

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI

PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA

KATEDRA BIOFYZIKY

CENTRUM REGIONU HANÁ PRO BIOTECHNOLOGICKÝ A ZEMĚDĚLSKÝ VÝZKUM

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Změny transpirace při úbytku vody v listech



Autor: Tereza Vačina

Studijní program: B1701 Fyzika

Studijní obor: Biofyzika

Vedoucí práce: doc. RNDr. Martina Špundová, Ph.D.

Konzultant: prof. RNDr. Jan Nauš, CSc.

Olomouc 2021

Bibliografická identifikace

Jméno a příjmení autora: Tereza Vačina

Název práce: Změny transpirace při úbytku vody v listech

Typ práce: experimentální

Pracoviště: Katedra biofyziky

Vedoucí práce: doc. RNDr. Martina Špundová, Ph.D.

Rok obhajoby práce: 2021

Abstrakt:

Transpirace rostlin je jedním ze základních fyziologických procesů, který rostlině umožňuje čerpat vodu a minerální živiny z půdy. Transpirace probíhá hlavně přes průduchy, částečně i přes kutikulu. Po oddělení od rostliny list reaguje zavíráním průduchů za účelem snížení transpirace a omezení ztráty vody. V některých případech dochází v oddělených listech před úplným uzavřením průduchů a poklesem transpirace k přechodnému zvýšení transpirační aktivity, což bylo potvrzeno i v námi provedených experimentech. Cílem práce bylo určení změn rychlosti transpirace listů během jejich zasychání a sledování změn tohoto procesu vlivem různých faktorů jako je stáří rostlin, ozářenost a pěstební podmínky. Transpirace byla měřena gravimetricky, jako doplňková metoda byl využit porometr. S transpirací také úzce souvisí hustota průduchů na povrchu listu, proto byl určen počet průduchů na mm^2 za pomoci mikroreliefové metody. K měření gravimetrickou metodou i k určení hustota průduchů byly využity listy tabáku virginského (*Nicotiana tabacum* L. cv. Samsun), jahodníku obecného (*Fragaria vesca* L.) a merlíku bílého (*Chenopodium album* L.).

Klíčová slova: gravimetrie, porometrie, průduchy, oddělené listy

Počet stran: 61

Počet příloh: 0

Jazyk: čeština

Bibliographical identification

Author's first name and surname: Tereza Vačina

Title of thesis: **Transpiration changes during leaf water loss**

Type of thesis: experimental

Department: Department of Biophysics

Supervisor: doc. RNDr. Martina Špundová, Ph.D.

The year of defense: 2021

Abstract:

Transpiration is one of the basic physiological processes by which plants can draw water and mineral nutrients from the soil. Transpiration takes place mainly through stomata, partly also through the cuticle. After detachment from the plant, the leaf responds by closing the stomata to reduce transpiration and water loss. After leaf detachment, the rate of transpiration can increase transiently before complete stomatal closing. This situation occurred in our experiments, too. The aim of the work was to determine changes in the rate of transpiration of leaves during their dehydration after detachment and to monitor changes in this process due to various factors such as plant age, irradiance and growing conditions. Transpiration was measured gravimetrically, a porometer was used as an additional method. The density of stomata on the leaf surface is also closely related to transpiration, therefore the number of stomata per mm² was determined by using the microrelief method. Leaves of tobacco (*Nicotiana tabacum* L. cv. Samsun), strawberry (*Fragaria vesca* L.) and white gooseberry (*Chenopodium album* L.) were used for gravimetric measurements and to determine the density of stomata.

Key words: gravimetry, porometry, stomatal, detached leaves

Number of pages: 61

Number of attachments: 0

Language: Czech

Poděkování

Ráda bych vyjádřila velké poděkování mé vedoucí práce paní doc. RNDr. Martině Špundové, Ph.D. za odborné vedení mé práce, trpělivost, ochotu, čas věnovaný konzultacím, cenné rady a informace.

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracovala samostatně, pod vedením doc. RNDr. Marty Špundové, Ph.D. a za použití literatury uvedené v závěru práce.

V Olomouci dne 13. 8. 2021

Kučina Tereza

Obsah

1) Úvod -----	1
2) Přehled problematiky -----	2
2.1) Transpirace -----	2
2.1.1) Transpirace v širší souvislosti a přehled možných přístupů k dané problematice -----	2
2.1.2) Fyzikální popis transpirace -----	3
2.1.3) Typy transpirace -----	4
2.2) Fyziologie rostliny a pletiva důležitá pro transpiraci -----	5
2.2.1) Transpirační pletiva -----	5
2.2.2) Průduchy (stomata) -----	5
2.2.3) Původ průduchů -----	6
2.2.4) Vývoj průduchů -----	7
2.2.5) Anatomie listů a průduchů -----	8
2.3) Příjem a výdej energie rostlinou -----	11
2.4) Faktory související s transpirací rostliny a vodivosti průduchů -----	12
2.4.1) Vysoká teplota -----	12
2.4.2) Hustota toku fotonů -----	13
2.4.3) Plyny -----	14
2.4.4) Relativní vlhkost vzduchu -----	15
2.4.5) Změny rychlosti transpirace rostlin v průběhu dne a sezóny -----	15
2.4.6) Efekt oddělení části rostliny na transpiraci -----	16
5) Rostlina a voda -----	17
2.5.1) Rozdělení rostlin podle vztahu k vodě a k vlhkosti -----	17
2.5.2) Vlastnosti vody v souvislosti s rostlinou -----	18
2.5.3) Vodní potenciál rostlinné buňky -----	19
2.6) Transpirace v podmínkách nedostatku vody -----	20
2.6.1) Reakce na úbytek vody v půdě, rostlině, listu -----	21

2.6.2) Vliv prostředí na vysychání rostlin a listů -----	22
2.6.3) Hmotnostní pokles v důsledku vysychání u listů různého stáří-----	23
2.6.4) Kutikula jako ochrana listu proti vysychání a měření kutikulární transpirace -----	24
2.6.5) Sucho a residuální transpirace -----	25
2.7) Četnost průduchů a ztráta vody v důsledku transpirace, metody jejich stanovení -----	26
2.7.1) Stanovení četnosti průduchů -----	26
2.7.1.1) Mikroreliefová metoda -----	26
2.7.2) Metody stanovení ztráty vody v důsledku transpirace -----	27
2.7.2.1) Gravimetrické stanovení rychlosti úbytku vody-----	27
2.7.2.2) Porometrická metoda -----	28
2.7.2.3) Gazometrická metoda -----	29
3) Cíl práce -----	30
4) Metody a rostlinný materiál -----	31
4.1) Rostlinný materiál -----	31
4.2) Metodika-----	32
4.2.1) Měření počtu průduchu na mm ² u listu tabáku za využití mikroreliefové metody-----	32
4.2.1.1) Počítání struktur -----	32
4.2.2) Stanovení úbytku hmotnosti listů po jejich oddělení -----	33
4.2.3) Měření rychlosti transpirace pomocí porometru -----	35
5) Výsledky -----	36
5.1) Měření počtu průduchů na mm ² -----	36
5.2) Měření transpirace stanovením úbytku hmotnosti v důsledku ztráty vody-----	38
6) Diskuse -----	50
7) Závěr -----	55
8) Seznam literatury-----	57

1) Úvod

Transpirace je jedním ze základních fyziologických procesů, který rostlině umožňuje čerpat vodu a minerální živiny z půdy. Probíhá především přes průduchy, částečně však také přes kutikulu. Poměr těchto dvou transpiračních cest se liší u různých typů rostlin a listů.

Transpirací je také regulován objem vodní páry vyloučené do okolí na základě vnějších faktorů, jako je množství vody v půdě, relativní vlhkost vzduchu, teplota, ozáření atd. Vyhodnocením aktuálního působení těchto vlivů na rostlinu je možné získat významné informace vypovídající o jejím stavu. Jelikož průduchy přispívají regulací výdeje vody k odolnosti rostlin vůči suchu, mají díky tomu velký vliv na prosperitu rostlin, a tudíž i celých ekosystémů (Anderegg 2017).

Tato práce je zaměřená na změny transpirace vlivem oddělení listů od rostliny. Tyto změny podle literatury mohou odrážet toleranci rostlin vůči suchu, i když jsou k měření použity oddělené listy. Cílem bylo sledování úbytku hmotnosti listů a změn rychlosti transpirace po jejich oddělení od rostliny a následném vysychání. Zaměřili jsme se na různé faktory, které ztrátu vody z listu mohou ovlivnit, jako je stáří listů, pěstební podmínky rostlin a ozáření listu po jeho oddělení od rostliny.

2) Přehled problematiky

2.1) Transpirace

2.1.1) Transpirace v širší souvislosti a přehled možných přístupů k dané problematice

Transpirace rostlin je důležitou součástí živé přírody. Mimo jiné přispívá k vyrovnávání teplotních gradientů v ekosystémech. Disipace energie přeměnou dopadajícího slunečního záření do latentního tepla výparu, za současné recyklace živin a vody v daném ekosystému, je nedílnou součástí globálního vodního cyklu a napomáhá regulaci tepelné rovnováhy. Rostliny tedy mají díky evolučně uzpůsobeným mechanismům na základě fyzikálních zákonitostí ojedinělou schopnost ovlivnit okolní životní podmínky v souladu s potenciálem prosperovat co nejlépe.

V některých dosavadních studiích se setkáváme v souvislosti s vegetací s pojmem „transpirační motor“ Země, toto označení je výstižné, neboť ročně předávají terestrické rostliny do atmosféry až $32 \cdot 10^3$ miliard tun vodní páry, což odpovídá asi 30 % srážek dopadajících na pevninu. Tím rostliny zdvojnásobují množství vodní páry v atmosféře oproti hypotetickému stavu bez transpirační činnosti (Hetherington a Woodward 2003). Tento vydatný globální tok vodní páry prochází přes kapiláry velmi malých rozměrů, poloměr nejmenších z nich může dosahovat velikosti pouze $r \approx 10^{-7}$ – 10^{-8} m, k stomatálním pórům na povrchu listů a představuje základní ekosystémový prvek, který přispívá ke globálnímu vodnímu cyklu a regulaci klimatu.

