ročaji predstavljajo statistično značilne razlike med posameznimi vrstami ($p \leq 0,05$).

Prav tako se med vrstami razlikuje vsebnost karotenoidov, z značilno razliko ($p \leq 0,01$), razen pri vrstah *G. officinalis* in *D. caespitosa*, ki imata podobno vsebnost karotenoidov. Največ karotenoidov ima vrsta *S. paludosus*, najmanj *G. officinalis* (Slika 4).

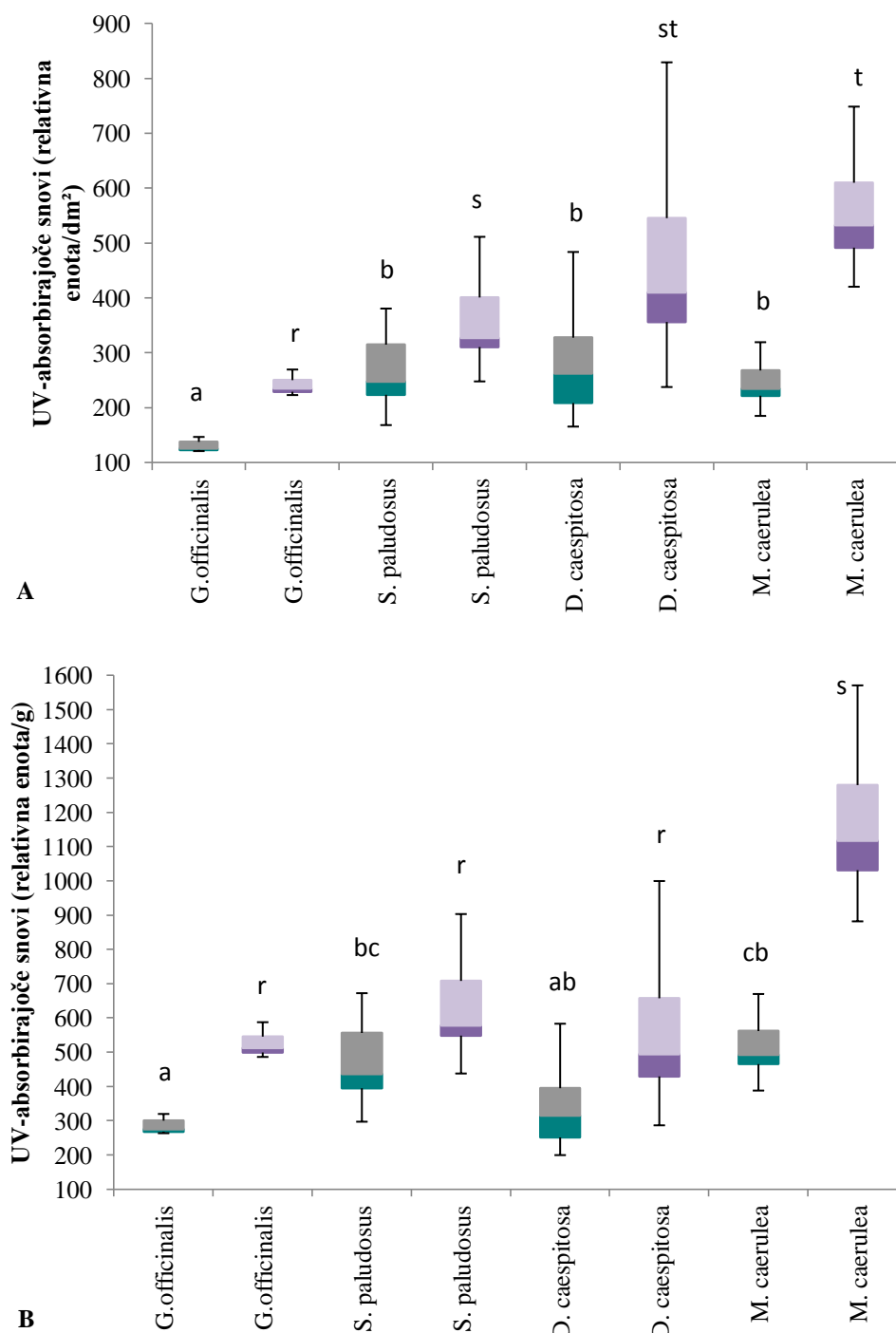


Slika 4: Vsebnost karotenoidov, izražena na maso suhe snovi lista (mg/g) (zelena) in površino lista (mg/dm²) (vijolična). Podatki so prikazani kot okvirji z mediano, ki predstavljajo polovico podatkov, ročaji z neizstopajočimi podatki in oznakami *x*, ki predstavljajo izstopajoče (ekstremne) vrednosti; $n=10$. Črke *a*, *b*, *c* označujejo statistično značilne razlike v vsebnosti karotenoidov, izraženih na maso suhe snovi lista, črke *r*, *s*, *t*, *u* označujejo statistično značilne razlike v vsebnosti karotenoidov, izraženih na površino lista. Različne črke nad okvirji z ročaji predstavljajo statistično značilne razlike med posameznimi vrstami ($p \leq 0,05$).

4.2.2 UV-absorbirajoče snovi

Vse vrste imajo skoraj polovico več UV-A kot UV-B-absorbirajočih snovi. Pri UV-B-absorbirajočih snoveh najbolj izstopa z najnižjo vsebnostjo vrsta *G. officinalis*, saj ima kar za polovico manjšo vsebnost teh snovi v primerjavi z drugimi vrstami. Vsebnosti v ostalih vrstah so si statistično podobne. Največ UV-A-absorbirajočih snovi ima vrsta *M. caerulea*,

najmanj *G. officinalis*. Statistično značilna razlika v vsebnosti UV-A-absorbirajočih snovi je med vrsto *G. officinalis* in ostalimi vrstami ter med vrstama *S. paludosus* in *M. caerulea* ($p \leq 0,01$) (Slika 5).

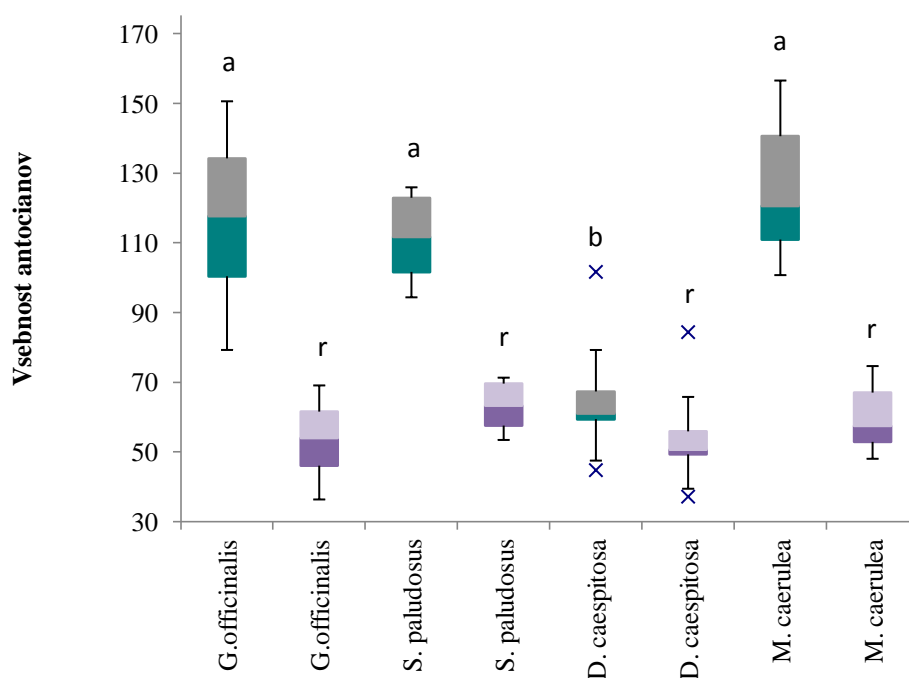


Slika 5: Vsebnost UV-B-absorbirajočih snovi (zelena) in UV-A-absorbirajočih snovi (vijolična), izražena na površino lista (A) in na maso suhe snovi lista (B). Podatki so prikazani kot okvirji z mediano, ki predstavljajo polovico podatkov, ročaji z neizstopajočimi podatki in oznakami x, ki predstavljajo izstopajoče (ekstremne)

vrednosti; $n=10$. Črke a, b, c označujejo statistično značilne razlike v vsebnosti UV-B-absorbirajočih snovi, črke r, s, t označujejo statistično značilne razlike v vsebnosti UV-A-absorbirajočih snovi. Različne črke nad okvirji z ročaji predstavljajo statistično značilne razlike med posameznimi vrstami ($p \leq 0,05$).

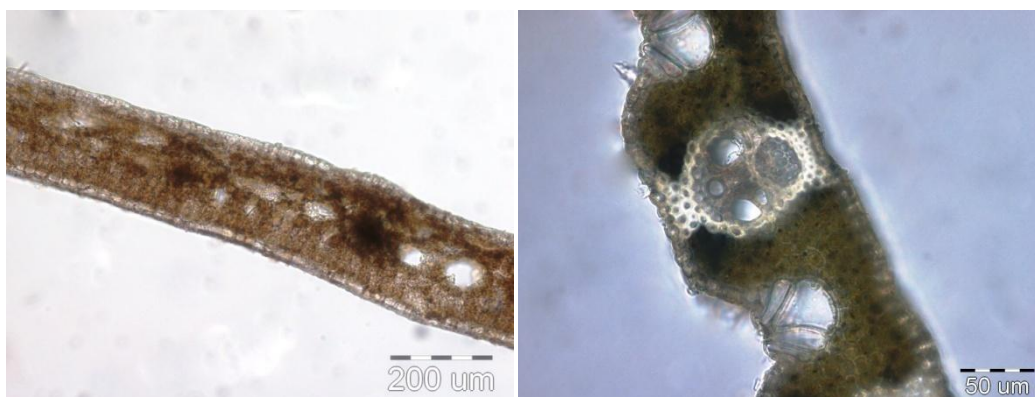
4.2.3 Antociani

Vsebnost antocianov se med posameznimi vrstami ne razlikuje veliko. Izjema je vrsta *D. caespitosa*, ki ima najmanj antocianov (Slika 6). Vsebnost antocianov, izražena na površino lista je tudi statistično podobna, medtem ko pri vsebnosti, izraženi na maso suhe snovi izstopa vrsta *D. caespitosa* z značilno razliko ($p \leq 0,01$).

