

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI

PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA

KATEDRA BOTANIKY

**Fotosyntetická kapacita cytotypů  
česneku planého (*Allium oleraceum*)**

Diplomová práce

Eliška Ježilová

Studijní program Biologie, studijní obor Botanika

Forma studia prezenční

Vedoucí práce: RNDr. Martin Duchoslav, PhD.

2010

Prohlašuji, že jsem zadanou diplomovou práci vypracovala samostatně za použití uvedené literatury a pod odborným vedením RNDr. Martina Duchoslava, PhD.

V Olomouci, 13. 8. 2010

---

Děkuji RNDr. Martinu Duchoslavovi, Ph.D. za podnětné rady a připomínky v průběhu vedení mé diplomové práce, Mgr. Vladimíře Hlaváčkové, Ph.D. za vedení při obsluze gazometrické aparatury, kolegyni Michaelae Jandové za proměření ploidie u jednotlivých rostlin, Mgr. Janu Hlavinkovi za pomoc při péči o rostliny na katedře biofyziky a Tereze Pěnkavové za pomoc při sušení rostlin. Také děkuji své rodině za trpělivost a psychickou podporu.

**Bibliografická identifikace:****Jméno a příjmení autora:** Eliška Ježilová**Název práce:** Fotosyntetická kapacita cytotypů česneku planého (*Allium oleraceum*)**Typ práce:** diplomová práce**Pracoviště:** katedra botaniky**Vedoucí práce:** RNDr. Martin Duchoslav, Ph.D.**Rok obhajoby práce:** 2010

**Abstrakt:** Byl studován vliv polyploidie na vybrané anatomické parametry a parametry fotosyntézy druhu *Allium oleraceum* L. Tento druh se v České republice nachází ve třech cytotypech ( $2n = 4x = 32$ ,  $5x = 40$ ,  $6x = 48$ ), které se odlišují ve svých ekologických nárocích a distribuci. Různá ekogeografická distribuce cytotypů může souviset s různou fotosyntetickou kapacitou a odlišnými nároky na vnější faktory ovlivňujícími fotosyntézu. Vybrané parametry fotosyntézy u všech tří cytotypů se měřily na otevřené gazometrické aparatuře. Hexaploidní rostliny byly ve srovnání s pentaploidy a tetraploidy málo variabilní a měly podobnou fotosyntetickou kapacitu. Rychlost fotosyntézy, transpirace a stomatální vodivost v saturaci vyjádřené na plochu listu se mezi ploidiemi signifikantně nelišily. Intercelulární koncentrace  $\text{CO}_2$  v saturaci vyjádřená na plochu listu byla u tetraploidů signifikantně vyšší než u zbývajících ploidií. Rychlost temnostní respirace na plochu listu byla u pentaploidů signifikantně nižší než u zbývajících ploidií. Hexaploidní rostliny vykazovaly signifikantně vyšší zjevný kvantový výtěžek fotosyntézy a tendenci k vyšší maximální rychlosti fotosyntézy a vyššímu indexu konvexity ve srovnání s nižšími ploidiemi. Tetraploidní rostliny vykazovaly tendenci k vyššímu kompenzačnímu bodu. Hustota stomat se mezi ploidiemi nelišila. Průměrná hodnota specifické listové plochy klesala s rostoucí ploidií. Výsledky jsou diskutovány v kontextu ekologie a evoluce studovaného taxonu.

**Klíčová slova:** polyploidie, hustota průduchů, fotosyntéza, gazometrie, ekologická diference, *Allium*

**Počet stran:** 80**Počet příloh:** 5**Jazyk:** čeština**Bibliographic identification:**

**Autor's first name and surname:** Eliška Ježilová

**Title:** Photosynthetic capacity of cytotypes of field garlic (*Allium oleraceum*)

**Type of thesis:** master

**Department:** Department of botany

**Supervisor:** RNDr. Martin Duchoslav, Ph.D.

**The year of presentation:** 2010

**Abstract:** The influence of polyploidy on selected anatomical and photosynthetic parameters of *Allium oleraceum* L. was studied. There are three cytotypes ( $2n = 4x = 32$ ,  $5x = 40$ ,  $6x = 48$ ) in the Czech republic which have different ecological demands and distribution. Different ecogeographic distribution of cytotypes can bear on different photosynthetic capacity and demands on external factors that affect photosynthesis. Selected parameters of photosynthesis were measured on open gas-exchange system. Measured parameters were less variable in hexaploid plants than in penta- and tetraploids. Photosynthetic rate, rate of transpiration and stomatal conductance at saturation per unit leaf area weren't significantly different between ploidy. Intercellular concentration of  $CO_2$  at saturation on leaf area basis was significantly higher in tetraploids. Rate of dark respiration per unit leaf area was significantly lower in pentaploids than in other ploidy levels. Hexaploid plants showed tendency to higher apparent quantum yield and higher maximal photosynthetic rate when compared with lower ploidy levels. Tetraploids tended to have higher compensation point than other ploidy levels. Stomatal density wasn't significantly different between ploidy levels. Specific leaf area decreased with increasing ploidy level. The results are discussed in context of ecology and evolution of this polyploid taxon.

**Keywords:** polyploidy, stomatal density, photosynthesis, gas exchange system, ecological differentiation, *Allium*

**Number of pages:** 80

**Number of appendices:** 5

**Language:** Czech

## Obsah

1.	ÚVOD .....	8
1.1	CÍLE PRÁCE .....	8
1.2	POLYPLOIDIE .....	9
1.2.1	Definice .....	9
1.2.2	Rozšíření .....	9
1.2.3	Velikost genomu .....	10
1.2.4	Typy .....	11
1.2.5	Původ, vznik .....	12
1.2.6	Evoluce genomu u polyploidů .....	12
1.3	FOTOSYNTÉZA .....	13
1.3.1	Úvod .....	13
1.3.2	Průběh .....	13
1.3.3	Fotorespirace .....	16
1.3.4	C <sub>3</sub> , C <sub>4</sub> a CAM metabolismus .....	17
1.4	PARAMETRY FOTOSYNTÉZY .....	20
1.5	VLIV EKOLOGICKÝCH PARAMETRŮ NA FOTOSYNTÉZU .....	26
1.5.1	Obecně .....	26
1.5.2	Světlo .....	26
1.5.3	Koncentrace CO <sub>2</sub> .....	28
1.5.4	Teplota .....	29
1.5.5	Voda .....	30
1.5.6	Živiny .....	30
1.6	VLIV POLYPLOIDIE NA FOTOSYNTÉZU .....	30
1.6.1	Obecně .....	30
1.6.2	Anatomické vlivy .....	32
1.6.3	Biochemické vlivy .....	33
1.6.4	Vyjádření rychlosti fotosyntézy .....	33
1.6.5	Rychlost fotosyntézy .....	35
1.6.6	Vliv fylogenetického stáří .....	36
1.7	GAZOMETRICKÉ MĚŘENÍ FOTOSYNTÉZY .....	38
1.7.1	Metody měření fotosyntézy .....	38
1.7.2	Princip .....	38
1.7.3	Typy .....	39

1.7.4	Součásti gazometrických systémů .....	41
2.	METODIKA .....	44
2.1	STUDOVANÝ DRUH .....	44
2.2	VÝBĚR ROSTLINNÉHO MATERIÁLU .....	45
2.3	PROVÁDĚNÁ MĚŘENÍ.....	46
2.3.1	Měření saturačních a světelných křivek.....	46
2.3.2	Konstrukce křivek.....	48
2.3.3	Fitování křivek.....	48
2.3.4	Měření listové plochy .....	49
2.3.5	Výpočet hustoty průduchů .....	49
2.3.6	Výpočet specifické listové plochy (SLA).....	49
2.3.7	Statistické zpracování .....	49
3.	VÝSLEDKY .....	51
3.1	SATURAČNÍ KŘIVKY .....	51
3.2	SVĚTELNÉ KŘIVKY .....	57
3.3	HUSTOTA STOMAT .....	64
3.4	SPECIFICKÁ LISTOVÁ PLOCHA (SLA) .....	66
4.	DISKUSE.....	68
4.1	SATURAČNÍ KŘIVKY .....	68
4.2	FOTOSYNTETICKÁ KAPACITA.....	69
4.3	HUSTOTA STOMAT A STOMATÁLNÍ VODIVOST .....	70
4.4	SPECIFICKÁ LISTOVÁ PLOCHA.....	71
4.5	EKOLOGICKÉ A EVOLUČNÍ IMPLIKACE.....	72
5.	ZÁVĚR .....	75
6.	LITERATURA .....	75
7.	PŘÍLOHY .....	81

# 1. ÚVOD

## 1.1 CÍLE PRÁCE

Polyploidie hraje velkou roli v evoluci a speciaci rostlin (Grant 1981; Wood et al. 2009). Ukazuje se, že asi 70 % krytosemenných rostlin je polyploidního původu (Leitch & Bennet 1997). Polyploidie ovlivňuje řadu genetických, morfologických i fyziologických vlastností rostliny, které mají vliv na přežívání, rozmnožování i šíření rostliny v přírodě. Může také měnit vlastnosti fotosyntetického aparátu a tím i fotosyntetickou kapacitu rostlin. Fotosyntéza je jedním z nejdůležitějších biochemických procesů v přírodě. Vyskytuje se pouze u bakterií, sinic, řas a zelených rostlin. Zachycuje energii světelného záření a přeměňuje ji na chemickou energii vázanou ve složitých organických látkách. Umožňuje tak růst rostlinné biomasy, která je zdrojem živin pro živočichy.

U polyploidní řady česneku planého (*Allium oleraceum* L.) byly zjištěny rozdíly v rozšíření a ekologických nárocích jednotlivých cytotypů v České republice (Duchoslav et al. 2010). Mezi cytotypy byla zjištěna tendence k preferenci různých typů stanovišť. Největší rozdíly byly nalezeny mezi tetraploidy a hexaploidy. Tetraploidní rostliny obsazují jak přirozená, tak antropicky ovlivněná stanoviště, ale častěji než ostatní cytotypy se vyskytují v lesích a méně na disturbovaných stanovištích, mj. na okrajích polí. Hexaploidní rostliny se vyskytují na antropicky ovlivněných stanovištích, jako jsou okraje polí, cest, v ruderalních porostech a v eutrofizovaných sekundárních lesích. Pentaploidi se nalézají z hlediska ekologických nároků zhruba uprostřed mezi tetra- a hexaploidy. Tyto odlišnosti mohou být způsobeny různými ekologickými nároky na množství světelného záření, způsobenými vlivem polyploidie na fotosyntetickou kapacitu rostlin.

Cíle této práce jsou

- 1) provést rešerši dostupné literatury zabývající se vlivem polyploidie na parametry fotosyntézy
- 2) porovnat saturační křivky závislosti čtyř vybraných parametrů fotosyntézy na čase měření mezi jednotlivými cytotypy *A. oleraceum*
- 3) porovnat světelné křivky závislosti rychlosti fotosyntézy na intenzitě osvětlení a jejich parametrů mezi jednotlivými cytotypy *A. oleraceum*



- 4) porovnat hustotu stomat na listech jednotlivých cytotypů *A. oleraceum*
- 5) porovnat specifickou listovou plochu (SLA) jednotlivých cytotypů *A. oleraceum*

## 1.2 POLYPLOIDIE

### 1.2.1 Definice

Polyploidie je přítomnost více než dvou sad chromozomů v buňce (Leitch & Bennet 1997; Soltis & Soltis 2000; Levin 2002). Jedná se o důležitý evoluční faktor (Leitch & Bennet 1997; Soltis & Soltis 1999; Levin 2002; Adams & Wendel 2005).

### 1.2.2 Rozšíření

V živočišné říši je polyploidie vzácná a vyskytuje se jen u několika málo skupin (Leitch & Bennet 1997). V rostlinné říši je naopak velice rozšířená (Leitch & Bennet 1997; Soltis & Soltis 1999; Briggs & Walters 2001; Levin 2002).

V dnešní době se předpokládá, že 70-80 % krytosemenných rostlin je polyploidních (Leitch & Bennet 1997), z toho většina (více než 75 %) je allopolyploidních (Brochmann et al. 2004 sec. Jackson & Chen 2010). Polyploidie se běžně vyskytuje u čeledí *Rosaceae*, *Rubiaceae*, *Iridaceae*, *Poaceae* a dalších, vzácná je u čeledí *Fagaceae* a *Berberidaceae* (Stebbins 1950 sec. Grant 1981). Mnoho pěstovaných rostlin, např. kukuřice, pšenice, bavlna, brambory, kávovník a cukrová třtina, je polyploidního původu (Leitch & Bennet 1997; Stebbins 1950 sec. Soltis & Soltis 2000).

U nahosemenných rostlin je polyploidie vzácná (Tischler 1953, Khoshoo 1959 sec. Grant 1981; Briggs & Walters 2001). Podíl polyploidních druhů jehličnanů se odhaduje na 1,5 % (Khoshoo 1959 sec. Grant 1981).

Polyploidie je velice běžná u kaprad'orostů, kde dosahuje nejvyšších chromozomových čísel v celé rostlinné říši. Na základě předpokladu, že druhy s haploidním počtem chromozomů větším, než je 13, jsou polyploidní, se procento polyploidních druhů pohybuje okolo 95 % (Grant 1981).

Z mechorostů se polyploidie vyskytuje běžně u mechů, u hlevíků je vzácnější. Polyploidie je také běžná u zelených řas, ale u hnědých a červených řas je vzácná (Lewis 1980 sec. Grant 1981).

Mezi houbami je polyploidie velmi vzácná (Lewis 1980 sec. Grant 1981). Byla doložena u kvasinek (Wolfe & Schields 1997 sec. Soltis & Soltis 1999).

V živočišné říši se polyploidie vyskytuje u některých bezobratlých (např. koryšci, brouci, dvoukřídlí, motýli) (Bungenberg 1957, Stalker 1956, Lokki & Saura 1980 sec. Grant 1981). Mezi polyploidy patří i některé ryby (Schultz 1969 sec. Grant 1981), obojživelníci (Soltis & Soltis 1999) a plazi (Bogart 1980 sec. Grant 1981). Bylo zjištěno, že v evoluci obratlovců došlo ke dvěma obdobím polyploidizace (Soltis & Soltis 1999).

### 1.2.3 Velikost genomu

Velikost genomu může být určena několika způsoby:

1) Podle počtu chromozomů (tzv. chromozomového čísla). Chromozomové číslo se u krytosemenných pohybuje v rozmezí od  $2n = 4$  do  $2n =$  asi 500. Oba extrémy se vyskytují u dvouděložných (Grant 1981). Nejnižší počet chromozomů se vyskytuje u *Haplopappus gracilis* ( $2n = 4$ ) (Asteraceae) a nejvyšší u druhu *Sedum suaveolens* ( $2n =$  asi 640, asi 80-ploidní druh) (Crassulaceae) (Uhl 1978 sec. Briggs & Walters 2001). Počet chromozomů u jednoděložných se pohybuje v rozmezí od  $2n = 6$  do  $2n = 226$  (Grant 1981). Nejvyšší počet chromozomů byl zjištěn u druhu *Voaniola gererdii* ( $2n =$  asi 596, asi 50-ploidní druh) (Johnson et al. 1989 sec. Briggs & Walters 2001). Největší počty chromozomů v rostlinné říši se vyskytují u kaprad'orostů. Kapradina *Ophioglossum reticulatum* má nejvyšší známý počet chromozomů v rostlinné říši ( $2n = 1440$ , asi 96-ploidní druh) (Khandewall 1990 sec. Briggs & Walters 2001).

2) Podle 2C hodnoty, která vyjadřuje celkové „diploidní“ množství DNA v jádře somatické buňky. Z této hodnoty lze vypočítat holoploidní velikost genomu (1C) tak, že se 2C hodnota vydělí dvěma. Holoploidní velikost genomu vyjadřuje množství DNA v nereplikovaném jádře haploidní gamety (Leitch & Bennet 2004). Dříve se předpokládalo, že množství DNA (1C hodnota) u polyploidů stoupá ve stejném poměru s ploidním stupněm. Leitch & Bennet (2004) ale zjistili, že u většiny krytosemenných rostlin je nárůst množství DNA menší než nárůst ploidie.

3) Podle monoploidní velikosti genomu (1Cx hodnota). Získává se vydělením 2C hodnoty ploidním stupněm. Udává velikost genomu jedné chromozomové sady. Pomocí této hodnoty tedy můžeme mezi sebou srovnávat rostliny různých ploidních stupňů tak, jako by byly diploidní. Dříve se předpokládalo, že monoploidní velikost genomu bude u

diploidních i polyploidních rostlin stejná. Bylo ale zjištěno, že  $1Cx$  hodnota se s rostoucí ploídí spíše zmenšuje (Leitch & Bennet 2004).

Snižování velikosti genomu u polyploidů může mít několik příčin. Může se jednat o špatné určení stupně polyploidie nebo o špatný výpočet množství DNA díky větší kondenzaci chromozomů u polyploidů. Ale také se může jednat o běžný, široce rozšířený jev v rostlinné říši. Ukazuje se, že během polyploidizace se při přestavbách chromozomů část genomu ztrácí (Leitch & Bennet 2004).

#### 1.2.4 Typy

Podle Stebbinse (1947 sec. Levin 2002) lze rozlišit tři typy polyploidů založených na genetických a cytogenetických kritériích: autopolyploidi, allopolyploidi a segmentární allopolyploidi.

Při vzniku autopolyploida dochází ke znásobení téže chromozomové řady. Z diploidní buňky se dvěma homologními chromozomovými sadami, které se mohou v meióze párovat (AA), vzniká při zdvojení chromozomů autotetraploid se čtyřmi identickými chromozomovými sadami (AAAA). Jejich chromozomové sady jsou homologní, mohou se mezi sebou při meióze párovat a může docházet ke vzniku multivalentů a univalentů (Briggs & Walters 2001; Levin 2002). V důsledku nepravidelného rozdělení multivalentů a univalentů do nově vznikajících buněk a chromozomové nerovnováhy buněk mají polyploidní rostliny sníženou plodnost (Briggs & Walters 2001; Stebbins 1947 sec. Levin 2002). Autopolyploidní rostliny vznikají uvnitř populací druhů (Briggs & Walters 2001; Kihara & Ono 1926 sec. Levin 2002).

Allopolyploidi jsou rostliny, které obsahují dvě a více odlišných chromozomových sad (AABB), které se při meióze nepárují a nevytvářejí tak multivalenty (Briggs & Walters 2001; Stebbins 1947 sec. Levin 2002). Allopolyploidi vznikají po mezidruhovém hybridizaci a zdvojení chromozomů (Soltis & Soltis 2000; Briggs & Walters 2001; Kihara & Ono 1926 sec. Levin 2002). Mezi krytosemennými rostlinami jsou allopolyploidi častější než autopolyploidi (Soltis & Soltis 2000).

Segmentární polyploidi se pohybují na rozhraní autopolyploidů i allopolyploidů (Briggs & Walters 2001; Stebbins 1947 sec. Levin 2002). Vznikají z rodičů, kteří mají částečně homologní chromozomy a částečně nehomologní chromozomy, které se nazývají homeologní chromozomy (AAA'A') (Soltis & Soltis 2000). Při meióze dochází k částečnému párování homeologních chromozomů a mohou vznikat bivalenty i

multivalenty (Stebbins 1947 sec. Levin 2002). Mezi segmentární polyploidy patří většina krytosemenných rostlin (Briggs & Walters 2001).

Vedle polyploidů se sudým počtem chromozomových sad (čtyři sady – tetraploidi, šest sad – hexaploidi atd.) existují i polyploidní rostliny s lichým počtem chromozomových sad (např. triploidi se 3 sadami, pentaploidi s 5 chromozomovými sadami). Polyploidní rostliny s lichým počtem chromozomových sad mají sníženou plodnost, protože se při párování chromozomů při meióze tvoří univalenty a multivalenty (Briggs & Walters 2001).

### 1.2.5 Původ, vznik

Polyploidní rostliny mohou vznikat několika způsoby, buď ze somatických buněk působením tepelného šoku nebo kolchicinu, který inhibuje dělicí vřeténko, nebo z neredukovaných gamet, kdy mohou splynout dvě diploidní gamety za vzniku tetraploida, nebo jedna redukovaná a jedna neredukovaná gameta za vzniku triploida (Briggs & Walters 2001; Levin 2002).

Dříve se soudilo, že polyploidní druhy mají jednotný původ (vznikly pouze jednou). Podle současných výzkumů ale vyplývá, že jednotlivé polyploidní druhy mohou vznikat vícekrát, mají tedy mnohonásobný původ (Leitch & Bennet 1997; Soltis & Soltis 1999). Z nových dat také vyplývá, že mnoho druhů, které byly považovány za diploidy, je polyploidního původu. Jejich polyploidní původ je zastřen různými přestavbami genomu, ztrátami chromozomů apod. (např. kukuřice) (Leitch & Bennet 1997). Nejnovější výzkumy odhadují, že se zvýšením stupně ploidie je spojeno 15 % vzniku druhů u krytosemenných rostlin a 31 % vzniku druhů u kaprad'orostů (Wood et al. 2009).

### 1.2.6 Evoluce genomu u polyploidů

Polyploidní rostliny obsahují několik kopií stejných genů. Tyto kopie jsou v buňce nadbytečné a mohou mít několik funkcí: mohou fungovat jako náhradní funkční gen v případě poškození prvního genu, mohou být použity při tvorbě nových genů s novou funkcí, nebo mohou být vypnuty (Soltis & Soltis 2000). Dochází také ke změně exprese genů (Jackson & Chen 2010). Všechny kopie genu nemusejí být exprimovány a nacházejí se v buňce v neaktivní podobě jako tzv. mlčící geny (Soltis & Soltis 2000; Briggs & Walters 2001; Adams & Wendel 2005).

Narozdíl od dřívějších představ dochází v polyploidních rostlinách k přestavbám celých chromozomů. Dochází k delecím a translokacím částí chromozomů. Důsledkem takové rozsáhlé přestavby genomu a vypínání genů může být tzv. diploidizace genomu, takže původně polyploidní rostlina se chová jako diploidní rostlina s diploidním genomem (např. kukuřice) (Leitch & Bennet 1997; Soltis & Soltis 1999; Briggs & Walters 2001).

## 1.3 FOTOSYNTÉZA

### 1.3.1 Úvod

Fotosyntéza je nejdůležitějším biologickým procesem na Zemi. Převádí solární energii na chemickou energii vázanou v chemických vazbách organických sloučenin a z jednoduchých anorganických sloučenin (voda, oxid uhličitý) vytváří složité organické látky (Nátr 1998; Fromme & Grotjohann 2008). Probíhá v zelených částech rostlin (listy, stonky apod.) v chloroplastech (Lambers et al. 1998; Nátr 1998).

### 1.3.2 Průběh

Fotosyntéza zahrnuje tři procesy: 1. Zachycení světla pigmenty, hlavně chlorofyly, a převod energie fotonů do reakčních center fotosystémů. 2. Transport elektronů uvolněných při fotolýze vody elektron-transportním řetězcem, umístěným v membráně tylakoidů, z vyšších energetických hladin na nižší energetickou hladinu se současným vytvářením NADPH a ATP. 3. Calvinův cyklus redukce oxidu uhličitého ( $\text{CO}_2$ ) za současného využívání vzniklých NADPH a ATP vedoucí k syntéze tříuhlíkaté sloučeniny. První dvě fáze fotosyntézy jsou závislé na světle a nazývají se světelná fáze fotosyntézy. Calvinův cyklus probíhá za nepřítomnosti světla a je nazýván temnostní fází fotosyntézy (Lambers et al. 1998). Průběh prvních dvou fází fotosyntézy je zobrazen na obr. 1.1.

Rostliny absorbují sluneční záření v rozsahu 400-700 nm. Toto záření se nazývá fotosynteticky aktivní záření (FAR) (Lambers et al. 1998; Nátr 1998). Každé kvantum světla absorbované chlorofylem vybudí elektron ze základního stavu do stavu excitovaného. Excitovaná molekula se pak může vrátit do svého základního stavu vydáním energie ve formě tepla, přenosem energie na další molekuly chlorofylu a dále až do reakčního centra (fotochemický přenos) nebo uvolněním excitovaného elektronu

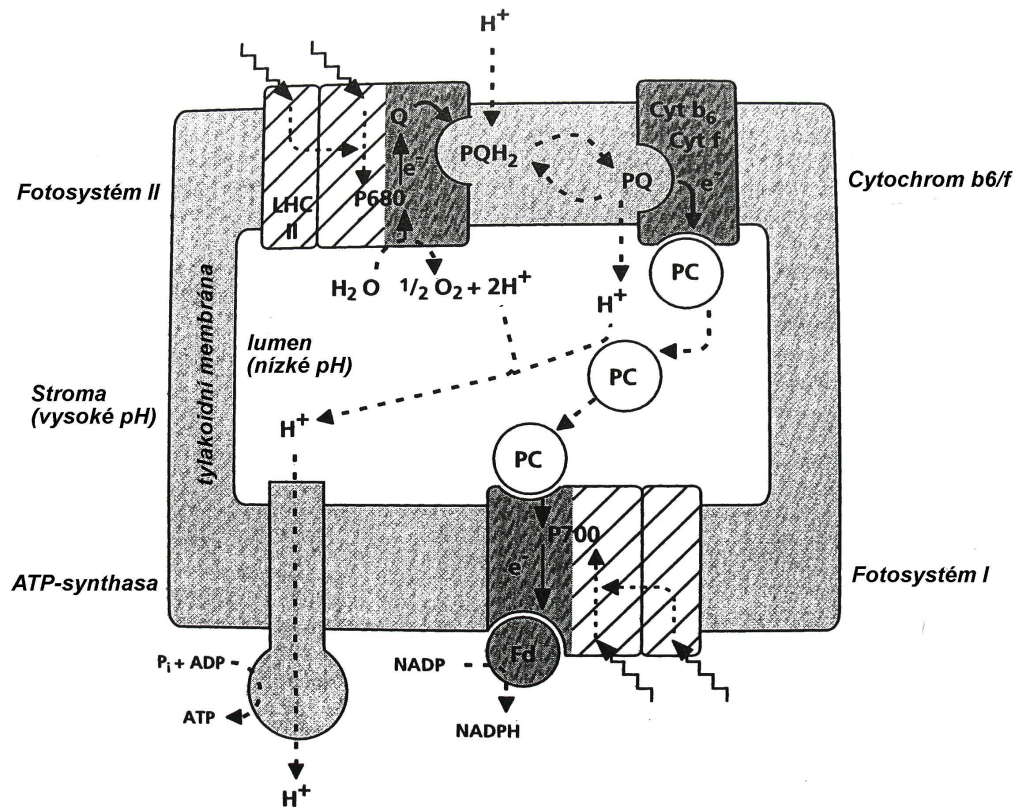
(fluorescencí). Fotochemický přenos je vysoce účinný, při vhodných vnějších podmínkách se takto předává 90 % excitační energie. Fluorescence udává účinnost přenosu elektronů. Vzrůstá při nadměrném osvětlení, nepřiměřeném příjmu CO<sub>2</sub> nebo jiném stresu, který negativně ovlivňuje fotochemické reakce (Lambers et al. 1998).

Světlosběrné systémy (LHC) fotosystémů, tvořené chlorofyly a karotenoidy, zachycují fotosynteticky aktivní záření a získanou elektronovou excitační energii předávají přes další molekuly do reakčních center fotosystémů (Lambers et al. 1998; Nátr 1998). V reakčním centru fotosystému II (PSII), které je tvořeno chlorofylem s absorpčním maximem při 680 nm, se z chlorofylu uvolní elektron, který je předáván na první akceptor elektron-transportního řetězce. Excitované reakční centrum fotosystému II se stává jedním z nejsilnějších oxidačních činidel v přírodě a chybějící elektron získává z oxidace (fotolýzy) vody a redukuje se zpět do základního stavu. Při oxidaci vody se uvolňují do lumenu tylakoidu protony a do atmosféry molekuly kyslíku (Nátr 1998; Fromme & Grotjohann 2008). Elektron uvolněný z reakčního centra PSII je předáván pomocí cytochromů elektron-transportního řetězce z energeticky vyšších hladin na hladiny energeticky nižší až na fotosystém I (PSI), kde nahrazuje chybějící elektron excitovaného reakčního centra. Energie elektronu se využívá k přenosu protonů přes membránu do lumenu tylakoidů (Lambers et al. 1998; Nátr 1998; Fromme & Grotjohann 2008).

Reakční centrum PSI se skládá z chlorofylu s absorpčním maximem při 700 nm. Absorbuje světlo podobně jako reakční centrum PSII. Elektron z excitace může být buď přenášen přes další cytochromy až na konečný akceptor NADP, který se redukuje na NADPH, nebo může být transportován zpět na cytochromy elektron-transportního řetězce a odtud přenášen zpět do reakčního centra PSI. První způsob přenosu elektronu se nazývá necyklická fosforylace, druhý způsob přenosu cyklická fosforylace. Necyklická fosforylace slouží zároveň k vytváření protonového gradientu na membráně a k tvorbě NADPH. Cyklická fosforylace slouží pouze k vytváření protonového gradientu na membráně (Lambers et al. 1998; Nátr et al. 1998; Fromme & Grotjohann 2008).

Při přesouvání protonů ze stromatu do lumenu tylakoidů se v lumenu vytváří kladný náboj a na membráně se generuje elektrochemický gradient. Tento gradient je využíván ATP-synthasou. Ta přesouvá protony zpět do stromatu a uvolněnou energii používá na fosforylaci ADP a tvorbu ATP (Lambers et al. 1998; Nátr 1998). Vytvořené sloučeniny ATP a NADPH jsou použity v temnostní fázi fotosyntézy (Nátr 1998).