Jelikož je transpirace rostlin komplexní biologický proces, nabízí se více možných přístupů k pohlížení na něj. Role genů v hospodaření rostlin s vodou je součástí molekulárního pohledu na problematiku. Detailní popis struktury a funkce listů, kmene či stonku a kořenů je součástí fyziologického pohledu. V případě listů je pozornost zaměřována na vlastnosti jednotlivých druhů pletiv, mezibuněčných prostor, průduchů atp. Kmen obsahuje vodivá pletiva a realizuje se přes něj transport vody, živin, fytohormonů a asimilátů. Zaměříme-li se v rámci fyziologického přístupu na kořeny, je velmi důležité zvážit vliv rhizosféry, tedy oblasti povrchu a nejbližšího okolí kořenů, kořenových vlásků a bariér pro vstup živin a vody do rostliny.

V rámci ekologického a krajinářského pohledu je sledován komplexní vegetační pokryv určitého území, popřípadě strom či bylina jako celek. Zde se zdůrazňuje spíše problematika interakce s okolím, tedy půdou, klimatem a dalšími živými organismy. Naopak se již zanedbávají otázky týkající se vnitřního prostředí rostliny. Tento přístup úzce souvisí s problematikou změny

klimatu, výživy lidstva či estetikou krajiny. Nevýhodou je neopakovatelnost experimentů, neexaktnost a vliv nespécifikovatelných proměnných.

2.1.2) Fyzikální popis transpirace

Vodní pára z rostliny do okolního prostředí difunduje. Tento děj nastává v těsné blízkosti povrchu listu, respektive v tzv. hraniční vrstvě, kde okolní vzduch proudí laminárně a jeho rychlost je téměř nulová, se vzdáleností od povrchu pak narůstá. Transpiraci je tedy možno také považovat za výdej vodní páry difuzí. Rychlost transpirace, tedy difuze, splňuje první i druhý Fickův zákon. Podoba prvního Fickova zákona v obecném tvaru je

$$J = -D_v \nabla c, \quad (1)$$

kde J je hustota difuzního toku vodní páry, tedy rychlost transpirace, D_v [$\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$] je difuzní koeficient vodní páry v nepohyblivém vzduchu a ∇c je gradient koncentrace vodní páry. Výsledek výpočtu odpovídá množství difundované vodní páry vztažené na listovou plochu za čas. V praxi se pro usnadnění využívá výpočtu rychlosti transpirace, tedy difuze, pouze pro jeden rozměr, kupříkladu osu z kolmou k rovině listu. Vektorová rovnice se tedy zjednoduší na skalární tvar

$$J = -D_v \frac{\partial c}{\partial z}. \quad (2)$$

Druhý Fickův zákon se uvádí ve tvaru

$$\frac{\partial c}{\partial t} = D_v \Delta c, \quad (3)$$

pro jeden rozměr pak platí vztah

$$\frac{\delta c}{\delta t} = D_v \frac{\delta^2 c}{\delta z^2}. \quad (4)$$

V případě transpirace se jedná o transport vodní páry přes relativně tenkou plochu, kdy je difuzní vzdálenost velmi krátká. Tato tenká plocha však odděluje dvě prostředí s výrazně odlišnou koncentrací – prostředí vnějšího okolí listu s koncentrací c_a a vnitřní prostředí listu s vysokou koncentrací vodní páry c_l , jež se určuje nepřímo. Z tohoto důvodu není tedy potřeba řešit druhý Fickův zákon a pro první Fickův zákon může být namísto derivace použit rozdíl koncentrací dělený délkou difuzní cesty z ,

$$J = D_v \frac{(c_l - c_a)}{z}. \quad (5)$$

Dále zavádíme difuzní vodivost g_v [$\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$] dle vztahu $\frac{D_v}{z}$.

Hustota toku vodní páry neboli rychlost transpirace E [$\text{mmol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$] je potom daná vztahem

$$E = g_v(c_l - c_a). \quad (6)$$

2.1.3) Typy transpirace

Listová plocha se na celkové transpiraci rostliny podílí až z 80 %. Tento podíl se může v průběhu vegetačního období i ontogeneze měnit. V rámci listové transpirace rozlišujeme transpiraci stomatální, peristomatální a kutikulární.

Nejnámějším a pro rostlinu zpravidla nejdůležitějším typem je transpirace stomatální. V buněčných stěnách mezofylu se voda mění na vodní páru, která se do okolní atmosféry dostává zejména přes průduchy. Rychlost transpirace je regulována především pohybem průduchů, ale také jejich tvarem a množstvím na mm^2 (Jones 1998). Peristomatální transpirace nastává v případě, kdy část vodní páry uniká přes buněčné stěny svěřacích buněk průduchů místy, kde je buněčná stěna zeslabená (Penka 1985).

Pokožka je v místech, kde se nenachází průduchy, krytá kutinem tvořícím voskovou vrstvu na povrchu epidermis, tzv. kutikulu. Tato ochranná vrstva je pro vodní páru téměř nepropustná. Avšak, jestliže je tato vrstva tenčí, vyskytují se v ní trhlinky či póry, transpirace probíhá částečně také přes kutikulu. Kutikulární (pokožková) transpirace je obzvláště významná u rostlin, které postrádají průduchy, kupříkladu u některých mechorostů či kaprad'orostů. Pakliže se na listech průduchy vyskytují, vypaří se přes kutikulu méně než 10 % vody. Jestliže je kutikula dostatečně satureována vodními párami a zároveň jsou průduchy uzavřeny, děje se tak především v noci, či obdobích sucha, nastává kutikulární transpirace. Stáří listů hraje také významnou roli, u mladých listů může kutikulární transpirace tvořit až 50 % celkové transpirace. Dalším určujícím faktorem je vegetační období. V letních měsících dosahuje kutikulární transpirace až 25 % v případě stromů, u keřů a bylin v nižších patrech porostu může být její podíl až 75 %. Během vegetačního období závisí kutikulární transpirace na vnějších podmínkách méně oproti transpiraci stomatální.

Mimolistová transpirace může probíhat stonkem olistěného prýtu, asimilujícími stonky a vzdušnými kořeny či sekundární kůrou, tedy peridermem (Penka 1985). Peridermální (lenticelární) transpirace nastává tehdy, když vodní pára uniká lenticelami (čočinkami), které navazují na mezibuněčné prostory vnitřních pletiv, ty se vyskytují zejména na kmenech a větvích. Lenticely se vyskytují v některých případech i na kořenech a plodech. Díky charakteristickému tvaru mohou posloužit k určení rostlin.

2.2) Fyziologie rostliny a pletiva důležitá pro transpiraci

2.2.1) Transpirační pletiva

Uspořádáním vodivých pletiv do provazců vzniká cévní svazek, jejich soustava ve stonku a kořeni tvoří spolu se základními pletivy centrální válec (stélé), v listech se projevuje jako žilnatina (nervatura). Tato pletiva jsou často doprovázena parenchymatickými a sklerenchymatickými buňkami. Svazky cévní se řadí mezi pletiva vodivá a zároveň zpevňovací, jelikož jsou oporou pro mechanicky namáhané části rostliny (např. dřevní sklerenchym). Cévní svazky se skládají z floému (lýková část) a xylému (dřevní část).

Voda je přemísťována pletivem zvaným xylém v kapalně fázi, následně pak skrze celulósově mikrokapiláry buněčných stěn mezofylových buněk, kde dochází k odparu až k průduchům. Jestliže jsou průduchy otevřeny, probíhá stomatální transpirace.

Součástí xylému jsou cévy a cévice. V případě cév (trachejí) se jedná o široké trubicovité buňky s částečně nebo zcela zdřevnatělými stěnami. Jejich příčné přepážky jsou rozpuštěny a umožňují tak neomezený průstup transpiračního proudu. Cévice neboli tracheidy jsou vývojově starší než cévy. Jedná se o úzké trubicovité buňky s částečně nebo zcela zdřevnatělými stěnami. Společná přepážka je zešikmená a obsahuje pouze dvůrkaté tečky.

2.2.2) Průduchy (stomata)

Průduchy jsou stěžejní pro plynovou výměnu, ovlivňují difuzní vodivost listu a tím také výdej H_2O ve formě páry při transpiraci. Zajišťují také příjem CO_2 pro fotosyntézu. Jestliže jsou průduchy uzavřené, probíhá fotosyntéza jen ve velmi malé míře.

Průduch je otvor v epidermis, jež je ohraničen dvěma svěracími buňkami. Jedná se o speciální typ pokožkových buněk, které na základě změn objemu vody umožňují změnu velikosti tzv. průduchové štěrbin. Zvětšení objemu (zvýšení turgoru úměrné příjmu vody) svěracích buněk

působí otevření stomat, zatímco smršťování (snížení turgoru úměrné ztrátě vody) svěracích buněk je příčinou jejich uzavření (Yang 2020).

2.2.3) Původ průduchů

Tyto póry mikroskopické velikosti vznikly před více než 400 miliony let a podílely se tak díky účinné výměně plynů a regulaci obsahu vody v rostlinách na rozšíření suchozemské vegetace na Zemi (Berrya kol. 2010). Konkrétně se nejstarší nalezené fosilie s rozpoznatelnými průduchy a vaskulární tkání řadí do doby před 418 miliony let (Edwards a kol. 1992). Jednalo se o vyšší cévnatou rostlinu již vyhynulého rodu *Cooksonia*, která znamenala začátek nového způsobu života rostlin založeného na využívání vody a živin uložených v půdě. Přestože dříve bylo suchozemské prostředí planety pro život nehostinným místem, dnes se již pevninská fotosyntetická produkce vyrovná té oceánské. V souvislosti s tímto poznatkem je potřeba zohlednit skutečnost, že pevnina tvoří pouze jednu třetinu planety (Field a kol. 1998).

Univerzálně užívané označení pro průduch, stoma, pochází z řečtiny, kde znamená „ústa“. De Canolle tento pojem převzal jakožto původně použitý Heinrichem Linkem k označení pórů na listech. Konvenčně je dnes používán jakožto označení pro samotný pór a svěrací buňky okolo něj. Termín „stomatální komplex“ pak zahrnuje také sousední buňky.