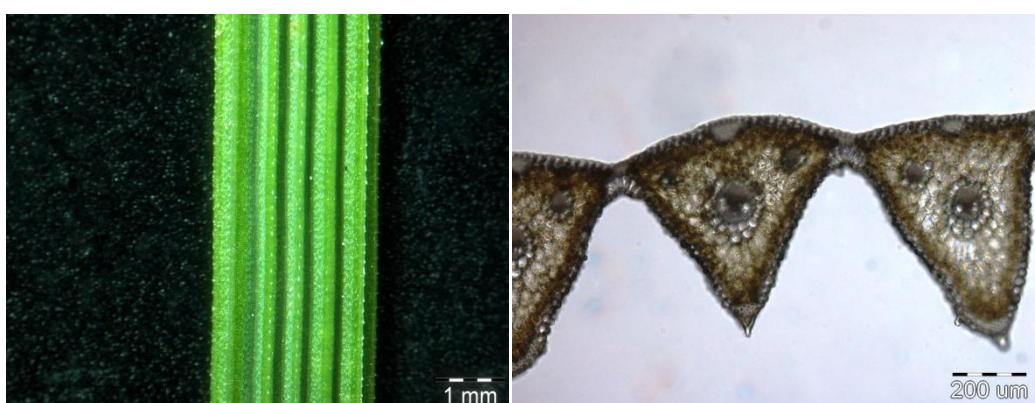


Slika 6: Vsebnost antocianov, izražena na maso suhe snovi lista (mg/g) (zelena) in površino lista (mg/dm²) (vijolična). Podatki so prikazani kot okvirji z mediano, ki predstavljajo polovico podatkov, ročaji z neizstopajočimi podatki in oznakami x, ki predstavljajo izstopajoče (ekstremne) vrednosti; $n=10$. Črki a, b označujeta statistično značilne razlike v vsebnosti antocianov, izraženih na maso suhe snovi lista, črka r označuje statistično značilne razlike v vsebnosti antocianov, izraženih na površino lista. Različne črke nad okvirji z ročaji predstavljajo statistično značilne razlike med posameznimi vrstami ($p \leq 0,05$).

4.3 ANATOMSKE ZNAČILNOSTI



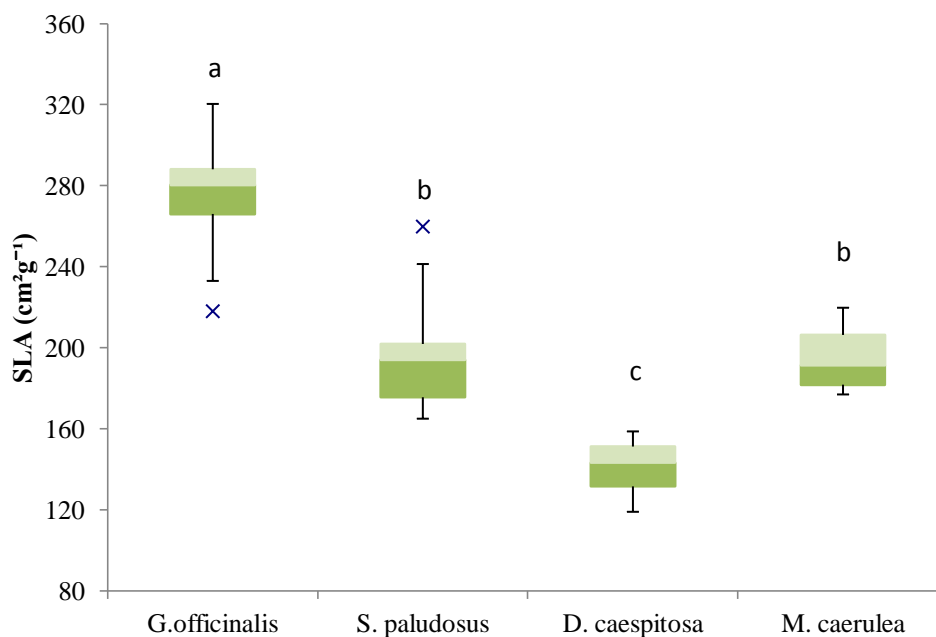
Slika 7: Prečni prerez listov vrst *G. officinalis* (levo) in *M. caerulea* (desno).



Slika 8: Površina lista (levo) in prerez lista (desno) vrste *D. caespitosa*.

4.3.1 Specifična listna površina

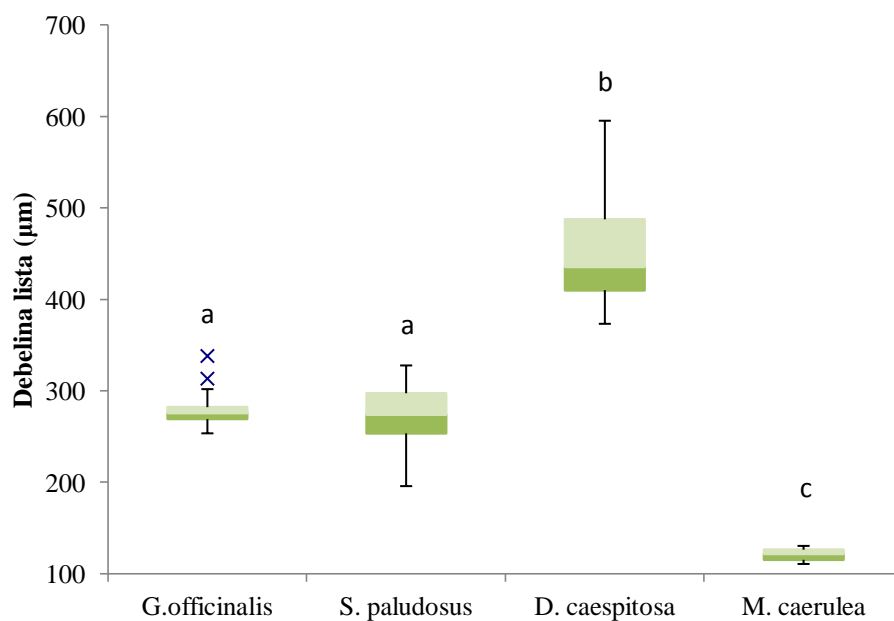
Največjo specifično listno površino (SLA) ima vrsta *G. officinalis*, sledita ji vrsti *S. paludosus* in *M. caerulea*. Najmanjšo specifično listno površino ima vrsta *D. caespitosa*. Razen vrst *S. paludosus* in *M. caerulea* se posamezne vrste v specifični listni površini med seboj statistično značilno razlikujejo ($p \leq 0,01$) (Slika 9).



Slika 9: Specifična listna površina (SLA). Podatki so prikazani kot okvirji z mediano, ki predstavljajo polovico podatkov, ročaji z neizstopajočimi podatki in oznakami x, ki predstavljajo izstopajoče (ekstremne) vrednosti; n=10. Črke a, b, c označujejo statistično značilne razlike v vrednostih SLA med posameznimi vrstami ($p \leq 0,01$).

4.3.2 Debelina lista

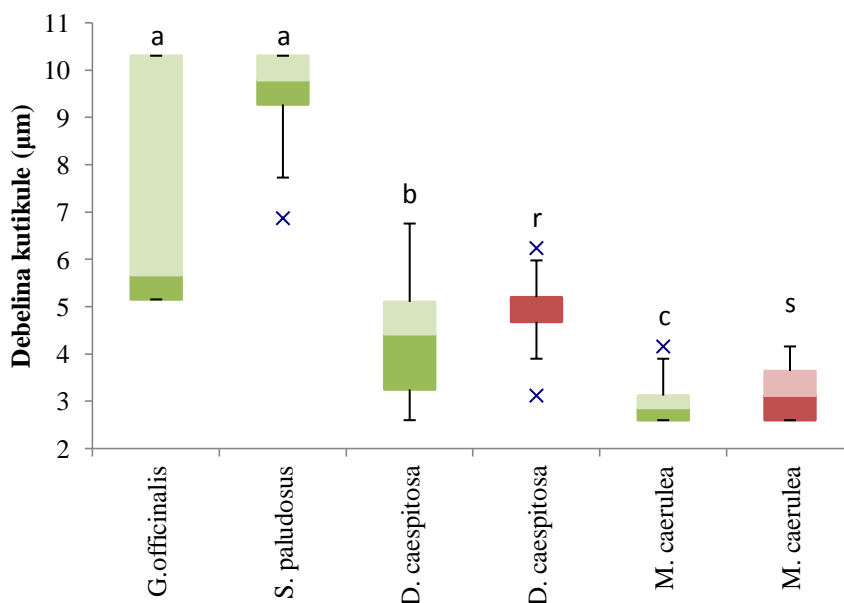
Oba ekstrema v debelini lista pripadata travam, in sicer najdebelejši list ima vrsta *D. caespitosa* in najtanjšega vrsta *M. caerulea*. Debeline listov posameznih vrst se statistično značilno razlikujejo ($p \leq 0,01$), le debelini listov obeh dvokaličnic sta statistično podobni (Slika 10).



Slika 10: Debelina lista. 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. Črke a, b, c označujejo statistično značilne razlike v debelini lista med posameznimi vrstami ($p \leq 0,01$).

4.3.3 Debelina kutikule

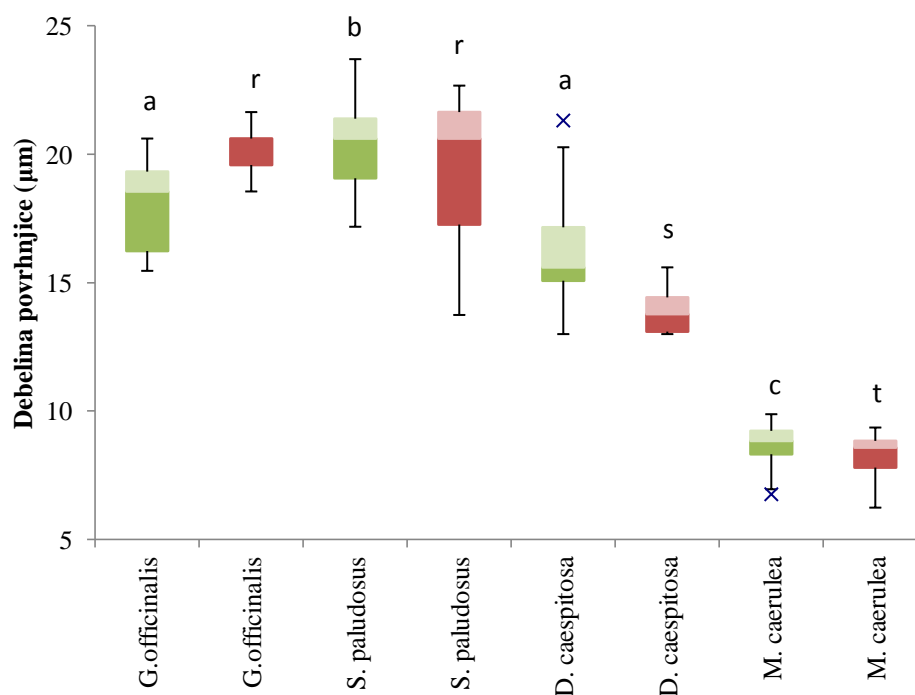
Najdebelejšo zgornjo kutikulo imata vrsti *S. paludosus* in *G. officinalis*. Obe travi imata opazno tanjšo tako zgornjo kot tudi spodnjo kutikulo. Razen obeh dvokaličnic se posamezne vrste v debelini kutikule med seboj statistično značilno razlikujejo ($p \leq 0,05$) (Slika 11).



Slika 11: Debelina zgornje (zelena) in spodnje (rdeča) kutikule. Debelina spodnje kutikule je bila izmerjena samo pri travah. 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. Črke a, b, c označujejo statistično značilne razlike v vrednosti debeline zgornje kutikule, črki r, s označujeta statistično značilne razlike v vrednosti debeline spodnje kutikule. Različne črke nad okvirji z ročaji predstavljajo statistično značilne razlike med posameznimi vrstami ($p \leq 0,05$).

