

UNIVERZA V LJUBLJANI  
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA

Mihaela LEVPUŠČEK

**ODBOJNOST IN PREPUSTNOST SVETLOBNEGA  
SEVANJA PRI LISTIH NAVADNE CIKLAME**

MAGISTRSKO DELO

Magistrski študij - 2. stopnja

Ljubljana, 2013

UNIVERZA V LJUBLJANI  
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA

Mihaela LEVPUŠČEK

**ODBOJNOST IN PREPUSTNOST SVETLOBNEGA SEVANJA PRI  
LISTIH NAVADNE CIKLAME**

MAGISTRSKO DELO

Magistrski študij - 2. stopnja

**REFLECTANCE AND TRANSMITTANCE SPECTRA OF LIGHT  
RADIATION IN LEAVES OF COMMON CYCLAMEN**

M. Sc. Thesis

Master Study Programmes

Ljubljana, 2013

Magistrsko delo je zaključek magistrskega študijskega programa 2. stopnje Ekologija in biodiverziteteta na Biotehniški fakulteti v Ljubljani. Delo je potekalo na terenu na območju Rašice in v laboratoriju Katedre za ekologijo na Oddelku za biologijo Biotehniške fakultete.

Študijska komisija Oddelka za biologijo je za mentorico magistrskega dela imenovala prof. dr. Alenko Gaberščik.

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik: doc. dr. Aleš KLADNIK

Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, oddelek za biologijo

Član: prof. dr. Alenka GABERŠČIK

Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, oddelek za biologijo

Član: doc. dr. Katarina VOGEL MIKUŠ

Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, oddelek za biologijo

Datum zagovora: 3. december 2013

Magistrsko delo je rezultat lastnega dela. Podpisana se strinjam z objavo svojega magistrskega dela na spletni strani Digitalne knjižnice Biotehniške fakultete. Izjavljam, da je delo, ki sem ga oddala v elektronski obliki, identično tiskani verziji.

Mihaela Levpušček

## KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

- ŠD Du2
- DK UDK 581.5:582.689.2(043.2)=163.6
- KG ciklama/*Cyclamen purpurascens*/odbojnost/prepustnost/svetlobni spekter/listi
- AV LEVPUŠČEK, Mihaela
- SA GABERŠČIK, Alenka (mentor)
- KZ SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
- ZA Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta
- LI 2013
- IN ODBOJNOST IN PREPUSTNOST SVETLOBNEGA SEVANJA PRI LISTIH NAVADNE CIKLAME
- TD Magistrsko delo (Magistrski študij - 2. stopnja)
- OP XI, 48, [5] str., 11 pregl., 15 sl., 3 pril., 39 vir.
- IJ sl
- Jl sl/en
- AI Proučevali smo odbojnost in prepustnost svetlobnega sevanja pri listih navadne ciklame (*Cyclamen purpurascens*) v povezavi z morfološkimi, anatomskimi in biokemijskimi lastnostmi listov. Opazovali smo vpliv listnega vzorca, vpliv sezone, razlike med sončnim in senčnim rastiščem, ter vpliv prisotnosti spodnje povrhnjice. Oblike odbojnih in prepustnih spektrov so podobne, razlike, ki se pojavljajo v posameznih delih spektra pa so posledica biokemijskih in morfoloških lastnosti listov. Izsledki raziskave kažejo, da se med svetlejšimi in temnejšimi območji na listu pojavljajo razlike v vsebnostih klorofilov. Ugotovili smo tudi sezonsko spreminjanje optičnih lastnosti ter biokemijskih in morfoloških parametrov. Vsebnost UV absorbirajočih snovi, antocianov in karotenoidov se je tekom sezone zmanjševala, skladno z olistanjem krošenj. Želeli smo raziskati tudi vpliv osončenosti rastišča na optične lastnosti. Razlike so se pokazale tako pri morfoloških kot pri biokemijskih značilnostih, nekoliko manj izrazite so bile pri odbojnih in prepustnih spektrih. Raziskave so tudi pokazale, da ima prisotnost spodnje povrhnjice značilen vpliv na odbojnost in prepustnost sevanja, predvsem v zelenem in bližnje infrardečem delu spektra.

## KEY WORDS DOCUMENTATION

ND Du2  
DC UDC 581.5:582.689.2(043.2)=163.6  
CX cyclamen/*Cyclamen purpurascens*/reflectance/transmittance/light spectra/leaves  
AU LEVPUŠČEK, Mihaela  
AA GABERŠČIK, Alenka (supervisor)  
PP SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101  
PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty  
PY 2013  
TY REFLECTANCE AND TRANSMITTANCE SPECTRA OF LIGHT RADIATION  
IN LEAVES OF COMMON CYCLAMEN  
DT M. Sc. Thesis (Master Study Programmes)  
NO XI, 48, [5] p., 11 tab., 15 fig., 3 ann., 39 ref.  
LA sl  
AL sl/en  
AB The measurements of reflectance and transmittance were performed on leaves of common cyclamen (*Cyclamen purpurascens*) with regard to morphological, anatomical and biochemical properties of leaves. We studied the impact of leaf variegation, the impact of the seasonal changes, the differences between sunny and shady habitat, and the impact of the lower epidermis. In general, all of the spectra follow the same characteristics, but the differences are reflected due to the biochemical and morphological characteristics of leaves. Results of the research show that there are differences in the content of chlorophylls between the lighter and darker areas of the leaf. We have also discovered that the optical properties and biochemical and morphological parameters reflect the changes in season. The content of UV absorbing compounds, anthocyanins and carotenoids has decreased during the season, according to the unfolding leaves in canopies. We also investigated the influence of habitat type on the optical properties. Differences were present in both the morphological and biochemical characteristics, somewhat less pronounced were the reflectance and transmittance spectra. The results showed that the presence of the lower epidermis has a significant influence on the reflectivity and transmission of radiation, especially in the green and the near infra-red part of the spectrum.

## KAZALO VSEBINE

<b>KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA</b> .....	III
<b>KEY WORDS DOCUMENTATION</b> .....	IV
<b>KAZALO VSEBINE</b> .....	V
<b>KAZALO PREGLEDNIC</b> .....	VII
<b>KAZALO SLIK</b> .....	VIII
<b>KAZALO PRILOG</b> .....	X
<b>OKRAJŠAVE IN SIMBOLI</b> .....	XI
<b>1 UVOD</b> .....	1
1.1 HIPOTEZE .....	2
<b>2 PREGLED OBJAV</b> .....	3
2.1 LISTNI VZOREC .....	3
<b>2.1.1 Pomen listnega vzorca</b> .....	3
2.2 SVETLOBNO OKOLJE .....	5
<b>2.2.1 Svetlobni spekter</b> .....	5
2.3 ODZIV RASTLIN .....	6
2.4 BIOKEMIJSKE PRILAGODITVE .....	7
2.5 MORFOLOŠKE PRILAGODITVE .....	8
2.6 OPTIČNE LASTNOSTI .....	10
<b>3 MATERIALI IN METODE</b> .....	13
3.1 PREDMET RAZISKAV .....	13
3.2 METODE DELA .....	14
<b>3.2.1 Fiziološke meritve</b> .....	15
3.2.1.1 Fotokemična učinkovitost .....	15
3.2.1.2 Transpiracija .....	16
<b>3.2.2 Merjenje spektrov</b> .....	16
3.2.2.1 Merjenje odbojnih spektrov .....	17
3.2.2.2 Merjenje prepustnih spektrov .....	17
<b>3.2.3 Morfološke meritve</b> .....	17
3.2.3.1 Specifična listna površina in vsebnost vode .....	17
3.2.3.2 Zgradba lista .....	18
3.2.3.3 Listne reže in trihomi .....	18
<b>3.2.4 Biokemijske analize</b> .....	18
3.2.4.1 Klorofili in karotenoidi .....	18
3.2.4.2 Antociani .....	19
3.2.4.3 UV absorbirajoče snovi .....	20

<b>3.2.5 Statistična obdelava podatkov</b> .....	20
<b>4 REZULTATI</b> .....	22
4.1 VPLIV LISTNEGA VZORCA NA ZNAČILNOSTI LISTA .....	22
4.1.1 Biokemijske značilnosti .....	22
4.1.2 Odbojni in prepustni spektri .....	23
4.1.3 Povezanost med spektri in lastnostmi listov .....	23
4.2 VPLIV SEZONE NA ZNAČILNOSTI LISTA.....	24
4.2.1 Morfološke značilnosti .....	24
4.2.2 Biokemijske značilnosti .....	25
4.2.3 Odbojni in prepustni spektri .....	26
4.2.4 Povezanost med spektri in lastnostmi listov .....	27
4.3 PRIMERJAVA ZNAČILNOSTI LISTA GLEDE NA RASTIŠČA .....	30
4.3.1 Morfološke značilnosti .....	30
4.3.2 Biokemijske značilnosti .....	31
4.3.3 Odbojni in prepustni spektri .....	32
4.3.4 Povezanost med spektri in lastnostmi listov .....	33
4.4 VPLIV PRISOTNOSTI SPODNJE POVRHNJICE NA ZNAČILNOSTI LISTA.....	36
4.4.1 Odbojni in prepustni spektri .....	36
<b>5 RAZPRAVA</b> .....	37
5.1 VPLIV LISTNEGA VZORCA NA ZNAČILNOSTI LISTA .....	37
5.2 VPLIV SEZONE NA ZNAČILNOSTI LISTA.....	38
5.3 PRIMERJAVA ZNAČILNOSTI LISTA GLEDE NA RASTIŠČA .....	39
5.4. VPLIV PRISOTNOSTI SPODNJE POVRHNJICE NA ZNAČILNOSTI LISTA.....	40
<b>6 SKLEPI</b> .....	42
<b>7 POVZETEK</b> .....	43
<b>8 VIRI</b> .....	45
ZAHVALE	
PRILOGE	

## KAZALO PREGLEDNIC

<b>Preglednica 1:</b> Vsebnost UV absorbirajočih snovi in antocianov glede na površino vzorca [relativna enota/cm <sup>2</sup> ] (februarski vzorec, nabran na prisojnim rastišču v gozdu). Prikazane so povprečne vrednosti ± SD (n=8). Rezultati t-testa.....	22
<b>Preglednica 2:</b> Spreminjanje velikosti [μm] in števila listnih rež ter trihomov tekom sezone. Prikazane so povprečne vrednosti ± SD (n=8, n <sub>apr.</sub> =20). Rezultati testa enosmerna ANOVA, ** p ≤ 0,01.....	25
<b>Preglednica 3:</b> Spreminjanje vsebnosti biokemijskih parametrov tekom sezone glede na površino vzorca [cm <sup>2</sup> ]. Prikazane so povprečne vrednosti ± SD (n=8, n <sub>apr.</sub> =20). Rezultati testa enosmerna ANOVA, ** p ≤ 0,01.....	26
<b>Preglednica 4:</b> Spreminjanje merjenih parametrov med lokacijami (februarski vzorec). Prikazane so povprečne vrednosti ± SD (n=8). Rezultati testa enosmerna ANOVA, * p ≤ 0,05, ** p ≤ 0,01.....	30
<b>Preglednica 5:</b> Spreminjanje velikosti in števila listnih rež ter trihomov med lokacijami (februarski vzorec). Prikazane so povprečne vrednosti ± SD (n=8). Rezultati testa enosmerna ANOVA, * p ≤ 0,05.....	30
<b>Preglednica 6:</b> Spreminjanje vsebnosti biokemijskih parametrov glede na površino [cm <sup>2</sup> ] med lokacijami. Prikazane so povprečne vrednosti ± SD (n=8, n <sub>apr.</sub> =20). Rezultati testa enosmerna ANOVA, * p ≤ 0,05, ** p ≤ 0,01.....	32
<b>Preglednica 7:</b> Vrednosti dejanske (Y) in potencialne (Fv/Fm) fotokemične učinkovitosti (FU), merjeno na terenu v mesecu avgustu.....	Priloga A
<b>Preglednica 8:</b> Vsebnost snovi v listih glede na suho maso vzorca [relativna enota/g ss; mg/g ss] (februarski vzorec, nabran na prisojnim rastišču v gozdu). Prikazane so povprečne vrednosti ± SD (n=8). .....	Priloga B
<b>Preglednica 9:</b> Spreminjanje vsebnosti biokemijskih parametrov tekom sezone glede na suho maso vzorca [relativna enota/g ss; mg/g ss]. Prikazane so povprečne vrednosti ± SD (n=8, n <sub>apr.</sub> =20). .....	Priloga B
<b>Preglednica 10:</b> Spreminjanje vsebnosti biokemijskih parametrov glede na suho maso vzorca [relativna enota/g ss; mg/g ss] med lokacijami. Prikazane so povprečne vrednosti ± SD (n=8, n <sub>apr.</sub> =20). .....	Priloga B
<b>Preglednica 11:</b> Količina vpadne svetlobe [μmol m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup> ], izmerjeno na terenu v mesecu februarju na treh različnih lokacijah.....	Priloga C



## KAZALO SLIK

<b>Slika 1:</b> Navadna ciklama ( <i>Cyclamen purpurascens</i> ). Levpušček, julij 2013. ....	13
<b>Slika 2:</b> Listni vzorci nabranega materiala v mesecu aprilu. Levpušček, april 2012. ....	15
<b>Slika 3:</b> Vsebnost klorofila <i>a</i> in <i>b</i> ter karotenoidov na površino vzorca [ $\text{mg}/\text{cm}^2$ ] (februarski vzorec, nabran na prisojnem rastišču v gozdu). Prikazane so povprečne vrednosti $\pm$ SD ( $n=8$ ). Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilno razliko (rezultati t-testa, $p < 0,05$ ). ....	22
<b>Slika 4:</b> Odbojna (o) in prepustna (p) spektra na svetlejših in temnejših delih listov (februarski vzorec, nabran na prisojnem rastišču v gozdu). Prikazane so povprečne vrednosti ( $n=8$ ), izris z natančnostjo 5 nm. Osrednje območje med krivuljami predstavlja delež absorbance. ....	23
<b>Slika 5:</b> a) Specifična listna površina [ $\text{m}^2/\text{g}$ ] in b) vsebnost vode [%] v listih navadne ciklame ( <i>Cyclamen purpurascens</i> ) tekom sezone. Prikazane so povprečne vrednosti $\pm$ SD ( $n=8$ , $n_{\text{apr}}=20$ ). Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilno razliko (rezultati testa enosmerna ANOVA, $p < 0,05$ ). ....	24
<b>Slika 6:</b> a) Debelina lista in posameznih tkiv [ $\mu\text{m}$ ]. Prikazane so povprečne vrednosti ( $n=8$ , $n_{\text{apr}}=20$ ). Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilno razliko v debelini tkiv (rezultati testa enosmerna ANOVA, $p < 0,01$ ). b) Mikroskopski prerez lista. Levpušček, maj 2012. ....	24
<b>Slika 7:</b> Odbojni (o) in prepustni (p) spektri na svetlejših delih listov v sezoni. Prikazane so povprečne vrednosti ( $n=8$ , $n_{\text{apr}}=20$ ), izris z natančnostjo 5 nm. Osrednje območje med krivuljami predstavlja delež absorbance. ....	26
<b>Slika 8:</b> RDA diagram odbojnega spektra med morfološkimi in biokemijskimi parametri ter različnimi območji odbojnega spektra. Spremenljivke so označene z puščicami, številke predstavljajo različne vzorce listov. ....	28
<b>Slika 9:</b> RDA diagram prepustnega spektra med morfološkimi in biokemijskimi parametri ter različnimi območji prepustnega spektra. Spremenljivke so označene z puščicami, številke predstavljajo različne vzorce listov. ....	29
<b>Slika 10:</b> a) Velikost listnih rež [ $\mu\text{m}$ ]. Prikazane so povprečne vrednosti $\pm$ SD ( $n=8$ ). Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilno razliko (rezultati testa enosmerna ANOVA, $p < 0,05$ ). b) Prisotnost trihomov na zgornji in spodnji ploskvi lista. Levpušček, maj 2012. ....	31
<b>Slika 11:</b> Odbojni (o) in prepustni (p) spektri na svetlejših delih listov glede na vpliv rastišča (februarski vzorec). Prikazane so povprečne vrednosti ( $n=8$ ), izris z natančnostjo 5 nm. Osrednje območje med krivuljami predstavlja delež absorbance. ....	32

**Slika 12:** Diagram redundančne analize odbojnega spektra med morfološkimi in biokemijskimi parametri ter različnimi območji odbojnega spektra. Spremenljivke so označene z puščicami, številke predstavljajo različne vzorce listov. .... 34

**Slika 13:** Diagram redundančne analize prepustnega spektra med morfološkimi in biokemijskimi parametri ter različnimi območji prepustnega spektra. Spremenljivke so označene z puščicami, številke predstavljajo različne vzorce listov. .... 35

**Slika 14:** Odbojni (o) in prepustni (p) spektri na svetlejših delih listov glede na prisotnost povrhnjice (aprilski vzorec). Prikazane so povprečne vrednosti ( $n=20$ ), izris z natančnostjo 5 nm. Osrednje območje med krivuljami predstavlja delež absorbance. .... 36

**Slika 15:** Delež vpadne svetlobe [%], izmerjeno na terenu v mesecu februarju na treh različnih lokacijah.....Priloga C

## **KAZALO PRILOG**

Priloga A: Fiziološke značilnosti

Priloga B: Vsebnost snovi v listih glede na suho maso vzorca

Priloga C: Svetlobni spektri sevanja na terenu in količina vpadne svetlobe

## OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

ANOVA	analiza variance
feb., apr., jun., avg.	februar, april, junij, avgust
Ant	antociani
E <sub>470</sub> , E <sub>530</sub> , E <sub>645</sub> , E <sub>662</sub>	ekstinkcije pri danih valovnih dolžinah
EM	elektromagnetno sevanje
F <sub>v</sub> /F <sub>m</sub>	potencialna fotokemična učinkovitost PSII
IR	infrardeče sevanje
Kar	karotenoidi
Kl <i>a</i> , kl <i>b</i>	klorofili <i>a</i> , klorofili <i>b</i>
lok 1, lok 2, lok 3	lokacija 1, lokacija 2, lokacija 3
n	število listov v vzorcu
NIR	bližnje infrardeče sevanje (700 – 1400 nm)
p	stopnja pomembnosti
P	površina vzorca
PAR	fotosintezno aktivno sevanje (400 – 700 nm)
PPFD	gostota fotonskega fluksa fotosintezno aktivnega dela sevanja [ $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ]
PSII	fotosistem II
r	vrednost Pearsonovega koeficienta
RDA	redundančna analiza
SD	standardni odklon
SLA	specifična listna površina
ss	suha masa vzorca
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
V	volumen ekstrakta
Y	dejanska fotokemična učinkovitost PSII

## 1 UVOD

Svetloba je vir energije za vse rastline in te jo učinkovito izrabljajo. Rastline zaznajo spremembe v svetlobnem okolju in se nato prilagodijo na okolje, kar vključuje tudi spremembe v morfoloških in biokemijskih lastnostih lista ter fotosintezi (Oh in Kim, 2010). Svetloba, ki pade na list rastline ali na katerikoli drug predmet, se lahko odbije, absorbira ali pa preseva (Levizou in sod., 2005).

Optične lastnosti lista vplivajo na razpoložljivost fotosintezno aktivnega sevanja na celični ravni, na prodiranje svetlobe skozi krošnje in na sevalno bilanco ter upadanje jakosti svetlobe v rastlinskih sestojih (Baltzer in Thomas, 2005). Z razvojem listov se spreminjajo tekom leta (Yoshimura s sod., 2010), na kar vplivajo morfološke lastnosti listov ter koncentracije barvil in nekaterih drugih snovi.

Spektrofotometrija v vidnem delu elektromagnetnega spektra se je dolgo uporabljala za določanje fizioloških stanj višjih rastlin in optičnih lastnosti intaktnih listov. Tehnika vključuje merjenje odbojnosti in prepustnosti, preostali delež pa predstavlja absorbanca (Merzlyak in sod., 2004).

Rod ciklam je doma v Mediteranskem bazenu in sosednjih deželah, navadna ciklama (*Cyclamen purpurascens*) sega najbolj severno. V Sloveniji je edina vrsta iz rodu ciklam, ki pa je precej razširjena in raznolika, z zanimivimi listnimi slikami in omamno dišečimi škrlatnimi cvetovi. Slike listnega vzorca lahko uvrstimo v štiri glavne skupine: v prvi skupini so tiste rastline, ki imajo skoraj povsem zelene liste, v drugi skupini so rastline z rahlim vzorcem, v tretji in četrti pa ciklame s polsrebrastimi in skoraj povsem srebrastimi listi. Spodnja listna ploskev je zelena do vijolična in se nekoliko spreminja tudi z letnimi časi (Bavcon, 2009).

Namen magistrske naloge je bil ugotoviti vpliv morfoloških in biokemijskih parametrov na odbojnost in prepustnost sevanja pri listih navadne ciklame v različnih obdobjih sezone. Meritve smo opravili na različnih delih lista in poskušali določiti vpliv listnega vzorca, ki se pojavlja pri večini primerkov te vrste, vendar ne pri vseh enako. Opazovali smo tudi vpliv prisotnosti spodnje povrhnjice na odbojnost in prepustnost sevanja, ter razlike med optičnimi lastnostmi rastlin na sončnem in senčnem rastišču.