První zaznamenaný výzkum vztahující se k průduchům je datován k roku 1660 a provedl jej fyzik Edmé Marriotte, který se pokoušel určit rychlost odparu z listů. První mikroskopické pozorování pórovitých struktur na pokožce listu bylo provedeno Robertem Hookem (1635-1703) a první publikovaný výzkum týkající se přímo průduchů náleží Marcello Malpighimu v jeho rukopise *Anatome Plantarum* (1675). Popis stomat v tomto díle však nezahrnuje žádnou zmínku o jejich funkci.

Výzkum průduchů, zvláště pak regulace příjmu CO₂ a ztráta vody transpirací, dále zaujal řadu eminentních vědců jako například Stephena Halese (1677 – 1761), de Saussurea (1767 – 1845) a Dutrocheta (1776 – 1847).

Vynikající studie struktury a funkce průduchů byly v 19. století provedeny von Mohlem. K výzkumu průduchů až do dnešních dnů přispěla spousta dalších vědců. Průlomovým bylo kupříkladu první využití průtokového pórometru, jehož metodiku zpracoval Darwin a Pertz v roce 1911. Dnes výzkum sahá až ke snaze nalézt geny, jež ovlivňují uzavírání průduchů, v naději, že by tak bylo do budoucna možné ovlivnit produkci rostlinné biomasy či toleranci rostlin vůči stresu

způsobenému např. zaplavením, nedostatkem živin, příliš vysokou ozářeností, nízkými teplotami atp. (Willmer a Fricker, 1996).

2.2.4) Vývoj průduchů

Na základě ontogenetického vývoje lze průduchy rozdělit do dvou skupin, stomata haplocheilická a syndetocheilická. Původ tohoto rozdělení sahá až do roku 1933 a jeho autorem je švédský botanik Rudolf Florin.

Průduch vzniká v rané fázi vývoje listu z dělivého pletiva, jež je součástí tuniky a nazývá se meristemoid. Tyto buňky prochází nesymetrickým dělením (inadekvátní mitóza) na jednu velkou epiteliální a jednu malou mateřskou buňku svěřacích buněk (Vinter 2008).

Přítomnost vmezeřené velké epiteliální buňky má svůj význam, neboť poskytuje základ pro efektivní výměnu iontů a vody buňkám svěřacím a tím tedy podporuje jejich schopnost regulovat otevírání pórů. Důležité je také, že se izočáry koncentrací vody a CO₂ nad průduchy nepřekrývají, buňky tedy zároveň poskytují dostatečný prostor k efektivní výměně plynů (Bird a Gray 2003). Rostliny tedy mají rozdílný počet průduchů na plochu listu, avšak jsou vždy od sebe odděleny minimálně jednou buňkou (Geisler a kol. 2000).

Mateřská buňka se následně dělí na dvě buňky svěřací, kdy mezi nimi vznikne schizogenně průduchová štěrbin. Mateřská buňka se může rozdělit dvěma způsoby, což vede právě k rozdělení na dvě výše zmíněné skupiny:

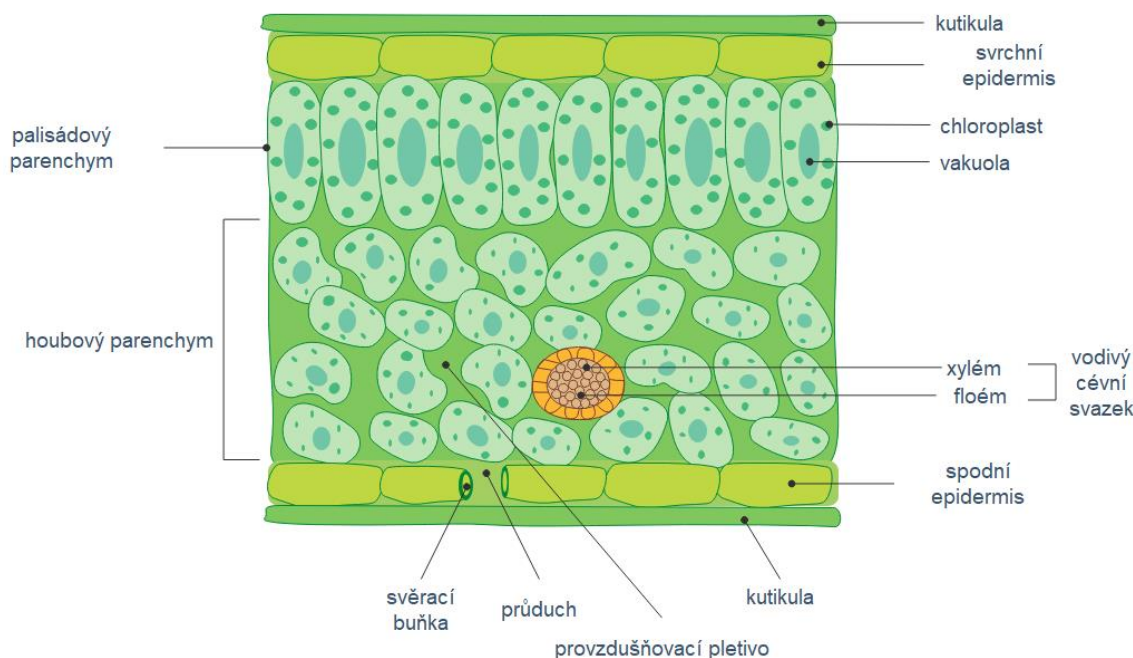
- 1) Stomata haplocheilická, kde jsou svěřací buňky vytvořeny mateřskou buňkou přímo. Meristemoid se před vytvořením mateřské buňky nerozděluje. Mateřská svěřací buňka i svěřací buňky stimulují sousední protodermální buňky k dělení a vytvoření vhodného okolí. Epidermální buňky obklopující průduch však nemají s buňkami svěřacími přímý společný ontogenetický původ. Tento typ průduchů se vyskytuje kupříkladu u jehličnanů (*Pinophyta*), cykasů (*Cycadophyta*), lilí (*Lilium*) či kosatců (*Iris*).
- 2) Stomata syndetocheilická, zde se mateřská buňka dělí několikrát. Vznikne tedy populace buněk, v níž se až buňka prostřední rozdělí na svěřací buňky. Okolní buňky se následně mění na buňky vedlejší. Takovéto buňky se od běžného pokožkového epitelu liší tvarem i velikostí a podílejí se na procesu otevírání a uzavírání průduchů. Tím je tvořen průduchový aparát a svěřací i vedlejší buňky mají tedy společný ontogenetický původ.

Tyto dva základní modely mohou mít napříč různými druhy mnoho modifikací.

Přestože obecně průduchy vznikají ve specializované epidermální vývojové linii, ve které dochází k organizované sérii buněčných dělení a kde každé přechodné stadium buňky znamená změny v morfologii, akumulaci transkriptů a lokalizaci proteinů, je vývoj průduchů napříč různými skupinami rostlin odlišný. Dále se zaměříme na oddělení rostlin krytosemenných (*Magnoliophyta*).

2.2.5) Anatomie listů a průduchů

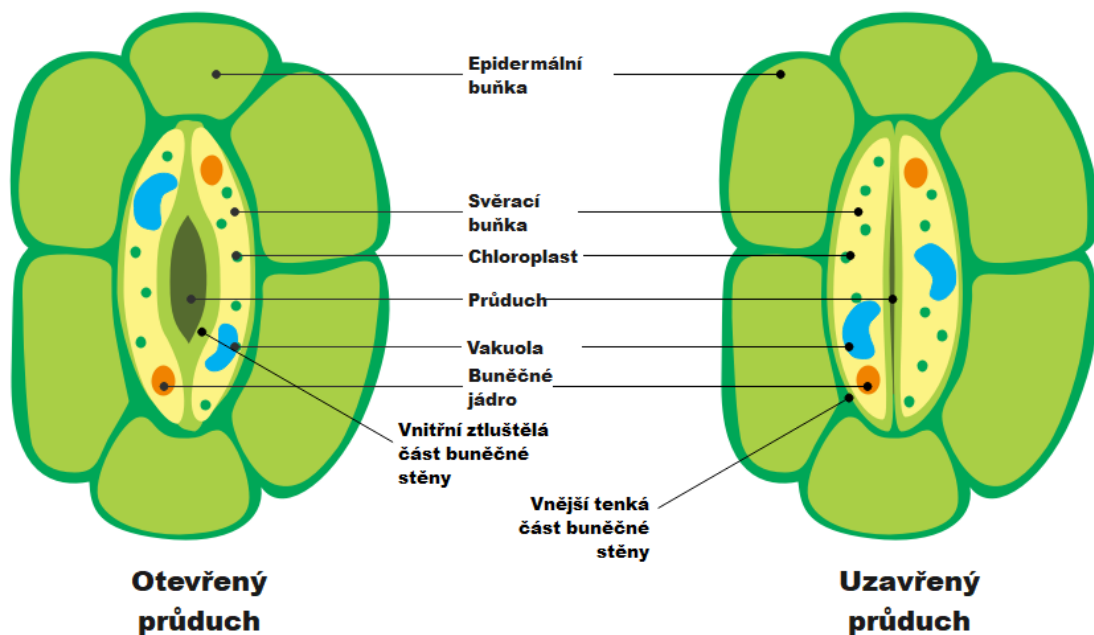
List (*folium*, *fylom*) je důležitým vegetativním zeleným orgánem rostlin, který je tvořený epidermis, parenchymatickou tkání označovanou mezofyl a vaskulárním systémem. Anatomicky je uzpůsobený svým hlavním funkcím, tedy optimálnímu zachycení a využití světelné energie pro fotosyntézu, plynové výměně, udržování vhodné teploty pro zachování stability fyziologických procesů, zachování strukturální integrity při vystavení poškozujícím mechanickým vlivům jako je gravitace, vítr, srážky či působení býložravců, transportu vody, živin a produktů fotosyntézy. Graficky znázorněná anatomická stavba listu je na Obr. 1.



Obr. 1: Schéma anatomické stavby listu.