4.3.4 Debelina povrhnjice

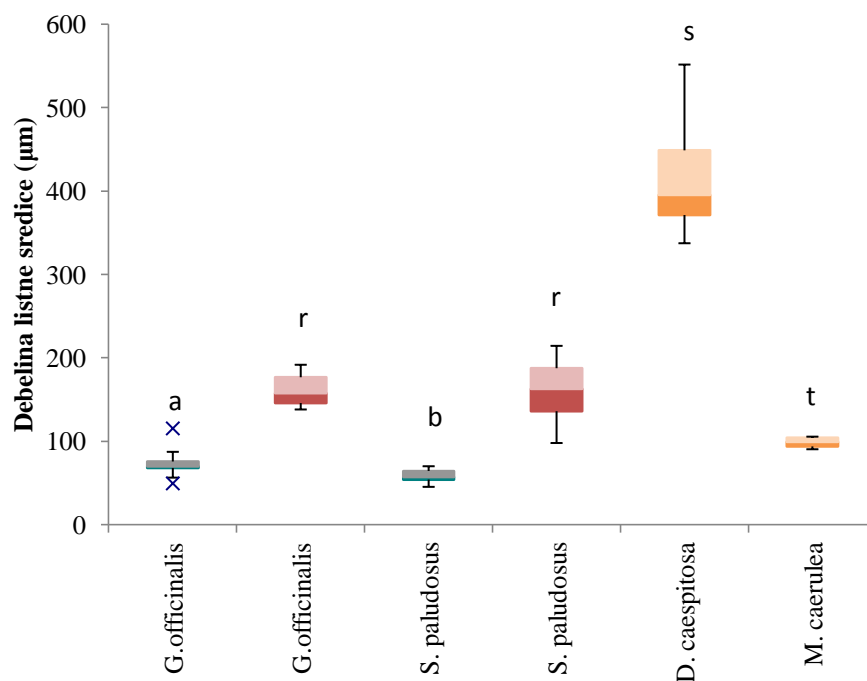
Podobno kot pri debelini kutikule je tudi pri debelini povrhnjice in sicer imata vrsti *S. paludosus* in *G. officinalis* najdebelejšo tako zgornjo kot tudi spodnjo povrhnjico. Najtanjši povrhnjici ima vrsta *M. caerulea*. Posamezne vrste se v debelini povrhnjice med sabo statistično značilno razlikujejo ($p \leq 0,05$), razen vrsti *G. officinalis* in *D. caespitosa* v debelini zgornje povrhnjice in vrsti *G. officinalis* in *S. paludosus* v debelini spodnje povrhnjice (Slika 12).



Slika 12: Debelina zgornje (zelena) in spodnje (rdeča) povrhnjice. Podatki so prikazani kot okvirji z mediano, ki predstavljajo polovico podatkov, ročaji z neizstopajočimi podatki in oznakami x, ki predstavlja izstopajoče (ekstremne) vrednosti; n=10. Črke a, b, c označujejo statistično značilne razlike v vrednostih zgornje povrhnjice, črke r, s, t označujejo statistično značilne razlike v vrednostih spodnje povrhnjice. Različne črke nad okvirji z ročaji predstavljajo statistično značilne razlike med posameznimi vrstami ($p \leq 0,05$).

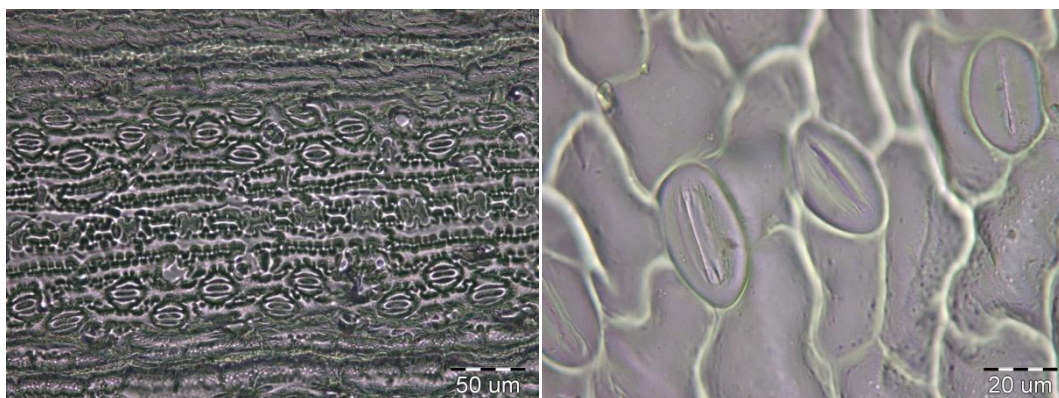
4.3.5 Debelina listne sredice

Vrsta *G. officinalis* ima nekoliko debelejšo stebričasto tkivo kot vrsta *S. paludosus*. Debelina gobastega tkiva vrste *G. officinalis* je statistično podobna debelini gobastega tkiva vrste *S. paludosus*. Debelina listne sredice vrste *D. caespitosa* je značilno večja kot pri vrsti *M. caerulea* ($p \leq 0,01$) (Slika 13).



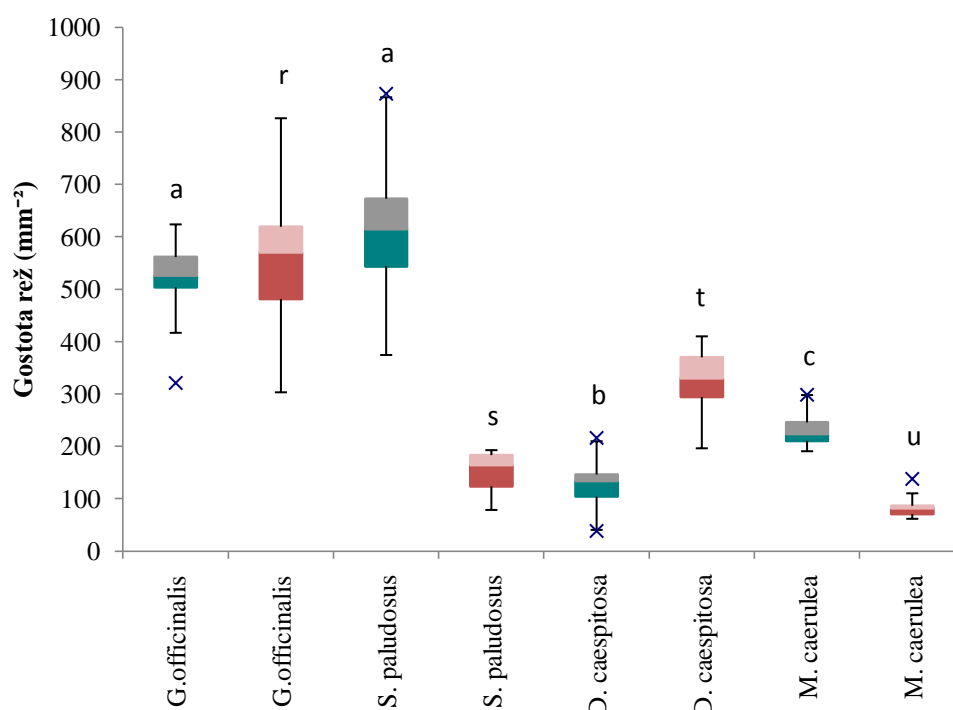
Slika 13: Debelina stebričastega tkiva (zelena), gobastega tkiva (rdeča) in enotne listne sredice (oranžna). Podatki so prikazani kot okvirji z mediano, ki predstavljajo polovico podatkov, ročaji z neizstopajočimi podatki in oznakami x, ki predstavljajo izstopajoče (ekstremne) vrednosti; n=10. Črki a, b označujeta statistično značilne razlike v debelini stebričastega tkiva, črka r označuje statistično značilne razlike v debelini gobastega tkiva, črki s, t označujeta statistično značilne razlike v debelini mezofila. Različne črke nad okvirji z ročaji predstavljajo statistično značilne razlike med posameznimi vrstami ($p \leq 0,05$).

4.3.6 Anatomija rež



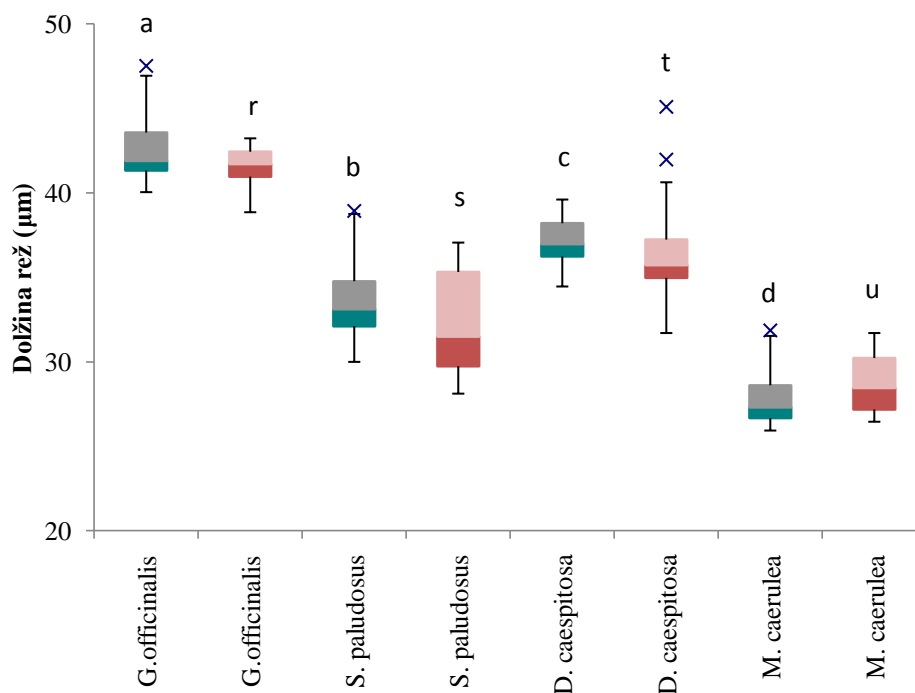
Slika 14: Reže v zgornji povrhnjici vrste *M. caerulea* (levo) in reže v spodnji povrhnjici vrste *S. paludosus* (desno).

Vrsti *S. paludosus* in *M. Cerulea* imata v zgornji povrhnjici precej več rež kot v spodnji povrhnjici. Vrsta *D.caespitosa* ima več rež v spodnji povrhnjici kot v zgornji in vrsta *G. officinalis* ima gostoto rež približno enako na obeh straneh lista (Slika 15). Gostota listnih rež na zgornji povrhnjici je največja pri vrsti *S. paludosus*, sledi ji vrsta *G. officinalis* in nato obe travi. V spodnji povrhnjici ima največjo gostoto rež vrsta *G. officinalis* (Slika 15). Gostota rež med posameznimi vrstami se značilno razlikuje ($p \leq 0,01$), razen v zgornji povrhnjici pri vrstah *G. officinalis* in *S. paludosus*, kjer je gostota rež statistično podobna (Slika 15).



