

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH  
ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA

Studijní program: N4106 Zemědělská specializace

Studijní obor: Biologie a ochrana zájmových organismů

Zadávací katedra: Katedra biologických disciplín

Vedoucí katedry: doc. RNDr. Ing. Josef Rajchard, Ph.D.

DIPLOMOVÁ PRÁCE

**Závislost obsahu chlorofylu v listnatých dřevinách  
na znečištění prostředí**

Vedoucí diplomové práce: Ing. Karel Suchý, Ph.D.

Autor: Bc. Miroslava Kleinová

České Budějovice

2014

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své diplomové práce, a to- v nezkrácené podobě- v úpravě vzniklé vypuštěním vyznačených částí archivovaných zemědělskou fakultou - elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby kvalifikační práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé kvalifikační práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

V Českých Budějovicích dne .....

.....

Miroslava Kleinová

## **Poděkování**

Ráda bych poděkovala především svému školiteli Karlovi Suchému za skvělé vedení po celou dobu průběhu mé diplomové práce. Můj velký dík patří také celé mé milující rodině za jejich velkou podporu. A z celého srdce děkuji mé nejlepší přítelkyni, která nás před měsícem navždy opustila, a bez které bych nikdy nedošla ke svému vysněnému cíli...

Děkuji....

## ABSTRAKT

Cílem této práce bylo stanovit obsah chlorofylu v závislosti na znečištění prostředí, ve kterém se rostliny vyskytují. Dále zjistit jak je závislý obsah chlorofylu na druhové příslušnosti, to znamená, zda je obsah chlorofylu ovlivněn více u lípy srdčité (*Tilia cordata*) nebo u platanu západního (*Platanus occidentalis*). Na závěr statisticky vyhodnotit data a porovnat metodu spektrofotometrie a fluorescence.

Od poloviny května do konce srpna byly testovány listy lípy srdčité (*Tilia cordata*) a listy platanu západního (*Platanus occidentalis*). Vzorky byly odebírány ve třech lokalitách s různou mírou znečištění. Z každé lokality byly vzorky odebírány ze třech stromů po čtyřech listech. Za předpokladu nejmenšího znečištění automobilovou dopravou byly listy odebírány z lokalit Kratochvíle a Vitějovice. S hypotézou středního znečištění pak z lokality Stromovka a s předpokládaným největším znečištěním automobilovou dopravou byly listy odebírány v lokalitě Jiráskovo nábřeží a Lannova třída v Českých Budějovicích. Celkem bylo odebráno a následně změřeno 144 listů pro obsah chlorofylu *a* a *b* stanovený spektrofotometrickou metodou a 144 listů pro analýzu fluorescence pocházející z výše uvedených lokalit.

Potvrdilo se, že rostliny reagují na stres ze znečištění ovzduší automobilovou dopravou a to tak, že se zvyšuje obsah chlorofylů a maximální kvantový výtěžek v závislosti na míře znečištění lokality, ve které se rostlina vyskytuje. To znamená, že čím větší je míra znečištění, tím větší je obsah chlorofylu a maximální kvantový výtěžek. Také se potvrdil předpoklad, že se bude lišit obsah chlorofylů (a také maximální kvantový výtěžek) v závislosti na druhové příslušnosti. Více chlorofylů obsahuje lípa. Neprokázano se, že by platan méně reagoval na znečištění ovzduší oproti lípě, o které je známo, že je méně odolná vůči stresu. Rozdíl v obsahu chlorofylů v závislosti na znečištění je statisticky prokazatelný (ve většině případů je vysoce významně prokazatelný) téměř ve všech případech. Rozdílné ovlivnění chlorofylů u lípy a platanu nebylo potvrzeno. Shodnost obou metod se zcela neprokázala. Statistické vyhodnocení sice poukazuje na shodnost v prokazatelnosti rozdílů lokalit jak u maximálního kvantového výtěžku, tak u obsahu chlorofylů, ale nebylo možné tyto dvě metody komplexně porovnat, a to zejména proto, že spektrofotometrickou metodou můžeme určit obsah jednotlivých chlorofylů, u metody fluorescence můžeme určit pouze kvalitu probíhající fotosyntézy.

## **KLÍČOVÁ SLOVA**

Fotosyntéza

List

Fluorescence

Stres

Znečištění

Spektrofotometrie

## ABSTRACT

The purpose of this work was the establishment of the amount of chlorophyll in diverse species of deciduous trees in environment contaminated by road transport. To determine this, the tests were made from may to august on the leaves of a small-leaved lime tree (*Tilia cordata*) and sycamore tree (*Platanus occidentalis*).

The samples for this work were taken from three trees, four leaves from each one. The smallest pollution by a road transport was supposed to be in the locality of villages Kratochvíle and Vitějovice, bigger in Stromovka and the greatest on Jiráskovo nábřeží and Lannova třída in České Budějovice city.. For the content of chlorophyll a and b has been 144 leaves measured with the spectrofotometric methode and 144 leaves for the analysis of fluorescence in the plants from the localities mentioned above.

It was confirmed that the plants do respond to pollution from road transport. The content of chlorophyll grows, and the lime tree shows more chlorophyll then the sycamore tree. It is known that lime tree is more resistant to stress. The effect of the different influence on the lime and the sycamore tree was not documented. The amount of chlorophyll is depend on the genetic classification of the plants. The statistic evaluation shows confirmity as much by the amount of quantities, as by the content of chlorophyll, but it was nos possible to compare this methods completely. The reason for it was that with the spectrometric methode one can find the content of the chlorophyll, but by fluorescence one can determine only the quality of photosynthesis.

## **KEY WORDS**

Photosynthesis

Leaf

Fluorescence

Sress

Pollution

Spectrofotometrie

# Obsah

<b>1 Úvod</b>	<b>12</b>
<b>2 Literární přehled</b>	<b>13</b>
2.1 Princip fotosyntézy	13
2.1.1 Fotosyntetická barviva	14
2.1.2 Primární (světelná) fáze	15
2.1.3 Absorpce a přenos elektronů	16
2.1.4 Sekundární fáze	18
2.2 Fotosyntetické struktury	19
2.2.1 Listy	19
2.2.2 Chloroplasty	20
2.2.3 Tvorba pigmentů	21
2.2.4 Fotosyntetická chlorofylová jednotka	21
2.3 Stres	21
2.3.1 Vlivy vnějšího prostředí	22
2.3.2 Stresová reakce	23
2.3.3 Výsledek stresové reakce	24
2.3.4 Vliv adaptací na vnitřní prostředí organismu	25
2.3.5 Obecné mechanismy adaptačních dějů	25
2.4 Znečištění ovzduší	26
2.4.1 Složení vzduchu jako stresový faktor	26
2.4.1.1 Oxid siřičitý, oxidy dusíku, fluorovodík, ozón	26
2.4.1.2 Vliv oxidu uhličitého na fotosyntézu	28
2.5 Vliv záření na stres rostlin	29
2.5.1 Intenzita světla	29
2.5.2 Ultrafialové záření	30
2.6 Charakteristika a princip měření	31
2.6.1 Fluorescence	31
2.6.2 Spektrofotometrické stanovení obsahu chlorofylu v listech	32



<b>3 Metodika</b>	<b>33</b>
3.1 Materiál a metodika	33
3.1.1 Modelové rostliny	33
3.1.2 Experimentální uspořádání	36
3.1.3 Statistické zpracování	37
<b>4 Výsledky</b>	<b>38</b>
4.1 Květnový odběr	38
4.2 Červnový odběr	44
4.3 Červencový odběr	50
4.4 Srpnový odběr	56
<b>5 Diskuze</b>	<b>62</b>
<b>6 Závěr</b>	<b>64</b>
<b>7 Seznam použité literatury</b>	<b>66</b>







# 1 Úvod

V sedmdesátých a osmdesátých letech došlo v České republice k výraznému zvýšení znečištění ovzduší, vedoucímu k silnému poškození lesních porostů, především v horských oblastech severu Čech (Balcar a kol. 1994). I když ve vyspělých zemích v současnosti dochází neustále ke snižování emisí z oxidu siřičitého, a to zejména nahrazením spalovaného uhlí za zemní plyn a technologickými úpravami spalovacího procesu, zvyšuje se podíl automobilové dopravy, díky které znečišťování ovzduší stále narůstá. Expozici polutantů je aktuálně věnována zvýšená pozornost, zejména v městských, nebo průmyslových aglomeracích. S rostoucí intenzitou dopravy listy působí jako přírodní jímky pro škodlivé částice a tyto částice mohou být dokonce obohaceny dusíkem nebo těžkými kovy. Obsah chlorofylů (tedy fyziologický stav rostliny) se mění v důsledku působení nejrůznějších stresových faktorů. Těmito faktory jsou, kromě znečištění, například také chlad, vysoké teploty, vysoké ozáření, nedostatek vody a jiné.

Tato práce se zabývá vztahem mezi obsahem chlorofylu a jeho fluorescencí jako stresovým faktorem – působením toxických látek pomocí dvou metod, metodou fluorescence a metodou spektrofotometrického stanovení obsahu chlorofylu. Sledování probíhala na lokalitách s různou mírou znečištění automobilovou dopravou. Výsledky analýz mohou na základě tabulkového srovnání a statistického vyhodnocení poskytnout informaci o schopnostech vybraných dvou druhů dřevin tolerovat stres v závislosti na míře znečištění.

## 2 Literární přehled

### 2.1 Princip fotosyntézy

Rostliny představují jakési otevřené systémy, v kterých dochází k trvalé výměně hmoty, energie a výměně informací s okolím. V biosféře mají výjimečné postavení, zejména kvůli tomu, že uskutečňují vstup energie do biosféry z venku. Ve fotosyntetických procesech rostliny absorbují energii ze slunečního záření a tu pak dále přeměňují na energii chemickou. Chemickou energii dále využívají na stavbu a údržbu svého těla. Mimo velmi důležitých organických látek jako jsou cukry a tuky, vzniká během primární fotosyntézy, v důsledku fyzikálních dějů, také kyslík. Kyslíku se za rok uvolní do atmosféry přibližně 100 miliard tun. Na naší planetě vznikly první fototrofní organismy před třemi miliardami let (Soukupová a Roháček 2005).

Fotosyntetickou aktivitu mohou provádět jen fototrofní organismy, jsou tímto schopné měnit energii slunečního záření na energii chemické vazby. Ve velké většině jsou fototrofové zároveň i autotrofní, tedy sami si vytvářejí organické látky, a to z jednoduchých anorganických látek (Dieter 1983).

Fotosyntéza běží podle obecné rovnice. Do této rovnice se zapojuje  $\text{CO}_2$ . Oxid uhličitý rostlina přijímá z prostředí. Dále se do rovnice zapojuje zdroj vodíku, kterým je nejčastěji voda. U anoxygenní fotosyntézy (tedy při nedostatku kyslíku) je voda nahrazena atomárním vodíkem, amoniakem či sulfonem nebo organickými kyselinami. Na tuto směs působí fotony. Ty způsobují skládání  $\text{CO}_2$  na složitější organické látky. Jsou jimi nejčastěji cukry a to především glukóza. Mimo jiné se uvolňuje odpadní produkt. Ten je závislý na použitém zdroji vodíku. Nejčastěji se tedy uvolňuje kyslík a to z vody. U anoxygenní fotosyntézy se uvolňuje S a nebo  $\text{N}_2$ . K redukci  $\text{CO}_2$  dochází právě vodíkem. U rostlin se toto děje v chloroplastech (Voet a Voetová 1999).

Chloroplasty buněčné organely, které jsou typické pro rostlinnou buňku. Jsou tvořeny vnitřní a vnější membránou. Mezi vnější a vnitřní membránou je mezimembránový prostor. Uvnitř chloroplastu je tzv. vnitrobuněčný prostor - stroma. Zde probíhá sekundární fáze fotosyntézy. Pro primární fázi fotosyntézy jsou důležité jiné útvary. Tyto útvary jsou v chloroplastech roztroušené. Jedná se o tzv. thylakoidy. Na jejich membráně jsou uloženy oba fotosystémy. Fotosystémy jsou strukturní jednotky sloužící k zachycení a pohlcení světelné energie. Thylakoidy se shlukují do útvarů, tak zvaných gran. Jsou to thylakoidy naskládané na sebe. I tato jednotlivá grana jsou navzájem pro-

pojeny thylakoidy. Každé granum obsahuje několik thylakoidů. Thylakoidy se skládají z membrány a vnitrothylakoidního prostoru. Tomuto útvaru říkáme lumen. Podobně jako je tomu i u mitochondrií, se v chloroplastech nachází ribozomy i DNA. Chloroplast je oproti mitochondriím 3x až 4x větší (Procházka a kol. 1998).

Primární neboli světelnou fází tvoří reakce, které jsou závislé na světle. Tato fáze probíhá pouze v thylakoidech. Princip primární fáze je využití světelné energie k tvorbě NADPH a ATP. Ty jsou potřeba k syntéze sacharidů mimo jiné v temnostní fázi fotosyntézy. V sekundární, neboli temnostní, fázi probíhají reakce, které nejsou přímo závislé na světle, ale jsou závislé na primární fázi. Přeneseně řečeno, jsou na slunečním záření závislé. To znamená, že ve tmě fotosyntéza neprobíhá. Při temnostní fázi dochází k energeticky náročné redukci  $C^{IV}$  (který tvoří molekuly  $CO_2$ ) na  $C^0$ . Jedná se tedy o anabolické děje. Z tohoto důvodu se zde nebudou uplatňovat jako redukční činidla  $NAD^+$ , ale NADP. Jako zdroj energie se využívá i zde ATP, konkrétně to ATP, které bylo vytvořeno ve světelné fázi fotosyntézy (Lawlor 1993).

### 2.1.1 Fotosyntetická barviva

Hlavním fotosyntetickým barvivem je chlorofyl. Chlorofylu existuje několik typů, které označujeme jako A, B, C a D. Chlorofyl C a D je v menšině a vyskytuje se jen u malého množství fototrofů, jako jsou například řasy. Struktura chlorofylu je však u všech typů téměř stejná. Tvoří ho porfyrinové jádro, které má centrální atom  $Mg^{2+}$ . Na něm je navázána řada substituentů. Právě díky odlišnosti těchto jednotlivých substituentů na porfyrinovém skeletu se chlorofyly odlišují. Na porfyrinovém jádře je navázán, za pomoci esterové vazby dvacetí uhlíkatý řetězec, který je nazvaný fytol. Před navázáním na porfyrin se jednalo o alkohol. Jelikož tento řetězec neobsahuje žádné neuhlíkaté substituenty, na rozdíl od porfyrinu, má hydrofobní charakter. To mu umožňuje, aby byl fytol zapaštěn do fosfolipidové membrány thylakoidů (Procházka 1998).

Pro fotosyntézu rostlin jsou nejdůležitějšími chlorofyly *a* a *b*, které dokáží nejlépe pohlcovat určité vlnové délky. Nazývají se absorpční maxima. Tato maxima se nacházejí především v modré a červené části spektra, tedy 400 až 500 nm a 650 až 700 nm, konkrétně u chlorofylu *a* je to 430 a 662 nm a pro chlorofyl *b* je to 453 a 642 nm. K největší absorpci dochází při vlnové délce 453 nm na chlorofylu *b*. Při této vlnové délce absorbuje až 80% záření. Mezi těmito úseky spektra téměř nedochází k absorpci

světla. Ostatní vlnové délky chlorofyly pouze odrážejí, a proto se rostliny jeví jako zelené. Tomuto úseku spektra říkáme zelené okno (Šebánek a kol. 1983).

Fotosyntézy se účastní i další barviva. V oblasti vlnových délek 400 až 500 nm doplňují chlorofyl karotenoidy. K zaplnění již zmiňovaného zeleného okna mohou být využita i jiná nezelená barviva, jako fykoerytrin a fykocyanin u sinic. Fykoerytrin a fykocyanin pokrývají mezeru v absorpci chlorofylů. Absorbují zelené spektrum v rozmezí od 450 nm do 650 nm. Rostliny jsou schopné využívat určité spektrum, nazývané FAR, tedy Photosynthetic Active Radiation (Lawlor 1993). U vyšších rostlin se vždy vyskytují dva typy chlorofylů. Chlorofyl *a* a chlorofyl *b*. Obsah těchto pigmentů je obvykle v poměru 3:1 - 4:1. Chlorofyly jsou nezbytné k zachycení záření a následnou přeměnu energie (Taiz a Zeiger 2002).

Průměrný list je tvořen zhruba 70 miliony buněk. V každé buňce je zhruba 600 milionů molekul chlorofylu. Rozdíl mezi chlorofylem *a* a chlorofylem *b* je pouze v rozdílných skupinách na 3. atomu uhlíku. V chlorofylu převládá lipofilní charakter. To znamená, že jsou rozpustné v nepolárních organických rozpouštědlech. Pro vlastní přeměnu energie ve fotosyntéze je nezbytný chlorofyl *a*. Všechny ostatní pigmenty mají pouze pomocnou funkci. Pouze zachytávají dopadající kvanta záření a energie svého excitovaného stavu, které předávají na chlorofyl *a*. výchozí sloučeninou pro syntézu fytolu je acetyl-CoA, který postupným připojením dvou dalších jednotek acetyl-CoA a redukcí účinkem NADPH+H<sup>+</sup> přechází na kyselinu mevalonovou za uvolnění koenzymu A. Dekarboxylací a následným odštěpením vody za spotřeby ATP se tvoří z kyseliny mevalonové izopentenylpyrofosfát (IPP), který je v rovnováze s jeho izomerem dimethylallylpyrofosfát (DMAPP). Ten je východiskem syntézy jednotlivých izoproteinů. Přebývá názor, že syntéza vedoucí k vytvoření karotenoidů a fytolu probíhá jen v cytosolu. Druhý názor je, že může docházet k biosyntéze i v chloroplastech (Dieter 1983).

### **2.1.2 Primární (světelná) fáze**

Světelná fáze fotosyntézy začíná jako excitace elektronů fotosyntetických barviv. Světelná fáze probíhá na dvou reakčních centrech, označovaných jako fotosystémy. Rozlišujeme fotosystém I (p700) a fotosystém II (p680). Principiálně probíhá reakce tak, že nejprve je pohlceno světelné záření, jehož energie je přenesena na molekulu chlorofylu *a*. Zde dojde k další excitaci elektronů, tím se z chlorofylu *a* stane silnější



redukční činidlo. Elektrony tedy způsobily klesnutí redoxního potenciálu chlorofylu. Excitované elektrony se pak snáze uvolní (Linskens 1984).

V thylakoidní membráně jsou zapuštěné fotosystémy, které obsahují pár speciálních molekul chlorofylu *a*. Kolem tohoto chlorofylu jsou uskupeny další barviva. Tyto barviva označujeme jako anténní pigmenty neboli doplňkové pigmenty (chlorofyl *b*, karoteny, fykoerytrin, fykocyanin). Dopadne-li na ně světlo, dojde k jejich excitaci, ale nedochází k jejich oxidaci. Dále přenáší foton přes celý anténální komplex až na reakční centrum. Reakční centrum již tento foton oxiduje. To znamená, že reakcí fotonu s chlorofylem dojde ke ztrátě vysokoenergetického elektronu. Při pohlcení fotonu o nižší vlnové délce, to znamená fotonu z fialového spektra, dochází k excitaci chlorofylu až na druhý excitovaný stav. Z tohoto stavu se samovolně elektron vrací na první excitovaný stav. Tato přeměna ale už není doprovázena zářením. Pohltí-li chlorofyl foton o nižší energii, to znamená o vyšší vlnové délce, dojde pouze k excitaci na první excitovaný stav. Odtud se chlorofyl znovu vrací na základní stav. Při této přeměně dochází k uvolnění energie. Ta způsobí fotooxidaci. Podobně jako je tomu u dýchacího řetězce, i zde dochází k přenosu elektronů. Tyto děje probíhají na membráně thylakoidů. Na membráně jsou uspořádány komplexy, které jsou zodpovědné za přenos elektronu a transport  $H^+$  do lumenu, tedy dutiny thylakoidu. Těch se pak využívá k syntéze ATP (Lawlor 1993).

### 2.1.3 Absorpce a přenos elektronů

Prvním krokem je dopad fotonu na fotosystém II. Na něm je navázán komplex OEC tedy Oxygen Evolving Complex. Je to enzym, který je schopen hydrolyzovat vodu. Při fotolýze jedné molekuly vody dochází k uvolnění dvou elektronů. Zároveň ale také k vzniku kyslíku, což je odpadní produkt, a dvou protonů  $H^+$ . Protony se pak podílí na výrobě ATP. Vzniklé elektrony se používají na redukci chlorofylu z fotosystému II. Ten byl oxidován při poslední absorpci a přenosu elektronů. Dochází tedy k regeneraci fotosystému II, který může být opět oxidován dopadajícími fotony. Protože poskytuje fotolýza vody 2 elektrony, musí docházet i ke dvěma oxidacím chlorofylu. To znamená, že dochází i k uvolnění 2 elektronů. Soustava se již dostává do záporných čísel. Postupně se snižuje dalšími přenosy elektronů až k excitaci fotosystému I. Zde se redoxní potenciál opět zvyšuje. K poslednímu navýšení redoxního potenciálu, kdyse ale stále pohybujeme v záporných číslech, dochází na posledním komplexu. Jed-

ná se o komplex ferredoxin-NADP<sup>+</sup>-reduktáza. Zde máme excitovaný, respektive oxidovaný, fotosystém II. Díky němu máme uvolněné elektrony. Tyto elektrony se spotřebovávají v dalším komplexu. Jedná se o komplex plastochinonu, tedy koenzymu Q. Na tomto komplexu dochází k navázání protonů H<sup>+</sup>, právě díky těmto elektronům. Jedná se o cyklus Q (Voet a Voetová 1999).