Průduchy jsou součástí epidermální tkáně, která obsahuje několik různých typu buněk. Jedná se o buňky pokožkové, kterých je nejvíce a současně jsou nejméně specializované a největší, dále pak svěrací buňky, podpůrné buňky průduchů a buňky trichomů.

Průduchy slouží k regulaci výměny plynů, u většiny vyšších rostlin transpirace probíhá především skrze ně. Výdej vodní páry přes pokožku, tedy kutikulární transpirace, oproti tomu činí nanejvýš 30 %. Obvykle je to ale mnohem méně, u sukulentů jsou to pouze 1–2 %. Výdej vodní páry přes lenticely je u dřevin zcela zanedbatelný (Vinter 2008). Přebytečná voda bývá také z listů vylučována v kapalně formě vodními skulinami neboli hydatodami, které jsou lokalizovány na špičce listů nebo na okraji zoubků. Graficky znázorněná anatomická stavba průduchů je znázorněná na Obr. 2.



Obr. 2: Graficky znázorněná anatomická stavba průduchů.

Tvar průduchů, stejně tak struktura sousedních buněk, jsou u rostlin důležitým diagnostickým znakem. Vyšší rostliny mají průduchy tvořeny dvěma svěracími buňkami uzavírajícími průduchovou štěrbinu. U vývojově starších rostlin je pro svěrací buňky typický tvar ledviny, jedná se o průduch typu *Amaryllis*. U tohoto typu je kvůli nárokům na pružnost buněčná stěna na většině

své plochy tenká, pouze stěna přivrácená do průduchové štěrbinu je ztlustělá. Uspořádání celulózových mikrofibril obklopujících průduchovou štěrbinu je radiální.

Mikrofibrily jsou pevné, neumožňují tedy pohyb do délky, svěrací buňky se díky tomu nemohou rozšiřovat. Při zvýšeném turgoru dochází pouze k prodlužování. Svěrací buňky jsou pevně spojeny s pokožkovými buňkami, a tak při zvýšeném turgoru dochází k vyklenutí pružné hřbetní stěny a průduch se otevírá (Votrubová 2015).

U trav je typický tyčinkovitý tvar svěracích buněk, jedná se o typ *Graminae*. Konečné části jsou tenkostěnné, kulovitěho tvaru, zatímco vnitřní část buněk má opět stěny ztlustělé. Zvýšením turgoru dojde k oddálení ztlustělých částí a průduch se díky tomu otevírá.

Podle morfologicko-anatomické stavby se listy dělí na monofaciální, kde nelze rozlišit svrchní a spodní stranu listu, a listy bifaciální, u tohoto typu rozlišujeme stranu svrchní – adaxiální a stranu spodní – abaxiální. Podle lokalizace průduchů pak u tohoto typu rozlišujeme listy epistomatické, které mají průduchy pouze na svrchní straně listu, listy hypostomatické, kde se průduchy nachází pouze na spodní straně listu, a listy amfistomatické – průduchy jsou pozorovatelné na obou stranách listu. U dřevin jsou průduchy většinou na spodní straně listů, kdežto u bylin jsou vyvinuty na obou stranách.

U bifaciálních listů bývá adaxiální i abaxiální strana zřetelně odlišitelná. Epidermis strany adaxiální bývá zpravidla krytá silnější vrstvou kutikuly a vyskytuje se na ní méně průduchů než na epidermis strany spodní. U listového mezofylu rozlišujeme palisádový a houbový parenchym (Obr. 1). Jedno či několikavrstvý palisádový parenchym obsahuje velké množství chloroplastů a je přilehlý ke svrchní epidermis. Tyto těsně k sobě přiléhající buňky jsou protáhlé, válcovitého tvaru. Struktura houbového parenchymu umožňuje uvnitř listu dostatečný přísun CO₂, vstupujícího do listu difuzí přes průduchy, k mezofylovým buňkám. Kolaterální cévní svazky jsou pravidelně orientovány. Jejich xylémová část směřuje k adaxiální straně, floémová část pak ke straně abaxiální.

Rozměry průduchů se u různých rostlinných druhů liší, nejčastěji však dosahují délky či šířky v rozmezí setin milimetrů, průměrně 0,01 – 0,06 mm. Jejich stavba i počet jsou taktéž u různých druhů rozdílné a jsou závislé na přizpůsobení se abiotickým faktorům, zvláště pak na vlhkosti půdy a ovzduší. Při vyšší vlhkosti vzduchu je četnost průduchů na mm² větší (Bakker 1991). Průduchy jsou součástí listové epidermis podílem v rozmezí 0,5 – 5 % a ve většině případů, jak již bylo zmíněno výše, jsou četnější na spodní straně (Driscoll a kol. 2006). Výzkum listů rajčat

pěstovaných ve fytokomoře za různých světelných podmínek, při $100 \text{ W}\cdot\text{m}^{-2}$ a $20 \text{ W}\cdot\text{m}^{-2}$, také prokázal, že rostliny pěstované při vyšší hustotě zářivého toku měly větší množství průduchů na mm^2 . Jejich počet byl u plně vyvinutého listu 30 průduchů na mm^2 , zatímco listy rostlin, které byly pěstované při $20 \text{ W}\cdot\text{m}^{-2}$, měly průměrně méně než jeden průduch na mm^2 . Toto zjištění bylo doloženo také pozorováním rostlin rostoucích v přírodních podmínkách (Gay 1974). Výzkum rýže (*Oryza sativa* L. cv. IR-30) vystavené různým koncentracím CO_2 prokázal, že rostliny pěstované v podmínkách s větší koncentrací CO_2 vykazovaly větší počet průduchů na mm^2 . Listy rostlin vystavených koncentraci $500 \mu\text{l CO}_2\cdot\text{l}^{-1}$ vykazovaly v porovnání s listy rostlin vystavených koncentraci $160 \mu\text{l CO}_2\cdot\text{l}^{-1}$ o 54 % více průduchů na abaxiální straně. Nárůst počtu průduchů úměrně koncentraci CO_2 se projevoval do koncentrace $330 \mu\text{l CO}_2\cdot\text{l}^{-1}$, dále už nebyl se zvyšující se koncentrací pozorován žádný signifikantní nárůst (Rowland-Bamford 1990).

Většina listů je dorzoventrálně zploštělá a mají jasně definovaný horní a spodní povrch. Horní část listu (neboli adaxiální strana) je uzpůsobená k zachycení světla, zatímco spodní povrch (neboli strana abaxiální) je zaměřená na výměnu plynů. Toto rozložení funkcionalit je také stěžejní pro vývoj listové čepele či laminy, ke kterému dochází podél hranice mezi abaxiální a adaxiální stranou (Kidner a Timmermans 2010).

2.3) Příjem a výdej energie rostlinou

Podíl příchozího slunečního záření interagujícího s listem se odvíjí od jeho orientace vůči Slunci, odrazivosti a propustnosti pro spektrum slunečního světla, závisí tedy na tloušťce listu, tvaru buněk, epikutikulárních voscích, rozvrstvení pletiv a biochemickém složení (Ustin a kol. 2007). Mezi dvěma tělesy o různých teplotách dochází k výměně energie následujícími procesy: konvekcí – prouděním, kondukcí – vedením a radiací – zářením. Konduktance se uplatňuje spíše u pevných látek, konvekce je významná v tekutinách, tedy v kapalinách a plynech.

Na rozhraní listu a okolního vzduchu dochází ke kondukcí. Jestliže fouká vítr, je teplo předané okolí dále odvedeno konvekcí, což umožňuje ještě neohřátému vzduchu dostat se do kontaktu s listem a přijmout od něj další energii (Taiz a Zeiger 2010).

Velké množství energie je vydáno z listu transpirací v podobě tepla vloženého do skupenské přeměny vody v páru, tedy latentního tepla.

Energetická bilance rostlin je ovlivněná také metabolickými procesy souvisejícími s respirací a fotosyntézou, avšak ty se podílí jen ve velmi malé míře, řádech procent, proto je lze v úvahách

o energetické bilanci zanedbat (Bresinsky a kol. 2013). Pro světelnou část fotosyntézy se využije maximálně 2 % energie dopadajícího slunečního záření, jež vyžadují metabolické procesy, zbylých 98 % rostlinu ohřeje.

Výše uvedené skutečnosti je možno shrnout následující rovnicí.

$$Q = R + C + E, \quad (7)$$

kde Q je celkové teplo systému, R je radiace, C značí konvekci a E evapotranspiraci. Jestliže dosáhne list rovnovážného stavu, součet jednotlivých komponent je roven nule.

Spektrum elektromagnetického záření Slunce lze rozdělit dle vlnové délky λ na:

- záření krátkovlnné (ultrafialové, $\lambda = 10\text{--}380$ nm),
- záření viditelné ($\lambda = 380\text{--}780$ nm),
- záření dlouhovlnné (infračervené, $\lambda = 0,78\text{--}1000$ μm).

Rozsah fotosynteticky aktivního záření (PAR) se pohybuje ve vlnových délkách přibližně odpovídajících viditelnému záření (380–720 nm).

Viditelné záření tvoří asi 45 % záření dopadajícího na zemský povrch, jeho podíl je vyšší při zatažené obloze. Může dosáhnout až 60 %.

Krátkovlnné záření dokáže rostlina velmi efektivně absorbovat. Jen malá část je odražená nebo propuštěná skrz. Kdyby neexistovaly způsoby, jak energii disipovat, teplota rostliny by rychle vzrostla daleko za fyziologicky udržitelné hranice.

Dlouhovlnné záření tvoří podstatnou část z celkově přijaté energie a rostlina jej pohlcuje ať už ze Slunce, tak z okolních těles (Gates 1980). Celková dlouhovlnná bilance může být jak pozitivní, převažuje-li absorpce, tak také negativní, převažuje-li emise. Právě dlouhovlnné záření lze podle Stefan-Boltzmannova zákona zaznamenat termokamerou jako povrchovou teplotu objektů.

2.4) Faktory související s transpirací rostliny a vodivosti průduchů

Otevírání a uzavírání průduchů je ovlivňováno jak vnějšími podmínkami, tak mechanickými vlivy způsobenými např. oddělením části rostliny.