Slika 15: Gostota rež v zgornji (zelena) in spodnji (rdeča) povrhnjici. 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. Črke a, b, c označujejo statistično značilne razlike pri gostoti rež na zgornji povrhnjici, črke r, s, t, u označujejo statistično značilne razlike pri gostoti rež na spodnji povrhnjici. Različne črke nad okvirji z ročaji predstavljajo statistično značilne razlike med posameznimi vrstami ($p \leq 0,01$).

Vse vrste imajo v povprečju podobno dolžino rež na zgornji in spodnji povrhnjici (Slika 16). Najdaljše reže ima vrsta *G. officinalis* in najkrajše vrsta *M. caerulea*. Dolžina rež se statistično značilno razlikuje pri vseh vrstah v zgornji povrhnjici kot tudi v spodnji ($p \leq 0,05$) (Slika 16).



Slika 16: Dolžina rež v zgornji (zelena) in spodnji (rdeča) povrhnjici. Podatki so prikazani kot okvirji z mediano, ki predstavljajo polovico podatkov, ročaji z neizstopajočimi podatki in oznakami x, ki predstavljajo izstopajoče (ekstremne) vrednosti; $n=10$. Črke a, b, c, d označujejo statistično značilne razlike v dolžini rež na zgornji povrhnjici, črke r, s, t, u označujejo statistično značilne razlike v dolžini rež na spodnji povrhnjici. Različne črke nad okvirji z ročaji predstavljajo statistično značilne razlike med posameznimi vrstami ($p \leq 0,05$).

4.4 ODVISNOST MED OPTIČNIMI IN BIOKEMIJSKIMI OZIROMA ANATOMSKIMI LASTNOSTMI LISTA

S statistično analizo smo izračunali medsebojno odvisnost med odbojem lista in biokemijskimi oziroma anatomskimi lastnostmi lista ter med prepustnostjo lista in biokemijskimi oziroma anatomskimi lastnostmi lista.

4.4.1 Odbojnost lista

Analiza odvisnosti z izračunavanjem Spearmanovega koeficienta korelacije (r) je v splošnem pokazala večjo povezavo med odbojnostjo in anatomijo lista kot med odbojnostjo in biokemijskimi parametri lista (Preglednica 1).

Na odbojnost v celotnem delu spektra vplivata predvsem vsebnosti klorofila a in karotenoidov. Največja odvisnost med klorofilom a in odbojnostjo se kaže v vijoličnem ($r = 0,85$), modrem ($r = 0,84$) in rdečem ($r = 0,82$) delu vidne svetlobe ($p \leq 0,01$). Negativna povezava se kaže tudi med odbojem in antociani, razen v delu spektra NIR.

Pri analizi odvisnosti med odbojnostjo in anatomskimi značilnostmi lista je vidna močna povezava med anatomijo lista in njegovim odbojem svetlobe. Nekoliko manjša povezava se kaže samo v območju NIR-sevanja. Največja povezava z odbojnostjo v UV in vidnem delu spektra je z debelino lista, povrhnjice, kutikule in stebričastim tkivom (Preglednica 1).

Preglednica 1: Spearman-ov koeficient odvisnosti med posameznim območjem odbojnega spektra lista in nekaterimi anatomskimi in biokemijskimi parametri vrst; * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$

Parameter/ Območje odbojnega spektra	UVB	UVA	Vijolična	Modra	Zelena	Rumena	Rdeča	NIR
Anatomski parametri								
SLA	-0,47**	-0,40*	-0,37*	-0,38*	-0,18	-0,16	-0,33	-0,1
Debelina lista	0,59**	0,58**	0,61**	0,58**	0,37*	0,38*	0,54**	0,25
Debelina zg. kutikule	-0,80**	-0,80**	-0,73**	-0,71**	-0,45*	-0,44*	-0,61**	-0,23
Debelina zg. povrhnjice	-0,71**	-0,68**	-0,64**	-0,62**	-0,52**	-0,50**	-0,53**	-0,42*
Debelina listne sredice	0,64**	0,63**	0,66**	0,62**	0,42*	0,43*	0,57**	0,28
Debelina stebričastega tkiva	0,56*	0,64**	0,60**	0,58**	0,60**	0,60**	0,55*	0,38

»se nadaljuje«

»nadaljevanje«

Parameter/ Območje odbojnega spektra	UVB	UVA	Vijolična	Modra	Zelena	Rumena	Rdeča	NIR
Biokemijski parametri								
Klorofil a (mg/dm ²)	0,80**	0,82**	0,85**	0,84**	0,68**	0,68**	0,82**	0,61**
Karotenoidi (mg/g)	-0,68**	-0,70**	-0,70**	-0,69**	-0,76**	-0,76**	-0,72**	0,47**
Antociani (mg/g)	-0,55**	-0,54**	-0,50**	-0,52**	-0,42*	-0,34*	-0,50**	-0,15

4.4.2 Prepustnost lista

Analiza je pokazala močno pozitivno odvisnost med prepustnostjo lista in vsebnostjo klorofila *a* v modrem ($r = 0,56$) in rdečem ($r = 0,36$) delu spektra ($p \leq 0,05$) (Preglednica 2). Močna negativna odvisnost pa obstaja predvsem s karotenoidi (mg/g) v vidnem delu spektra in antociani (relativna enota/dm²) v modrem, zelenem in rumenem delu spektra. Prepustnost v območju NIR-sevanja je povezana predvsem s specifično listno površino ($r = 0,50$; $p \leq 0,01$), debelino lista ($r = -0,66$; $p \leq 0,01$) in debelino parenhima ($r = -0,65$; $p \leq 0,01$).

Preglednica 2: Spearman-ov koeficient odvisnosti med presevnostjo lista in nekaterimi anatomskimi in biokemijskimi parametri vrst; * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$

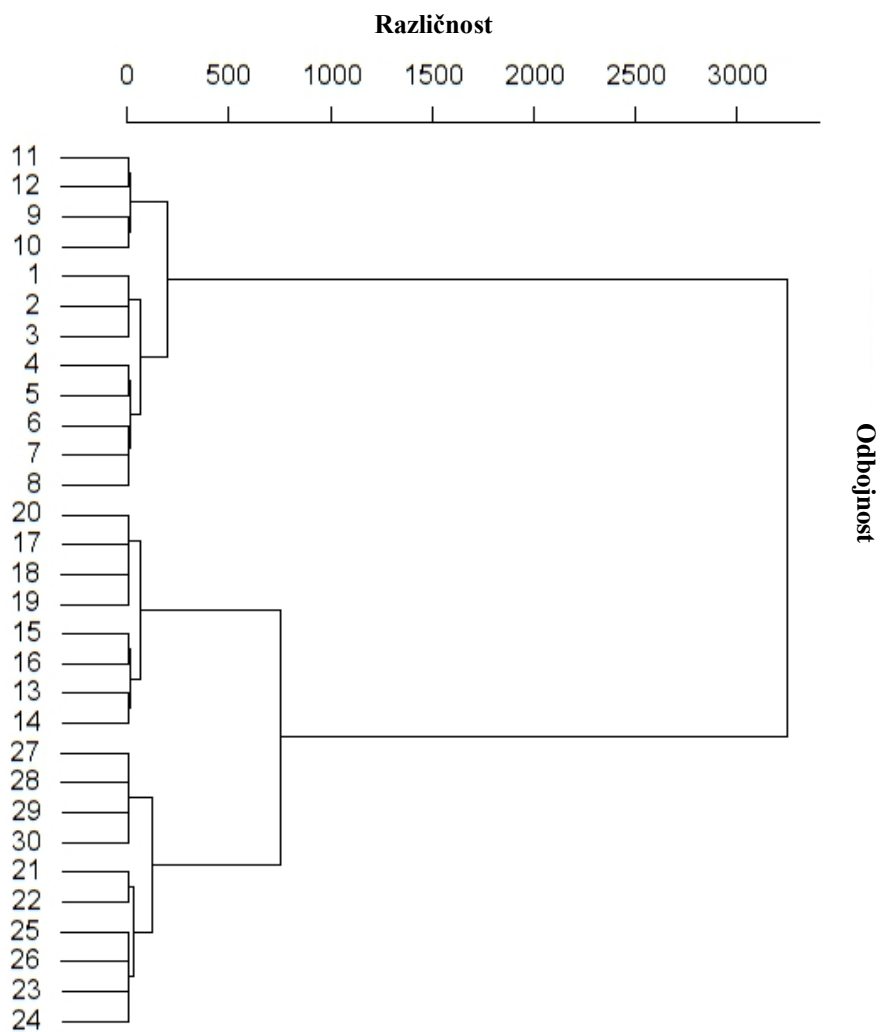
Parameter/ Območje presevnega spektra	UVB	UVA	Vijolična	Modra	Zelena	Rumena	Rdeča	NIR
Anatomski parametri								
SLA	0,43**	0,41**	-0,46**	-0,51**	0,11	-0,01	-0,2	0,50**
Debelina lista	-0,34*	-0,26	0,42**	0,31*	0,12	0,20	0,24	-0,66**
Debelina zg. kutikule	0,25	0,25	-0,38*	-0,60**	-0,12	-0,23	-0,34*	0,01

»se nadaljuje«

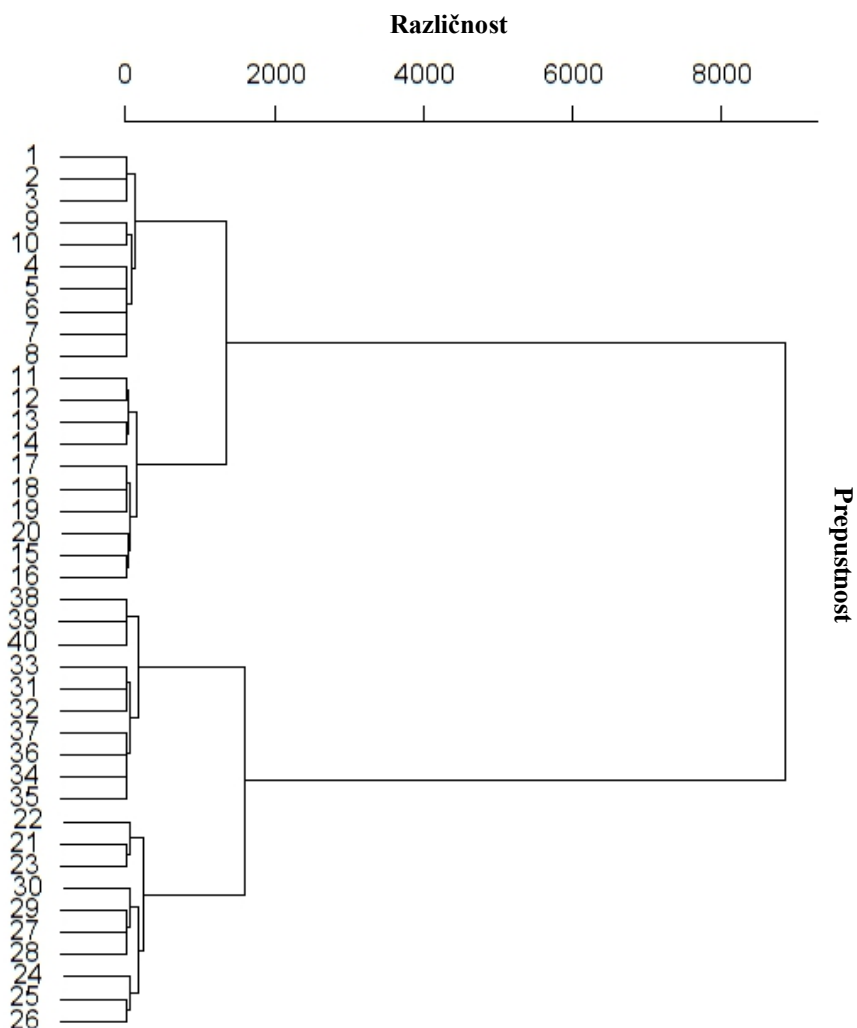
»nadaljevanje«

Parameter/ Območje presevnega spektra	UVB	UVA	Vijolična	Modra	Zelena	Rumena	Rdeča	NIR
Biokemijski parametri								
Karotenoidi (mg/g)	0,39*	0,34*	-0,50**	-0,59**	-0,43**	-0,53**	-0,45**	0,52**
Antociani (mg/dm ²)	0,3	0,24	-0,22	-0,35*	-0,41**	-0,43**	-0,21	0,34*

Dendrograma podobnosti, ki smo jih izdelali na podlagi desetih meritev odbojnih in presevnih spektrov lista za posamezno vrsto, prikazujeta podobnost odbojnosti oziroma prepustnosti listov različnih vrst (Sliki 18 in 19). Opazimo lahko, da so si v odbojnosti od treh vrst najbolj podobni listi vrst *S. paludosus* in *D. caespitosa*. V prepustnosti lista so si podobni listi dvokaličnic (vrsti *G. officinalis* in *S. paludosus*) in listi trav (vrsti *D. caespitosa* in *M. caerulea*).