V temnostní fázi fotosyntézy dochází k fixování  $\text{CO}_2$  a vzniku organických látek. Soubor reakcí, ve kterých dochází k asimilaci  $\text{CO}_2$  a zároveň k regeneraci substrátu, se nazývá Calvinův cyklus (Nátr 1998). Probíhá ve třech fázích: karboxylace, redukce a regenerace. Při karboxylaci je  $\text{CO}_2$  vázán enzymem ribulosa-1,5-bisfosfátkarboxylasou (Rubisco) na ribulosa-1,5-bisfosfát (RuBP). Šestiuhlíkatý produkt vznikající navázáním  $\text{CO}_2$  na RuBP je labilní a rozpadá se na dvě tříuhlíkaté sloučeniny 3-fosfoglycerátu (PGA). Ten je pak v redukční fázi fosforylován ATP na 1,3-bisfosfoglycerát a redukován pomocí NADPH na glycerinaldehyd-3-fosfát (GAP). GAP je buď využit pro zpětnou regeneraci na RuBP přes ribulosa-5-fosfát za spotřeby ATP, nebo je transportován do cytozolu, kde se stává jednou z výchozích sloučenin pro syntézu fruktosa-1,6-fosfátu a po odštěpení fosfátu fruktosa-6-fosfátu. Z fruktosa-6-fosfátu se pak tvoří škrob nebo sacharosa, hlavní transportní sloučenina (Lambers et al. 1998; Nátr 1998). Calvinův cyklus má mnoho kontrolních bodů, ve kterých je regulován vnějšími podmínkami (Lambers et al. 1998). Protože prvním stabilním produktem v tomto cyklu je tříuhlíkatá sloučenina 3-fosfoglycerát, označují se rostliny s tímto typem fixace uhlíku jako  $\text{C}_3$  rostliny (Lambers et al. 1998; Nátr 1998; Schulze et al. 2002).



Obr. 1.1: Schématické znázornění procesů světelné fotosyntézy. LHC II – světlosběrný systém, P680 – reakční centrum PSII, Q – plastochinon, PQH<sub>2</sub> – redukovaný plastochinon, PQ – oxidovaný plastochinon, Cyt b<sub>6</sub> – cytochrom b<sub>6</sub>, Cyt f – cytochrom f, PC – plastocyanin, P700 – reakční centrum PSI, Fd – ferredoxin (Lambers et al. 1998, upraveno).

### 1.3.3 Fotorespirace

U rostlin vystavených světelnému záření probíhá kromě fotosyntézy, při které je fixován CO<sub>2</sub> a uvolňován O<sub>2</sub>, také opačný děj, kdy je spotřebováván kyslík a uvolňuje se CO<sub>2</sub>. Tento děj se nazývá fotorespirace, protože je narozdíl od temnostní respirace závislý na světle (Lambers et al 1998; Nátr 1998). Probíhá v chloroplastech, peroxizomech a mitochondriích. Při normálním složení atmosféry je poměr fotosyntézy a fotorespirace 3:1 (Nátr 1998). Tento poměr závisí na koncentraci CO<sub>2</sub> a O<sub>2</sub> ve vzduchu a na teplotě listu (Lambers et al. 1998). Princip spočívá v tom, že enzym Rubisco má vedle karboxylové funkce, kdy v Calvinově cyklu váže CO<sub>2</sub> na RuBP, i oxygenázovou funkci, při které katalyzuje vazbu O<sub>2</sub> na RuBP (Lambers et al. 1998; Nátr 1998). Produkty karboxylace jsou dvě tříuhlíkaté molekuly, kdežto oxygenace produkuje pouze jednu tříuhlíkatou molekulu 3-fosfoglycerátu a jednu dvouuhlíkatou molekulu fosfoglykolátu, který je potom přeměňován na další sloučeniny, které se přesouvají do mitochondrií a peroxizómů za uvolnění CO<sub>2</sub> a NH<sub>3</sub> (Lambers et al. 1998).



### 1.3.4 C<sub>3</sub>, C<sub>4</sub> a CAM metabolismus

#### C<sub>3</sub> rostliny

Hlavní rozdíly mezi C<sub>3</sub>, C<sub>4</sub> a CAM rostlinami jsou uvedeny v tabulce 1.1. U rostlin s C<sub>3</sub> metabolismem je CO<sub>2</sub> fixován enzymem Rubisco. První stabilní produkt v Calvinově cyklu je tříuhlíkatý 3-fosfoglycerát. U těchto rostlin se objevuje také fotorespirace, která způsobuje ztráty v rovnováze uhlíku, ale zároveň je důležitou metabolickou cestou pro metabolismus dusíku (Schulze et al. 2002).

Metabolismus C<sub>3</sub> rostlin se vyskytuje přibližně u 95 % všech rostlinných druhů. Zahrnuje stromy, keře, byliny i trávy mírného, boreálního a vlhkého tropického klimatu (Schulze et al. 2002). Teplotní minimum se pohybuje okolo 0°C, optimum je v rozmezí 15-25°C, maximum leží kolem 30°C (Nátr 1998).

Rostliny vykazují saturaci fotosyntézy při intenzitách odpovídajících asi třetině maximální sluneční ozáření v letním období mírného pásu (Nátr 1998). Při nízké koncentraci CO<sub>2</sub> mají výrazně nižší rychlost fotosyntézy než C<sub>4</sub> rostliny. Kvantový výtěžek rostlin s rostoucí teplotou klesá vlivem oxygenázové funkce Rubisca (stoupá fotorespirace) (Lambers et al. 1998). Mezi C<sub>3</sub> rostliny patří např. řepa (*Beta vulgaris*), pšenice (*Triticum aestivum*), tabák (*Nicotiana tabacum*), hrách (*Pisum sativum*), česnek planý (*Allium oleraceum*) (Nátr 1998).

#### C<sub>4</sub> rostliny

C<sub>4</sub> metabolismus se vyskytuje asi u 1-2 % rostlinných druhů rostoucích v tropických suchých oblastech s vysokou intenzitou slunečního záření a s denními teplotami stoupajícími nad 30°C (Nátr 1998; Schulze et al. 2002). Teplotní optimum rostlin je mezi 25 a 40°C, minimum se může pohybovat v teplotách nad nulou (Nátr 1998).

Fixace CO<sub>2</sub> v C<sub>4</sub> rostlinách je prostorově oddělena. Kromě mezofylních buněk se v listu nacházejí parenchymatické buňky pochev cévních svazků. Stěny buněk mohou být silně suberizovány, čímž brání difúzi CO<sub>2</sub> uvolňovaného při dekarboxylaci (Lambers et al. 1998; Nátr 1998). V mezofylních buňkách se nachází enzym fosfoenolpyruvátcarboxylasa (PEPc), který katalyzuje fixaci CO<sub>2</sub> na fosfoenolpyruvát (PEP) za vzniku čtyřuhlíkaté organické kyseliny oxalacetátu, která je redukována na malát nebo přeměněna aspartát (Lambers et al. 1998; Nátr 1998; Schulze et al. 2002; Pyankov et al. 2010). PEPc má vyšší afinitu k CO<sub>2</sub> než Rubisco a nemá oxygenázovou funkci. Může proto fixovat větší množství CO<sub>2</sub> než Rubisco (Schulze et al. 2002;

Pyankov 2010). Malát či aspartát je transportován do buněk pochev cévních svazků. Zde jsou obě kyseliny dekarboxylovány za uvolnění CO<sub>2</sub>, který je poté refixován pomocí enzymu Rubisco na RuBP v Calvinově cyklu (Lambers et al. 1998; Nátr 1998; Schulze et al. 2002). Rostlina lépe využívá zdroj uhlíku, protože je schopna znovu fixovat CO<sub>2</sub>, který se uvolňuje při fotorespiraci a při dýchání (Schulze et al. 2002).

Rychlost fotosyntézy u C<sub>4</sub> rostlin není obvykle omezena ani při maximální intenzitě slunečního záření (Nátr 1998). Při nízké koncentraci CO<sub>2</sub> je rychlost fotosyntézy vyšší než u C<sub>3</sub> rostlin. Rostliny také mají vyšší kvantový výtěžek, který není ovlivněn teplotou (Lambers et al. 1998). Při teplotě pod 10°C fotosyntéza rychle klesá. Rostliny mají vysokou produkci sušiny (Nátr 1998). Příkladem C<sub>4</sub> rostlin je kukuřice (*Zea mays*), cukrovník (*Saccharum officinarum*), lebeda (*Atriplex sabulosa*) a proso (*Panicum miliaceum*) (Nátr 1998).

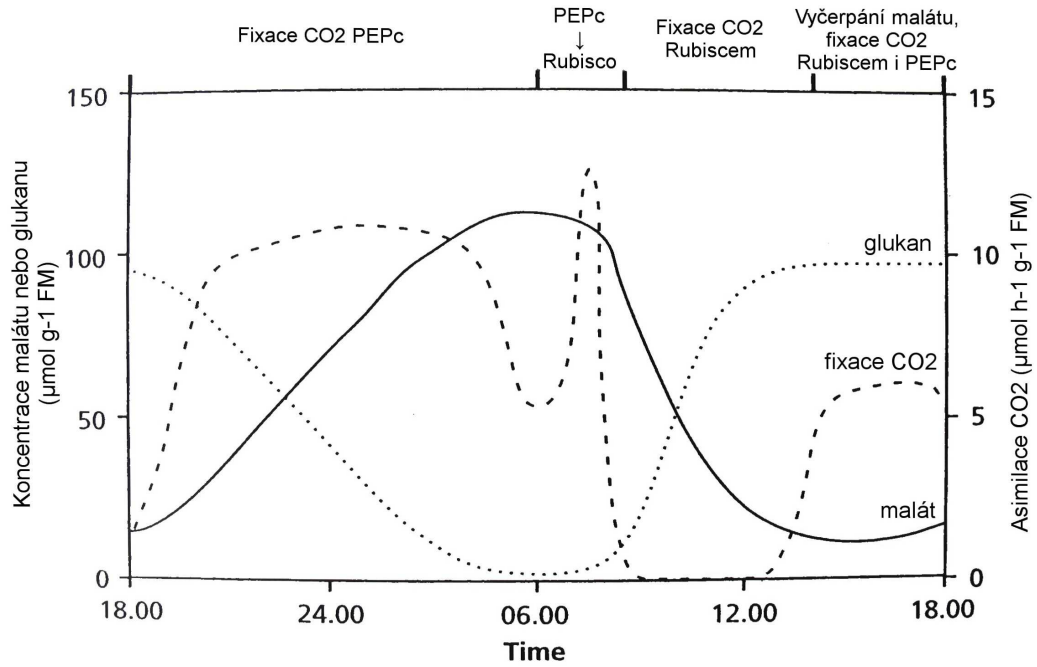
### CAM rostliny

CAM metabolismu (Crassulacean Acid Metabolism) je pojmenován podle čeledi *Crassulaceae* (tučnolisté), u které byl tento mechanismus objeven (Lambers et al. 1998; Schulze et al. 2002). CAM rostliny patří mezi sukulenty, které se vyskytují v aridních oblastech s vysokou intenzitou slunečního záření a velkými výkyvy teplot mezi dnem a nocí (0-60°C), a epifyty tropických lesů, které jsou vystaveny příznivým teplotám, ale malému světelnému záření (Osmond et al. 1989; Nátr 1998; Schulze et al. 2002). Teplotní optimum rostlin se nachází okolo 40°C (Nátr 1998).

CAM metabolismus je podobný metabolismu C<sub>4</sub> rostlin, ale s tím, že fixace CO<sub>2</sub> a tvorba malátu je oddělena ne prostorově, ale časově. Během dne se mění pH listů v důsledku změn koncentrace malátu v listech (obr. 1.2) (Schulze et al. 2002). V noci se průduchy rostlin otevírají a dochází k fixaci CO<sub>2</sub> enzymem PEPc. Vzniklý malát se hromadí ve vakuole. Přes den jsou kvůli suchu průduchy zavřeny, malát je uvolňován z vakuoly, dekarboxylován a uvolněný CO<sub>2</sub> je fixován Rubiscem v Calvinově cyklu (Osmond et al. 1989; Nátr 1998; Lambers et al. 1998; Schulze et al. 2002).

Rostliny s tímto metabolismem jsou dobře přizpůsobeny suchu tím, že zavírají přes den průduchy a tím předcházejí ztrátě vody při transpiraci (Osmond et al. 1989; Lambers et al. 1998; Nátr 1998; Schulze 2002). PEPc většiny rostlin je adaptována na nízké teploty, které v noci klesají až k bodu mrazu (Schulze et al. 2002). Rostliny vykazují saturaci již při cca desetině maximální sluneční ozářenosti (Nátr 1998). CAM rostliny se vyznačují velmi pomalým nárůstem biomasy (Lambers et al. 1998; Nátr 1998). CAM

metabolismus se vyskytuje u čeledí *Crassulaceae*, *Cactaceae*, *Euphorbiaceae*, *Orchidaceae* a *Bromeliaceae* (například ananas, *Ananas comosus*) a také například u kakostu lučního (*Geranium pratense*) (Lambers et al. 1998; Nátr 1998).



Obr. 1.2: Fixace v CAM rostlinách, denní křivka asimilace  $\text{CO}_2$ , koncentrace malátu a glukanu (Lambers et al. 1998, upraveno)

Tab. 1.1: Rozdíly mezi C<sub>3</sub>, C<sub>4</sub> a CAM rostlinami ( $\Phi$  – kvantový výtěžek fotosyntézy, A<sub>max</sub> – maximální rychlost fotosyntézy) (Lambers et al. 1998, Nátr et al. 1998).

	C <sub>3</sub>	C <sub>4</sub>	CAM
výskyt	mírné klima	tropické suché oblasti	aridní oblasti
teplotní optimum	15-25°C	25-0°C	cca 40°C
anatomická stavba listu	mezofyl rozlišen na houbový a palisádový parenchym	mezofyl s parenchymatickými pochvami kolem cévních svazků	buňky mezofylu s velkými vakuolami
enzymy fixující CO <sub>2</sub>	Rubisco	Rubisco, PEPc	Rubisco, PEPc
první produkt fixace CO <sub>2</sub>	3-fosfoglycerát	oxalacetát	oxalacetát
minimální potřeba ATP a NADPH pro fixaci 1 molekuly CO <sub>2</sub>	3 ATP a 2 NADPH	5 ATP a 2 NADPH	5 ATP a 2 NADPH
počáteční sklon světelné křivky při 30°C	mírnější	strmější	
$\Phi$ při vyšší teplotě	menší	větší	
kompenzační bod CO <sub>2</sub> (Pa)	4-5	0-0,5	
fotospirace	1/3 celkové hrubé fotosyntézy	velmi nízká nebo vůbec není	velmi nízká
A <sub>max</sub> ( $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ )	15-30	35-40	1-5
maximální rychlost růstu (g sušiny.dm <sup>-2</sup> .den <sup>-1</sup> )	0,5-2	4-5	0,012-0,02
roční produkce sušiny (t.ha <sup>-1</sup> .rok <sup>-1</sup> )	22,0±3,3	38,6±16,9	velká variabilita v datech
transpirační koeficient (g H <sub>2</sub> O na 1 g sušiny)	450-900	250-350	45-55
účinnost využití dusíku	menší	větší	

#### 1.4 PARAMETRY FOTOSYNTÉZY

Fotosyntetická kapacita rostliny není určena pouze jedním parametrem, ale celým komplexem parametrů, které mají vliv na rychlost fotosyntézy. Zde uvádím parametry, které jsem zkoumala, nebo které byly použity v literatuře, na níž se odkazují.

Čistá fotosyntéza (net photosynthesis) – A, P<sub>N</sub> ( $\mu\text{mol CO}_2$  nebo O<sub>2</sub> m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>)

Čistá fotosyntéza je rychlost asimilace CO<sub>2</sub> nebo vývoje O<sub>2</sub> zmenšená o rychlost dýchání (respirace), která se obvykle pohybuje okolo 10 % rychlosti fotosyntézy (Šetlík et al. 1998; Schulze et al. 2002).

Maximální rychlost fotosyntézy – A<sub>max</sub>, P<sub>Nmax</sub> ( $\mu\text{mol CO}_2$  nebo O<sub>2</sub> m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>)

Maximální rychlost fotosyntézy je rychlost fotosyntézy při nasycení všech reakčních center při karboxylaci. Je dána na jedné straně rychlostí přenosu elektronů přes

membránové přenašeče a na druhé straně rychlostí přísunu konečného substrátu, tj. CO<sub>2</sub> (Šetlík et al. 1998).

#### Respirace – R (μmol CO<sub>2</sub> m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>)

Respirace (dýchání) je rychlost spotřeby CO<sub>2</sub> listem ve tmě. Celková temnostní respirace, R<sub>d</sub>, se skládá z růstové respirace (R<sub>g</sub>), která je nezbytná pro růst, a údržbové respirace (R<sub>m</sub>), která je důležitá pro údržbu orgánů (Schulze et al. 2002).

#### Transpirace – E (mmol H<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>)

Rychlost transpirace je rychlost vypařování vody z listu. Je závislá na vodivosti průduchů (stomatální vodivosti) (Nátr 1998).

#### Kvantový výtěžek (quantum yield) – Φ (μmol (CO<sub>2</sub> nebo O<sub>2</sub>) μmol<sup>-1</sup> (fotonů))

Kvantový výtěžek je ve světelné křivce zobrazen jako počáteční sklon křivky založený na absorbovaném světle. Je parametrem udávající účinnost přeměny světla na asimilaci CO<sub>2</sub> (Lambers et al. 1998). Vyjadřuje počet molů uvolněného O<sub>2</sub> nebo fixovaného CO<sub>2</sub> při využití energie z jednoho molu fotonů. Nejvyšší hodnoty kvantového výtěžku jsou dosahovány při nízké ozáření a inhibici fotorespirace (Nátr 1998).

#### Maximální kvantový výtěžek – Φ<sub>max</sub> (μmol (CO<sub>2</sub> nebo O<sub>2</sub>) μmol<sup>-1</sup> (fotonů))

Tento parametr vyjadřuje maximální účinnost, s níž je ve fotosyntéze přeměněna zářivá energie na chemickou (Lambers et al. 1998; Nátr et al. 1998). Jeho hodnota je 0,125, tzn., že pro fixaci jedné molekuly CO<sub>2</sub> je potřeba aspoň 8 kvant fotonů (Nátr 1998).

#### Odpor povrchové (hraniční) vrstvy listu

Povrchová vrstva listu je tenká vrstva vzduchu nad listem, kde je omezeno proudění vzduchu. Je to vrstva, která je pozměňována listem. Její hranice je definována jako bod, ve kterém jsou vlastnosti vzduchu v 99 % shodné s vlastnostmi okolního vzduchu (Lambers et al. 1998).

CO<sub>2</sub> se do buněk dostává difúzí (Lambers et al. 1998; Schulze et al. 2002). Při cestě do chloroplastů musejí molekuly CO<sub>2</sub> překonat odpor povrchové vrstvy, průduchů a mezofylový odpor při průniku buňkami (Nátr 1998). Celkový odpor se skládá z odporu povrchové vrstvy listu (r<sub>a</sub>) a stomatálního odporu (r<sub>s</sub>) (Lambers et al. 1998). Velikost odporu povrchové vrstvy je závislá na tloušťce vrstvy. Menší listy a větší

rychlost proudění vzduchu tuto vrstvu, a tím i celkový odpor, snižují (Field et al. 1989; Nátr 1998).

#### Stomatální vodivost – $g_s$ ( $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ )

Je to převrácená hodnota odporu. Charakterizuje otevřenost průduchů (Lambers et al. 1998). Je úzce spojena s hodnotou transpirace a závisí na vodivosti tzv. povrchové vrstvy listu (Šantrůček 1998). Reguluje vodní výpar a difúzi  $\text{CO}_2$  přes stomata (Schulze et al. 2002) a vyjadřuje míru dostupnosti  $\text{CO}_2$  pro biochemický a fotochemický aparát fotosyntézy (Šantrůček 1998).

#### Intercelulární koncentrace $\text{CO}_2$ – $C_i$ (ppm)

Charakterizuje koncentraci  $\text{CO}_2$  v intercelulárních (mezibuněčných) prostorách listu. Udává rovnováhu mezi procesy vyžadujícími  $\text{CO}_2$  a rychlostí difúze  $\text{CO}_2$  do listu přes stomata. Vypočítává se z rychlosti fotosyntézy, transpirace a ze stomatální vodivosti (Schulze et al. 2002).

#### Kompenzační ozáření (compensation irradiance) – $Q_{\text{comp}}$ ( $\mu\text{mol (fotonů) m}^{-2} \text{s}^{-1}$ )

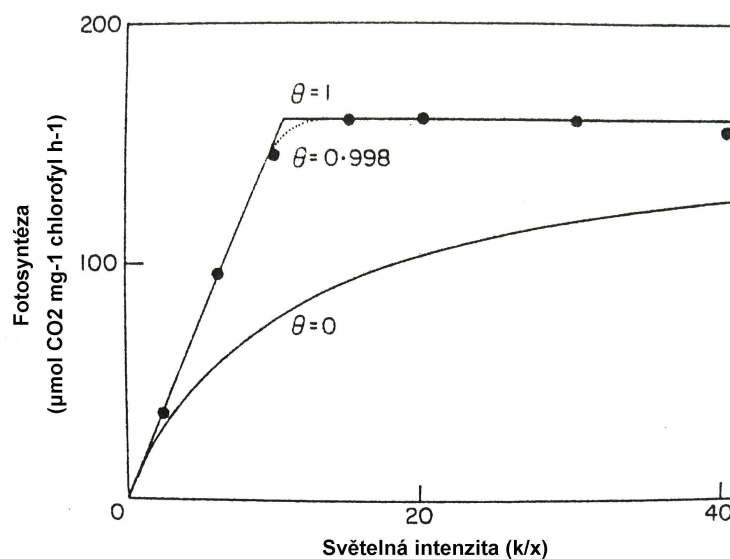
Kompenzační ozáření je definováno jako nejmenší množství záření potřebné k pozitivní rychlosti fotosyntézy (Nobel 1991 sec. Herralde et al. 2003).

#### Saturační ozáření (saturation irradiance) – $Q_{\text{sat}}$ ( $\mu\text{mol (fotonů) m}^{-2} \text{s}^{-1}$ )

Saturační ozáření je minimální ozáření potřebné k saturaci (nasycení) fotosyntézy světlem (Herralde et al. 2003). Saturace fotosyntézy je stav, kdy se rychlost fotosyntézy už se zvyšujícím se ozářením nezvyšuje, ale zůstává stejná a dosahuje maximálních hodnot ( $A_{\text{max}}$ ) (Šetlík et al. 1998).

#### Index konvexity – $\theta$

Index konvexity znázorňuje zakřivení světelné nebo  $\text{CO}_2$  křivky. Jeho hodnoty se pohybují od 0 do 1. Pokud  $\theta = 0$ , křivka má tvar hyperboly, pokud  $\theta = 1$ , tvoří křivka dvě rovné polopřímky, tzv. Blackmanovu křivku (obr. 1.3) (Terashima & Saeki 1985).



Obr. 1.3: Světelná křivka jednoho chloroplastu *Nicotiana tabacum* L. (Cataldo & Berlyn sec. Terashima & Saeki 1985) ve tvaru hyperboly ( $\theta = 0$ ) a Blackmanovy křivky ( $\theta = 1$ ) se stejným počátečním sklonem a asymptotou (Terashima & Saeki 1985, upraveno).

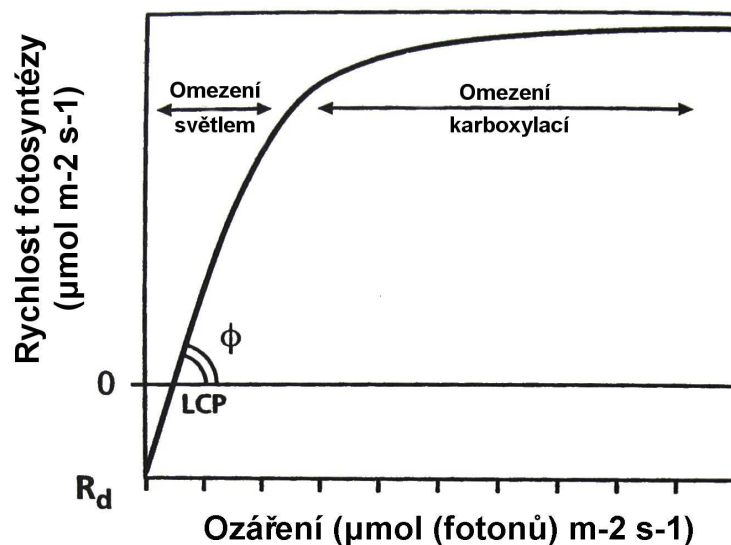
### Světelná křivka

Světelná křivka vyjadřuje závislost rychlosti fotosyntézy na intenzitě ozáření (obr. 1.4). Při zvyšování ozáření listů stoupá množství excitací v tylakoidu, ale současně klesá počet otevřených reakčních center, tj. center, které mohou přijmout excitaci a přejít do excitačního stavu. S rostoucí ozářeností tedy klesá účinnost přeměny pohlceného záření, tj. snižuje se podíl pohlcených fotonů přeměněných na chemickou energii a stoupá počet fotonů, jejichž energie se přemění v teplo nebo fluorescenci (Šetlík et al. 1998).

Pro velmi nízké ozáření je rychlost fotosyntézy menší než rychlost respirace (Lambers et al. 1998). Intenzita, při které se rychlost fotosyntézy vyrovnává s rychlostí respirace, se nazývá kompenzační bod  $C_0$  (Lambers et al. 1998; Šetlík et al. 1998; Schulze et al. 2002). Při nízkých intenzitách ozáření je rychlost fotosyntézy limitována světlem, a proto roste lineárně se vzrůstající ozářeností a probíhá s nejvyšší účinností (Terashima & Takenaka 1986; Šetlík et al. 1998). Směrnice nárůstu (sklon křivky) charakterizuje kvantový výtěžek fotosyntézy, pokud je založena na absorbovaném světle, nebo zdánlivý kvantový výtěžek, pokud je založena na dopadajícím světle (Terashima & Saeki 1985; Terashima & Takeana 1986; Lambers et al. 1998).

Při vyšší ozáření se rychlost fotosyntézy saturuje světlem a je limitována rychlostí karboxylace (asimilace  $\text{CO}_2$ ) a rychlostí difúze  $\text{CO}_2$  do listu. Rychlost fotosyntézy v této části se nazývá maximální rychlost fotosyntézy ( $A_{\text{max}}$ ) a je mírou fotosyntetické kapacity listu (Terashima & Saeki 1985; Terashima & Takenaka 1986; Lambers et al. 1998).

Tvar křivky může být popsán rovnicí konvexity ve tvaru  $\theta A^2 - (\Phi I + A_{\text{max}})A + \Phi I A_{\text{max}} = 0$ , kde  $A$  je změřená celková rychlost fotosyntézy bez respirace,  $\Phi$  je kvantový výtěžek,  $A_{\text{max}}$  maximální rychlost fotosyntézy,  $I$  je intenzita ozáření a  $\theta$  je index konvexity (Terashima & Saeki 1985; Terashima & Takenaka 1986; Lambers et al. 1998).



Obr. 1.4: Světelná křivka.  $R_d$  – respirace ve tmě, LCP – světelný kompenzační bod,  $\Phi$  – kvantový výtěžek (Lambers et al. 1998, upraveno).

### $\text{CO}_2$ křivka

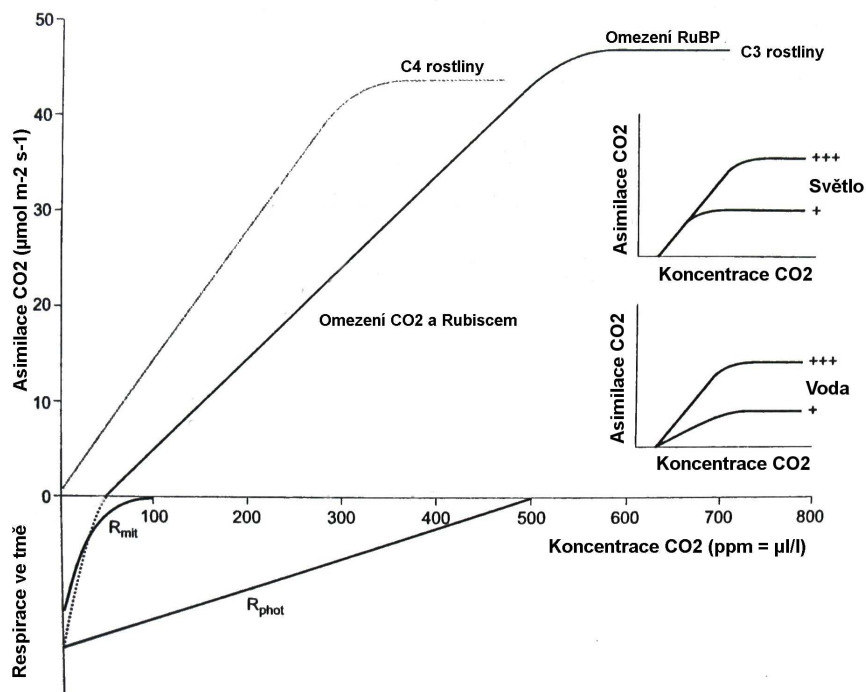
$\text{CO}_2$  křivka vyjadřuje závislost fotosyntézy na intercelulární koncentraci  $\text{CO}_2$  (obr. 1.5) (Lambers et al. 1998). Při nízké koncentraci  $\text{CO}_2$  je produkce  $\text{CO}_2$  respirací (hlavně fotorespirací) větší než fixace  $\text{CO}_2$  ve fotosyntéze. Neprobíhá žádná asimilace  $\text{CO}_2$ . Koncentrace  $\text{CO}_2$ , při které se rychlost asimilace uhlíku vyrovnává s rychlostí uvolňování  $\text{CO}_2$ , se nazývá kompenzační bod  $\text{CO}_2$ . Hodnota kompenzačního bodu u  $\text{C}_3$  rostlin je určena kinetickými vlastnostmi Rubisca. Nad kompenzačním bodem rozeznáváme dvě části křivky. Při nižších koncentracích  $\text{CO}_2$  stoupá rychlost fotosyntézy lineárně. Je omezena koncentrací  $\text{CO}_2$ . Vyjadřuje účinnost karboxylace. Při



saturaci světlem a plně aktivovaných enzymech vyjadřuje sklon počáteční sklon křivky karboxylační kapacitu listu, která závisí na množství aktivního Rubisca (Lambers et al. 1998; Schulze et al. 2002).