## 1.1 HIPOTEZE

Na podlagi dosedanjega vedenja na področju smo postavili naslednje hipoteze in sicer, da se bodo pokazale razlike v optičnih lastnostih in biokemijskih parametrih listov zaradi vpliva (a) sezone, (b) različne obarvanosti lista (svetlejša lise in temnejša območja na listnem vzorcu bodo odražala različne lastnosti), vpliv bo imela tudi (c) prisotnost spodnje povrhnjice in (d) sevalne razmere na rastišču (razlike med rastlinami s senčnega in sončnega rastišča).

## 2 PREGLED OBJAV

### 2.1 LISTNI VZOREC

Za fotosintezna tkiva je običajno značilna enotna obarvanost površin, nekatere vrste pa imajo liste z nepravilnim vzorcem obarvanosti. To je lahko posledica genskih značilnosti, somatskih mutacij ali virusnih okužb (Esteban in sod., 2008).

Hara (1957) v svojem članku ugotavlja, da je pisanost listov pri različnih rodovih: *Arisaema*, *Begonia*, *Clematis*, *Cyclamen*, *Ornithogalum*, *Pyrola*, *Saxifraga*, *Trifolium*, *Viola* in drugih, posledica variacij v razvoju celic stebričastega tkiva in prisotnosti zračnih prostorov. Popolnoma zeleni deli listov imajo tesno urejene celice stebričastega tkiva, medtem ko imajo svetlo zeleni deli bolj kroglaste palisadne celice z vmesnimi zračnimi prostori. Ta značilnost ne vpliva bistveno na debelino svetlo zelenih regij pri navadnem pljučniku (*Pulmonaria officinalis*), vendar vsekakor spremeni gostoto tkiva, kar lahko potencialno vpliva na prodiranje svetlobe skozi list (Esteban in sod., 2008).

Marmorirani listi se redko pojavljajo v naravi, bolj pogosti so namreč pri okrasnih rastlinah, vendar obstaja nekaj vrst, ki imajo takšne lastnosti (La Rocca in sod., 2011). Najdemo jih predvsem v podrasti gozda, skoraj izključno pri zelnatih vrstah in predvsem pri vedno zelenih, zimzelenih in pomladnih kratkoživih vrstah. Še posebej so pisani listi pogosti med vedno zelenimi zelnatimi rastlinami v podrasti gozda v zmernem in tropskem pasu (Givnish, 1990).

Za vzorčaste liste so značilna bela, rumena, rdeča ali vijolična območja na listni površini (odvisno od prisotnosti ali odsotnosti klorofilov, karotenoidov in antocianov). Ta ne-zelena območja listov imajo drugačne optične lastnosti, ki v določenih primerih lahko povečajo zaščito pred prekomernim sevanjem (Esteban s sod., 2008), na primer s povečano odbojnostjo (Holmes in Keiler, 2002). Esteban je s sodelavci (2008) v raziskavi sicer ovrgel to hipotezo, saj naj bi bile celice mezofila na ne-zelenih delih pri navadnem pljučniku in pasjem zobu (*Erytronium dens-canis*) izpostavljene večjemu sevanju, kar lahko povzroči spremembe v mezofilu (Gaberščik s sod., 2001).

#### 2.1.1 Pomen listnega vzorca

Ekološki pomen takšnega pisanega vzorca je torej lahko zaščita ne-zelenih delov lista ob pojavu sončnih lis ali med močnejšim sončnim sevanjem, in bolj učinkovitih zelenih delov lista v senčnih razmerah (Esteban in sod., 2008). Popolnoma zeleni listi potrebujejo večjo jakost svetlobe v primerjavi s svetlejšimi pegami, svetlo zelene pege pa imajo relativno večjo

stopnjo fotosinteze glede na enoto klorofila (La Rocca in sod., 2011). Barvni vzorci vegetativnih delov rastline, katerim barvo dajejo antociani, naj bi bili za zaščito, predvsem pred abiotskimi dejavniki, kot so UV sevanje, nizke temperature, pomanjkanje vode ali toksičnost kisika, ter pred biotskimi dejavniki – glivičnimi napadi in herbivorijo (Chalker-Scott, 1999; Lev-Yadun in sod., 2002). Pri tropskih rastlinah naj bi listni vzorec zagotavljal čim boljši izkoristek minimalnega deleža svetlobe, ki uspe prodreti do tal (Bavcon, 2009).

Evolucijski pomen barvnega vzorca pri rastlinah so večinoma proučevali v povezavi s privabljanjem oprasovalcev cvetov in raznašalcev plodov (Lev-Yadun in sod., 2002). Dokaj široko pojavljanje pisanosti listov pri zelnatih rastlinah v podrasti evropskih gozdov (poleg navadne ciklame še laški kačnik (*Arum italicum*), navadni pljučnik, pasji zob, navadni jetrnik (*Hepatica nobilis*) in nekatere orhideje (*Orchidaceae*)) nakazuje, da naj bi pisanost listov imela določene ekološke prednosti. V nekaterih primerih (navadni pljučnik, pasji zob) se vzorec pisanosti spreminja med sezonami (La Rocca in sod., 2011), pri navadni ciklami ostaja bolj ali manj stalen (Bavcon, 2009). Listna pisanost naj bi bila za gozdne rastline koristna, da se izognejo herbivoriji in fitofagim insektom z mimikrijo ali drugimi domiselnimi načini obrambe (La Rocca in sod., 2011). Na primer, če je list na spodnji strani drugače obarvan kot na zgornji, zeleni strani, bo zelena žuželka, ki ima varovalno barvo na zgornji strani lista, izstopala na spodnji, ne-zeleni strani lista. Rastline so sposobne z mimikrijo prevarati živali, da se obnašajo v skladu z njihovimi interesi, kot na primer orhideje, ki izrabljajo čebelje samčke, da se poskušajo pariti s cvetovi in jih pri tem oprasijo (Lev-Yadun, 2009). Lev-Yadun in sod. (2002) razlagajo, da utegne biti barvitost vegetativnih organov prilagoditev, ki je nastala zaradi selektivne vloge živali, ki opazijo barvni vzorec in se nanj odzovejo. Gomolji navadne ciklame so namreč strupeni, vsebujejo strup ciklamin, ki po delovanju nekoliko spominja na delovanje strupa kurare. Za svinje ciklamin sicer ni strupen, druge živali pa so nanj občutljive (Petauer, 1993). Prav tako je mogoče, da so nekateri listni vzorci brez pomena in so nevtralnega značaja, brez vpliva na vitalnost rastline (Lev-Yadun in sod., 2002).

Smith (1986) je opredelil več pomenov listnega vzorca. Pisanost listov naj bi bila koristna zaradi posnemanja škode, ki jo povzročajo listni zavrtači. Listni vzorec naj bi odvrčal samice listnih zavrtačev od izleganja jajčec na liste, saj marmoriran list izgleda, kot da je že napaden s strani ličink listnih zavrtačev, kar ugotavlja tudi Konoplyova s sodelavci (2008). Listni vzorec naj ne bi odvrčal samo listnih škodljivcev, ampak tudi ostale herbivore, saj naj bi bil moten oris listov in herbivori ne bi prepoznali lista kot celote. Kot že prej navedeno, naj bi listni vzorec z aposematično obarvanostjo opozarjal na kemično, mehanično ali biološko obrambo (Lev-Yadun in sod., 2002). Poleg ekoloških funkcij je Smith (1986) podal tudi nekaj biokemijskih funkcij in sicer, naj bi listni vzorec omogočal zmanjševanje temperature lista in transpiracije v sončnih, vročih ali suhih mikroklimatih ter redukcijo sprejema svetlobe z zakrivanjem ali odsotnostjo klorofila na svetlejših delih lista.



Večina kopenskih rastlin, ki imajo ne-zelene vegetativne organe, ima zaradi takšne obarvanosti koristi in stroške. Stroški rastline, da proizvede ne-zelene organe imajo več vidikov. Potrebno je sintetizirati dodatne pigmente, ne-zelena obarvanost lahko vodi k zmanjšani fotosintezi, opaznost pa pritegne rastlinojede. Rastlina z bolj variabilno obarvanostjo pa se v določenih razmerah lahko bolj učinkovito »skrije« kot enobarvne rastline. Na splošno morajo biti koristi obarvanosti večje od stroškov, da se lahko rastlina razvija in razmnožuje (Lev-Yadun, 2009).

## 2.2 SVETLOBNO OKOLJE

Svetlobno okolje ni nikoli povsem stabilno, gostota pretoka fotonov se spreminja tekom dneva zaradi sprememb vpadnega kota sončne svetlobe, sprememb postavitve listov in premikanja listov, oblačnosti in zaradi heterogene postavitve drevesnih krošenj (Lee s sod., 1979). Svetloba vstopa v gozdni sestoj neposredno skozi plasti drevesnih krošenj in z gozdnih robov, ob prehajanju skozi sestoj se lahko od površine listov in tal odbija ter razprši, lahko pa preseva skozi listno ploskev (Larcher, 2003). Vse to povzroča svetlobne lise, ki se razlikujejo v kakovosti, intenziteti in trajanju (Tome, 2006). Pod takšnimi pogoji se morajo rastline prilagoditi in regulirati izkoriščanje sončne svetlobe, da se izognejo poškodbam, ki se lahko zgodijo kadarkoli, ko absorbirana svetloba preseže zmoglosti fotosintezne porabe. Odvečna energija mora biti sproščena, da se rastlina izogne poškodbam fotosinteznega aparata (Esteban in sod., 2008).

### 2.2.1 Svetlobni spekter

Zemljino biosfero doseže sevanje valovnih dolžin med 280 in  $10^5$  nm. Spektralno območje med 100 in 400 nm predstavlja ultravijolično sevanje (Trošt Sedej, 2005). UV spekter delimo na UV-A območje (320-400 nm), UV-B območje (280-320 nm) in UV-C območje (100-280 nm). Celotno UV-C in precejšen del UV-B sevanja zadrži ozonska plast, UV-A sevanje in del UV-B sevanja pa prodreta do Zemljinega površja. UV-A sevanje je prav tako nevarno za organizme kot UV-B sevanje, obe imata precej škodljive učinke (Yoshimura s sod., 2010). UV sevanje predstavlja približno 10 % celotne radiacije, ki jo odda Sonce (Tome, 2006).

Fotosintezno aktivni spekter sevanja (PAR) se razteza med 400 in 700 nm, to je spekter, ki ga rastline uporabljajo za fotosintezo in se približno ujema s spektrom, ki ga zazna človeško oko, zato se imenuje tudi vidna svetloba (Trošt Sedej, 2005). Je del spektra elektromagnetnega (EM) sevanja z valovno dolžino od okoli 380 nm (vijolična barva) do okoli 750 nm (rdeča barva), vmes je preostali del spektra, ki zajema barve mavrice: vijolična, modra, zelena,

rumena, oranžna, rdeča. Vidna svetloba predstavlja okoli 50 % celotne sončne radiacije (Tome, 2006).

Infrardeče (IR) sevanje obsega največji del spektra. Med 700 in 800 nm je daljno rdeča svetloba, nad 800 nm pa infrardeča svetloba (Trošt Sedej, 2005). Najpomembnejši vir toplote na Zemlji je kratkovalovno IR sevanje (do 4000 nm valovne dolžine), velik pomen pa ima tudi dolgovalovno sevanje (nad 4000 nm), ki s toploto oskrbuje območja, ki ga sicer nikoli ne dosežejo sončni žarki. IR svetloba, do približno 4000 nm valovne dolžine, predstavlja okoli 40 % celotne radiacije, ki jo odda Sonce (Tome, 2006).

### 2.3 ODZIV RASTLIN

Rastline imajo različne zaščitne strategije, da se zaščitijo pred premočnim sevanjem, ki med drugim vključujejo izogibanje zajema svetlobe, regulacijo učinkovitosti pretvorbe energije svetlobe in aktivacijo mehanizmov antocianov. Izogibanje prekomerni svetlobi temelji na strukturnih in morfoloških spremembah, kar predstavlja spremembe v orientaciji listov ali kopičenje odsevnih struktur, kot so dlačice (trihomi), voski in antociani (Esteban in sod. 2008).

Eden od mehanizmov za zaščito pred UV-B sevanjem je odbojnost. Odboj svetlobe z zgornje povrhnjice lista naj bi bila prva obramba pred UV sevanjem, vendar se njena pomembnost razlikuje med vrstami. Odbije se približno 10 % UV sevanja, lahko tudi več (Filella in Penuelas, 1999), nekatere vrste odbijejo celo do 70 % UV sevanja (Holmes in Keiler, 2002). Baltzer in Thomas (2005) opisujeta povečano odbojnost kot odziv rastlin na akutni stres, z vrhovi v zelenem (okoli 550 nm) in rdečem delu vidnega spektra (okoli 700 nm). Najučinkovitejši mehanizem za zaščito pred UV-B sevanjem pa je epidermalna absorpcija. Vrši se na račun UV absorbirajočih snovi, predvsem flavonoidov, ki lahko absorbirajo okoli 95 % UV-B sevanja, ki pade na list rastline (Yoshimura s sod. 2010).

V odzivu na spremembe pri razpoložljivosti svetlobe razvijejo rastline sončne oziroma senčne liste. Senčni listi imajo v primerjavi s sončnimi manjšo fotosintezno kapaciteto, saj imajo večjo listno ploskev in tanjše liste (Qi in sod., 2003; Oh in Kim, 2010). Sončni listi so manj občutljivi na UV-B sevanje kot senčni listi, poleg debelejših listov imajo tudi večjo vsebnost UV-B absorbirajočih snovi (Filella in Penuelas, 1999)

Odporne in tolerantne rastline se prilagodijo na povečano UV-B sevanje s popravljanjem poškodb ali z zmanjševanjem UV-B sevanja, ki doseže mezofil. To vključuje debeljenje kutikule in celičnih sten, vključitev fenolov v celično steno z ligninom ali povečanje

dlakavosti (Chalker-Scott, 1999). Prav tako se rastline na spremembe v intenzivnosti svetlobe prilagajajo s spreminjanjem celičnega razvoja in kopičenjem plastidov tako, da je absorpcija svetlobe ugodna pri omejenem sevanju, kakor tudi pri izkoriščanju polne dnevne svetlobe (Oh in Kim, 2010).

V raziskavi, ki jo je izvedla Konoplyova s sodelavci (2008) se stopnja neto fotosinteze (izražena na enoto listne površine) ne razlikuje med svetlejšimi in temnejšimi lisami pri dveh vrstah ciklame (*Cyclamen persicum* in *C. hederifolium*). Večja cena izgradnje je bila razvidna pri temnejših območjih, kar se je odražalo v značilno večji specifični listni teži, brez kakršnekoli fotosintezne koristi. Rezultati neto fotosinteze so bili združljivi z optičnimi lastnostmi lista in količinami barvil. Na primerljivih pisanih listih so temne lise dražje za izgradnjo in verjetno manj fotosintezno aktivne. Baltzer in Thomas (2005) navajata, da se z naraščanjem gostote klorofila zmanjšuje učinkovitost izkoristka svetlobe na posamezno molekulo klorofila.

## 2.4 BIOKEMIJSKE PRILAGODITVE

UV absorbirajoče snovi, ki se nahajajo v celicah povrhnjice, predvsem flavonoidi in antociani, zmanjšujejo prepustnost ter povečujejo absorbanco zgornje povrhnjice za UV-B sevanje in s tem selektivno ščitijo notranja tkiva, brez oviranja fotosinteze (Filella in Penuelas, 1999; Qi in sod., 2003).

Antociani so vodotopni pigmenti, proizvedeni iz flavonoidov po poti šikimske kisline, najdemo jih v vseh rastlinskih tkivih. Pogosto se pojavijo prehodno v specifičnih razvojnih fazah in so lahko inducirani zaradi različnih okoljskih dejavnikov, med drugim zaradi UV-B sevanja, nizkih temperatur in vodnega stresa. Poznejša sinteza in lokalizacija antocianov v korenini, stebli in zlasti v listih, omogoči rastlini razvoj odpornosti na številne okoljske stresne dejavnike (Chalker-Scott, 1999), predstavljajo pa tudi zaščito pred rastlinojedi in glivami (Lev-Yadun in sod., 2002).

Pri sončnih rastlinah največkrat najdemo antociane takoj pod zgornjo povrhnjico, senčne rastline pa jih nalagajo v spodnji povrhnjici, najverjetneje na račun dodatnega izkoristka svetlobe (Lee s sod., 1979), vendar Hughes s sod. (2008) navaja, da antociani v spodnji povrhnjici pri begoniji (*Begonia heracleifolia*) v rdečem delu spektra ne povečajo odboja ali sipanja prepustne svetlobe nazaj v mezofil. Poleg drugih nalog antociani preprečujejo fotoinhibicijo in poškodbe zaradi svetlobe z absorbiranjem odvečne svetlobne energije, predvsem visoko energijskih modrih valovnih dolžin, ki bi jo sicer prestregli pigmenti v

kloroplastih (Merzlyak in sod., 2008), to pa bi lahko privedlo do poškodb protoklorofila v razvijajočih se listih (Chalker-Scott, 1999).

Biosintezo UV-B absorbirajočih snovi in karotenoidov, ki predstavljajo zaščito pred sevanjem, inducira UV-B sevanje (Schultze s sod., 2005; Filella in Penuelas, 1999). Najpomembnejše UV absorbirajoče snovi so flavonoidi, saj lahko absorbirajo okoli 95 % UV sevanja, ki pade na list (Yoshimura s sod. 2010).

Karotenoidi predstavljajo neposredno zaščito fotosistema pred prekomernim vidnim in UV-B sevanjem. UV-B sevanje je potencialno destruktivni dejavnik in tako karotenoidi kot flavonoidi delujejo kot antioksidanti, kar še poveča njihovo vlogo pri zaščiti rastlin pred škodljivimi okoljskimi učinki (Filella in Penuelas, 1999). Funkcija karotenidov je namreč zbiranje svetlobe, odvajanje odvečne svetlobe iz fotosistema, stabilizacija pigmentno-proteinskih kompleksov in membran ter odstranjevanje škodljivih molekul, ki nastajajo kot posledica delovanja stresorjev na rastlino (Šircelj, 2008). Povišane koncentracije karotenoidov so lahko tudi posledica vpliva temperature. S padcem temperature se namreč zmanjša učinkovitost fotosintezne izrabe fotonov, zato se poveča vsebnost karotenoidov (Filella in Penuelas, 1999). Prav tako kot antociani, pa tudi karotenoidi preprečujejo svetlobne poškodbe klorofilov z absorbiranjem visoko energijskih modrih valovnih dolžin (Merzlyak in sod., 2008).

Klorofili so najpomembnejše rastlinsko barvilo, ki omogoča fotosintezo. Nahajajo se v nadzemnih delih rastlin, največ jih je v listih, predstavljajo lahko do 1 % suhe teže lista (Petauer, 1993). Koncentracija klorofilov vpliva na spektralne vzorce optičnih lastnosti lista (Baltzer in Thomas, 2005), predvsem z močno absorpcijo v rdečem in nekoliko manj v modrem delu spektra (Liew s sod., 2008). Poznamo več vrst klorofilov, najbolj pogosta sta klorofila *a* in *b* (Yoshimura s sod, 2010), v rastlinah se nahajata v različnem razmerju.

## 2.5 MORFOLOŠKE PRILAGODITVE

Morfološki dejavniki so (poleg biokemijskih) pomembni pri določevanju učinkovitosti zaščite pred UV sevanjem (Filella in Penuelas, 1999). Avtorja navajata, da absorpcija UV-B radiacije in s tem povezane morfološke značilnosti (specifična listna teža, debelina lista, debelina kutikule in gostota trihomov) predstavljajo največje razlike med proučevanimi rastlinami na različnih nadmorskih višinah in kažejo na to, da so prevladujoči mehanizmi funkcionalnih prilagoditev na povečano UV sevanje. Prav tako so bile razlike v stopnjah obsevanosti UV-B pri sončnih in senčnih listih. Povečane vsebnosti UV-B absorbirajočih snovi in odebelitve

listov delujejo kot zaščita proti povečanemu UV-B sevanju in so običajen odziv večine rastlin na povečano UV-B sevanje.