Takto navázané protony se uvolňují v následujícím komplexu. Jedná se o komplex cytochromů b6 a f. Zde dochází k uvolňování protonů i elektronů. Protony jsou uvolňovány do lumenu thylakoidu. Elektrony jdou do dalšího komplexu, tedy do komplexu plastocyaninu.

Komplex plastocyaninu poskytuje elektrony dále do fotosystému I. Ten je opět schopen absorbovat další fotony. Tím se opět oxidují a uvolňují další elektrony. K procesům dochází opakovaně. Chlorofyly se tedy musí neustále obnovovat, to znamená redukovat. K redukcí fotosystému I se používají nově příchozí elektrony. Jelikož jsou dva, může chlorofyl p700 absorbovat hned 2 fotony a tedy posílá dále 2 elektrony.

Tyto dva elektrony jdou do dalšího komplexu. A to nejprve do fylochinonu a následně do ferredoxinu. Posledním článkem přenosového řetězce je ferredoxin-NADP<sup>+</sup>-reduktáza. Díky níž dochází k navazování protonu na NADP<sup>+</sup>. Ta se díky příchozím elektronům redukuje na NADPH + H<sup>+</sup>. Zde končí přenos elektronů, ale zdaleka ne celý řetězec. Řetězec je tvořen ještě jedním článkem a tímto článkem je konkrétně ATP-syntáza. Vznik ATP je způsoben, podobně jako oxidativní fosforilace, protonovým gradientem. Je tedy způsoben aktivním přenosem H<sup>+</sup> do lumenu, odkud je zpětně, a to bez spotřeby energie, vpouštěn do stromatu. Ve stromatu může docházet ke dvěma odlišným procesům. Prvním z těchto procesů je cyklická fotofosforilace. K cyklické fotofosforilaci dochází pouze za určitých podmínek. Dochází při ní k regeneraci fotosystému I a to tím elektronem, který byl předtím z něj excitován. To znamená, že elektron krouží v kruhu. Při tomto způsobu se nevyužívá elektron transportního řetězce a nevzniká při něm NADPH + H<sup>+</sup>. Při tomto způsobu vzniká pouze ATP. Elektron se přenáší na komplex cytochromů, zde dochází k syntéze ATP a následně je elektron opět přenášen na fotosystém I. Fotosystem I tímto regeneruje (Šebánek a kol. 1983).

Druhý proces, který probíhá ve stromatu, je fosforilace. Proces fosforilace je mnohem častější. Při fosforilaci se elektrony používají na oxidaci NADPH + H<sup>+</sup>, a to postupem přes různé oxidoreduktázové koenzymy. Vzniklý NADP<sup>+</sup> se zapojuje do p<sub>680</sub>, který jej dále přenáší na OEC. Ten je schopen hydrolyzovat vodu. Zde se nově uvolněné protony navazují na přenašeče a elektrony, které pak způsobují opětovnou

regeneraci fotosystému II. Jako necyklický se označuje zejména proto, že se elektron z fotosystému I nevrací zpět, ale vrací se do fotosystému II. Dále může docházet k produkci ATP. Produkce ATP je způsobena gradientem protonů. Primární fáze je od sekundární oddělena časově ale i místně. Primární fázi jde shrnout touto rovnicí:  $\text{H}_2\text{O} + \text{NADP}^+ + \text{P} + \text{ADP} \rightarrow \text{O}_2 + \text{NADPH} + \text{H}^+ + \text{ATP}$  (Voet a Voetová 1999).

#### 2.1.4 Sekundární fáze

Pokud je prostředí znečištěno, dochází ke zhoršení přijímání oxidu uhličitého v sekundární fázi (Dieter 1983). Prvním krokem iniciační fáze, tedy sekundární fáze, je fixace oxidu uhličitého. Oxid uhličitý se navazuje na ribulózu-1,5-bisfosfát. Jedná se o karboxylaci, proto se také označuje jako karboxylační fáze. Je to zejména proto, že se na ribulózu skutečně navazuje skupina  $\text{COO}^-$ , čímž vzniká nestabilní meziproduct. Meziproduct se rozpadá na dvě molekuly 3-fosfoglycerátu. Rozpad je katalyzován enzymem RuBisCO, celým názvem ribulóza-1,5-bisfosfát-karboxyláza-oxygenáza (Kincl a Krpeš 1994).

Tyto reakce jsou také prvními reakcemi Calvinova cyklu. Během Calvinova cyklu jsou 3 molekuly  $\text{CO}_2$  přeměňovány na složitější organické sloučeniny. Cyklus, probíhá ve stromatu chloroplastů. Cyklus je ale velmi energeticky náročný. Proto se zde používá ATP, které bylo vytvořeno v primární fázi. Celková spotřeba je 9 molekul ATP a 6 molekul  $\text{NADPH} + \text{H}^+$ . Calvinův cyklus se rozděluje na 3 fáze. Jsou to fáze karboxylační, následující redukční a konečně také regenerační fáze. Šest nově vzniklých molekul 3-fosfoglycerátu se obohacuje o fosfát, který vznikl ze štěpení ATP za vzniku 1,3-bisfosfoglycerátu. Redukční fáze dále pokračuje tím, že se takto vzniklý 1,3-bisfosfoglycerát redukuje na glyceraldehyd-3-fosfát. Vzniká 6 molekul glyceraldehyd-3-fosfát. U této reakce se spotřebovává  $\text{NADPH} + \text{H}^+$  z primární fáze, za jeho pomoci se bisfosfoglycerát redukuje (Dieter 1983).

Tímto způsobem vzniká 6 molekul glyceraldehydu-3-fosfátu. Z 6 molekul 5 molekul pokračuje dále v reakcích Calvinova cyklu a poslední šestá molekula se použije na tvorbu potřebných látek. Zejména na tvorbu cukrů, mastných kyselin, aminokyselin atd. V chloroplastu se mění transitorní glukóza na tranzitorní sacharózu. Z té může vzniknout zásobní škrob nebo sacharóza. Dále pak může vznikat stavební látka většiny rostlin, tedy celulóza. Když vznikne glyceraldehyd-3-fosfát, končí redukční fáze. Calvinův cyklus pokračuje v regenerační fázi. Z 5 molekul glyceraldehydu-3-fosfátu vzni-

kají 3 molekuly ribulóza-5-fosfátu, v této reakci se uvolňují 2 fosfáty. Dále pak je vzniklá ribulóza-5-fosfát obohacena o další fosfáty, čímž vznikají 3 molekuly ribulóza-1,5-bisfosfátu, díky kterým došlo k regeneraci látky, která reagovala s asimilovaným oxidem uhličitým a cyklus se tedy může odehrát znovu (Voet a Voetová 1999).

## 2.2 Fotosyntetické struktury

### 2.2.1 Listy

Listy jsou nejvýznamnější morfologickou strukturou rostlin, která je adaptovaná k zabezpečení celého komplexu procesů, souhrnně označovaných jako fotosyntéza. V celé rostlinné říši představují listy velmi specifické orgány. Tenké ploché útvary již napohled naznačují vývojové přizpůsobení k maximální absorpci slunečního záření a k maximálnímu zkrácení transportních drah při výměně plynů mezi vnitřním prostorem listu a okolní atmosférou. Vnitřní povrch listu je 10x až 20x větší než vnější povrch. Tímto se neobyčejně zvětšuje plocha, na které probíhá výměna plynů mezi buňkami mezofylu a vzduchem v intercelulárách (Kincl a Krpeš 2006).

List, tedy *folium*, je postranním vegetativním orgánem rostlin. Je omezeného vzrůstu. To znamená, že dosahuje od několika milimetrů až po 2 m<sup>2</sup> a zpravidla do plochy rozšířený. Plošné rozšíření listu je evolučně výhodná adaptace rostliny. Tato adaptace může být ještě umocněna aktivním nastavením listu vůči světelným paprskům. Listy dělíme na asimilační listy, což je základní typ, a dále děložní listeny a lístky. List má tři základní funkce, výměna plynů s okolním prostředím, odpařování vody a fotosyntéza. Listy jsou velmi citlivé na prostředí, zejména na vyšší koncentrace sloučenin fluoru nebo oxidu siřičitého (Bláha a kol. 2003).

Na povrchu listu je pokožka tvořená plochými buňkami, které se nazývají epidermis. Vnější stěna je pokrytá kutikulou. Součástí epidermis jsou průduchy, papily a trichomy. U dřevin jsou průduchy zpravidla na spodní straně listů. U bylin jsou průduchy vyvinuty na obou stranách. Hustota průduchů se mění podle druhu a může jich být i několik set na 1 mm<sup>2</sup>. Struktura a tvar těchto sousedních buněk u průduchů jsou důležitým diagnostickým znakem. Přebytná voda je z listů vylučována vodními skulinami, tak zvanými hydrotodami, které bývají na špičce listů nebo na okraji zoubků (Procházka 1998).

Základním pletivem listů je mezofyl. Mezofyl je u bifaciálního listu rozčleněn na svrchní, tak zvaný palisádový parenchym, a dolní, tak zvaný houbový parenchym. Palisádové buňky obsahují značné množství chloroplastů protáhlého tvaru. Houbový parenchym obsahuje méně chloroplastů a je tvořen zejména laločnatými buňkami. Houbový parenchym vytváří mezibuněčné prostory pro výměnu plynů a vody (Kincl a Krpeš 2006).

Soubor cévních svazků v listech tvoří žilnatinu, neboli nervaturu. Nejpůvodnějším typem je žilnatina vidličnatá. Tento typ je dochován u některých kapradin. Tvoří přibližně stejné žilky, vidličnatě větvené, bez spojení příčnými spojkami tak zvanými anastomózami. U rostlin dvouděložných se vyskytuje nejčastěji žilnatina dlanitá a zpeřená. Vzácněji se objevuje žilnatina snožená (Šebánek a kol. 1983). Ze stonku do listu přecházejí svazky bez překrucování. Dřevo kolaterálního svazku je na vrchní straně a lýko na vnitřní straně čepele. (Dieter 1983).

### 2.2.2 Chloroplasty

Chloroplasty jsou nejmenší strukturní a funkční jednotkou, která je schopná i po izolaci fixovat CO<sub>2</sub>, absorbovat záření a zabudovávat C do sacharidů. Tato fotosyntetická struktura má dvě obalové membrány, pod kterými je vnitřní amorfní médium zvané stroma (Taiz a Zeiger 2002). Typickými útvary, vyskytující se v chloroplastu, jsou thylakoidy. Ty představují rozprostřené systémy vnitřní membrány podobné zploštělým měchýřkům. Membránu thylakoidů tvoří lipidová dvojvrstva. Na tuto dvojvrstvu jsou vloženy bílkoviny nezbytné pro první, tedy světelnou, část fotosyntézy. Vnitřní prostor thylakoidu se nazývá lumen. Oxidoredukční reakce tak zvané světelné fáze fotosyntézy probíhají ve čtyřech hlavních proteinových komplexech thylakoidální membrány (Dieter 1983). Na stomatálních thylakoidech lze rozlišit malé útvary jako fotosystém I, zatímco větší částice na vnějším povrchu těchto thylakoidů se považují za ATPázy. Na stěsnaných membránách granulárních thylakoidů bývají detekovány velké částice struktur světloměrného pigmentoproteinového komplexu fotosystému II. Membránu thylakoidů tvoří lipidová dvojvrstva, která má hlavní složku galaktolipid a fosfolipid. Absorpci kvant záření a jejich přenos zajišťují pigmentoproteinové komplexy. Ty jsou tvořeny chlorofyly a karotenoidy, které jsou vázány na bílkoviny (Linskens 1984).

### 2.2.3 Tvorba pigmentů

V rostlinách je biosyntéza pigmentů ovlivněna mnoha faktory, a to jak vnitřními tak vnějšími. Hlavním faktorem je genetický. Určující je však i světlo, teplota, výživa a voda. U většiny rostlin (až na některé zelené řasy a některé jehličnany) se barviva mohou tvořit pouze na světle. Základní podmínkou pro tvorbu pigmentů je tedy světlo a přítomnost protochlorofylu. Rostliny vyrůstající bez světla jsou žluté nebo bílé. To je následkem karotenu a xantofylu. U těchto rostlin byl nalezen protochlorofyl, který se po následném osvětlení rostliny přeměňuje na chlorofyl. Modré světlo, tedy světlo krátkovlnné, napomáhá ke tvorbě karotenů. Naopak červené světlo, tedy dlouhovlnné, napomáhá ke tvorbě chlorofylu. Dalším důležitým faktorem pro tvorbu chlorofylu je přítomnost dvojmocného železa, a to alespoň v nepatrném množství. Při jeho nedostatku mají rostliny bledožlutou barvu (Šebánek a kol. 1983).

### 2.2.4 Fotosyntetická chlorofylová jednotka

Pigmenty mohou fotosyntetizovat jen v určitém seskupení v kvantozómech. Kvantozóm znamená spojení několika molekul akceptorů elektronů. Kvantotrop je část kvantozómu, která se zúčastňuje na přenosu elektronů. Za fotosyntetickou chlorofylovou jednotku se momentálně pokládá jednotka o 2400 molekulách chlorofylu. Ta se skládá z 4 podjednotek, které obsahují 600 molekul chlorofylu. Takto velká jednotka je schopná uskutečnit fotosyntézu. Tedy je schopná přenosu elektronů, fotolyzace vody a přeměny světelné energie v chemickou (po přijetí oxidu uhličitého). Na přijetí jedné molekuly oxidu uhličitého je potřeba 8 kvant světelného záření (Lawlor 1993).

## 2.3 Stres

Stres je obecně nepříznivý stav, který je vyvolán působením činitele zvaného stresor. Stres je každý vliv podmínek prostředí, vyvolávající tak zvanou stresovou reakci. Z tohoto hlediska je každý z nás (i rostlina) po celý život vystavován stresu (Rajchard, 1999). Stres vyvolá tak zvanou stresovou reakci, což je aktivace obranných mechanismů. U rostlin může být stresorem např. zaplavení, nedostatek živin, příliš vysoká ozáření, nízké teploty a podobně. Často je stres způsoben nedostatkem nebo naopak nadbytkem nějakého potřebného a běžného faktoru (voda, kyslík, světlo...). Stres je běžnou součástí života všech rostlin, mají proto mechanismy, které jim napomáhají se se stresem vypořádat. Vazba na půdu jim navíc neumožňuje před stresem uniknout,

proto musí být vybaveny zvláště účinnými obrannými mechanismy a schopností regenerace, která vyplývá z totipotence rostlinných buněk. Totipotence je schopnost buňky vytvořit jakýkoliv typ buňky, který se v organismu vyskytuje. Každá totipotentní buňka obsahuje kompletní genetickou informaci, která je dána pro celý organismus a má tuto jedinečnou schopnost diferenciaci. U rostlin může např. z vrcholového meristému, který obsahuje totipotentní buňky, zregenerovat za vhodných specifických podmínek celá rostlina (Nilsen a Orcutt 1996).

O stresu můžeme mluvit i na buněčné úrovni. Vlivem jakéhokoliv stresu dochází ke změnám ve struktuře i ultrastruktuře buňky. Zejména dochází ke změnám u organel složených z membrán, ale i u jádra, cytoskeletu či ribozomů. Hlavním způsobem ochrany buňky je změna membránových fosfolipidů. Buňka se snaží zajistit osmotickou stabilitu a zastavuje produkci některých postradatelných proteinů. Naopak buňka startuje syntézu některých specifických bílkovin, označovaných jako stresové. Jsou to proteiny o molekulární hmotnosti 27-110 kDa. Většina těchto látek je v buňce přítomna i za normálního fyziologického stavu a má v buňce úplně jinou funkci. Stresovou reakcí v buňce stoupá jejich produkce a navíc je indukována syntéza dalších typů těchto proteinů. Když zastoupení poškozených bílkovinných struktur v buňce stoupá, zvyšuje se i potřeba systémů pro jejich degradaci. Tyto systémy mají za cíl zachovat vnitřní prostředí buňky v rovnovážném stavu. Odolnost buňky, neboli tolerance, je do jisté míry nespecifická (Rajchard 1999).

### **2.3.1 Vlivy vnějšího prostředí**

Nepříznivé vlivy vnějšího prostředí mohou zpomalovat životní funkce rostlin, poškozovat jednotlivé orgány rostlin, nebo dokonce způsobit odumírání rostliny. Každý rostlinný druh toleruje určité rozpětí jednotlivých faktorů a interval mezi maximální a minimální tolerovanou hodnotou se nazývá ekologickou valencí faktoru. Taková hodnota, při které se organismus nejlépe vyvíjí, se nazývá optimum. Toto optimum nemusí být vždy přímo uprostřed ekologické valence. Vlivem konkurence se často posouvá a může být i značně blízko letálních hranic (Bláha a kol. 2003).

Pro jednotlivé vlivy prostředí lze s určitou opatrností stanovit meze, které už nejsou pro vývoj a růst rostlin optimální a kdy jsou nutné změny vlastností rostlin pro další rozmnožování a vývoj rostlin. Na živé organismy ale nikdy nepůsobí pouze jednotlivé faktory vnějšího prostředí. Působí na ně celý komplex vlivů. Jsou to vlivy

abiotické, tedy fyzikální a chemické, a biotické faktory, tedy živé organismy včetně člověka. Tyto faktory vstupují do vzájemných interakcí. Zejména proto není možné definovat přesné hranice, kdy se jedná o silný tlak komplexu negativních vnějších podmínek, vůči kterým je rostlina ještě přizpůsobena a je schopna se s nimi během vegetace vyrovnat, a od kdy již rostlina strádá. Ve chvíli, kdy rostlina tak zvaně strádá, je nutná reakce rostliny či dokonce změna genetické výbavy (Krpeš a Kincl 2006).

Negativní vnější vlivy, tedy stresory, působí na celou rostlinu. To znamená, že působí na kořeny, nadzemní část rostliny i na vyvíjející se semena rostlin. Rostliny, respektive druhy rostlin, jsou přizpůsobeny k vykonávání všech velice důležitých životních funkcí za poměrně značného kolísání faktorů vnějšího prostředí. Při působení stresorů může rostlina dosáhnout nového rovnovážného stavu. Ten vzniká na základě činnosti kompenzačních procesů. Při nezvládnutí vlivu stresorů může dojít až k uhynutí rostliny. Pod vlivem stresorů dochází ke spuštění stresových reakcí (Jenks a Hasegawa 2005).

### **2.3.2 Stresové reakce**

Stresová reakce neboli adaptační syndrom má tři stádia. Je to fáze poplachová, fáze rezistence a fáze vyčerpání.

Poplachová fáze (stádium šoku) je zahájena bezprostředně po účinku stresoru či spíše kombinace stresorů, kdy jsou jejich působením narušeny buněčné struktury a životní funkce rostliny (Bláha a kol. 2003). Rychlé fyziologické odezvy jsou obvykle v sekundovém či minutovém rozmezí. Hlavní podstatou této fáze jsou biochemické změny enzymatického aparátu buněk. Vnitřní prostředí organismu informují o změně vnějšího prostředí smyslové orgány, které jsou nervově aktivovány. Dochází k aktivaci určitých enzymů. Enzymy se naváží na jejich substráty a vznikají produkty. Produkty formují fyziologické reakce organismu určitým směrem, který je pro danou situaci potřebný. Reakce, jinak řečeno poplachová fáze, nastává zejména na jednorázový podnět. Podnět musí mít samozřejmě určitou intenzitu. Potřebná, tedy prahová, intenzita pro vyvolání poplachové fáze se liší podle druhu organismu, délky trvání i individuální dispozice (Rajchard 1999).

Při fázi rezistence (stádium odolnosti) dochází k odolnosti rostliny vůči působícím stresorům (Bláha a kol. 2003). Tato fáze je obvykle vyvolávaná opakovaným či dlouhodobým podnětem. Podnět přesvědčí organismus, že jednorázová reakce není



adekvátní odpovědí organismu a že je nutné přejít k složitějším opatřením v rámci fyziologických mechanismů. Jsou to tedy biologicky výhodné fyziologické změny organismu, které jsou nutné k zachování homeostatické rovnováhy. Biologicky výhodné fyziologické změny v sobě zahrnují jak změny na buněčné úrovni, tak na úrovni enzymatické a na úrovni regulace celého organismu. Změny jsou časově náročné. Trvají řádově dny až týdny. Přechod mezi reakcí a adaptací je vždy plynulý (Rajchard 1999).