Slika 17: Dendrogram podobnosti odbojnih spektrov pri vrstah *G. officinalis* (oznake vzorcev 1 – 10), *S. paludosus* (oznake vzorcev 11 – 20) in *D. caespitosa* (oznake vzorcev 21 – 30); $n=10$.



Slika 18: Dendrogram podobnosti presevnih spektrov pri vrstah *G. officinalis* (oznake vzorcev 1 – 10), *S. paludosus* (oznake vzorcev 11 – 20), *D. caespitosa* (oznake vzorcev 21 – 30) in *M. cearulea* (oznake vzorcev 31 – 40); n= 10.

5 RAZPRAVA IN SKLEPI

5.1 RAZPRAVA

V nalogi nas je zanimalo katere biokemijske in anatomske lastnosti pomembno vplivajo na odbojnost in prepustnost lista v posameznih območjih spektra in ali se optične lastnosti lista med vrstami razlikujejo. Meritve odbojnosti smo opravili na listih vrst *G. officinalis*, *S. paludosus* in *D. caespitosa*. Meritve prepustnosti smo opravili na že omenjenih vrstah in vrsti *M. caerulea*. Biokemijske parametre smo, zaradi različne debeline listov obravnavanih vrst, izražali na dva načina, na površino (mg/dm²) in na maso suhe snovi (mg/g).

Ugotovili smo, da imajo listi proučevanih vrst podobno obliko tako odbojnih kot prepustnih spektrov, in sicer nizko odbojnost in prepustnost v območju UV-sevanja in vidne svetlobe ter višjo odbojnost v območju NIR-sevanja (Slika 1). Analiza odbojnosti listov je pokazala značilno razliko v spektrih predvsem med vrstama *G. officinalis* in *S. paludosus*. Največje razlike v odbojnih spektrih listov med vrstami so v UV-delu spektra, pa tudi v območju vidne svetlobe. V območju NIR-sevanja se značilno razlikujeta le odbojna spektra vrst *G. officinalis* in *S. paludosus*. Analiza prepustnosti listov je pokazala, da se od preostalih spektrov najbolj razlikuje vrsta *D. caespitosa*, medtem ko sta največjo podobnost v prepustnih spektrih lista pokazali vrsti *G. officinalis* in *M. caerulea*.

Ugotovili smo tudi, da na optične lastnosti lista vplivajo tako biokemijski parametri, kot anatomija lista. Parametri so med sabo tesno povezani, zato je težko določiti kateri imajo največ vpliva na odboj ali prepustnost v določenem delu spektra.

Anatomija lista ima pomembno vlogo pri razporeditvi svetlobe znotraj lista (Baltzer in Thomas, 2005) in močno vpliva tudi na biokemijske parametre kot so količina posameznih barvil v listu. Statistična analiza odvisnosti je pokazala močno povezavo med odbojnimi in presevnimi spektri in skoraj vsemi anatomskimi značilnostmi lista, razen anatomije rež (Preglednici 1 in 2).

Biokemijski parametri lista so v skladu s pričakovanji povezani z odbojem in presevnostjo lista predvsem v vidnem delu spektra, pa tudi v UV-delu, manj pa v območju NIR-sevanja (Preglednici 1 in 2). Do podobnih ugotovitev so prišli tudi Slaton in sodelavci (2001) ter Yoshimura in sodelavci (2009). Vpliv anatomije lista na optične lastnosti lahko opazimo v celotnem delu spektra, posebno opazen pa je ta vpliv v območju NIR-sevanja.

5.1.1 Povezava med odbojnimi spektri in biokemijskimi ter anatomskimi značilnostmi lista

O povezavi med koncentracijo barvil in odbojnostjo obstajajo že mnogi dokazi (Blackburn, 1999; Asner in Martin, 2008; Baltzer in Thomas, 2005), ki pa se ne ujemajo vedno glede optimalnih valovnih dolžin. Pri vseh proučevanih vrstah opazimo značilno nižjo odbojnost v vidnem delu spektra, z manjšim vrhom v območju zelene svetlobe, kar povezujemo z vsebnostjo fotosinteznih barvil. Količina svetlobe, ki se absorbira, odbije ali preseva, je odvisna od valovne dolžine, saj listna barvila absorbirajo selektivno (Van Der Meer in De Jong, 2006). Klorofili absorbirajo v modrem in rdečem delu spektra, z absorpcijskim vrhom klorofila *a* v rdeči svetlobi, pri 660 nm (Van Der Meer in De Jong, 2006). To je izrazito opazno pri vrsti *D. caespitosa*, ki ima v tem delu spektra največjo absorpcijo (Sliki 1 in 2). Karotenoidi absorbirajo vijolično in modro svetlobo, z absorpcijskim vrhom pri 470 nm (Van Der Meer in De Jong, 2006). Povezavo med vsebnostma klorofila *a* in karotenoidov ter odbojnostjo v vidnem delu spektra je potrdila tudi analiza odvisnosti. V primerjavi z vrsto *D. caespitosa*, ki je trava, imata dvokaličnici, vrsti *S. paludosus* in *G. officinalis*, večjo absorpcijo v vidnem delu spektra. To povezujemo predvsem z morfologijo lista, pa tudi z vsebnostjo fotosinteznih barvil, katerih imata dvokaličnici več. Zgornja stran lista vrste *D. caespitosa* je oblikovana v vmesne žlebove (Slika 8). Zaradi vpadnega kota se lahko več svetlobe, ki pride do lista, odbije (lahko pride do popolnega odboja). Kompaktna listna sredica vrste *D. caespitosa* ni diferencirana na stebričasto in gobasto tkivo, kot pri vrstah *S. paludosus* in *G. officinalis*, temveč je enotno gosto tkivo (Slika 8). Slaton in sodelavci (2001) trdijo, da imajo listi z večjim deležem stebričastega tkiva, ki prepušča vidno svetlobo v notranjost lista, manjšo odbojnost. To drži tudi v našem primeru, saj imata vrsti *S. paludosus* in *G. officinalis* manjšo odbojnost v vidnem delu spektra v primerjavi z vrsto *D. caespitosa* (Slika 1). Listno tkivo v žlebovih vrste *D.*

caespitosa je zelo tanko, in vsebuje večinoma le sklerenhimatsko tkivo za oporo, zato se svetloba tukaj ne absorbira, temveč preseva skozi list.

V zelenem delu spektra svetlobo klorofili odbijajo (Van Der Meer in De Jong, 2006), zato je v tem delu vidne svetlobe pričakovana najmanjša absorpcija in največji odboj. Pozitivno povezavo med odbojem v zelenem delu spektra in vsebnostjo klorofila *a* potrjuje tudi analiza odvisnosti ($r = 0,68$, $p \leq 0,01$). Poleg klorofilov na odbojnost v tem delu spektra vplivajo tudi anatomske značilnosti lista (Preglednica 1). Pri vrsti *S. paludosus* je odboj nekoliko manjši kot pri ostalih dveh vrstah, kar lahko razlagamo z vsebnostjo dveh barvil, klorofila *a* in antocianov. Vrsta *S. paludosus* ima najmanjšo vsebnost klorofila *a* in največjo vsebnost antocianov izraženih na površino (Sliki 3 in 6). Manjši odboj tako razlagamo z manjšo vsebnostjo klorofila *a* kot tudi z večjo vsebnostjo antocianov, ki absorbirajo svetlobo v zelenem in rumenem delu spektra, valovne dolžine 500-600 nm (Gould, 2004).

Zanimiv je tudi odboj lista na prehodu med modrim in zelenim delom spektra (470 - 520 nm), kjer svetlobo absorbirajo karotenoidi (Taiz in Zeiger, 2006). Najbolj oster prehod odboja v omenjenem delu spektra ima vrsta *G. officinalis*, ki ima tudi najmanjšo vsebnost karotenoidov. Vrsta *S. paludosus* ima največjo vsebnost karotenoidov, ki absorbirajo tudi v delu spektra zelene svetlobe, valovne dolžine 500-520 nm (Baltzer in Thomas, 2005), zato ima ta prehod najmanj oster. To podpira tudi analiza odvisnosti med odbojem lista vrste *S. paludosus* in vsebnostjo karotenoidov z močno negativno povezavo. Da karotenoidi resnično vplivajo na odbojni spekter lista v tem območju pokaže tudi analiza odvisnosti vseh treh vrst z vsebnostjo karotenoidov, in sicer z močno negativno korelacijo (Preglednica 1).

V UV-območju naj bi imele vse semenke okoli 5 % odbojnost lista (Yoshimura in sod., 2009). Odboj v UV-delu spektra je zelo zanimiv predvsem zaradi popolnoma tipične krivulje odboja lista pri vrsti *S. paludosus* in popolnoma netipične krivulje pri vrsti *D. caespitosa*. Yoshimura in sodelavci (2009) trdijo, da sta nizka odbojnost in prepustnost v UV-delu spektra predvsem zaradi visoke vsebnosti UV-absorbirajočih snovi, kar se ujema z odbojem lista vrste *S. paludosus*. Kot zaščita pred UV-B sevanjem delno delujejo tudi

antociani (Filella in Peñuelas, 1999). To potrjuje tudi analiza odvisnosti med odbojem lista in vsebnostjo antocianov ter UV-absorbirajočih snovi pri vrsti *S. paludosus*, z močno negativno odvisnostjo. Vrsta *D. caespitosa* ima visoko vsebnost UV-absorbirajočih snovi, pa vendar ima najmanjšo absorpcijo v tem delu spektra (Slike 1, 2 in 5). Kot trdita Filella in Peñuelas (1999), lahko imajo nekatere vrste v UV-delu spektra odbojnost večjo od 10 %.