2.4.1) Vysoká teplota

Rostliny disponují mechanismy, které je chrání před teplotním stresem. Protektivním mechanismem listů je jejich ochlazování pomocí transpirace. Po vystavení vysokým teplotám se

průduchy rychle otevřou, což vede k významnému snížení teploty listu. Výzkumy vedou ke zjištění, že se jedná o autonomní reakci epidermis, která se odlišuje od klasických signálních procesů reagujících na teplotu (Kosatki a kol. 2020). U vysokých teplot je otevření průduchů zprostředkováno H^+ -ATPázou a receptory modrého viditelného záření fototropinem1 (phot1) a fototropinem2 (phot2). Byť je k této termosenzitivní funkci fototropinů nutná aktivace modrým světlem, stomatální odezva na teplotu se projevuje také ve tmě. Je tomu tak díky dalším mechanismům aktivovaným na základě tepelné citlivosti svěřacích buněk.

Již v roce 1974 byl Ulrichem Brunnerem a Benno M. Ellerem proveden výzkum, který se zaměřoval na reakci průduchů pepřovníku betelového (*Piper betle L.*) vystaveného vysokým teplotám během noční fáze dne. Reakci rostliny posuzovali na základě stupně otevřenosti průduchů, který byl vypočítán z teploty listu, vlhkosti vzduchu a rychlosti proudění větru. Zjistili, že při teplotě listu 36-38 °C byly průduchy ve tmě jen mírně otevřeny. Pokud se však teplota zvýšila na 40 °C, dosáhly průduchy stupně otevřenosti, který se běžně vyskytuje jen ve dne. Průduchy se otevíraly po vystavení této teplotě rychle, s krátkou časovou prodlevou. Tato reakce nebyla závislá na délce předchozí temné periody. Vysoký stupeň otevření se po dlouhou dobu neměnil. Zároveň byla otevřenost výraznější při větší vlhkosti vzduchu (Brunner a Eller 1974).

2.4.2) Hustota toku fotonů

Dopad fotonů má významný vliv na transpiraci. Jelikož působí přímo na svěřací buňky, po jejich dopadu dochází k otevření průduchů. Průduchy reagují rozdílně na dopad fotonů různých vlnových délek. Předpokládá se, že červené světlo indukuje otevírání stomat skrze fotosyntézu probíhající uvnitř mezofylu a v chloroplastech svěřacích buněk. Modré světlo má na otevírání průduchů nejvýraznější dopad. V souvislosti s tímto procesem existují tři klíčové složky – receptor modrého světla, fototropin (phot1 a phot2), H^+ -ATPáza a K^+ kanály plazmatické membrány (Wang a kol. 2014). Fototropiny aktivují H^+ -ATPázu plazmatické membrány prostřednictvím fosforylace threoninu, na který se následně naváže 14-3-3 protein. Dále modrým světlem aktivovaná H^+ -ATPáza indukuje hyperpolarizaci plazmatické membrány, což vyvolá otevření iontových kanálů pro tok K^+ do svěřacích buněk. Vtok K^+ do svěřacích buněk stimuluje vtok vody, tedy zvýšení objemu a v důsledku toho také zvýšení turgoru, což umožní rozevření průduchů.

Fotoaktivní reakce průduchů způsobující jejich otevření nastává po východu Slunce, kdy je dostatek světla pro fotosyntézu, naopak po západu Slunce dochází k jejich uzavírání. Sukulenty

s metabolismem CAM jsou však výjimkou. Rostlinné druhy reagují v rámci fotoaktivního otevírání průduchů různě rychle, k uzavírání dochází typicky rychleji. Fotoaktivní otevírání průduchů závisí na teplotě a obsahu CO₂ a H₂O (Kincl a Krpeš 2000).

Závislost difuzního odporu průduchů, který je na povrchu listu kladen difuznímu toku vodní páry z listu, na hustotě toku fotonů je pro nízké hodnoty záření vyjádřena charakteristickou křivkou tvaru hyperboly a odpovídá rovnici

$$r_s = a + \frac{b}{I}; b = aI_x, \quad (8)$$

kde a je minimální odpor, I je hustota toku viditelného záření, I_x je hustota toku záření při r_s (odpor průduchů) rovnajícímu se $2a$ (Penka 1985). Minimální odpor průduchů, tedy maximální vodivost, nastává tehdy, když hustota toku záření přesáhne cca 10 % zářivého toku při plném slunečním světle (Stalfelt 1955).

Na hyperbole můžeme pozorovat tři fáze. Vysokému odporu průduchů ve tmě, v případě, že jsou průduchy uzavřeny, odpovídá fáze lineární. Postupnému otevírání či zavírání průduchů při rostoucím nebo naopak klesajícím toku záření, odpovídá nelineární fáze. Tato fáze je přechodná a nastává jako druhá. Třetí fáze je opět lineární a odpovídá nízkému odporu průduchů po jejich otevření.

Vodivost průduchů není ani ve tmě nulová, výše uvedený vztah tedy není ideální a křivka neodpovídá charakteristické hyperbole. Setkáváme se tedy i s touto podobou vztahu

$$g_s = A [1 - e^{-(c+dI)}], \quad (9)$$

kde g_s je vodivost průduchů, A je maximální vodivost, c je konstanta numericky totožná s hodnotou kutikulární a stomatální vodivosti ve tmě a dI je hustota toku viditelného záření.

2.4.3) Plyny

Na otevírání či uzavírání průduchů má vliv také přítomnost plynných látek ve vzduchu. Hlavním plynem ovlivňujícím otevírání průduchů je CO₂. Jeho nedostatek v okolním vzduchu vyvolává zavírání průduchů, což snižuje stomatální vodivost. Průduchy uzavírají také plynné látky se silným oxidačním účinkem, jako je např. ozón či peroxyacetylnitrát. Působení všech plynných látek na činnost průduchů je vždy závislé na hydratační úrovni mezofylových a epidermálních buněk listů a na vlhkosti vzduchu (Zelitch 1965, Rich a Turner 1972).

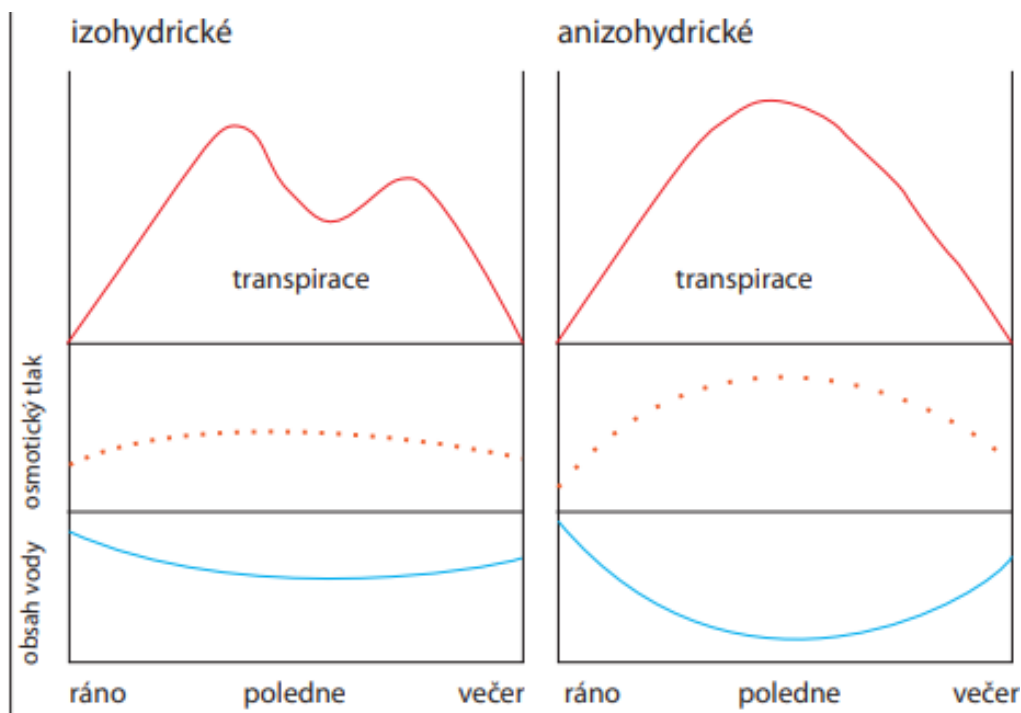
2.4.4) Relativní vlhkost vzduchu

Velký vliv vlhkosti vzduchu na otevřenost průduchů a transpiraci byl již doložen mnoha autory. Popis mechanismu tohoto působení se však v mnoha případech různí. Někteří autoři se domnívají, že se jedná o hydropasivní reakci způsobenou peristomatální transpirací, jiní předpokládají, že reakce průduchů na vlhkost vzduchu je hydroaktivní reakcí na nedostatek vody v epidermis, viz Obr. 4. Všichni autoři se však shodují, že závislost výdeje vody rostlinou na vlhkosti vzduchu je ovlivněná více faktory (Gutiérrez 1994, Grantz 1990, Lange 1971, Sheriff 1977).

2.4.5) Změny rychlosti transpirace rostlin v průběhu dne a sezóny

Pokud rostlina netrpí nedostatkem vody, dosahuje rychlost transpirace maxima okolo poledne. Jestliže se vodní potenciál rostliny sníží, může však okolo poledne nastat naopak transpirační minimum. Rostliny nejvíce transpirují v průběhu vegetačního období. Rychlost transpirace se snižuje se stárnutím rostliny (Penka 1985).

V souvislosti s vodní bilancí v průběhu dne rozlišuje teorie dva základní druhy genotypů. Genotypy s anizohydrickou charakteristikou zachovávají při klesajícím vodním potenciálu půdy maximální fotosyntetický výkon a stomatální vodivost i v situaci, kdy je vodní potenciál listů nízký. Izohydrické genotypy reagují rychle na vodní deficit půdy uzavíráním průduchů, tím snižují fotosyntetický výkon a transpiraci. Díky tomu zachovávají vyšší vodní potenciál listů. Mnoho genotypů však inklinuje k jedné i druhé charakteristice (např. podle různých ročních období), proto je určení častokrát velmi nejednoznačné a tyto rostliny jsou uváděny jako „izo/anizohydrické“. Možné průběhy transpirace během dne jsou znázorněny na Obr. 3.