Při dlouhodobém a intenzivním vlivu stresorů nemusí být zvýšená odolnost rostlin vždy trvalého charakteru a může dojít opět k jejímu poklesu a dojde ke stádiu vyčerpání (deformaci), tedy úhynu organismu (Bláha a kol. 2003). Na rozdíl od odpovědi na změny ekologických faktorů ve fázi poplachové (reakce) a fázi rezistence (adaptace), má tato fáze odpověď nevýhodnou. Odpovědi jsou odrazem neschopnosti organismu kompenzovat nepříznivé vlivy vnějších faktorů. Ty jsou vyvolané biologicky tak zvané nezvládnutelným podnětem. To znamená, že podnět může být příliš dlouhodobý, intenzivní či obojí. Nastávají patologické změny či dokonce zánik organismu (Rajchard 1999).

### **2.3.3 Výsledek stresové reakce**

Výsledkem stresové reakce je určitá úroveň adaptačních schopností. Přechodně se může zvýšit i úroveň odolnosti vůči abiotickým stresorům. Jev přechodného zvýšení odolnosti se nazývá aklimace. Některé rostlinné druhy se dokáží vyhnout působení stresů, většinou se však rostlina snaží o nastolení tolerance vůči stresu (Nilsen a Orcutt 1996).

Negativní fyzikální a chemické vlivy vnějšího prostředí, tedy abiotické stresory, a negativní biologické vlivy, tedy biotické stresory, se mohou uplatňovat vnitrodruhově, mezi rostlinami stejného druhu nebo mezidruhově, mezi rostlinou a ostatními organismy, zejména viry, bakteriemi, houbami, hmyzem, jinými rostlinnými druhy, vyššími živočichy a člověkem. Působení biotických stresorů bývá zesilováno abiotickými nebo i biotickými stresory. Výsledkem je pak oslabená rostlina s méně kvalitními semeny. Stresory se tak nepřímo projevují i v životních pochodech rostlin následujících generací, i když původní negativní jevy již nepůsobí (Bláha a kol. 2003).

Pokud proměnlivost negativních faktorů vnějšího prostředí překročí určitou mez, tedy toleranci rostliny, lze hovořit o stresu rostliny. To znamená, že se objeví poruchy struktur jednotlivých funkcí a následně i orgánů rostlin. Stres je tedy definicí stavu,

kdy se rostlina nachází pod vlivem stresorů. Ve stresových podmínkách se veškeré biologické regulace adaptací rostlin uskutečňují vždy na molekulární úrovni organismů (Jenks a Hasegawa 2005).

### **2.3.4 Vliv adaptací na vnitřní prostředí organismu**

Každý fyziologický děj je jakýmsi souborem změn ve vnitřním prostředí organismu. O to víc se toto tvrzení dotýká adaptací, které jsou fyziologické podstaty. Adaptace jsou odpovědi na vnější vlivy. V rámci adaptačních mechanismů existují dva typy strategií úpravy vnitřního prostředí. Podle těchto strategií lze rozlišit dva typy organismů. Jedná se o konformační a regulační organismy. Konformační typ organismu mění své vnitřní prostředí úměrně se změnami prostředí vnějšího. V rámci určitého rozmezí umožňuje přežití organismu. U rostlin tohoto typu se adaptace projevuje posunem závislosti životních dějů na faktorech prostředí a to určitým směrem. Zatím co regulační typ organismu udržuje své vnitřní prostředí v širokém rozmezí ekologických faktorů a to konstantně. Toto konstantní udržování v širokém rozmezí je řízeno kompenzačními zpětnovazebními mechanismy. V určitém působení faktorů vnějších, organismy udržují i kvalitativní stránku homeostázy vnitřního prostředí (Rajchard 1999).

### **2.3.5 Obecné mechanismy adaptačních dějů**

Adaptační procesy dělíme na několik základních článků. Prvním z nich je adaptační činitel, tedy stresor, vyvolává samotnou adaptaci organismu. Následuje receptor, který přijímá příslušné signály z vnějšího prostředí a přechází na přenašeč. Tento článek předává podněty z vnějšího prostředí příslušnému celku, tedy orgánu či tkáni, prostředí vnitřního. Dále je efektor, který je cílovým celkem, to znamená tkání nebo orgánem. Efektor má za úkol nástup a průběh adaptačního děje. Na efektor navazuje regulátor. Ten může, ale nemusí, být zapojen mezi přenašeč a efektor a to jako regulační prvek systému, který upravuje signály přenášené z vnějšího prostředí do vnitřního prostředí. Posledním článkem je tak zvaný adaptát. Adaptát je výsledkem adaptačního děje (Linskens 1984).

## 2.4 Znečištění ovzduší

Ve vyspělých zemích sice došlo postupem času ke značnému snížení emisí oxidu siřičitého díky nahrazení spalování uhlí za zemní plyn a technologickým úpravám spalovacího procesu a to včetně instalací odsiřovacích jednotek, ale na druhé straně došlo k tomu, že se na znečištění ovzduší výrazně zvýšil podíl dopravy. Vlivem nedokonalého spalování paliv v motoru dochází ke znečištění ovzduší. Částečně spálené palivo je emitováno do ovzduší stejně jako oxid uhelnatý. Při spalovacím procesu také vzniká oxid dusíku, který vzniká reakcí kyslíku a dusíku při vysoké teplotě a vysokém tlaku. Na znečišťování ovzduší se nejvíce podílí právě automobilová doprava. Ta tvoří 83-94 % celkového znečištění ovzduší (Adamec a kol. 2008)

### 2.4.1 Složení vzduchu jako stresový faktor

#### 2.4.1.1 Oxid siřičitý, oxidy dusíku, fluorovodík a ozón

Na rostlinu nepůsobí z atmosférických jevů pouze sluneční záření, nýbrž také ozón a koncentrace látek v ovzduší. Škodlivé látky se do ovzduší dostávají mimo jiné z přirozených zdrojů jako například vulkanickou činností, požáry, samovolným únikem plynů z rašelinišť, ale především lidskou činností. Je to zejména průmyslové znečištění a automobilové výfukové plyny. Takto se do ovzduší dostávají především oxidy síry, a dříve používané freony. Freony se dříve běžně používaly do sprejů a chladících zařízení, posléze se zjistilo, že uvolňují v ozónové vrstvě chlór, který zamezuje vzniku ozónu. Molekula ozónu  $O_3$  se rozpadá na molekulu kyslíku  $O_2$  a biradikál kyslíku:  $O_3 \rightarrow O_2 + \bullet O \bullet$ . Obecně většinu z těchto látek nazýváme skleníkové plyny. K poškození rostlin těmito škodlivými látkami dochází při součinu doby jejich působení a koncentrace. Tento vztah je ale lineární pouze v jistém rozmezí, a to když je spodní hranice určována prahovou koncentrací (Bláha a kol. 2003).

Nejvýznamnějším stresovým faktorem je bezesporu oxid siřičitý. Oxid siřičitý je zejména ze spalování tuhých paliv, zvláště pak ze sirného hnědého uhlí. Imise popílku omezují přístup slunečního záření a omezují výměnu plynů tím, že ucpávají průduchy. Imisi ještě zesiluje obsah těžkých kovů a toxických látek (Kincl a Krpeš 2006).

Jako efektivní bariéru pro vsup oxidu siřičitého a dalších cizorodých látek působí epidermální buňky rostlin, které jsou kryté voskovou kutikulou. Hlavní vstupní branou pro oxid siřičitý jsou průduchy, kterými se plyn, při vhodné vlhkosti, dostává

během celého dne do buněk. V případě, že je relativní vlhkost vzduch 40%, i nízká koncentrace oxidu siřičitého způsobí zvětšování svěracích buněk a následné otevírání průduchů. Do buněk se dostane velké množství oxidu siřičitého a navíc rostlina ztrácí velké množství vody transpirací. Ve chvíli, kdy vstoupí oxid siřičitý do listu průduchy, dostává se do kontaktu s buněčnou stěnou mezofylových buněk. Tady dochází k rozpouštění oxidu siřičitého v mezibuněčné vodě a vznikají sulfitové a bisulfitové ionty. Pouze velmi malá část oxidu zůstává neionizována v roztoku. Ionty jsou velmi nestálé a reaktivní. Aby se dostaly z mezibuněčných prostor, musejí projít přes buněčnou stěnu a membrány k chloroplastům. Naprostá většina vstupuje do chloroplastů, kde v menších koncentracích nepůsobí škodlivě. Je-li dostatečné záření, dochází v chloroplastech k redukci anorganické síry a k jejich zabudování do organických vazeb. Při tomto vstupu může dojít k roztržení plazmatické membrány, a tím nastávají sekundární změny v příjmu iontů (Voet a Voetová 1999).

Ke skutečnému poškození dochází ve většině případů v chloroplastu a to v thylakoidní membráně. Thylakoidní membrány se zvětšují. V některých případech dochází ke zmenšování či zcela k vymizení gran. Může se měnit i tvar chloroplastů. Pokud stres pokračuje, stává se stroma drsnější, vzrůstá počet plastoglobulů a v konečném stádiu dochází k degradaci chlorofylu. V důsledku těchto změn v anatomické stavbě chloroplastů dochází ke snižování intenzity fotosyntézy. Fotosyntéza může být narušena poškozením fotosyntetických přenašečů elektronů. Oxid siřičitý také poškozuje membrány obou fotosystémů. Více citlivý na oxid siřičitý je fotosystém II. Ve vysokých koncentracích dokonce blokuje tento oxid enzym ribulosobisfosfátcarboxylázy/oxygenázy – RuBisCo. Se sníženou fotosyntézou úzce souvisí nižší produkce sušiny biomasy a snížený reprodukční potenciál rostliny (Bláha a kol. 2003).

Mezi další škodlivé faktory můžeme zařadit oxidy dusíku a fluorovodíky. Ve většině případů dochází k akutnímu poškození, které bývá patrné na první pohled. Jedná se především o ztrátu zeleně listů, protože dochází k etiolizaci, tedy odbarvení listů. Dále dochází k výskytu plošných nekrotických pletiv a orgánů. Může dojít i k odumření celého organismu. Rostliny mají poruchy intenzity dýchání, poruchy ve vodním provozu a zhoršenou mrazuvzdornost. Stromy mají velmi oslabený růst (zejména menší kambální přírůstky). V průběhu několika let u stromů řídne olistění, dodávky vody ve vrcholcích korun je pořád obtížnější. Nejprve usychají větve, postupně dochází k odumření celého stromu (Rajchard 1999).

Dalším velmi škodlivým faktorem je ozón. Naprostá většina ozónu vzniká fotolýzou plyných organických sloučenin a fotolýzou oxid dusíku. Účinkem UV záření dochází k rozkladu těchto látek. Velké koncentrace ozónu se vytvářejí ve znečištěném ovzduší v horních vrstvách. Koncentrace je během dne i během roku různá. Ozón vstupuje do listů jen průduchy. V kontaktu s vlhkými buněčnými stěnami v mezibuněčných prostorech se velmi rychle rozkládá. Průchod nerozloženého ozónu přes plazmatickou membránu není téměř možný. Při rozkladu ozónu vzniká kyslík a vysoce reaktivní superoxid a hydroxylový radikál. Hydroxylový radikál a superoxid jsou částečně zneškodněny v buněčné stěně přeměnou na vodu. Některé radikály pronikají i do buňky, zde jsou posléze deaktivovány řadou metabolických cest. V buňce ozón indukuje tvorbu polyaminů, etylenu a flavonoidů. Tyto látky jsou součástí obranného mechanismu rostliny. Dále pak probíhá tvorba stresových proteinů. Pokud je koncentrace příliš vysoká a působí na organismus příliš dlouho, ani obranné mechanismy nestačí a dochází k poškození Golgiho aparátu, endoplazmatického retikula a chloroplastů. Na poškozených listech se zprvu objevují drobné bělavé skvrny, později celé listy žloutnou a odumírají. Vznikající ozón je nebezpečný především pro horské rostliny (Bláha a kol. 2003).

#### **2.4.1.2 Vliv oxidu uhličitého na fotosyntézu**

Při fotosyntéze rostliny přijímají buď to přímo oxid uhličitý, nebo iont kyseliny uhličitě. Oxid uhličitý ze vzduchu je hlavním dodavatelem uhlíku při fotosyntéze. Koncentrace oxidu uhličitého je směrodatná pro rychlost fotosyntetického procesu. Fotosyntéza začne probíhat při nejnižší koncentraci 0,008 - 0,01 % oxidu uhličitého. Při zvýšení koncentrace se fotosyntetická rychlost z počátku proporcionálně zvyšuje až do chvíle, kdy dojde k nasycení. Po nasycení se rychlost fotosyntézy ustálí. Přijatý oxid uhličitý se dostává nejprve do houbového a palisádového parenchymu mezofylu. Zde se pohlcuje na vlhké buněčné stěny a rozpouští se ve vodě. Následně difunduje jako roztok směrem k povrchu plastidů. Zde probíhá fotosyntéza. Oxid uhličitý vniká do listů do té doby, dokud trvá gradient koncentrace, který je nutný pro difúzi. Za optimálních podmínek osvětlení a teploty nasycující koncentrace oxidu uhličitého kolísá mezi hodnotami 0,006 – 0,4 % ve vzduchu. Veličina koncentrace nezávisí na ekologických požadavcích rostlin na světlo. Maximální koncentrace oxidu uhličitého je složitějším problémem. Výška koncentrace je spojena s intenzitou světla. Při vyšší intenzitě světla se také zvyšuje rychlost fotosyntézy. Při zvýšení obsahu oxidu uhličitého ve vzduchu

rychlost fotosyntézy zákonitě vzrůstá. Doplňkovým zásobováním rostlin oxidem uhličitým je možno zvýšit fotosyntézu. Obsah oxidu uhličitého se v přirozených podmínkách reguluje dýchacím procesem živočichů a rostlin, mikrobiálním rozkladem hmoty, dýcháním kořenů a živočichů v půdě a spalováním organické hmoty v půdě. Po zapracování organické hmoty do půdy postupně dochází k rozkladu. Tím to procesem se uvolňuje oxid uhličitý. V našich ekologických podmínkách se nejvíce oxidu uhličitého z půdy uvolňuje od června do srpna. Oxid uhličitý bývá v půdách obsažen až několikrát víc než ve vzduchu atmosférickém (Šebánek a kol. 1983).

## **2.5 Vliv záření na stres rostliny**

Rostliny, stejně jako živočichové, vnímají chemické složení ovzduší, vlivy počasí, ale také intenzitu a kvalitu dopadajícího slunečního záření. Oproti živočichům, musely rostliny vytvořit vlastní adaptační mechanismy, aby byly schopny přežít v extrémních teplotách či intenzitách slunečního záření. Podobné situace řeší živočichové přemístěním, což u rostlin není možné. Sluneční záření a jeho spektrální složení je pro rostliny zdrojem především tepelné energie a energie nutné pro fotosyntézu. I přes to můžeme hovořit o stresu, který je způsoben slunečním zářením. Tento stres je možné rozdělit do dvou skupin. První skupinou jsou stresy vyvolané extrémními hodnotami slunečního záření, a druhou skupinou jsou stresy vyvolané ultrafialovým zářením (Bláha a kol. 2003).

### **2.5.1 Intenzita světla**

Jak intenzita, tak i kvalita denního světla jsou závislé na výšce slunce nad obzorem. Tato výška se mění během dne, se zeměpisnou šířkou a roční dobou. Čím kratší je dráha slunečních paprsků, tím je větší i již zmíněná intenzita ozáření. Čím je delší dráha paprsků, tím je více pohlcováno krátkovlnné záření. Proto ráno i navečer převažuje v denním světle záření s delšími vlnovými délkami (Kincl a Krpeš 2006).

Rostliny jsou podle svého fylogenetického původu přizpůsobené různé intenzitě světelného záření. Pro stínomilné rostliny je nižší hodnota světelné intenzity optimálním prostředím, k němuž jsou dobře přizpůsobeny. Takové rostliny mají více chlorofylu, horizontálně rozmístěné chloroplasty, větší listovou plochu a také vyšší obsah vody. U stínomilných rostlin rostoucích na intenzivnějším světle, můžeme pozorovat zmenšení listové plochy i množství chlorofylů. V případě, že se takovéto druhy dostanou

ze stínu na přímé slunce, dochází k destrukci pletiv. Anatomická struktura rostlin neumožňuje redukci absorpce světla. Redukci umožňuje jen u rostlin adaptovaných na vyšší intenzitu světelného záření (Bláha a kol. 2003).

Rostliny světlomilné jsou adaptované na mnohem vyšší světelnou intenzitu záření. Listy těchto rostlin mají vertikálně umístěné chloroplasty, listy mají silnější epidermis, vyšší vrstvu palisádových buněk, silnější vrstvu mezofylových buněk, silnější buněčnou vrstvu a v chloroplastech více škrobových zrn. Listy mají relativně více trichomů. I světlomilné rostliny však mohou být poškozeny velkou intenzitou světelného záření, na kterou jsou v přirozených podmínkách běžně adaptovány (vysazení ve stínu a prudké přemístění na přímé slunce). V případě poškození dochází nejprve k fotooxidaci chloroplastových pigmentů. Dochází k poškození zejména chlorofylů. Jako nejčastější obranný mechanismus rostliny používají stáčení listů nebo jsou v buňkách chloroplasty umístěny hranou k záření. Dále rostlina může vytvořit povrchy s vysokou odrazivostí nebo naopak povrchy, které propouštějí jen malou část záření. Obranným mechanismem je patrně i glykolátový metabolismus. Pokud je příliš vysoká fotorespirace a intenzita ozáření nemůže využít všechnu energii, může dojít v důsledku volných radikálů v chloroplastech k fotoinhibici. Dále může docházet i k uzavírání průduchů a snižování intenzity fotosyntézy (Bláha a kol. 2003).

## 2.5.2 Ultrafialové záření

Mezi velmi nebezpečné záření patří právě ultrafialové záření, tedy UV záření, jehož pouze malá část proniká až k zemskému povrchu. Jedná se zejména o složku ultrafialového záření o vlnové délce od 280 do 320 nm. Za normální situace velkou část UV záření zachytává ozónová vrstva. Při narušení této vrstvy UV záření proniká až k zemi a záření je velmi škodlivé.

UV záření způsobuje především fotooxidaci, ale také při vysoké intenzitě fotodestrukci nukleových kyselin a bílkovin, tedy akutní poškození protoplazmy. Poškození organismů začíná již na buněčné úrovni, kdy je narušována protoplazma a molekulární metabolismus. Poškození protoplazmy je způsobeno porušením disulfidových vazeb v molekulách bílkovin a dimerzí thyminových skupin DNA. Pokud působí vysoká intenzita UV dlouhodobě, dochází ke změnám u aktivity enzymů, navíc se objevují i genové mutace a v konečném stádiu nastává smrt buňky. K absorpci UV záření pokožkou dochází u vyšších rostlin, ale přesto je u nich omezována fotosyntéza

a růst. Nižší rostliny tuto schopnost nemají a pod vlivem UV záření nastává jejich destrukce a smrt (Bláha a kol. 2003).

## 2.6 Charakteristika a princip měření

### 2.6.1 Fluorescence

Fluorescence je emisí záření, ke kterému dochází při přechodu excitované molekuly do základního stavu. To bývá souhrnně označováno jako luminiscence. Pokud je excitace vyvolána chemickou reakcí, mluvíme o chemoluminiscenci. Pokud je excitace vyvolána absorpcí kvanta záření, mluvíme o fluorescenci. Rozdíl absorpčního a emisního minima bývá znázorňován tak zvaným Stokesovým posuvem.

V pletivech zelených rostlin se vyskytují dva typy fluorescencí a to modro-zelená fluorescence a fluorescence chlorofylu. Modro-zelená je zodpovědná zejména za deriváty kyseliny skořicové a ferulové (Hartley 1973; Lichtenthaler a Schweiger 1998). Fluorescence chlorofylu je charakterizována zejména dvěma maximy v oblasti červeného záření. Maximem o vlnové délce 670 - 690 nm v rámci studia fluorescence chlorofylu nazývaným krátkovlnné červené záření a maximem o vlnových délkách 730 – 740 nm nazývaným dlouhovlnné červené záření neboli far-red záření (Lang a spol. 1991). Fluorescence chlorofylu je emitovaná chlorofylem *a*. Ten absorbuje záření v modré a červené oblasti slunečního spektra. Nachází se v mezofylových buňkách a to v chloroplastech.