Při vysokých koncentracích  $\text{CO}_2$  se rychlost fotosyntézy zastavuje a je limitována množstvím dostupného RuBP. Tato fáze rychlosti fotosyntézy závisí na aktivitě Calvinova cyklu, který závisí na rychlosti produkce ATP a NADPH a tím na rychlosti přenosu elektronů ve světelné fázi fotosyntézy (Lambers et al. 1998; Schulze et al. 2002). Při vysokých koncentracích  $\text{CO}_2$ , kdy se nezvyšuje rychlost přenosu elektronů, dochází stále k pomalému nárůstu asimilace  $\text{CO}_2$ , protože dochází k potlačování oxygennační funkce Rubisca ve prospěch karboxylační funkce (Lambers et al. 1998).

Tvar křivek a hodnota kompenzačního bodu se u  $\text{C}_3$  a  $\text{C}_4$  rostlin významně liší. Je to dáno téměř úplným potlačením fotorespirace a vysokou afinitou PEPc k  $\text{CO}_2$  u  $\text{C}_4$  rostlin. U rostlin s  $\text{C}_4$  metabolismem je kompenzační bod blízký 0 a počáteční sklon křivky je strmější než u  $\text{C}_3$  rostlin. K saturaci dochází již při nízkých hodnotách koncentrace  $\text{CO}_2$  (Šetlík et al. 1998).



Obr. 1.5:  $\text{CO}_2$  křivka – závislost rychlosti fotosyntézy na intercelulární koncentraci  $\text{CO}_2$ .  $R_{\text{mit}}$  – mitochondriální respirace,  $R_{\text{phot}}$  – fotorespirace. Vložené grafy ukazují, že světlo ovlivňuje pouze oblast limitovanou RuBP, kdežto sucho oblast limitovanou Rubiscem (Lambers et al. 1998, upraveno).

### Saturační křivka

Saturační křivka vyjadřuje závislost rychlosti fotosyntézy na čase. Při vložení rostliny, která byla adaptovaná na tmu, na světlo dochází k nárůstu fotosyntézy z nulových hodnot až do maximální saturační hodnoty. Do 15 minut tato křivka odpovídá rychlosti aktivace Rubisca, od 15 minut rychlosti otevírání stomat. Tato křivka tedy vyjadřuje rychlost aktivace Rubisca oxidem uhličitým (Lambers et al. 1998).

### Specifická listová plocha (specific leaf area) – SLA ( $\text{m}^2 \text{kg}^{-1}$ )

SLA vyjadřuje vztah listové plochy k hmotnosti sušiny. Čím větší hodnota, tím má rostlina menší tloušťku listů. SLA vyjadřuje pružnost listů, koncentraci živin (hlavně dusíku) v listech, poměr asimilujících buněk k transpirujícímu volnému prostoru a také schopnost listů snášet sucho a jiné stresové faktory. Druhy s vysokou SLA vykazují vyšší metabolickou aktivitu než druhy s nízkou SLA a jejich listy obsahují větší koncentraci dusíku (Poorter & de Jong 1999; Schulze et al. 2002). Jsou ale také citlivější ke stresu a suchu, protože investují více do účinnějšího fotosyntetického aparátu než do schopnosti snášet stres (Lambers et al. 1998; Porter & de Jong 1999; Schulze et al. 2002).

## 1.5 VLIV EKOLOGICKÝCH PARAMETRŮ NA FOTOSYNTÉZU

### 1.5.1 Obecně

Rostliny dosahují v přírodě maximální rychlosti fotosyntézy velmi zřídka. Většinou dosahují průměrné rychlosti asimilace, která je asi 50 % maximální rychlosti. Rychlost fotosyntézy je v mírném klimatu snižována světlem, v aridních klimatech světlem a vlhkostí vzduchu. Fotosyntéza závisí na fyziologické aktivitě Rubisca a koncentraci  $\text{CO}_2$  v mezofylu a atmosféře, ale je také regulována průduchy a energetickou rovnováhou v rostlině a vnějšími faktory prostředí (Schulze et al. 2002).

### 1.5.2 Světlo

Světlo je jedním z nejdůležitějších faktorů ovlivňujících fotosyntézu a růst rostlin. Jsou na něm závislé všechny fotoautotrofní organismy. Fotosyntézu přímo ovlivňuje tzv. fotosynteticky aktivní světlo (PAR), což je záření o vlnové délce 400-700 nm (Lambers et al. 1998).

Závislost rychlosti fotosyntézy na intenzitě ozáření vyjadřuje světelná křivka fotosyntézy (viz kap. 1.4). Se stoupající intenzitou ozáření stoupá i fotosyntéza. Zvyšuje se také fotorespirace, tj. výdej  $\text{CO}_2$  na světle, temnostní respirace se naopak snižuje (Schulze et al. 2002). Nízká intenzita slunečního záření je pro rostlinu stresující, protože omezuje fotosyntézu a posouvá tím i poměr fotosyntézy a respirace ve prospěch respirace. To vede ke snižování biomasy. Naopak příliš vysoká intenzita záření může vést k poškození fotosyntetického aparátu a tím i ke snížení fotosyntézy (Lambers et al. 1998).

Extrémní přizpůsobení na různé intenzity ozáření vykazují slunné a stinné listy (Schulze et al. 2002). Slunné listy se od stinných liší vyšší maximální fotosyntézou, která je způsobena větším množstvím složek, které určují fotosyntetickou kapacitu, větším množstvím chloroplastů a tylakoidů na plochu listu. Přechod z části světelné křivky limitované světlem do saturační části je u stinných listů prudký, kdežto u slunných listů bývá pozvolný (dosahují vyšší maximální rychlosti fotosyntézy a nižšího indexu konvexity). Slunné listy mají vyšší kompenzační bod ozáření než listy stinné, které jsou tak přizpůsobeny nízkým hodnotám ozáření (Lambers et al. 1998; Schulze et al. 2002). Co se týká anatomie listů, dosahují stinné listy většího poměru listové plochy na hmotnost listu (SLA) než slunné listy (Schulze et al. 2002). Mají také tenčí listy. Další rozdíly mezi slunnými a stinnými listy jsou uvedeny v tab. 1.2.

Tab. 1.2: Rozdíly mezi slunnými a stinnými listy (Givnish 1988, Lambers et al. 1998, Schulze et al. 2002). LHC – světlosběrné antény.

Parametr	Slunný list	Stinný list
<b>morfologie</b>		
orientace listů	vertikální	horizontální
tloušťka listu	velká	malá
plocha listu/hmotnost sušiny	nízká	vysoká
hmotnost sušiny/listovou plochu	vysoká	nízká
tloušťka palisádového parenchymu	velká	malá
tloušťka houbového parenchymu	podobná	podobná
poměr palisádového/houbového parenchymu	vysoký	nízký
velkost stomat	malá	velká
hustota stomat	vysoká	nízká
<b>anatomie</b>		
velikost chloroplastů	malá	velká
hustota chloroplastů	velká	malá
počet tylakoidů/objem stromatu	málo	hodně
počet tylakoidů/grana	málo	hodně
<b>biochemie</b>		
obsah chlorofylu/chloroplast	nízký	vysoký
obsah chlorofylu/plochu	podobně	podobný
obsah chlorofylu/sušinu	nízký	vysoký
poměr chlorofylu a/b	vysoký	nízký
obsah N, Rubisca, xanthofylů a ATP-synthasy/plochu	vysoký	nízký
množství LHC/plochu listu	nízké	vysoké
elektro-transportní, karboxylační a fotosyntetická kapacita/plochu	vysoká	nízká
fotosyntetická kapacita/hmotnost sušiny	podobná	podobná
<b>fotosyntetické parametry</b>		
kompenzační bod	vyšší	nižší
kvantový výtěžek	podobný	podobný
maximální rychlost fotosyntézy	vyšší	nižší
temnostní respirace/plochu	vysoká	nízká
zakřivení světelné křivky	pozvolné	prudké

### 1.5.3 Koncentrace CO<sub>2</sub>

Závislost rychlosti fotosyntézy na koncentraci CO<sub>2</sub> v mezibuněčných prostorách vyjadřuje CO<sub>2</sub> křivka (viz kap. 1.4) (Lambers et al. 1998; Schulze et al. 2002). Fotosyntéza je závislá hlavně na koncentraci (nebo parciálním) tlaku CO<sub>2</sub> v mezibuněčných prostorách listu, která je ovlivněna koncentrací CO<sub>2</sub> v okolí listu. Pokud se krátkodobě (maximálně na několik dnů) zvýší koncentrace CO<sub>2</sub> ve vzduchu okolo listu, zvyšuje se čistá fotosyntéza u C<sub>3</sub> rostlin. Je to způsobeno inhibicí oxygennační funkce Rubisca vysokými koncentracemi CO<sub>2</sub> a snížením fotorespirace (Marek et al. 1995). Při dlouhodobém zvýšení koncentrace CO<sub>2</sub> ve vzduchu se snižuje účinnost karboxylace Rubisca a maximální rychlost fotosyntézy. Snížení fotosyntézy je způsobeno rychlostí karboxylace Rubisca (Marek et al. 1995; Lambers et al. 1998).

#### 1.5.4 Teplota

Teplota ovlivňuje hlavně enzymaticky katalyzované reakce a membránové procesy, a proto ovlivňuje i fotosyntézu (Lambers et al. 1998).

Při nízkých teplotách probíhá v buňkách pouze respirace. Fotosyntéza začíná probíhat při teplotách asi  $-5^{\circ}\text{C}$ . Její rychlost stoupá se zvyšující se teplotou až do teplotního optima, kde dosahuje nejvyšších hodnot fotosyntézy, a při vyšších teplotách zase rychlost fotosyntézy klesá (Šetlík et al. 1998; Schulze et al. 2002). Fotosyntéza začíná klesat ještě před poškozením fotosyntetického aparátu a při jeho poškození pokles fotosyntézy pokračuje stejnou měrou, jako postupuje poškození fotosyntetického aparátu (Šetlík et al. 1998). Respirace stoupá exponenciálně s teplotou a je inhibována pouze při velmi vysokých teplotách (Schulze et al. 2002).

Mnoho rostlin má umístěno teplotní optimum pro fotosyntézu v blízkosti teplotního optima pro růst (Lambers et al. 1998). Není konstantní, ale mění se s ročním obdobím (Lambers et al. 1998).  $\text{C}_4$  rostliny mají vyšší teplotní optimum pro fotosyntézu než  $\text{C}_3$  rostliny, protože PEPkarboxylasa  $\text{C}_4$  rostlin má optimum při vyšších teplotách a je schopna reasimilovat  $\text{CO}_2$  uvolněný respirací. Nízké teploty neničí fotosyntetický aparát, ale vedou spolu se zmrznutím a vysokými intenzitami ozáření k fotoinhibici, která zamezuje poškození fotosyntetického aparátu tím, že zamezuje přenosu elektronů v elektron-transportním řetězci na nežádoucí nesespecifické látky (fotooxidaci) (Lambers et al. 1998; Schulze et al. 2002). Chlad způsobuje poškození fotosyntetického aparátu několika způsoby: snižováním pružnosti membrán, změnou aktivity membránových enzymů a procesů (např. elektron-transportního řetězce) a snižováním aktivity enzymů citlivých na chlad. Nejcitlivější a nejvíce ovlivněné teplotou jsou biochemické pochody v rostlině, mezi něž patří elektron-transportní řetězec a Calvinův cyklus. Listy rostlin, které jsou přizpůsobené nízkým teplotám, také obsahují menší množství chlorofylu a velké množství karotenoidů, které zabraňují poškozování chlorofylu (Lambers et al. 1998; Nátr 1998).

Vysoké teploty ovlivňují průduchy a vyvolávají vzrůst transpirace (Schulze et al. 2002). Při vysokých teplotách roste oxygenační funkce Rubisca rychleji než karboxylační a dochází ke zvyšování fotorespirace. Teplota také ovlivňuje kinetické vlastnosti Rubisca. Tyto dva aspekty způsobují u  $\text{C}_3$  rostlin snižování fotosyntézy při vysokých teplotách (Lambers et al. 1998). Vysoké teploty také ovlivňují otevírání stomat a způsobují nepoměrný růst transpirace (Schulze et al. 2002). Rostliny

adaptované na vysoké teploty mají často posunuté teplotní optimum k teplotám, při nichž dochází k inaktivaci enzymů (Lambers et al. 1998).

#### 1.5.5 Voda

Pokud se zvyšuje rychlost transpirace při otevřených průduších, která není dostatečně nahrazována příjmem vody pomocí kořenů, v rostlině klesá relativní obsah vody. To může přímo nebo nepřímo ovlivňovat fotosyntézu, která je mimo jiné limitována difúzí CO<sub>2</sub> přes průduchy (Lambers et al. 1989).

S klesající stomatální vodivostí klesá fotosyntéza pomaleji než transpirace, protože transpirace je lineárně závislá na stomatální vodivosti, ale fotosyntéza není. S klesající stomatální vodivostí stoupá i účinnost využití vody (WUE) (Lambers et al. 1998). Při malé vlhkosti se uzavírají průduchy, přičemž WUE zůstává stejná a rychlost fotosyntézy se snižuje. Fotosyntéza neklesá ve stejném poměru jako stomatální vodivost pravděpodobně v důsledku nerovnoměrného uzavírání stomat (Lambers et al. 1998; Schulze et al. 2002).

Se stoupajícím zavodněním rostliny stoupá rychlost respirace a fotosyntézy. Fotosyntéza dosahuje nejvyšší rychlosti při 80% objemu vody na hmotnost sušiny (Schulze et al. 2002).

#### 1.5.6 Živiny

Asimilace CO<sub>2</sub> a stomatální vodivost se mění v poměru k výživě listu. Týká se to jak změn v dostupnosti dusíku, tak také fosforu (Schulze et al. 2002). Maximální rychlost fotosyntézy roste lineárně s koncentrací dusíku v listu. Obsah dusíku reguluje fotosyntézu. Při omezené dostupnosti dusíku se snižuje stomatální vodivost a obsah Rubisca a chlorofylu. Obsah dusíku na plochu je nejvyšší ve slunných listech a směrem k povrchu země klesá (Lambers et al. 1998).

### 1.6 VLIV POLYPLOIDIE NA FOTOSYNTÉZU

#### 1.6.1 Obecně

Není jednoduché odhadnout vliv polyploidie na fotosyntetickou kapacitu rostliny, a to z několika důvodů:

(a) Vliv polyploidie na fenotyp rostliny se při zvyšující se úrovni organizace mění. Nejvíce je ovlivněna velikost genomu, pokud stoupáme v úrovni výše přes velikost buněk, hustotu buněk, rychlost fotosyntézy až po velikost rostliny, ovlivnění polyploidizací se snižuje (Knight & Beaulieu 2008).

(b) Dále může být primární vliv znásobení chromozomových sad omezen různými přestavbami chromozomů, mutacemi, změnami exprese genů a změnami anatomických a biochemických parametrů ovlivňujících fotosyntézu (Vyas et al. 2007).

(c) Dalším problémem je původ a typ polyploida (Warner & Edwards 1993; Vyas et al. 2007). Fotosyntéza u allopolyploidů může být ovlivněna nejen zvýšeným obsahem DNA, ale také hybridizací, kde se mohou uplatnit vlastnosti odlišných chromozomových sad (Meyers et al. 1982; Vyas et al. 2007). V mnoha studiích, které se zabývají vlivem polyploidie na fotosyntézu, jsou jako materiál používány umělé autopolyploidní rostliny, jejichž vznik byl indukován kolchicinem. Tyto rostliny ukazují pouze vlivy znásobení genomu na fotosyntézu (Vyas et al. 2007), která ale může být v důsledku inbreedingu snížena (Meyers et al. 1982; Warner & Edwards 1993). Jsou vhodné pro studium přímého vlivu polyploidie. Fotosyntéza u spontánních autopolyploidů může být ovlivněna také změnou regulace a exprese genů (Warner & Edwards 1993; Vyas et al. 2007). Spontánní autopolyploidie se používají ke studiu vlivu polyploidie na fotosyntézu rostlin přizpůsobených přírodním podmínkám (Warner & Edwards 1993).

(d) Posledním problémem je fylogenetické stáří polyploida. Nově vzniklý polyploid může mít jiné vlastnosti než ustálený polyploid v důsledku již zmiňovaných přestaveb genomu (Vyas et al. 2007).

Polyploidie způsobuje anatomické i biochemické změny v rostlinách, které ovlivňují fotosyntézu. Anatomické vlivy zahrnují změny v počtu a velikosti buněk a organel. Ovlivňují rychlost difúze CO<sub>2</sub> do buněk a biochemické a metabolické funkce v buňkách. Biochemické vlivy zahrnují změny v množství syntetizovaných fotosyntetických proteinů a enzymů (vliv většího množství genových sad) a v biochemické diverzitě (produkce nových kombinací alel) (Warner & Edwards 1993).

V tabulkách 1.4 a 1.5 jsou shrnuty výsledky studií sledujících změny ve vybraných parametrech fotosyntézy při stoupajícím stupni ploidie a taxony použité v těchto studiích.

### 1.6.2 Anatomické vlivy

Se zvyšující se ploidií se zvyšuje množství DNA v buňce a tím i velikost a objem mezofylních buněk (Byrne et al. 1981; Meyers et al. 1982; Molin et al. 1982; Jellings & Leech 1984; Warner et al. 1987; Warner & Edwards 1989; Warner & Edwards 1993; Romero-Aranda et al. 1997; Vyas et al. 2007). U některých druhů fotosyntéza na plochu listu negativně koreluje s objemem buněk mezofylu. Je to přičítáno vyššímu odporu k difúzi CO<sub>2</sub>, který je způsoben snížením poměru plochy k objemu u velkých buněk (El-Sharkawy & Hesketh 1965, Wilson & Cooper 1967 sec. Warner & Edwards 1993). S velikostí mezofylních buněk souvisí také počet chloroplastů v buňce. U mnoha druhů se vyskytuje silná korelace mezi obsahem DNA a počtem chloroplastů v buňce (Molin et al. 1982; Jellings & Leech 1984; Warner et al. 1987; Warner & Edwards 1988), ale počet chloroplastů na plochu listu se nemění (Warner & Edwards 1988). Indukování tetraploidů mají větší objem buněk a počet chloroplastů v buňce než přirození. Může to být způsobeno tím, že se během evoluce může velikost buněk a počet chloroplastů redukovat (Butterfass 1989 sec. Warner & Edwards 1993).

Velikost epidermálních a průvodních buněk pozitivně koreluje s množstvím DNA (Beaulieu et al. 2008; Knight & Beaulieu 2008). Počet buněk na plochu listu se ale snižuje (Warner et al. 1987; Warner & Edwards 1988; Romero-Aranda et al. 1997; Chen et al. 2009).

Velikost stomat se s rostoucí ploidií zvětšuje (Levin 1983; Jellings & Leech 1984; Warner et al. 1987; Chen et al. 2009; Khazaei et al. 2010), ale jejich hustota se většinou snižuje (Bjurman 1959; Byrne et al. 1981; Levin 1983; Jellings & Leech 1984; Hull-Sanders et al. 2009; Chen et al. 2009; Khazaei et al. 2010), kromě rostliny *Panicum virgatum* a dekaploidní rostliny *Festuca arundinacea*, kde se zvyšuje (Byrne et al. 1981; Warner et al. 1987). Snižující se hustota stomat se může částečně vysvětlit zvyšující se velikostí epidermálních i svěracích buněk. Změny poměru ve velikosti stomat a jejich hustoty při zvětšujícím se genomu vedou k uchování optimálního poměru pro nejefektivnější fixaci CO<sub>2</sub> (Knight & Beaulieu 2008).

Polyploidní rostliny mají také tlustější listy (Jellings & Leech 1984; Sicher et al. 1984; Warner & Edwards 1988; Romero-Aranda et al. 1997; Vyas et al. 2007) kromě *Panicum virgatum* (Warner et al. 1987) a *Solidago gigantea* (Hull-Sanders et al. 2009). U některých rostlin se s rostoucím stupněm ploidiie zvětšuje také plocha listu (Molin et al. 1982; Sicher et al. 1984; Vyas et al. 2007; Chen et al. 2009) a u *Medicago sativa* také



hmotnost listu (Molin et al. 1982). S těmito dvěma parametry souvisí také poměry mezi plochou listu a hmotností listu, tzv. specifická listová plocha (SLA), a její převrácená hodnota, hmotnost listu na plochu (LMA). Druhy s velkými genomy a zároveň velkými buňkami se vyznačují nízkými hodnotami LMA (Beaulieu et al. 2007). Beaulieu et al. (2007) a Knight & Beaulieu (2008) zjistili, že u krytosemenných rostlin vykazuje LMA negativní korelaci s 2C množstvím DNA. Naopak Vyas et al. (2007) zjistili pozitivní korelaci LMA a množství DNA u *Phlox drummondii*, což potvrzují po převodu SLA na LMA Hull-Sanders et al. (2009) u *Solidago gigantea*. Nahosemenné rostliny vykazují pozitivní korelaci LMA a množství DNA (Beaulieu et al. 2007; Knight & Beaulieu 2008).

### 1.6.3 Biochemické vlivy

Zdvojení genomu a zvýšení objemu buňky způsobuje vyšší obsah proteinů a enzymů v buňce. Obsah chlorofylu v buňce pozitivně koreluje s velikostí genomu (Joseph et al. 1981; Molin et al. 1982; Warner et al. 1987; Warner & Edwards 1988; Romero-Aranda 1997). Zvyšuje se také obsah chlorofylu na plochu (Bjurman 1959; Warner et al. 1987; Warner & Edwards 1988; Romero-Aranda 1997). U *Atriplex confertifolia* se obsah chlorofylu na buňku mezofylu i plochu nemění (Warner & Edwards 1989). Obsah Rubisca a proteinů na buňku se s ploidí zvyšuje (Molin et al. 1982; Warner et al. 1987; Warner & Edwards 1988), u *Pennisetum americanum* ale zůstává při vyjádření na plochu stejný (Warner & Edwards 1988).

Aktivita enzymů na chlorofyl nebo DNA se s velikostí genomu snižuje nebo zůstává stejná (Warner et al. 1987; Warner & Edwards 1988; Warner & Edwards 1989). Aktivita na buňku pozitivně koreluje s ploidií (Warner & Edwards 1988; Warner & Edwards 1989), aktivita na plochu zůstává stejná nebo se zvyšuje (Warner et al. 1987; Warner & Edwards 1988).

### 1.6.4 Vyjádření rychlosti fotosyntézy

Velký vliv na hodnocení vlivu polyploidie na fotosyntézu má to, na jakou jednotku se rychlost fotosyntézy vyjadřuje. Pokud je rychlost fotosyntézy určována enzymatickou aktivitou a velikost buňky i aktivita enzymů na buňku se při zdvojnásobení genomu například zdvojnásobí, pak fotosyntéza na plochu i DNA zůstane stejná, ale fotosyntéza na buňku se zdvojnásobí (Molin et al. 1982; Warner et al. 1987; Warner & Edwards

1993). Pokud se genom zdvojnásobí, velikost buňky se zvětší méně než dvojnásobně a enzymová aktivita se zdvojnásobí, pak bude rychlost fotosyntézy na plochu listu stoupat, ale na buňku bude dvojnásobná a na DNA zůstane stejná (Warner et al. 1987).

Rychlost fotosyntézy se nejčastěji vyjadřuje na jednotku plochy listu, hmotnosti listu, proteinu nebo chlorofylu. Pokud neznáme, jak se tyto jednotky s vyšším stupněm ploidie mění, nejsou pro vyjádření vhodné (Warner & Edwards 1989; Warner & Edwards 1993). Pro vyjádření vlivu strukturálních a biochemických vlivů polyploidie na fotosyntézu je nejvhodnější vyjádřit fotosyntetické parametry spíše na buňku nebo množství DNA než na listovou plochu, hmotnost, obsah proteinů nebo chlorofylu (Meyers et al. 1982, Warner & Edwards 1988). Je to důležité zejména pro  $C_4$  rostliny, jejichž mechanismus fotosyntézy vyžaduje transport metabolitů mezi buňkami mezofylu a pochev cévních svazků (Warner & Edwards 1988).

Protože se množství DNA se stupněm ploidie nezvětšuje vždy ve stejném poměru se zvětšujícím se počtem chromozomů, je vhodné pro vyjádření vlivu polyploidie na fotosyntézu použít rychlost fotosyntézy vyjádřenou na množství DNA. Vyjádření na množství DNA indikuje vliv zdvojení genomu na fotosyntézu, množství složek v buňce, enzymatickou aktivitu a objem buňky (Warner & Edwards 1993). Záleží i na tom, jak je vyjádřeno množství DNA. Celkový obsah DNA ( $2C$ ) se s vyšším stupněm ploidie zvyšuje, ale obsah DNA v základní sádce chromozomů ( $1Cx$ ) zůstává víceméně stejný (Beaulieu et al. 2007).

Fotosyntéza může být také vztažena na jednotku chlorofylu nebo proteinu. Není ale informativní, pokud neznáme, jak se množství chlorofylu mění v závislosti na počtu chromozomů (Warner & Edwards 1989).

Pokud známe počet buněk na listovou plochu, můžeme fotosyntézu vyjádřit na buňku nebo chloroplast (Warner et al. 1987; Warner & Edwards 1989), které jsou přímo ovlivněné chromozomovým číslem. Vyjádření na buňku ukazuje vztah mezi objemem buňky a počtem chromozomových sad a jejich vliv na koncentrace biochemických složek a fotosyntetickou aktivitu v buňce (Warner & Edwards 1993).

Fotosyntéza vyjádřená na listovou plochu popisuje interakce mezi biochemickými i anatomickými vlivy polyploidie na fotosyntézu (Warner & Edwards 1993). Pokud ale neznáme počet buněk na listovou plochu, je vyjádření rychlosti fotosyntézy na plochu nepoužitelné (Warner & Edwards 1989).

### 1.6.5 Rychlost fotosyntézy

Rychlost fotosyntézy na plochu listu určují tři anatomické faktory ovlivněné polyploidii: obsah DNA v buňce, velikost buňky a počet buněk na plochu listu, a dva biochemické faktory: množství chlorofylu, Rubisca a dalších proteinů v buňce a aktivita enzymů (Warner & Edwards 1993).

Fotosyntéza vyjádřená na plochu listu může s velikostí genomu stoupat (Byrne et al. 1981; Joseph & Randall 1981; Warner et al. 1987; Warner & Edwards 1989; Vyas et al. 2007; Hull-Sanders et al. 2009), klesat (Bjurman 1959; Romero-Aranda et al. 1997) nebo se nemění (Mauer 1978; Sicher et al. 1984; Warner & Edwards 1988) v závislosti na změně v počtu a velikosti mezofylních buněk při nárůstu ploidie (Warner et al. 1987; Warner & Edwards 1993). Fotosyntéza na plochu listu také negativně koreluje s množstvím DNA na objem buňky (Jellings & Leech 1984; Warner et al. 1987).

Fotosyntéza vyjádřená na čerstvou hmotnost listu se s rostoucí ploidii snižuje (Bjurman 1959; Timco & Vasconcelos 1981; Sicher et al. 1984; Beaulieu et al. 2007; Knight & Beaulieu 2008). To může poukazovat na hypotézu, že zvyšování DNA může omezit rychlosti metabolických cest (Beaulieu et al. 2007). Fotosyntéza na sušinu se u většiny druhů s ploidii zvyšuje (Byrne et al. 1981; Romero-Aranda et al. 1997; Vyas et al. 2007), pouze u *Hordeum vulgare* a rodu *Citrus* se snižuje (Sicher et al. 1984; Romero-Aranda 1997).

Fotosyntéza vyjádřená na buňku u všech studovaných druhů s množstvím DNA stoupá (Molin et al. 1982; Warner et al. 1987; Warner & Edwards 1988; Warner & Edwards 1989), pouze u pomeranče klesá a u citronu se nemění (Romero-Aranda 1997). Je určena poměrem DNA v buňce k velikosti buňky (Jellings & Leech 1984). Jestliže se objem a fotosyntetická kapacita na buňku zdvojnásobí, pak celková fotosyntéza na jednotku DNA bude konstantní. Jestliže je růst fotosyntetické kapacity na buňku úměrně větší než pokles buněk na listovou plochu, pak bude fotosyntéza vzrůstat (Byrne et al. 1981; Warner et al. 1987). Fotosyntéza na chloroplast se u druhu *Medicago sativa* nemění (Molin et al. 1982).

Fotosyntéza vyjádřená na množství DNA se u druhů *Pennisetum americanum* a *Atriplex confertifolia* nemění (Warner & Edwards 1988; Warner & Edwards 1989) a u oktaploidů druhu *Panicum virgatum* se snižuje, což ukazuje na menší expresi DNA u oktaploidů tohoto druhu (Warner et al. 1987). Fotosyntéza na chlorofyl klesá (Timco & Vasconcelos 1981; Warner & Edwards 1988), u rostliny *Phlox drummondii* byla

nejvyšší u první generace tetraploidů, s postupným fylogenetickým stářím polyploidů se snižovala (Vyas et al. 2007).