Obr. 3: Schéma teoreticky možných průběhů transpirace u dvou základních genotypů využívajících rozdílných mechanismů vodní bilance rostlin. Ve spodní části obrázku je znázorněn denní průběh obsahu vody v rostlině a osmotického tlaku uvnitř svěřacích buněk, v horní části obrázku je znázorněn průběh transpirace (převzato a upraveno z Larcher 1988).

2.4.6) Efekt oddělení části rostliny na transpiraci

Po oddělení části rostliny (typicky listu nebo výhonu) zpravidla dochází v důsledku úbytku vody k zavírání průduchů a poklesu rychlosti transpirace. Nicméně v řadě případů bývá zaznamenán přechodný nárůst rychlosti transpirace, zejména v počátečních fázích po oddělení. Tento jev může být charakterizován třemi způsoby: 1) maximálním nárůstem rychlosti transpirace, 2) dobou trvání dočasného nárůstu rychlosti transpirace, 3) množstvím odpařené vody během dočasného nárůstu rychlosti transpirace (Falk 1966). Otevření průduchů po oddělení části rostliny bylo pozorováno již Darwinem v roce 1898 a následně potvrzeno dalšími vědci (Pertz, Laidlaw, Knight). Prvním vědcem, který se na tuto problematiku zaměřil a nárůst transpirace kvantifikoval, byl Ivanov (Ivanov a kol. 1950). Měření provedl na dubech a pět až sedm let starých borovicích a smrcích pěstovaných ve květináčích. Zjistil, že dočasné zvýšení rychlosti transpirace dosahovalo maximálně 30 % oproti výchozímu stavu po dobu pěti až deseti minut po oddělení. Jev vysvětlil tak, že transport vody ze spodní části výhonku nahoru do listu byl usnadněn díky snížení kohezního

napětí, v důsledku čehož došlo ke zvýšení transpirace. Průduchy podle něj reagovaly příliš pomalu na to, aby jejich otevření bylo příčinou nárůstu transpirace. Předpokládal tedy, že příčinou byla změna tlaku vodní páry ve stěnách mezofylových buněk v důsledku náhle sníženého kohezního napětí. Vodní pára pak unikala skrze plně či částečně otevřené průduchy. Tomuto názoru však konkuruje vysvětlení předpokládající, že k otevření průduchů po oddělení části rostliny není potřeba zvýšeného tlaku vodní páry, ale že je čistě důsledkem zvýšení objemu svěřacích buněk v důsledku urychleného transportu vody v rostlině (Decker a Wien 1960, Rufelt 1963).

5) Rostlina a voda

2.5.1) Rozdělení rostlin podle vztahu k vodě a k vlhkosti

Rostliny jsou dle vztahu k vodě rozdělovány na rostliny vodní a suchozemské. Jako hydrofyty se označují rostliny, které žijí ve vodě celým organismem, či alespoň svými vegetativními orgány. Jedná se o systém voda – rostlina – atmosféra. Odlišné jsou obojživelné rostliny neboli amfifyty a bahenní rostliny – helofyty, jež jsou pod vodou zakořeněny či jsou vázány na půdu na vodu bohatou. Zde se jedná o systém půda – voda – rostlina – atmosféra. Jako suchozemské neboli terestrické rostliny jsou označovány rostliny, které žijí na souši a jsou tedy zakořeněny v půdě. Tyto životní podmínky utváří systém půda – rostlina – atmosféra.

Suchozemské rostliny bývají dále rozdělovány podle vztahu k půdní vlhkosti na hygrofyty, mezofyty a xerofyty. Tyto typy rostlin se od sebe liší morfologicky a vodním provozem, především příjmem a výdejem vody. O vlastnostech rostliny však nerozhoduje jen genotyp náležející jednotlivým kategoriím, ale také vnější podmínky, ve kterých rostlina žije, tedy utváření fenotypu. Hygrofyty, tedy vlhkomilné rostliny zahrnují již výše zmíněné helofyty, které jsou přechodem mezi hydrofyty a terestrickými rostlinami, žijí tedy v půdách s vysokou vlhkostí. Mezofyty žijí v podmínkách středního stupně vlhkosti, vyznačují se tedy velmi špatnou snášenlivostí k dočasnému nedostatku vody. Tyto rostliny nemají vytvořený mechanismus pro vypořádání se s nedostatkem ani nadbytkem vody. Jednotlivé druhy mají specifické nároky na spotřebu vody a půdní vlhkost. Xerofyty jsou suchomilné rostliny žijící na suchých až extrémně suchých stanovištích. Tropofyty jsou jejich speciálním případem, který se vyskytuje v extrémně suchých i extrémně vlhkých podmínkách, jako jsou např. břehy moře v tropických oblastech. Rostliny přežívající v oblastech s extrémními koncentracemi soli – mangrovy či halofyty se ke xerofytům řadí také. Spadají sem také sukulenty.

2.5.2) Vlastnosti vody v souvislosti s rostlinou

Anatomická a morfologická stavba rostlin je evolučně definována také fyzikálními a fyzikálně chemickými vlastnostmi vody, které výrazným způsobem ovlivňují fyziologické funkce rostlin. Jelikož se ve vodě z přírodních zdrojů rozpouští plyny a jiné látky, se kterými se dostává do styku, není nikdy chemicky čistá.

Voda srážková se vyznačuje v rámci přírodních zdrojů největší čistotou, obsahuje kromě plynů pohlcených ze vzduchu i nepatrná množství H_2O_2 , SO_2 , H_2S , NO_2 , či další látky v závislosti na místě výskytu. Obsahuje také prachové částice, saze, pyl, mikroorganismy atp. Srážková voda prosakující do půdy se takto zbavuje nečistot a zároveň je obohacena o minerální látky v závislosti na složení hornin i na době zadržení uvnitř, dále rozpouští produkty metabolismu rostlin.

Z kationtů ve vodě nejčastěji rozpuštěných minerálních solí se uvádí Ca^{2+} , Mg^{2+} , K^+ , Na^+ , Fe^{2+} , Al^{3+} , Mn^{2+} , Fe^{3+} , anionty nejčastěji se vyskytující jsou pak HCO_3^- , SO_4^{2-} , Cl^- , SiO_3^{2-} , PO_4^{3-} a další. Na základě koncentrace některých z rozpuštěných kationtů se udává tvrdost vody. V dešťové vodě připadá na 5000 molekul H_2O jedna molekula D_2O . Každá z těchto sloučenin má různé chemické vlastnosti, z biologického hlediska má však největší význam H_2O .

Molekulová hmotnost chemicky čisté vody je 17,008, vodík a kyslík jsou v stechiometrickém poměru 2:1. V molekule vody svírají obě atomová jádra se středovým jádrem atomu kyslíku úhel 105° . Orbitaly kyslíku jsou přibližně tetraedricky hybridizovány (sp^3). Dva z těchto hybridních orbitalů jsou obsazeny dvěma volnými elektronovými páry. Dipólový charakter molekuly je příčinou nesymetrické stavby molekuly H_2O . Díky dipólovému charakteru je voda schopná vytvářet adiční sloučeniny. Adiční sloučeniny se tvoří s iontovými látkami, ale také s látkami, které nemají polární charakter, např. vodíkové můstky. Voda je tedy díky schopnosti odnímat ionty z iontových struktur výborným rozpouštědlem. Voda se může v interakci s jinou látkou chovat jako zásada (váže proton) nebo jako kyselina (odštěpuje proton).

Při teplotě 20°C a tlaku $0,1\text{ MPa}$ činí měrné teplo vody $4184,7\text{ kg}^{-1}\text{K}^{-1}$. Pro vodu při 0°C je stanoveno měrné teplo bodu tání na $334,944\text{ J kg}^{-1}$. Za normálních teplotních a tlakových podmínek má voda ze všech tuhých i kapalných látek nejvyšší tepelnou kapacitu. Díky této vlastnosti má voda relativně malé změny teploty v jednotlivých buňkách, pletivech a orgánech rostliny. Voda je nejlepším vodičem tepla při srovnání s jinými kapalinami a nekovy. V rámci viditelného spektra propouští voda všechny paprsky. Dlouhovlnné paprsky jsou oproti krátkovlnným absorbovány více v silnějších vrstvách vody. Nejméně jsou absorbovány

ultrafialové paprsky. Voda vykazuje výrazný rozdíl mezi bodem varu a bodem tuhnutí. Expanze před zmrznutím způsobuje, že se led tvoří pouze na povrchu vody a dno nepromrzá. Při 4 °C, kdy voda dosahuje maximální hustoty, se tvoří nejvíce asociačních útvarů a vzniká pseudokrystalická struktura kapalné vody (Penka 1985).

2.5.3) Vodní potenciál rostlinné buňky

Základním pojmem vodního režimu rostlinné buňky (resp. pletiv) je vodní potenciál, který má tři složky a je vyjádřen rovnicí

$$\Psi_w = \Psi_s + \Psi_g + \Psi_p, \quad (10)$$

kde Ψ_w je vodní potenciál, Ψ_s osmotický potenciál, Ψ_m gravitační potenciál, Ψ_p tlakový potenciál. Z této rovnice vyplývá, že vodní potenciál má, stejně jako chemický potenciál vody, ze kterého je odvozen, několik složek. Používání této fyziologické veličiny pro systém půda – rostlina – atmosféra zavedli Australan R. O. Slatyer a Američan S. A. Taylor v 60. letech 20. stol. Vodní potenciál je veličina relativní, referenční hodnotou je potenciál čisté vody, který je konvenčně považován za nulový. Vodní potenciál udává rozdíl mezi chemickým potenciálem vody, která je součástí určité soustavy, a čisté vody, na kterou působí stejný atmosferický tlak, stejná teplota prostředí a stejná síla gravitačního pole jako na vodu v uvažované soustavě. Vodní potenciál se udává v jednotkách tlaku [Pa], nejčastěji v MPa.