Po absorpci následuje emise, tedy vyzáření části této energie zpět do okolí rostliny v podobě záření o poněkud větší vlnové délce. Tato vlnová délka je stále ještě ve viditelné oblasti spektra. Fluorescence chlorofylu je měřitelná v různých oblastech spektra. Většina měřících metod používá fluorescenci chlorofylu ve vlnové délce 690 nm. Intenzita a charakter fluorescence chlorofylu při přesně definované expozici rostlin k záření umožňují získat informace o absorpci energie dopadajícího záření. Dále umožňuje získat informace o dalším využití absorpce energie v biochemických procesech fotosyntézy. Měřením fluorescence chlorofylu lze tedy velmi přesně stanovit rychlost toku energie v membráně thylakoidu. Dále lze přesně stanovit spotřebování energie při fixaci oxidu uhličitého. A proto metody měření fluorescence chlorofylu představují vhodný doplněk k metodám gazometrickým (Lichtenthaler a Schweiger 1998).



Princip měření:

Metoda saturačních pulzů záření se používá pro stanovení maximální a aktuální rychlosti přenosu energie a to redoxními systémy membrány thylakoidu. Tato metoda mohla být zavedena teprve nedávno po značném zdokonalení měřící techniky fluorometrů s amplitudově modulovanými pulzy a s vysokou citlivostí i selektivitou detektoru. Při této metodě se využívá především té skutečnosti, že u listů trvale vystavených záření existuje v každém okamžiku jistá rovnováha mezi nefotochemickou a fotochemickou cestou disipace excitační energie. Pokud se odvod energie fotochemickou cestou na okamžik zastaví, zhášení fluorescence bude způsobeno pouze tepelnou disipací. Základ tvoří předpoklad, že reakce tepelného deexcitačního kanálu na náhlou změnu jsou pomalejší než reakce zbývajících dvou cest deexcitace, tedy fotochemie a fluorescence. Potlačení fotochemické cesty lze dosáhnou krátkým, ale dostatečně intenzivním zábleskem, tedy pulzem fotosynteticky aktivního záření z vhodného umělého zdroje. Tím myslíme i u listu trvale vystavenému běžnému dennímu světlu. Krátké saturační ozáření způsobí úplnou redukci chinonu Q<sub>A</sub>. Tím se způsobí dočasné zastavení transportu elektronů ve fotosystému II. Aplikaci pulzů lze automaticky opakovat ve vhodných intervalech. Tím získáme informace o změnách v podílu fotochemických a nefotochemických procesů v listu na zhášení fluorescence chlorofylu v průběhu dne. Vlastní měřící postup a způsob vyhodnocení dat je samozřejmě složitější než zde naznačený základní princip (Soukupová a Roháček 2005).

### **2.6.2 Spektrofotometrické stanovení obsahu chlorofylu v listech**

Obsah i složení chlorofylů je jedním z nejdůležitějších ukazatelů fyziologického stavu rostliny. Závisí na druhu rostliny, stáří asimilačních orgánů a také na minerální výživě či podmínkách růstu. Nejsnazším způsobem jak určit obsah fotosyntetických pigmentů je spektrometrický způsob. Tedy měří se absorpce směsi pigmentů při různých vlnových délkách. Metoda spektrofotometrie je však omezena pouze na pigmenty, které se spektrálně výrazně liší. To znamená, že nelze touto metodou určit ve směsi chlorofyly a jeho defytylované formy, tedy chlorofyliny. Pigmenty se extrahují z fotosyntetických tkání organickými rozpouštědly, v tomto případě acetonem. Obsah fotosyntetických pigmentů se vztahuje na příklad k sušině či čerstvé hmotě, v tomto případě se vztahuje k listové ploše (Lichtenhaler 1987).

## 3 Metodika

### 3.1 Materiál a metodika

#### 3.1.1 Modelové rostliny

Od poloviny května do konce srpna byly testovány listy lípy srdčité (*Tilia cordata*) a listy platanu západního (*Platanus occidentalis*).

Lípa srdčitá (*Tilia cordata* Mill.) patří k druhům s vyšší nákloností ke stresu ze znečištění. Lípa je od pradávna jedním z nejoblíbenějších stromů po celé Evropě a hojně se s ní setkáváme již ve starých bájích, pověrách, poezii a výtvarném umění. U nás se stala dokonce, zásluhou Kollárovy Slávy dcery a národního obrození, národním stromem (Pokorný a kol. 1990).

Název rodu *Tilia* pochází z řeckého ptilon (= křídlo), a to podle blanitých křídlatých listenů květenství. Synonymním názvem je lípa malolistá (*Tilia parvifolia* Ehrl.). Tento listnatý strom patří do čeledi lípovité (*Tiliaceae*). Možnost záměny je především s příbuznou lípou velkolistou (*Tilia platyphylla* Scop.), od které se liší několika málo znaky. Oba druhy se navíc běžně kříží a jednoznačné určení je kvůli této skutečnosti často nemožné, a to zejména v nových výsadbách. (Mikula 1976).

Lípa se využívá také kvůli dřevu. Má bílé měkké dřevo, které se nejlépe hodí k řezbářským pracím. Také má pevné lýko, které se odedávna používané jako technický materiál. Mezi včelaři je velmi oblíbená v době květu, tehdy poskytuje velké množství kvalitního světlého nektaru (Pilát 1953).

Lípa je mohutný strom s košatou korunou, který je vysoký až 25 m. Roste často na sutiích v křovité formě. Má dlouze řapíkaté listy se srdčitě okrouhlou, na okraji zubatou až pilovitou čepelí, které jsou střídavé. Na lícové straně jsou tmavozelené, na rubu sivozelené, v úžlabí žilek mají chomáčky rezavých chloupků, jinak jsou lysé. Z úžlabí listů vyrůstají vidlanovitá květenství 5 - 15 pravidelných květů. Stopka květů je až 8 cm dlouhá a je srostlá se spodní třetinou až polovinou podpůrného listenu, který má žlutozelenou barvu. Listen je krátce řapíkatý, podlouhle jazykovitý, blanitě kožovitý a je lysý. Pětčetné květy mají pýřitý kalich a korunu s volnými úzkými plátky, které jsou žlutavé barvy. Mají 20 - 30 tyčinek s bělavými nitkami, které srůstají v pět svazečků. Svrchní pětipouzdrý plstnatý semeník kulovitěho tvaru má krátkou čnělku. Ta je zakon-

čena pětilaločnatou bliznou. Plod je tvrdá kožovitá nažka, má hranatě kulovitý tvar. Tato nažka klíčí až druhým rokem a je rozšiřovaná větrem s celým plodenstvím. Lípa srdčitá kvete od června do července a patří mezi nejvýznamnější medonosné rostliny, které poskytují na jednom stromě velké množství světlého nektaru (Heike 1978).

*Tilia cordata* se s oblibou vysazuje v alejích a ochranných lesních pásmech. Vyskytuje se téměř po celém území České republiky, v horách nad 900 m. n. m. ale většinou chybí. Roste často v listnatých či smíšených lesích, a to od nížin až do nižších horských poloh. Je typickou příměsí dubohabřin (sv. *Carpinion*), lipových bučin (*Tilio cordatae-Fagetum*), či suťových lesů (sv. *Tilio-Acerion*) a také v některých typech sušších variantách tvrdých luhů (podsv. *Ulmenion*). A však lípa srdčitá (*Tilia cordata*) v přirozeném stavu tvoří jen příměs v těchto lesích. Monokultury lípy malolisté jsou zpravidla uměle založeny. Velmi často se vysazuje v stromořadích a parcích (Větvicka a kol. 1992).

Platan západní (*Platanus occidentalis*) patří do čeledi platanovitých (*Platanaceae*). Tato čeleď se vyznačuje bledou kůrou statných stromů, která se odlupuje v širokých nebo tenkých plátech. Jsou to krásné stromy, které jsou velmi oblíbené. Tento strom patří mezi stromy, které nejsou náchylné ke stresu způsobeného znečištěním ovzduším, naopak emise snáší velmi dobře. Často jsou hojně vysazovány v parcích či různých stromořadích. Jsou velmi zajímavé i v zimě, a to zejména díky své statnosti a svou zvláštní kůru. Jejich statná koruna bývá ověšena kulovitým plodenstvím. Často bývá zaměňován s příbuznými platany a to zejména s platanem javorolistým. Odlišují se především kůrou. Platan javorolistý (*Platanus x acerifolia*) vznikl z hybridu platanu západního (*Platanus occidentalis*) a platanu východního (*Platanus orientalis*). Má borku, která se na hlavních větvích a na kmeni odlupuje ve velkých různobarevných plátech, zatím co u platanu západního se borka odlupuje v menších plátech či šupinách, které jsou méně kontrastně zbarvené. Platan javorolistý je většího habitusu než platan západní. Liší se i jeho listy. Platan javorolistý, jak již název napovídá, je více podobný javoru. Je více členitý a více vykrojený u řapíku, oproti listu platanu západního. Platan západní je více odolný k mrazu oproti platanu javorolistému (Pilát 1953).

Pro svou mohutnost jsou velmi působivými solitérami. Velmi dobře se hodí i do kombinací s jinými listnatými stromy. Často se vysazují mezi javory a topoly. Při výsadbě se musí pamatovat na to, že platany obecně jsou velmi rozložené stromy (krom keřovitých typů) a tudíž potřebují značný prostor. Velmi výhodným krokem je použít platany v městské zeleni či průmyslové zeleni a v uličních stromořadích. Je to

zejména kvůli odolnosti k emisím. Ovšem při větších počtech výsadeb může docházet k podráždění očí a dýchacích cest. To způsobují rozlétající se nažky (Hieke 1978).

Tyto stromy dorůstají středně rychle, do deseti let dosáhnou výšky zhruba 3-4 m. po dvaceti letech dosahuje *Platanus occidentalis* 4-10 m, do 30 let dorůstají do 8-14 m a do 40 let dorůstají do výšky až 18 m. Roste v habituálním typu *pyramidalis II*. To znamená, že je to široce vystoupavě kulovitý strom, který je dosti pravidelný a v obrysu řidší. Má kratší kmen, textura stromu je poměrně hrubá, jednotlivé listy jsou patrné již z dále. Větve dodávají vzhledu určitou jakousi strnulost, které ale toto olistění dosti změkčuje. Koruna stromu je v obrysu dost hrubá. Je řídká a vzdušná. K určité lehkosti ve vzhledu těchto mohutných stromů přispívá především světle strakatý kmen. Tento kmen vypadá jakoby nahý. Listy jsou střídavé, velmi dlouze řapíkaté a velké. Jsou dlanitě laločnaté a víceméně světle zelené. Listy jsou oplstěné, tedy mají chloupky. Tyto chloupky mohou způsobovat záněty spojivek či problémy s dýcháním. Podzimní zbarvení je nevýrazné, spíše hnědé. Květy má platan západní velmi nenápadné, jednodomé, v kulatých hustých hlávkách. Samčí i samičí květy jsou si velmi podobné, ale jsou oddělené. Většinou poprvé plodí až po 20 letech. Plod má jednosemennou, kuželovitou nažku, která je okřídlená. Skládá se v plodenství, které je kulaté a šedohnědé. Plodenství je na různě dlouhých stopkách. Tyto zajímavé hlávky v olistění nejsou vidět, ale vytrvávají na stromě téměř celou zimu a teprve v zimě pořádně vyniknou. Kmen má velmi přímý a silný, v průměru tloušťka kmenu dosahuje 2 m. Kůra je v mládí hladká, šedozeleně zbarvená, později se vytváří charakteristická borka. Odlupuje se v malých destičkách či šupinách, celý kmen je tedy velmi zajímavě skvrnitě zbarvený. Hlavní větve mají velmi podobnou barvu jako kmen, ostatní větvičky jsou tenké a poměrně dosti dlouhé. Kořenový systém vytváří mohutné kořeny, které jsou poměrně mělké, avšak mohutně větvené (Pokorný a kol. 1990).

*Platanus occidentalis* má domov v Severní Americe. U nás je uměle vysazován a to především v parcích a stromořadích. Častá výsadba je v centrech měst či v průmyslových zonách. Nejvýhodnější je pro ně volná, prostorná a však chráněná poloha (Hieke 1978). Vyhovuje jim slunné stanoviště, ale spokojí se i s polostínem. Na příliš suchém stanovišti rostou pomalu a nevhledně. Významná je jejich odolnost vůči zakouřenému prostředí. Velmi dobře snášejí sálání z dlažby ulic. Okusem zvěře netrpí (Pilát 1953).

### 3.1.2 Experimentální uspořádání

Pro analýzu obsahu chlorofylu a fluorescence listy pocházely ze dvou částí Českých Budějovic, dále z Kratochvíle a z Vitějovic. Zde byl předpoklad různého znečištění ovzduší automobilovou dopravou. V Českých Budějovicích listy platanu pocházely z části Lannova třída, kde byl předpoklad největšího znečištění automobilovou dopravou. Lannova třída prochází středem města a protíná ji velmi frekventovaná silnice, kde se často tvoří v ranních a odpoledních hodinách kolony. Dále byly listy odebírány z budějovického parku Stromovka, kde bylo odhadováno nižší znečištění. Z jedné strany parku sice je frekventovaná silnice, avšak listy pocházely ze vzdálenějších míst od silnice. Poslední vzorky platanu byly odebírány na Kratochvíli, kde byl předpoklad nejmenšího znečištění automobilovou dopravou. Stromy na Kratochvíli se vyskytují v místě vzdáleném od silnice zhruba 500 m a frekvence aut není příliš vysoká. Odběry listů lípy pocházely také z dvou částí Českých Budějovic a to z Jiráskova nábřeží, kde byl předpoklad nejvyššího znečištění. Zde je velká frekvence automobilové dopravy a značné znečištění průmyslem. Další odběry se prováděly v parku Stromovka, kde byl předpoklad nižšího znečištění. Poslední vzorky lípy se odebíraly z návsi malé vísky o zhruba 500 obyvatelích. Vitějovice se nachází zhruba 8 km od okresního města Píchatice. Zde byl předpoklad nejmenšího znečištění. Není zde žádný průmysl a velmi nízká frekvence automobilové dopravy. Vzorky z každé lokality pocházely ze tří stromů a z každého stromu byly analyzovány čtyři listy.

Nejprve byla měřena fluorescence. Stejně listy, na kterých se provádělo měření, byly uloženy do termotašky a i hned převezeny k zamrazení a po nasbírání a zamrazení všech vzorků byly listy vyhodnoceny spektrofotometrickou metodou. Listy byly vybírány vždy přibližně stejně vysoko a na osluněné straně stromu. Listy musely být zdravé a bez viditelného poškození. Měření probíhalo výlučně za slunného dne a to v poledních hodinách. Listy se nejprve zastínily na 15 minut černým papírem, který byl upevněn pomocí kolíků. To zajistí, že všechny chlorofyl je v základním stavu. Dráhy pro přenos elektronů jsou čisté před tím, než dojde k zachycení světelného impulsu. V tomto stádiu dosahuje fluorescence základní, tak zvané minimální, hodnoty. Ta se označuje jako  $F_0$ . Po 15 minutách byl nasazen leaf clip od měřiče FluorPen FP100. Po nasazení leaf clipu probíhalo měření po adaptaci listu, to trvalo zhruba jednu minutu. Po silném saturačním ozáření dochází k zaplnění všech akceptorů a reakčních center fotosystému. Fluorescence se zvyšuje k maximální hodnotě značené jako  $F_m$ . Pro analýzu průběhu fotosyntézy

musí být vyhodnocen maximální kvantový výtěžek značený jako QY. Čím je QY nižší, tím je průběh fotosyntézy kvalitnější. QY se vypočítá pomocí vzorce:  $F_v/F_m$ , kdy  $F_v$  je tak zvaná proměnlivá fluorescence vypočítaná jako rozdíl mezi  $F_m$  a  $F_o$  (Maxwell a Johnson 2000).

Pro stanovení obsahu chlorofylů byla použita klasická, modifikovaná, metoda podle Arnona 1949 in Lichtenhaler 1987. V laboratoři bylo z každého listu vyříznuto korkovrtem o průměru 8 mm 10 terčků. Odběr terčků probíhal mezi žilnatinou v nepoškozených částech listu. Terčky byly co nejrychleji rozdrčeny v třecí misce spolu s křemičitým pískem a  $MgCO_3$  k neutralizaci. Po přidání malého množství 100% acetonu byly listy roztírány 3 minuty v třecí misce, dokud nevznikla homogenní hmota. Předem bylo připraveno 9 ml 80% acetonu. 3 ml 80% acetonu bylo přidáno do rozdrčených listů a obsah třecí misky byl přidán do předem připravené filtrační podtlakové soustavy. Po přefiltrování byly do třecí misky přelity další 3 ml 80% acetonu a jimi vymyt zbytek vzorku. Po přefiltrování byly nality 3 ml 80 % acetonu přímo do filtrační nálevky a promyt jimi filtr. Výsledný přefiltrovaný roztok byl pomocí nálevky přelit do 10 ml baňky a popř. doplněn 80% acetonem po rysku. Po té byl roztok promíchán a nalit do kyvety k změření extinkce na přístroji Spekol 11. Jako referenční vzorek sloužil předem připravený slepý vzorek, 100% aceton. Dále byly změřeny vzorky a to na 645 nm a 663 nm. Poté byly použity rovnice pro výpočet chlorofylů (Leichtenhaler 1987):

$$\text{chlorofyl a} = 12.7 A_{663} - 2.69 A_{645}$$

$$\text{chlorofyl b} = 22.9 A_{645} - 4.68 A_{663}$$

### 3.1.3 Statistické zpracování

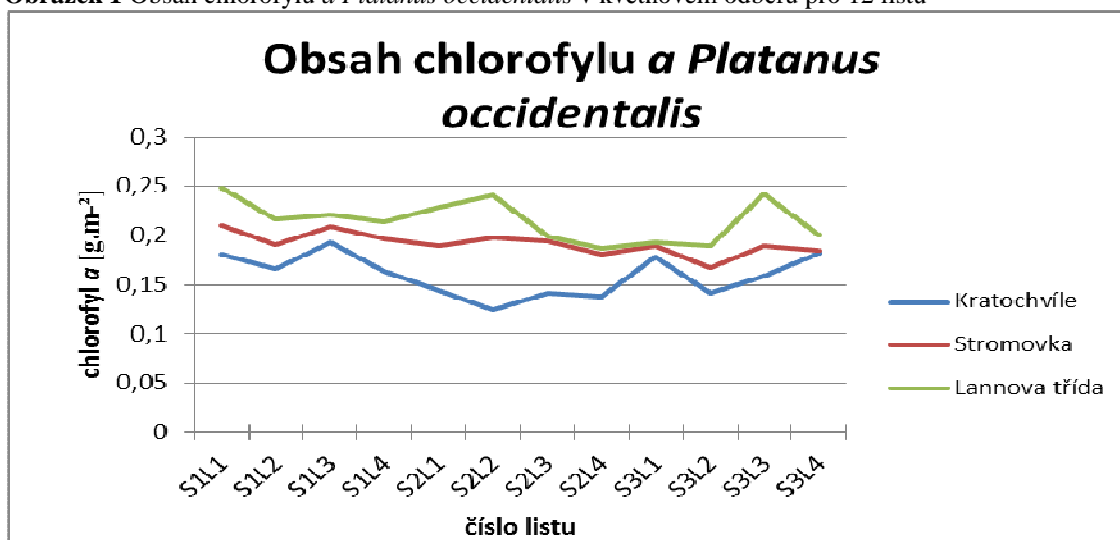
Po ověření výběrových předpokladů a případném vypuštění velmi odchylných hodnot byla data podle charakteru statisticky porovnávána s využitím Studentova t-testu. Pro jednofaktorovou analýzu byl použit Grubbsův test extrémních odchylek a pro srovnání a vzájemné vztahy více než dvou vybraných, byla použita analýza rozptylu jednoduchého třídění. Pro zpracování byly využity statistické programy Unistat a Statplus.

## 4 Výsledky

### 4.1 Květnový odběr

Květnový odběr se konal 16. 5. 2013. *Platanus occidentalis* a *Tilia cordata* mají hodnoty obsahu chlorofylu *a* i *b* srovnatelné (Obr. 1 – Obr. 5). U *Tilia cordata* jsou u chlorofylu *b* v různých lokalitách velmi vyrovnané.