#### 1.6.6 Vliv fylogenetického stáří

Vyas et al. (2007) studoval vliv stabilizace genomu uměle vytvořeného autotetraploida druhu *Phlox drummondii* na fotosyntézu během 10 generací. Z tabulky 1.3 vyplývá, že bezprostředně po zdvojení chromozomů se zvýšila rychlost fotosyntézy na plochu listu a stoupala v dalších generacích. Zvyšoval se také počet buněk v listech a objem mezofylních buněk. Snižovalo se naopak množství Rubisca na plochu listu. To ukazuje na adaptaci a evoluci rostlin.

Tab. 1.3: Srovnání fotosyntetických vlastností mezi 1. a 11. generací uměle vytvořeného autotetraploida *Phlox drummondii* (Vyas et al. 2007).

	1. generace 4x	11. generace 4x
A/plochu	vyšší	nejvyšší
obsah Rubisca	podobný	podobný
stupeň nasycení světlem	nižší	vyšší
světelná křivka	nižší	vyšší
počáteční sklon světelné křivky	nižší	vyšší
kapacita regenerace RuBP	nižší	vyšší
stomatální vodivost	nižší	vyšší

Tab. 1.4: Souhrn změn v parametrech fotosyntézy se zvyšující se ploidií u různých druhů rostlin ve sledovaných studiích. Šipky znázorňují zvýšení nebo snížení hodnot parametrů, rovnítko neměnicí se hodnoty parametrů při srovnání vyššího ploidního stupně s nižším ploidním stupněm.

Druh Parametr	<i>Ribes satigrum</i>	<i>Viola adunca</i>	<i>Ricinus communis</i>	<i>Festuca arundinacea</i>	<i>Medicago sativa</i>	<i>Aegilops Triticum,</i>	<i>Hordeum vulgare</i>	<i>Panicum virgatum</i>	<i>Pennisetum americanum</i>	<i>Atriplex confertifolia</i>	<i>Citrus sinensis, Citrus limon</i>	<i>Phlox drummondii</i>	<i>Solidago gigantea</i>	<i>Budlejia macrostachya</i>
A/plochu	↓	=		↑			=	↑	=	(↑)	↓	↑	↑	
A/hmotnost sušiny				↑			↓				↓	↑		
A/hmotnost listu	↓		↓		↑		↓	↑	↑		↓, =			
A/buňku							↑	↓	=					
A/DNA							↑	=	↑					
tloušťka listu						↑	↑	=	↑		↑	↓	↓	
SLA													=↓	↓
hustota stomat	↓			↓ <sup>3</sup>		↓	↑	↑						↓
délka						↑	↑	↑						↑
stomat/plochu								↓			↓			
počet buněk /plochu														
velikost buněk mezofylu				↑		↑						↑		
objem buněk mezofylu				↑				↑	↑	↑	↑	↑		
počet chloroplastů/buňku					↑	↑		↑	↑					
chlorofyl/plochu	↑							↑	↑	=	↑			
chlorofyl/buňku					↑			↑	↑	↑ <sup>1</sup> , = <sup>2</sup>	↑			
proteiny/buňku								↑	↑					
aktivita enzymů/plochu								↑	=					
aktivita enzymů/buňku									↑	↑				
aktivita enzymů/chlorofyl								↓	=	=				
DNA/buňku					↑			↑	↑	↑				

<sup>1</sup>- chlorofyl na buňku pochvy cévního svazu, <sup>2</sup>- na buňku mezofylu, <sup>3</sup>- kromě 10x

Tab. 1.5: Polyploidní rostliny použité v jednotlivých studiích, jejich původ a autoři studie

Taxon	Studie	Srovnávané ploidní stupně	C <sub>3</sub> v. C <sub>4</sub>	Auto v. allopolyploid	Přírodní v. umělý
<i>Atriplex confertifolia</i>	Warner & Edwards 1989	2x, 4x, 6x, 8x	C <sub>4</sub>	autopolyploid	přírodní
<i>Buddleja macrostachya</i>	Chen et al. 2009	6x, 12x	-	-	přírodní
<i>Citrus</i>	Romero-Aranda et al. 1997	2x, 4x	C <sub>3</sub>	allopolyploid	umělý
<i>Festuca arundinacea</i>	Byrne et al. 1981; Joseph & Randall 1981	4x, 6x, 8x, 10x	C <sub>3</sub>	allopolyploid	-
<i>Hordeum vulgare</i>	Sicher et al. 1984	2x, 4x	C <sub>3</sub>	autopolyploid	-
<i>Medicago sativa</i>	Meyers et al. 1982, Molin et al. 1982	2x-4x, 4x-8x	C <sub>3</sub>	allopolyploid	umělý
<i>Panicum virgatum</i>	Warner et al. 1987	4x, 8x	C <sub>4</sub>	pravděpodobně allopolyploid	přírodní
<i>Pennisetum americanum</i>	Warner & Edwards 1988	2x, 4x	C <sub>4</sub>	autopolyploid	
<i>Phlox drummondii</i>	Vyas et al. 2007	2x, 4x-C <sub>0</sub> , 4x-C <sub>11</sub>	C <sub>3</sub>	autopolyploid	umělý
<i>Ribes satigrum</i>	Bjurman 1959	2x, 4x	C <sub>3</sub>	autopolyploid	umělý
<i>Ricinus communis</i>	Timco & Vasconcelos 1981	1x, 2x, 4x	C <sub>3</sub>	autopolyploid	umělý
<i>Solidago gigantea</i>	Hull-Sanders et al. 2009	2x, 4x, 6x	-	pravděpodobně autopolyploid	přírodní
<i>Triticum</i>	Jellings & Leech 1984; Khazaei et al. 2010	2x, 4x, 6x	C <sub>3</sub>	autopolyploid i allopolyploid	přírodní i umělý
<i>Veronica adunca</i>	Mauer 1978	2x, 3x, 4x	C <sub>3</sub>	-	přírodní

## 1.7 GAZOMETRICKÉ MĚŘENÍ FOTOSYNTÉZY

### 1.7.1 Metody měření fotosyntézy

Existují různé metody měření fotosyntézy, které pracují na odlišném principu. Mezi hlavní metody patří gazometrické, které měří přírůstek hmotnosti sušiny izolovaného pletiva, fluorescenční metody, měřící fluorescenci v pletivu, polarografické měření kyslíku, které měří vývoj kyslíku pomocí tzv. kyslíkové elektrody, a gazometrické metody. Výběr vhodné metody závisí na cíli výzkumu, použitém rostlinném materiálu, dostupnosti metody, podmínkách měření fotosyntézy a také časové náročnosti a citlivosti metod (Šesták & Čatský 1966; Šesták et al. 1971; Nátr 1998). Pro naše účely měření fotosyntézy byla nejvhodnější metodou gazometrie.

### 1.7.2 Princip

Gazometrické metody jsou založeny na měření spotřeby CO<sub>2</sub> při fotosyntéze (Šesták & Čatský 1996; Field et al. 1989; Nátr 1998). Zjišťuje se změna koncentrace CO<sub>2</sub> ve

vzduchu obklopujícím asimilující objekt, jímž může být list nebo jiný orgán rostliny, celá rostlina nebo plocha porostu (Šesták & Čatský 1966).

### 1.7.3 Typy

Všechny gazometrické aparatury jsou založeny na jednom ze tří základních typů aparatur (obr. 1.7) (Šesták et al. 1971; Field et al. 1989).

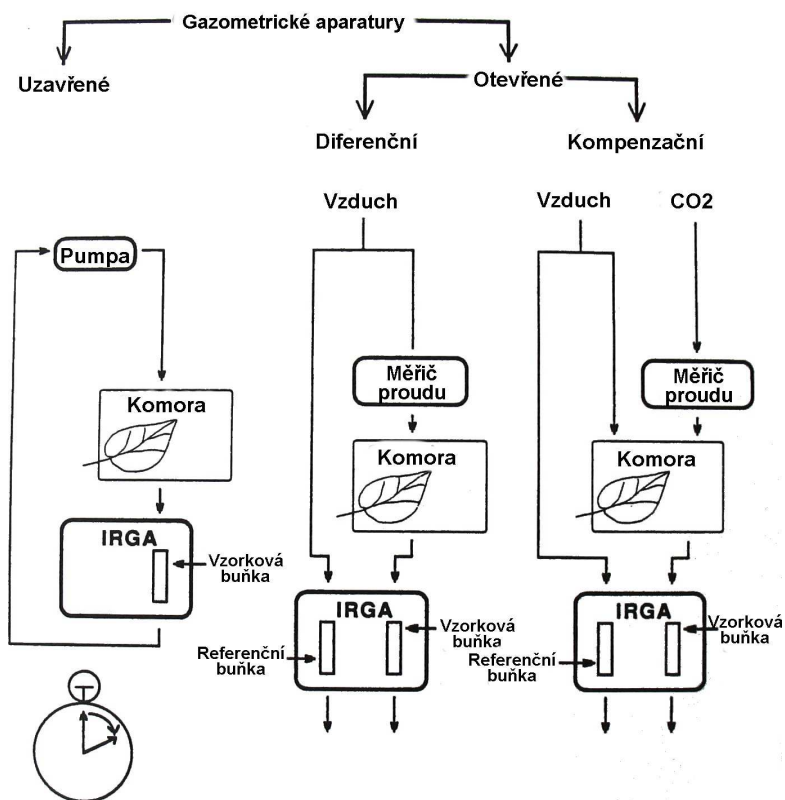
Nejjednodušším typem je uzavřená aparatura. List je vložen do uzavřené komory, skrz kterou proudí vzduch. Při fotosyntéze klesá koncentrace  $\text{CO}_2$  ve vzduchu, protože plyn je fixován v Calvinově cyklu. Vzduch je naopak obohacen o vodní páru z transpirace. Rychlost fotosyntézy je rovna rychlosti spotřeby  $\text{CO}_2$  a rychlost výparu vody udává rychlost transpirace. Rychlost spotřeby  $\text{CO}_2$  se vypočítává z rozdílů koncentrací  $\text{CO}_2$  ve vzduchu těsně před měřením a po nějaké době měření fotosyntézy. Koncentrace  $\text{CO}_2$  se měří vhodným analyzátozem (Field et al. 1989). Uzavřené systémy jsou jednoduché a nevyžadují další přídatné přístroje, jako jsou měřiče toku, a vyžadují pouze jeden analyzátor (Šesták & Čatský 1966; Šesták et al. 1971; Field et al. 1989). Proto jsou vhodné jako přenosné terénní aparatury (Field et al. 1989). Mezi nevýhody tohoto systému patří omezená doba měření. Pokud se koncentrace  $\text{CO}_2$  sníží pod určitou hladinu, fotosyntézu už nelze měřit (Šesták & Čatský 1966).  $\text{CO}_2$  se potom musí doplňovat a potom se jedná o polouzavřený systém (Šesták & Čatský 1966; Šesták et al. 1971). Uzavřené systémy také nikdy neposkytují měření rovnovážného stavu, protože jsou založeny na změnách koncentrací. Jsou nevhodné pro měření založená na odpovědi na různé vnější podmínky (Field et al. 1989). Nehodí se také pro měření, která se zabývají krátkodobými výkyvy v intenzitě fotosyntézy. Jsou vhodné pro dlouhodobá měření, při nichž jde jen o výslednou hodnotu spotřeby  $\text{CO}_2$  v delším časovém úseku (Šesták & Čatský 1966).

Otevřené systémy jsou založeny na měření rozdílů koncentrací  $\text{CO}_2$  ve vzduchu vstupujícího do komory s fotosyntetizujícím listem a ve vzduchu vystupujícího z komory. V praxi to vypadá tak, že se porovnává koncentrace  $\text{CO}_2$  ve vzduchu vycházejícího z asimilační komory se vzduchem referenčním, který komorou neprochází (Field et al. 1989). Vzduch z asimilační komory se již do oběhu nevrací (Šesták & Čatský 1966). Vzduch procházející komorou bude ochuzován o  $\text{CO}_2$  a obohacován o vodní páru. Pokud budou rychlosti transpirace, fotosyntézy a vzduchu procházejícího komorou konstantní, podmínky v komoře dosáhnou rovnovážného stavu.

Zařízení, která měří fotosyntézu na bázi této rovnováhy poklesu CO<sub>2</sub>, se nazývají diferenční systémy. V podmínkách, kde je pokles CO<sub>2</sub> nežádoucí, se používají kompenzační systémy. Jsou vhodné pro přístroje, ve kterých by malá rychlost proudu způsobovala obrovský pokles CO<sub>2</sub>. Kompenzační systémy také pracují s rovnováhou. CO<sub>2</sub> spotřebovaný fotosyntézou je nahrazen dodáváním CO<sub>2</sub> do komory. Pokud je rychlost přidávání CO<sub>2</sub> stejná jako koncentrace CO<sub>2</sub> ve vzduchu vstupujícím do a vystupujícím z komory, pak je rychlost fotosyntézy stejná jako rychlost přidávání CO<sub>2</sub> do systému (Field et al. 1989). Otevřené systémy jsou vhodné pro měření jednotlivých listů a částí rostlin. Umožňují s velkou přesností průběžné zaznamenávání malých náhlých změn v rychlostech fotosyntézy (Šesták et al. 1971). Také umožňují nastavení a regulaci vnějších podmínek fotosyntézy, jako jsou například koncentrace CO<sub>2</sub>, O<sub>2</sub>, vodní páry, teplota a osvětlení. Na druhou stranu vyžadují další komponenty, jako měřič proudu, další analyzátor apod. Jsou tedy větší, dražší a těžší než uzavřené systémy. Nejsou tedy příliš vhodné do terénu (Field et al. 1989).

Posledním typem gazometrické aparatury je izotopový systém. Izotopové systémy mohou být uzavřené nebo otevřené. Využívají radioaktivního uhlíku <sup>14</sup>C, který je obsažen ve vzduchu proudícím do komory. Rychlost fotosyntézy je určena buď z radioaktivního uhlíku zabudovaného do pletiva, nebo z poklesu radioaktivity ve vzduchu v komoře. Izotopové systémy nepotřebují žádné speciální měřiče proudu, proto mohou být použity pro konstrukci přenosných aparatur (Šesták & Čatský 1966; Field et al. 1981). Mezi nevýhody těchto systémů patří to, že většinou vyžadují destruktivní metody při měření fotosyntézy, neposkytují okamžité výsledky v terénu a neumožňují současné měření výměny CO<sub>2</sub> a vodní páry. Vyžadují také složitější laboratorní analýzy (Field et al. 1989).





Obr. 1.7: Schématické znázornění principu uzavřených a otevřených gazometrických aparatur. Diferenční systém vyhodnocuje fotosyntézu na základě spotřeby  $\text{CO}_2$  listem. Kompenzační systém kompenzuje úbytek  $\text{CO}_2$  v komoře vstříknutím  $\text{CO}_2$  do komory, takže vzduch vstupující do komory má stejnou koncentraci  $\text{CO}_2$  jako vzduch z komory vystupující (Field et al. 1989, upraveno).

#### 1.7.4 Součásti gazometrických systémů

Komponent, ze kterých se skládají gazometrické aparatury, může být podle složitosti přístroje různé množství. Mezi hlavní složky patří asimilační komora, analyzátor  $\text{CO}_2$ , vedení vzduchu, klimatizační systém a u otevřených systémů měřič rychlosti průtoku (Šesták et al. 1971).

##### Asimilační komora (gas-exchange chamber)

Asimilační komora je komora, ve které je uzavřena rostlina nebo její část a která usnadňuje měření výměny plynů (Šesták & Čatský 1971). Rozhodující pro funkčnost celé aparatury jsou stavba, aerodynamika a použitý materiál asimilační komory. Musí být zajištěna kontrola a přesné nastavení prostředí v komoře, dokonalé promíchávání vzduchu, vysoká vodivost povrchové vrstvy listu a utěsnění (Field et al. 1989).

Nejdůležitější podmínky, které ovlivňují fotosyntézu, jsou teplota, světlo, vlhkost a koncentrace CO<sub>2</sub> (Šesták & Čatský 1966).

Teplota ovlivňuje hlavně rychlosti transpirace a biochemických procesů fotosyntézy (Šesták et al. 1971). Při ozáření asimilační komory s listem do komory dopadá nejen viditelné záření, ale také tepelné a infračervené záření. Velkou část tepelného záření pohlcuje voda, což způsobuje velmi silné zahřívání ozářeného listu. (Šesták & Čatský 1966). Regulace teploty může být pasivní, založená na přirozené výměně energie, nebo aktivní pomocí různých chladičů nebo ohřivačů. V laboratorních aparaturách se většinou jako termoregulační systém používá cirkulující voda (Field et al. 1989).

Zdrojem světelného záření může být sluneční záření nebo umělé světlo. Pro venkovní pokusy je výborným světelným zdrojem sluneční záření. Je však nepředvídatelné. Během dne se jeho intenzita mění a slunce může být zastíněno mraky nebo jinými objekty (Field et al. 1989). Při umělém osvětlení se musí dbát na to, aby byl list v komoře stejnoměrně ozářen (Šesták & Čatský 1966).

Dalším vnitřním faktorem fotosyntézy je stupeň nasycení asimilujícího objektu vodou. Zásobením rostliny vodou je určováno jeho vodní bilancí, tj. poměrem mezi příjmem a výdejem vody. Vodní bilance se po uzavření listu do asimilační komory velmi rychle mění. Transpiraci ovlivňuje teplotní gradient mezi listem a okolní atmosférou a relativní vlhkost okolního vzduchu (Šesták & Čatský 1966). Regulace vlhkosti v komoře je možná vysoušením vzduchu před vstupem do komory nebo jeho zvlhčováním na známý rosný bod a zároveň odstraňováním vody vyloučené při transpiraci (Šesták et al. 1971; Field et al. 1989).

CO<sub>2</sub> je pro fotosyntézu nezbytný. Je proto důležité kontrolovat koncentraci CO<sub>2</sub> vstupujícího do komory (Šesták & Čatský 1966). Nejjednodušší způsob regulace množství CO<sub>2</sub> ve vzduchu je plnění komory vzduchem z nádrže o známé koncentraci CO<sub>2</sub>. Pokud potřebujeme měřit při více koncentracích CO<sub>2</sub>, je třeba používat systém, který namíchává určitou koncentraci CO<sub>2</sub> (Field et al. 1989).

Faktorem ovlivňujícím difúzi CO<sub>2</sub> do listu je povrchová vrstva listu. Vodivost povrchové vrstvy je v bezvětří malá a s rychlostí větru stoupá. Zajištění velké vodivosti povrchové vrstvy v gazometrických aparaturách je důležité kvůli efektivnímu promíchávání obsahu komory a lepší difúzi CO<sub>2</sub> do listu (Field et al. 1989).

Těsnění komory má za úkol zabránit průniku plynů dovnitř i ven. Pro uzavřené systémy je nezbytné zamezit úniku vzduchu ven z komory a průniku okolního vzduchu

dovnitř, protože výpočty jsou založené na předpokladu, že fotosyntéza a transpirace listu probíhá v podmínkách se stálým objemem vzduchu. Pro otevřené systémy je těsnění méně důležité. Pracují totiž s mírným přetlakem, takže plyn může částečně unikát do okolí, což ale nemění jeho skladbu měřenou senzory umístěnými po směru průtoku (Field et al. 1989)

### Analyzátor CO<sub>2</sub>

Uzavřené i otevřené fotosyntetické systémy jsou založeny na měření změny v koncentraci CO<sub>2</sub> ve vzduchu. Na vyhodnocení změny se používají analyzátory CO<sub>2</sub>. Nejčastěji se používá nedisperzní infračervený plynový analyzátor (NDIR = nondispersive infrared gas analyzer), nazývaný též infračervený plynový analyzátor (IRGA) (Field et al. 1989).

Princip IRGA je založen na absorpci záření v infračervené oblasti spektra molekulami CO<sub>2</sub> (Šesták & Čatský 1966; Šesták et al. 1971; Field et al. 1989). IRGA se skládá ze tří částí: zdroje infračerveného (IR) záření, plynové komory a detektoru. Zdroj záření je nejčastěji spirála ze slitiny niklu a chromu zahřátá na 600-800°C (Šesták & Čatský 1966; Field et al. 1989). Ta vysílá paprsky referenční komorou, naplněnou plynem, který neabsorbuje IR záření, a současně také plynovou komorou obsahující vzduch z asimilační komory, který zkoumáme. CO<sub>2</sub> obsažený ve vzduchu z asimilační komory absorbuje určité množství záření, které odpovídá jeho koncentraci. Detektor vyhodnocuje rozdíly energie zachycené referenční komorou, která je téměř konstantní, a komorou obsahující vzduch z asimilační komory, která se mění podle koncentrace měřeného plynu (Šesták & Čatský 1966; Šesták et al 1971).

### Měřič rychlosti průtoku (flow meter)

V otevřených aparaturách je nezbytné změřit rychlost průtoku. Na základě různých fyzikálních jevů se používají tři typy měřičů průtoku: mechanického vlivu jako rychlosti rotace rotoru umístěného v proudu (variable-area flow meters), změny tlaku (differential-pressure flow meters) a rychlosti převodu tepla z topného tělesa v proudu vzduchu (mass flow meters) (Field et al. 1989).

### Vedení vzduchu

Tento systém vede vzduch skrz různé klimatizační systémy do asimilační komory a z ní do analyzátoru CO<sub>2</sub> a vlhkosti (Šesták et al. 1971).

## Klimatizační systém

Vzduch vstupující do asimilační komory musí být před vstupem do komory upraven na určitou známou teplotu, vlhkost, obsah CO<sub>2</sub> a někdy i O<sub>2</sub> (Šesták et al. 1971).

## 2. METODIKA

### 2.1 STUDOVANÝ DRUH

*Allium oleraceum* L., česnek planý, patří do sekce *Conodoprasum* Reichenb., rodu *Allium*, čeledi *Alliaceae* (Duchoslav 2000).

*A. oleraceum* patří mezi geofyty, tj. vytrvalé byliny s obnovovacími pupeny pod povrchem půdy (Raunkier 1934). Obnovovacím pupenem je cibule obalená blanitou šupinou. Lodyha generativních jedinců může dosahovat výšky až 100 cm a je do poloviny své délky zakrytá pochvami listů. Vytváří 1-4 listy, které jsou ploché až polooblé, dole trubkovité, nahoře žlábkovité a na rubu žebernaté, široké 0,5-4 mm a dlouhé až 30 cm (Krahulec & Duchoslav *in press*). Vegetativní rostliny na konci vegetační sezóny nahrazují starou cibuli novou terminální cibulí. U generativních jedinců je stará cibule nahrazována hlavní výhonkovou cibulí. Rostliny mohou produkovat dceřiné cibule (Duchoslav 2000). Květenstvím na konci stvolu je lichookolík s několika (0-30) oboupohlavnými proterandrickými květy a mnoha (10-60) pacibulkami (Duchoslav et al. 2010; Šafářová & Duchoslav 2010). Toulec je rozdělený na dva nestejně dlouhé listeny a v době květu je zachován (Duchoslav 2000).

Rostliny mají dvě dormantní období – zimu a pozdní léto. V časných jarních měsících (březen, duben) vykazují exponenciální růst, během května se tento růst zpomaluje a později stagnuje. Během srpna dosáhnou generativní rostliny poslední fáze vývoje a nastává období letní dormance (Duchoslav 2009).

*A. oleraceum* je rozšířen v různých prostředích západní, střední a východní Evropy a jižní části Skandinávie a v severní části Mediteránu od severu Španělska přes Itálii a Chorvatsko do Bulharska (Duchoslav 2001). Jsou známy čtyři cytotypy ( $2n = 3x = 24$ ,  $2n = 4x = 32$ ,  $2n = 5x = 40$ ,  $2n = 6x = 48$ ), přičemž v České republice se triploidní populace nevyskytují (Šafářová & Duchoslav 2010). Jednotlivé cytotypy se mezi sebou liší velikostí genomu. 2C hodnoty se s ploidií zvyšují, 1C hodnoty se snižují. Velikost

2C genomu pro tetraploidy, pentaploidy a hexaploidy byla  $59,33 \pm 2,41$ ,  $63,44 \pm 1,66$  a  $72,2 \pm 0,94$  pg (je uveden průměr  $\pm$  standardní odchylka). Zmenšování genomu mezi ploidiemi dosahovalo 3 % mezi 4x a 5x a 5,2 % mezi 5x a 6x (Šafářová & Duchoslav *in prep.*). Z hlediska geografického rozšíření v České republice se nejčastěji vyskytuje pentaploidní cytotyp a nejméně rozšířený je tetraploidní cytotyp. Jednotlivé cytotypy se vyskytují jak v uniformních populacích zahrnujících pouze jeden cytotyp, tak i v menší míře ve smíšených populacích. Mezi cytotypy byla zjištěna tendence k preferenci různých typů stanovišť (viz kap. 1). Největší rozdíly byly nalezeny mezi tetraploidy a hexaploidy. Tetraploidi a pentaploidi se vyskytují na půdách s větším obsahem dusíku a vápníku a s menší četností než hexaploidi obsazují kyselé půdy. Pentaploidní a hexaploidní rostliny se narozdíl od tetraploidů vyskytují na půdách s větším obsahem fosforu (Duchoslav et al. 2010).

## 2.2 VÝBĚR ROSTLINNÉHO MATERIÁLU

K měření byly vybrány rostliny z kolekce sesbírané za účelem kvantitativní cytotypové analýzy rodu *Allium* na celém území ČR (Šafářová 2004) tak, že od každé ploidie (tetra- a hexaploidní) bylo vybráno přibližně šest rostlin, každá z jiné populace. Výběr byl prováděn stratifikovaně tak, aby v souboru byly zastoupeny jedinci z populací z různých biotopů (viz výše a tab. 2.1). Výsledný výběr byl dále ovlivněn dostupností zdravých jedinců v dané sezóně.

Relativně nižší počet studovaných jedinců byl zvolen na základě předběžného experimentu v r. 2008, kdy se ukázalo, že časová náročnost měření limituje proměření většího vzorku rostlin (mj. k postižení vnitropopulační variability). Analyzované rostliny jsou přehledně uspořádány v tab. 2.1.

Tab. 2.1: Měřené rostliny, jejich původ a ploidní stupeň. Světlo je vyjádřeno ve vizuálním odhadu procenta slunečního světla dopadajícího na zem během pozdního jara. Přirozenost stanoviště: 0 – vegetace silně ovlivněná člověkem, 1 – přirozená a polopřirozená vegetace (Duchoslav et al. 2010).

Označení rostliny při měření	Kód rostliny	Stupeň ploidie	Lokalita	Stanoviště	Světlo (%)	Přirozenost stanoviště
rok 2009						
4x1	K8A/9	4x	Žehuň	les	0-50	1
4x2	MI2/13	4x	Milovice	les	0-50	1
4x3	SL4x/3	4x	Slatinice	akátina	0-50	0
4x4	ŠN5	4x	Široká Niva	louka	100	0
4x5	P/LU6x	4x	Ludmírov	step	100	1
4x6	P/SY19	4x	Syrovín	louka	50	0
5x1	P/BO26	5x	Bošovice	akátina, step, louka	50, 100, 100	0
5x2	PRIB5x/4	5x	Přibylov	step	100	0
5x3	SM5x/4	5x	Smrk u Třebíče	akátina, mez	50	0
5x4	KV19	5x	Květná	step	100	0
5x5	T2/6	5x	Třebušín u Úštěka	les	50	1
5x6	K14A/7	5x	Žehuň	les	0-50	1
6x1	DA6x/4	6x	Darkovičky	mez	50-100, 100	0
6x2	POT5/10	6x	Potštát	mez	100	0
6x3	SL6x/3	6x	Slatinice	akátina	0-50	0
6x4	D16B/1	6x	Dvěrce	step	100	0
6x5	PL11A/13	6x	Plasná	mez	50	0
6x6	R2C/12	6x	Radčice	akátina	0-50	0
rok 2010						
4x1	P/ŠN9	4x	Široká Niva	louka	100	0
4x2	K8A/4	4x	Žehuň	les	0-50	1
4x3	08-P/VE11 A+B	4x	Venušina sopka	mez	100	0
4x4	P/LU20	4x	Ludmírov	step	100	1
4x5	MI6/17	4x	Milovice	les	0-50	1
4x6	SYR16/15	4x	Syrovín	louka	50	0
5x1	MAL1/16	5x	Malhotky	step, křoviny	50-100	0
5x2	KV23	5x	Květná	step	100	0
5x3	T2/6	5x	Třebušín u Úštěka	les	50	1
5x4	P/PR25	5x	Přibylov	step	100	0
5x5	K12/21	5x	Žehuň	les	0-50	1
5x6	SM2	5x	Smrk u Třebíče	akátina, mez	50	0
5x7	SM1	5x	Smrk u Třebíče	akátina, mez	50	0
6x1	DA6x/5	6x	Darkovičky	mez	50-100, 100	0
6x2	R2C/13	6x	Radčice	akátina	0-50	0
6x3	POT5/11	6x	Potštát	mez	100	0
6x4	P/NH25 A+B 09	6x	Nová Hradečná	mez	100	0
6x5	D18B/21	6x	Dvěrce	step	100	0
6x6	SL6x/3	6x	Slatinice	akátina	0-50	0

## 2.3 PROVÁDĚNÁ MĚŘENÍ

### 2.3.1 Měření saturačních a světelných křivek

Rostliny byly pěstovány několik let za standardních podmínek na venkovním pozemku katedry botaniky PřF UP v areálu Holice.