Ključne značilnosti pri interakciji lista s svetlobo so prisotnost medceličnih prostorov, napoljenih z zrakom in oblika posameznih celic, od kroglastih celic stebričastega tkiva do konveksnih celic povrhnjice ter kutikularnih voskov na površini. Konveksnost ali konkavnost celic povrhnjice določa sposobnost lista za usmerjanje svetlobe v notranjost lista. Gladka povrhnjica ima slabo sposobnost usmerjanja svetlobe, medtem ko konveksne celice bolje usmerjajo svetlobo in tako povečajo možnost, da jo nižje ležeči klorofili izkoristijo (Chandrasekharan, 2005). Konoplyova s sodelavci (2008) v raziskavi navaja, da so celice povrhnjice na svetlejših območjih bolj kroglaste, kot enake celice na okoliških temnejših območjih. Tudi debelina povrhnjice in število slojev mezofilnih celic sta na svetlejših območjih enaka kot na bližnjih temnejših območjih. Stebričaste celice na svetlejših območjih so rahlo večje in bolj ohlapno organizirane in dovoljujejo nekoliko večji delež medceličnih zračnih prostorčkov. Oblika celic stebričastega tkiva lahko spreminja prodiranje svetlobe skozi list, spremembe v obliki celic gobastega tkiva vplivajo na dolžino optične poti, poleg tega se vpliv anatomije lista odraža na razporejanju kloroplastov. Vse to pa lahko vpliva na optične lastnosti listov (Baltzer in Thomas, 2005).

Listna povrhnjica večine višjih rastlin je razvila epikutikularni sloj voskov, ki do neke mere skupaj z drugimi površinskimi strukturami (npr. trihomi) zagotavlja zunanjo obrambo pred neželenimi okoljskimi razmerami ter pred napadi škodljivcev in patogenov. Ti voski imajo veliko strukturno raznolikost in so temeljnega pomena za rastline zaradi njihovih interakcij z okoljem. Epikutikularni sloj voskov in laskov pri nekaterih vrstah vsebuje UV-B absorbirajoče komponente (Holmes in Keiler, 2002). Debelejši kot je kutikularni sloj voskov, večja je odbojnost (Baltzer in Thomas, 2005), na odboj pa vpliva tudi prisotnost oziroma odsotnost absorptivnih struktur (Chandrasekharan, 2005).

Listne dlačice naj bi (poleg ostalih funkcij) ščitile nižje ležeča tkiva pred UV-B sevanjem, bodisi z odbojem ali z absorbiranjem svetlobe, saj v primeru da vsebujejo absorpcijske komponente lahko povečajo absorpcijo UV-B sevanja. Gostota trihomov je povezana z dostopnostjo vode in količino sevanja (Filella in Penuelas, 1999). Lev-Yadun (2009) predlaga, da je potrebno raziskati možnost, ali trihomi, poleg tega da mehansko otežujejo dostop žuželkam, v UV delu spektra slednje tudi odvrčajo, saj večina žuželk vidi v UV delu spektra.

## 2.6 OPTIČNE LASTNOSTI

Optične lastnosti lista so lastnosti, ki vplivajo na dostopnost svetlobe, potrebne za fotosintezo. To se odraža na celični ravni z razporejanjem kloroplastov ter zaradi prerazporejanja listov pri prodiranju svetlobe skozi krošnje in slabljenju svetlobe v vegetacijskih ekosistemih (Baltzer in Thomas, 2005). Skupaj z listnim razvojem se spreminjajo tekom leta (Yoshimura s sod., 2010). Koncentracije pigmentov, predvsem klorofilov in delno tudi karotenoidov, so dobri pokazatelji vzorcev sevalne bilance. Spektralni vzorci odbojnosti in absorbance, ter posledično prepustnosti, so primarno določeni z vsebnostjo klorofila, čeprav ima velik vpliv tudi vsebnost karotenoidov (Baltzer in Thomas, 2005).

O odbojnosti govorimo, ko se svetloba, ki pod določenim vpadnim kotom pade na neko površino, na primer list rastline, od te površine odbije in razprši (Chandrasekharan, 2005). Odvisna je od lastnosti površine, notranje strukture lista in biokemijske sestave (Liew in sod., 2008). Odbojnost je pojav, povezan s sipanjem svetlobe (Chandrasekharan, 2005). Rastlinska tkiva so dobri razpršilci svetlobe po celotnem spektru. Tkiva imajo nepravilno površino in medcelične prostore napolnjene z zrakom (lomni količnik 1,0), medtem ko so celice napolnjene s citoplazmo in obdane s celuloznimi celičnimi stenami (lomni količnik od 1,33 do 1,5), razlike v lomnih količnikih pa povzročajo sipanje svetlobe (Wooley, 1971). Prepustnost je pojav prodiranja svetlobe skozi določeno snov. Pri prodiranju skozi list je odvisna od strukture in debeline stebričastega in gobastega tkiva, medceličnih zračnih prostorčkov in sipanja svetlobe (Liew in sod., 2008). Absorbanca je pojav, ko določena snov absorbira svetlobo. To je tisti delež svetlobe, ki se niti ne odbije, niti ne preseva (Merzlyak, 2008).

Absorbanca in odbojnost omogočata rastlinam zaščito pred škodljivimi učinki UV-B sevanja, še preden to doseže občutljive komponente v notranjosti lista (Holmes in Keiler, 2002). Epidermalna absorpcija UV-B sevanja je glavni zaščitni mehanizem pred UV-B sevanjem, saj zgornja povrhnjica vsebuje zaščitne pigmente, predvsem flavonoide, ki lahko absorbirajo okoli 95 % UV-B sevanja, medtem ko absorbirajo minimalne količine fotosinteznih valovnih dolžin (Filella in Penuelas, 1999; Yoshimura s sod. 2010). UV sevanje, ki ga absorbirajo listni pigmenti, se sprosti v obliki fluorescence ali toplote (Trošt Sedej, 2005). Manj pomembna je odbojnost UV-B sevanja z lista, verjetno zato, ker je večina proučevanih rastlin odbila manj kot 10 % UV sevanja (Filella in Penuelas, 1999; Qi in sod., 2003), čeprav nekatere rastlinske vrste lahko odbijejo tudi do 70 % UV sevanja (Holmes in Keiler, 2002). Vrednosti prepustnosti v UV območju so zanemarljive (Qi in sod., 2003).

Polno razviti in zdravi listi imajo relativno nizko odbojnost v UV (280-400 nm) in vidnem območju (400-700 nm), z vrhom v zelenem delu spektra (okoli 550 nm) ter relativno visoko odbojnost v bližnjem IR območju (700-1400 nm) (Liew s sod., 2008; Yoshimura in sod.,

2010). Manjšo odbojnost v UV in vidnem delu spektra je pri večini listov mogoče pripisati listnim barvilom (flavonoidi, antociani, klorofili, karotenoidi), ki absorbirajo vidno svetlobo. Barvila, ekstrahirana iz listov, kažejo majhno absorpcijo v IR delu spektra in močno absorpcijo v UV in vidnem delu spektra. Pri nizkih valovnih dolžinah ima namreč list zelo majhno odbojnost in skoraj nič prepustnosti (Wooley, 1971; Qi in sod., 2003). Večja vsebnost klorofila pomeni večjo absorpcijo in manjšo odbojnost listnega tkiva v vidnem delu spektra, zato je to dober pokazatelj fiziološkega stanja rastline. Visoka odbojnost v IR delu spektra pa se pojavlja predvsem na račun medceličnih prostorčkov napolnjenih z zrakom, ki imajo drugačne lomne količnike kot okoliške celice in drugače odbijajo svetlobo (Liew s sod., 2008).

Jakost odbojnosti na specifičnih spektralnih pasovih lahko poda informacije o biokemijski zgradbi lista. Metoda, ki temelji na odbojnosti, je bila razvita za nedestruktivno določanje vsebnosti klorofila, razmerja med klorofili in karotenoidi in vsebnosti vode (Levizou in sod., 2005). Odbojnost suhega lista je običajno pri vseh valovnih dolžinah višja kot odbojnost svežega lista in značilna IR krivulja se malce razlikuje od te pri svežih listih, torej najverjetneje splošno krivuljo pri svežem listu v IR določa voda, ki se zadržuje v listu. Odbojnost v IR delu spektra pri suhem listu v veliki meri izhaja iz razpršenih odbojev celuloze, medtem ko je krivulja odbojnosti svežega lista odvisna predvsem od kombinacije razpršenih odbojev celuloze v povezavi z absorpcijskimi pasovi vode (Wooley, 1971).

Na odbojnost vpliva tudi gostota trihomov, ta pa kaže veliko genotipsko plastičnost (Levizou in sod., 2005). Statistično značilna razlika odbojnosti dlakavih listov v UV delu spektra, v primerjavi z manj dlakavimi, je lahko rezultat UV absorbirajočih značilnosti dlačic ali njihove povečane zmožnosti sipanja svetlobe (Holmes in Keiler, 2002).

Trihomi so struktura, ki bistveno spremeni površino lista in ima posledično velik vpliv na listno odbojnost. Ne samo medvrstne, ampak tudi znotraj vrstne razlike v gostoti trihomov so znane med rastlinami rastočimi vzdolž okoljskih gradientov ali med razvojem lista (Klančnik in sod., 2012). UV-B sevanje poveča gostoto trihomov in lahko spremeni njihovo morfologijo (Levizou in sod., 2005), prav tako lahko vzpodbudi tvorbo voskov in povzroča biokemijske spremembe v njihovi strukturi (Holmes in Keiler, 2002). Pri rastlinah brez trihomov in pri tistih z manjšo gostoto velja, da je odboj UV-B sevanja precej nizek (< 5 %). Rastline z voski in bolj poraščenimi listi, pa lahko odbijejo precej več UV-B sevanja. Voski imajo precej široko odbojnost preko celotnega spektra, pri trihomih pa je odboj povečan predvsem v vidnem delu spektra in je bolj variabilen, kar nakazuje prisotnost UV-B absorbirajočih snovi. Ob mehanični odstranitvi voskov in dlačic se delež prepustnosti UV-B svetlobe poveča (Holmes in Keiler, 2002).

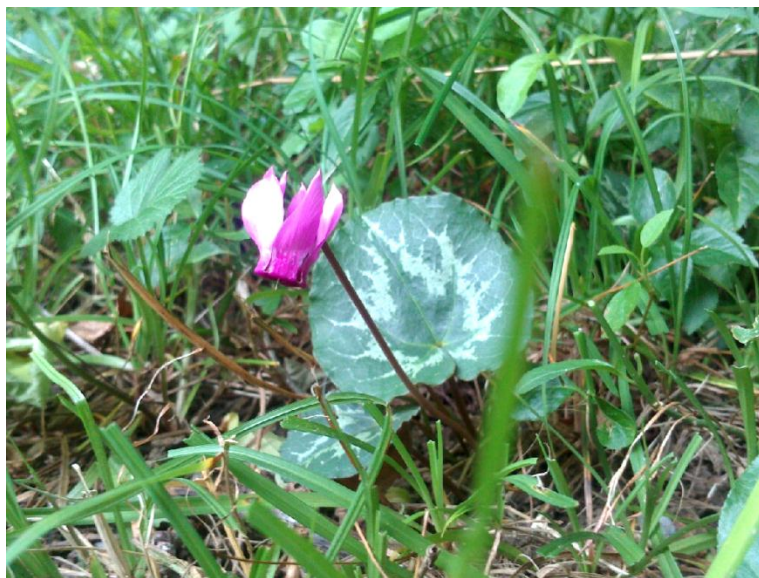
Študija, narejena na ciklamah *C. persicum* in *C. hederifolium* (Konoplyova in sod., 2008), je pokazala, da imajo listi nekaterih rastlin na zgornji strani svetlejše in temnejše lise z višjo in nižjo odbojnostjo. Kot je pričakovati glede na videz in na nanašajoče anatomske lastnosti, je odbojnost na svetlo zelenih delih precej večja kot na temnozelenih. Rezultati so kompatibilni z notranjo strukturo stebričastega tkiva na dotičnih mestih, ki imajo bolj ohlapno strukturo s pogostimi medceličnimi zračnimi prostorčki in potemtakem bolj izpostavljeno površino celic, ki je na voljo za odboj svetlobe pod svetlo zelenimi lisami. Sočasno so večje celice neizogibno tudi bolj transparentne, kar dovoljuje prodirajoči svetlobi, da je odbita od nižje ležečih slojev celic.



### 3 MATERIALI IN METODE

#### 3.1 PREDMET RAZISKAV

Rod ciklam (*Cyclamen* sp.) so včasih uvrščali v družino jegličevk (Primulaceae), v zadnjih letih pa v družino mirsinovk (Myrsinaceae) (Jalali s sod., 2012). Število vrst znotraj rodu ni popolnoma jasno določeno, različni avtorji navajajo različno število vrst, bilo naj bi jih okoli 22. Izvor imena *Cyclamen* je zelo star, ime je poznano že od Teofrasta naprej. *Kyklos* v grščini pomeni krog, kar bi se lahko nanašalo na okrogel gomolj, kroglasto listno ploskev ali razvijajoče se plodne glavice, zavite v obliki spirale (Bavcon, 2009). Ciklame so precej pogosti geofiti, gomolj jim omogoča preživetje daljših obdobj v mirujočem stanju, ko nadzemni deli rastlin odmrejo (Martinčič s sod., 2007). Rod ciklam je razširjen v zmernem pasu na širšem območju Mediterana, manjka le v Španiji, Maroku in Egiptu. Najdemo ga na mediteranskih otokih in v severni Afriki, preko Male Azije sega vse do Irana, eno izolirano lokacijo ima celo v severni Somaliji (Bavcon, 2009).



Slika 1: Navadna ciklama (*Cyclamen purpurascens*). Levpušček, julij 2013.

Navadna ciklama (*C. purpurascens*) je zelnata trajnica z gomoljasto koreniko. Ima pritlične, bolj ali manj zimzelene liste, ki so lahko srčasti ali ledvičasti, z nazobčanim robom, spodnja povrhnjica je navadno rdečkasto obarvana. Steblo je enocvetno, visoko 5-15 cm. Kimasti cvetovi z nazaj zavihanimi venčnimi listi so škrlatne barve. Cvetoče primerke najdemo od junija do septembra (Martinčič in sod., 2007). Glede na ostale vrste iz rodu *Cyclamen* sega njeno območje razširjenosti najbolj severno. Raste vse od vzhodne Francije preko Švice, severne Italije do Avstrije, Slovenije, Hrvaške, Srbije, Makedonije in Bolgarije, uspeva na Poljskem, Češkem in Slovaškem, najdemo jo v gorovjih Romunije in zahodne Rusije. Gre za zelo raznoliko vrsto, variacije se pojavljajo v velikosti listov, cvetov in obliki listnega vzorca.

Posledica tega je, da različni raziskovalci znotraj vrste *C. purpurascens* opišejo nove vrste ali pa vsaj razlikujejo podvrste ali varietete (Bavcon, 2009).

V Sloveniji je navadna ciklama zelo razširjena vrsta, pojavlja se od nižin pa vse do subalpinskega pasu (0-2000 m). Največkrat jo najdemo v listnatih in mešanih toploljubnih gozdovih, na gozdnih robovih in višje ležečih senožetih. Prav tako se pojavlja kot stabilizator terena na meliščih. Glede na to, da so v Sloveniji štiri glavna fitogeografska območja in dve prehodni, da sta podnebje in relief zelo raznolika, ter da prihaja do velikega mešanja različnih vplivov, je Bavcon (2009) predvideval, da bo našel številne različice, ki bodo znotraj vrstno raznolikost samo še potrdile. Slovenija glede na celotno območje razširjenosti leži dokaj v centru razširjenosti vrste, kar v osnovi daje vrsti še večjo možnost za raznolikost, ker naj bi bila tukaj v optimalnih razmerah.

Čeprav je navadna ciklama v Sloveniji množično prisotna, je že od leta 1985 uvrščena na seznam CITES (Konvencija o mednarodni trgovini z ogroženimi prosto živečimi živalskimi in rastlinskimi vrstami) na dodatek II (Bavcon, 2009), spada v skupino, pri kateri je dovoljeno nabiranje samo nadzemnih delov rastlin, z izjemo semen oziroma plodov (Uredba o zavarovanih prosto živečih rastlinskih vrstah, 2009).

### 3.2 METODE DELA

Raziskovalno delo je potekalo na terenu in v laboratoriju, od februarja do avgusta 2012. Območje raziskav je obsegalo tri lokacije v bližini Rašice, in sicer rastišče na poseki (lokacija 1), rastišče v gozdu na prisojnim pobočju (lokacija 2) ter rastišče v gozdu na nekoliko bolj osojnim pobočju Rašice (lokacija 3). Vzorci so bili nabrani v različnih časovnih obdobjih v sezoni, in sicer v februarju pred olistanjem gozda, v aprilu takoj po olistanju gozda ter v juniju, ko je bil gozd že nekaj časa olistan. Februarja smo v naravnem okolju izmerili svetlobne spektre in količino vpadne svetlobe (Priloga C). V mesecu avgustu smo izmerili še vrednosti dejanske in potencialne fotokemične učinkovitosti ter transpiracijo (Priloga A). Vsakič smo nabrali liste za laboratorijske raziskave. Februarja smo nabirali na vseh treh rastiščih, v ostalih mesecih pa so bili listi nabrani na prisojnim rastišču v gozdu. Nabrane liste smo shranili v zatesnjene plastične vrečke in prenašali v hladilni skrinji.

Vsak nabrani vzorec je zajemal 8 listov (aprilski 20, Slika 2), na vsakem listu sta bili dve paralelki, ena na svetlejšem delu lista in druga na temnejšem delu lista. Laboratorijsko delo je obsegalo merjenje spektrov, biokemijske analize ter morfološke in anatomske analize. Delo je bilo opravljeno na svežih listih, v kolikor to ni bilo mogoče (pri biokemijskih analizah), pa smo iz vitalnih listov pripravili ustrezne vzorce – krožce s premerom 6 mm – in jih še sveže

zamrznili. Za morfološke in anatomske analize so bili iz svežih listov pripravljene poltrajni preparati. Vse meritve in analize so bile opravljene na istih listih, kar zagotavlja sledljivost in omogoča navezovanje rezultatov.



Slika 2: Listni vzorci nabranega materiala v mesecu aprilu. Levpušček, april 2012.

### 3.2.1 Fiziološke meritve

Fiziološke meritve so bile opravljene na terenu v mesecu avgustu. Vreme je bilo sončno, jakost fotosintezno aktivnega spektra sevanja (PPFD) pa je bila okoli  $1800 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . Merili smo fotokemično učinkovitost in transpiracijo. Rezultati se nahajajo v Prilogi A.

#### 3.2.1.1 Fotokemična učinkovitost

Za merjenje fotokemične učinkovitosti fotosistema II (FS II) smo uporabili modulacijski fluorometer OS-500 ameriškega proizvajalca Opti-Sciences, ki deluje na principu merjenja klorofilne fluorescence klorofila *a* v fotosistemu II. Bolj kot je rastlina v stresu, več fluorescence odda, zato je merjenje fotokemične učinkovitosti merilo stresa pri rastlini (Trošt Sedej, 2005).

Najprej smo izmerili potencialno fotokemično učinkovitost ( $F_v/F_m$ ), ki je sorazmerna potencialni neto fotosintezi. Razmerje  $F_v/F_m$  pri vitalnih rastlinah, ki rastejo v ugodnih

razmerah, dosega vrednosti do 0,83 in se zmanjša, ko so rastline izpostavljene stresu (Trošt Sedej, 2005). Na liste smo na svetlejše lise in temnejša območja nanegli ščipalke za temotno adaptacijo in s tem zatemnili izbrana območja za 15 minut, nato smo list osvetlili s saturacijskim pulzom bele svetlobe (PPFD = 8000  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ; 0,8 s). Dobljena vrednost nam pove največjo možno količino svetlobne energije, ki bi jo list lahko sprejel.

Dejansko fotokemično učinkovitost (Y) smo merili pri danih svetlobnih razmerah. Na list smo na izbrana območja pritrdili ščipalko, tako da je bil list osvetljen pod kotom 60 °. List smo osvetlili s saturacijskim pulzom bele svetlobe (PPFD = 8000  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ; 0,8 s). Dejanska fotokemična učinkovitost je običajno manjša (lahko pa tudi enaka) kot potencialna in je odvisna od razmer na rastišču. Pove nam, koliko svetlobne energije lahko list dejansko sprejme.

### 3.2.1.2 Transpiracija

Transpiracijo ocenjujemo neposredno preko spremembe vsebnosti vode v določeni časovni enoti ali posredno z izračunavanjem iz razlike v parcialnih vodnih tlakih. Merjenje transpiracije je potekalo s porometrom SC-1, ameriškega proizvajalca Decagon. Porometer meri stomatalno prevodnost listov s tehniko dinamičnega ravnovesja. Meri spremembe parcialnega vodnega tlaka in pretoka vodne pare skozi listne reže.

### 3.2.2 Merjenje spektrov

Merjenje spektrov je potekalo v laboratoriju na svežih listih. Uporabili smo spektrofotometer Jaz Modular Optical Sensing Suite, ki je bil povezan s programom SpectraSuite na računalniku. Pri merjenju smo uporabljali sfero ISP-30-6-R, optične kable QP600-1-SR-BX in UV-VIS-NIR svetlobni vir DH-2000. Merili smo odbojne in prepustne spektre. Pred vsakim merjenjem smo napravo kalibrirali na popoln in ničelni odboj in prepustnost, ki so služili za referenco. Za 100 % odboj in prepustnost smo svetlobni žarek usmerili na bel standard, za določitev ničelnega odboja in prepustnosti pa smo izklopili svetlobni vir in hkrati sfero usmerili na temen standard. Vso opremo je izdelal ameriški proizvajalec Ocean Optics. Pri merjenju smo sfero prekrili s kosom črnega blaga, da smo izničili šum, ki bi ga lahko povzročila dnevna svetloba.