V območju NIR-sevanja imajo listi praviloma visoko odbojnost. Barvila tega dela spektra ne absorbirajo, zato ne prispevajo k odbojnim lastnostim lista. Prevladujoč dejavnik, ki vpliva na optične lastnosti lista je notranja zgradba lista (Van Der Meer in De Jong, 2006). Tudi Slaton in sodelavci (2001) trdijo, da se vpliv anatomije lista na odbojnost najbolje vidi v območju NIR-sevanja, v katerem na odbojnost ne vplivajo biokemične lastnosti lista. Na sliki odbojnih spektrov lista obravnavanih vrst vidimo, da ima največjo odbojnost v območju NIR-sevanja vrsta *G. officinalis*, najmanjšo vrsta *S. paludosus*, med njima pa ima spekter vrsta *D. caespitosa* (Slika 1). Lista vrst *G. officinalis* in *S. paludosus* sta si anatomsko (statistično značilno) zelo podobna, kar ni nenavadno, saj sta obe vrsti dvokaličnici, medtem ko je vrsta *D. caespitosa*, ki se od njiju statistično značilno razlikuje, trava. Vrsti *G. officinalis* in *S. paludosus* imata v primerjavi z vrsto *D. caespitosa* tanjše liste in značilno debelejšo zgornjo kutikulo. Da obstaja pozitivna odvisnost med debelino lista in odbojem lista potrjuje tudi statistična analiza. Knapp in Carter (1998) trdita, da je debelina lista močno povezana z odbojem v območju NIR-sevanja. Na splošno naj bi se odbojnost v tem delu spektra z večanjem debeline lista povečala. Močno povezavo med debelino lista in odbojem v območju NIR-sevanja omenjajo tudi Klančnik in sodelavci (2012), vendar razlage, zakaj je odboj lista posamezne vrste večji od druge, ne moremo iskati samo v eni anatomski značilnosti, saj so le-te med sabo zelo povezane in največkrat celotna zgradba lista vpliva na količino odbite svetlobe. Listi vrste *G. officinalis* so zelo tanki, vendar imajo največjo SLA (Slika 9). Prav tako imajo debelo zgornjo kutikulo in obširno gobasto tkivo (Sliki 11 in 13). Debelejša listna kutikula lahko pomeni večjo odbojnost v območju NIR-sevanja, medtem ko močnejše povezave med obsegom gobastega tkiva in odbojem lista ni (Slaton in sod.,2001).

Zanimiva je najnižja odbojnost lista v območju NIR-sevanja pri vrsti *S. paludosus*. Glede na podobnosti v anatomiji lista z vrsto *G. officinalis* bi pričakovali, da bosta njuna spektra v tem območju podobna, vendar sta spektra tudi statistično značilno različna. Najmanjši odboj lista vrste *S. paludosus* se ujema z relativno visoko prepustnostjo lista. Edina večja razlika v anatomiji lista med dvokaličnicama je v SLA. Iz tega lahko sklepamo, da prav SLA pomembno vpliva na odboj v NIR-delu spektra, vendar statistična analiza odvisnosti tega ne potrjuje.

5.1.2 Povezava med presevnimi spektri in biokemijskimi ter anatomskimi značilnostmi lista

Na dendrogramu podobnosti (Slika 18) lahko vidimo, da sta presevna spektra listov podobna pri vrstah *G. officinalis* in *S. paludosus*, obeh dvokaličnicah in pri vrstah *D. caespitosa* in *M. caerulea*, obeh travah.

Prepustnost lista v UV-delu spektra je pri vseh vrstah blizu nič (Slika 2), kar pomeni, da se večina UV-sevanja, ki prehaja čez list, v njem absorbira. Do podobnih ugotovitev so v svoji raziskavi prišli tudi Yoshimura in sodelavci (2009).

V območju vidne svetlobe ima vrsta *D. caespitosa* v primerjavi z ostalimi vrstami višjo prepustnost (Slika 2), kar lahko razlagamo z morfološkimi značilnostmi lista. Tkivo v žlebovih lista pri vrsti *D. caespitosa* ne vsebuje fotosinteznih barvil, zato je v teh delih lista visoka prepustnost, kar se kaže na celotni krivulji prepustnosti v vidnem delu spektra.

V modrem in rdečem delu spektra je prepustnost pri vseh vrstah zaradi fotosinteznih barvil nizka, saj v tem delu spektra barvila močno absorbirajo svetlobo. Posebej opazna je močna absorpcija pri 660 nm, absorpcijskem vrhu klorofila *a* (Slika 2).

Prepustnost v območju NIR-sevanja je višja (Slika 2), kar je pričakovano, saj se absorptivnost v tem delu spektra močno zmanjša (Baldini, 1997). Opazen je tudi vpliv anatomije lista na prepustnost lista in razlika med anatomijo lista dvokaličnic in trav. Listi vrst *G. officinalis* in *S. paludosus* so bolj prepustni v primerjavi z listi vrst *D. caespitosa* in

M. caerulea. Obe travi imata v primerjavi z dvokaličnicama bolj kompaktno listno sredico (manjšo SLA), kjer se akumulira več sevanja v obliki toplote, zato skozi list prepuščata manj sevanja. To je še posebej opazno pri listu vrste *D. caespitosa*, ki je najdebelejši, vendar ima najmanjšo SLA (Slika 9). Kompakten list vrste *D. caespitosa* tudi najmanj preseva v območju NIR-sevanja (Slika 2). To potrjuje tudi analiza odvisnosti med SLA in prepustnostjo lista v območju NIR ($r = 0,50$; $p \leq 0,01$). Vrsti *G. officinalis* in *S. paludosus* imata obsežno gobasto tkivo. Tkivo teh dveh vrst je rahlo, kar vidimo iz njune SLA (Slika 9), ki je pri obeh vrstah velika. Zaradi rahlega tkiva akumulirata manj sevanja v obliki toplote in skozi list prepuščata več svetlobe.

Knapp in Carter (1998) omenjata povezavo med debelino lista in prepustnostjo, in sicer je bila v njuni raziskavi prepustnost pri najtanjšem listu skoraj 2,5-krat večja kot pri najdebelejšem listu. Prepustnost v območju NIR naj bi se z večanjem debeline lista zmanjšala, kar omenjajo tudi Baldini in sodobniki (1997). Tudi iz naših rezultatov lahko podobno sklepamo, saj ima vrsta *D. caespitosa* najdebelejši list in najmanjšo prepustnost v območju NIR-sevanja. Povezavo med debelino lista in prepustnostjo v NIR-delu spektra potrjuje tudi analiza odvisnosti ($r = -0,66$; $p \leq 0,01$).

5.2.SKLEPI

Odbojni in presevni spektri se bodo med proučevanimi vrstami razlikovali, kar je povezano z njihovimi morfološki in biokemijski lastnostmi.

Listi proučevanih vrst imajo podobno obliko tako odbojnih kot prepustnih spektrov, in sicer nizko odbojnost in prepustnost v območju UV-sevanja in vidne svetlobe ter višjo odbojnost v območju NIR-sevanja. Značilna razlika v odbojnih spektrih je predvsem med vrstama *G. officinalis* in *S. paludosus*. Največje razlike v odbojnih spektrih listov med vrstami so v UV-delu spektra, pa tudi v območju vidne svetlobe. V območju NIR-sevanja se značilno razlikujeta le odbojna spektra vrst *G. officinalis* in *S. paludosus*. V prepustnosti listov se od preostalih vrst najbolj razlikuje vrsta *D. caespitosa*. Najbolj podobni v prepustnih spektrih lista sta vrsti *G. officinalis* in *M. caerulea*.

Na odbojne in presevalne spektre lista vplivajo morfološke in biokemijske lastnosti lista. Ker so te lastnosti med sabo tesno povezane, je težko določiti katere izmed lastnosti imajo največ vpliva na odboj ali prepustnost v določenem delu spektra.

Največji vpliv na optične lastnosti lista v vidnem delu spektra imajo fotosintezna barvila. Večina svetlobe v modrem in rdečem delu spektra se absorbira, zato sta odbojnost in prepustnost lista nizki.

V območju vidne svetlobe je pri vseh vrstah opazen vpliv fotosinteznih barvil, kar potrjuje tudi analiza odvisnosti. Absorptivnost je visoka predvsem v modrem in rdečem delu spektra, kjer svetlobo absorbirajo klorofili in karotenoidi. Najnižja absorptivnost je v zelenem delu spektra, kjer klorofili svetlobe ne absorbirajo temveč odbijajo, zato sta odbojnost in prepustnost v območju zelene svetlobe vidnega spektra višji.

Vrste so se med sabo značilno razlikovale predvsem v morfoloških značilnostih lista. Ker so biokemijske značilnosti lista med vrstami precej podobne predvidevamo, da so razlike v optičnih lastnostih lista med vrstami predvsem posledica različne morfologije lista.

V UV-območju spektra imajo listi nizko odbojnost in nizko prepustnost, kar pomeni, da se večina UV-sevanja v listu absorbira.

Visoko absorptivnost v UV-delu spektra pripisujemo predvsem UV-absorbirajočim snovem, pa tudi antocianom in klorofilom. Opazna je tudi razlika v odbojnih spektrih med vrstami, predvsem med dvokaličnicama in travo. Vrsta *D. caespitosa* v tem delu spektra odbija več kot 10 % svetlobe, ki jo doseže, medtem ko dvokaličnici manj kot 10 %. Razlika je posledica predvsem morfoloških lastnosti lista posamezne vrste.

V območju NIR-sevanja listna barvila svetlobe ne absorbirajo, zato na optične lastnosti vplivajo predvsem anatomske značilnosti lista.

Odbojnost in prepustnost lista sta v območju NIR zelo visoki. Barvila tega dela spektra ne absorbirajo, zato je večji vpliv anatomije lista. Ugotovili smo, da imata v območju NIR, velik vpliv na absorptivnost lista njegova debelina in SLA. V primerjavi z dvokaličnicama, travi prepuščata skozi list manj IR sevanja. Razlago za to smo našli v razlikah v anatomiji lista med vrstami. Listna sredica lista trav ni diferencirana na stebričasto in gobasto tkivo. List je zelo kompakten, zato zadrži več sevanja v obliki toplote in skozi list prepušča manj sevanja. To je še posebej opazno pri vrsti *D. caespitosa*. Dvokaličnici imata obsežno gobasto tkivo, ki prispeva k »rahlosti« lista in večji prepustnosti sevanja.

6 POVZETEK

V diplomski nalogi smo proučevali optične, anatomske in biokemijske lastnosti listov pri štirih različnih vrstah rastlin, ki uspevajo na območju Cerkniškega jezera; navadni božji milosti (*Gratiola officinalis* L.), močvirskemu grintu (*Senecio paludosus* L.), rušnati masnici (*Deschampsia caespitosa* L.) in modri stožki (*Molinia caerulea* L.) ter ugotavljali kateri parametri in v kolikšni meri vplivajo na odbojnost in prepustnost lista v posameznih regijah spektra svetlobe (območje UV, območje vidne svetlobe, območje NIR). Zanimalo nas je ali se optične lastnosti listov med vrstami razlikujejo in ali obstaja značilna razlika med odbojnimi in presevnimi spektri med travama in dvokaličnicama.