Přibližně čtyři týdny před vlastním měřením jsem náhodně vybrala 33-36 plně vzrostlých, nepoškozených rostlin z každé ploidie, přesadila je jednotlivě do standardizovaných květináčů (rozměr 8x8x8 cm) a ponechala na pozemku. 12 dní před vlastním měřením byly rostliny přemístěny do fytokomory na katedru experimentální fyziky PřF UP. Zde byly pěstovány v denním režimu se 14 hodinami světla (den) (6:30-20:30), 9 hodinami tmy (noc) (21:00-6:00) a 1 hodinou zhasínání nebo rozsvěcení (6:00-6:30, 20:30-21:00) a každý den zalévány. Ve dne byla teplota nastavena na 20°C, vlhkost na 48 % a světlo z fluorescenčních zářivek na 100  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$ . V noci byla teplota nastavena na 12°C a vlhkost na 60 %.

Na rostlinách byly měřeny parametry fotosyntézy a hustota průduchů a v roce 2010 také specifická listová plocha (SLA).

Měření fotosyntézy bylo prováděno na otevřené gazometrické aparatuře Li-COR Li-6400 Portable Photosynthesis System (příloha 1) ve dvou termínech: 20. – 28. 4. 2009 a 26. 4. – 6. 5. 2010. Každý den se měřily 4 rostliny různé ploidie, vždy v různém pořadí tak, aby nedošlo ke zkreslení výsledků důsledkem rozdílné fotosyntetické aktivity rostlin během dne.

Celé měření probíhalo v zatemněné místnosti při zeleném, fotosynteticky neaktivním světle. Do asimilační komory přístroje jsem vložila dva až tři plně vyvinuté listy vedle sebe naplocho a nechala je asi 15 minut stabilizovat. Nejprve jsem pět minut měřila temnostní respiraci. Po zapnutí světla ( $600 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$ ) jsem měřila 65 minut saturační křivku a poté světelnou křivku. Před zapnutím světla a začátkem měření saturační křivky a při každém osvětlení při měření světelné křivky jsem nechala vyrovnat koncentraci  $\text{CO}_2$  v referenčním a vzorkovém vzduchu (match). Před změřením rychlosti fotosyntézy u světelné křivky se u každého osvětlení rostlina nechala asi 3 minuty přizpůsobit osvětlení (Anonymus 2005).

Koncentrace  $\text{CO}_2$  ve vzduchu v asimilační komoře byla nastavena na 380  $\mu\text{mol}(\text{CO}_2)\text{mol}^{-1}$  (vzduchu), relativní vlhkost vzduchu na 50 % a teplota chladiče na 19°C. V roce 2009 byla z důvodu malé vlhkosti v přístroji poslední dva dny místo relativní vlhkosti vzduchu nastavena fixní rychlost průtoku 200  $\mu\text{mol}\cdot\text{s}^{-1}$ . V roce 2010 byla saturační křivka v posledních dvou dnech měřena několik minut při fixní rychlosti proudu 300  $\mu\text{mol}\cdot\text{s}^{-1}$  z důvodu velké rozkolísanosti vlhkosti a rychlosti proudu. Osvětlení při měření saturační křivky bylo nastaveno na 600  $\mu\text{mol}(\text{fotonů})\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ , světelná křivka se měřila při osvětlení 2000, 1500, 1200, 900, 600, 400, 200, 100, 50 a 0

$\mu\text{mol (fotonů) m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ . U respirace ve tmě a saturačních křivek se parametry měřily každých 30 s, u světelné křivky při každém stupni ozáření.

Při všech měřeních se zjišťovaly hodnoty těchto parametrů (přehled viz kap. 1.4): rychlost fotosyntézy, rychlost transpirace, stomatální vodivost, intercelulární koncentrace  $\text{CO}_2$ , teplota chladiče, vzduchu v asimilační komoře a listu, koncentrace  $\text{CO}_2$  a relativní obsah vody ve vzorkovém a referenčním vzduchu a rychlost toku proudícího do asimilační komory.

Naměřená data z přístroje LI-COR jsem stáhla pomocí programu LI-6400 File Exchange 2.04 do počítače. Pomocí programu LI-6400 Simulator 5.3 jsem převedla křivky na plochu listů vypočítanou programem Černota a otevřela je v MS Excelu.

### 2.3.2 Konstrukce křivek

Vyhodnocení dat jsem prováděla v programu OriginPro 7.5 SR0. Pro každý měřený parametr všech rostlin všech ploidií kromě teploty a relativního obsahu vody, které sloužily jako kontrolní parametry, jsem zkonstruovala světelnou a saturační křivku. Zhotovené saturační i světelné křivky jsem rozdělila do grafů podle stupně ploidie a podle přirozenosti a světelných podmínek stanoviště. Z hodnot naměřených při saturaci jsem zkonstruovala krabičkové diagramy. U temnostní respirace jsem vytvářela krabičkové diagramy z průměrů posledních 9 hodnot každého měření fotosyntézy, u závislosti rychlosti fotosyntézy, transpirace, koncentrace intercelulárního  $\text{CO}_2$  a stomatální vodivosti na čase jsem vyhodnocovala krabičkové diagramy z průměrů posledních 5 nebo, v případě prvního dne měření v roce 2009, kdy se měřilo o 5 minut déle, 15 hodnot měření pro rostliny stejné ploidie, kdy už rostliny byly v saturaci. U světelných křivek jsem do grafu vynesla průměry všech naměřených hodnot stejné ploidie při stejném osvětlení.

### 2.3.3 Fitování křivek

U světelné křivky (závislost rychlosti fotosyntézy na intenzitě osvětlení) jsem v MS Excelu vypočítala parametry křivky z křivky konvexity  $\theta A^2 - (\Phi I + A_{\max})A + \Phi I A_{\max} = 0$ : maximální kvantový výtěžek ( $\Phi$ ), maximální rychlost fotosyntézy ( $P_{\max}$ ) a index konvexity ( $\theta$ ) pomocí metody nejmenších čtverců (Terashima & Takenaka 1986). Zadávala jsem ručně experimentální (naměřená) data pro každou rostlinu do programu a



poté jsem upravovala hodnoty jednotlivých parametrů křivky tak, aby se experimentální křivka co nejvíce podobala teoretické křivce (příloha 2).

#### 2.3.4 Měření listové plochy

Po změření světelné křivky jsem plochu listů uzavřených v komůrce obkreslila fixem na průhlednou fólii. Tu jsem pak naskenovala do počítače, upravila v programu Zoner Photo Studio 10 a plochu jednotlivých listů spočítala pomocí programu Černota.

#### 2.3.5 Výpočet hustoty průduchů

Z měřených částí listů každé rostliny jsem zhotovila pomocí bezbarvého laku a izolepy otiskové preparáty svrchní i spodní části listu. Z každé strany listu jsem vyfotila 3 náhodně vybrané části listu při zvětšení 10x pomocí kamery pomocí kamery Olympus DP70 v programu DP Controller (příloha 3, 4). Pokud byl list moc úzký a nemohla jsem vyfotit 3 plochy listu, které by zabíraly celý viditelnou plochu pod mikroskopem, vyfotila jsem 5 ploch při zvětšení 20x. Plochu listu jsem spočítala v programu cellSens. Na získaných snímcích jsem spočítala počet průduchů. Získané počty průduchů pro jednotlivé listy jsem sečetla a vydělila je celkovou plochou.

#### 2.3.6 Výpočet specifické listové plochy (SLA)

Po obkreslení a vypočítání listové plochy měřených rostlin jsem měřené části listů rostlin ustříhla a vložila do papírových sáčků. Ty jsem dala 22 hodin sušit při 60°C a dvě hodiny při 85°C. Vysušené části listů jsem zvažila na digitální váze a z poměru plochy a hmotnosti sušiny jsem vypočítala specifickou listovou plochu.

#### 2.3.7 Statistické zpracování

Pro analýzu saturačních křivek jsem použila soubory s průměry posledních 9 hodnot závislosti rychlosti fotosyntézy na čase pro respiraci a z posledních 5-15 hodnot závislosti rychlosti fotosyntézy, transpirace, koncentrace intercelulárního CO<sub>2</sub> a stomatální vodivosti na čase pro saturační křivky, které jsem měla rozdělené do tří skupin podle stupně ploidie. K testování vlivu ploidie na průměrné hodnoty fotosyntetických parametrů v saturaci jsem použila dvoucestnou ANOVu se znáhodněnými bloky (Quinn & Keough 2002). Pro zvýšení síly testu jsem použila

společně data z let 2009 a 2010. Protože podmínky měření a počasí nebyly stejné v obou letech, roky vstupovaly do modelu jako faktor s náhodným efektem (blok) a ploidy jako faktor s pevným efektem. Interakce se netestovala. Po signifikantním výsledku F testu pro faktor ploidy byly rozdíly mezi cytotypy testovány pomocí Bonferroniho testu mnohonásobných porovnáání. Protože předběžné analýzy ukazovaly přes vysokou variabilitu tendenci k odlišnějšímu chování hexaploidů a zbývajících cytotypů (viz kap. 3), použila jsem dále analýzu kontrastů (Quinn & Keough 2002), kdy jsem vždy testovala rozdíly mezi dvěma skupinami, z nichž jedna reprezentovala soubor měření dvou cytotypů a druhá měření na zbývajícím cytotypu (mj.  $4x + 5x$  vs.  $6x$ ,  $4x + 6x$  vs.  $5x$ ,  $5x + 6x$  vs.  $4x$ ). Testy byly provedeny v programu Statistica 9 (Statsoft Inc.).

Pro testování vlivu stanoviště na parametry fotosyntézy jsem použila jednocestnou ANOVu v programu Origin Pro 7.5 pro každý rok zvlášť. U přirozenosti stanoviště jsem porovnávala průměry posledních 9 hodnot saturačních křivek a parametry světelné křivky (zjevný kvantový výtěžek, maximální rychlost fotosyntézy, index konvexity a kompenzační bod), které jsem rozdělila do dvou skupin – rostliny z přirozených stanovišť (hodnota 1) a antropicky ovlivněných stanovišť (hodnota 0). U světelných podmínek stanoviště jsem porovnávala hodnoty parametrů rostlin rozdělených do tří skupin – stanoviště ve stínu (0-50 % světelného záření), v polostínu (50 % světelného záření) a stanoviště na světle (50-100 %) (viz tab. 2.1).

Pro vyhodnocení světelných křivek jsem použila soubor z fitování křivek s jednotlivými parametry (zjevný kvantový výtěžek, maximální rychlost fotosyntézy, index konvexity a kompenzační bod) rozdělenými podle ploidy. Vliv ploidy na sledované parametry jsem testovala pomocí dvoucestné ANOVy se znáhodněnými bloky v programu Statistica 9 (Statsoft Inc.) (Quinn & Keough, 2002). Jako faktor s náhodným efektem vystupovaly roky a jako faktor s pevným efektem ploidy. Interakce se netestovala. Pokud byl F test pro faktor ploidy signifikantní, testovaly se rozdíly mezi cytotypy Bonferroniho testem mnohonásobných porovnáání. Dále jsem použila analýzu kontrastů (Quinn & Keough 2002) pro testování rozdílů mezi dvěma skupinami, z nichž jedna představovala soubor dvou cytotypů, druhá zbývající cytotyp. Testy byly provedeny v programu Statistica 9 (Statsoft Inc.).

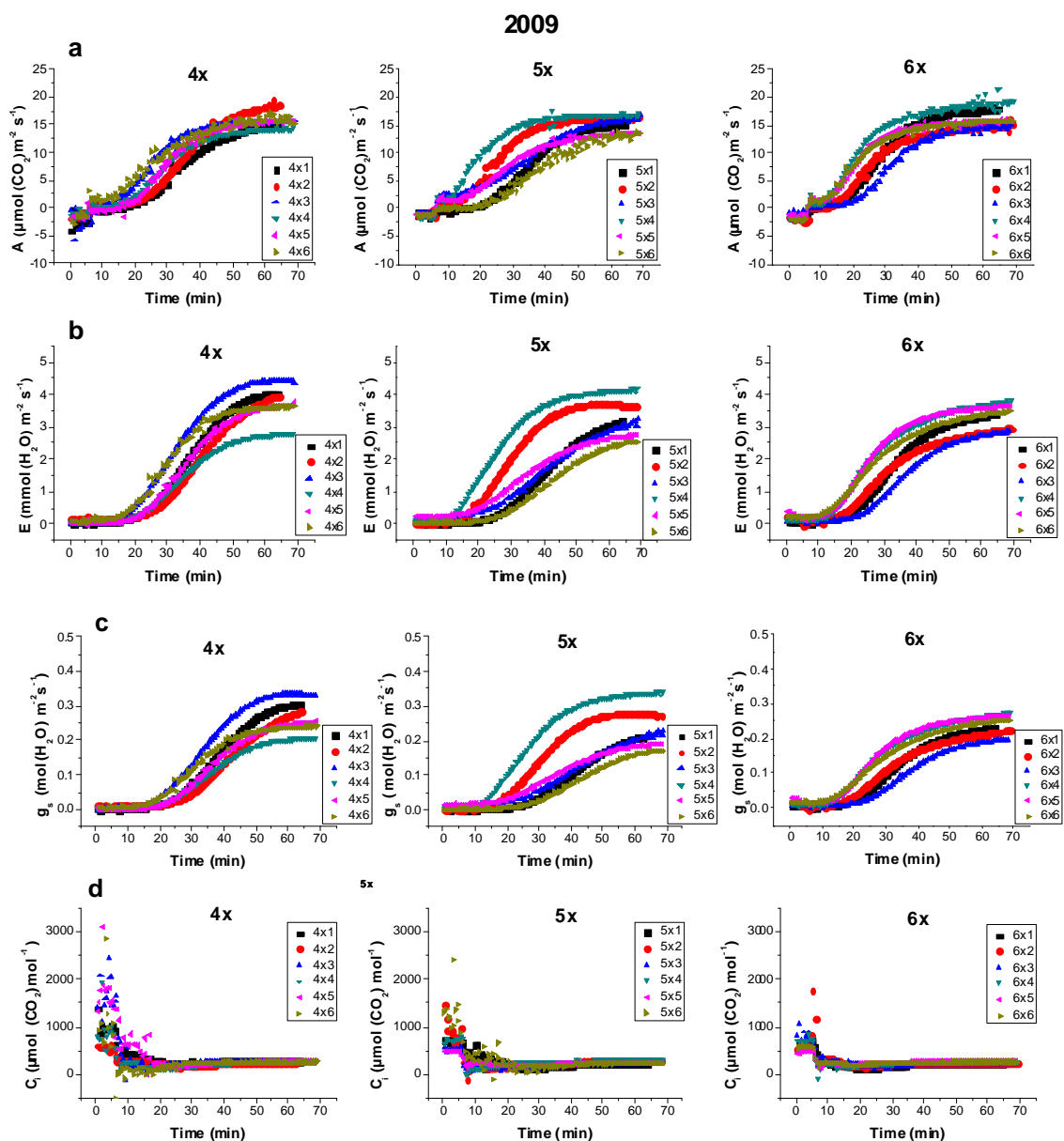
Pro porovnáání vztahu hustoty stomat a pozici stomat na listu (spodní x svrchní strana) jsem použila GLM ANOVu v programu NCSS 2001. Ploidy a pozice byly faktory s pevným efektem, jedinec byl faktor s náhodným efektem podřazený ploidy.

Pro porovnání průměrných hodnot SLA u jednotlivých cytotypů jsem použila jednocestnou ANOVu v programu Origin Pro 7.5, kdy faktor s pevným efektem byla ploidie.

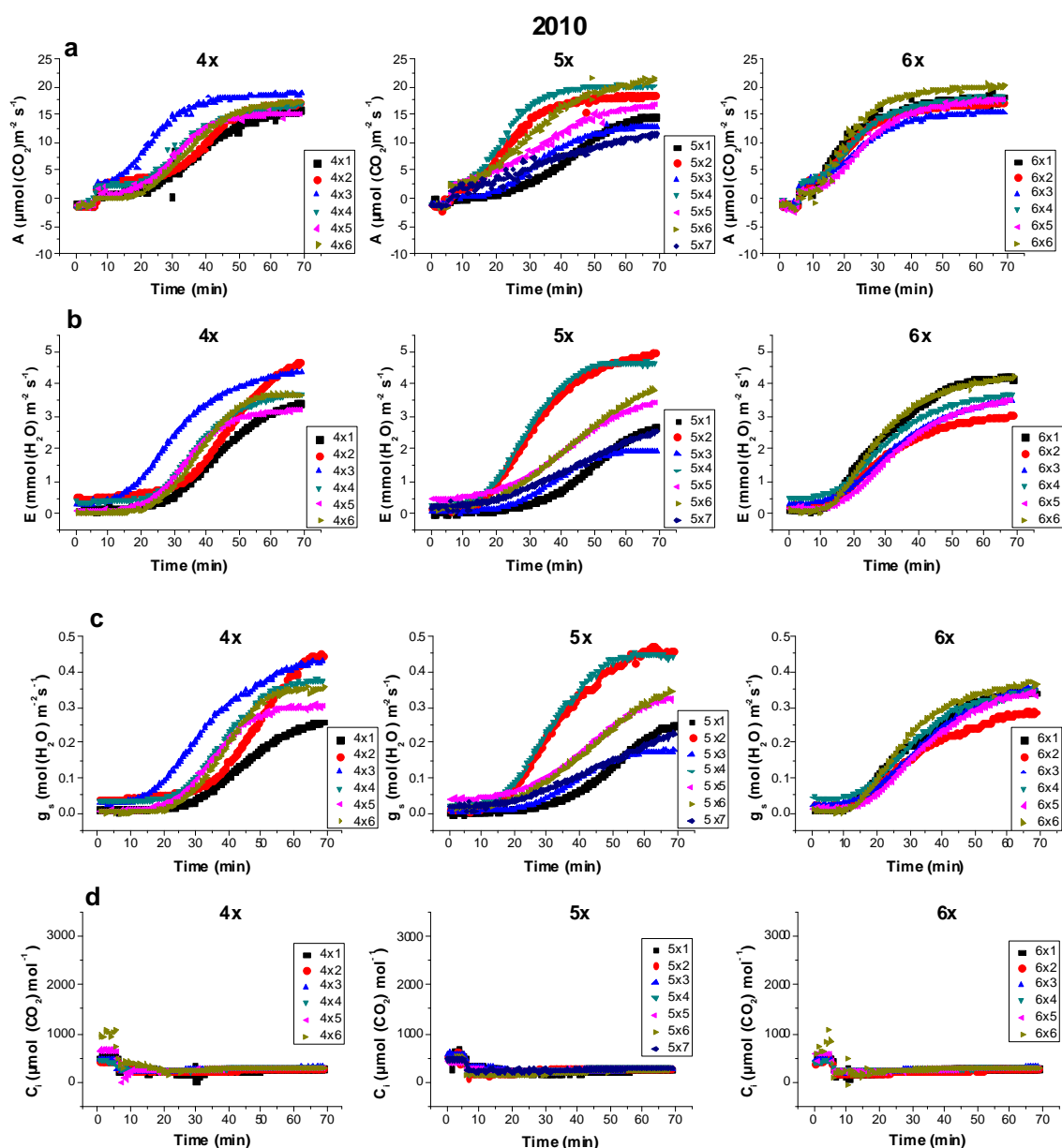
### 3. VÝSLEDKY

#### 3.1 SATURAČNÍ KŘIVKY

Nejvíce homogenní průběhy saturačních křivek v obou rocích vykazovaly hexaploidní populace (obr. 3.1, 3.2). Nejvíce variabilní průběhy saturačních křivek byly zjištěny u pentaploidních rostlin (obr. 3.1, 3.2). Nejvyšších hodnot všech parametrů u pentaploidů v obou rocích dosahovaly rostliny z Květné a Příbylova. V roce 2010 se rostliny 5x6 a 5x7, pocházející z populace Smrku, nedostaly za dobu měření do saturace (obr. 3.2).



Obr. 3.1: Saturační křivky jednotlivých plodných stupňů v r. 2009. a – závislost rychlosti fotosyntézy na čase, b – závislost rychlosti transpirace na čase, c – závislost stomatální vodivosti na čase, d – závislost intercelulární koncentrace  $\text{CO}_2$  na čase. Parametry nastavení přístroje viz kap 2.3.

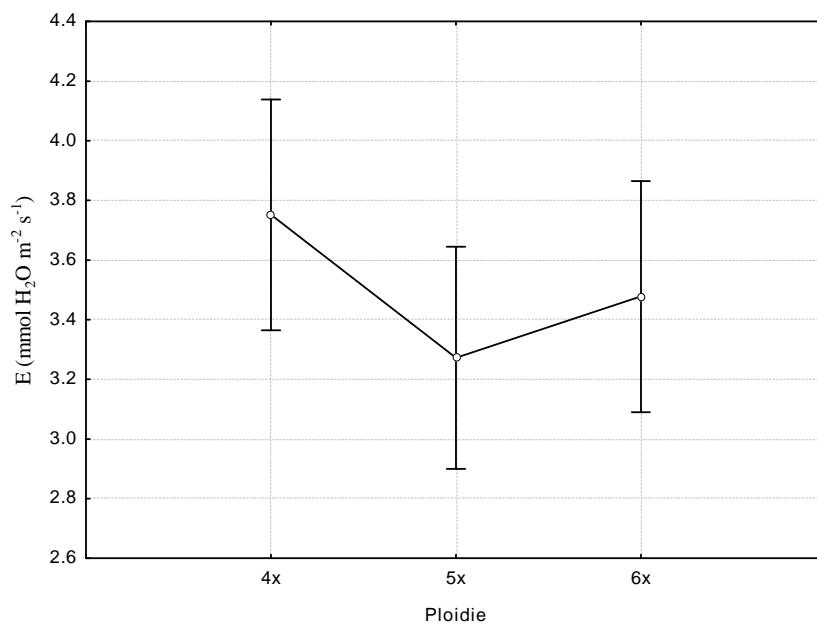
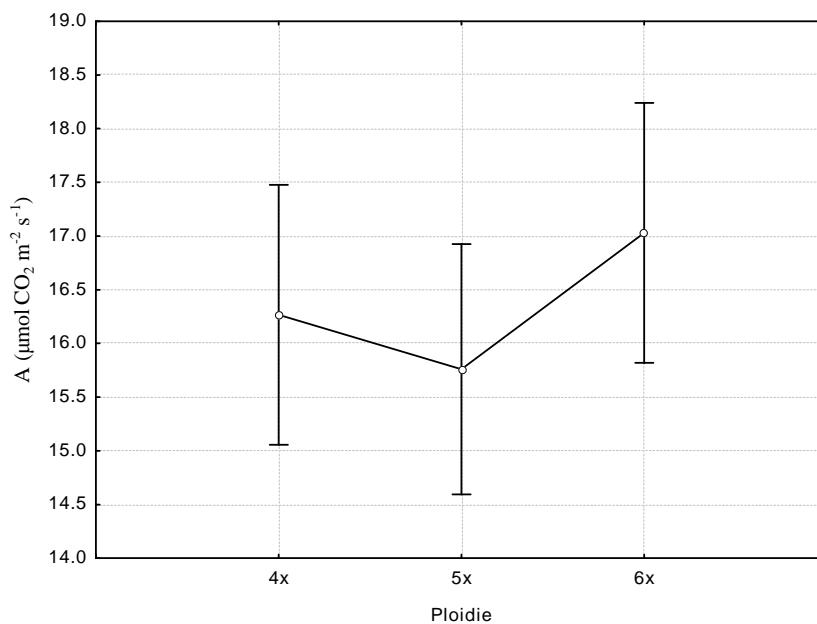


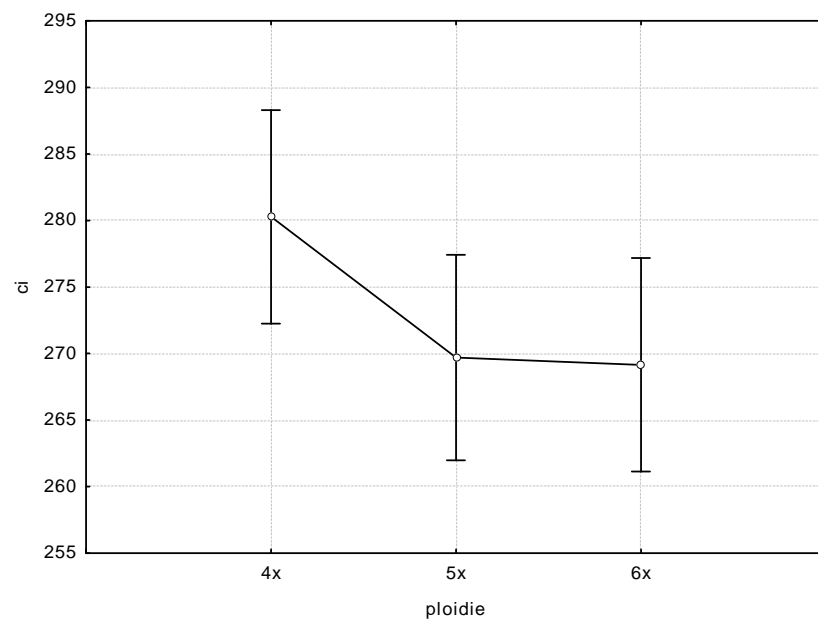
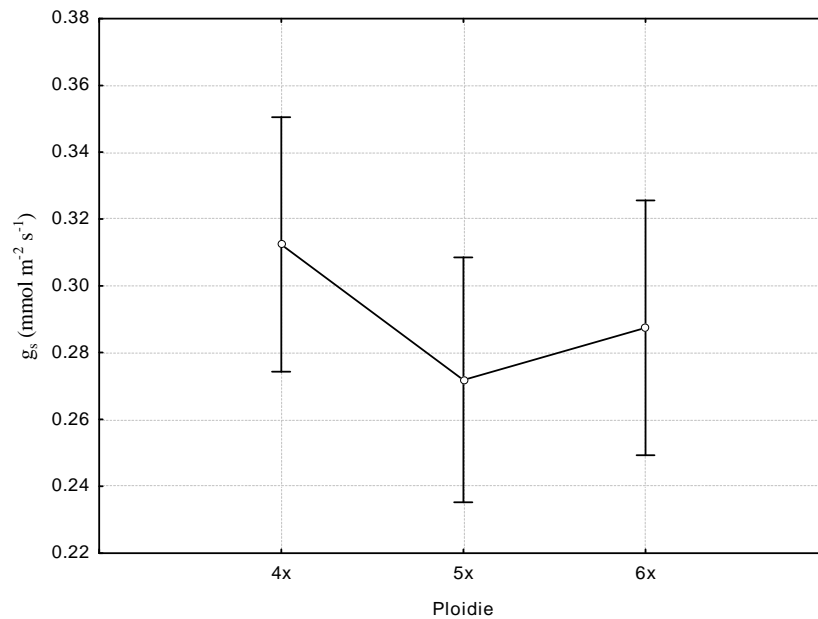
Obr. 3.2: Saturační křivky jednotlivých ploidních stupňů v roce 2010. a – závislost rychlosti fotosyntézy na čase, b – závislost rychlosti transpirace na čase, c – závislost stomatální vodivosti na čase, d – závislost intercelulární koncentrace  $\text{CO}_2$  na čase. Parametry nastavení přístroje viz kap. 2.3.

Variabilita průměrů posledních hodnot rychlosti fotosyntézy a transpirace saturačních křivek, tedy části, kdy už byly rostliny v saturaci, se v obou rocích signifikantně nelišila (ANOVA,  $F = 2,746$ ,  $P = 0,107$  resp. ANOVA,  $F = 0,584$ ,  $P = 0,45$ ). Variabilita průměrů stomatální vodivosti a intercelulární koncentrace  $\text{CO}_2$  se mezi roky lišila (ANOVA;  $F = 17,168$ ,  $P < 0,001$  resp. ANOVA,  $F = 186,58$ ,  $P < 0,001$ ).

Průměrná rychlost fotosyntézy se mezi ploidemi signifikantně nelišila (ANOVA,  $F = 1,192$ ,  $P = 0,107$ ; obr. 3.3). Rozdíly v průměrných rychlostech transpirace mezi

ploidie nebyly signifikantní (ANOVA,  $F = 1,653$ ,  $P = 0,207$ ; obr. 3.3). Průměrná stomatální vodivost se mezi ploidie signifikantně nelišila (ANOVA,  $F = 1,23$ ,  $P = 0,305$ ; obr. 3.3). Průměrná intercelulární koncentrace  $\text{CO}_2$  se mezi ploidie v Bonferroniho mnohonásobném porovnání signifikantně nelišila (ANOVA,  $F = 2,558$ ,  $P = 0,093$ ; obr. 3.3), ale analýza kontrastů zjistila signifikantní rozdíly mezi tetraploidy a vyššími ploidie (5x a 6x) ( $F = 5,11$ ,  $P = 0,03$ ).