Za merjenje spektrov brez spodnje povrhnjice smo na manjšem območju na listu mehanično odstranili spodnjo povrhnjico. To smo storili tako, da smo na spodnji strani lista narahlo zarezali s skalpelom in s pomočjo pincete previdno odstranili spodnjo povrhnjico.

### 3.2.2.1 Merjenje odbojnih spektrov

Pri merjenju odbojnih spektrov je bila sfera preko enega optičnega kabla povezana s svetlobnim virom in preko drugega s spektrofotometrom. Sfero smo položili na izbrano mesto na listu tako, da je žarek svetlobe padel pravokotno na zgornjo listno ploskev in se od nje odbil. Delež odbite svetlobe je zaznal senzor v sferi, ki je podatke prenesel na spektrofotometer. Izmerili smo spektre na svetlih lisah in temnejših delih lista.

### 3.2.2.2 Merjenje prepustnih spektrov

Pri merjenju spektrov prepustnosti svetlobni vir ni bil več povezan s sfero, ampak smo konec optičnega kabla namestili na lesen nastavek, ki je služil za merjenje prepustnih spektrov. List smo namestili tako, da je svetlobni žarek padel pravokotno na zgornjo listno ploskev, sfero, povezano s spektrofotometrom, pa smo na drugi strani lista namestili na mesto, kjer je svetloba presegala skozi list. Merili smo delež transmitirane svetlobe na svetlejših in temnejših delih lista.

## 3.2.3 Morfološke meritve

### 3.2.3.1 Specifična listna površina in vsebnost vode

Specifična listna površina (SLA) definira gostoto listnega tkiva, gostejši kot je list, manjša je SLA. Odvisna je od razmerja med listno površino in maso (Trošt Sedej, 2005). Določili smo jo tako, da smo iz sveže nabranih listov izrezali krožce ne glede na svetle in temne lise. Premer krožcev je bil 6 mm, preračunana površina (P) enega krožca pa  $0,283 \text{ cm}^2$ . Sveže krožce smo stehali na miligramski tehtnici nemškega proizvajalca Sartorius, jih zavili v aluminijasto folijo z znano maso in jih 24 ur sušili pri temperaturi  $105 \text{ }^\circ\text{C}$  v sušilniku Sterimatic ST-11 hrvaškega proizvajalca Instrumentaria. Po sušenju smo določili suho maso (ss) krožcev. Izračunali smo specifično listno površino, ki je količnik med površino krožca in njegovo suho maso [ $\text{cm}^2 \text{ mg}^{-1}$ ].

Za določevanje vsebnosti vode smo del lista stehali, zavili v folijo z znano maso in sušili 24 ur pri  $105 \text{ }^\circ\text{C}$ . Po sušenju smo določili suho maso in iz razlik obeh mas izračunali vsebnost vode.

### 3.2.3.2 Zgradba lista

Na sredini lista, vendar bolj proti apeksu lista, smo naredili prečne prereze. Najbolj idealne prereze smo položili v kapljico glicerola na objektnem steklu in prekrili s krovnim stekelcem. S tem smo ustvarili poltrajne preparate, ki jih je bilo mogoče opazovati tudi kasneje. Merjenje smo opravili z računalniškim programom CellSens Standard japonskega proizvajalca Olympus, ki je bil preko kamere povezan s svetlobnim mikroskopom. Merili smo debelino lista, debelino kutikule, debelino zgornje in spodnje povrhnjice ter debelino stebričastega in gobastega tkiva. Na vsakem listu smo merjene parametre izmerili na petih mestih, izogibali smo se listnim žilam in robnim delom lista.

### 3.2.3.3 Listne reže in trihomi

Za analizo stanja listnih rež in trihomov smo na zgornji in spodnji listni ploskvi naredili odtis listnih rež in trihomov. Na povrhnjico smo nanесли tanko plast prozornega laka za nohte in počakali, da se je posušil. Nato smo polakirani del previdno prelepili z lepilnim trakom, ga odstranili in nalepili na objektno steklo. Z uporabo kamere in svetlobnega mikroskopa smo v računalniškem programu CellSens Standard japonskega proizvajalca Olympus določili velikost ter število listnih rež in trihomov. Za vsak list smo pregledali sedem vidnih polj. Glede na velikost vidnega polja in povprečno število na vidno polje, smo preračunali gostoto listnih rež oziroma trihomov na  $\text{cm}^2$ .

## 3.2.4 Biokemijske analize

Vzorci smo pripravili tako, da smo na svetlejših in temnejših lisah na listu izrezali krožce s premerom 6 mm in površino  $0,283 \text{ cm}^2$ . Strli smo jih v keramični terilnici in dodali ekstrakcijski medij. Centrifugirali smo jih v centrifugi 2-16 PK nemškega proizvajalca Sigma. Ekstinkcije smo pri izbranih valovnih dolžinah izmerili z UV/VIS spektrofotometrom Lambda 25 ameriškega proizvajalca Perkin-Elmer. Uporabili smo navadne kivete, pri merjenju v UV območju pa kvarčne. V poglavju Rezultati so vsebnosti snovi predstavljene glede na površino vzorca zaradi preglednejšega podajanja podatkov, rezultati podani glede na suho maso pa se nahajajo v Prilogi B.

### 3.2.4.1 Klorofili in karotenoidi

Vsebnosti klorofilov *a* in *b* ter karotenoidov smo določali po metodi Lichtenthaler in Buschmann (2001 a, b). Vzorci, po dva krožca za vsako paralelko na posameznem listu, smo

strli v terilnici ter ekstrahirali v 5 mL acetona (100 % (v/v)). Ekstrakte smo prelili v centrifugirke in centrifugirali 4 minute pri 4 °C in 4000 obratih. Po centrifugiranju smo z merilnim valjem izmerili prostornine ekstraktov in izmerili ekstinkcije pri valovnih dolžinah 470, 645 in 662 nm. Vsebnosti klorofilov (Kl *a*, Kl *b*) in karotenoidov (Kar) smo izrazili na suho maso in površino vzorca (Formule 1).

*Formule*

... (1)

$$\begin{aligned} \text{Kl } a \text{ [mg g}^{-1} \text{ ss; mg cm}^{-2}] &= c_a * V * \text{ss}^{-1} * 10^{-3}; c_a * V * P^{-1} * 10^{-3} & c_a &= 11,24 E_{662} - 2,04 E_{645} \\ \text{Kl } b \text{ [mg g}^{-1} \text{ ss; mg cm}^{-2}] &= c_b * V * \text{ss}^{-1} * 10^{-3}; c_b * V * P^{-1} * 10^{-3} & c_b &= 20,13 E_{645} - 4,19 E_{662} \\ \text{Kar [mg g}^{-1} \text{ ss; mg cm}^{-2}] &= (1000 E_{470} - 1,9 c_a - 63,14 c_b) * V * \text{ss}^{-1} * 10^{-3} / 214 \\ &= (1000 E_{470} - 1,9 c_a - 63,14 c_b) * V * P^{-1} * 10^{-3} / 214 \end{aligned}$$

$c_a, c_b$  - koncentracija klorofila *a* oz. *b*

V - volumen ekstrakta [mL]

E – ekstinkcija pri izbrani valovni dolžini

ss - suha masa vzorca [mg]

P – površina vzorca [cm<sup>2</sup>]

### 3.2.4.2 Antociani

Vsebnost antocianov smo določali po metodi Khareja in Guruprasada (1993). Vzorce (po dva krožca za vsako paralelko na posameznem listu) smo strli v terilnici in ekstrahirali v 5 mL ekstrakcijskega medija, ki sta ga sestavljala metanol in 37 % HCl v razmerju 99 : 1 glede na volumen. Ekstrakte smo centrifugirali (4 min, 4 °C, 4000 obratov) in odčitali prostornine. Vzorce smo za 24 ur shranili v hladilniku (tema, 3-5 °C). Ekstinkcije smo merili pri valovni dolžini 530 nm. Vsebnost antocianov (Ant) smo izrazili v relativnih enotah glede na suho snov in površino (Formula 2).

*Formula*

... (2)

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

E – ekstinkcija pri izbrani valovni dolžini

V - volumen ekstrakta [mL]

ss - suha masa vzorca [mg]

P – površina vzorca [cm<sup>2</sup>]

### 3.2.4.3 UV absorbirajoče snovi

Vsebnost UV-A (320-400 nm) in UV-B (280-319 nm) absorbirajočih snovi smo določali po metodi Caldwell (1968). Vzorce (po dva krožca za vsako paralelko na posameznem listu) smo strli v terilnici, ekstrahirali v 5 mL ekstrakcijskega medija (metanol : destilirana voda : HCl (37 %) = 79 : 20 : 1 (v/v)) in za 20 min inkubirali v temi. Sledilo je centrifugiranje (10 min, 10 °C, 4000 obratov) in odčitavanje prostornin. Ekstinkcije pri valovnih dolžinah od 280 do 400 nm smo določili z UV/VIS spektrofotometrom, uporabili smo kvarčne kivete za merjenje v UV območju. Vsebnosti UV absorbirajočih snovi (UV abs) smo izračunali kot integral ekstinkcijskih vrednosti od 280 do 319 nm ter od 320 do 400 nm. Izrazili smo jih v relativnih enotah glede na suho snov in površino (Formula 3).

*Formula* ... (3)

UV abs (relativna enota) =  $I * V^{-1} * ss^{-1}$  ;  $I * V^{-1} * P^{-1}$

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

V - volumen ekstrakta [mL]

ss - suha masa vzorca [mg]

P – površina vzorca [cm<sup>2</sup>]

### 3.2.5 Statistična obdelava podatkov

Iz podatkov, pridobljenih v eksperimentalnih analizah, smo izračunali povprečja in standardne odklone, ter rezultate predstavili v grafih. Rezultati, ki se statistično značilno razlikujejo, so označeni z različnimi črkami oziroma z zvezdicami.

Primerjava razlik med svetlimi in temnimi lisami v listnem vzorcu je bila testirana s Studentovim t-testom (pri normalni razporeditvi podatkov). Testiranje razlik med različnimi lokacijami in med različnimi meseci v sezoni je bila izvedena z enosmerno analizo variance (One-way ANOVA) pri enakomerni porazdelitvi podatkov in s Kruskal-Wallis testom pri neenakomerni porazdelitvi podatkov. Primerjava spektrov je bila narejena z Man-Whitneyevim testom (neenakomerna porazdelitev podatkov). Testi so bili narejeni v programu Past, različica 2.16. Verjetnost značilnih razlik smo označili s  $p < 0,05$  in  $p < 0,01$ .

Korelacijske analize so bile narejene v programu Past, z metodo linearne korelacije r. V statističnih tabelah smo odčitali vrednost Pearsonovega koeficienta korelacije r za določeno velikost vzorca: februarški in junijski vzorec sta obsegala 8 listov, torej je kritična absolutna



vrednost Pearsonovega koeficienta  $r$ , pri verjetnosti  $\alpha = 0,05$ , enaka 0,7067; aprilski vzorec je obsegal 20 listov, vrednost Pearsonovega koeficienta pri verjetnosti  $\alpha = 0,05$  je  $r = 0,4438$ .

Z redundančno analizo (RDA) smo določali ali je variabilnost odbojnih in prepustnih spektrov povezana z morfološkimi in biokemijskimi parametri. Uporabili smo program Canoco 4.0. Statistično značilnost vpliva določenega parametra smo testirali z Monte Carlo permutacijskim testom. Stopnja pomembnosti je bila sprejeta pri  $p < 0,05$ .

## 4 REZULTATI

### 4.1 VPLIV LISTNEGA VZORCA NA ZNAČILNOSTI LISTA

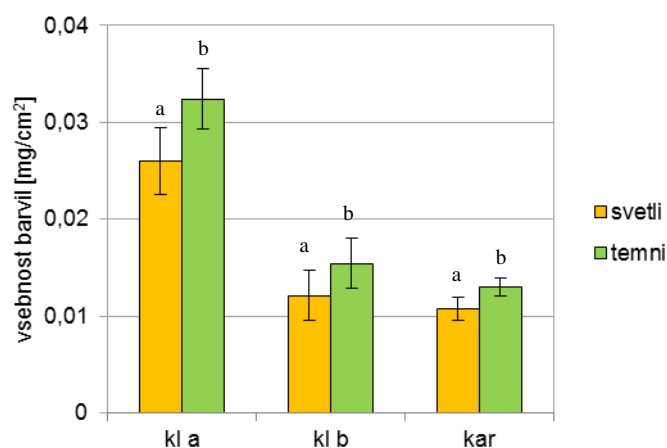
#### 4.1.1 Biokemijske značilnosti

Biokemijske analize niso pokazale statistično značilnih razlik glede vsebnosti antocianov in UV absorbirajočih snovi med svetlejšimi lisami in temnejšimi območji na listu (Preglednica 1).

**Preglednica 1:** Vsebnost UV absorbirajočih snovi in antocianov glede na površino vzorca [relativna enota/cm<sup>2</sup>] (februarski vzorec, nabran na prisojnjem rastišču v gozdu). Prikazane so povprečne vrednosti ± SD (n=8). Rezultati t-testa.

	svetli	temni
UV-B [relativna enota/cm <sup>2</sup> ]	15,20 ± 2,96	18,42 ± 3,27
UV-A [relativna enota/cm <sup>2</sup> ]	30,63 ± 6,65	36,16 ± 6,40
antociani [relativna enota/cm <sup>2</sup> ]	1,12 ± 0,23	1,13 ± 0,24

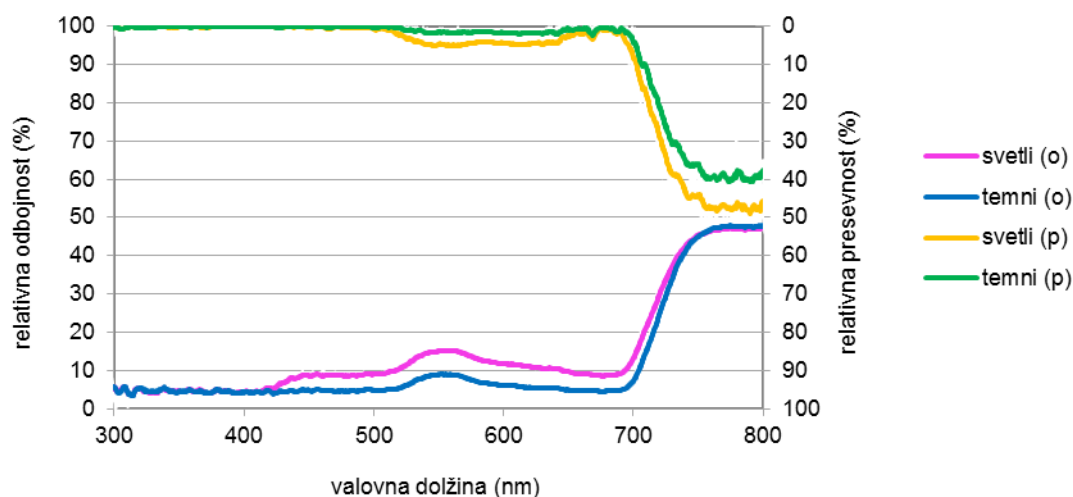
Statistično značilne razlike se pojavljajo pri vsebnostih klorofila *a* in *b* ter karotenoidov. Na temnejših delih lista je za približno 20 % večja koncentracija barvil (Slika 3), pri klorofilu *a* in karotenoidih so razlike večje ( $p < 0,01$ ), pri klorofilu *b* so razlike manjše ( $p < 0,05$ ). Klorofila *a* je približno enkrat več kot klorofila *b*. Vpliv večje vsebnosti barvil na temnejših delih lista se odraža tudi pri spektrih odbojnosti in prepustnosti (Slika 4).



**Slika 3:** Vsebnost klorofila *a* in *b* ter karotenoidov na površino vzorca [mg/cm<sup>2</sup>] (februarski vzorec, nabran na prisojnjem rastišču v gozdu). Prikazane so povprečne vrednosti ± SD (n=8). Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilno razliko (rezultati t-testa,  $p < 0,05$ ).

#### 4.1.2 Odbojni in prepustni spektri

Spektri odbojnosti se med svetlejšimi in temnejšimi območji razlikujejo pri valovnih dolžinah med 415 in 740 nm, večji odboj je na svetlejših delih lista. Spektri prepustnosti se med svetlejšimi in temnejšimi območji razlikujejo na valovnih dolžinah med 500 in 800 nm, večja prepustnost je na svetlejših delih lista (Slika 4).



**Slika 4:** Odbojna (o) in prepustna (p) spektra na svetlejših in temnejših delih listov (februarski vzorec, nabran na prisojnem rastišču v gozdu). Prikazane so povprečne vrednosti ( $n=8$ ), izris z natančnostjo 5 nm. Osrednje območje med krivuljami predstavlja delež absorbance.

Zgoraj podani rezultati so vzeti iz februarskega vzorca, nabranega na prisojnem rastišču v gozdu, vendar precej podobne rezultate odražajo tudi vsi ostali vzorci.

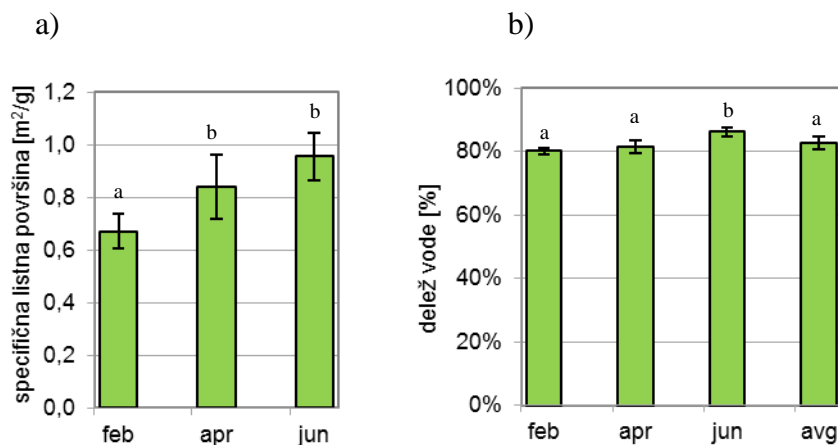
#### 4.1.3 Povezanost med spektri in lastnostmi listov

Rezultati korelacijske analize so pokazali, da so vsebnosti UV-A in UV-B absorbirajočih snovi značilno povezane ne glede na obarvanost listne ploskve ( $r = 0,99$ ). Na svetlejših delih listov se vsebnosti karotenoidov značilno povezujejo z vsebnostmi UV-A in UV-B absorbirajočih snovi ( $r = 0,84$ ). UV-B območje pri spektrih prepustnosti je značilno povezano z vsebnostjo klorofila *a* ( $r = 0,76$ ), UV-A prepustno območje pa je značilno negativno povezano z vsebnostjo antocianov ( $r = -0,73$ ). Pri spektrih odbojnosti je zeleno-rumeno območje v značilni negativni korelaciji z vsebnostjo karotenoidov ( $r = -0,81$ ). Na temnejših območjih lista so vsebnosti karotenoidov značilno povezani z vsebnostjo klorofila *a* ( $r = 0,78$ ), vsebnosti antocianov pa značilno negativno vplivajo na prepustnost v zelenem, rumenem in rdečem območju ( $r = -0,86$ ).

## 4.2 VPLIV SEZONE NA ZNAČILNOSTI LISTA

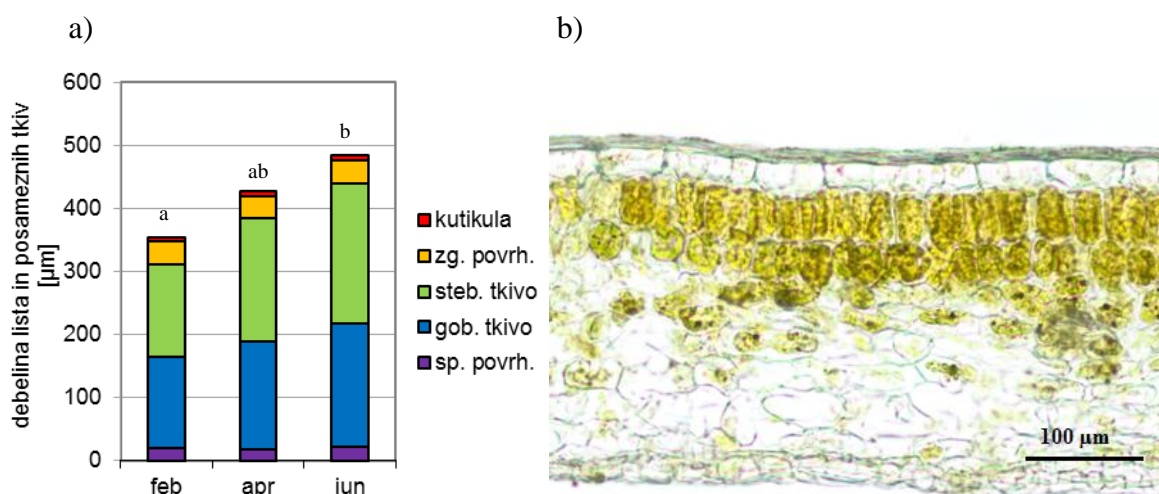
### 4.2.1 Morfološke značilnosti

Tekom sezone se je povečevala specifična listna površina (SLA), ki je razmerje med listno površino in maso ter opisuje gostoto listnega tkiva. Februarski vzorec se statistično značilno razlikuje od aprilskega in junijskega ( $p < 0,05$ ) (Slika 5a).