**Obrázek 1** Obsah chlorofylu *a* *Platanus occidentalis* v květnovém odběru pro 12 listů



**Tabulka 1** Statistické vyhodnocení pro jednotlivé lokality (Obr. 1)

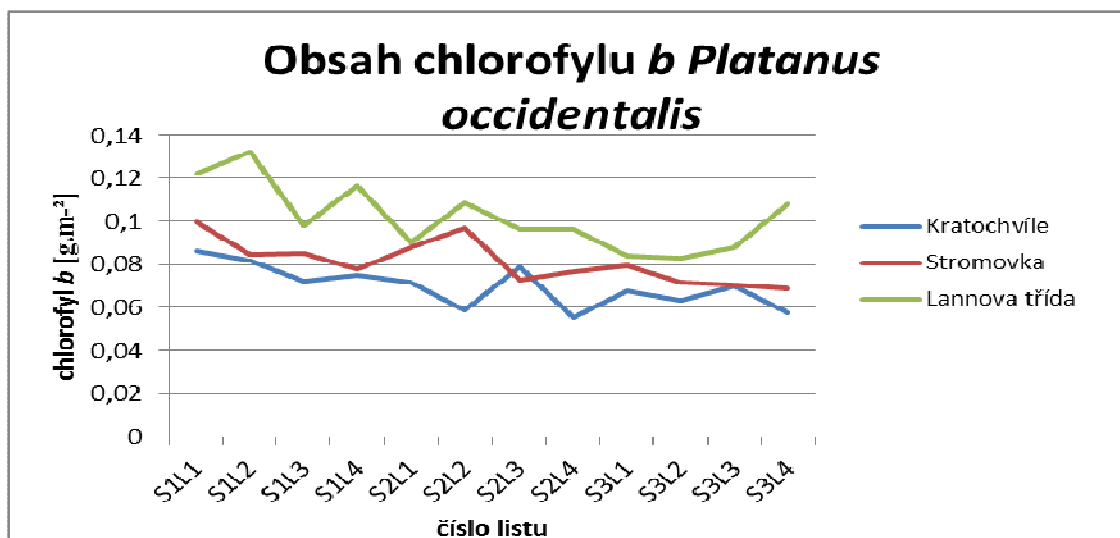
	průměr	rozptyl	sm. odchylka
Kratochvíle	0,15935644	0,000429667	0,020728414
Stromovka	0,19186472	0,00012614	0,011231192
Lannova třída	0,2152472	0,000425781	0,020634468

**Tabulka 2** Statistické vyhodnocení vztahů mezi lokalitami (Obr. 1) vysvětlivky: - nevýznamný rozdíl, \* významný rozdíl, \*\* vysoce významný rozdíl.

	chl. a <i>Platanus occidentalis</i>
Kratochvíle : Stromovka	-
Kratochvíle : Lannova tř.	**
Lannova tř. : Stromovka	*

Minimum a maximum se statisticky neliší u žádné z lokalit. Statistická významnost mezi lokalitami Kratochvíle Stromovka je neprokazatelná. Zatímco vztah mezi lokalitami Kratochvíle – Lannova třída je statisticky vysoce významný. A vztah mezi lokalitami Stromovka – Lannova třída je statisticky významný (Obr. 1)

**Obrázek 2** Obsah chlorofylu *b* *Platanus occidentalis* v květnovém odběru pro 12 listů



**Tabulka 3** Statistické vyhodnocení pro jednotlivé lokality (Obr. 2)

	průměr	rozptyl	sm. odchylka
Kratochvíle	0,06994026	0,000088578	0,009411591
Stromovka	0,08101394	0,000095429	0,009768759
Lannova třída	0,1020791	0,000228905	0,015129622

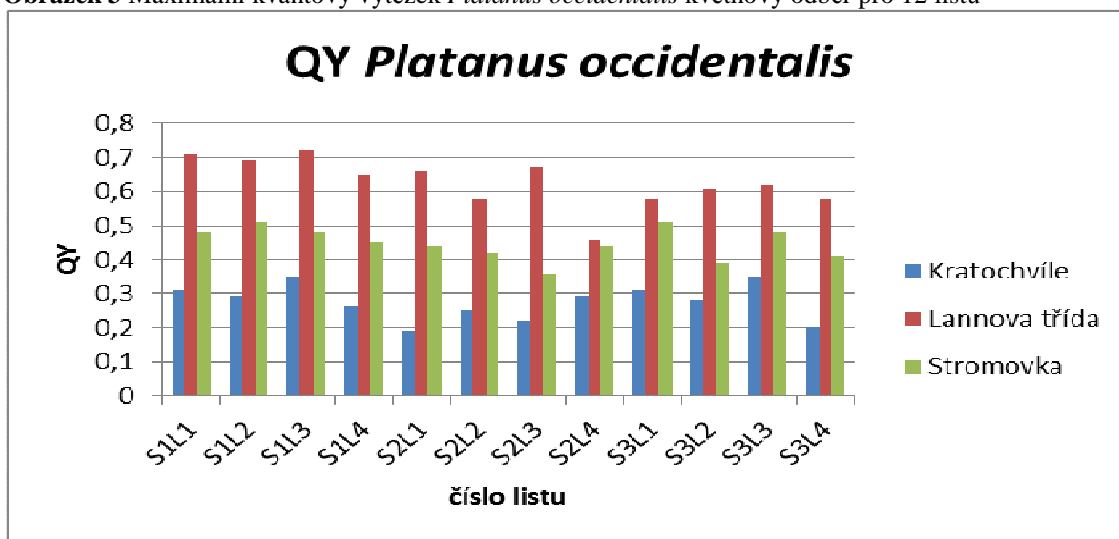
**Tabulka 4** Statistické vyhodnocení vztahů mezi lokalitami (Obr. 2) vysvětlivky: - nevýznamný rozdíl, \* významný rozdíl, \*\* vysoce významný rozdíl.

	chl. b <i>Platanus occidentalis</i>
Kratochvíle : Stromovka	-
Kratochvíle: Lannova tř.	**
Lannova tř. : Stromovka	**

Minimum a maximum se statisticky neliší u žádné z lokalit. Statistická významnost mezi lokalitami Kratochvíle - Stromovka je neprokazatelná. Zatímco vztah mezi lokalitami Kratochvíle – Lannova třída a lokalitama Stromovka – Lannova třída je statisticky vysoce významný (Obr. 2).



**Obrázek 3** Maximální kvantový výtěžek *Platanus occidentalis* květnový odběr pro 12 listů



**Tabulka 5** Statistické vyhodnocení pro jednotlivé lokality (Obr. 3)

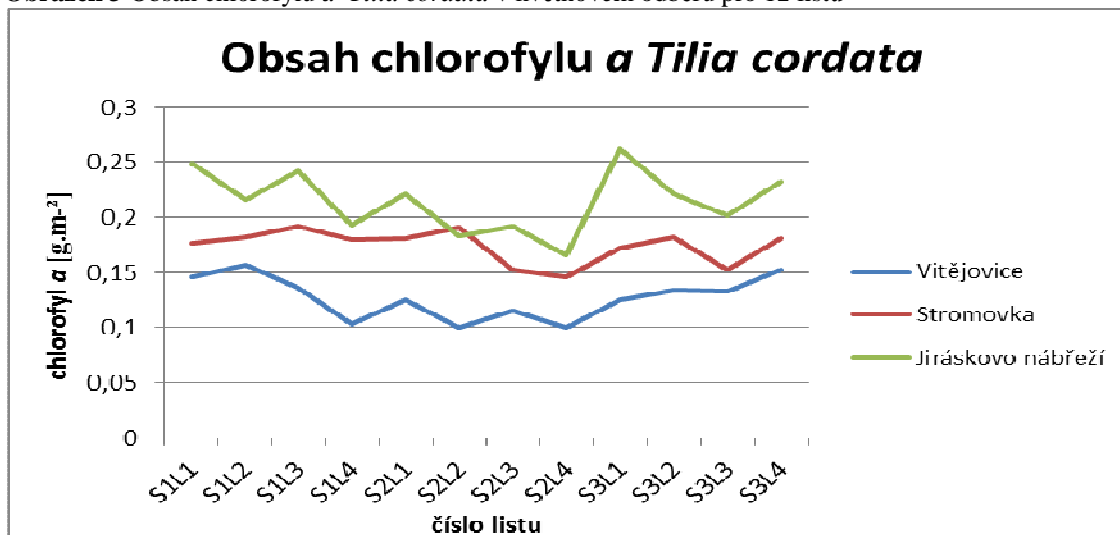
	průměr	rozptyl	sm. odchylka
Kratochvíle	0,275	0,002575	0,050744458
Lannova třída	0,6275	0,00481875	0,069417217
Stromovka	0,4475	0,00201875	0,044930502

**Tabulka 6** Statistické vyhodnocení vztahů mezi lokalitami (Obr. 3) vysvětlivky: - nevýznamný rozdíl, \* významný rozdíl, \*\* vysoce významný rozdíl.

	QY <i>Platanus occidentalis</i>
Kratochvíle : Stromovka	**
Kratochvíle : Lannova tř.	**
Lannova tř. : Stromovka	**

Minimum a maximum se statistiky neliší. Statistická významnost mezi všemi lokalitami navzájem je vysoce prokazatelná (Obr. 3).

**Obrázek 3** Obsah chlorofylu *a Tilia cordata* v květnovém odběru pro 12 listů



**Tabulka 7** Statistické vyhodnocení pro jednotlivé lokality (Obr. 4)

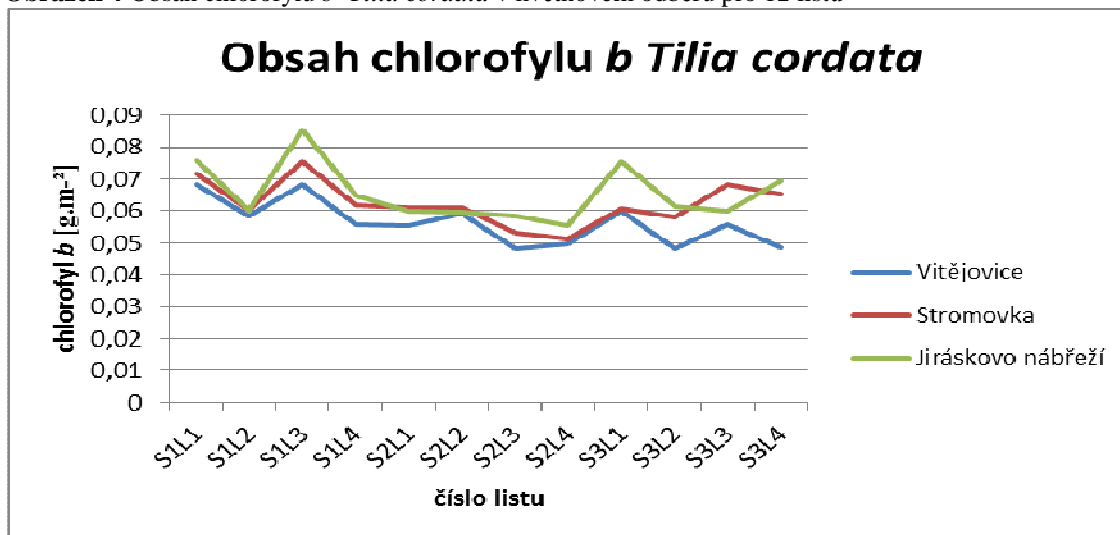
	průměr	rozptyl	sm. odchylka
Vitějovice	0,12699792	0,00003541	0,018817546
Stromovka	0,1740395	0,000217466	0,014746717
Jiráskovo náb.	0,21489245	0,000757073	0,027514954

**Tabulka 8** Statistické vyhodnocení vztahů mezi lokalitami (Obr. 4) vysvětlivky: - nevýznamný rozdíl, \* významný rozdíl, \*\* vysoce významný rozdíl.

	chl. a Tilia cordata
Vitějovice : Stromovka	**
Vitějovice : Jiráskovo náb.	**
Jiráskovo náb. : Stromovka	**

Maximum a minimum se u všech lokalit statisticky významně neliší. Vztah mezi všemi lokalitami navzájem je statisticky vysoce významný (Obr. 4).

**Obrázek 4** Obsah chlorofylu *b* *Tilia cordata* v květnovém odběru pro 12 listů



**Tabulka 9** Statistické vyhodnocení pro jednotlivé lokality (Obr. 5)

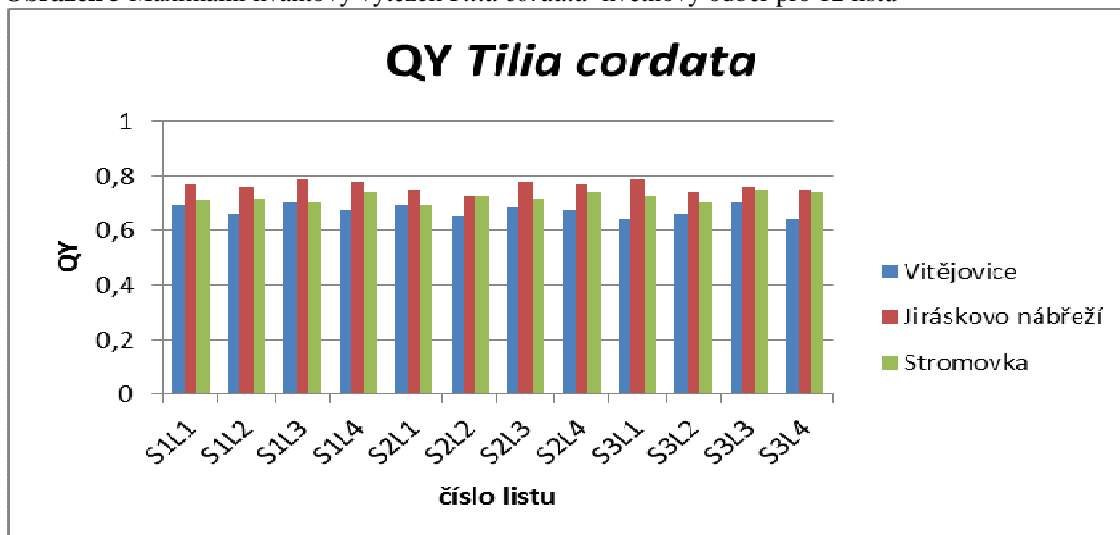
	průměr	rozptyl	sm. odchylka
Vitějovice	0,05637	0,00004388	0,006624256
Stromovka	0,06233633	0,00004768	0,006905076
Jiráskovo náb.	0,06546615	0,000085355	0,008964091

**Tabulka 10** Statistické vyhodnocení vztahů mezi lokalitami (Obr. 5) vysvětlivky: - nevýznamný rozdíl, \* významný rozdíl, \*\* vysoce významný rozdíl.

	chl. b <i>Tilia cordata</i>
Vitějovice : Stromovka	-
Vitějovice : Jiráskovo náb.	-
Jiráskovo náb. : Stromovka	-

Minimum a maximum se u žádné z lokalit statisticky neliší. Vzájemný vztah mezi všemi lokalitami navzájem není statisticky významný (Obr. 5).

**Obrázek 5** Maximální kvantový výtěžek *Tilia cordata* květnový odběr pro 12 listů



**Tabulka 11** Statistické vyhodnocení pro jednotlivé lokality (Obr. 6)

	průměr	rozptyl	sm. odchylka
Vitějovice	0,67083333	0,000424306	0,020598678
Jiráskovo náb.	0,76416667	0,000340972	0,018465433
Stromovka	0,7225	0,000335417	0,018314384

**Tabulka 12** Statistické vyhodnocení vztahů mezi lokalitami (Obr. 6) vysvětlivky: - nevýznamný rozdíl, \* významný rozdíl, \*\* vysoce významný rozdíl.

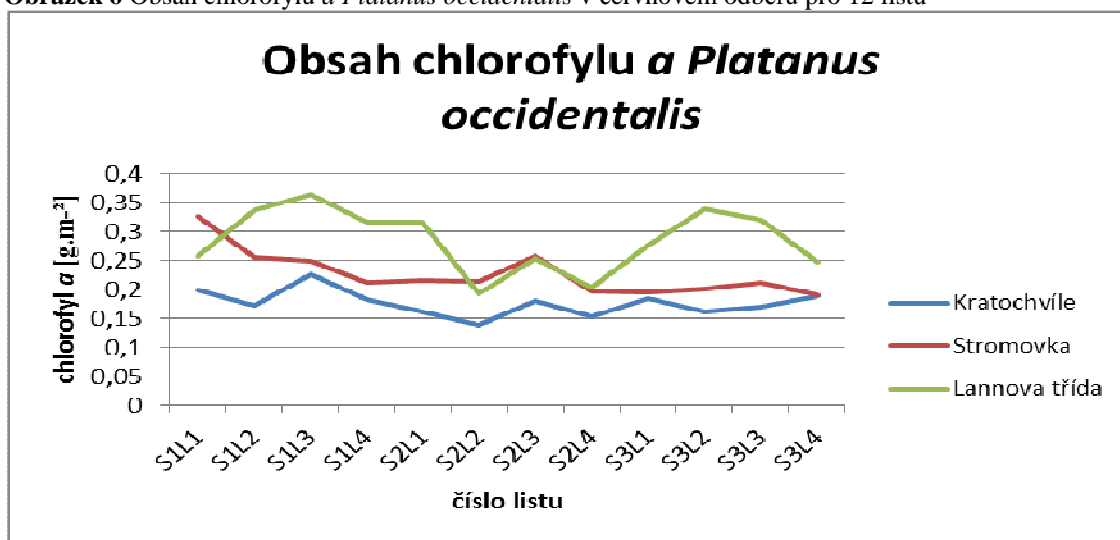
	QY <i>Tilia cordata</i>
Vitějovice : Stromovka	**
Vitějovice : Jiráskovo náb.	**
Jiráskovo náb. : Stromovka	**

Minimum a maximum se statisticky neliší u žádné z lokalit. Vztah mezi všemi lokalitami navzájem je vysoce významný (Obr. 6).

## 4.2 Červnový odběr

Červnový odběr byl proveden 27. 6. 2013. Jsou zde již patrné větší rozdíly dle lokalit jak v obsahu chlorofylů, tak ve fluorescenci (Obr. 9 – Obr. 12). Projevují se zde i rozdíly v obsahu chlorofylů platanu a lípy, které jsou zde již markantní.

**Obrázek 6** Obsah chlorofylu *a Platanus occidentalis* v červnovém odběru pro 12 listů



**Tabulka 13** Statistické vyhodnocení pro jednotlivé lokality (Obr. 7)

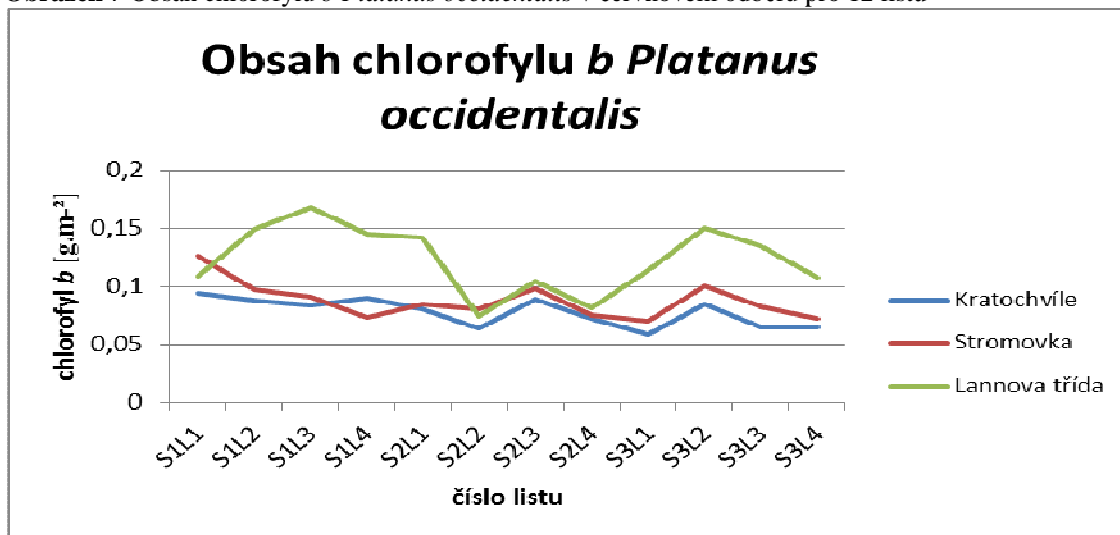
	průměr	rozptyl	sm. odchylka
Kratochvíle	0,176253813	0,000474915	0,021792537
Stromovka	0,226694962	0,001404868	0,037481572
Lannova třída	0,284603219	0,002813843	0,053045669

**Tabulka 14** Statistické vyhodnocení vztahů mezi lokalitami (Obr. 7) vysvětlivky: - nevýznamný rozdíl, \* významný rozdíl, \*\* vysoce významný rozdíl.

	chl. a <i>Platanus occidentalis</i>
Kratochvíle : Stromovka	*
Kratochvíle : Lannova tř.	**
Lannova tř. : Stromovka	*

Maximum se statisticky liší u lokalit Kratochvíle a Stromovka. Minimum se statisticky u žádné z lokalit neliší. Mezi lokalitami Kratochvíle – Stromovka a lokalitami a Stromovka – Lannova třída je vztah statisticky významný. Vztah mezi lokalitami Kratochvíle – Lannova třída je vysoce významný (Obr. 7).