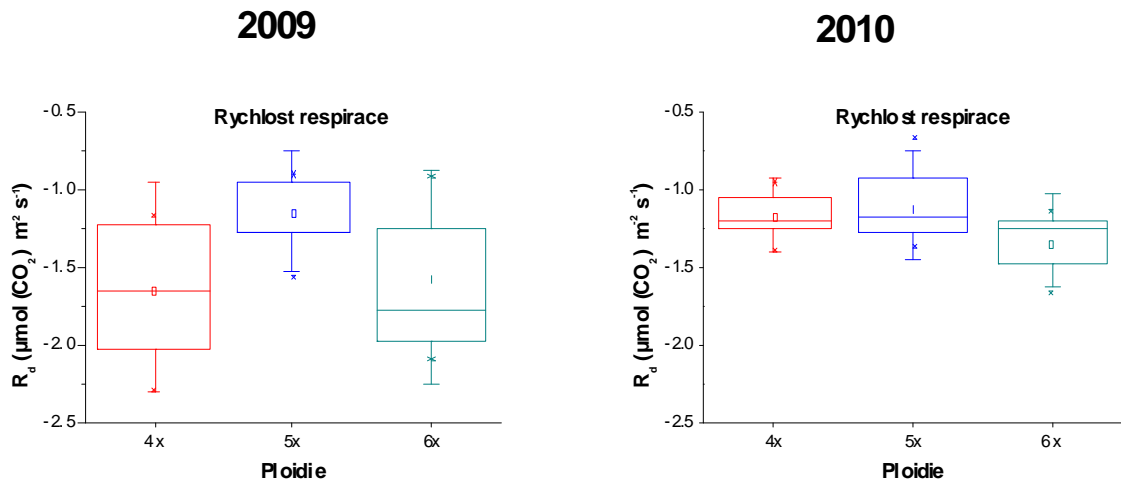




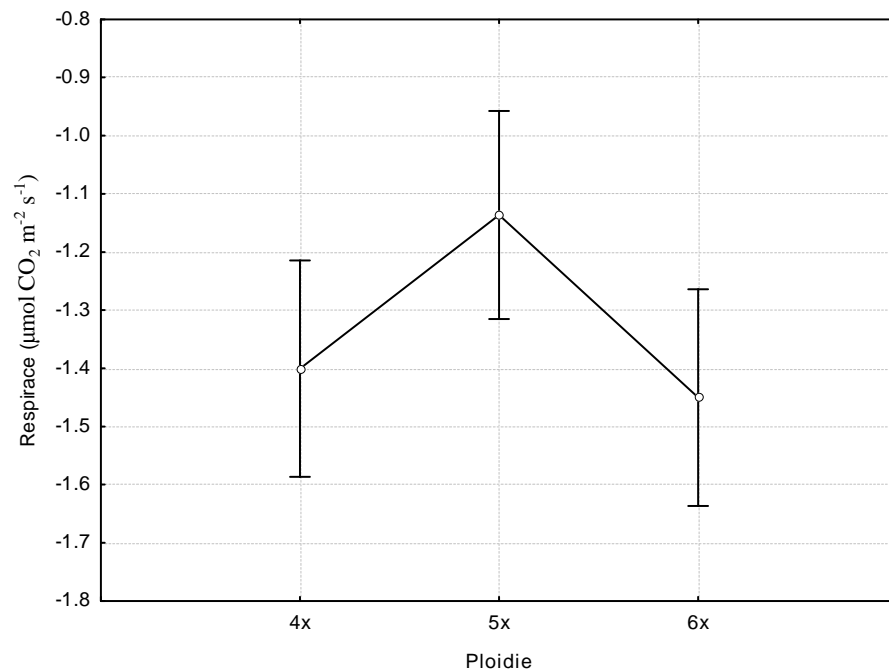
Obr. 3.3: Průměrné hodnoty ( $\pm$  95% konfidenční interval) rychlosti fotosyntézy (A), rychlosti transpirace (E), stomatální vodivosti ( $g_s$ ) a intercelulární koncentrace  $CO_2$  ( $c_i$ ) u jednotlivých ploidí ve fázi saturace (při  $600 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$ ) v obou rocích dohromady.

Výsledky rychlosti temnostní respirace u jednotlivých ploidí byly v obou rocích signifikantně rozdílné (ANOVA,  $F = 5,338$ ,  $P = 0,027$ ; obr. 3.4). Byl také zjištěn signifikantní rozdíl v rychlosti temnostní respirace mezi jednotlivými ploidemi (ANOVA,  $F = 3,571$ ,  $P = 0,039$ ). Bonferroniho test mnohonásobných porovnání zjistil signifikantní rozdíly mezi pentaploidy a hexaploidy ( $P = 0,047$ ). Analýza kontrastů

zjistila signifikantní rozdíly mezi pentaploidy a ostatními ploidiemi (4x a 6x) ( $F = 6,99$ ,  $P = 0,012$ ; obr. 3.5).



Obr. 3.4: Variabilita rychlostí temnostní respirace v jednotlivých rocích mezi ploidiemi. Čtvereček vyznačuje průměr, krabička horní a dolní kvartil, vodorovná linka v krabičce medián, vousy standardní odchylku a tečky 1. a 99. kvantil.



Obr. 3.5: Průměrné hodnoty ( $\pm$  95% konfidenční interval) rychlosti temnostní respirace všech ploidií v obou rocích dohromady.

Rostliny srovnané podle přirozenosti stanoviště i podle relativního množství dostupného slunečního záření na stanovišti se v žádných parametrech fotosyntézy měřených v saturaci signifikantně nelišily (tab. 3.1).

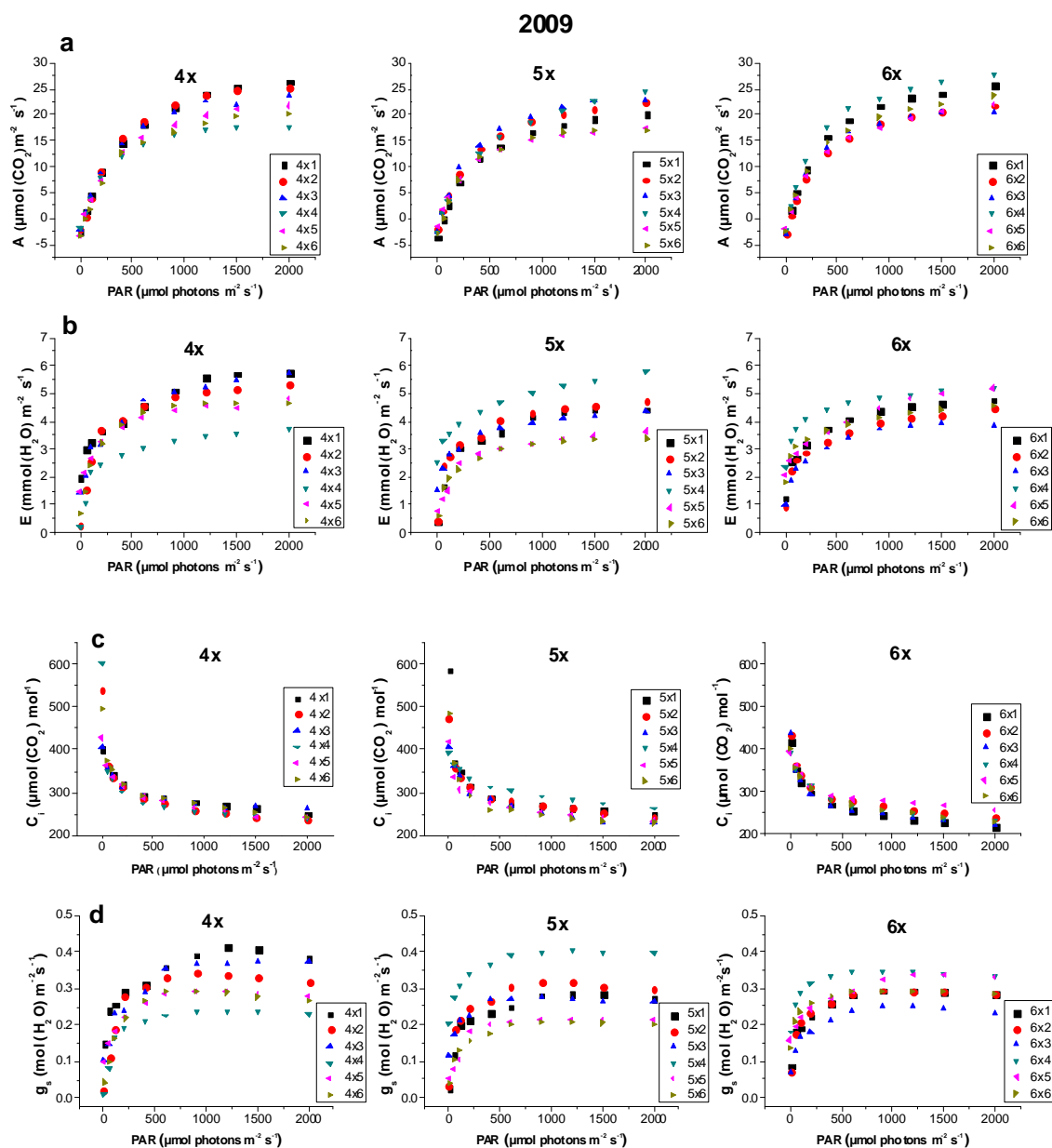


Tab. 3.1: Výsledky jednocestné ANOVy. Testovaly se průměrné hodnoty jednotlivých parametrů v saturaci při  $600 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  rozdělené do skupin buď podle přirozenosti (0, 1) nebo procentuálního ozáření stanoviště (0-50, 50, 50-100 %).

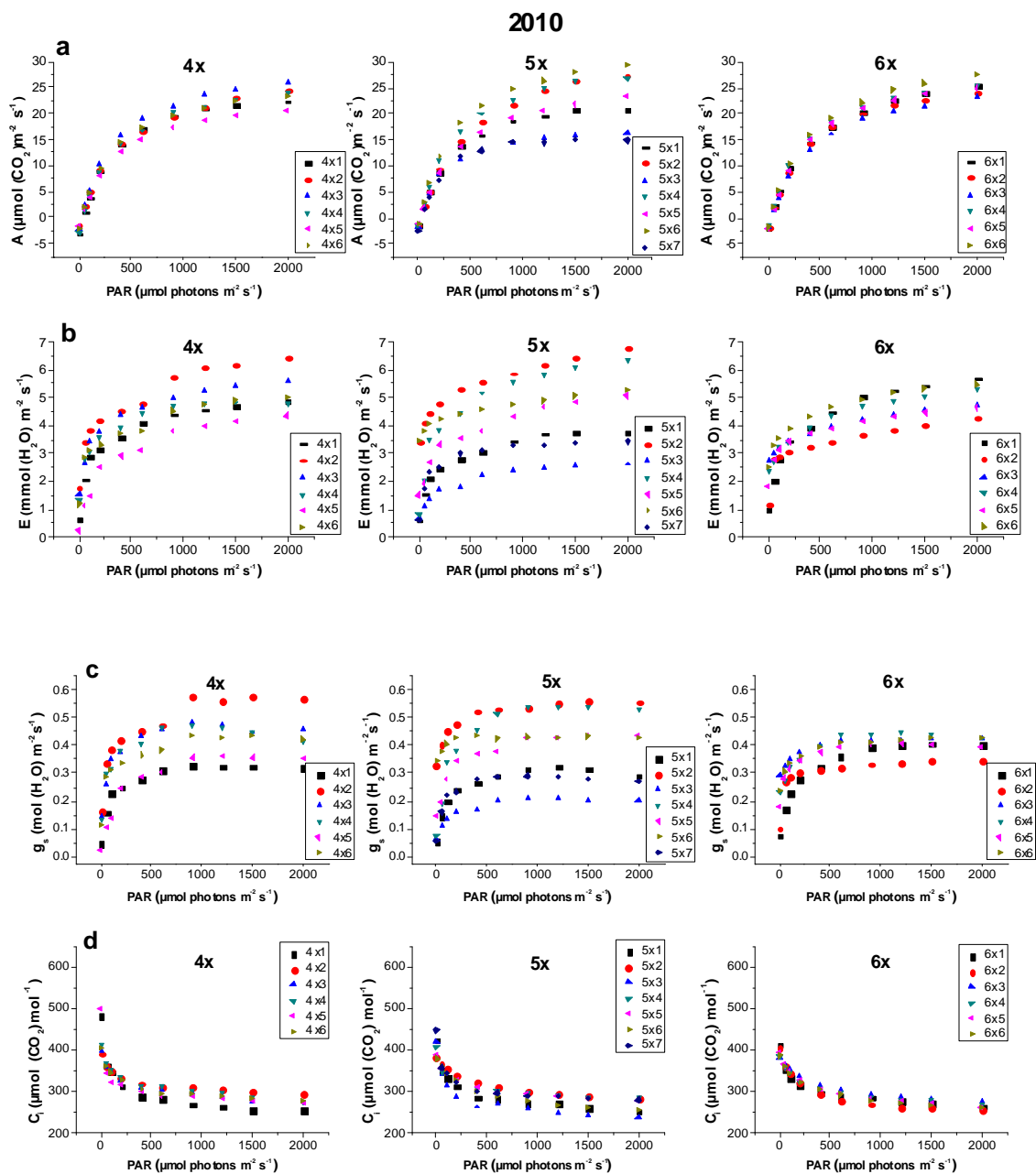
stanoviště	parametr	rok	DF	F	P	
přirozenost	rychlost fotosyntézy	2009	1, 16	0,968	0,34	
		2010	1, 17	1,989	0,177	
	rychlost transpirace	2009	1, 16	0,059	0,811	
		2010	1, 17	0,736	0,403	
	stomatální vodivost	2009	1, 16	0,206	0,656	
		2010	1, 17	0,163	0,691	
	intercelulární koncentrace CO <sub>2</sub>	2009	1, 16	0,025	0,876	
		2010	1, 17	0,036	0,852	
	rychlost temnostní respirace	2009	1, 16	0,329	0,574	
		2010	1, 17	1,94	0,182	
	světlo	rychlost fotosyntézy	2009	2, 15	0,652	0,535
			2010	2, 16	0,802	0,466
rychlost transpirace		2009	2, 15	0,282	0,759	
		2010	2, 16	2,156	0,148	
stomatální vodivost		2009	2, 15	0,431	0,657	
		2010	2, 16	2,116	0,153	
intercelulární koncentrace CO <sub>2</sub>		2009	2, 15	0,444	0,65	
		2010	2, 16	1,553	0,242	
rychlost temnostní respirace		2009	2, 15	1,063	0,37	
		2010	2, 16	0,213	0,81	

### 3.2 SVĚTELNÉ KŘIVKY

Nejvíce homogenní průběhy světelných křivek v obou rocích měly hexaploidní populace (obr. 3.6, 3.7). V roce 2009 vykazovaly tetraploidní i pentaploidní rostliny podobnou variabilitu, v roce 2010 měly populace pentaploidů nejvyšší variabilitu.

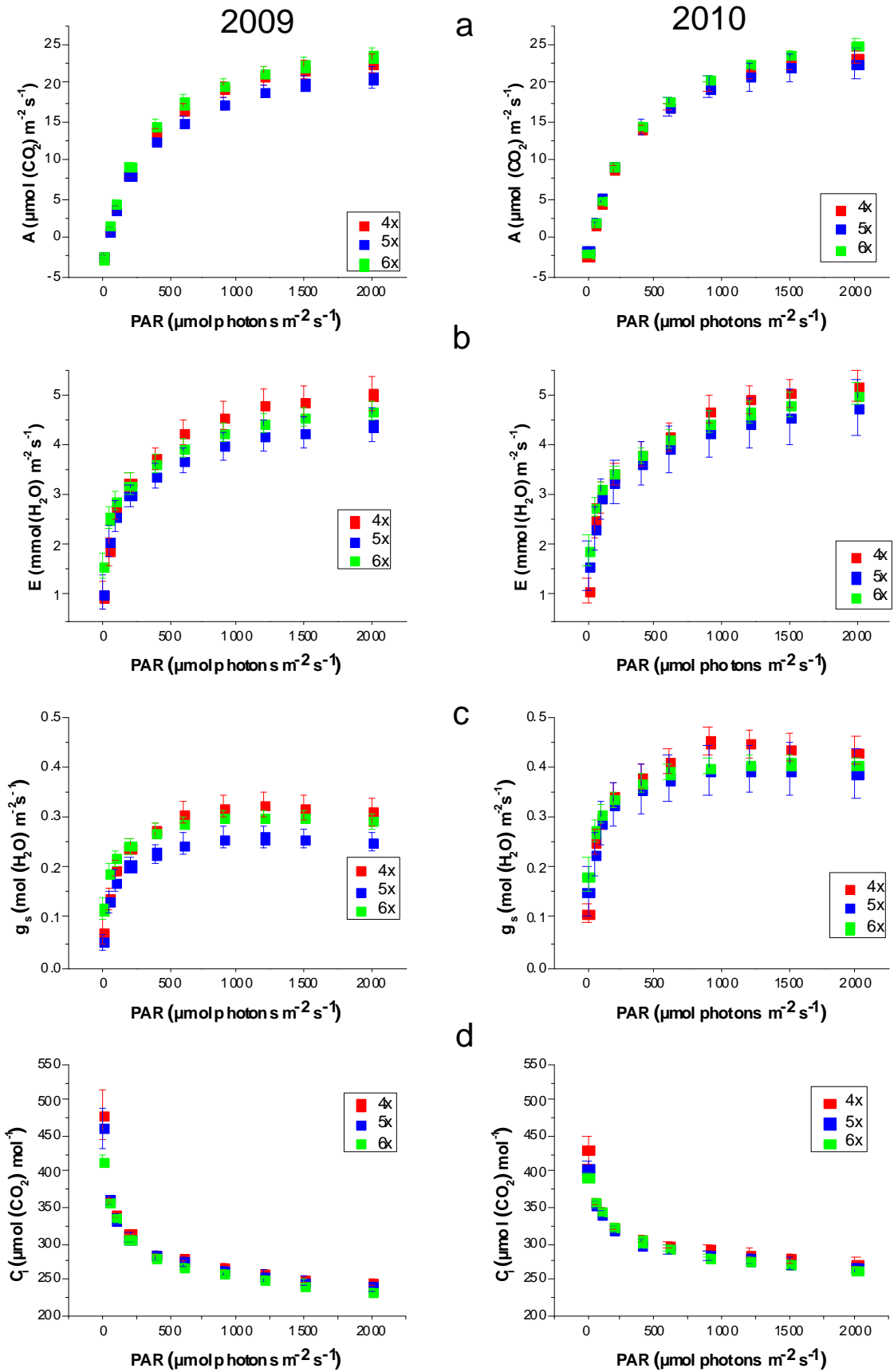


Obr. 3.6: Světelné křivky z roku 2009. a – závislost rychlosti fotosyntézy na ozáření, b – závislost rychlosti transpirace na ozáření, c – závislost stomatální vodivosti na ozáření, d – závislost intercelulární koncentrace  $\text{CO}_2$  na ozáření.



Obr. 3.7: Světelné křivky z roku 2010. a – závislost rychlosti fotosyntézy na ozáření, b – závislost rychlosti transpirace na ozáření, c – závislost stomatální vodivosti na ozáření, d – závislost intercelulární koncentrace  $\text{CO}_2$  na ozáření.

Rozdíly mezi průměrnými světelnými křivkami jednotlivých ploidí byly velmi malé. Tetraploidní rostliny vykazovaly při vyšších intenzitách ozáření tendenci k vyšším hodnotám rychlosti transpirace a stomatální vodivosti v závislosti na světle než ostatní ploidie (obr. 3.8).



Obr. 3.8: Průměrné světelné křivky všech ploidí pro oba roky (průměr ± střední chyba průměru). a – závislost rychlosti fotosyntézy na ozáření, b – závislost rychlosti transpirace na ozáření, c – závislost stomatální vodivosti na ozáření, d – závislost intercelulární koncentrace  $\text{CO}_2$  na ozáření.

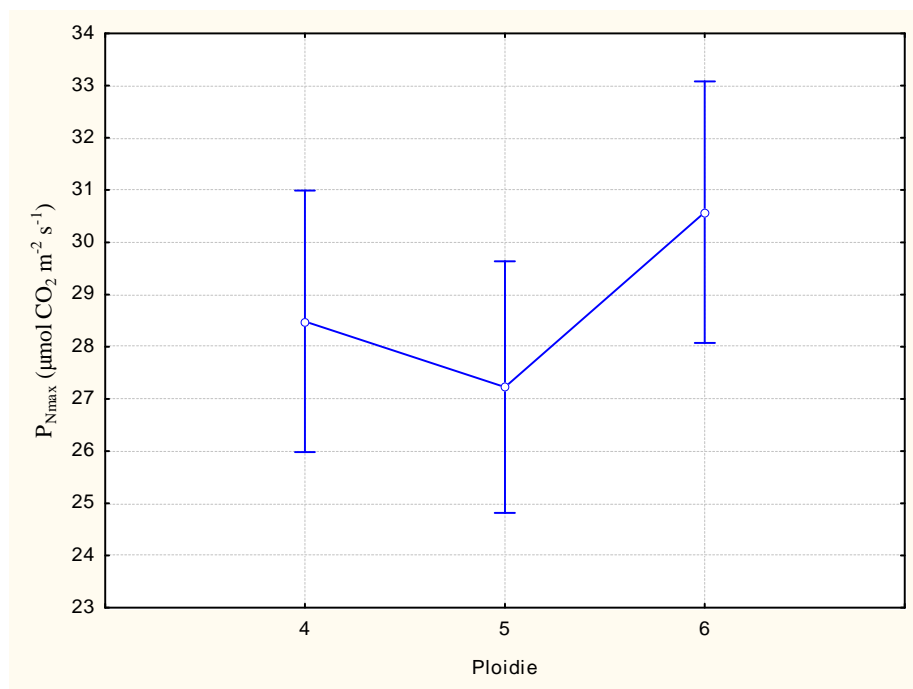
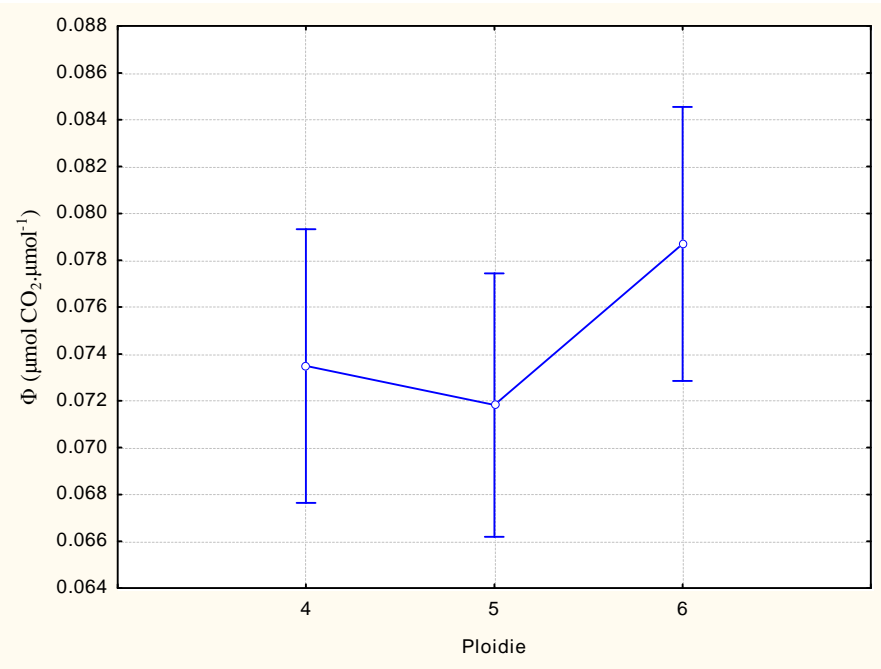
Byl zjištěn sigifikantní vliv roku měření (ANOVA) pouze na kompenzační bod ( $F = 20,579$ ,  $P < 0,001$ ), zatímco v ostatních sledovaných parametrech nebyly rozdíly mezi roky zaznamenány ( $P > 0,07$ ).

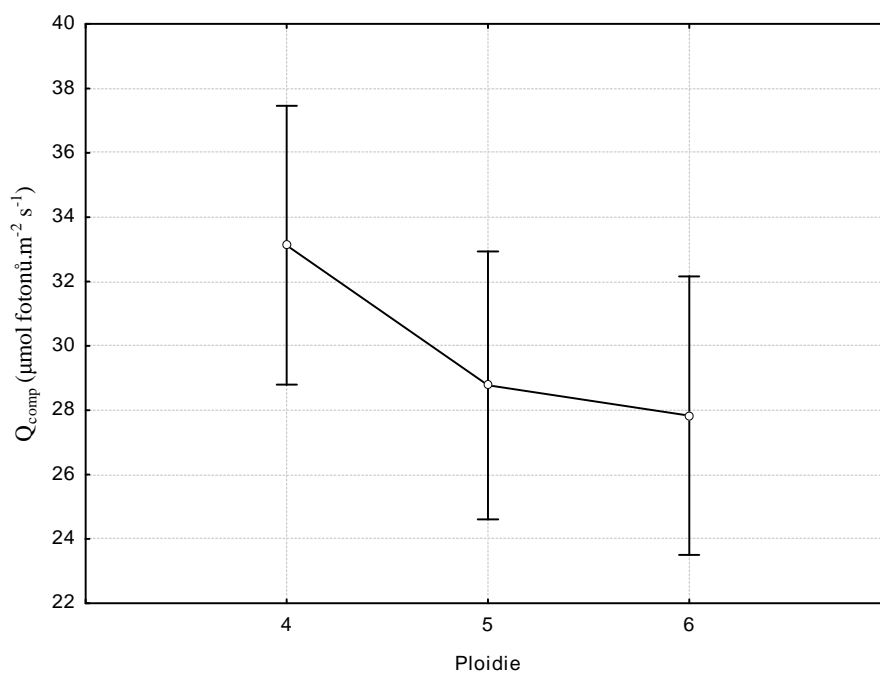
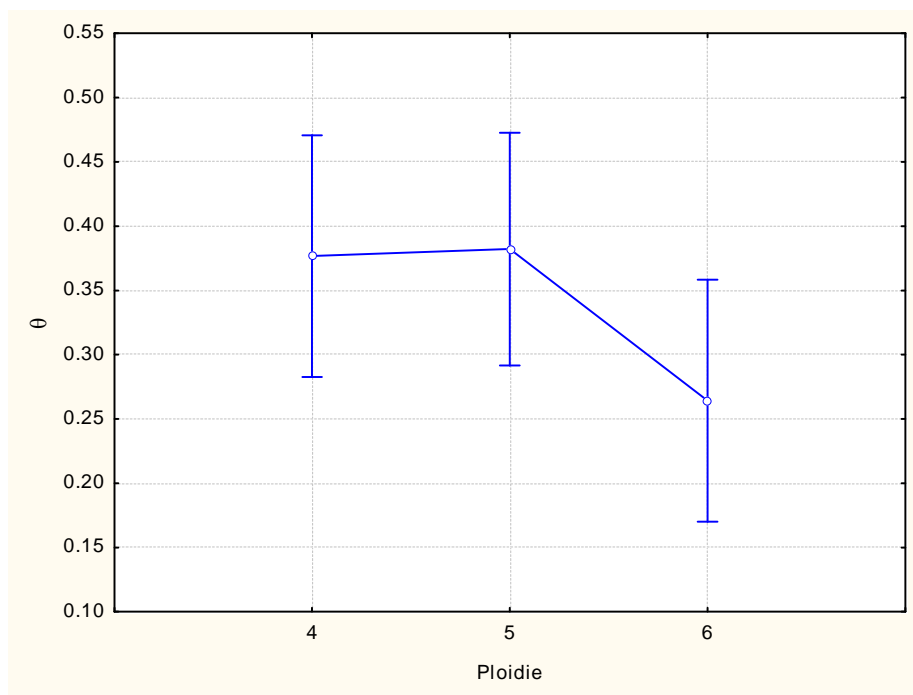
Průměrný zjevný kvantový výtěžek se mezi ploidiemi signifikantně nelišil (ANOVA,  $F = 2,655$ ,  $P = 0,113$ ; obr. 3.9). Analýza kontrastů ale zjistila tendenci k vyšším hodnotám zjevného kvantového výtěžku u hexaploidů ve srovnání s nižšími cytotypy ( $F = 2,99$ ,  $P = 0,093$ ).

Hexaploidi vykazovali tendenci ke zvýšené průměrné maximální rychlosti fotosyntézy vůči tetraploidům a pentaploidům (analýza kontrastů,  $F = 3,295$ ,  $P = 0,079$ ; obr. 3.9). Rozdíly mezi ploidiemi ale nebyly signifikantní (ANOVA,  $F = 1,487$ ,  $P = 0,231$ ).

Rozdíly v průměrném indexu konvexity mezi ploidiemi nebyly signifikantní (ANOVA,  $F = 3,306$ ,  $P = 0,078$ ). Analýza kontrastů zjistila signifikantně nižší průměrné hodnoty indexu konvexity u hexaploidů ve srovnání s nižšími cytotypy ( $4x + 5x$ ) ( $F = 4,127$ ,  $P = 0,049$ ; obr. 3.9).

Hodnoty průměrného kompenzačního bodu se mezi jednotlivými ploidiemi signifikantně nelišily (ANOVA,  $F = 1,773$ ,  $P = 0,186$ ). Analýza kontrastů zjistila tendenci k vyššímu průměrnému kompenzačnímu bodu u tetraploidů ( $F = 3,47$ ,  $P = 0,071$ ; obr. 3.9).





Obr.3.9: Průměrné hodnoty ( $\pm$  95% konfidenční interval) zjevného kvantového výtěžku fotosyntézy ( $\Phi$ ), maximální rychlosti fotosyntézy ( $A_{max}$ ), indexu konvexity ( $\theta$ ) a kompenzačního bodu ( $Q_{comp}$ ) u jednotlivých ploidii v obou rocích dohromady.

Rostliny rozdělené podle přirozenosti stanoviště i podle relativního množství dostupného slunečního záření na stanovišti se v žádných parametrech světelné křivky signifikantně nelišily (tab. 3.2).