**Slika 5:** a) Specifična listna površina [ $m^2/g$ ] in b) vsebnost vode [%] v listih navadne ciklame (*Cyclamen purpurascens*) tekom sezone. Prikazane so povprečne vrednosti  $\pm$  SD ( $n=8$ ,  $n_{apr}=20$ ). Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilno razliko (rezultati testa enosmerna ANOVA,  $p < 0,05$ ).

Vsebnost vode se je v sezoni med vzorci meseca februarja in junija povečevala, preko sušnega poletja (junij – avgust) pa je spet upadla. Junijski vzorec se statistično značilno razlikuje od februarskega, aprilskega in avgustovskega vzorca ( $p < 0,01$ ) (Slika 5b).



**Slika 6:** a) Debelina lista in posameznih tkiv [ $\mu m$ ]. Prikazane so povprečne vrednosti ( $n=8$ ,  $n_{apr}=20$ ). Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilno razliko v debelini tkiv (rezultati testa enosmerna ANOVA,  $p < 0,01$ ).

b) Mikroskopski prerez lista. Levpušček, maj 2012.

Debelina lista ter stebričastega in gobastega tkiva se je tekom sezone povečevala, debelina kutikule ter zgornje in spodnje povrhnjice pa je ostajala bolj ali manj nespremenjena. Februarski vzorec se statistično značilno razlikuje od junijskega ( $p < 0,01$ ), aprilski je približno enako podoben februarškemu in junijskemu (Slika 6a).

Velikost in število listnih rež se ne razlikuje med vzorci v sezoni. Trihomi se tako po številčnosti kot po velikosti razlikujejo med vzorci ( $p < 0,01$ ), in sicer se februarški vzorec po številčnosti razlikuje od aprilskega in junijskega, tekom sezone se namreč številčnost trihomov povečuje. Po velikosti so trihomi na zgornji listni ploskvi v februarškem vzorcu statistično značilno večji od trihomov v aprilskem vzorcu (Preglednica 2).

**Preglednica 2:** Spreminjanje velikosti [ $\mu\text{m}$ ] in števila listnih rež ter trihomov tekom sezone. Prikazane so povprečne vrednosti  $\pm$  SD ( $n=8$ ,  $n_{\text{apr.}}=20$ ). Rezultati testa enosmerne ANOVA, \*\*  $p \leq 0,01$ .

	feb.	apr.	jun.
velikost listnih rež [ $\mu\text{m}$ ]	30,39 $\pm$ 1,46	30,12 $\pm$ 1,62	32,52 $\pm$ 2,99
število listnih rež	17762 $\pm$ 1133	17500 $\pm$ 2883	16534 $\pm$ 2180
velikost trihomov zgoraj [ $\mu\text{m}$ ]	52,63 $\pm$ 4,82 **	38,72 $\pm$ 6,12	47,93 $\pm$ 14,43
velikost trihomov spodaj [ $\mu\text{m}$ ]	66,62 $\pm$ 10,22	63,86 $\pm$ 8,21	63,83 $\pm$ 7,64
število trihomov zgoraj	1526 $\pm$ 203 **	1784 $\pm$ 446	1662 $\pm$ 236
število trihomov spodaj	1000 $\pm$ 211 **	984 $\pm$ 295	1169 $\pm$ 279

#### 4.2.2 Biokemijske značilnosti

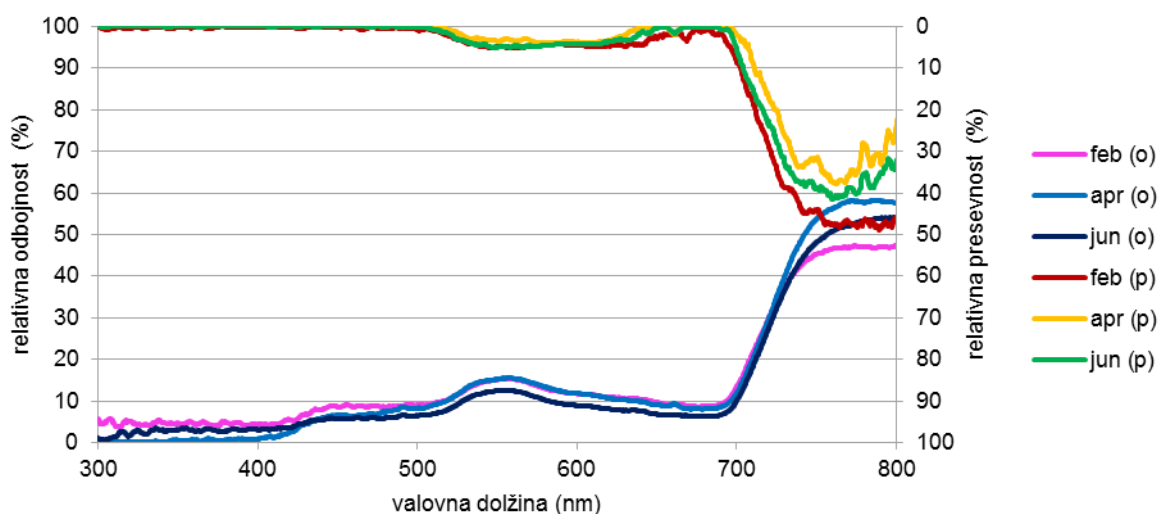
Vsebnost antocianov in UV absorbirajočih snovi je v februarškem vzorcu statistično značilno večja od aprilskega in junijskega vzorca ( $p < 0,01$ ) (Preglednica 3), kar se odraža tudi pri spektrih odbojnosti (Slika 7).

Statistične analize pri vsebnosti klorofila *b* ter karotenoidov kažejo, da se februarški vzorec statistično značilno razlikuje od aprilskega in junijskega ( $p < 0,01$ ). Vsebnost klorofila *a* ostaja enakomerna, vsebnost klorofila *b* pa se povečuje. Vsebnost karotenoidov najprej minimalno upade (aprilski vzorec) in nato ostaja bolj ali manj konstantna (junijski vzorec) (Preglednica 3).

**Preglednica 3:** Spreminjanje vsebnosti biokemijskih parametrov tekom sezone glede na površino vzorca [cm<sup>2</sup>]. Prikazane so povprečne vrednosti ± SD (n=8, n<sub>apr.</sub>=20). Rezultati testa enosmerne ANOVA, \*\* p ≤ 0,01.

	feb.	apr.	jun.
<b>antociani</b> [relativna enota/cm <sup>2</sup> ]			
svetli	1,12 ± 0,23 **	0,79 ± 0,16	0,82 ± 0,26
temni	1,34 ± 0,24 **	0,94 ± 0,23	0,89 ± 0,23
<b>UV-B absorbirajoče snovi</b> [relativna enota/cm <sup>2</sup> ]			
svetli	15,20 ± 2,96 **	11,70 ± 2,08	11,11 ± 2,11
temni	18,42 ± 3,27 **	12,10 ± 1,96	12,02 ± 2,20
<b>UV-A absorbirajoče snovi</b> [relativna enota/cm <sup>2</sup> ]			
svetli	30,63 ± 6,65 **	21,72 ± 3,83	21,14 ± 4,24
temni	36,16 ± 6,40 **	23,14 ± 4,00	22,33 ± 3,94
<b>klorofil a</b> [mg/cm <sup>2</sup> ]			
svetli	0,026 ± 0,004	0,029 ± 0,005	0,028 ± 0,005
temni	0,032 ± 0,003	0,036 ± 0,005	0,044 ± 0,007 **
<b>klorofil b</b> [mg/cm <sup>2</sup> ]			
svetli	0,012 ± 0,003 **	0,017 ± 0,004	0,018 ± 0,003
temni	0,015 ± 0,003 **	0,023 ± 0,004 **	0,028 ± 0,006 **
<b>karotenoidi</b> [mg/cm <sup>2</sup> ]			
svetli	0,011 ± 0,001 **	0,009 ± 0,001	0,008 ± 0,001
temni	0,013 ± 0,001 **	0,011 ± 0,001	0,012 ± 0,002

#### 4.2.3 Odbojni in prepustni spektri



**Slika 7:** Odbojni (o) in prepustni (p) spektri na svetlejših delih listov v sezoni. Prikazane so povprečne vrednosti (n=8, n<sub>apr.</sub>=20), izris z natančnostjo 5 nm. Osrednje območje med krivuljami predstavlja delež absorbance.

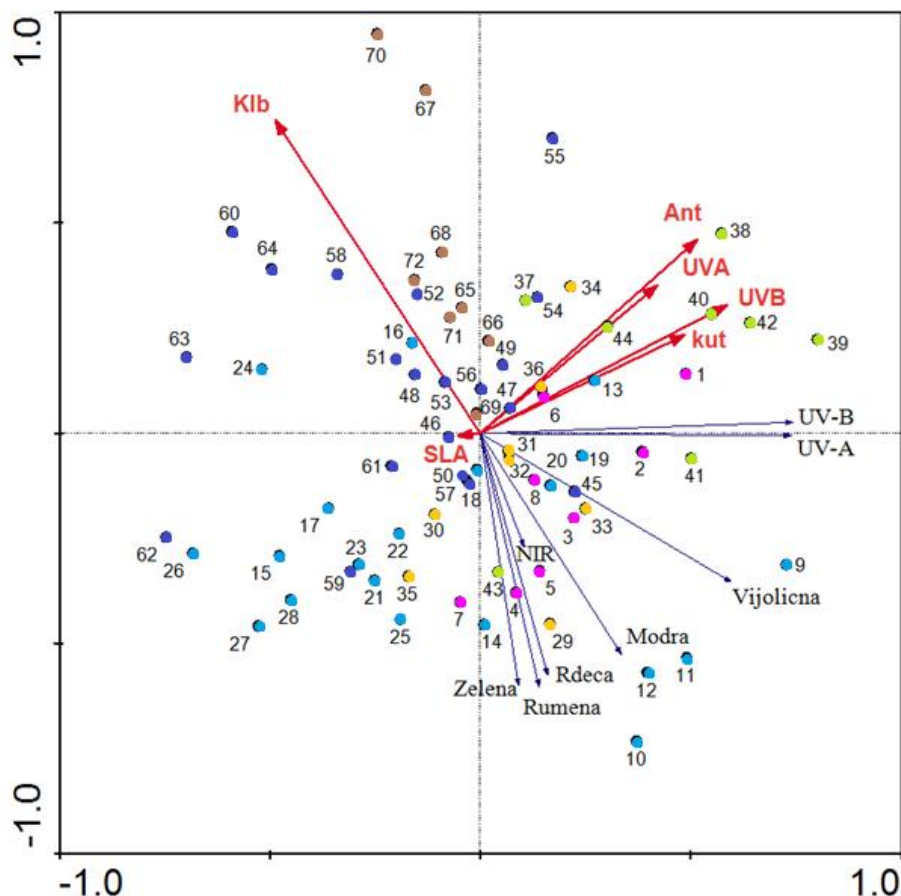
Spektri odbojnosti se med meseci v sezoni statistično razlikujejo med 300 in 470 nm ter med 720 in 800 nm. Spektri prepustnosti se razlikujejo med 300 do 550 nm (kar sicer na grafu ni najboljše vidno, vendar je Man-Whitneyev test pokazal statistično značilne razlike) ter med 610 do 800 nm. (Slika 7).

#### 4.2.4 Povezanost med spektri in lastnostmi listov

Korelacijske analize so pokazale, da sta debelini gobastega in stebričastega tkiva statistično značilno negativno povezani med seboj ( $r_{\text{feb.}} = -0,72$ ), statistično značilno pa z debelino lista ( $r_{\text{apr.}} = 0,74$ ,  $r_{\text{jun.}} = 0,87$ ). Med seboj so statistično značilno povezani tudi vsebnosti klorofila *a* in *b* ter karotenoidov ( $r_{\text{feb.}} = 0,78$ ,  $r_{\text{apr.}} = 0,71$ ,  $r_{\text{jun.}} = 0,87$ ), prav tako vsebnosti UV-A in UV-B absorbirajočih snovi ( $r_{\text{feb.}} = 0,99$ ,  $r_{\text{apr.}} = 0,68$ ,  $r_{\text{jun.}} = 0,86$ ). Vsebnosti antocianov imajo statistično značilen negativen vpliv na zeleni del prepustnega spektra ( $r_{\text{feb.}} = -0,86$ ,  $r_{\text{apr.}} = -0,61$ ,  $r_{\text{jun.}} = -0,80$ ). Vsebnosti karotenoidov ter klorofila *a* in *b* pa imajo statistično značilen negativen vpliv na odbojni spekter ( $r_{\text{feb.}} = -0,81$ ,  $r_{\text{apr.}} = -0,49$ ,  $r_{\text{jun.}} = -0,75$ ), ter nekoliko mešan vpliv na presevani spekter ( $r_{\text{feb.}} = 0,76$ ,  $r_{\text{apr.}} = -0,52$ ,  $r_{\text{jun.}} = 0,80$ ).

RDA analiza je pokazala, da ima največji vpliv na odbojni spekter vsebnost UV-B absorbirajočih snovi in razloži 18 % variabilnosti odbojnega spektra. Značilen vpliv na variabilnost odbojnega spektra imajo še vsebnosti klorofila *b* (10 %), antocianov (3 %), UV-A absorbirajočih snovi (4 %), SLA (12 %) ter debelina kutikule (7 %). Vsebnost UV-B absorbirajočih snovi ima prav tako največji vpliv na prepustni spekter in razloži 26 % variabilnosti spektra. Značilen vpliv na variabilnost prepustnega spektra imajo tudi vsebnosti UV-A absorbirajočih snovi (9 %), klorofila *b* (7 %) in karotenoidov (4 %) ter SLA (7 %) in debelina spodnje povrhnjice lista (5 %). Vsebnosti snovi vključenih v RDA so bile podane na površino vzorca.

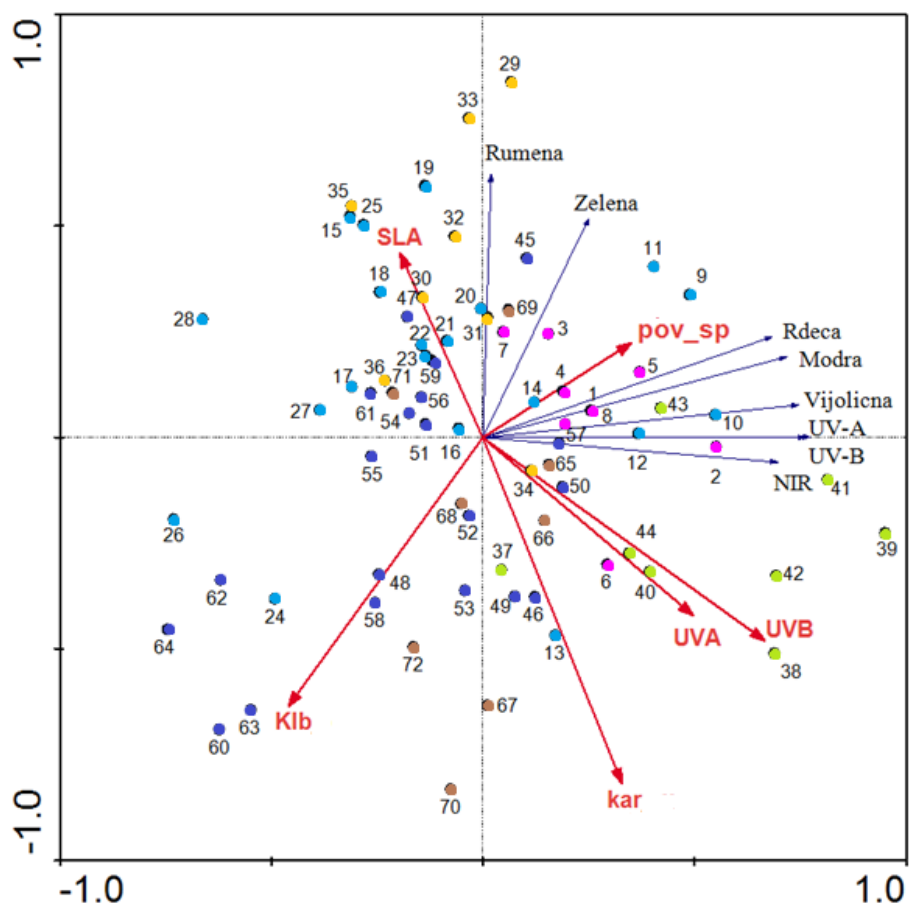
RDA diagram odbojnega spektra kaže, da so vsebnosti UV absorbirajočih snovi, antocianov in debelina kutikule v močni medsebojni pozitivni korelaciji, v pozitivni korelaciji z vsebnostjo klorofila *b* in odbojnega spektra ter v negativni korelaciji s SLA. Vsebnosti klorofila *b* so v negativni korelaciji z delom odbojnega spektra. Vzorci nabrani v različnih mesecih v sezoni se grupirajo v skupine, vzorci s svetlejših in temnejših delih listov se ločijo med sabo, vendar se v grafu pojavljajo blizu skupaj (Slika 8).



**Slika 8:** RDA diagram odbojnega spektra med morfološkimi in biokemijskimi parametri ter različnimi območji odbojnega spektra. Spremenljivke so označene z puščicami, številke predstavljajo različne vzorce listov: 1-8 februarški vzorec na svetlejših delih listov (označen z rožnato barvo), 9-28 aprilski vzorec na svetlejših delih listov (označen s svetlo modro barvo), 29-36 junijski vzorec na svetlejših delih listov (označen z oranžno barvo), 37-44 februarški vzorec na temnejših delih listov (označen s svetlo zeleno barvo), 45-64 aprilski vzorec na temnejših delih listov (označen s temno modro barvo), 65-72 junijski vzorec na temnejših delih listov (označen z rjavo barvo).

RDA diagram prepustnega spektra kaže, da so vsebnosti UV absorbirajočih snovi in karotenoidov v močni medsebojni pozitivni korelaciji, v pozitivni korelaciji z vsebnostjo klorofila *b* in v negativni korelaciji s SLA, debelino spodnje povrhnjice in rumeno-zelenim delom prepustnega spektra. Prepustni spekter je v močni pozitivni korelaciji z debelino spodnje povrhnjice, v pozitivni korelaciji z vsebnostjo karotenoidov, UV absorbirajočih snovi in SLA, ter v negativni korelaciji z vsebnostjo klorofila *b*. Vzorci nabrani v različnih mesecih v sezoni se grupirajo v skupine kakor so bili nabrani, vzorci s svetlejših in temnejših delih listov se delno ločijo, vendar se v grafu pojavljajo blizu skupaj (Slika 9).





**Slika 9:** RDA diagram prepustnega spektra med morfološkimi in biokemijskimi parametri ter različnimi območji prepustnega spektra. Spremenljivke so označene z puščicami, številke predstavljajo različne vzorce listov: 1-8 februarjski vzorec na svetlejših delih listov (označen z rožnato barvo), 9-28 aprilski vzorec na svetlejših delih listov (označen s svetlo modro barvo), 29-36 junijski vzorec na svetlejših delih listov (označen z oranžno barvo), 37-44 februarjski vzorec na temnejših delih listov (označen s svetlo zeleno barvo), 45-64 aprilski vzorec na temnejših delih listov (označen s temno modro barvo), 65-72 junijski vzorec na temnejših delih listov (označen z rjavo barvo).

## 4.3 PRIMERJAVA ZNAČILNOSTI LISTA GLEDE NA RASTIŠČA

### 4.3.1 Morfološke značilnosti

Analiza specifične listne aktivnosti (SLA) je pokazala, da se rastišče na poseki (lokacija 1) statistično razlikuje od rastišča v gozdu na bolj osojnim pobočju (lokacija 3) ( $p < 0,05$ ). Glede na vsebnost vode med tremi lokacijami ni statistično značilnih razlik (Preglednica 4).