Optične lastnosti listov smo izmerili s prenosnim spektrometrom. Za navadno božjo milost, močvirski grint in rušnato masnico smo izmerili odbojne in preseвне spektre lista, za modro stožko pa preseвне spektre lista. Merili smo valovne dolžine med 300 in 800 nm, na 0,3 nm natančno. Določili smo specifično listno površino (SLA), vsebnost fotosinteznih barvil, antocianov in UV-absorbirajočih snovi ter analizirali zgradbo lista.

Vse rastlinske vrste kažejo nekatere skupne značilnosti v odbojnih in presevnih spektrih listov. V območju UV in vidne svetlobe imajo listi vseh vrst manjšo odbojnost in prepustnost. V območju zelene svetlobe je manjši vrh (550 nm). V območju NIR se odbojnost in prepustnost listov, zaradi zmanjšane absorpcije barvil, zviša.

Ugotovili smo, da na optične lastnosti lista vplivajo biokemijske in morfološke značilnosti lista ter da so te značilnosti med sabo tesno povezane, zato je težko določiti katera najbolj vpliva na odboj ali prepustnost v določenem delu spektra. Večjo povezavo z odbojem in presevnostjo lista v vidnem delu spektra smo opazili pri fotosinteznih barvilih. Največja absorpcija v tem delu spektra je v območju modre in rdeče svetlobe, kjer absorbirajo klorofili in karotenoidi. V zelenem delu spektra svetlobo klorofili odbijajo, zato je v tem delu vidne svetlobe absorpcija najnižja. Ker so si vrste med sabo po biokemičnih značilnostih precej podobne, pripisujemo razlike med odbojnimi in presevnimi spektri listov med vrstami predvsem različni zgradbi lista. To je še posebej opazno pri vrsti *D.*

caespitosa, ki ima izrazito žlebast list, zaradi česar se povečata odboj svetlobe in njegova prepustnost.

Prepustnost lista v UV-delu spektra je zelo nizka, z vrednostjo blizu nič. Absorptivnost pri vrsti *G. officinalis* in še posebej pri vrsti *S. paludosus* je zelo visoka, kar povezujemo z vsebnostjo UV-absorbirajočih snovi in antocianov.

V območju NIR sta odbojnost in prepustnost listov visoki. Ker barvila v tem delu spektra ne absorbirajo, je prevladujoč dejavnik, ki vpliva na optične lastnosti lista notranja zgradba lista. Ugotovili smo, da razlage za različne odbojnosti listov med vrstami, ne moremo iskati samo v eni anatomski značilnosti, temveč v celotni zgradbi lista. Rezultati so tudi pokazali, da je prepustnost v območju NIR najbolj povezana z debelino lista in SLA. Dvokaličnici sta imeli v območju NIR višjo prepustnost v primerjavi z travama. Zbiti listi vrst *D. caespitosa* in *M. caerulea* akumulirajo več sevanja v obliki toplote in zato prepuščajo manj sevanja. List vrste *D. caespitosa*, ki je najdebelejši in ima najmanjšo SLA, v območju NIR najmanj prepušča sevanje.

7 VIRI

Adam E., Mutanga O. 2009. Spectral discrimination of papyrus vegetation (*Cyperus papyrus* L.) in swamp wetlands using field spectrometry. *Journal of Photogrammetry and Remote Sensing* 64: 612–620

Asner G. P., Martin R. E. 2008. Spectral and chemical analysis of tropical forests: Scaling from leaf to canopy levels. *Remote Sensing of Environment* 112: 3958–3970

Baldini E., Facini O., Nerozzi F., Rossi F., Rotondi A. 1997. Leaf characteristics and optical properties of different woody species. *Trees* 12: 73-81

Baltzer J. L., Thomas S.C. 2005. Leaf optical responses to light and soil nutrient availability in temperate deciduous trees. *American Journal of Botany* 92(2): 214–223

Baranoski G. V. G., Rokne J. G. 1997. An algorithmic reflectance and transmittance model for plant tissue. *Eurographics '97: Volume 16, Number 3*

Blackburn G. A. 1999. Relationships between spectral reflectance and pigment concentrations in stacks of deciduous broadleaves. *Remote Sens. Environ.* 70: 224–237

Durako J. M. 2007. Leaf optical properties and photosynthetic leaf absorptances in several Australian seagrasses. *Aquatic Botany* 87: 83–89

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: 157–165

Gaberščik A. in Urbanc-Berčič O. 2003. Ekosistem, ki ga ustvarja igra vode. V: Jezero, ki izginja: Monografija o Cerkniskem jezeru. Gaberščik A. (ur.). Ljubljana, Društvo ekologov Slovenije: 51–57

Germ M. 2003. Močvirska spominčica in lasastolistna vodna zlatica v spremenljivem okolju. V: Jezero, ki izginja: Monografija o Cerkniškem jezeru. Gaberščik A. (ur.). Ljubljana, Društvo ekologov Slovenije: 107-115

Gitelson A. A., Zur Y., Chivkunova O. B., Merzlyak M. N. 2002. Assessing carotenoid content in plant leaves with reflectance spectroscopy. *Photochemistry and Photobiology* 75(3): 272–281

Gould K.S., Neill S. O., Vogelmann T. C. 2002. A unified explanation for anthocyanins in leaves? *Advances in Botanical Research* 37: 167-192

Gould K. S. 2004. Nature's Swiss Army Knife: The diverse protective roles of anthocyanins in leaves. *Journal of Biomedicine and Biotechnology* 5: 314–320

Jogan N. 2007. *Trave (Poaceae)*. V: Mala flora Slovenije. Ključ za določanje praprotnic in semenk. Martinčič A. (ur.). Četrta, dopolnjena in spremenjena izdaja, Tehniška založba Slovenije: 826 - 932

Klančnik K., Mlinar M., Gaberščik A. 2012. Heterophylly results in a variety of "spectral signatures" in aquatic plant species. *Aquatic Botany* 98: 20– 26

Knapp A. K., Carter G. A. 1998. Variability in leaf optical properties among 26 species from a broad range of habitats. *American Journal of Botany* 85(7): 940–946

Kranjc A. 2003. Hidrološke značilnosti. V: Jezero, ki izginja: Monografija o Cerkniškem jezeru. Gaberščik A. (ur.). Ljubljana, Društvo ekologov Slovenije: 27 - 37

Kumar L., Schmidt K., Dury S., Skidmore A. 2006. Imaging spectrometry and vegetation science. V: Van Der Meer F. D., De Jong S. M.. *Imaging Spectrometry: Basic principles and prospective application*. Nizozemska, Springer. 111-154

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 Cerknškem jezeru. Gaberščik A. (ur.). Ljubljana, Društvo ekologov Slovenije: 81 - 94

Martinčič A., Leskovar I. 2003. Vegetacija. V: Jezero, ki izginja: Monografija o Cerknškem jezeru. Gaberščik A. (ur.). Ljubljana, Društvo ekologov Slovenije: 73 – 79

Mauseth J. D. 1988. Plant anatomy. 2002. The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc., str. 167-195 in 231-250

Ourcival J. M., Joffre R., Rambal S. 1999. Exploring the relationships between reflectance and anatomical and biochemical properties in *Quercus ilex* leaves. *New Phytol.* 143: 351-364

Rozemaa J., Björn L. O., Bornman J. F., Gaberščik A., Häder D. P., Trošt T., Germ M., Klisch M., Gröniger A., Sinha R.P., Lebert M., He Y.-Y., Buffoni-Hall R., De Bakker N.V.J., Van de Staaij J., Meijkamp B.B. 2002. The role of UV-B radiation in aquatic and terrestrial ecosystems - an experimental and functional analysis of the evolution of UV-absorbing compounds. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 66: 2–12

Sims D. A., Gamon J. A. 2002. Relationships between leaf pigment content and spectral reflectance across a wide range of species, leaf structures and developmental stages. *Remote Sensing of Environment* 81: 337– 354

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 Cerknškega jezera in okolice. Cerknica

Taiz L., Zeiger E. 2006. Plant Physiology. 4. izdaja. Sinauer Associates, Inc. str. 126-130

Trošt Sedej T. 2005. Ekologija rastlin. Priročnik za vaje. Ljubljana, Študentska založba

Ustin S. L., Gitelson A.A., Jacquemoud S., Schaepman M., Asner G. P., Gamon J. A., Zarco-Tejada P. 2009. Retrieval of foliar information about plant pigment systems from high resolution spectroscopy. Remote Sensing of Environment 113: S67–S77

Wraber T. 2007a. Črnobinovke (*Srophulariaceae*). V: Mala flora Slovenije. Ključ za določanje praprotnic in semenk. Martinčič A. (ur.). Četrta, dopolnjena in spremenjena izdaja, Tehniška založba Slovenije: 546 - 572

Wraber T. 2007b. Nebinovke (*Asteraceae*). V: Mala flora Slovenije. Ključ za določanje praprotnic in semenk. Martinčič A. (ur.). Četrta, dopolnjena in spremenjena izdaja, Tehniška založba Slovenije: 633 - 687

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. Int J Biometeorol 54: 179–191

Zur Y., Gitelson A. A., Chivkunova, O.B., Merzlyak, M.N. 2000. The spectral contribution of carotenoids to light absorption and reflectance in green leaves. In: Proceeding of the Second International Conference on Geospatial Information in Agriculture and Forestry, Lake Buena Vista, FL, USA.

ZAHVALA

Zahvaljujem se mentorici prof. dr. Alenki Gaberščik za mentorstvo in izredno prijaznost ter Katji Klančnik za potrpežljivost in vso pomoč in nasvete pri izdelavi naloge.

Hvala recenzentki doc. dr. Katarini Vogel Mikuš za hiter pregled naloge in tehtne pripombe ter predsednici komisije doc. dr. Jasni Dolenc Koce za prijaznost.

Najlepša hvala družini, še posebej mami, ki me zmeraj podpira. Za vso podporo se zahvaljujem tudi družini Toni.

Hvala vsem prijateljem, ki mi niso pustili odnehati.

Predvsem pa se zahvaljujem Janezu, brez katerega bi diploma ostala zgolj nedosegljive sanje.

PRILOGE

Priloga A

Biokemijski parametri posameznih vrst. Rezultati predstavljajo povprečne vrednosti in standardne odklone (\pm SD); n=10.

Biokemijski parametri	<i>G.officinalis</i>	<i>S. paludosus</i>	<i>D. caespitosa</i>	<i>M. caerulea</i>
Klorofil <i>a</i> (mg g ⁻¹)	5,95±0,81	2,18±0,93	4,07±0,72	9,97±0,73
Klorofil <i>a</i> (mg dm ⁻²)	2,73± 0,37	1,24± 0,52	3,38± 0,59	4,75± 0,35
Klorofil <i>b</i> (mg g ⁻¹)	3,55 ±1,10	3,25±1,70	2,68±0,97	5,83±0,62
Klorofil <i>b</i> (mg dm ⁻²)	1,63± 0,51	1,84± 0,96	2,22± 0,80	2,78± 0,30
Karotenoidi (mg g ⁻¹)	1,18±0,15	3,33±0,53	1,09±0,20	2,63±0,23
Karotenoidi (mg dm ⁻²)	0,54± 0,07	1,88± 0,30	0,91± 0,17	1,25± 0,11
Antociani (relativna enota/g)	116,95± 23,23	111,20±12,29	64,68±15,29	125,43± 18,58
Antociani (relativna enota/dm ²)	53,63± 10,65	62,96± 6,96	53,68± 12,69	59,79± 8,86
UVB-absorbirajoče snovi (relativna enota/g)	284,12± 21,47	472,22± 121,60	336,40±116,39	512,50± 80,75
UVB-absorbirajoče snovi (relativna enota/dm ²)	130,30± 9,84	267,36± 68,84	279,21± 96,60	244,28± 38,49
UVA-absorbirajoče snovi (relativna enota/g)	523,57± 33,62	627,21± 149,21	644,18± 428,21	1162,05± 202,34
UVA-absorbirajoče snovi (relativna enota/dm ²)	240,11± 15,42	355,11± 84,48	534,67± 355,42	553,89± 96,45

Priloga B

Anatomske značilnosti posameznih vrst. Rezultati predstavljajo povprečne vrednosti in standardne odklone (\pm SD); n=10.