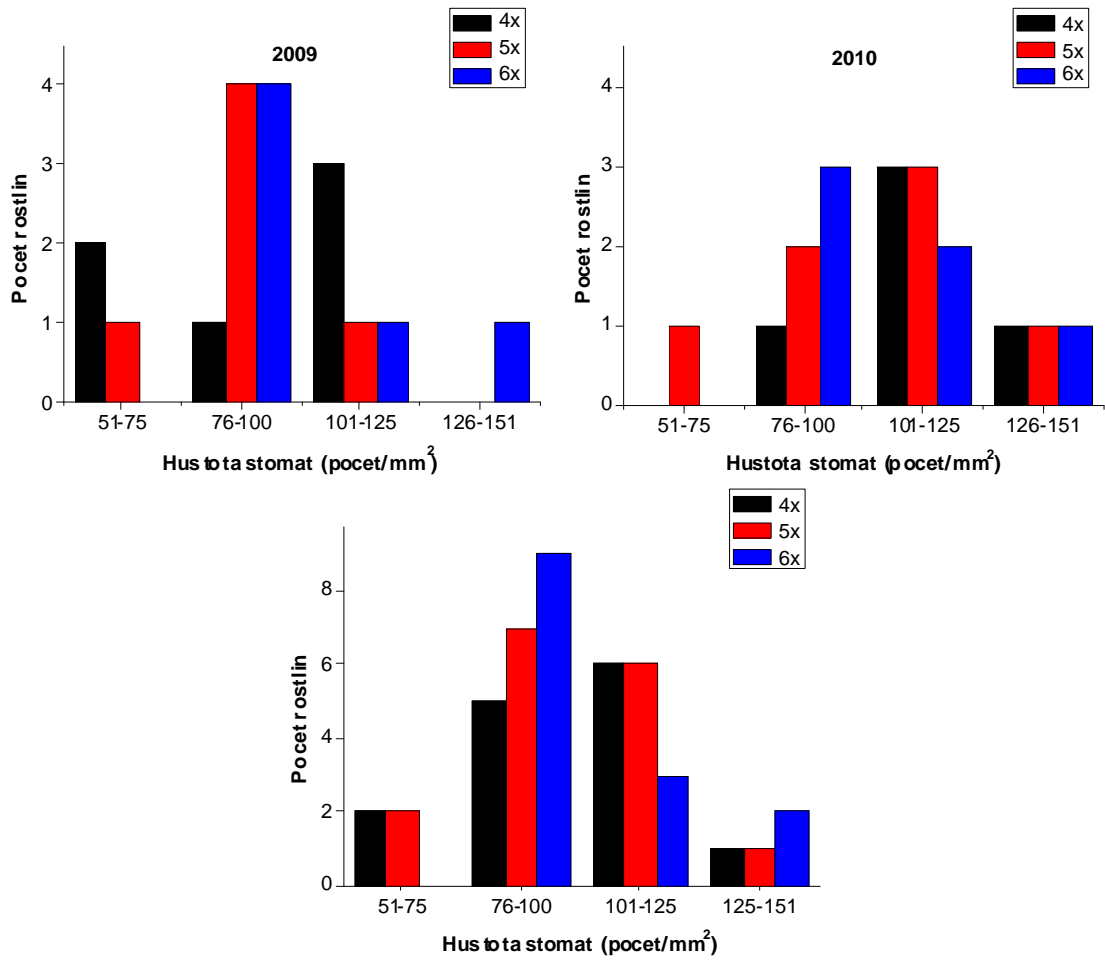
Tab. 3.2: Výsledky jednocestné ANOVy. Testovaly se parametry světelné křivky rozdělené do skupin buď podle přirozenosti (0, 1) nebo procentuálního ozáření stanoviště (0-50, 50, 50-100 %).

stanoviště	parametr	rok	DF	F	P
přirozenost	zjevný kvantový výtěžek	2009	1, 16	1,62	0,221
		2010	1, 17	2,711	0,118
	maximální rychlost fotosyntézy	2009	1, 16	0,632	0,438
		2010	1, 17	1,813	0,196
	index konvexity	2009	1, 16	0,841	0,373
		2010	1, 17	0,005	0,945
	kompenzační bod	2009	1, 16	0,212	0,652
		2010	1, 17	0,011	0,917
světlo	zjevný kvantový výtěžek	2009	2, 15	0,678	0,522
		2010	2, 16	1,830	0,192
	maximální rychlost fotosyntézy	2009	2, 15	0,72	0,503
		2010	2, 16	1,903	0,181
	index konvexity	2009	2, 15	0,966	0,403
		2010	2, 16	1,913	0,18
	kompenzační bod	2009	2, 15	0,004	0,996
		2010	2, 16	0,67	0,526

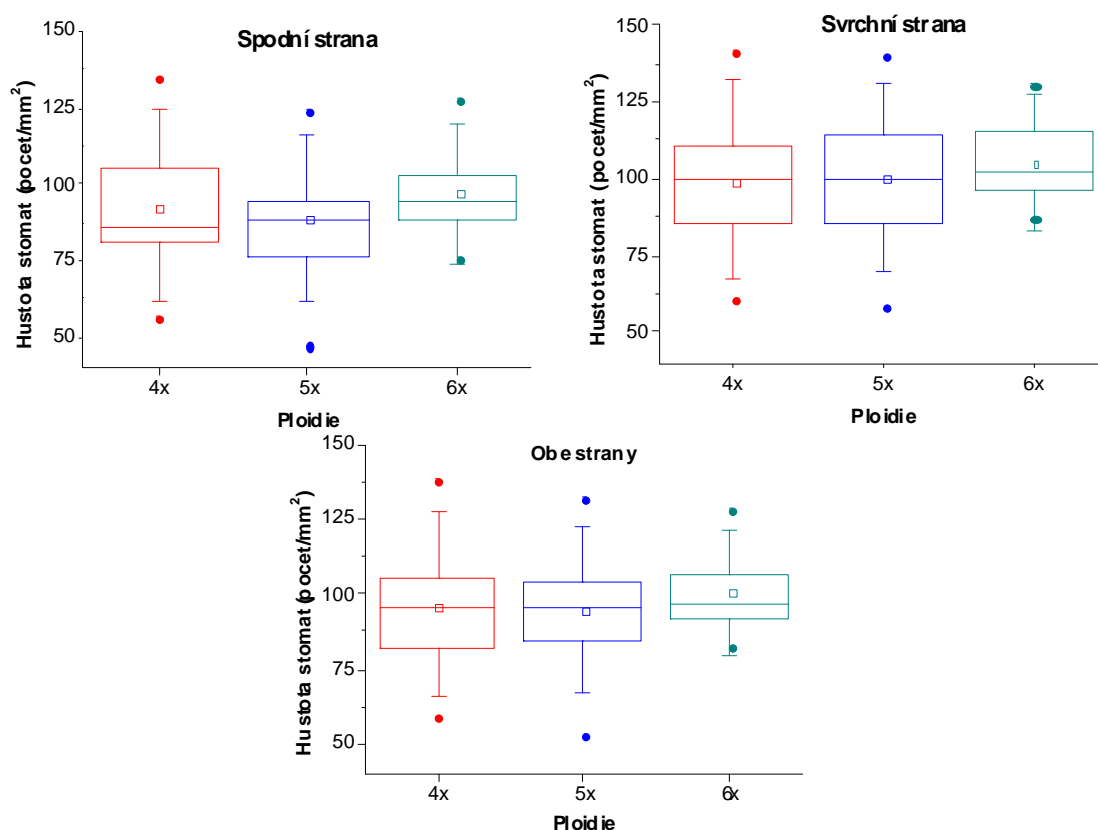
### 3.3 HUSTOTA STOMAT

Hexaploidní rostliny nemají zastoupení v intervalu nejnižších hodnot hustoty stomat (obr. 3.10). Na obr. 3.11 je patrný rozdíl v hustotě stomat mezi spodní a svrchní stranou listu. Svrchní strana listu má signifikantně vyšší hustotu stomat než spodní strana (tab. 3.3).





Obr. 3.10: Frekvence jednotlivých cytotypů podle celkové hustoty stomat na listech v jednotlivých rocích a v obou rocích dohromady.



Obr. 3.11: Variabilita hustoty stomat u jednotlivých ploidii. Čtvereček vyznačuje průměr, krabička 25. a 75. percentil, vodorovná linka uvnitř krabičky medián, čtvereček průměr, vousy standardní odchylku a tečky 1. a 99. percentil.

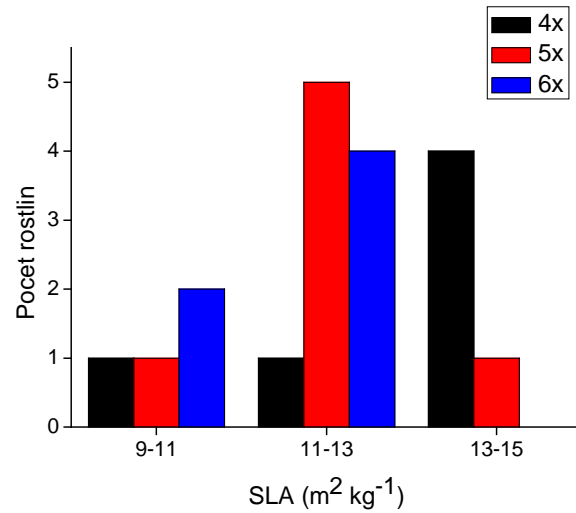
Tab. 3.3: Dvoucestná analýza variance (GLM ANOVA) testující vztah hustoty stomat k ploidii a pozici na listu (svrchní x spodní strana listu). Ploidie a pozice jsou faktory s pevným efektem, ID je jedinec s náhodným efektem podřazený ploidii.

Zdroj	DF	SS	MS	F	P
A: Ploidie	2	990	495,22	0,67	0,516
B(A): ID	33	24240	734,57		
C: Pozice na listu	1	1098	1098,30	27,94	<0,001
AC	2	89	44,53	1,13	0,334
BC(A)	33	1297	39,30		
Celkem	72				

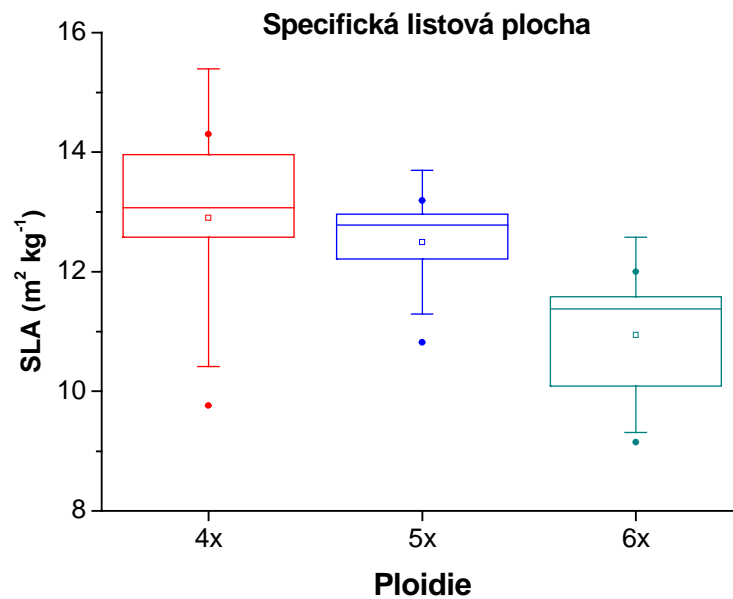
### 3.4 SPECIFICKÁ LISTOVÁ PLOCHA (SLA)

U specifické listové plochy je patrný trend ke zmenšování specifické listové plochy se zvyšující se ploidii (obr. 3.12, 3.13). Byly zjištěny signifikantní rozdíly mezi průměrnou SLA jednotlivých ploidních stupňů (jednocestná ANOVA,  $df = 2, 16$ ,  $F = 4,392$ ,  $P = 0,030$ ) (tab. 3.4). Bonferoniho test mnohonásobných porovnáání zjistil signifikantní rozdíly v průměrné SLA mezi tetraploidy a hexaploidy, nebyly ale zjištěny rozdíly mezi

tetraploidy a pentaploidy a mezi pentaploidy a hexaploidy (tab. 3.5). Analýza kontrastů ukázala na lineární trend ve snižování SLA s rostoucí ploidii ( $t = 2,85$ ,  $P = 0,01$ ).



Obr. 3.12: Srovnání distribuce jednotlivých cytotypů podle hodnoty jejich specifické listové plochy.



Obr. 3.13: Variabilita specifické listové plochy u jednotlivých cytotypů. Čtvereček vyznačuje průměr, krabice 25. a 75. percentil, vodorovná linka uvnitř krabice medián, čtvereček průměr, vousy standardní odchylku a tečky 1. a 99. percentil.

Tab. 3.4: Jednocestná analýza variance testující vztah specifické listové plochy a stupně ploidie.

Zdrojová data	N	Průměr	SD	SE
SLA_4x	6	12,90167	1,66013	0,67774
SLA_5x	7	12,49429	0,79908	0,30202
SLA_6x	6	10,945	1,08942	0,44475

Zdroj	DF	SS	MS	F	P
Model	2	12,9268373	6,46	4,39214	0,03017
Chyba	16	23,5454048	1,47		

Tab. 3.5: Bonferoniho test mnohonásobných porovnání testující průměry specifické listové plochy jednotlivých ploidií.

Zdrojová data	Průměr	Rozdíly mezi konfidenčními intervaly			
SLA_4x	12,90167	Průměry	Dolní hranice	Horní hranice	Signifikantní rozdíl na 0,05 hranici
SLA_5x	12,49429	0,40738	-1,39665	2,21141	Ne
SLA_6x	10,945	1,95667	0,08453	3,8288	Ano
SLA_5x	12,49429				
SLA_6x	10,945	1,54929	-0,25475	3,35332	Ne

## 4. DISKUSE

### 4.1 SATURAČNÍ KŘIVKY

Rychlost fotosyntézy vyjádřená na plochu listu se v různých studiích s ploidií buď zvyšovala (Byrne et al. 1981; Joseph & Randall 1981; Warner et al. 1987; Warner & Edwards 1989; Vyas et al. 2007; Hull-Sanders et al. 2009), snižovala (Bjurman 1959; Romero-Aranda et al. 1997) nebo zůstávala stejná (Mauer 1978; Sicher et al. 1984; Warner & Edwards 1988) podle toho, jak se s ploidií měnil počet a objem mezofylních buněk na plochu (Warner et al. 1987; Warner & Edwards 1993). U *Allium oleraceum* se průměrná rychlost fotosyntézy na plochu listu měřená v saturaci při osvětlení 600  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$  mezi ploidiemi signifikantně nelišila. Některé pentaploidní rostliny během měření nedospěly do stádia saturace, rychlost aktivace jejich fotosyntetického aparátu na světle je tedy pomalejší. Protože není známa velikost ani počet mezofylních buněk v listu, lze pouze předpokládat, že poměr objemu a velikosti mezofylních buněk bude u všech tří ploidií přibližně stejný. Taktéž průměrné hodnoty rychlosti transpirace a

stomatální vodivosti vyjádřené na plochu listu v saturaci se mezi ploidiemi signifikantně nelišily.

Pentaploidní rostliny také vykazovaly signifikantně menší rychlosti temnostní respirace než hexaploidi a tetraploidi, což může ukazovat na jejich menší energetické udržovací a růstové nároky.

## 4.2 FOTOSYNTETICKÁ KAPACITA

Zjevný kvantový výtěžek vyjadřuje účinnost fotosyntézy při nízkém osvětlení (Lambers et al. 1998). Čím je vyšší, tím lépe rostliny fixují světelnou energii ve fotosyntéze (Herralde et al. 2003). U *Allium oleraceum* vykazovaly hexaploidní rostliny tendenci k vyššímu zjevnému kvantovému výtěžku a tím i větší rychlosti fotosyntézy při nízkém osvětlení.

Maximální rychlost fotosyntézy vyjadřuje množství fotosyntetických pigmentů a enzymů v listu. Je ukazatelem fotosyntetické kapacity v listu. Čím je větší maximální rychlost fotosyntézy, tím je větší fotosyntetická kapacita rostliny. U *Allium oleraceum* byla zjištěna slabá tendence ke zvýšené maximální rychlosti fotosyntézy u hexaploidů, což by mohlo ukazovat na to, že hexaploidní rostliny obsahují více chloroplastů, chlorofylu a dalších fotosyntetických komponent na plochu listu (Warner et al. 1987; Warner & Edwards 1988, 1993; Mozdzer & Zieman 2010) a tím mají i větší fotosyntetickou kapacitu než nižší ploidní stupně. Rozdíly mezi cytotypy jsou přesto velmi malé, maximální rychlost fotosyntézy u hexaploidů je jen o 12 % a 7 % vyšší než u penta- a tetraploidů a některé tetra- a pentaploidní rostliny vykazovaly parametry velmi podobné hexaploidním rostlinám.

Se zjevným kvantovým výtěžkem a maximální rychlostí fotosyntézy souvisí i index konvexity, který se zjišťuje ze tvaru světelné křivky. U *Allium oleraceum* byla zjištěna tendence k nižším hodnotám indexu konvexity u hexaploidů. Hexaploidní rostliny tedy vykazují pozvolnější přechod z lineární závislosti fotosyntézy na světle, která je limitována světlem a vyjádřena větším zjevným kvantovým výtěžkem, do fáze, kde je fotosyntéza limitována karboxylací a vyjádřena maximální rychlostí fotosyntézy (Terashima & Saeki 1985; Terashima & Takeana 1986; Lambers et al. 1998). Tetraploidní a pentaploidní rostliny vykazovaly prudší přechod světelné křivky do limitace karboxylací. To značí, že hexaploidi mají vyšší kapacitu Rubisca v poměru ke kapacitě elektron-transportního řetězce (Rodrigues & Santos 2000).

Tetraploidní rostliny vykazovaly slabý trend k vyšším průměrným hodnotám kompenzačního bodu než ostatní ploidie. To znamená, že pro pozitivní bilanci fotosyntézy potřebují vyšší intenzitu světla než ostatní studované cytotypy.

Vyšší hodnoty maximální fotosyntézy a indexu konvexity u hexaploidů znamenají, že hexaploidi mají celkově lepší fotosyntetický aparát způsobující větší rychlost a výtěžek fotosyntézy než mají nižší ploidie. Nižší index konvexity ale ukazuje na menší účinnost přenosu energie mezi světelnou a temnostní fází fotosyntézy. Je tedy možné, že lepší fotosyntetické vlastnosti jsou způsobeny větším obsahem a vyšší aktivitou Rubisca a chlorofylu než mají nižší ploidie. Tento trend potvrzují i studie na jiných polyploidních taxonech (Bjurman 1959; Warner et al. 1987; Warner & Edwards 1988; Romero-Aranda 1997).

#### 4.3 HUSTOTA STOMAT A STOMATÁLNÍ VODIVOST

Hustota stomat se s rostoucí ploidí většinou snižuje (Bjurman 1959; Levin 1983; Byrne et al. 1981; Jellings & Leech 1984; Hull-Sanders et al. 2009; Chen et al. 2009; Khazaei et al. 2010) a jejich velikost se zvětšuje (Jellings & Leech 1984; Warner et al. 1987; Chen et al. 2009, Khazaei et al. 2010). Zvětšení velikosti průduchů obvykle zcela nevyrovná pokles hustoty stomat, protože se objem průduchové štěrbině na jednotku plochy většinou zmenšuje. V důsledku tak dochází ke snížení stomatální vodivosti a tím i ke snížení transpirace u polyploidů (Levin 1983, 2002), i když existují i opačné případy (Vyas et al. 2007; Hull-Sanders et al. 2009).

U *Allium oleraceum* pozoroval Ohryzek (2007) u tetraploidů signifikantně menší velikost stomat než u penta- a hexaploidů, kteří se mezi sebou ve velikosti stomat nelišili. Jelikož však hustota stomat překvapivě a oproti většině publikovaných příkladů zůstávala u všech ploidí podobná (i když hexaploidi nevykazovali zastoupení v intervalu nejnižších hodnot), lze usoudit, že tetraploidi mají menší celkovou plochu stomat na plochu listu než vyšší ploidie a lze předpokládat, že budou dosahovat menších hodnot stomatální vodivosti, která umožňuje lepší výměnu plynů mezi listem a okolím. To ale nebylo prokázáno u analýzy jak saturačních, tak světelných křivek. Při vysokých intenzitách ozáření naopak dosahovala stomatální vodivost (a transpirace) stejných až slabě vyšších hodnot u tetraploidů než u penta- a hexaploidů. Protože stomatální vodivost zahrnuje difúzi jak přes stomata, tak přes intercelulární prostory (Šesták et al. 1971; Anonymous 2005), je možné tento paradox vysvětlit pravděpodobně odlišnou

anatomickou stavbou listů jednotlivých cytotypů, hlavně poměry mezi objemem a hustotou mezofylních buněk, intercelulárních prostorů a epidermis. Ačkoliv jsem neprováděla příčné řezy listem, nepřímým důkazem jsou výrazně rozdílné hodnoty specifické listové plochy mezi cytotypy (viz níže). Dalším souvisejícím možným vysvětlením je přítomnost průduchů na obou stranách listů u všech cytotypů *A. oleraceum*, tedy listy jsou amfistomatické. Z toho vyplývá, že díky proudění skrz list nemusí být dostupnost CO<sub>2</sub> v intercelulárním prostoru limitujícím faktorem, jak pozorovali např. Terashima et al. (2001) a Vyas et al. (2007). Jak ukazují hodnoty intercelulární koncentrace CO<sub>2</sub>, vyšší hodnoty byly zjištěny u tetraploidů než u pentaploidů a hexaploidů. Tak lze vysvětlit, že přes předpokládanou celkově nižší plochu stomat je difúze CO<sub>2</sub> a vodní páry u tetraploidů zhruba stejná jako u ostatních cytotypů.

#### 4.4 SPECIFICKÁ LISTOVÁ PLOCHA

Specifická listová plocha se u *Allium oleraceum* s ploidií (= rostoucí velikostí genomu) snižovala. Hexaploidi měli na stejnou plochu listu větší hmotnost biomasy než tetraploidi nebo pentaploidi. Tento trend byl zjištěn také u polyploidní řady *Phlox drummondii* (Vyas et al. 2007) a *Solidago gigantea* (Hull-Sanders et al. 2009) a u vztahu SLA-velikost genomu nahosemenných rostlin (Beaulieu et al. 2007; Knight & Beaulieu 2008). Pokud se ale studoval vztah mezi genomem a SLA u více druhů najednou v rámci celé skupiny krytosemenných rostlin, vztah mezi SLA a velikostí genomu byl pozitivní (Beaulieu et al. 2007; Knight & Beaulieu 2008). Tento paradox lze vysvětlit velkou variabilitou a velkými rozdíly ve velikostech genomu jednotlivých druhů v rámci krytosemenných při provedené metaanalýze, která mohla být necitlivá k vnitrodruhové variabilitě (Beaulieu et al. 2007; Knight & Beaulieu 2008).

Rostliny s nižší SLA mají vyšší konstrukční náklady listu na jednotku listové plochy (Poorter & de Jong 1999) a vykazují nižší metabolickou aktivitu (Schulze et al. 2002), protože jejich silnější listy mohou, mimo jiné, omezovat absorpci světla chloroplasty (Mozdzer & Zieman 2010). Jak ale ukazují data na *A. oleraceum*, fotosyntetická kapacita hexaploidů byla stejná až lepší než nižších cytotypů. Lze ale předpokládat, že vyšší SLA u nižších cytotypů může mít selekční výhodu v tom, že tetra- a pentaploidi mohou lépe využít asimiláty např. na tvorbu zásob, klonální růst či generativní rozmnožování, a tím mohou mít vyšší zdatnost. Ohryzek (2007) například

zjistil, že hexaploidní rostliny jsou celkově nižší, mají menší počet květů a pacibulek a i menší hmotnost těchto propagulí než tetra- a pentaploidní rostliny.

#### 4.5 EKOLOGICKÉ A EVOLUČNÍ IMPLIKACE

Předpokládá se, že změny ve velikosti stomat a jejich hustotě prostřednictvím kompenzačních mechanismů vedou k optimální rovnováze mezi fotosyntetickou kapacitou a transpirací v různých ekologických podmínkách. Pokud velikost genomu určuje velikost epidermálních a svěřacích buněk, výsledná změna v hustotě a velikosti stomat může ukazovat na predispozice taxonu k určitým ekologickým strategiím (Beulieu et al. 2008). Například menší stomata v suchém prostředí umožňují rychlejší reakci na vodní stres, zatímco vyšší hustota stomat umožňuje větší difúzi CO<sub>2</sub> do listu pro fotosyntézu během optimálních podmínek (Hetherington & Woodward 2003 sec. Beulieu et al. 2008). Z toho vyplývá, že se taxony s velkými genomy (a tedy i většími stomaty o nižší hustotě) nebudou vyskytovat na stanovištích s nízkými srážkami a vysokými teplotami, což ukázali Knight & Ackerly (2002) sec. Beaulieu et al. 2008. Vyšší zjištěná četnost hexaploidů *A. oleraceum* v mezofilních podmínkách (Duchoslav et al. 2010; Šafářová Duchoslav *in prep.*) pak může souviset s jejich citlivostí na sucho.

Duchoslav et al. (2010) zjistili, že různé cytotypy u *A. oleraceum* se od sebe ekologicky odlišují. Největší rozdíly vykazují tetraploidi a hexaploidi. Tetraploidní populace se vyskytují na stíněných i osluněných stanovištích. Hexaploidní populace naopak obsazují převážně disturbovaná nestíněná stanoviště s vyšším zásobením fosforem. Pentaploidní cytotyp je z hlediska ekologických nároků intermediární mezi 4x a 6x cytotypy.

Srovnání parametrů fotosyntézy mezi cytotypy ukázalo, že ekologická diferenciacie cytotypů není jednoznačně určena vlastnostmi fotosyntetického aparátu. Předpokládalo se, že tetraploidní rostliny budou vykazovat nižší kompenzační bod a vyšší kvantový výtěžek fotosyntézy, což jsou vlastnosti, které umožňují rostlinám co nejefektivnější využití nízkých intenzit světla, které dopadá na stíněný podrost v lese. U tetraploidů byl ale zjištěn nejvyšší kompenzační bod ze všech studovaných cytotypů a také nižší kvantový výtěžek, než mají hexaploidi. Zároveň také spolu s hexaploidy vykazují vyšší rychlost temnostní respirace, což znamená potřebu vyšších nákladů na udržování a růst. Tyto paradoxy jsou pravděpodobně způsobeny změnami relativní ozářenosti a fenologickým vývojem stromových a keřových dominant v místech



výskytu *A. oleraceum* během sezóny. Nejvyšší rychlosti růstu dosahuje *A. oleraceum* během dubna, kdy ještě není stromové a keřové patro zapojeno (Duchoslav 2009). Roste tedy v podmínkách, kdy nižší hodnoty kompenzačního bodu a vyšší kvantový výtěžek nemusejí být selektivně výhodné a rozhodující pro zdatnost cytotypů. Naproti tomu kombinace vyšších hodnot rychlosti fotosyntézy, vyšší účinnosti fotosyntézy a nižší plochy stomat a rychlosti transpirace zjištěné u hexaploidů, rostoucích na otevřených stanovištích s vysokými hodnotami slunečního záření, může představovat selektivní výhodu pro tyto rostliny.

Výsledky měření parametrů fotosyntézy dále ukázaly, že všechny měřené hexaploidní rostliny se chovají velmi podobně a mají podobnou fotosyntetickou kapacitu. Naopak tetra- a obzvláště pentaploidní rostliny vykazovaly značnou variabilitu v měřených parametrech. Například nejvyšší hodnoty rychlosti fotosyntézy, rychlosti transpirace a stomatální vodivosti u saturačních křivek a nejvyšší hodnoty rychlosti transpirace a stomatální vodivosti u světelných křivek u pentaploidů dosahovaly v obou letech rostliny z Květné a Příbylova (obr. 3.1, 3.2, rostliny 5x2 a 5x4). Pokud srovnáme genetickou podobnost populace Příbylova (populace z Květné nebyla analyzována Staňkovou) s ostatními pentaploidními populacemi, tak podle shlukového diagramu (Staňková 2005) tyto rostliny nejsou od ostatních pentaploidů nijak geneticky vzdálené. Dalším vysvětlením by mohlo být stanoviště, na kterém se tyto rostliny vyskytovaly. Populace z Květné a Příbylova jako jediné z pentaploidů pocházely z populace rostoucí na stepních trávnících, tedy za plné ozáření. Dalo by se předpokládat, že rostliny, které jsou přizpůsobené vysokým intenzitám ozáření, budou mít větší fotosyntetickou kapacitu, než rostliny rostoucí na zastíněných stanovištích a přizpůsobující se tak nízkému ozáření. Když jsem ale vyhodnocovala vliv stanoviště na parametry fotosyntézy, rostliny z různých stanovišť se v průměrných hodnotách jednotlivých parametrů mezi sebou nelišily. Bylo by zajímavé křížově porovnat ploidii a stanoviště, ale není to možné, protože například hexaploidní rostliny se nevyskytovaly na stíněných stanovištích.

Výše uvedená zjištění mohou poukazovat na to, že hexaploidní rostliny jsou ve srovnání s tetraploidy a pentaploidy přes jejich vyšší ploidní stupeň geneticky více uniformní a naopak tetra- a pentaploidy mají vyšší genetickou variabilitu, což ukázala na základě studia variability enzymatických systémů Staňková (2005). Šafářová (2004) a Staňková (2005) vysvětlují malou genetickou variabilitu hexaploidů jejich relativně nedávným vznikem a převažujícím nepohlavním rozmnožováním. Duchoslav et al.

(2010) uvádějí, že ačkoliv všechny cytotypy mohly vzniknout polytopicky a možná i polyfyleticky, hexaploidní rostliny mohou reprezentovat recentně vzniklý cytotyp, adaptovaný na specifické podmínky prostředí. Naopak vyšší variabilita fotosyntetických parametrů u tetra- a hexaploidů může souviset s jejich širší ekologickou amplitudou. Protože byly fotosyntetické parametry cytotypů v této práci studovány za stejných, "optimálních" podmínek, nelze zhodnotit vliv dalších ekologických faktorů. Možný podíl hybridizace navíc výrazně komplikuje interpretaci vlivu polyploidie na fotosyntetickou kapacitu.