**Preglednica 4:** Spreminjanje merjenih parametrov med lokacijami (februarski vzorec). Prikazane so povprečne vrednosti  $\pm$  SD ( $n=8$ ). Rezultati testa enosmerna ANOVA, \*  $p \leq 0,05$ , \*\*  $p \leq 0,01$ .

	lok 1	lok 2	lok 3
SLA [ $m^2/g$ ]	$0,564 \pm 0,067$ *	$0,670 \pm 0,070$	$0,766 \pm 0,037$
vsebnost vode [%]	$76,75 \pm 1,77$	$80,15 \pm 1,11$	$79,58 \pm 1,19$
debelina lista [ $\mu m$ ]	$423,06 \pm 51,80$ **	$360,56 \pm 19,94$	$324,80 \pm 46,81$
stebričasto tkivo [ $\mu m$ ]	$195,72 \pm 30,59$ **	$145,83 \pm 14,76$	$134,82 \pm 34,02$
gobasto tkivo [ $\mu m$ ]	$162,40 \pm 43,08$	$145,83 \pm 14,76$	$138,56 \pm 23,47$
kutikula [ $\mu m$ ]	$7,36 \pm 1,46$	$7,44 \pm 0,79$	$6,27 \pm 0,90$
zg. povrhnjica [ $\mu m$ ]	$36,64 \pm 6,38$	$36,95 \pm 11,54$	$33,31 \pm 8,35$
sp. povrhnjica [ $\mu m$ ]	$18,44 \pm 4,52$	$18,90 \pm 1,52$	$14,83 \pm 1,53$

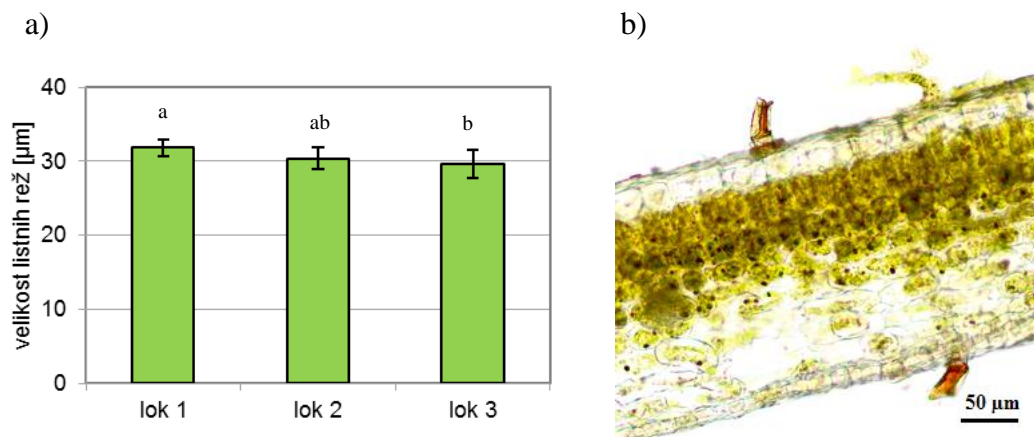
Pri analizi meritev debeline lista in debeline stebričastega tkiva so se pokazale statistično značilne razlike med rastiščem na poseki (lokacija 1) in obema rastiščema v gozdu (lokaciji 2 in 3) ( $p < 0,01$ ). Pri analizi meritev debeline gobastega tkiva, kutikule ter zgornje in spodnje povrhnjice se statistično značilne razlike med lokacijami niso pokazale (Preglednica 4).

**Preglednica 5:** Spreminjanje velikosti in števila listnih rež ter trihomov med lokacijami (februarski vzorec). Prikazane so povprečne vrednosti  $\pm$  SD ( $n=8$ ). Rezultati testa enosmerna ANOVA, \*  $p \leq 0,05$ .

	lok 1	lok 2	lok 3
število listnih rež	$20818 \pm 4397$	$17762 \pm 1133$	$20442 \pm 4734$
velikost listnih rež [ $\mu m$ ]	$31,87 \pm 1,14$ *	$30,39 \pm 1,46$	$29,67 \pm 1,96$
število trihomov zgoraj	$1521 \pm 314$	$1526 \pm 203$	$1458 \pm 263$
število trihomov spodaj	$757 \pm 218$	$1000 \pm 211$	$995 \pm 304$
velikost trihomov zgoraj [ $\mu m$ ]	$43,81 \pm 8,04$	$52,63 \pm 4,82$	$51,25 \pm 8,14$
velikost trihomov spodaj [ $\mu m$ ]	$60,14 \pm 11,67$	$66,62 \pm 10,22$	$63,97 \pm 6,82$

Glede na število listnih rež ni statistično značilnih razlik med lokacijami, glede na velikost pa se rastišče na poseki (lokacija 1) statistično značilno razlikuje od rastišča na osojnim pobočju Rašice (lokacija 3). Na osojnim rastišču so listne reže manjše kot na rastišču na poseki, listne reže na prisojnem rastišču v gozdu (lokacija 2) pa so približno enako podobne obema

vzorčema ( $p < 0,05$ ) (Slika 10a). Glede na število in velikost trihomov med lokacijami ni statistično značilnih razlik (Preglednica 5).



**Slika 10:** a) Velikost listnih rež [µm]. Prikazane so povprečne vrednosti  $\pm$  SD ( $n=8$ ). Različne črke nad stolpci označujejo statistično značilno razliko (rezultati testa enosmerna ANOVA,  $p < 0,05$ ).  
b) Prisotnost trihomov na zgornji in spodnji ploskvi lista. Levpušček, maj 2012.

Pri vseh nabranih vzorcih so trihomi prisotni na obeh listnih ploskvah (Slika 10b), na zgornji strani lista so trihomi daljši in jih je manj, na spodnji strani lista pa je trihomov več in so krajši ( $p < 0,01$ ) (Preglednica 5). Listne reže so prisotne samo na spodnji strani lista.

#### 4.3.2 Biokemijske značilnosti

Analiza vsebnosti antocianov na svetlejšem delu lista kaže, da se vzorec, nabran na osojnem rastišču v gozdu (lokacija 3), statistično značilno razlikuje od vzorca, nabranega na prisojnem rastišču v gozdu (lokacija 2) ( $p < 0,05$ ). Vzorec, nabran na poseki (lokacija 1) je bolj podoben vzorcu na prisojnem pobočju, oba imata večjo vsebnost antocianov. Na temnejših območjih lista razlik ni (Preglednica 6).

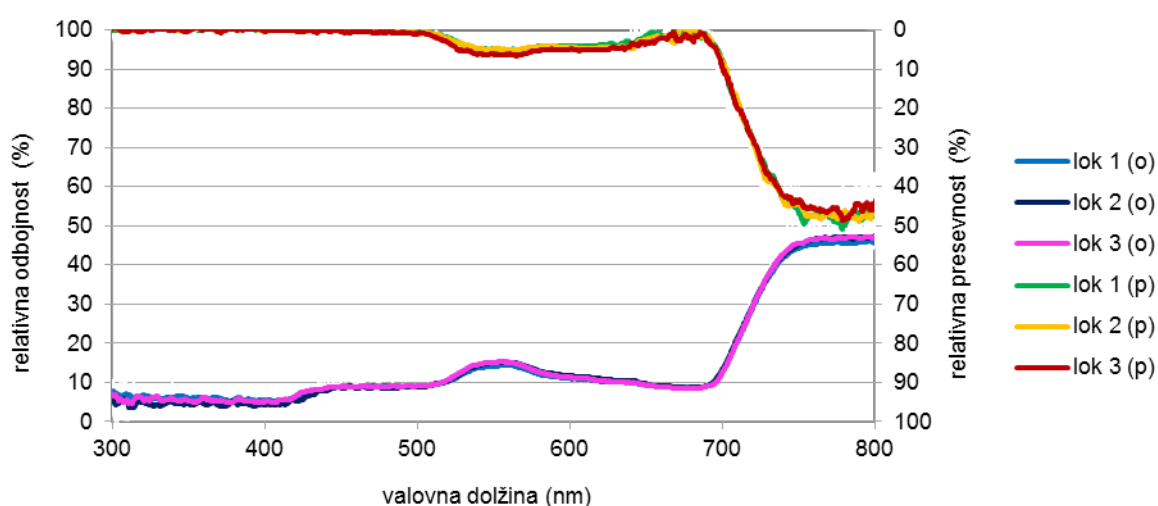
Pri vsebnostih UV-B absorbirajočih snovi na svetlejših delih lista se rastišče na poseki (lokacija 1) statistično značilno razlikuje od ostalih dveh rastišč ( $p < 0,05$ ), pri vsebnosti UV-A absorbirajočih snovi na svetlejših delih lista pa statistično značilnih razlik med lokacijami ni. Na temnejših območjih na listu ima vzorec, nabran na prisojnem rastišču v gozdu (lokacija 2), statistično značilno večjo vsebnost UV absorbirajočih snovi od ostalih dveh rastišč ( $p < 0,01$ ) (Preglednica 6).

Statistične analize vsebnosti klorofilov *a* in *b* ter karotenoidov kažejo, da je vsebnost klorofila *a* in karotenoidov na svetlejših delih lista statistično značilno manjša na osojnem rastišču (lokacija 3) kot na ostalih dveh lokacijah ( $p < 0,01$ ). Vsebnosti klorofila *a* na temnejših delih lista in klorofila *b* ne kažejo statistično značilnih razlik (Preglednica 6).

**Preglednica 6:** Spreminjanje vsebnosti biokemijskih parametrov glede na površino [cm<sup>2</sup>] med lokacijami. Prikazane so povprečne vrednosti ± SD (n=8, n<sub>apr.</sub>=20). Rezultati testa enosmerne ANOVA, \* p ≤ 0,05, \*\* p ≤ 0,01.

	lok 1	lok 2	lok 3
<b>antociani</b> [relativna enota/cm <sup>2</sup> ]			
svetli	1,00 ± 0,16	1,12 ± 0,23	0,82 ± 0,19 *
temni	1,39 ± 0,34	1,34 ± 0,24	1,06 ± 0,38
<b>UV-B absorbirajoče snovi</b> [relativna enota/cm <sup>2</sup> ]			
svetli	17,36 ± 4,01 *	15,20 ± 2,96	12,34 ± 2,35
temni	14,20 ± 3,01	18,42 ± 3,27 **	13,64 ± 2,53
<b>UV-A absorbirajoče snovi</b> [relativna enota/cm <sup>2</sup> ]			
svetli	32,78 ± 7,82	30,63 ± 6,65	24,39 ± 5,89
temni	26,67 ± 6,16	36,16 ± 6,40 **	25,84 ± 5,95
<b>klorofil a</b> [mg/cm <sup>2</sup> ]			
svetli	0,028 ± 0,006	0,026 ± 0,003	0,019 ± 0,003 **
temni	0,036 ± 0,009	0,032 ± 0,003	0,032 ± 0,005
<b>klorofil b</b> [mg/cm <sup>2</sup> ]			
svetli	0,012 ± 0,005	0,012 ± 0,003	0,009 ± 0,002
temni	0,016 ± 0,007	0,015 ± 0,003	0,017 ± 0,002
<b>karotenoidi</b> [mg/cm <sup>2</sup> ]			
svetli	0,013 ± 0,002	0,011 ± 0,001	0,007 ± 0,001 **
temni	0,015 ± 0,003 **	0,013 ± 0,001 **	0,011 ± 0,002 **

#### 4.3.3 Odbojni in prepustni spektri



**Slika 11:** Odbojni (o) in prepustni (p) spektri na svetlejših delih listov glede na vpliv rastišča (februarski vzorec). Prikazane so povprečne vrednosti (n=8), izris z natančnostjo 5 nm. Osrednje območje med krivuljami predstavlja delež absorbance.

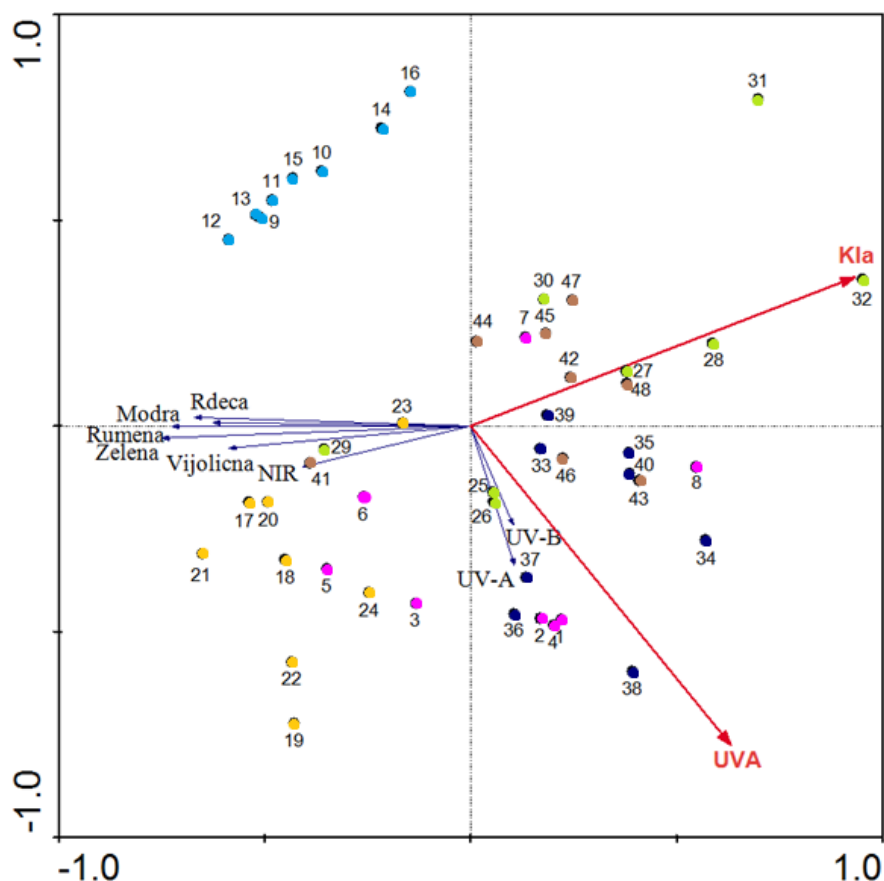
Spektri odbojnosti se med lokacijami razlikujejo med 300 in 430 nm, spektri prepustnosti pa med 300 in 550 nm (kar sicer na grafu ni najbolj vidno, vendar je Man-Whitneyev test pokazal statistično značilne razlike) ter med 620 in 800 nm (Slika 11).

#### 4.3.4 Povezanost med spektri in lastnostmi listov

Korelacijske analize so pokazale, da sta debelini gobastega in stebričastega tkiva statistično značilno negativno povezani med seboj ( $r_{\text{lok } 1} = -0,72$ ), statistično značilno pa z debelino lista ( $r_{\text{lok } 2} = 0,84$ ,  $r_{\text{lok } 3} = 0,92$ ). Statistično značilno se povezujejo vsebnosti klorofila *a* in *b* ter karotenoidov ( $r_{\text{lok } 1} = 0,90$ ,  $r_{\text{lok } 2} = 0,85$ ,  $r_{\text{lok } 3} = 0,93$ ). Povezujejo se tudi vsebnosti UV-A in UV-B absorbirajočih snovi ( $r_{\text{lok } 1} = 0,95$ ,  $r_{\text{lok } 2} = 0,99$ ,  $r_{\text{lok } 3} = 0,93$ ). Vsebnosti UV absorbirajočih snovi se prav tako povezujejo z vsebnostjo karotenoidov ( $r_{\text{lok } 1} = 0,83$ ,  $r_{\text{lok } 2} = 0,84$ ,  $r_{\text{lok } 3} = 0,75$ ). Vsebnosti klorofila *a* in *b* ter karotenoidov vplivajo predvsem na zeleno-rumeni del odbojnega spektra ( $r_{\text{lok } 1} = 0,80$ ,  $r_{\text{lok } 2} = 0,80$ ,  $r_{\text{lok } 3} = 0,81$ ), delno tudi na zeleno-rumeni del prepustnega spektra ( $r_{\text{lok } 1} = 0,85$ ,  $r_{\text{lok } 3} = 0,71$ ), vsebnosti antocianov pa predvsem na prepustnega ( $r_{\text{lok } 1} = 0,72$ ,  $r_{\text{lok } 2} = 0,83$ ,  $r_{\text{lok } 3} = 0,83$ ). Večji vpliv je zaznati na temnejših delih lista.

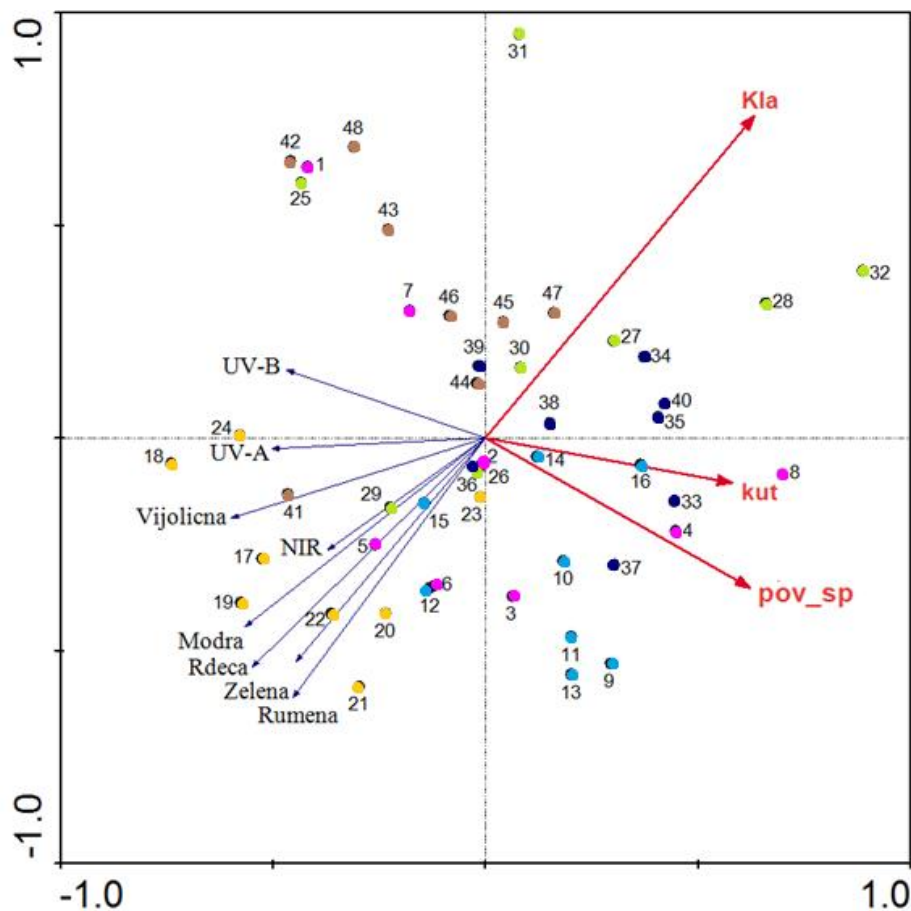
RDA analiza je pokazala, da imata vsebnosti klorofila *a* in UV-A absorbirajočih snovi značilen vpliv na odbojni spekter in razložita 34 % (klorofil *a*) in 6 % (UV-A absorbirajoče snovi) variabilnosti odbojnega spektra. Značilen vpliv na prepustni spekter ima vsebnost klorofila *a* ter debelina spodnje povrhnjice in kutikule. Vsebnost klorofila *a* razloži 11 % variabilnosti prepustnega spektra, debelina spodnje povrhnjice 7 % in debelina kutikule 10 %. Vsebnosti snovi vključenih v RDA so bile podane na površino vzorca.

RDA diagram odbojnega spektra kaže, da so vsebnosti klorofila *a* in UV-A absorbirajočih snovi v pozitivni korelaciji, ter v negativni korelaciji z odbojnim spektrom (brez UV območja). Vzorci, nabrani na različnih lokacijah se grupirajo v skupine, kakor so bili nabrani. Vzorci s svetlejših in temnejših območij na listu se grupirajo v ločene skupine (Slika 12).



**Slika 12:** Diagram redundančne analize odbojnega spektra med morfološkimi in biokemijskimi parametri ter različnimi območji odbojnega spektra. Spremenljivke so označene z puščicami, številke predstavljajo različne vzorce listov: 1-8 vzorec z lokacije 1 na svetlejših delih listov (označen z rožnato barvo), 9-16 vzorec z lokacije 2 na svetlejših delih listov (označen s svetlo modro barvo), 17-24 vzorec z lokacije 3 na svetlejših delih listov (označen z oranžno barvo), 25-32 vzorec z lokacije 1 na temnejših delih listov (označen s svetlo zeleno barvo), 33-40 vzorec z lokacije 2 na temnejših delih listov (označen s temno modro barvo), 41-48 vzorec z lokacije 3 na temnejših delih listov (označen z rjavo barvo).

RDA diagram prepustnega spektra kaže, da so vsebnosti klorofila *a* ter debelina spodnje povrhnjice in kutikule v pozitivni medsebojni korelaciji, ter v negativni korelaciji s prepustnim spektrom. Vzorci, nabrani na različnih lokacijah se grupirajo v skupine, kakor so bili nabrani. Vzorci s svetlejših in temnejših območij na listu se grupirajo v samostojne skupine, ki se v grafu pojavljajo bolj ali manj skupaj (Slika 13).