**Obrázek 7** Obsah chlorofylu *b* *Platanus occidentalis* v červnovém odběru pro 12 listů



**Tabulka 15** Statistické vyhodnocení pro jednotlivé lokality (Obr. 8)

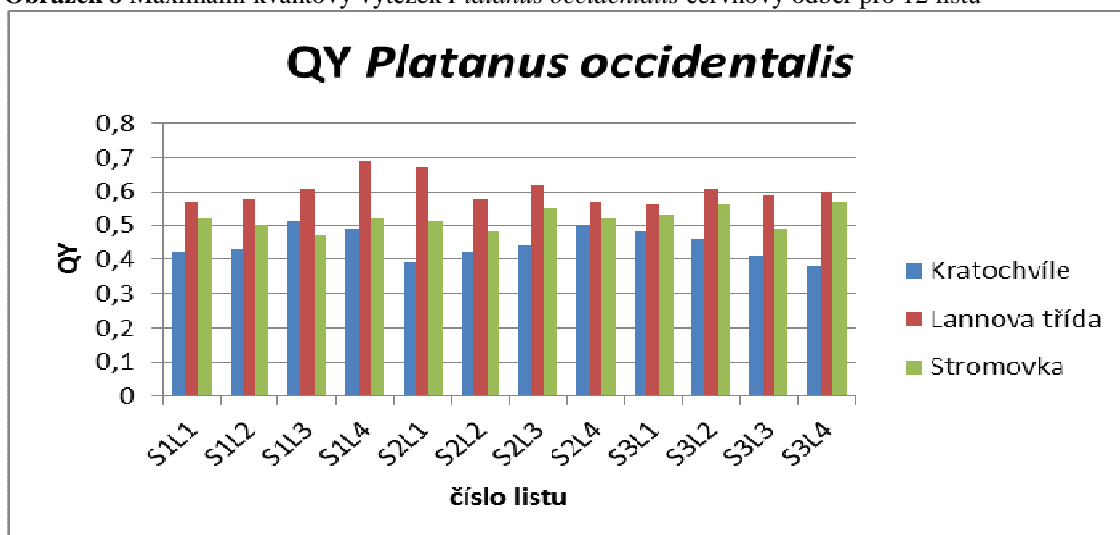
	průměr	rozptyl	sm. odchylka
Kratochvíle	0,077960281	0,000138054	0,011749628
Stromovka	0,087699738	0,000238011	0,015427597
Lannova třída	0,12344198	0,00078406	0,028001076

**Tabulka 16** Statistické vyhodnocení vztahů mezi lokalitami (Obr. 8) vysvětlivky: - nevýznamný rozdíl, \* významný rozdíl, \*\* vysoce významný rozdíl.

	chl. b <i>Platanus occidentalis</i>
Kratochvíle : Stromovka	-
Kratochvíle : Lannova tř.	**
Lannova tř. : Stromovka	**

Minimum se u žádné z lokalit statisticky neliší. Maximum se statisticky liší pouze u lokality Stromovka. Vztah mezi lokalitou Kratochvíle – Stromovka je statisticky nevýznamný. Ostatní vztahy mezi lokalitami jsou vysoce významné (Obr. 8).

**Obrázek 8** Maximální kvantový výtěžek *Platanus occidentalis* červnový odběr pro 12 listů



**Tabulka 17** Statistické vyhodnocení pro jednotlivé lokality (Obr. 9)

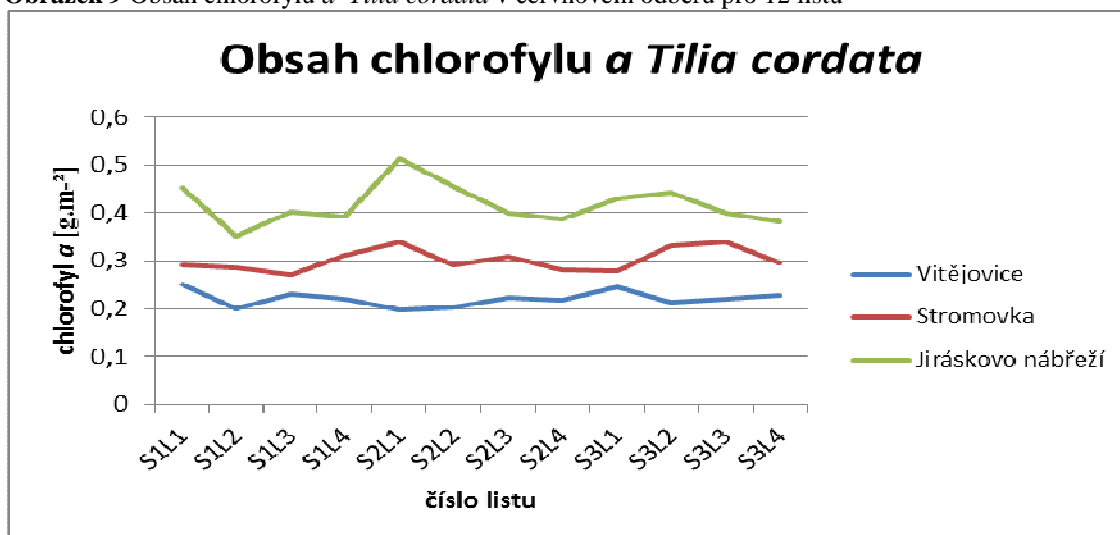
	průměr	rozptyl	sm. odchylka
Kratochvíle	0,444166667	0,001724306	0,041524758
Lannova třída	0,604166667	0,001474306	0,038396687
Stromovka	0,518333333	0,000880556	0,029674156

**Tabulka 18** Statistické vyhodnocení vztahů mezi lokalitami (Obr. 9) vysvětlivky: - nevýznamný rozdíl, \* významný rozdíl, \*\* vysoce významný rozdíl.

	QY <i>Platanus occidentalis</i>
Kratochvíle : Stromovka	**
Kratochvíle : Lannova tř.	**
Lannova tř. : Stromovka	**

Minimum a maximum se u žádné z lokalit statisticky neliší. Všechny lokality navzájem mají mezi sebou statisticky vysoce významný vztah (Obr. 9).

**Obrázek 9** Obsah chlorofylu *a Tilia cordata* v červnovém odběru pro 12 listů



**Tabulka 19** Statistické vyhodnocení pro jednotlivé lokality (Obr. 10)

	průměr	rozptyl	sm. odchylka
Vitějovice	0,221237167	0,00025358	0,015924194
Stromovka	0,3022863	0,000517079	0,022739366
Jiráskovo nábřeží	0,417301	0,001732048	0,04161788

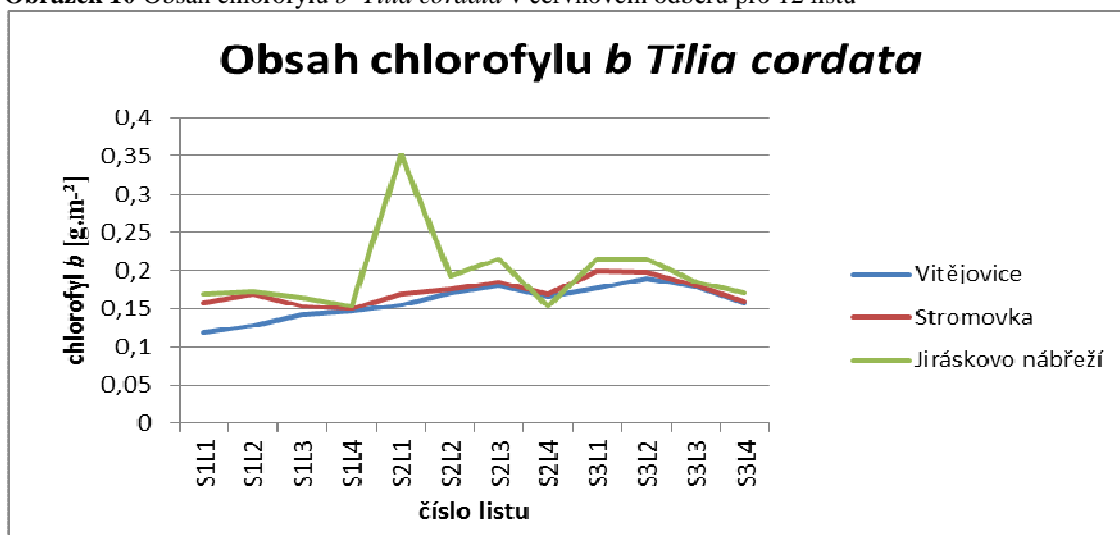
**Tabulka 20** Statistické vyhodnocení vztahů mezi lokalitami (Obr. 10) vysvětlivky: - nevýznamný rozdíl, \* významný rozdíl, \*\* vysoce významný rozdíl.

	chl. a Tilia cordata
Vitějovice : Stromovka	**
Vitějovice : Jiráskovo náb.	**
Jiráskovo náb. : Stromovka	**

Minimum se u žádné z lokalit statisticky neliší, maximum se statisticky liší pouze u lokality Jiráskovo nábřeží. Vztahy mezi všemi lokalitami na vzájem jsou statisticky vysoce významné (Obr. 10).



**Obrázek 10** Obsah chlorofylu *b* *Tilia cordata* v červnovém odběru pro 12 listů



**Tabulka 21** Statistické vyhodnocení pro jednotlivé lokality (Obr. 11)

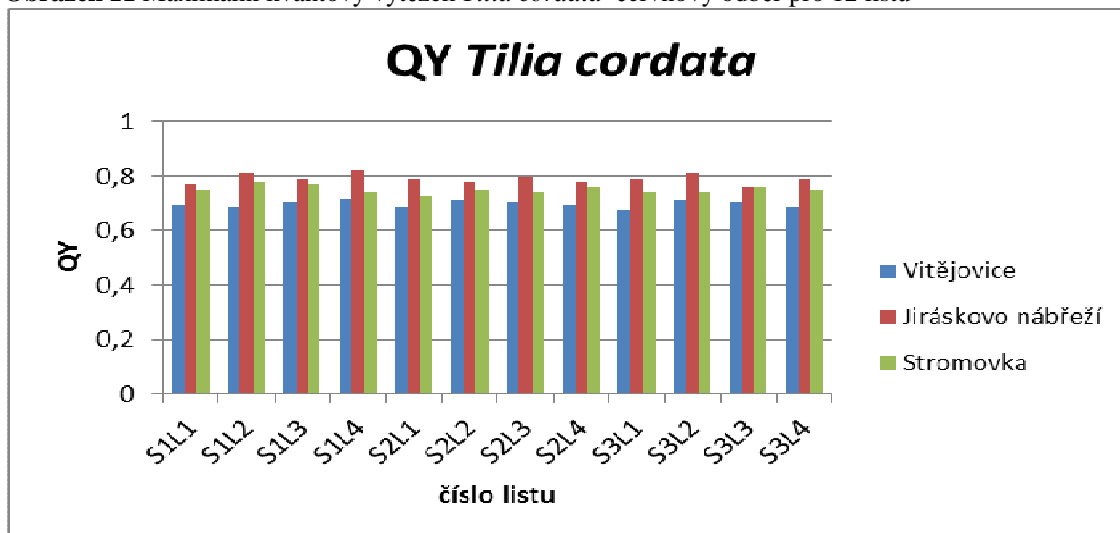
	průměr	rozptyl	sm. odchylka
Vitějovice	0,159331818	0,000486366	0,022053708
Stromovka	0,173217182	0,000246196	0,015690624
Jiráskovo náb.	0,198506727	0,002848453	0,053370899

**Tabulka 22** Statistické vyhodnocení vztahů mezi lokalitami (Obr. 11) vysvětlivky: - nevýznamný rozdíl, \* významný rozdíl, \*\* vysoce významný rozdíl.

	chl. b <i>Tilia cordata</i>
Vitějovice : Stromovka	-
Vitějovice : Jiráskovo náb.	-
Jiráskovo náb. : Stromovka	-

Minimum se u žádné z lokalit statisticky neliší. Maximum se statisticky liší u lokalit Vitějovice a Jiráskovo nábřeží. Vztahy mezi lokalitami nejsou nijak statisticky významné (Obr. 11).

**Obrázek 11** Maximální kvantový výtěžek *Tilia cordata* červnový odběr pro 12 listů



**Tabulka 23** Statistické vyhodnocení pro jednotlivé lokality (Obr. 12)

	průměr	rozptyl	sm. odchylka
Vitějovice	0,694166667	0,000207639	0,01440968
Jiráskovo náb.	0,790833333	0,000274306	0,016562172
Stromovka	0,750833333	0,000190972	0,01381927

**Tabulka 24** Statistické vyhodnocení vztahů mezi lokalitami (Obr. 12) vysvětlivky: - nevýznamný rozdíl, \* významný rozdíl, \*\* vysoce významný rozdíl.

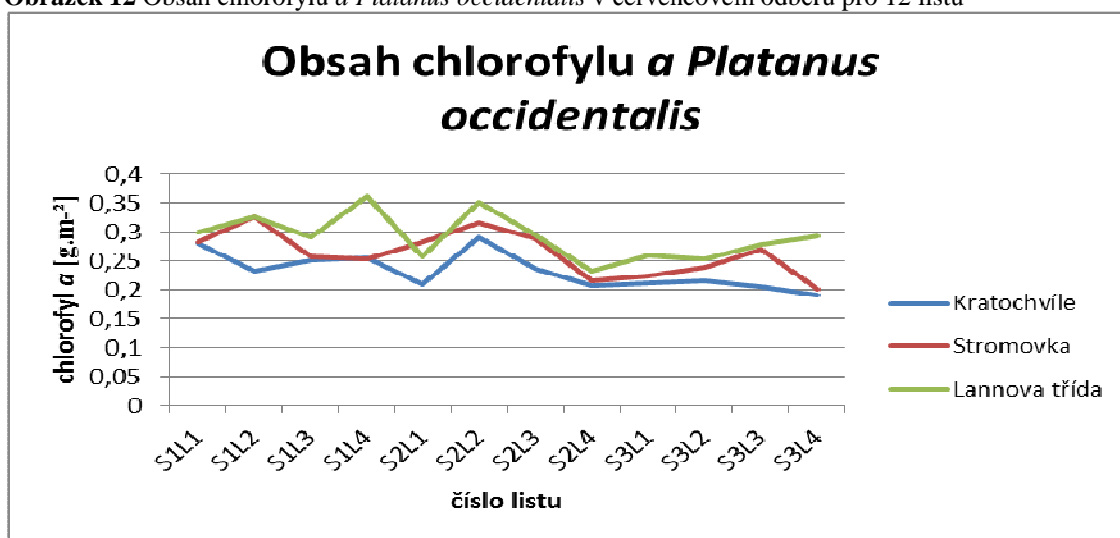
	QY Tilia cordata
Vitějovice : Stromovka	**
Vitějovice : Jiráskovo náb.	**
Jiráskovo náb. : Stromovka	**

Minimum a maximum se u žádné z lokalit statisticky neliší. Všechny lokality navzájem mají mezi sebou statisticky vysoce významný vztah (Obr. 12).

### 4.3 Červencový odběr

Červencový odběr byl uskutečněn 18. 7. 2013. Výsledky ukazují na neustále zvyšování obsahu chlorofylů a zvýšení fluorescence jak u platanu tak lípy (Obr. 15, Obr. 18). Rozdíly mezi lokalitami nejsou tak markantní jako v předchozím odběru, avšak jsou viditelné (Obr. 17, Obr. 14).

**Obrázek 12** Obsah chlorofylu *a Platanus occidentalis* v červencovém odběru pro 12 listů



**Tabulka 25** Statistické vyhodnocení pro jednotlivé lokality (Obr. 13)

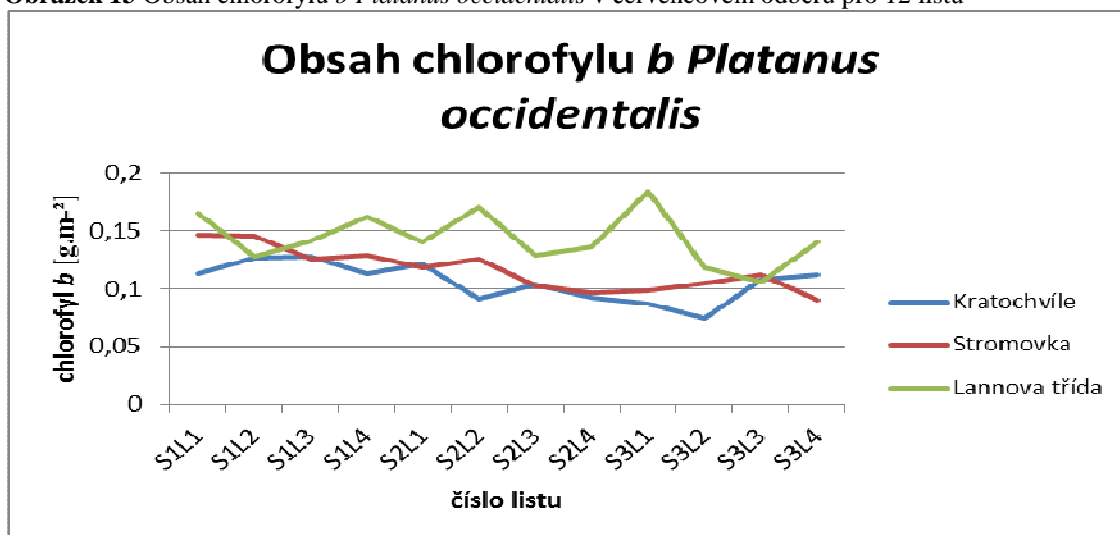
	průměr	rozptyl	sm. odchylka
Kratochvíle	0,23164878	0,000939067	0,030644195
Stromovka	0,262766508	0,001387626	0,03725085
Lannova třída	0,290949947	0,001420037	0,037683375

**Tabulka 26** Statistické vyhodnocení vztahů mezi lokalitami (Obr. 13) vysvětlivky: - nevýznamný rozdíl, \* významný rozdíl, \*\* vysoce významný rozdíl.

	chl. a <i>Platanus occidentalis</i>
Kratochvíle : Stromovka	-
Kratochvíle : Lannova tř.	*
Lannova tř. : Stromovka	-

Minimum a maximum se u žádné z lokalit statisticky neliší. Vztah mezi lokalitami je statisticky významný pouze u lokalit Kratochvíle – Lannova třída (Obr. 13).

**Obrázek 13** Obsah chlorofylu *b* *Platanus occidentalis* v červencovém odběru pro 12 listů



**Tabulka 27** Statistické vyhodnocení pro jednotlivé lokality (Obr. 14)

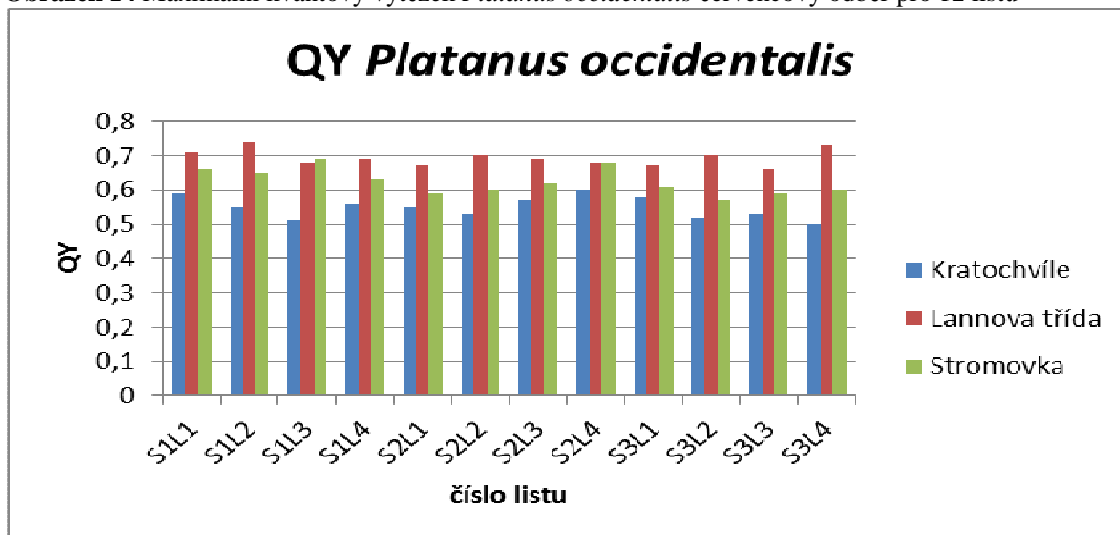
	průměr	rozptyl	sm. odchylka
Kratochvíle	0,105620792	0,000253506	0,015921863
Stromovka	0,115912824	0,000322752	0,017965303
Lannova třída	0,143215105	0,000478876	0,021883234

**Tabulka 28** Statistické vyhodnocení vztahů mezi lokalitami (Obr. 14) vysvětlivky: - nevýznamný rozdíl, \* významný rozdíl, \*\* vysoce významný rozdíl.

	chl. b <i>Platanus occidentalis</i>
Kratochvíle : Stromovka	-
Kratochvíle : Lannova tř.	**
Lannova tř. : Stromovka	*

Minimum a maximum se u žádné z lokalit statisticky neliší. Vztah mezi lokalitami Kratochvíle – Stromovka není statisticky významný, mezi lokalitami Kratochvíle – Lannova třída je statisticky vysoce významný a mezi lokalitami Stromovka – Lannova třída je významný (Obr. 14).