Všechny naměřené rozdíly mezi plodiemi byly velmi malé a pohybovaly se okolo 5% hranice pravděpodobnosti. Variabilita uvnitř jednotlivých ploidních stupňů byla u tetraploidů a pentaploidů vysoká a podobná variabilitě mezi cytotypy a proto nemůžeme říci, že se jednotlivé cytotypy od sebe výrazně odlišují ve fotosyntetické kapacitě. Je to možná dáno i tím, že všechny měřené parametry fotosyntézy byly vyjádřeny na plochu listu. Bylo by jistě vhodnější vyjádřit tyto parametry na mezofylní buňku nebo jednotku DNA, protože bylo zjištěno, že velikost 2C DNA u *Allium oleraceum* se s plochou listu nezvyšuje po násobcích, tedy velikost 1Cx hodnoty se snižuje (Šafářová & Duchoslav in prep.). Toto snižování velikosti monoploidního genomu může vysvětlovat sledovanou variabilitu. Bohužel není známa absolutní velikost genomu u jednotlivých měřených rostlin a ani velikost a počet mezofylních buněk v listech. Je ale možné, že pokud bychom hodnoty parametrů vyjádřili na DNA nebo mezofylní buňku, jednotlivé cytotypy by se mezi sebou signifikantně odlišovaly.

V souhrnu je možné konstatovat, že vybrané anatomické a fotosyntetické parametry se většinou mezi cytotypy *A. oleraceum* příliš nelišily. Největší rozdíly byly zjištěny mezi tetraploidy a hexaploidy. Hexaploidi vykazovali tendenci k vyšší fotosyntetické kapacitě a obecně lepším vlastnostem fotosyntetického aparátu. Rychlost fotosyntézy v saturaci vyjádřená na plochu listu se ale se stoupající plochou listu neměnila stejně jako v dalších studiích (Mauer 1978; Sicher et al. 1984; Warner & Edwards 1988). *Allium oleraceum* narozdíl od ostatních polyploidů (Bjurman 1959; Levin 1983; Byrne et al. 1981; Jellings & Leech 1984; Hull-Sanders et al. 2009; Chen et al. 2009; Khazaei et al. 2010) vykazuje zvětšování celkové plochy stomat se stoupající plochou listu a zároveň zmenšování stomatální vodivosti a tím i rychlosti transpirace, což je v rozporu s obecnou představou, že stomatální vodivost pozitivně koreluje s celkovou plochou stomat (Levin 1983; Lambers et al. 1998). Tento paradox ale lze vysvětlit menším

objemem mezibuněčných prostor a tím i nižší SLA u vyšších ploidí, kterou potvrzují i Vyas et al. (2007) a Hull-Sanders et al. (2009).

## 5. ZÁVĚR

- 1) Provedla jsem rešerši dostupné literatury zabývající se vlivem polyploidie na parametry fotosyntézy.
- 2) Nejméně variabilní saturační křivky v obou rocích vykazovaly hexaploidní rostliny. Nebyly zjištěny signifikantní rozdíly mezi ploidiemi v průměrné rychlosti fotosyntézy, transpirace a stomatální vodivosti. Průměrná rychlost intercelulární koncentrace CO<sub>2</sub> byla u tetraploidů signifikantně vyšší. Pentaploidní rostliny vykazovaly signifikantně menší průměrnou rychlost temnostní respirace.
- 3) Nejméně variabilní světelné křivky vykazovali v obou rocích hexaploidi. Hexaploidní populace také vykazovaly tendenci k vyšším hodnotám zjevného kvantového výtěžku a maximální rychlosti fotosyntézy a nižšímu indexu konvexity vůči tetraploidům a pentaploidům. Hodnoty průměrného kompenzačního bodu vykazovaly trend ke snižování s rostoucí ploidií.
- 4) Hexaploidní rostliny vykazovaly slabou, nesignifikantní tendenci k celkově větší hustotě stomat než nižší ploidiie.
- 5) Průměrná hodnota specifické listové plochy signifikantně klesala s rostoucí ploidií.

## 6. LITERATURA

Adams K. L. & Wendel J. F. (2005): Polyploidy and genome evolution in plants. *Current Opinion in Plant Biology* 8: 135-141.

Anonymous (2005): Using the LI-6400 Version 5. LI-COR Biosciences, Inc. Lincoln. 1106.

Beaulieu J. M., Leitch I. J., Knight Ch. A. (2007): Genome size evolution in relation to leaf strategy and metabolic rates revisited. *Annals of Botany* 99: 495-505.

- Beaulieu J. M., Leitch I. J., Patel S., Pendharkar A., Knight Ch. A. (2008): Genome size is a strong predictor of cell size and stomatal density in angiosperms. *New Phytologist* 179: 975-986.
- Bjurman B. (1959): The photosynthesis in diploid and tetraploid *Ribes satigrum*. *Physologia Plantarum* 12: 183-187.
- Briggs D., Walters S. M. (2001): Proměnlivost a evoluce rostlin. – Univerzita Palackého Olomouc. Olomouc. 531 p.
- Byrne M. C., Nelson C. J., Randall D. D (1981): Ploidy effects on anatomy and gas exchange of tall fescue. *Plant Physiology* 68: 891-893.
- Duchoslav M. (2000): Srovnávací ekologie *Allium oleraceum* a *Allium vineale*. [PhD thesis, depon. in: Knihovna katedry botaniky PřF UP Olomouc]
- Duchoslav M. (2001): *Allium oleraceum* and *Allium vineale* in the Czech Republic: distribution and habitat differentiation. *Preslia* 73: 173-184.
- Duchoslav M. (2009): Effects of contrasting habitats on the phenology, seasonal growth, and dry-mass allocation pattern of two bulbous geophytes (Alliaceae) with partly different geographic ranges. *Polish Journal of Ecology* 57: 15–32.
- Duchoslav M., Šafářová L., Krahulec F. (2010): Complex distribution patterns, ecology and coexistence of ploidy levels of *Allium oleraceum* (Alliaceae) in the Czech Republic. *Annals of Botany* 105: 719-735.
- Field Ch. B., Ball J. T., Berry J. A. (1989): Photosynthesis: principles and field techniques. – In: Pearcy et al.: *Plant Physiological Ecology*. Chapman & Hall. London. 457 pp. (p. 209-253).
- Fromme P. & Grotjohann I. (2008): Overview of photosynthesis. – In: Fromme P. (ed.): *Photosynthetic protein complexes*. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. Weinheim. 353 pp. (p. 1-22).
- Grant (1981): *Plant speciation*. Columbia University Press. New York, NY, USA; London, GB. 1971. 435 p.
- Herralde F. D., Biel C., Save R. (2003): Leaf photosynthesis in eight almond tree cultivars. *Biologia Plantarum* 46: 557-561.
- Hull-Sanders H. M., Johnson R. H., Owen H. A., Meyer G. A. (2009): Effects of polyploidy on secondary chemistry, physiology, and performance of native and invasive genotypes of *Solidago gigantea* (Asteraceae). *American Journal of Botany* 96: 762-770.

- Chen G., Sun W., Sun H. (2009): Morphological characteristics of leaf epidermis and size variation of leaf, flower and fruit in different ploidy levels in *Buddleja macrostachya* (Buddlejaceae). *Journal of Systematics and Evolution* 47: 231-236.
- Jackson S., Chen Z. J. (2010): Genomic and expression plasticity of polyploidy. *Current Opinion in Plant Biology* 13: 153-159.
- Jellings A. J., Leech R. M. (1984): Anatomical variation in first leaves of nine *Triticum* genotypes, and its relationship to photosynthetic capacity. *New Phytologist* 96: 371-382.
- Joseph M. C., Randall D. D. (1981): Photosynthesis in polyploid tall fescue. II. Photosynthesis and ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase of polyploid tall fescue. *Plant Physiology* 68: 894-898.
- Khazaei H., Monneveux P., Hongbo S., Mohammady S. (2010): Variation for stomatal characteristics and water use efficiency among diploid, tetraploid and hexaploid Iranian wheat landraces. *Genetic Resources and Crop Evolution* 57: 307-314.
- Knight Ch. A., Beaulieu J. M. (2008): Genome size scaling through phenotype space. *Annals of Botany* 101: 759-766.
- Krahulec F., Duchoslav M. (in press): Alliaceae. – In: Štěpánková J. (ed.): *Květena České republiky, díl 8*. Academia. Praha.
- Lambers H., Chapin III F. S., Pons T. L. (1998): *Plant physiological ecology*. Springer. New York. 540 pp.
- Leitch I. J. & Bennett M. D. (1997): Polyploidy in angiosperms. *Elsevier Science* 2: 470-476.
- Leitch I. J. & Bennett M. D. (2004): Genome downsizing in polyploid plants. *Biological Journal of the Linnean Society* 82: 651-663.
- Levin D. A. (1983): Polyploidy and novelty in flowering plants. *The American Naturalist* 122: 1-25.
- Levin D. (2002): *The role of chromosomal change in plant evolution*. – Oxford University Press. Oxford.
- Marek M. V., Kalina J., Matoušková M. (1995): Response of photosynthetic carbon assimilation of Norway spruce exposed to long-term elevation of CO<sub>2</sub> concentration. *Photosynthetica* 31: 209-220.
- Mauer J., Mayo J. M., Denford K. (1978): Comparative ecophysiology of the chromosome races in *Viola adunca* J.E. Smith. *Oecologia* 35: 91-104.

- Meyers S. P., Nichols S. L., Baer G. R., Molin W. T., Schrader L., E. (1982): Ploidy effects in isogenic population of alfalfa. I. Ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase, soluble protein, chlorophyll, and DNA in leaves. *Plant Physiology* 70: 1704-1709.
- Molin W. T., Meyers S. P., Baer G. R., Schrader L. E. (1982): Ploidy effects in isogenic population of alfalfa. II. Photosynthesis, chloroplast number, ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase, chlorophyll, and DNA in protoplasts. *Plant Physiology* 70: 1710-1714.
- Mozdzer T. J., Zieman J. C. (2010): Ecophysiological differences between genetic lineages facilitate the invasion of non-native *Phragmites australis* in North American Atlantic coast wetlands. *Journal of Ecology* 98: 451-458.
- Nátr L. (1998): Fotosyntéza. – In: Procházka et al.: Fyziologie rostlin. Academia. Praha. 484 pp. (p. 124-173).
- Ohryzek J. (2007): Srovnávací biologie cytotypů česneku planého (*Allium oleraceum* L.) [Master thesis, depon. in: Knihovna katedry botaniky PpF UP Olomouc].
- Osmond C. B., Adams W. W. III, Smith S. D. (1989): Crassulacean acid metabolism. – In: Pearcy et al.: *Plant Physiological Ecology*. Chapman & Hall. London. 457 p. (p. 255-280).
- Poorter H., de Jong R. (1999): A comparison of specific leaf area, chemical composition and leaf construction costs of field plants from 15 habitats differing in productivity. *New Phytologist* 143: 163-176.
- Pyankov V. I., Ziegler H., Akhiani H., Deigle C., Lüttge U. (2010): European plants with C<sub>4</sub> photosynthesis: geographical and taxonomic distribution and relations to climate parameters. *Botanical Journal of the Linnean Society* 163: 283-304.
- Quinn G. P., Keough M. J. (2002): *Experimental design and data analysis for biologist*. – Cambridge University Press. Cambridge.
- Raunkier C. (1934): *The life forms of plants and statistical plant geography*. Clarendon Press, Oxford.
- Rodrigues M. A., dos Santos C. P. (2000): Photosynthetic light-response curves and photoinhibition of the deep-water *Laminaria abyssalis* and the intertidal *Laminaria digitata* (Phaeophyceae). *Journal of Phycology* 36: 97-106.
- Romero-Aranda R., Bondada B. R., Syvertsen J. P., Grosser J. W. (1997): Leaf characteristics and net gas exchange of diploid and autotetraploid *Citrus*. *Annals of Botany* 79: 153-160.

- Schulze E., Beck E., Müller-Hohenstein K. (2002): Plant Ecology. Springer. Berlin. 702 pp.
- Sicher R. C., Kremer D. F., Harris W. G., Baeuziger P. S. (1984): Photosynthate partitioning in diploid and autotetraploid barley (*Hordeum vulgare*). *Physiologia Plantarum* 60: 239-246.
- Soltis D. E. & Soltis P. S. (1999): Polyploidy: recurrent formation and genome evolution. *Trends in Ecology and Evolution* 14: 348-352.
- Soltis P. S & Soltis D. E. (2000): The role of genetics and genomic attributes in the success of polyploids. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 97: 7051-7057.
- Staňková H. (2005): Populační genetika polyploidního komplexu česneku planého (*Allium oleraceum* L.) na území České republiky [Master thesis, depon. in: Knihovna katedry botaniky PřF UP Olomouc].
- Šafářová L. (2004): Cytogeografie a cytoekologie polyploidního komplexu *Allium oleraceum* na území České republiky [Master thesis, depon. in: Knihovna katedry botaniky PřF UP Olomouc].
- Šafářová L., Duchoslav M. (2010): Cytotype distribution in mixed populations of polyploid *Allium oleraceum* measured at a microgeographic scale. *Preslia* 82: 107-126.
- Šafářová L., Duchoslav M. (in prep.): Cytogeography and genome size variation in polyploid geophyte *Allium oleraceum* (Alliaceae) over Europe.
- Šantrůček J. (1998): Vodní režim rostlin. – In: Procházka et al.: Fyziologie rostlin. Academia. Praha. 484 pp. (p. 52-88).
- Šesták Z., Čatský J. (1966): Metody studia fotosyntetické produkce rostlin. Academia. Praha. 394 pp.
- Šesták Z., Čatský J., Jarvis P. G. (1971): Plant photosynthetic production. Manual of methods. Dr W. Junk. N. V. Publishers. The Hague.
- Šetlík I., Seidlová L. and Šantrůček J. (1998): Fyziologie rostlin. Biologická fakulta Jihočeské univerzity. 331 pp.
- Terashima I. & Saeki T. (1985): A new model for leaf photosynthesis incorporating the gradients of light environment and of photosynthetic properties of chloroplasts within a leaf. *Annals of Botany* 56: 489-499.

- Terashima I. & Takenaka A. (1986): Organization of photosynthetic system of dorsiventral leaves as adapted to irradiation from the adaxial side. *Advances in Agricultural Biotechnology* 19: 219-230.
- Terashima I., Miyazawa S. I., Hanba Y. T. (2001): Why are sun leaves thicker than shade leaves? – consideration based on analysis of CO<sub>2</sub> diffusion in the leaf. *Journal of Plant Research* 114: 93–105.
- Timco M. P., Vasconcelos A. C. (1981): Euploidy in *Ricinus*. Euploidy effects on photosynthetic activity and content of chlorofyll-proteins. *Plant Physiology* 67: 1084-1089.
- Vyas P., Bish M. S., Miyazawa S., Yano S., Noguchi K., Terashima I., Funayama-Noguchi S. (2007): Effect of polyploidy on photosynthetic properties and anatomy in leaves of *Phlox drummondii*. *Functional Plant Biology* 34: 673-682.
- Warner D. A., Edwards G. E. (1988): C<sub>4</sub> photosynthesis and leaf anatomy in diploid and autotetraploid *Pennisetum americanum* (pearl millet). *Plant Science* 56: 85-92.
- Warner D. A., Edwards G. E. (1989): Effects of polyploidy on photosynthetic rates, photosynthetic enzymes, contents of DNA, chlorophyll, and sizes and numbers of photosynthetic cells in the C<sub>4</sub> dicot *Atriplex confertifolia*. *Plant Physiology* 91: 1143-1151.
- Warner D. A., Edwards G. E. (1993): Effects of plyploidy on photosynthesis. *Photosynthesis Research* 35. 135-147.
- Warner D. A., Ku M. S. B., Edwards G. E. (1987): Photosynthesis, leaf anatomy, and cellular constituents in the polyploid C<sub>4</sub> Grass *Panicum virgatum*. *Plant Physiology* 84: 461-466.
- Wood T. E., Takebayashi N., Barker M. S., Mayrose I., Greenspoon P., B., Rieseberg L. H. (2009): The frequency of polyploid speciation in vascular plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 106: 13875-13879.



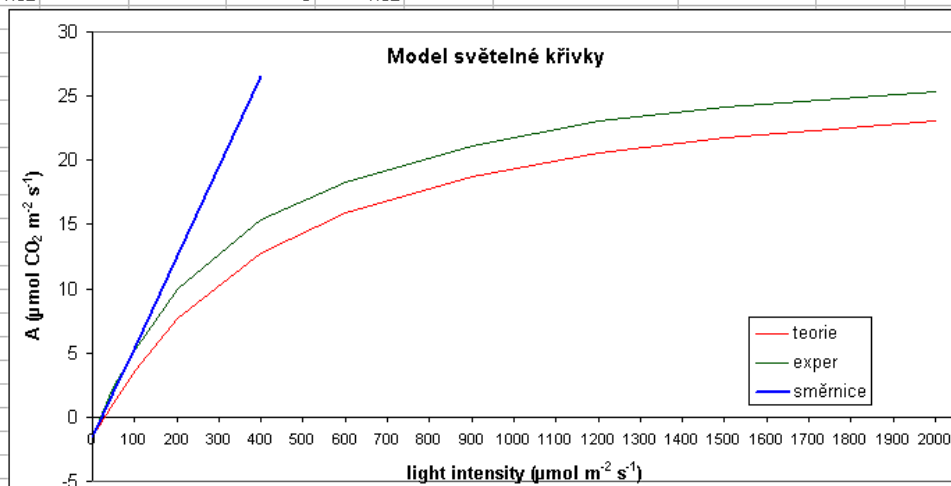
## 7. PŘÍLOHY



Příloha 1: Li-6400 Portable Photosynthetic System  
(Anonymous 2005)

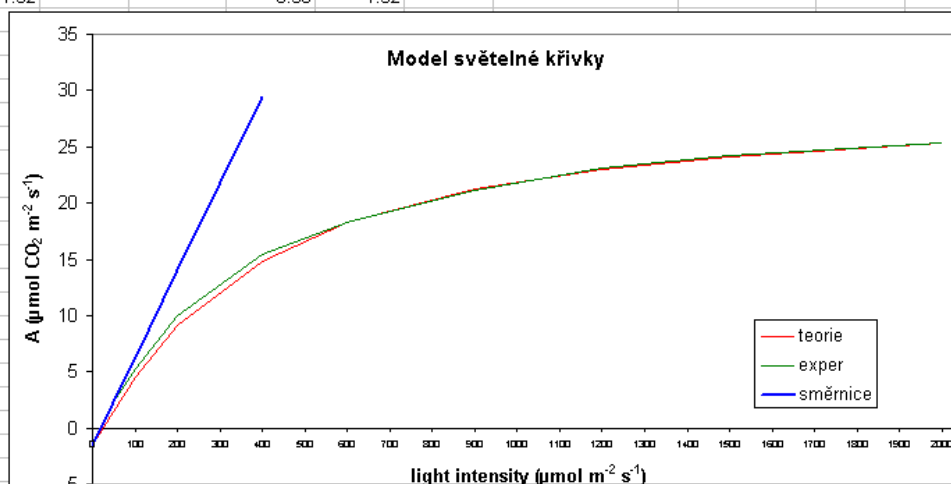
a

Model světelné křivky			Photo	Photo	korelační		výpočet		
proměnná			exper+Rd	exper	koeficient	výpočet a	kompenzačního	směrnice	
	teorie				(r <sup>2</sup> )	z přímkou proložené	bodu	hodnoty y	hodnoty x
						prvními dvěma body	(y=0)		
1999	23.11281		26.82	25.3					
1501	21.77917	a (D15)	25.72	24.2	0.998736	0.0774	19.63824289	-1.52	0
1200	20.56342	0.07	24.62	23.1				1.98	50
900	18.78204	b (D17)	22.62	21.1				5.55	101
600	15.91749	30.2	19.82	18.3				12.55	201
400	12.81125	c (D19)	16.92	15.4				26.48	400
201	7.715883	0.1	11.52	10					
101	3.719719		6.78	5.26					
50	1.066247		3.87	2.35					
0	-1.52		0	-1.52					



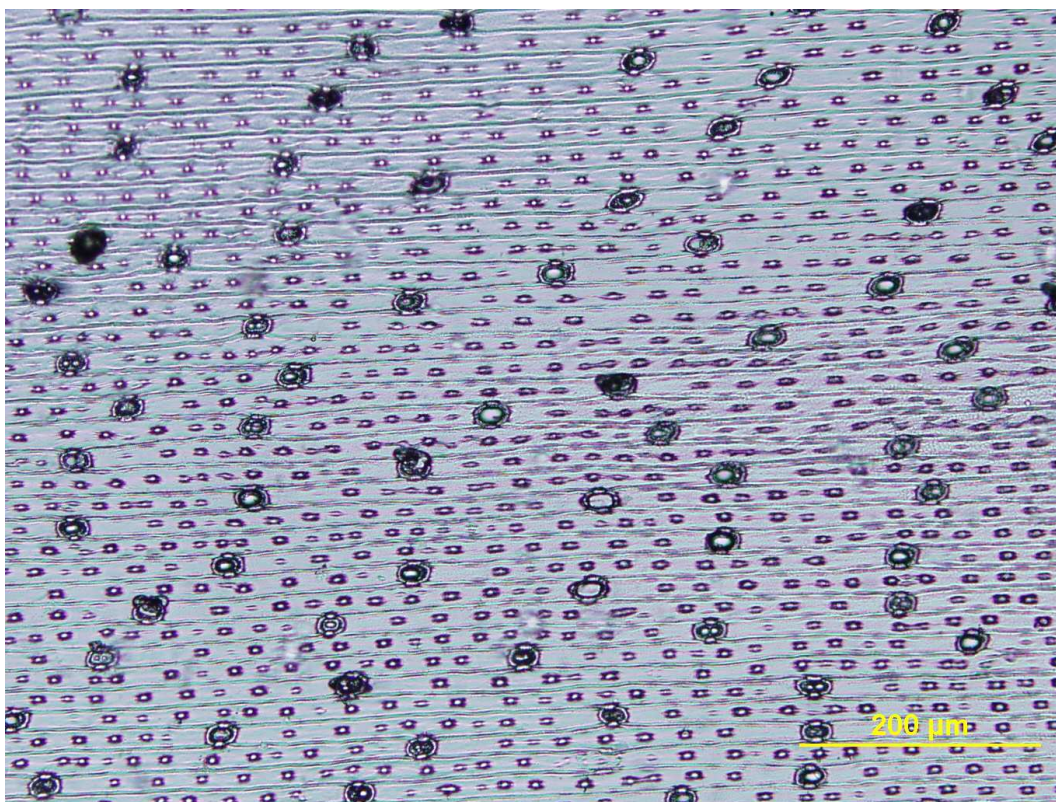
b

Model světelné křivky			Photo	Photo	korelační		výpočet		
proměnná			exper+Rd	exper	koeficient	výpočet a	kompenzačního	směrnice	
	teorie				(r <sup>2</sup> )	z přímkou proložené	bodu	hodnoty y	hodnoty x
						prvními dvěma body	(y=0)		
1999	25.31006		27.4	25.3					
1501	24.08873	a (D15)	26.3	24.2	0.999434	0.0774	19.63824289	-1.52	0
1200	22.93872	0.0774	25.2	23.1				2.35	50
900	21.19243	b (D17)	23.2	21.1				6.2974	101
600	18.24223	31.6	20.4	18.3				14.0374	201
400	14.87393	c (D19)	17.5	15.4				29.44	400
201	9.095784	0.29	12.1	10					
101	4.48616		7.36	5.26					
50	1.450845		4.45	2.35					
0	-1.52		0.58	-1.52					

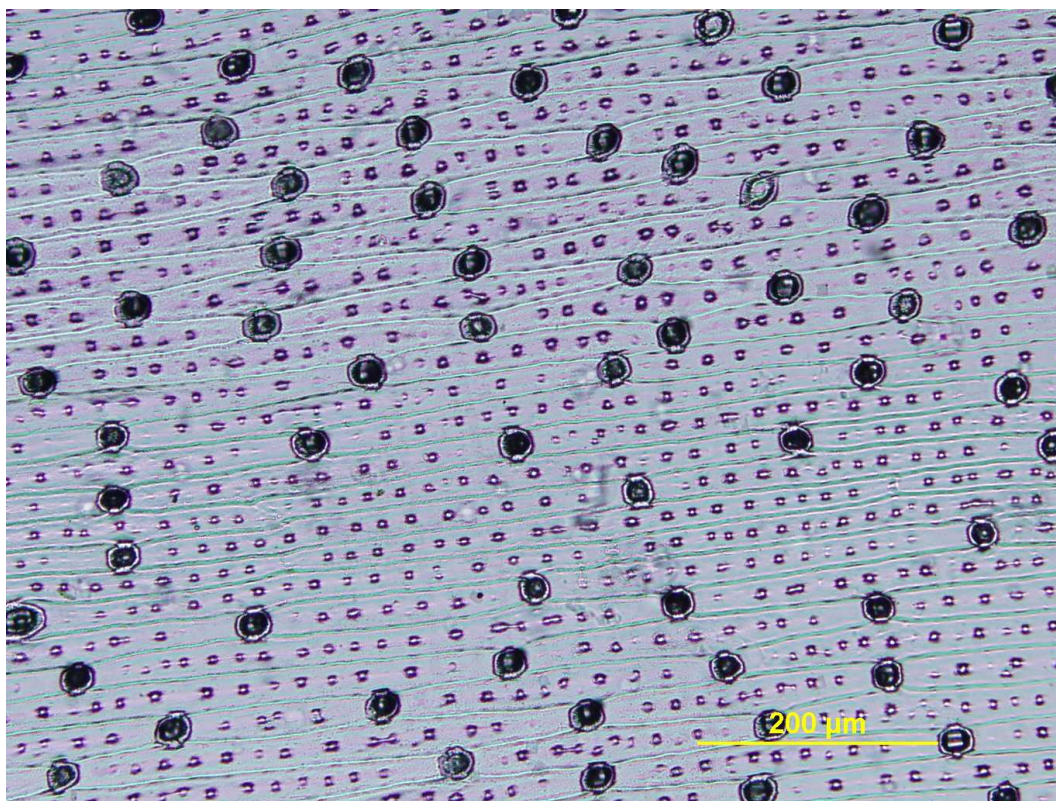


Příloha 2: Fitování křivky. a – před úpravou parametrů. b – po úpravě parametrů. Zelená křivka znázorňuje změřené hodnoty, červená teoretické hodnoty. a = směrnice přímky (zjevný kvantový výtěžek), b = horní asymptota křivky (maximální rychlost fotosyntézy), c = zakřivení křivky (index konvexity)



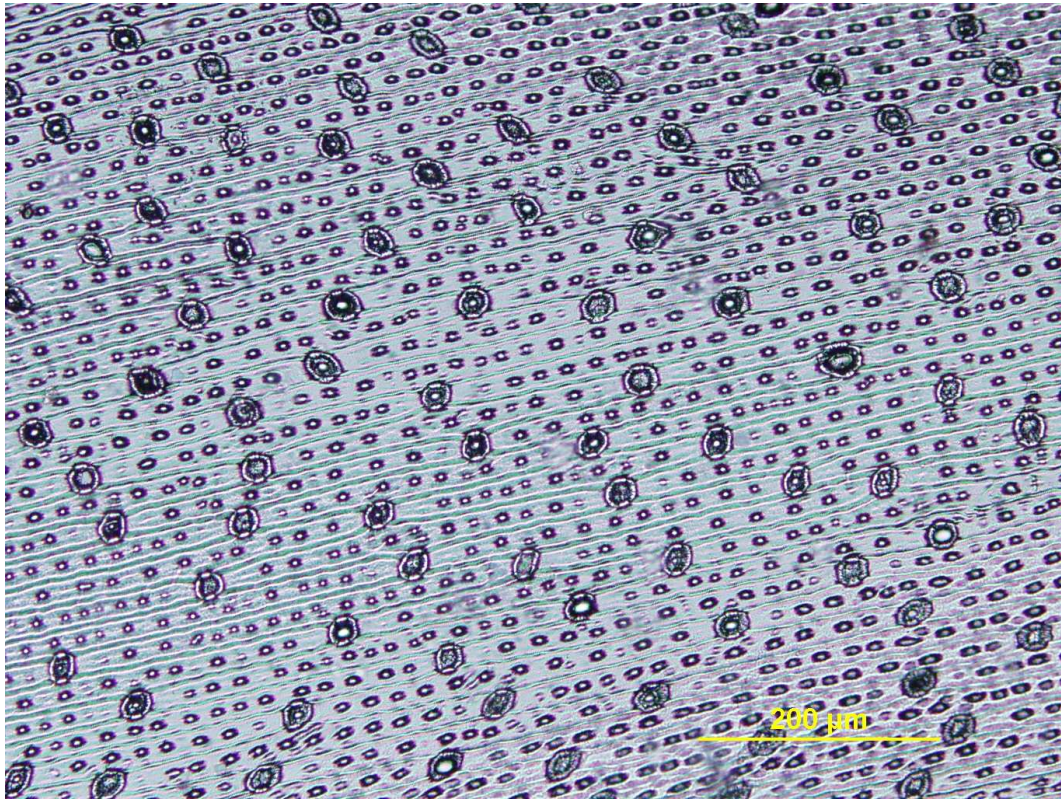


Příloha 3: Otiskový preparát svrchní strany tetraploidního listu *Allium oleraceum*. Zvětšení 10x.



Příloha 4: Otiskový preparát svrchní strany pentaploidního listu *Allium oleraceum*. Zvětšení 10x.





Příloha 5: Otiskový preparát svrchní strany hexaploidního listu *Allium oleraceum*. Zvětšení 10x.