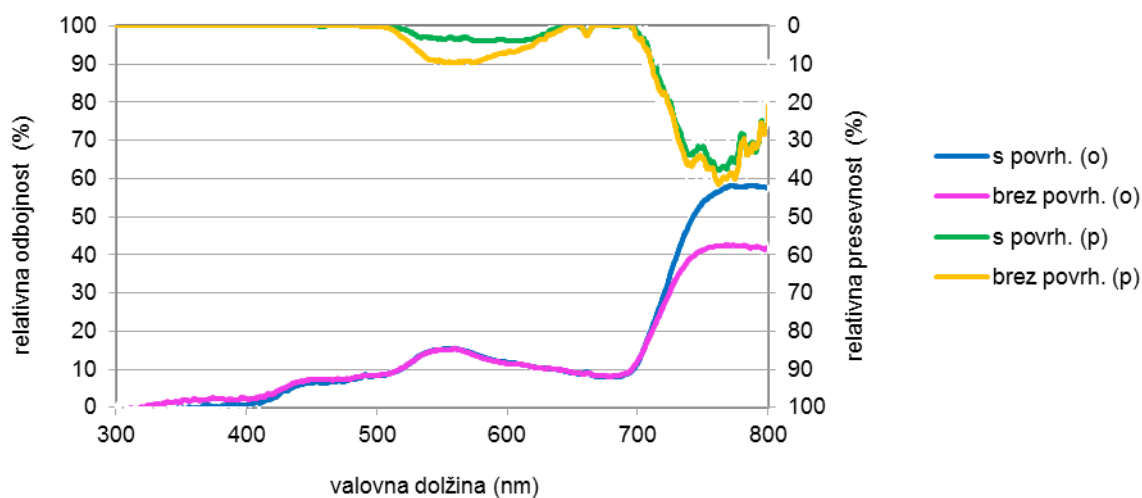


**Slika 13:** Diagram redundančne analize prepustnega spektra med morfološkimi in biokemijskimi parametri ter različnimi območji prepustnega spektra. Spremenljivke so označene z puščicami, številke predstavljajo različne vzorce listov: 1-8 vzorec z lokacije 1 na svetlejših delih listov (označen z rožnato barvo), 9-16 vzorec z lokacije 2 na svetlejših delih listov (označen s svetlo modro barvo), 17-24 vzorec z lokacije 3 na svetlejših delih listov (označen z oranžno barvo), 25-32 vzorec z lokacije 1 na temnejših delih listov (označen s svetlo zeleno barvo), 33-40 vzorec z lokacije 2 na temnejših delih listov (označen s temno modro barvo), 41-48 vzorec z lokacije 3 na temnejših delih listov (označen z rjavo barvo).

## 4.4 VPLIV PRISOTNOSTI SPODNJE POVRH NJICE NA ZNAČILNOSTI LISTA

### 4.4.1 Odbojni in prepustni spektri

Spektri so bili merjeni na svetlejših in temnejših delih listov s prisotno in z odstranjeno spodnjo povrhnjico. Spektri odbojnosti se razlikujejo med 300 in 400 nm ter med 710 in 800 nm, spektri prepustnosti pa med 500 in 610 nm ter med 725 in 780 nm valovne dolžine (Slika 14).



**Slika 14:** Odbojni (o) in prepustni (p) spektri na svetlejših delih listov glede na prisotnost povrhnjice (aprilski vzorec). Prikazane so povprečne vrednosti ( $n=20$ ), izris z natančnostjo 5 nm. Osrednje območje med krivuljami predstavlja delež absorbance.



## 5 RAZPRAVA

### 5.1 VPLIV LISTNEGA VZORCA NA ZNAČILNOSTI LISTA

Rastline z marmoriranimi listi najpogosteje najdemo v podrasti zmerne gozda, običajno so to vednozelenne in zimzelene vrste (Givnish, 1990). V podrasti je precej velika variabilnost sončevega sevanja, zato naj bi listni vzorec, ki ima drugačne optične lastnosti od ostale listne površine, v določenih primerih zagotavljal povečano zaščito pred prekomernim sevanjem (Esteban s sod., 2008). Esteban in sodelavci so v raziskavi to hipotezo ovrgli, rezultati naše raziskave pa so pokazali večjo odbojnost in večjo prepustnost svetlih delov v primerjavi s temnimi. To pomeni večji odboj svetlobe pri velikih jakostih, pa tudi boljši izkoristek nižjih jakosti svetlobe. Po drugi strani pa so temnejši deli bolje zaščiteni zaradi svoje biokemijske zgradbe, predvsem z večjo vsebnostjo karotenoidov.

Antociani in UV absorbirajoče snovi verjetno nimajo vpliva na značilnosti listnega vzorca, saj med svetlejšimi lisami in temnejšimi območji na listu ni statistično značilnih razlik v vsebnosti teh snovi, kar pomeni, da so te snovi enakomerno razporejene po celotni listni lamini: UV absorbirajoče snovi večinoma v zgornji povrhnjici (Filella in Penuelas, 1999; Yoshimura s sod. 2010), antociani pa v spodnji povrhnjici (Lee s sod., 1979). To se odraža tudi pri spektrih odbojnosti in prepustnosti. UV absorbirajoče snovi absorbirajo v UV območju spektra, antociani pa v modrem in UV-delu spektra. Kvaren vpliv ima predvsem visoko energijsko kratkovalovno sevanje (modra in UV svetloba), ki ga antociani in UV absorbirajoče snovi učinkovito absorbirajo (Chalker-Scott, 1999; Merzlyak in sod., 2008; Yoshimura s sod., 2010), posledično na tem območju ni razlik med spektri na svetlejših in temnejših delih lista.

Zaščito pred prekomernim sončnim sevanjem poleg antocianov in UV absorbirajočih snovi zagotavljajo tudi karotenoidi (Schultze s sod., 2005; Filella in Penuelas, 1999), pri katerih pa najdemo statistično značilne razlike med svetlejšimi in temnejšimi območji na listu. Poleg zaščitne funkcije delujejo karotenoidi tudi kot antenski pigmenti v pigment-proteinskih kompleksih. Sposobni so absorbirati svetlobo v modrem delu spektra in jo prenesti na klorofile. S tem razširjajo spektralni obseg v katerem teče fotosinteza (Šircelj, 2008). Razlike se pojavljajo tudi pri klorofilu *a* in *b*, na temnejših delih lista je vsebnost barvil višja, kar se odraža tudi pri spektrih odbojnosti in prepustnosti. Večja vsebnost klorofilov in karotenoidov pomeni večjo absorpcijo ter manjšo odbojnost in prepustnost listnega tkiva v vidnem delu spektra, zato je dober pokazatelj fiziološkega stanja rastline (Liew s sod., 2008).

Klorofila *a* in *b* se v listih nahajata v različnem razmerju, pri sončnih rastlinah je to razmerje okoli 3:1 (Yoshimura s sod., 2010), senčne rastline pa vsebujejo več klorofila *b* (Trošt Sedej, 2005). V listih navadne ciklame se klorofila *a* in *b* nahajata v razmerju 2:1. Klorofili

absorbirajo v modrem in rdečem delu spektra (Liew s sod., 2008), vpliv na optične lastnosti pa se odraža po celotnem vidnem spektru (Baltzer in Thomas, 2005). Za spektre odbojnosti in prepustnosti je značilno, da imajo nizek odziv v UV in vidnem območju z vrhom v zelenem delu (~550 nm) ter relativno visok odziv v bližnjem IR območju (Yoshimura s sod., 2010). Vzrok za višjo odbojnost in prepustnost na svetlejših delih je verjetno notranja struktura stebričastega tkiva, ki je bolj ohlapno organizirana s pogostimi medceličnimi zračnimi prostorčki. Površina celic, ki je na voljo za odboj pod svetlo zelenimi lisami, je tako bolj izpostavljena, sočasno pa so večje celice neizogibno tudi bolj transparentne, kar dovoljuje prodirajoči svetlobi, da je odbita od nižje ležečih slojev celic. Prav tako sta odbojnost in prepustnost višji na svetlejših delih lista, saj je na temnejših delih višja absorpcija svetlobe na račun višje vsebnosti fotosinteznih barvil (Konoplyova in sod., 2008). Esteban in sodelavci (2008) navajajo 30 % manjšo vsebnost klorofila na svetlejših delih listov pri navadnem pljučniku, podobne rezultate je dobila tudi Gaberščikova s sodelavci (2001), v našem primeru je bila razlika za približno za 20 %. To pa ne pomeni višje stopnje fotosinteze na temnejših lisah, kar sta potrdili tudi Konoplyova s sodelavci (2008) in La Rocca s sodelavci (2011). Med različno obarvanimi območji listnega vzorca naj ne bi bilo razlik v stopnji neto fotosinteze na enoto suhe mase (Konoplyova in sod. 2008), še več, svetlejše lise naj bi imele višjo stopnjo fotosinteze na enoto klorofila (La Rocca s sodelavci 2011).

## 5.2 VPLIV SEZONE NA ZNAČILNOSTI LISTA

Vpliv sezone na morfološke lastnosti se odraža pri povečevanju debeline lista ter stebričastega in gobastega tkiva, pri višanju vsebnosti vode in pri povečevanju specifične listne površine. Povečevanje specifične listne površine ne pomeni nujno tanjšanja listov, temveč manjšanje gostote listnih tkiv. Konoplyova s sodelavci (2008) navaja, da so na svetlejših delih listov celice mezofila bolj ohlapno organizirane in s tem vplivajo na prodiranje svetlobe skozi list. Delež sevanja v listopadnem gozdu se z letnimi časi spreminja, pred olistanjem gozda do tal prehaja 50 do 70 % sevanja, ko je gozd olistan pa le 3 do 10 % polnega sevanja. Gostota listnih tkiv se torej zmanjšuje na račun večjega izkoristka vpadne svetlobe (Trošt Sedej, 2005).

Razlike se pojavljajo tudi pri trihomih, katerih gostota je povezana s količino sevanja in dostopnostjo vode (Filella in Penuelas, 1999). Tekom sezone se številčnost povečuje, velikost pa nekoliko upade. Vendar to ni nujno značilen znak, v rastni sezoni se namreč razvijejo novi listi, saj stari po koncu zime postopno propadejo (Gaberščik, ustno), zato bi bilo za točnejšo določitev trenda potrebnih več meritev. Sezonskih razlik pri značilnostih listnih rež ni zaznati.

Vsebnost listnih snovi, ki ščitijo pred prekomernim sončnim sevanjem (UV absorbirajoče snovi, karotenoidi in antociani), se tekom sezone zmanjšuje, skladno z zastiranjem krošenj. Biosintezo UV-B absorbirajočih snovi, antocianov in karotenoidov namreč inducirata UV-B in vidno sevanje (Filella in Penuelas, 1999; Chalker-Scott, 1999; Schultze s sod., 2005). To se odraža tudi pri optičnih lastnostih, predvsem pri spektrih odbojnosti v UV območju. Optične lastnosti lista se namreč lahko skupaj z listnim razvojem spreminjajo tekom leta (Yoshimura s sod., 2010). Februarja je odbojnost najvišja, v aprilu, takoj po olistanju gozda, je odbojnost najnižja, junijska meritev se približa februarški, saj se zmanjša absorpcija UV svetlobe na račun nižje vsebnosti UV absorbirajočih snovi, antocianov in karotenoidov. Karotenoidi in antociani ščitijo tudi pred nizkimi temperaturami in herbivorijo, kar je še dodaten razlog, da so v zimskem času prisotni v višjih koncentracijah (Chalker-Scott, 1999; Filella in Penuelas, 1999; Lev-Yadun s sod., 2002).

Vsebnost klorofila *b* tekom sezone narašča. Korelacijske analize so pokazale, da imajo karotenoidi ter klorofila *a* in *b* statistično značilen vpliv na odbojni spekter, česar pa pri spektrih odbojnosti in prepustnosti ni zaznati, saj se spektri med različnimi meseci v sezoni razlikujejo predvsem na UV in modrem območju spektra ter v rdečem in bližnjem IR delu spektra. V vidnem območju, kjer imajo klorofili največji vpliv na spektralno bilanco, pa statistično značilnih razlik ni.

### 5.3 PRIMERJAVA ZNAČILNOSTI LISTA GLEDE NA RASTIŠČA

Med sončnimi in senčnimi listi se pojavljajo značilne biokemijske, fiziološke, anatomske in morfološke prilagoditve, ki listu omogočajo optimalen izkoristek sevanja. Pod vplivom šibke jakosti sevanja pride do povečevanja specifične listne površine, kar omogoča boljši izkoristek svetlobe (Trošt Sedej, 2005), vendar imajo senčni listi zaradi večje listne ploskve in tanjših listov manjšo fotosintezno kapaciteto ( $Q_i$  in sod., 2003; Oh in Kim, 2010). Tanki listi, večji premer epidermalnih celic in tanka kutikula olajšajo prehajanje svetlobe do mezofila. Gobasto tkivo prevladuje nad stebričastim, ki lahko tudi manjka. Sevanje namreč bolje prehaja skozi ohlapnejše organizirane izodiametrične celice gobastega tkiva kot skozi stebričaste celice. Sončni listi imajo večjo vsebnost antocianov, karotenoidov in flavonoidov, večje razmerje klorofil *a* : *b* ter večje število listnih rež (Trošt Sedej, 2005). Posledično so zaradi debelejših listov in večje vsebnosti UV absorbirajočih snovi manj občutljivi na UV sevanje (Filella in Penuelas, 1999). Vse te značilnosti pa se odražajo na rezultatih, pridobljenih v tej magistrski nalogi.

Analiza morfoloških značilnosti kaže, da se rastišče na poseki (lokacija 1) statistično značilno razlikuje od ostalih dveh rastišč, od rastišča na osojnem pobočju (lokacija 3) še nekoliko bolj

kot od tistega na prisojnim pobočju (lokacija 2). To podpirajo različni parametri, in sicer, specifična listna površina, debelina lista in debelina stebričastega tkiva ter velikost listnih rež. Listi, nabrani na rastišču na poseki, so debelejši, kompaktnjši, imajo večje listne reže in manjšo specifično listno aktivnost. Ostali parametri (vsebnost vode, debelina gobastega tkiva, debelina kutikule, debelina zgornje in spodnje povrhnjice, število listnih rež ter velikost in število trihomov) ne kažejo statistično značilnih razlik med rastišči.

Koncentracije antocianov, klorofila *a* in karotenoidov so na svetlejših delih listov nižje pri listih, nabranih na osojnim rastišču v gozdu. Vsebnosti na temnejših delih lista ne kažejo statistično značilnih razlik, prav tako jih ni pri vsebnostih klorofila *b*. Vsebnost UV-B absorbirajočih snovi na svetlejših delih lista sledi splošnemu trendu vsebnosti snovi v listih, vsebnost UV-A absorbirajočih snovi na svetlejših območjih listov pa ne kaže statistično značilnih razlik. Vsebnosti UV absorbirajočih snovi na temnejših delih listov kažejo statistično značilno večjo vsebnost na prisojnim rastišču v gozdu.

Na splošno gledano se najbolj razlikuje rastišče v gozdu na osojnim pobočju, ostali dve rastišči sta namreč na prisojnim pobočju in imata bolj ali manj primerljive svetlobne razmere, saj so rezultati zajeti iz februarskega vzorca, ko gozd še ni bil olistan.

#### 5.4. VPLIV PRISOTNOSTI SPODNJE POVRHNJICE NA ZNAČILNOSTI LISTA

V zadnjem sklopu primerjav smo se osredotočili na vpliv prisotnosti spodnje povrhnjice. Lee s sodelavci (1979) navaja, da senčne rastline običajno v spodnji povrhnjici nalagajo antociane, najverjetneje na račun dodatnega izplena svetlobe. Hughes je s sodelavci (2008) primerjal odbojnost rdečega dela spektra pri rdeče in zeleni obarvanosti spodnje povrhnjice pri begoniji (*Begonia heracleifolia*). Prišli so do zaključka, da rdeča obarvanost spodnje povrhnjice v primerjavi z zeleno obarvanostjo ne poveča odboja ali sipanja rdeče prepustne svetlobe nazaj v mezofil. Pri navadni ciklami ni enotne obarvanosti spodnje povrhnjice, v naravi najdemo rastline s popolnoma zeleno obarvanostjo spodnje strani lista, kakor tudi rastline z močno vijolično obarvanostjo, ne glede na osončenost rastišča (Bavcon, 2009).

V naši raziskavi je bila odstranjena celotna spodnja povrhnjica. Lee s sodelavci (1979) navaja, da naj bi spodnja povrhnjica odbila več svetlobe kot zgornja. Rezultati kažejo, da je z odstranjenjo spodnje povrhnjice za približno 20 % manjši odboj v bližnjem infrardečem delu spektra, razlike so tudi v UV delu spektra. Prepustnost je za približno 5 % večja v zelenem delu spektra, manjše razlike so tudi v bližnjem infrardečem delu spektra. To kaže na prisotnost klorofilov in antocianov v spodnji povrhnjici. Med obravnavanimi listnimi barvili namreč klorofili odbijajo v zelenem delu spektra, antociani pa v rdečem. Prav tako nobeno od

obravnavanih listnih barvil ne absorbira v zelenem, v modrem absorbirajo tako klorofili in antociani, kot tudi ostala barvila, v rdečem pa absorbirajo le klorofili.

Spodnja povrhnjica deluje kot bariera med zunanjim in notranjim okoljem (Trošt Sedej, 2005), predvsem pa zagotavlja dodaten izkoristek svetlobe (Chalker-Scott, 1999). Optične lastnosti kažejo, da obarvanost spodnje povrhnjice pri navadni ciklami povzročajo tako klorofili kot antociani. Vloga antocianov v spodnji povrhnjici ni popolnoma jasna, o tem je namreč bolj malo znanega (Hughes in sod., 2008). Imajo predvsem zaščitno funkcijo, tako pred prevelikim sončnim sevanjem, prenizkimi temperaturami (Chalker-Scott, 1999), kakor tudi pred rastlinojedi in glivami (Lev-Yadun in sod., 2002). Na podlagi naših raziskav lahko ugotovimo, da spodnja povrhnjica absorbira v UV-A in vijoličnem delu spektra, kar je posledica vsebnosti antocianov, ki imajo absorpcijski vrh tako v modrem kot tudi v UV območju spektra, ter precej poveča odboj rdeče svetlobe v NIR. Za natančnejšo določitev vpliva spodnje povrhnjice pa bi bilo potrebno narediti še morfološke in biokemijske analize.

## 6 SKLEPI

Vpliv sezone se je pri morfoloških značilnostih lista odražal predvsem kot debeljenje tkiv, opaženo je bilo tudi povečevanje vsebnosti vode in specifične listne površine. Vsebnost zaščitnih listnih pigmentov se je tekom sezone zmanjševala, skladno z olistanjem krošenj. Vsebnost klorofila *b* se je tekom sezone povečevala.

Predvidevali smo, da se bodo svetlejša lise in temnejša območja na listnem vzorcu razlikovala v lastnostih. Razlike se kažejo le pri vsebnostih klorofilov in karotenoidov, pri ostalih biokemijskih parametrih (antociani in UV absorbirajoče snovi) pa razlik med svetlejšimi in temnejšimi območji na listu ni. Listni vzorec ima tudi vpliv na optične lastnosti lista.

Prisotnost spodnje povrhnjice ima kar precejšen vpliv na odbojnost in prepustnost sevanja, predvsem v zelenem in bližnje infrardečem delu spektra, nekoliko pa tudi v UV-A in vijoličnem delu svetlobnega spektra.

Tip rastišča ima tudi značilen vpliv na lastnosti lista. Morfološke značilnosti kažejo, da se najbolj razlikujejo listi rastlin, ki rastejo na poseki, po biokemijskih značilnostih pa izstopajo listi rastlin z osojnega rastišča v gozdu.

Biokemijske, morfološke in anatomske značilnosti lista imajo precejšen vpliv na spektre odbojnosti in prepustnosti. Oblike odbojnih in prepustnih spektrov so podobne, razlike, ki se pojavljajo v posameznih delih spektra so posledica biokemijskih in morfoloških lastnosti listov. Spodnja povrhnjica značilno vpliva na optične lastnosti v UV, IR ter zelenem območju spektra. Pri primerjavi svetlejših in temnejših lis so rezultati pokazali večjo odbojnost in prepustnost svetlejših lis v vidnem delu spektra. Razlike v optičnih lastnostih listov v različnih obdobjih v sezoni ter pri rastlinah na različnih rastiščih pa so največje v UV in IR delu spektra.

## 7 POVZETEK

Navadna ciklama (*Cyclamen purpurascens*) je zimzelena zelnata trajnica z gomoljasto koreniko, ki ji omogoča preživetje manj ugodnih razmer. Običajno opazimo njene ledvičaste ali srčaste liste z različnimi vzorci in pogosto rdeče obarvano spodnjo ploskev lista. Za poskusno rastlino smo si jo izbrali ravno zaradi pisanosti listov in obarvanosti spodnje povrhnjice, saj smo želeli ugotoviti njun vpliv na optične lastnosti. Senčno rastišče v gozdu in zimzelenost listov pa sta omogočila širšo zastavitev poskusa.

Liste smo nabirali na prisojnem in osojnim pobočju Rašice, in sicer na poseki, v gozdu na prisojnem pobočju ter v gozdu na osojnim pobočju. Prav tako smo liste nabirali v različnih časovnih obdobjih, in sicer v februarju pred olistanjem gozda, v aprilu takoj po olistanju gozda in v juniju, ko je bil gozd že nekaj časa olistan.