Jestliže uvažujeme vodní potenciál jako chemický potenciál vztažený na objem 1 molu vody, zavádíme rovnici

$$\Psi_w = \frac{\mu_w - \mu_w^0}{V_w}, \quad (11)$$

kde μ_w je chemický potenciál vody v soustavě, μ_w^0 chemický potenciál vody za standardních podmínek a V_w je molární objem vody.

Osmotický potenciál vody v roztoku Ψ_s je závislý na koncentraci, tedy na aktivitě látek ve vodě rozpuštěných. Jelikož rozpuštěné látky snižují koncentraci vody v soustavě či její části, snižují také její chemický, resp. vodní potenciál. Osmotický potenciál vody je číselně roven osmotickému tlaku, který se obvykle značí π . Hodnota osmotického potenciálu vody s rozpuštěnými látkami je záporná.

Gravitační potenciál Ψ_g je dán působením gravitace a polohou vody v gravitačním poli vzhledem k poloze, která je považována za referenční. Tato složka vodního potenciálu se zpravidla zanedbává.

Tlakový potenciál vody Ψ_p udává rozdíl mezi tlakem vody v soustavě a tlakem atmosférickým a může být kladný, nulový nebo záporný. Kladný tlakový potenciál má např. voda v protoplastech v hypotonickém prostředí. Tomuto pozitivnímu tlaku protoplastu na buněčnou stěnu se říká turgor. Tlakový potenciál je vyrovnáván pevností buněčné stěny a tlakem okolních pletiv. V xylému je vždy záporný tlak. Při vysoké transpiraci a nedostatečném zásobení rostliny vodou může mít voda uvnitř rostlinných pletiv potenciál více záporný než obvykle, což se následně projevuje vadnutím.

V plynné fázi (vzduchu) je vodní potenciál úměrný přirozenému logaritmu relativní vlhkosti vzduchu. Voda se pohybuje z míst s vyšším vodním potenciálem do míst s nižším vodním potenciálem.

2.6) Transpirace v podmínkách nedostatku vody

Frekvence a intenzita stresu způsobeného suchem a vysokými teplotami pravděpodobně bude narůstat spolu se zvyšující se intenzitou klimatické změny. Globálně se také projevuje větší plošná evaporace. Na základě současných studií se ukazuje, že tato situace navyšuje rychlost transpirace dokonce v dlouhodobě suchých oblastech.

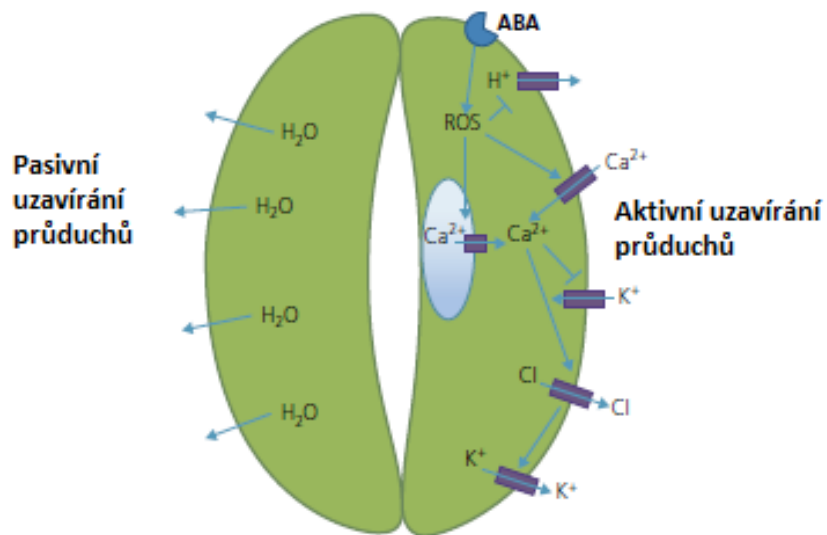
S klimatickou změnou a s ní spojenou narůstající frekvencí, délkou trvání a intenzitou „vln veder“ klesá také objem roční produkce zemědělských plodin. Jestliže se neaplikují zmírňující opatření, hrozí nedostatečné zabezpečení zásob jídla pro lidstvo (Sadok a Jagadish 2020). Tzv. „Zelená revoluce“ bohužel ještě zhoršila situaci a celosvětově spíše zapříčinila pokles produkce zemědělských plodin, které sytí 50 % lidstva, jako je pšenice, rýže, kukuřice a sója (Costa-Roberts 2011). Tyto ztráty jsou způsobeny řadou složitých fyziologických mechanismů, které závisí na amplitudě a dynamice scénářů horkých period a jejich působení na různá fenologická stadia rostlinných druhů. Tyto mechanismy působí skrze snižování příjmu uhlíku plodinami díky poklesu fotosyntetické aktivity a nárůstu respirace. Zkracuje se zároveň období s vhodnými podmínkami pro vyklíčení, a tedy i množství uchycených semen. Tyto okolnosti jsou důvodem zvyšující se důležitosti pochopit, jakým způsobem rostliny na nedostatek vody reagují.

2.6.1) Reakce na úbytek vody v půdě, rostlině, listu

Sucho je hlavním environmentálním faktorem narušujícím mnoho fyziologických i metabolických procesů v rostlinách (Casson a Hetherington 2010). Sucho v rostlinách vyvolává inhibici buněčného dělení, inhibici syntézy buněčných stěn a proteinů, hromadění rozpuštěných látek, uzavírání stomat a snížení fotosyntetické produkce. Nejvíce je nedostatkem vody ovlivněn růst buněk (Taiz a Zeiger 2002).

Ve většině rostlin je první reakcí na stres způsobený suchem uzavírání průduchů. Uzavření průduchů chrání rostlinu před nadměrnou ztrátou vody skrze transpirační dráhy. Tato reakce je více než s aktuálním obsahem vody v listu spojená s nedostatkem vody v půdě. Jestliže je půda v okolí rostliny dehydratovaná, průduchy se uzavírají ještě dříve, než dojde k signifikantnímu snížení turgoru v mezofylu listu (Mahajan a Tuteja 2005). S využitím hydraulického modelu půda-rostlina bylo prokázáno, že poškození xylému neovlivňuje uzavírání stomat listů rostliny nacházející se ve středně suché půdě. Půdní hydraulická vodivost, která charakterizuje průtok vody přes půdní prostředí, je tedy hlavním řídicím faktorem při uzavírání stomat (Carminati 2020).

Uzavírání průduchů je způsobeno snížením turgoru svěracích buněk v důsledku ztráty vody. Pro opětovné otevření průduchu je následně nutná zvýšená akumulace K^+ iontů a/nebo cukrů uvnitř buněk, která způsobí vtok vody do těchto buněk, zvýšení objemu, a tedy následné otevření průduchu. Uzavírání průduchů může být způsobeno také metabolicky. Jedná se o proces známý jako hydroaktivní stomatální reakce, zahrnující působení metabolitů, kyseliny abscisové a dalších rostlinných hormonů (např. auxinů, methyl jasmonátu, etylénu, brassinosteroidů, cytokininů). Je regulován převážně přítomností kyseliny abscisové a je výsledkem složitého sledu biochemických dějů, které zahrnují tvorbu jejích komplexů. Kromě výše uvedeného však do procesu zasahuje také spousta dalších signálních molekul. Kupříkladu nižší obsah dusíku zvyšuje citlivost průduchů na sucho (Pirasteh-Anosheh 2016). Hydroaktivní a hydropasivní zavírání průduchů je znázorněno na Obr. 4.



Obr. 4: Dva způsoby uzavírání průduchů, hydropasivní stomatální reakce – nalevo a hydroaktivní stomatální reakce – napravo. (převzato a upraveno z Arve a kol. 2011).

V případě dlouhodobého sucha se rostliny brání také morfologickými změnami včetně snižování počtu průduchů. Důsledkem stresu způsobeného suchem je ve spojitosti s poklesem počtu průduchů a s jejich uzavřením také snížení příjmu CO₂. Následkem toho se zvyšuje fotorespirace, která zajišťuje částečnou náhradu tohoto snížení a napomáhá zachovat karboxylační funkci enzymu RuBisCO. Jelikož se při tomto procesu využívá redukčních činitelů uvnitř chloroplastů, zvyšuje se tvorba volných radikálů, které následně vedou k jejich poškození (Lisar a kol. 2012).

2.6.2) Vliv prostředí na vysychání rostlin a listů

Srovnáním reakce na sucho u rostlin pěstovaných za různých podmínek bylo zjištěno, že slunečnice (*Helianthus annuus* L.) pěstované ve fytotronu při relativně vysoké relativní vlhkosti vzduchu vadly při navození stresu suchem výrazně rychleji než rostliny pěstované v přírodních podmínkách. Vodní potenciál listů byl také v prvním případě mnohem nižší než u druhého případu při stejné úrovni vodního deficitu v půdě (Hirasawa 1991).

Listy některých rostlin pocházejících z vlhkých porostů, jako například *Caltha palustris* L. (blatouch bahenní), ztrácejí v dospělosti schopnost hydroaktivní stomatální reakce. Po oddělení listu dochází během krátké doby k vadnutí provázenému velkou rychlostí transpirace (Pisek a Berger 1938).

2.6.3) Hmotnostní pokles v důsledku vysychání u listů různého stáří

Citlivost a efektivita průduchové regulace vodních ztrát u listů narůstá s přibližováním se dospělosti, až dosáhne svého maxima. Od tohoto okamžiku se již schopnost efektivní regulace snižuje. S postupujícím stářím pak dosáhne minimálních hodnot. U stárnoucích listů se také zvyšuje podíl kutikulární transpirace. Předpokládá se, že je tomu tak v důsledku epidermálních zranění a vysoké míry uzavřenosti průduchů (Hölzl 1958).