Anatomske značilnosti	<i>G.officinalis</i>	<i>S. paludosus</i>	<i>D. caespitosa</i>	<i>M. caerulea</i>
Specifična listna površina SLA (cm^2g^{-1})	275,06 \pm 26,57	195,34 \pm 28,29	140,72 \pm 14,24	193,82 \pm 15,02
Debelina lista (μm)	281,65 \pm 25,65	270,10 \pm 41,50	454,95 \pm 69,13	121,21 \pm 7,42
Debelina zgornje kutikule (μm)	7,32 \pm 2,59	9,45 \pm 1,15	4,38 \pm 1,31	3,02 \pm 0,54
Debelina spodnje kutikule (μm)			4,90 \pm 0,83	3,17 \pm 0,57
Debelina zgornje povrhnjice (μm)	18,14 \pm 2,02	20,38 \pm 1,87	16,34 \pm 2,52	8,63 \pm 1,02
Debelina spodnje povrhnjice (μm)	20,10 \pm 1,00	19,62 \pm 3,04	13,92 \pm 0,92	8,16 \pm 1,01
Debelina stebričastega tkiva (μm)	74,23 \pm 17,31	58,45 \pm 7,75		
Debelina gobastega tkiva (μm)	162,06 \pm 19,03	161,75 \pm 37,24		
Debelina mezofila (μm)			415,40 \pm 68,08	98,64 \pm 6,23
Zgornja povrhnjica				
Gostota rež/mm ²	514,69 \pm 81,16	610,86 \pm 135,91	127,08 \pm 49,25	229,81 \pm 30,91
Dolžina rež (μm)	42,62 \pm 2,25	33,91 \pm 2,98	37,09 \pm 1,54	27,80 \pm 1,74
Spodnja povrhnjica				
Gostota rež/mm ²	562,78 \pm 204,48	148,84 \pm 42,80	325,91 \pm 68,23	83,30 \pm 21,26
Dolžina rež (μm)	41,49 \pm 1,34	32,33 \pm 3,30	36,89 \pm 3,89	28,69 \pm 1,89

Priloga C

Spearman-ov koeficient odvisnosti (r) med odbojnostjo lista in nekaterimi anatomskimi in biokemijskimi parametri vrste *G. officinalis*; * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$

Parameter	UVB	UVA	Vijolična	Modra	Zelena	Rumena	Rdeča	NIR
SLA	0,17	0,10	-0,16	0,05	-0,58	-0,56	-0,29	-0,62
Debelina lista	-0,29	-0,27	-0,07	-0,07	-0,20	-0,04	0,12	0,07
Debelina zg. kutikule	-0,56	-0,60	-0,19	-0,11	0,27	0,27	0,28	0,60
Debelina zg. povrhnjice	-0,40	-0,53	-0,35	-0,27	-0,30	-0,34	-0,22	-0,03
Debelina stebričastega tkiva	0,44	0,56	0,25	0,04	0,07	0,06	-0,25	-0,33
Debelina gobastega tkiva	-0,39	-0,38	-0,17	-0,18	-0,24	-0,08	0,06	0,06
Biokemijski parametri								
Klorofil a (mg/dm ²)	-0,01	-0,12	0,10	-0,20	-0,37	-0,37	-0,07	-0,16
Karotenoidi (mg/g)	0,07	-0,12	0,12	0,17	-0,54	-0,56	-0,31	-0,33
Antociani (relativna enota/g)	0,21	0,14	0,33	0,14	-0,27	-0,24	-0,04	-0,18

Spearman-ov koeficient odvisnosti (r) med prepustnostjo lista in nekaterimi anatomskimi in biokemijskimi parametri vrste *G. officinalis*; * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$

Parameter	UVB	UVA	Vijolična	Modra	Zelena	Rumena	Rdeča	NIR
SLA	0,33	0,25	0,40	0,38	0,33	0,27	0,32	0,40
Debelina lista	-0,24	-0,25	-0,20	-0,37	-0,49	-0,46	-0,41	-0,07
Debelina zg. kutikule	-0,63	-0,56	-0,70	-0,63	-0,42	-0,34	-0,56	-0,70

»se nadaljuje«

»nadaljevanje«

Biokemijski parameter	UVB	UVA	Vijolična	Modra	Zelena	Rumena	Rdeča	NIR
Karotenoidi (mg/g)	0,14	0,16	0,13	0,01	0,00	0,00	0,06	0,22
Antociani (relativna enota/dm ²)	0,18	0,19	0,18	0,07	-0,13	-0,10	0,06	0,29

Priloga D

Spearman-ov koeficient odvisnosti (r) med odbojnostjo lista in nekaterimi anatomskimi in biokemijskimi parametri vrste *S. paludosus*; * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$

Parameter	UVB	UVA	Vijolična	Modra	Zelena	Rumena	Rdeča	NIR
SLA	-0,36	-0,37	-0,30	-0,60	-0,54	-0,50	-0,65	-0,60
Debelina lista	-0,32	-0,33	-0,27	-0,53	-0,48	-0,44	-0,55	-0,52
Debelina zg. kutikule	-0,72	-0,72	-0,77	-0,66	-0,48	-0,37	-0,56	-0,37
Debelina zg. povrhnjice	-0,74	-0,79	-0,79	-0,60	-0,55	-0,47	-0,51	-0,42
Debelina stebričastega tkiva	0,12	0,15	0,12	0,31	0,37	0,27	0,31	0,32
Debelina gobastega tkiva	-0,36	-0,37	-0,30	-0,60	-0,54	-0,50	-0,65	-0,60
Biokemijski parametri								
Klorofil a (mg/dm ²)	-0,16	-0,08	-0,04	0,01	0,12	0,02	-0,08	-0,02
Karotenoidi (mg/g)	-0,77	-0,79	-0,71	-0,90	-0,83	-0,78	-0,93	-0,82
Antociani (relativna enota/g)	-0,60	-0,62	-0,73	-0,67	-0,61	-0,44	-0,52	-0,47
UV-A-abs (relativna enota/dm ²)	-0,48	-0,50	-0,55	-0,25	-0,13	-0,01	-0,10	-0,03
UV-B-abs (relativna enota /dm ²)	-0,43	-0,46	-0,50	-0,25	-0,03	0,12	-0,08	0,07

Spearman-ov koeficient odvisnosti (r) med prepustnostjo lista in nekaterimi anatomskimi in biokemijskimi parametri vrste *S. paludosus*; * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$

Parameter	UVB	UVA	Vijolična	Modra	Zelena	Rumena	Rdeča	NIR
SLA	-0,26	-0,21	-0,31	-0,43	-0,36	-0,32	-0,39	-0,35
Debelina lista	-0,37	-0,28	-0,42	-0,47	-0,30	-0,29	-0,38	-0,40
Debelina zg. kutikule	-0,61	-0,56	-0,61	-0,39	-0,10	-0,10	-0,28	-0,32
Biokemijski parametri								
Karotenoidi (mg/g)	-0,33	-0,30	-0,21	-0,35	-0,43	-0,42	-0,50	-0,10
Antociani (relativna enota/dm ²)	-0,44	-0,43	-0,57	-0,57	-0,35	-0,37	-0,52	-0,46

Priloga E

Spearman-ov koeficient odvisnosti (r) med odbojnostjo lista in nekaterimi anatomskimi in biokemijskimi parametri vrste *D. caespitosa*; * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$

Parameter	UVB	UVA	Vijolična	Modra	Zelena	Rumena	Rdeča	NIR
SLA	0,12	0,12	0,29	0,32	0,04	0,02	0,02	0,04
Debelina lista	-0,19	-0,19	-0,14	-0,12	-0,03	-0,01	-0,03	0,14
Debelina zg. kutikule	0,05	0,05	0,21	0,26	0,37	0,29	0,29	-0,04
Debelina zg. povrhnjice	-0,27	-0,27	-0,25	-0,23	0,19	0,27	0,26	-0,01
Debelina mezofila	-0,1	-0,1	-0,06	-0,03	-0,09	-0,07	-0,07	0,21
Biokemijski parametri								
Klorofil a (mg/dm ²)	0,49	0,49	0,43	0,37	0,27	0,31	0,41	0,52
Karotenoidi (mg/g)	-0,12	-0,12	-0,12	-0,07	0,47	0,52	0,32	-0,12
Antociani (relativna enota/g)	0,66	0,66	0,61	0,59	0,01	-0,06	0,18	0,61

Spearman-ov koeficient odvisnosti (r) med prepustnostjo lista in nekaterimi anatomskimi in biokemijskimi parametri vrste *D. caespitosa*; * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$

Parameter	UVB	UVA	Vijolična	Modra	Zelena	Rumena	Rdeča	NIR
SLA	0,15	0,04	0,37	0,36	0,26	0,26	0,44	0,09
Debelina lista	-0,72	-0,64	0,26	0,47	0,50	0,50	0,35	-0,49
Debelina zg. kutikule	0,38	0,23	-0,27	-0,29	-0,33	-0,33	-0,15	0,13

»se nadaljuje«

»nadaljevanje«

Parameter	UVB	UVA	Vijolična	Modra	Zelena	Rumena	Rdeča	NIR
Biokemijski parametri								
Karotenoidi (mg/g)	-0,73	-0,50	-0,49	-0,13	-0,08	-0,03	-0,03	-0,08
Antociani (relativna enota/dm ²)	0,55	0,52	0,42	0,01	-0,18	-0,19	-0,19	-0,15

Priloga F

Spearman-ov koeficient odvisnosti (r) med prepustnostjo lista in nekaterimi anatomskimi in biokemijskimi parametri vrste *M. caerulea*; * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$

Parameter	UVB	UVA	Vijolična	Modra	Zelena	Rumena	Rdeča	NIR
SLA	-0,10	-0,10	-0,26	-0,23	-0,51	-0,57	-0,27	-0,40
Debelina lista	0,04	0,04	0,26	0,52	0,43	0,48	0,43	-0,46
Debelina zg. kutikule	0,20	0,20	0,43	0,61	0,75*	0,86**	0,57	-0,05
Biokemijski parametri								
Karotenoidi (mg/g)	0,08	0,08	0,04	-0,09	-0,04	-0,16	-0,07	0,37
Antociani (relativna enota/dm ²)	0,33	0,33	0,12	-0,20	-0,35	-0,39	-0,08	0,75*