V raziskavi smo želeli ugotoviti kakšen je vpliv morfoloških in biokemijskih parametrov na optične lastnosti listov navadne ciklame. Odbojnost in prepustnost, prav tako pa tudi biokemijske in morfološke parametre, smo merili v različnih obdobjih v sezoni in na različnih lokacijah. Opazovali smo razlike med svetlejšimi in temnejšimi območji listnega vzorca, ki se pojavlja pri večini primerkov navadne ciklame, vendar ne pri vseh enako. Preverili smo tudi vpliv prisotnosti spodnje povrhnjice na odbojnost in prepustnost svetlobnega sevanja.

Vzorčili smo trikrat v sezoni in na treh različnih lokacijah. Vsak nabrani vzorec je obsegal osem listov, aprilski izjemoma dvajset. Na posameznem listu smo preučili svetlejši in temnejši del. Na svežih listih smo v laboratoriju izmerili odbojne in prepustne spektre, iz svežih listov smo za morfološke in anatomske analize pripravili poltrajne preparate, ter vzorce za biokemijske analize, ki smo jih zamrznili, v kolikor analize niso bile takoj izvedene. Vse meritve in analize so bile opravljene na istih listih, kar zagotavlja sledljivost in omogoča povezovanje rezultatov.

Različni avtorji so objavili številna dela, ki opisujejo vplive in značilnosti marmoriranih listov pri različnih zelnatih rodovih. Osredotočili so se predvsem na vpliv listnega vzorca v povezavi s sevanjem, ki pade na list rastline, ter na vpliv, ki ga ima tak vzorec na organizme okoli sebe. V naši raziskavi smo se osredotočili le na vpliv listnega vzorca in obarvanosti spodnje povrhnjice na optične lastnosti. Izsledki raziskave nakazujejo, da naj bi listni vzorec nekoliko ščitil pred prekomernim sončnim sevanjem, saj se vsebnost karotenoidov razlikuje med svetlejšimi in temnejšimi lisami na listnem vzorcu. Karotenoidi so znani kot zaščitni pigmenti, ki na različne načine ščitijo fotosistem pred destruktivnim delovanjem UV in vidnega sevanja. Ostale zaščitne snovi, antociani in UV absorbirajoče snovi, pa ne kažejo razlik med svetlejšimi in temnejšimi deli listov. Poleg karotenoidov se med svetlejšimi in

temnejšimi območji listnega vzorca razlikujejo še vsebnosti klorofilov kar, glede na navedbe avtorjev, lahko vizualno vpliva na herbivore, vključno z insekti.

Vpliv sezone se običajno izraža kot povečevanje zelene biomase ter višanje vsebnosti vode. V našem primeru smo vpliv sezone zaznali kot debeljenje tkiv, višanje vsebnosti vode in povečevanje specifične listne površine. Pri biokemijskih analizah se je to odražalo kot povečevanje vsebnosti klorofila *b*. Pomemben dejavnik sezonskosti je olistanje krošenj, ki vpliva na količino vpadnega sevanja in posledično na vsebnosti zaščitnih snovi, katerih vsebnosti so se tudi v naši raziskavi tekom sezone postopno zmanjševale.

Razlike med rastlinami rastočimi na senčnem in sončnem rastišču, opravljene na začetku rastne sezone, so se pokazale tako pri morfoloških kot pri biokemijskih značilnostih, nekoliko manj izrazite so bile pri odbojnih in prepustnih spektrih. Najverjetneje se kasneje v sezoni te razlike še povečajo.

V zadnjem sklopu meritev smo testirali vpliv prisotnosti spodnje povrhnjice na optične lastnosti. Pri odbojnih spektrih so največje razlike v IR območju, kar je verjetno posledica vsebnosti antocianov. Pri prepustnih spektrih so največje razlike v zelenem območju vidnega spektra, to pa kaže na prisotnost klorofilov in karotenoidov. Značilne razlike so tudi v UV-A in vijoličnem delu svetlobnih spektrov.

Odbojni in prepustni spektri so odraz biokemijskih, morfoloških in anatomskih značilnosti listov. Oblike odbojnih in prepustnih spektrov so podobne, z nizkimi vrednostmi v UV in vidnem delu spektra, nekoliko višjimi v zelenem delu, ter z visokimi vrednostmi v IR delu spektra.



## 8 VIRI

- Baltzer, J. L. in 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
- Bavcon, J. 2009. Navadna ciklama (*Cyclamen purpurascens* Mill.) in njena raznolikost v Sloveniji. Botanični vrt, Oddelek za biologijo, Biotehniška fakulteta: 136 str.
- Bavcon, J. Leaf pattering in *Cyclamen purpurascens* in Slovenia  
<http://www.botanicni-vrt.si/pdf/cyclamen.pdf> (4. okt. 2012)
- Chalker-Scott, L. 1999. Environmental significance of anthocyanins in plant stress responses. *Photochemistry and Photobiology*, 70, 1: 1-9
- Chandrasekharan, R. 2005. Optical properties of leaves. PHY 598 OS, Final Report  
<http://www.docstoc.com/docs/49236849/Optical-properties-of-leaves> (16. okt. 2012)
- Debussche, M. in Thompson, J. D. 2002. Morphological differentiation among closely related species with disjunct distributions: a case study of Mediterranean *Cyclamen* L. subgen. *Psilanthum* Schwarz (Primulaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society*, 139: 133-144
- Esteban, R., Fernandez-Marin, B., Becerril, J. M., Garcia-Plazaola, J. I. 2008. Photoprotective implications of leaf variegation in *E. dens-canis* L. and *P. officinalis* L. *Journal of Plant Physiology*, 165: 1255-1263
- Filella, I. in Penuelas, 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., Novak, M., Trošt, T., Mazej, Z., Germ, M., Björn, L. O. 2001. The influence of enhanced UV-B radiation on the spring geophyte *Pulmonaria officinalis*. *Plant Ecology*, 154: 51-56
- Givnish, T. J. 1990. Leaf mottling: relation to growth form and leaf phenology and possible role as camouflage. *Functional Ecology*, 4: 463-474
- Hara, N. 1957. Study of the variegated leaves, with special reference to those caused by airspaces. *The Journal of Japanese Botany*, 16: 86-101

- Holmes, M. G. in Keiler, D. R. 2002. Effects of pubescence and waxes on the reflectance of leaves in the ultraviolet and photosynthetic wavebands: a comparison of range of species. *Plant, Cell and Environment*, 25: 85-93
- Hughes, N. M., Vogelmann, T. C., Smith, W. K. 2008. Optical effects of abaxial anthocyanin on absorption of red wavelengths by understorey species: revisiting the backscatter hypothesis. *Journal of Experimental Botany*, 59: 3435-3442
- Jalali, N., Naderi, R., Shahi-Gharahlar, A., Teixeira da Silva, J. A. 2012. Tissue culture of *Cyclamen* ssp. *Scientia Horticulturae*, 137: 11-19
- Klančnik, K., Mlinar, M., Gaberščik, A. 2012. Heterophylly results in a variety of »spectral signatures« in aquatic plant species. *Aquatic botany*, 98: 20-26
- Konoplyova, A., Petropoulou, Y., Yiotis, C., Psaras, G. K., Manetas, Y. 2008. The fine structure and photosynthetic cost of structural leaf variegation. *Functional Ecology of Plants*, 203: 653-662
- Larcher, W., 2001. *Physiological Plant Ecology: ecophysiology and stress physiology of functional groups*, 4. izdaja. Berlin Heidelberg, Springer-Verlag: 232-295
- La Rocca, N., Rascio, N., Pupillo, P. 2011. Variegation in *Arum italicum* leaves. A structural-functional study. *Plant Physiology and Biochemistry*, 49: 1392-1398
- Lee, D. W., Lowry, J. B., Stone, B. C. 1979. Abaxial anthocyanin layer in leaves of tropical rain forest plants: enhancer of light capture in deep shade. *Biotropica*, 11: 70-77
- Levizou, E., Drilias, P., Psaras, G. K. in Manetas, 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: 463-472
- Lev-Yadun, S. 2009. Aposematic (warning) coloration in plants. V: *Signaling and Communication in Plants: Plant-Environment Interactions*. Baluška, F. (ur.). Berlin Heidelberg, Springer-Verlag: 167-202
- Lev-Yadun, S., Inbar, M., Izhaki, I., Ne'eman, G. 2002. Colour patterns in vegetative parts of plants deserve more research attention. *Trends in Plant Science*, 7: 59-60
- 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., Wraber, T., Ravnik, V., Jogan, N., Podobnik, A., Turk, B., Vreš, B., Frajman, B., Strgulc-Krajšek, S., Trščak, B., Bačič, T., Fischer, M. A., Eler, K., Surina, B. 2007. Mala flora Slovenije: ključ za določanje praprotnic in semenk. 4. dopolnjena in spremenjena izdaja. Ljubljana, Tehniška založba Slovenije: 967 str.
- Merzlyak, M. N., Melo, T. B., Naqvi, K. R. 2004. Estimation of leaf transmittance in the near infrared region through reflectance measurements. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 74: 145-150
- Merzlyak, M. N., Chivkunova, O. B., Solocvhenko, A. E. in Naqvi, K. R. 2008. Light absorption by anthocyanins in juvenile, stressed, and senescing leaves. *Journal of Experimental Botany*, 59: 3903-3911
- Mlinar, M. 2011. Odbojni spektri listov vodne dresni in rumenega blatnika. Diplomsko delo. Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za biologijo: 55 str.
- Oh, W. in Kim, K. S. 2010. Temperate and light intensity induce morphological and anatomical changes of leaf petiole and lamina in *Cyclamen persicum*. *Horticulture, Environment, and Biotechnology*, 51: 494-500
- Petauer, T. 1993. Leksikon rastlinskih bogastev, 1 izdaja. Tehniška založba Slovenije, Ljubljana: 162-163.
- Pfajfar, U. 2007. Sezonska dinamika aktivnosti navadne ciklame (*Cyclamen purpurascens*). Diplomsko delo. Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za biologijo: 41 str.
- 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: 229-240
- Schulze, E. D., Beck, E., Müller- Hohenstein, K. 2005. *Plant Ecology*. Berlin Heidelberg, Springer-Verlag: 702 str.
- Smith, A. P. 1986. Ecology of a leaf color polymorphism in a tropical forest species. *Oecologia*, 69: 283-287
- Šircelj, H. 2008. Karotenoidi v fotosinteznem aparatu in odziv na stres. *Acta agriculturae Slovenica*, 91: 271-282

- Tome, D. 2006. Ekologija: organizmi v prostoru in času. Tehniška založba Slovenije, Ljubljana: 344 str.
- Trošt Sedej, T. 2005. Ekologija rastlin: priročnik za vaje. Ljubljana, Študentska založba: 81 str.
- Uredba o zavarovanih prosto živečih rastlinskih vrstah – neuradno prečiščeno besedilo (2009)  
<http://www.natura2000.gov.si/index.php?id=140#c164> (23. jan. 2013)
- Woolley, J. T. 1971. Reflectance and transmittance of light by leaves. *Plant Physiology*, 47: 656-662
- Yoshimura, H., Zhu, H., Yunying, W., 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: 179-191

## **ZAHVALE**

Najprej gre zahvala prof. dr. Alenki Gaberščik za mentorstvo in strokovno pomoč, za spodbudo, podporo in prijazen odnos. Hvala tudi Katji in Draganu za nasvete in pomoč pri terenskem in laboratorijskem delu ter pri obdelavi podatkov.

Zahvaljujem se tudi doc. dr. Alešu Kladniku in doc. dr. Katarini Vogel Mikuš za pregled magistrskega dela.

Predvsem pa gre zahvala staršem, ki so mi omogočili študij, me podpirali ter po potrebi tudi pomagali in svetovali. Hvala tudi Klemnu, Sebastjanu ter prijateljem za spodbudo in pomoč med študijem in pri pisanju magistrskega dela.

Hvala!

## Priloga A

### Fiziološke značilnosti

Meritve fotokemične učinkovitosti (FU) in transpiracije so bile izvedene v mesecu avgustu, takrat so bile rastline že precej oslabiljene zaradi dolgotrajnejše suše. V času meritev so bile v velikem stresu in niso transpirirale, zato pridobljeni podatki niso bili primerni za nadaljnjo obdelavo (Preglednica 7).

**Preglednica 7:** Vrednosti dejanske (Y) in potencialne (Fv/Fm) fotokemične učinkovitosti (FU), merjeno na terenu v mesecu avgustu.

	potencialna FU (Fv/Fm)		dejanska FU (Y)		transpiracija
	svetli	temni	svetli	temni	
list 1	0,609	0,685	0,081	0,067	-
list 2	0,574	0,606	0,029	0,071	-
list 3	0,081	0,023	0,014	0,013	-
list 4	0,003	0,009	0,008	0,027	-
list 5	0,656	0,422	0,014	0,039	-
list 6	0,281	0,122	0,130	0,011	-
list 7	0,508	0,363	0,096	0,133	-
list 8	0,115	0,235	0,016	0,033	-
list 9	0,474	0,406	0,086	0,072	-
list 10	0,713	0,742	0,563	0,383	-

## Priloga B

### Vsebnost snovi v listih glede na suho maso vzorca

#### VPLIV LISTNEGA VZORCA NA ZNAČILNOSTI LISTA

**Preglednica 8:** Vsebnost snovi v listih glede na suho maso vzorca [relativna enota/g ss; mg/g ss] (februarski vzorec, nabran na prisojnem rastišču v gozdu). Prikazane so povprečne vrednosti  $\pm$  SD (n=8).

	svetli	temni
UV-B [relativna enota/g ss]	2,00 $\pm$ 0,39	2,42 $\pm$ 0,43
UV-A [relativna enota/g ss]	4,03 $\pm$ 0,88	4,76 $\pm$ 0,84
antociani [relativna enota/g ss]	0,15 $\pm$ 0,03	0,18 $\pm$ 0,03
klorofil <i>a</i> [mg/g ss]	3,42 $\pm$ 0,46	4,27 $\pm$ 0,42
klorofil <i>b</i> [mg/g ss]	1,60 $\pm$ 0,34	2,03 $\pm$ 0,34
karotenoidi [mg/g ss]	1,42 $\pm$ 0,16	1,71 $\pm$ 0,13

#### VPLIV SEZONE NA ZNAČILNOSTI LISTA

**Preglednica 9:** Spreminjanje vsebnosti biokemijskih parametrov tekom sezone glede na suho maso vzorca [relativna enota/g ss; mg/g ss]. Prikazane so povprečne vrednosti  $\pm$  SD (n=8, n<sub>apr.</sub> =20).

	feb.	apr.	jun.
<b>antociani</b> [relativna enota/g ss]			
svetli	0,15 $\pm$ 0,03	0,13 $\pm$ 0,03	0,15 $\pm$ 0,04
temni	0,18 $\pm$ 0,03	0,16 $\pm$ 0,05	0,32 $\pm$ 0,03
<b>UV-B absorbirajoče snovi</b> [relativna enota/g ss]			
svetli	2,00 $\pm$ 0,39	1,96 $\pm$ 0,43	2,10 $\pm$ 0,29
temni	2,42 $\pm$ 0,43	2,06 $\pm$ 0,30	2,28 $\pm$ 0,35
<b>UV-A absorbirajoče snovi</b> [relativna enota/g ss]			
svetli	4,03 $\pm$ 0,88	3,62 $\pm$ 0,72	4,00 $\pm$ 0,64
temni	4,76 $\pm$ 0,84	3,84 $\pm$ 0,60	4,23 $\pm$ 0,61
<b>klorofil <i>a</i></b> [mg/g ss]			
svetli	3,42 $\pm$ 0,46	4,91 $\pm$ 1,05	5,37 $\pm$ 0,98
temni	4,27 $\pm$ 0,42	6,03 $\pm$ 0,98	8,39 $\pm$ 1,58
<b>klorofil <i>b</i></b> [mg/g ss]			
svetli	1,60 $\pm$ 0,34	2,85 $\pm$ 0,77	3,40 $\pm$ 0,59
temni	2,03 $\pm$ 0,34	3,84 $\pm$ 0,76	5,37 $\pm$ 1,09
<b>karotenoidi</b> [mg/g ss]			
svetli	1,42 $\pm$ 0,16	1,45 $\pm$ 0,25	1,45 $\pm$ 0,25
temni	1,71 $\pm$ 0,13	1,75 $\pm$ 0,28	2,23 $\pm$ 0,40

## PRIMERJAVA RASTIŠČ GLEDE NA ZNAČILNOSTI LISTA

**Preglednica 10:** Spreminjanje vsebnosti biokemijskih parametrov glede na suho maso vzorca [relativna enota/g ss; mg/g ss] med lokacijami. Prikazane so povprečne vrednosti  $\pm$  SD ( $n=8$ ,  $n_{apr.}=20$ ).

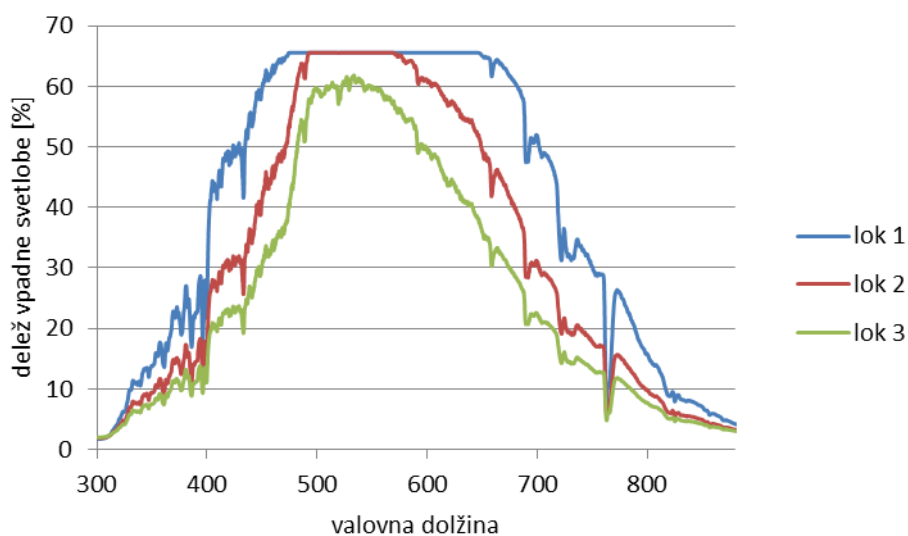
	lok 1	lok 2	lok 3
<b>antociani</b> [relativna enota/g ss]			
svetli	0,06 $\pm$ 0,01	0,15 $\pm$ 0,03	0,06 $\pm$ 0,01
temni	0,08 $\pm$ 0,02	0,18 $\pm$ 0,03	0,08 $\pm$ 0,03
<b>UV-B absorbirajoče snovi</b> [relativna enota/g ss]			
svetli	0,96 $\pm$ 0,22	2,00 $\pm$ 0,39	1,78 $\pm$ 0,52
temni	0,79 $\pm$ 0,17	2,42 $\pm$ 0,43	2,09 $\pm$ 0,39
<b>UV-A absorbirajoče snovi</b> [relativna enota/g ss]			
svetli	1,82 $\pm$ 0,43	4,03 $\pm$ 0,88	3,55 $\pm$ 1,19
temni	1,48 $\pm$ 0,34	4,76 $\pm$ 0,84	3,95 $\pm$ 0,91
<b>klorofil a</b> [mg/g ss]			
svetli	1,57 $\pm$ 0,31	3,42 $\pm$ 0,46	2,97 $\pm$ 0,51
temni	1,98 $\pm$ 0,49	4,27 $\pm$ 0,42	4,95 $\pm$ 0,71
<b>klorofil b</b> [mg/g ss]			
svetli	1,35 $\pm$ 0,42	1,60 $\pm$ 0,34	1,40 $\pm$ 0,32
temni	1,75 $\pm$ 0,67	2,03 $\pm$ 0,34	2,54 $\pm$ 0,37
<b>karotenoidi</b> [mg/g ss]			
svetli	0,69 $\pm$ 0,12	1,42 $\pm$ 0,16	1,12 $\pm$ 0,18
temni	0,84 $\pm$ 0,16	1,71 $\pm$ 0,13	1,71 $\pm$ 0,25



## Priloga C

### Svetlobni spektri sevanja na terenu in količina vpadne svetlobe

Svetlobne spektre in količino vpadne svetlobe smo izmerili na terenu v mesecu februarju na treh različnih lokacijah (Slika 15, Preglednica 11). Meritve so bile opravljene v dopoldanskem času, vreme je bilo precej oblačno.



**Slika 15:** Delež vpadne svetlobe [%], izmerjeno na terenu v mesecu februarju na treh različnih lokacijah.

**Preglednica 11:** Količina vpadne svetlobe [ $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ], izmerjeno na terenu v mesecu februarju na treh različnih lokacijah.

lokacija	lok 1	lok 2	lok 3
vpadna svetloba [ $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ]	305	170	165