**Obrázek 14** Maximální kvantový výtěžek *Platanus occidentalis* červencový odběr pro 12 listů



**Tabulka 29** Statistické vyhodnocení pro jednotlivé lokality (Obr. 15)

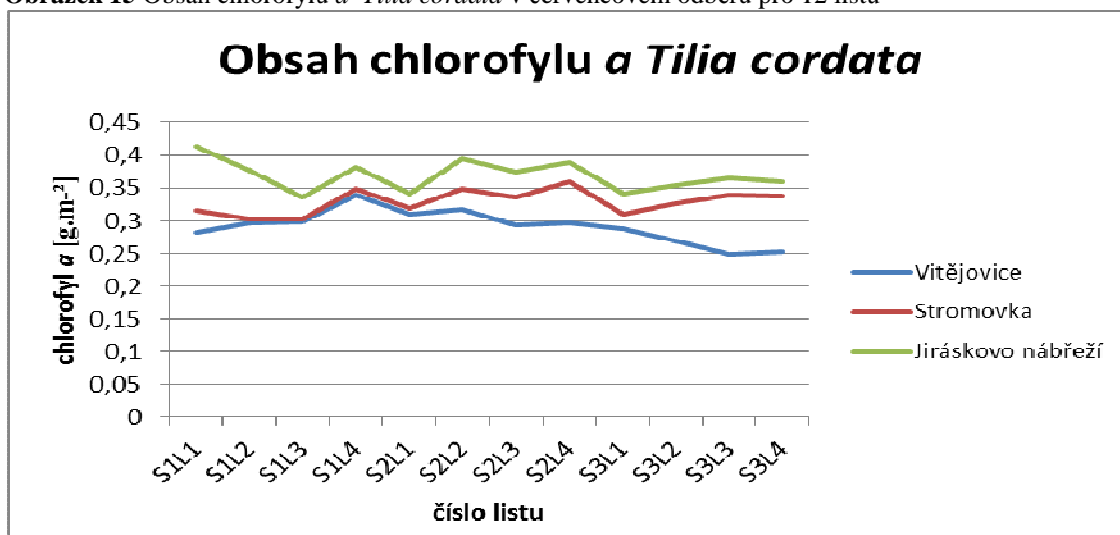
	průměr	rozptyl	sm. odchylka
Kratochvíle	0,549166667	0,549166667	0,549166667
Lannova třída	0,693333333	0,693333333	0,693333333
Stromovka	0,624166667	0,624166667	0,624166667

**Tabulka 30** Statistické vyhodnocení vztahů mezi lokalitami (Obr. 15) vysvětlivky: - nevýznamný rozdíl, \* významný rozdíl, \*\* vysoce významný rozdíl.

	QY <i>Platanus occidentalis</i>
Kratochvíle : Stromovka	**
Kratochvíle : Lannova tř.	**
Lannova tř. : Stromovka	**

Minimum a maximum se u žádné z lokalit statisticky neliší. Všechny lokality navzájem mají mezi sebou statisticky vysoce významný vztah (Obr. 15).

**Obrázek 15** Obsah chlorofylu *a Tilia cordata* v červencovém odběru pro 12 listů



**Tabulka 31** Statistické vyhodnocení pro jednotlivé lokality (Obr. 16)

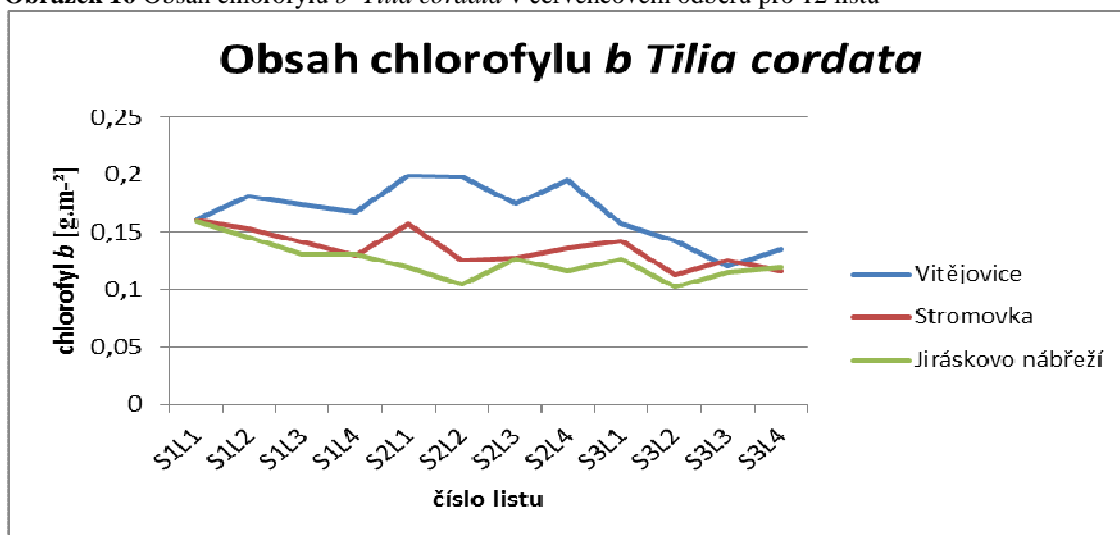
	průměr	rozptyl	sm. odchylka
Vitějovice	0,29116675	0,000595806	0,024409134
Stromovka	0,3285025	0,000334824	0,01829819
Jiráskovo náb.	0,368916667	0,000529824	0,023017904

**Tabulka 32** Statistické vyhodnocení vztahů mezi lokalitami (Obr. 16) vysvětlivky: - nevýznamný rozdíl, \* významný rozdíl, \*\* vysoce významný rozdíl.

	chl. a Tilia cordata
Vitějovice : Stromovka	**
Vitějovice : Jiráskovo náb.	**
Jiráskovo náb. : Stromovka	**

Minimum a maximum se u žádné z lokalit statisticky neliší. Vztahy mezi všemi lokalitami navzájem jsou statisticky vysoce významné (Obr. 16).

**Obrázek 16** Obsah chlorofylu *b* *Tilia cordata* v červencovém odběru pro 12 listů



**Tabulka 33** Statistické vyhodnocení pro jednotlivé lokality (Obr. 17)

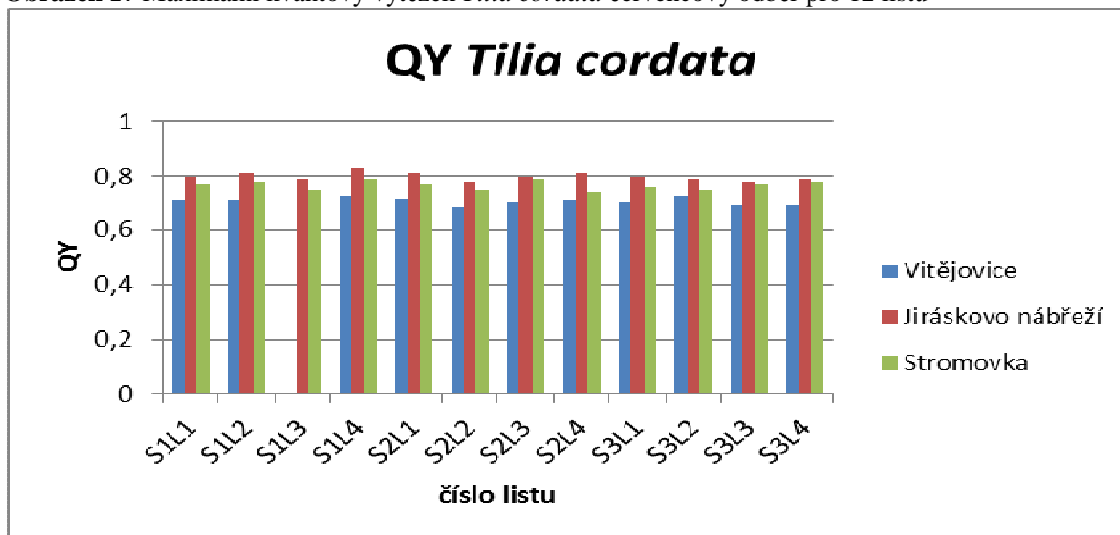
	průměr	rozptyl	sm. odchylka
Vitějovice	0,169952728	0,00052844	0,02298782
Stromovka	0,137325455	0,000199596	0,014127834
Jiráskovo náb.	0,125040909	0,000254989	0,015968369

**Tabulka 34** Statistické vyhodnocení vztahů mezi lokalitami (Obr. 17) vysvětlivky: - nevýznamný rozdíl, \* významný rozdíl, \*\* vysoce významný rozdíl.

	chl. b <i>Tilia cordata</i>
Vitějovice : Stromovka	**
Vitějovice : Jiráskovo náb.	**
Jiráskovo náb. : Stromovka	-

Minimum a maximum se u žádné z lokalit statisticky neliší. Vztahy mezi lokalitami navzájem jsou statisticky vysoce významné. Pouze mezi lokalitami Stromovka – Lannova třída je vztah statisticky nevýznamný (Obr. 17).

**Obrázek 17** Maximální kvantový výtěžek *Tilia cordata* červencový odběr pro 12 listů



**Tabulka 35** Statistické vyhodnocení pro jednotlivé lokality (Obr. 18)

	průměr	rozptyl	sm. odchylka
Vitějovice	0,706363636	0,000241322	0,015534552
Jiráskovo náb.	0,799166667	0,000190972	0,01381927
Stromovka	0,766666667	0,000255556	0,015986105

**Tabulka 36** Statistické vyhodnocení vztahů mezi lokalitami (Obr. 18) vysvětlivky: - nevýznamný rozdíl, \* významný rozdíl, \*\* vysoce významný rozdíl.

	QY <i>Tilia cordata</i>
Vitějovice : Stromovka	**
Vitějovice : Jiráskovo náb.	**
Jiráskovo náb. : Stromovka	**

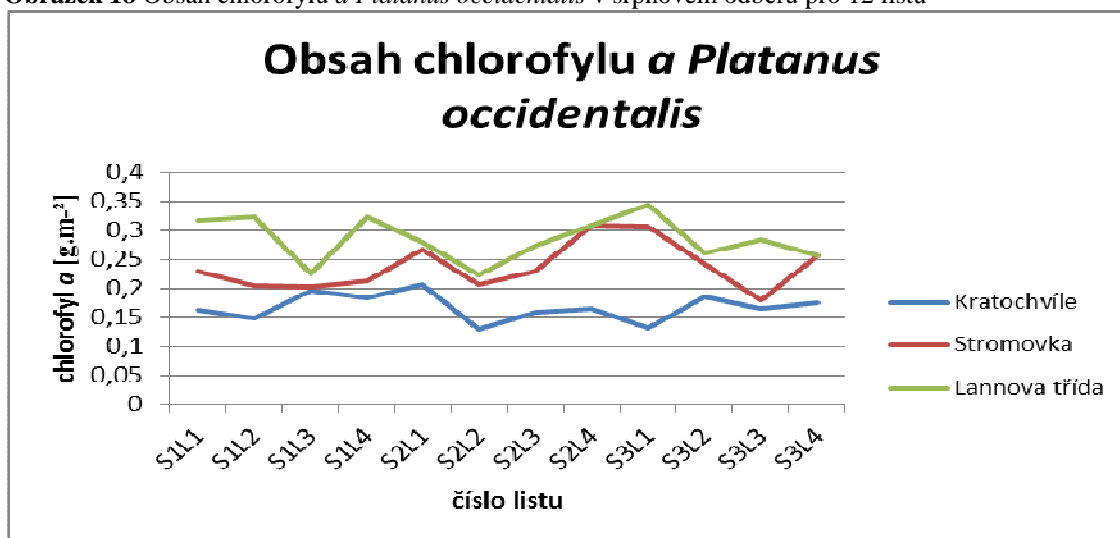
Minimum a maximum se u žádné z lokalit statisticky neliší. Všechny lokality navzájem mají mezi sebou statisticky vysoce významný vztah (Obr. 18).



## 4.4 Srpnový odběr

Srpnový odběr byl proveden 27. 8. 2013. Výsledky ukazují na to, že obsah chlorofylů u obou druhů rapidně klesá ve všech lokalitách stejně jako fluorescence (Obr. 21, Obr. 24).

**Obrázek 18** Obsah chlorofylu *a Platanus occidentalis* v srpnovém odběru pro 12 listů



**Tabulka 37** Statistické vyhodnocení pro jednotlivé lokality (Obr. 19)

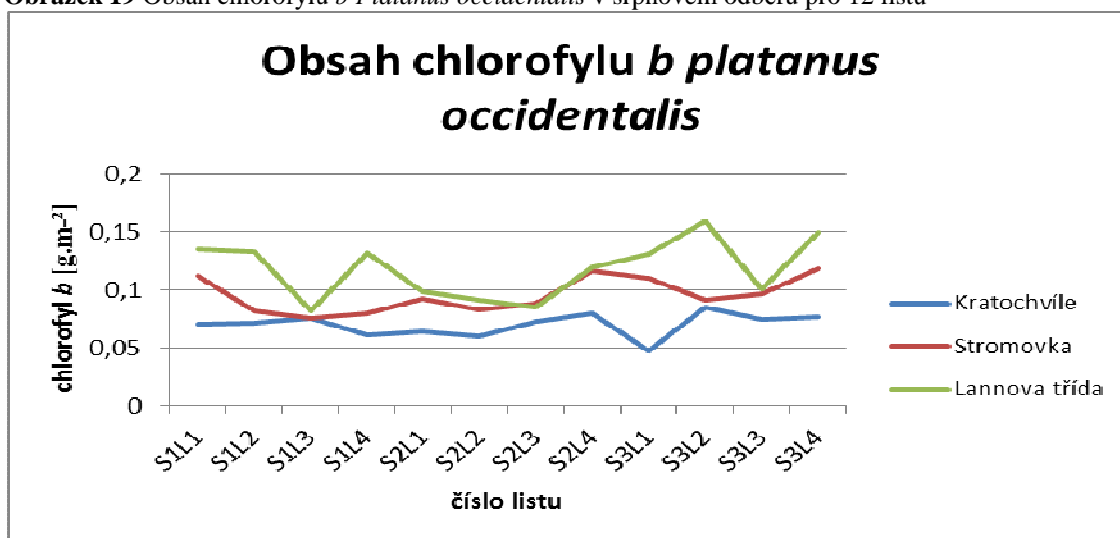
	průměr	rozptyl	sm. odchylka
Kratochvíle	0,168025595	0,000525892	0,022932342
Stromovka	0,237973158	0,001527462	0,039082753
Lannova třída	0,28534534	0,0014132	0,037592557

**Tabulka 38** Statistické vyhodnocení vztahů mezi lokalitami (Obr. 19) vysvětlivky: - nevýznamný rozdíl, \* významný rozdíl, \*\* vysoce významný rozdíl.

	chl. a <i>Platanus occidentalis</i>
Kratochvíle : Stromovka	**
Kratochvíle : Lannova tř.	**
Lannova tř. : Stromovka	*

Minimum a maximum se u žádné z lokalit statisticky neliší. Vztahy mezi lokalitami Kratochvíle – Stromovka a Kratochvíle – Lannova třída jsou statisticky vysoce významné. U lokalit Stromovka – Lannova třída je vztah statisticky významný (Obr. 19).

**Obrázek 19** Obsah chlorofylu *b* *Platanus occidentalis* v srpnovém odběru pro 12 listů



**Tabulka 39** Statistické vyhodnocení pro jednotlivé lokality (Obr. 20)

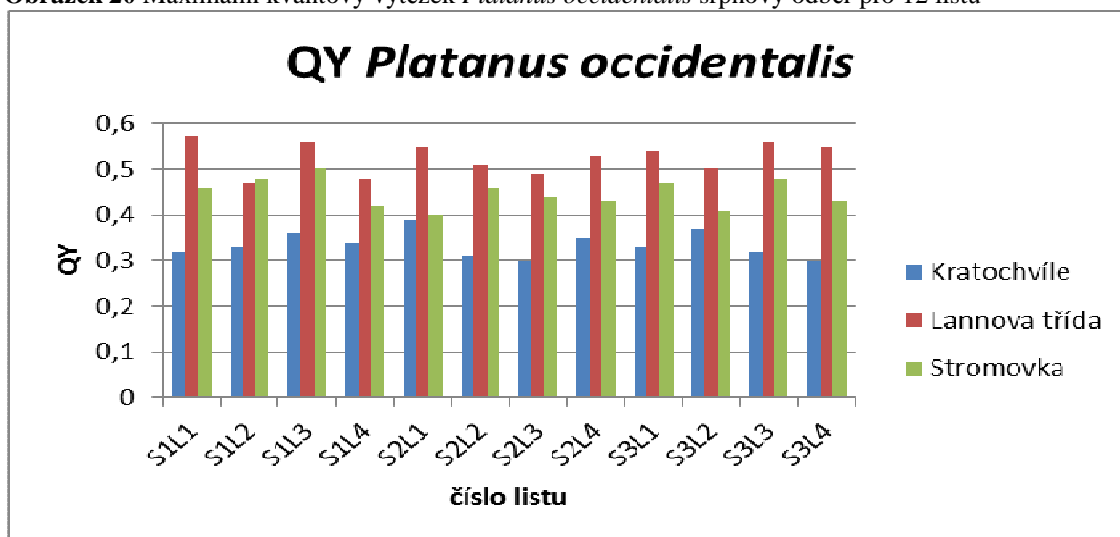
	průměr	rozptyl	sm. odchylka
Kratochvíle	0,069750116	0,000096536	0,009825284
Stromovka	0,095300643	0,000207027	0,014388438
Lannova třída	0,117771159	0,000610529	0,024708884

**Tabulka 40** Statistické vyhodnocení vztahů mezi lokalitami (Obr. 20) vysvětlivky: - nevýznamný rozdíl, \* významný rozdíl, \*\* vysoce významný rozdíl.

	chl. b <i>Platanus occidentalis</i>
Kratochvíle : Stromovka	*
Kratochvíle : Lannova tř.	**
Lannova tř. : Stromovka	*

Minimum se statisticky liší pouze u lokality Kratochvíle. Maximum se statisticky neliší. Mezi lokalitami Kratochvíle – Lannova třída je vztah statisticky vysoce významný. Mezi ostatními lokalitami je vzájemný vztah statisticky významný (Obr. 20).

**Obrázek 20** Maximální kvantový výtěžek *Platanus occidentalis* srpnový odběr pro 12 listů



**Tabulka 41** Statistické vyhodnocení pro jednotlivé lokality (Obr. 21)

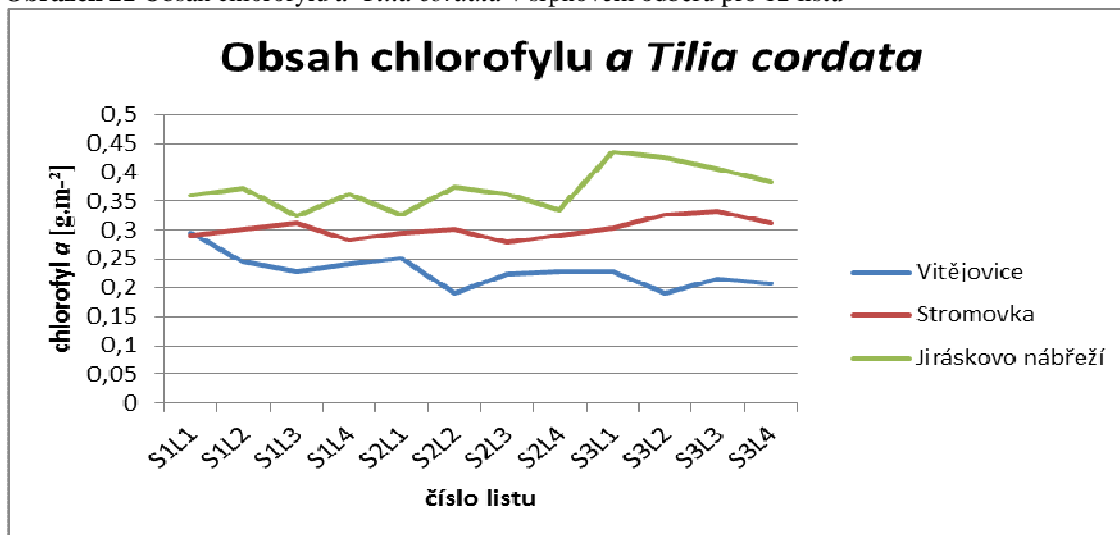
	průměr	rozptyl	sm. odchylka
Kratochvíle	0,335	0,000725	0,026925824
Lannova třída	0,525833333	0,001090972	0,033029869
Stromovka	0,448333333	0,000897222	0,029953668

**Tabulka 42** Statistické vyhodnocení vztahů mezi lokalitami (Obr. 21) vysvětlivky: - nevýznamný rozdíl, \* významný rozdíl, \*\* vysoce významný rozdíl.

	QY <i>Platanus occidentalis</i>
Kratochvíle: Stromovka	**
Kratochvíle : Lannova tř.	**
Lannova tř. : Stromovka	**

Minimum a maximum se u žádné z lokalit statisticky neliší. Všechny lokality navzájem mají mezi sebou statisticky vysoce významný vztah (Obr. 21).

**Obrázek 21** Obsah chlorofylu *a Tilia cordata* v srpnovém odběru pro 12 listů



**Tabulka 43** Statistické vyhodnocení pro jednotlivé lokality (Obr. 22)

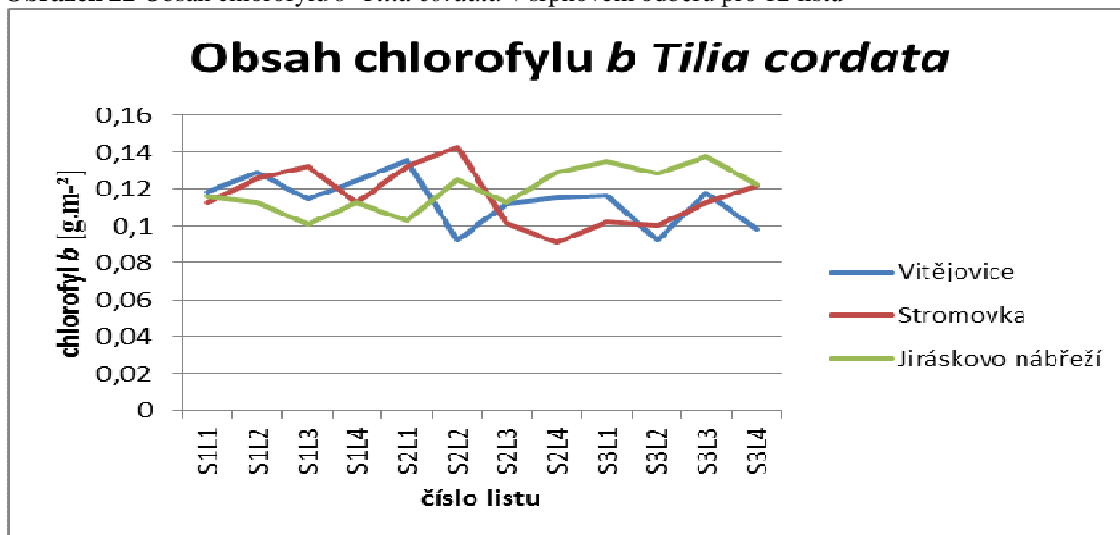
	průměr	rozptyl	sm. odchylka
Vitějovice	0,22875673	0,000729968	0,027017924
Stromovka	0,302417592	0,000243275	0,015597284
Jiráskovo náb.	0,372280667	0,001190512	0,03450379

**Tabulka 44** Statistické vyhodnocení vztahů mezi lokalitami (Obr. 22) vysvětlivky: - nevýznamný rozdíl, \* významný rozdíl, \*\* vysoce významný rozdíl.

	chl. a Tilia cordata
Vitějovice : Stromovka	**
Vitějovice : Jiráskovo náb.	**
Jiráskovo náb. : Stromovka	**

Minimum a maximum se u žádné z lokalit statisticky neliší. Vztah mezi všemi lokalitami navzájem je statisticky vysoce významný (Obr. 22).

**Obrázek 22** Obsah chlorofylu *b* *Tilia cordata* v srpnovém odběru pro 12 listů



**Tabulka 45** Statistické vyhodnocení pro jednotlivé lokality (Obr. 23)

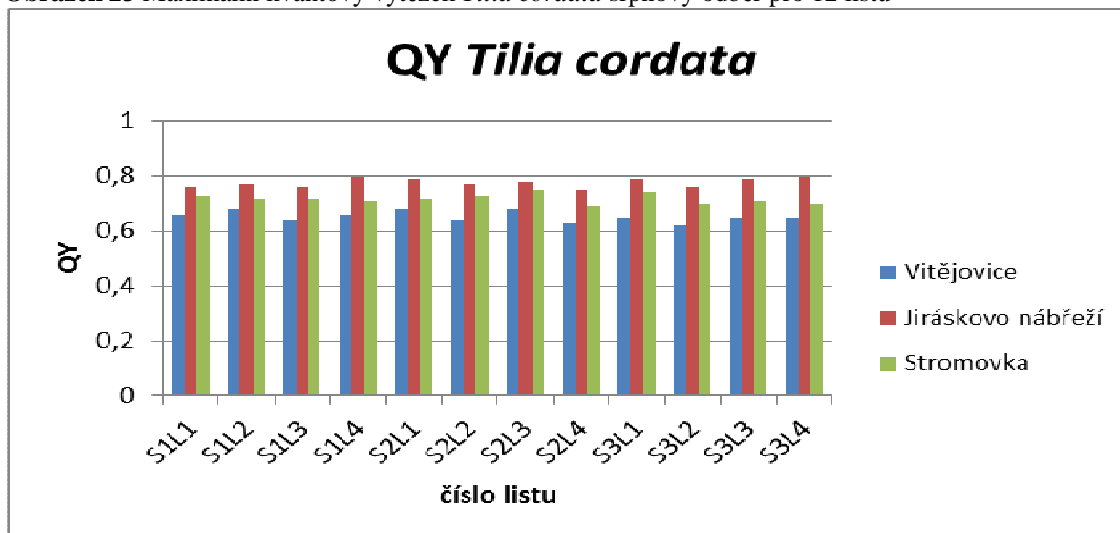
	průměr	rozptyl	sm. odchylka
Vitějovice	0,115202054	0,000161848	0,012721938
Stromovka	0,115040445	0,000238254	0,015435475
Jiráskovo náb.	0,119196909	0,000139048	0,011791874

**Tabulka 46** Statistické vyhodnocení vztahů mezi lokalitami (Obr. 23) vysvětlivky: - nevýznamný rozdíl, \* významný rozdíl, \*\* vysoce významný rozdíl.

	chl. b <i>Tilia cordata</i>
Vitějovice : Stromovka	-
Vitějovice : Jiráskovo náb.	-
Jiráskovo náb. : Stromovka	-

Minimum se statisticky neliší u žádné z lokalit. Maximum se významně statisticky liší u lokality Stromovka. Vztahy mezi lokalitami navzájem jsou statisticky nevýznamné (Obr. 23).

**Obrázek 23** Maximální kvantový výtěžek *Tilia cordata* srpnový odběr pro 12 listů



**Tabulka 47** Statistické vyhodnocení pro jednotlivé lokality (Obr. 24)

	průměr	rozptyl	sm. odchylka
Vitějovice	0,653333333	0,000355556	0,018856181
Jiráskovo náb.	0,776666667	0,000272222	0,016499158
Stromovka	0,718333333	0,000280556	0,016749793

**Tabulka 48** Statistické vyhodnocení vztahů mezi lokalitami (Obr. 24) vysvětlivky: - nevýznamný rozdíl, \* významný rozdíl, \*\* vysoce významný rozdíl.

	QY Tilia cordata
Vitějovice : Stromovka	**
Vitějovice : Jiráskovo náb.	**
Jiráskovo náb : Stromovka	**

Minimum a maximum se u žádné z lokalit statisticky neliší. Všechny lokality navzájem mají mezi sebou statisticky vysoce významný vztah (Obr. 24).

## 5 Diskuze

Spojení hodnocení fluorescence chlorofylu spolu s hodnocením obsahu chlorofylů umožňuje komplexnější vhled do fotosyntetických pochodů uvnitř asimilačního aparátu. Čím větší je hodnota maximálního kvantového výtěžku, tím je průběh fotosyntézy horší. Původní předpoklad byl, že květnové hodnoty budou více rozkolísané kvůli nedostatečnému vyzrání listů. To se však v měření fotosynteticky aktivních pigmentů ani v měření fluorescence neodrazilo. Dle předpokladů, již v tomto odběru je vidět rozdíl mezi různě znečištěnými lokalitami ale jen slabě. *Platanus occidentalis* a *Tilia cordata* mají hodnoty obsahu chlorofylu *a* i *b* srovnatelné. To může být způsobeno právě menší vyzrálostí fotosyntetického aparátu. U *Tilia cordata* jsou u chlorofylu *b* v různých lokalitách velmi vyrovnané. Podle kritérií byly hodnoty z květnového odběru pro maximální kvantový výtěžek ( $QY = F_v/F_m$ ) pod prahovou hodnotou poruch, jak u *Tilia cordata*, tak u *Platanus occidentalis*. Hodnota poukazuje na nevyzrálost plektiva (Bolhar-Nordenkamp a kol. 1992). Následovně postupné zvyšování kvantového výtěžku ( $QY$ ) odpovídá sledování pro buk a smrk od autorů Čaňová a kol. 2008. V průběhu fenologického vývoje listů u dospělého buku naměřili přístrojem PEA u druhého stádia rašení hodnotu 0,78; u 4. stádia pak hodnotu 0,82. Přímé srovnání maximálního kvantového výtěžku fotosystému II. je velmi obtížné. Je to zejména kvůli použití jiného měřicího přístroje. Hodnoty  $F_o$  jsou ovlivněny záblesky měřicího světla předcházejícího saturačnímu záblesku. Hodnoty chlorofylů odpovídají danému poměru uváděnému v literatuře pro rostliny, které rostou v optimálních podmínkách (Gloser 1998). Relativně stabilní poměr chlorofylu *a*/chlorofylu *b* mezi termíny naznačuje, že tvorba chlorofylu *a* není příliš potlačena vnějšími vlivy a rostliny tak mohou tvořit větší množství asimilátů pro svůj růst. Poměr chlorofylů významně závisí na ozáření listů. U stinných listů spadá až ke spodní hranici stanoveného rozmezí (Sarijeva a kol. 2007). Pro minimalizaci tohoto jevu byly pro měření a následný sběr využívány pouze plně osluněné listy.

Květnový odběr již poukazuje na rozdíly v obsahu chlorofylů v závislosti na znečištění lokalit. Avšak rozdíly mezi obsahy chlorofylů mezi *Platanus occidentalis* a *Tilia cordata* ještě nejsou zcela vůbec patrné. To nasvědčuje o menší vyzrálosti listů u *Tilia cordata*. Stejně tak jako velmi podobný obsah chlorofylu *b* u *Tilia cordata* ve všech lokalitách.

Vyztřálé listy na konci června již vykazovaly průkazně vyšší hodnoty jak u maximálního kvantového výtěžku (QY) tak u obsahu chlorofylů *a* i *b*. Jak vyplývá z analýz obsahu chlorofylů, tento rozdíl je jednoznačně podmíněn vyšší koncentrací těchto pigmentů. Z červnové analýzy vyplývá, že je vliv znečištění ovzduší na obsah chlorofylů statisticky významný, a to zejména mezi lokalitami minimálně znečištěnými (Kratohvíle, Vitějovice) a lokalitami maximálně znečištěnými (Lannova třída, Jiráskovo nábreží). Rozdíly jsou patrné jak v obsahu chlorofylů, tak v maximálním kvantovém výtěžku. Výjimkou je obsah chlorofylu *b* u *Tilia cordata*. Zde se neobjevily statisticky významné rozdíly mezi jednotlivými lokalitami. To může být spojeno s delším vyzríváním fotosyntetického aparátu u *Tilia cordata* (Pokorný 1990).

K umělému nadhodnocení variabilní fluorescence (Fv) mohou vést měření při teplotách nižších než 20°C. Zvláště stresové teploty vedou k podstatným změnám v maximálním kvantovém výtěžku (Huner a kol. 1992). Při teplotách okolo 47°C je popsán nárůst hodnot Fo. Tento nárůst značí nenávratně poškozený fotosystém II (Dreyer a kol. 2001). Ke stejné teplotě se výzkumem dospělo i u jedle bělokoré, smrku a dalších pěti dřevin (Robakowski a kol. 2002). Při teplotách, které jsou pro rostlinu příznivé, jsou změny fluorescence a obsahu chlorofylů minimální (Ilík a kol. 1997). Pro minimalizaci vlivu teploty bylo měření a následný odběr prováděn při teplotách 20°C - 26°C. To znamená, že vliv teploty by neměl být patrný na výsledcích analýzy.



## 6 Závěr

Práce vycházela z předpokladu, že obsah chlorofylů se bude lišit v závislosti na lokalitách s různou mírou znečištění ovzduší. Další hypotézou bylo, že dva druhy rostlin (lípa a platan) budou rozdílně reagovat na stres ze znečištěného ovzduší automobilovou dopravou, tedy budou mít rozdílný obsah chlorofylů a rozdílný maximální kvantový výtěžek v různých lokalitách. Cílem práce také bylo ověřit, zda se metoda fluorescence a spektrofotometrické stanovení obsahu chlorofylu nebudou lišit (popř. lišit minimálně).

Potvrdilo se, že rostliny reagují na stres ze znečištění ovzduší automobilovou dopravou a to tak, že se zvyšuje obsah chlorofylů a maximální kvantový výtěžek v závislosti na míře znečištění lokality, ve které se rostlina vyskytuje. Také se prokázalo, že se bude lišit obsah chlorofylů (a také maximální kvantový výtěžek) v závislosti na druhové příslušnosti. Nepotvrdilo se, že by platan méně reagoval na znečištění ovzduší oproti lípě, o které je známo, že je méně odolná vůči stresu. Rozdíl v obsahu chlorofylů v závislosti na znečištění je statisticky prokazatelný (ve většině případů je vysoce významně prokazatelný) téměř ve všech případech. Statisticky neprůkazný je v odběru z května, června a srpna u lípy, a to u chlorofylu *b*. Neprůkaznost může být způsobena zejména v květnu špatnou vyzářností fotosyntetického aparátu. Naopak v srpnu to může být způsobeno přípravou na opad listů nebo značným poškozením listů. Další nesrovnalosti například v červencovém odběru platanu, a to v obsahu chlorofylu *b*, může být statistická neprokazatelnost vztahů mezi lokalitami způsobena například tím, že směr větru byl od hlavní silnice k lokalitě Stromovka, což mohlo způsobit v lokalitě větší obsah škodlivin v ovzduší než je normální stav. Obdobná situace mohla nastat v lokalitě Kratochvíle, protože v době odběru zde probíhaly dostihy a tudíž zde bylo mnohem více aut a sledované platany se nacházejí pouze 20 m od závodiště. Obsah chlorofylů je závislý na druhové příslušnosti. Více chlorofylů obsahuje lípa. Rozdílné ovlivnění chlorofylů u lípy a platanu nebylo prokázáno. Shodnost obou metod se zcela neprokázala. Statistické vyhodnocení sice poukazuje na shodnost v prokazatelnosti rozdílů lokalit jak u maximálního kvantového výtěžku, tak u obsahu chlorofylů, ale nebylo možné tyto dvě komplexně porovnat, a to zejména proto, že spektrofotometrická metoda může určit obsah jednotlivých chlorofylů, u metody fluorescence můžeme určit pouze kvalitu probíhající fotosyntézy.

V této práci byl možnou komplikací nedostatek odpovídajících údajů u platanu a jeho reakci na stres. Dalším možným problémem byla rozdílnost přístrojů. Toto téma by jistě zasloužilo další pozornost, především z hlediska srovnatelnosti obou metod. Pro případné pokračování výzkumu by bylo nezbytné upravit metodiku. Měření fluorescence je jednodušší, časově nenáročná a hlavně neinvazivní metoda, která nachází stále větší uplatnění. Pokud by se kompatibilita prokázala, usnadnilo by to práci v dalších výzkumech.

## 7 Seznam použité literatury

**Adamec V. a kol.** 2008. Doprava, zdraví a životní prostředí, GRADA, Praha, 160 s.

**Balcar V., Vacek S., Henžlík V.** 1994. Poškození a úhyn lesních porostů v Sudetských horách. In: Paschalis P., Zajaczkowski S. (eds.): Protection of forest ecosystems. Selected problems of forestry in Sudety Mountains. Rozwoj, Varšava, SGGV: 29-57.

**Bláha L.** 2003. Rostlina a stres. Výzkumný ústav rostlinné výroby, Praha, 156 s.

**Bolhar-Nordenkamp H. R., Grötzl M.** 1992. Chlorophyll-floreszenz als Indikator der mit der Seehöhe zunehmenden Stressbelastung von Fichtennadeln. FBVA – Berichte, 67: 119-131.

**Čaňová I., Ďurkovič J., Hladká D.** 2008. Stomatal and chlorophyll fluorescence characteristics in European beech cultivars during leaf development. *Biologia Plantarum*, 52: 577-581.

**Dieter H.** 1979. Pflanzenphysiologie. 6. Vydání, Eugen Ulmer, Stuttgart, 327 s.

**Dreyer E., Roux X. Le, Montpied P., Daudet F. A., Masson F. A.** 2001. Temperature response of leaf photosynthetic capacity in seedlings from seven temperate tree species. *Tree Physiology*, 21:223-232.

**Gloser J.** 1998. Fyziologie rostlin. Masarykova univerzita, Brno, 157 s.

**Harbinson J., Rosenquist E.** 2003. An introduction to chlorophyll fluorescence. In: DeEll, J.R., Toivonen, P.M.A. (eds.): Practical applications of chlorophyll fluorescence in plant biology. Boston, Kluwer Academic, 1-30.

**Hartley RD** 1973. Lignin carbohydrate linkages in plant cell-walls .1. Carbohydrate esters of ferulic acid as components of cell-walls of *Lolium-multiflorum*. *Phytochemistry*, 12: 661-665.

**Heike K.** 1978. Praktická dendrologie. 1.vydání, SZN / Rostlinná výroba, Praha, 190 s.

**Huner N. P. A., Oquist G., Sundblad L. G.** 1992. Low measuring temperature induced artifactual increase in chlorophyll *a* fluorescence. *Plant Physiology*, 98: 749- 752.

**Ilík P., Lazár D., Nauš J.** 1997. An appearance of K-peak in fluorescence induction depends on the acclimation of barley leaves to higher temperature. *Journal of Luminescence* 72-74, 595-596.

**Jenks E. M., Hasegawa P. M.** 2005. Plant abiotic stress. Blackwell, Oxford, 270s.

- Kincl M., Faustus L.** 1978. *Základy fyziologie rostlin*. Státní pedagogické nakladatelství, Praha, 176 s.
- Kincl M., Krpeš V.** 1994. *Fyziologie rostlin*. Ostravská univerzita, Ostrava, 220 s.
- Kincl M., Krpeš V.** 2006. *Základy fyziologie rostlin*. Ostravská univerzita, Ostrava, 220 s.
- Lang M., Stober F., Lichtenhaler H.K.** 1991. Fluorescence emission-spectra of plant-leaves and plant constituents. *Radiation and Environmental Biophysics*, 30: 333-347.
- Lawlor D. W.** 1993. *Photosynthesis*. 2. vydání, Longman Group, London, 304s.
- Linskens H. F.** 1984. *Cellular interactions*. 1. vydání, Springer, Berlin, 743 s.
- Lichtenhaler H.K., Schweiger J.** 1998. Cell wall bound ferulic acid, the major substance of the blue-green fluorescence emission of plants. *Jornal of Plants Physiology*, 152:272-282.
- Maxwell K., Johnson G. J.** 2000. Chlorophyll fluorescence- a practical guide. *Jurnal of Experimental Botany*, 51: 659-668.
- Mikulka A.** 1976. *Naše stromy a keře*. Mladá fronta, Praha, 188 s.
- Nilson E. T., Orcutt D. M.** 1996. *The physiology of plants under stress: abiotic factors*. John Wiley & Sohns, New York, 689 s.
- Pilát A.** 1953. *Listnaté stromy a keře našich zahrad a parků*. Státní zemědělské nakladatelství, Praha, 560 s.
- Pokorný J., Matoušová V., Konečná M.** 1990. *Stromy*. Aventium, Praha, 223 s.
- Procházka S., Macháčková I., Krekule J., Šebánek J. a kolektiv.** 1998. *Fyziologie rostlin*. Academia, Praha, 460 s.
- Rajchard J.** 1999. *Základy ekologické fyziologie obratlovců*. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, České Budějovice, 161 s.
- Robakowski P., Montpied P., Dreyer E.** 2002. Temperature response of photosynthetic of silver fir (*Abies alba* Mill.) seedlings. *Annals of Forest Science*, 59: 163-170.
- Sarijeva G., Knapp M., Lichtenhaler H. K.** 2007. Differences in photosynthetic activity, chlorophyll and carotenoid levels, and in chlorophyll fluorescence parameters in green sun and shade leaves of *Ginko* and *Fagus*. *Journal of Plant Physiology*, 164: 950-955.
- Soukupová J., Roháček K.** 2005. Fluorescence, fotosyntéza a stress: Jak to spolu souvisí?. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, České Budějovice, 14 s.

**Šebánek J., Gréc L., Javor A., Švihra J.** 1983. Fyziologie rostlin. Státní zemědělské nakladatelství, Praha, 558 s.

**Taiz L., Zeiger E.** 2002. Plant physiology. Sunderland, Sinauer associates, 690 s.

**Větvička V., Matoušová V.** 1984. Stromy a kry. Artia, Praha, 311 s.

**Voet, D., Voetová, J. G.** 1995. Biochemie. Victoria Publishing, Praha, 1318 s.