Průduchy zvadlých listů se již úplně neotevírají ani po jejich opětovném nasycení vodou, na druhou stranu již nedochází ani k jejich dokonalému uzavření. U listů kapusty (*Brassica oleracea* var. *acephala* Dc.) bylo pozorováno, že mladé listy omezovaly svou transpiraci, když pokles jejich hmotnosti v důsledku vysychání dosáhl 5–6 %. Úplné uzavření průduchů nastalo již při 18–20 % poklesu hmotnosti. Oproti tomu průduchy dospělých listů začaly reagovat až při vyšších hodnotách poklesu hmotnosti, jejich reakce však byla rychlejší, takže se uzavíraly jen při o něco vyšších hodnotách poklesu hmotnosti (20 %) než průduchy mladých listů (Solárová 1970).

U listů velmi mladých rostlin je na počátku jejich vývoje citlivost hydroaktivní průduchové reakce zvýšená. Navzdory skutečnosti, že reaktivita průduchů mladých listů je relativně vysoká, ztrácejí za jinak stejných podmínek vyšší množství vody než listy dospělé (Solárová 1970). U mladých listů probíhá ve velké míře jak stomatální, tak kutikulární transpirace, která je vyšší než u dospělých listů. Intenzivní průduchová transpirace je podmíněná vyšší hustotou menších průduchů a omezená citlivostí hydroaktivní uzávěrové reakce. Rychlost transpirace se pak během uzavírání průduchů snižuje úměrně ztrátě vlhkosti, jež dala impuls pro hydroaktivní uzavírání na jeho počátku. Nedostatečně vyvinutá kutikula nejmladších listů není schopná omezit intenzitu kutikulární transpirace, u listů dospělých rostlin je tedy množství vody odpařené kutikulou nižší než u listů mladších rostlin.

Průduchy dospělých listů se během vysychání začínají zavírat při vyšších hodnotách úbytku hmotnosti. Tímto riskují větší ztrátu vody bez omezení transpirace a příjmu CO₂. Po dosažení pro danou rostlinu kritického úbytku vody je vyvolána reakce, díky které dochází k úplnému uzavření průduchů, jež brání další ztrátě vody a poškození listů.

Vztah mezi stářím listu, rychlostí transpirace a průduchovou hydroaktivitou je komplikovaný také pozicí listů na rostlině. Později vyvinuté listy, nacházející se na vrcholu stonku, mají spíše xeromorfní charakter (typy listů přizpůsobené nedostatku vody, tj. s adaptacemi potlačujícími transpiraci). Hodnoty transpirace a kritického bodu úbytku hmotnosti v důsledku dehydratace

odrážejí informace o stáří listu, ale také stáří rostliny jako takové (Zalenskij 1904, Tumanov 1927, oboje cit. v Solárová 1970).

Rychlost transpirace je nepřetržitě ovlivňována jak hydroaktivním nebo hydropasivním uzavíráním průduchů, tak jejich reakcí na PAR. Reakce průduchů na nedostatek vody je tedy ovlivněná také jejich reakcí na PAR, resp. mírou jejich otevření, která souvisí s ozářeností listů. Měření úbytku hmotnosti v důsledku transpirace by proto mělo započít ve chvíli, kdy jsou průduchy plně fotoaktivně otevřeny a zároveň se hmotnost listu právě začíná snižovat, tedy ve chvíli, kdy je úbytek hmotnosti nulový (Pisek a Winkler 1953).

2.6.4) Kutikula jako ochrana listu proti vysychání a měření kutikulární transpirace

Rostlinná kutikula je hlavní bariérou, která zamezuje ztrátě vody z listu a hraje zásadní roli v toleranci rostliny vůči suchu. Kvůli přítomnosti stomat na povrchu listu je kutikulární transpiraci velmi náročné měřit. Zvláště obtížné je měření v případě abaxiální strany listu, jelikož je její plocha hustě pokrytá průduchy. Většina prací zabývajících se studiem kutikulární transpirace se zaměřuje na měření transpirace rostlin, které stomata nemají, omezují měření na adaxiální stranu či stomata přímo zanedbávají. Současný výzkum se tedy zaměřuje na snahy vyvinout takovou metodu, která by umožnila měření kutikulární transpirace pro obě strany listu. Tyto snahy v současnosti nejlépe prezentuje metoda, která kombinuje několikanásobné ošetření listu zahrnující jeho plné nasycení vodou ve tmě a následné ošetření kyselinou abscisovou za účelem uzavření průduchů, aby transpirace probíhala pouze přes kutikulu.

Výsledky aplikace této metody prokázaly, že adaxiální intrakutikulární a abaxiální epikutikulární vosky představují hlavní bariéry pro zadržení vody. Analýza vosku dále naznačuje, že v adaxiálních intrakutikulárních voskách je velké zastoupení dlouhých řetězců mastných kyselin, 1-alkanolových esterů a glykosolů, které jsou důležité právě pro účinnost bariéry. To má za následek vyšší účinnost oproti abaxiálním intrakutikulárním voskům. Abaxiální strana tak vykazovala o 50 % vyšší transpiraci oproti straně adaxiální (Zhang 2020).

2.6.5) Sucho a residuální transpirace

Rostliny ztrácejí vodu i v situaci, kdy jsou průduchy kompletně uzavřeny. Jedná se o residuální transpiraci, na které se podílí kutikulární transpirace a přetrvávající minimální únik vodní páry přes uzavřené průduchy. Tato zdánlivě malá ztráta vody má však velký vliv na strategii vodního hospodářství a životaschopnost rostliny (Kerstiens 1996).

Přestože je podíl ztráty vody residuální transpirací poměrně malý, studie posledních let naznačují, že je klíčovým faktorem určujícím, zda rostlina dokáže přežít podmínky sucha. Druhy s nižší residuální stomatální vodivostí jsou schopny udržet si lepší vodní status a pozdrzet dehydratační kolaps, zároveň tak mají nižší mortalitu v důsledku sucha oproti druhům, jejichž residuální stomatální vodivost je vyšší (Gleason 2014). Napříč různými druhy se tedy snášenlivost sucha značně liší. Je tomu tak také v důsledku různých strategií asimilace CO₂. Kupříkladu strategie rychlého růstu u opadavých stromů asociovaná s vyššími hodnotami residuální stomatální vodivosti vede k dehydratačnímu kolapsu, zatímco konzervativnější strategie stálezelených druhů napomáhá značně delšímu přežití v podmínkách velkého sucha (Machado 2021).

Bylo zjištěno, že značný podíl residuální transpirace tvoří kutikulární transpirace adaxiální strany a residuální stomatální transpirace strany abaxiální. Abaxiální strana listu má v průměru 58% podíl na minimální transpiraci u většiny druhů rostlin. U některých druhů tento podíl však činí až 70 %. Předpokládá se, že větší propustnost abaxiální strany pro vodní páru je dána větším počtem a velikostí průduchů oproti straně adaxiální. Dalším důvodem větší transpirace z abaxiální strany může být také zvýšený přítok vody z okolních epidermálních buněk v důsledku fotoaktivního otevření průduchů navyšující turgor ve svěracích buňkách. Vysychající epidermální buňky mohou následně po krátkou dobu od sebe ještě více odtahovat svěrací buňky, které stále nejsou úplně uzavřeny (Schuster a kol. 2017).

2.7) Četnost průduchů a ztráta vody v důsledku transpirace, metody jejich stanovení

2.7.1) Stanovení četnosti průduchů

2.7.1.1) *Mikroreliefová metoda*

Tato metoda byla poprvé použita v roce 1902 L. Buscalionim a G. Pollaccim. Používali ji k testování transpirace. Látka nanesená na rostlinné části se v místech se zvýšenou vlhkostí zakalila. Dále se tato metoda začala využívat ke zkoumání otištěných struktur, kupříkladu v paleontologii. Následně bylo zjištěno, že se takto dají zřetelně pozorovat i živé rostlinné struktury. V České republice byl v užívání této metody průkopníkem F. Neuwirth (Němec 1962). K získání mikroreliefu je nutno použít látku s vhodnou konzistencí, která rychle zasychá. Nalezení takovéto látky bylo v minulosti obtížné a studiem se zabývali F. L. Long s F. E. Clementsem. Mikroreliefová metoda se dnes používá především ke studiu pokožky rostlin, kupříkladu stavby pokožky, tvaru pokožkových buněk, typu, velikosti a rozmístění průduchů a též k určení počtu průduchů na určitou plochu.

Princip metody je založen na skutečnosti, že povrch rostlin není zcela rovný. Okraje buňky jsou vymezeny hlubšími rýhami a jejich střední části jsou vypuklé. Povrch průduchových buněk rovněž není rovný, tudíž se jeho odlišnost také v mikroreliefové metodě projeví. Jestliže je na pokožku rostliny nanese vrstvička rychle tuhnoucí, husté, čiré kapaliny, vytvoří se po jejím zatuhnutí odlitek mikroskopického reliéfu pokožkových buněk a jejich derivátů, jež je označován jako mikrorelief. Na povrchu pokožky listu vytváří odlitek průhlednou blanku, kterou lze sloupnout. Staženou blanku je již možno po vhodné fixaci na podložní sklíčko pozorovat světelným mikroskopem. Je důležité, aby se preparát nezvlnil a nedošlo k jeho poškození, také je důležité zamezit tvorbě vzduchových bublin na preparátu. Pomocí této metody můžeme pozorovat pouze vnější anatomickou stavbu pokožky, nikoli obsah buněk, jelikož se jedná pouze o otiskový preparát (Pazourková 1982).

2.7.2) Metody stanovení ztráty vody v důsledku transpirace

Při změnách vnějšího prostředí, typicky při nedostatku vody, je rostlina vystavená stresu. Obranným mechanismem rostlin v této situaci bývá uzavírání průduchů a snížení transpirace, což dočasně umožňuje rostlině tolerovat nedostatek vody. Pro sledování změn v rychlosti transpirace se využívá množství rozličných metod, které umožňují hodnotit transpiraci rostlin či celého porostu. Mezi tradiční metody sledování změn rychlosti transpirace patří porometrie, gravimetrie a gazometrie. V této práci jsme se zaměřili na stanovení změn rychlosti transpirace pomocí metody gravimetrické a jako doplňkovou jsme použili metodu porometrickou.

2.7.2.1) Gravimetrické stanovení rychlosti úbytku vody

Rostlina při výdeji vody ztrácí hmotnost, vážením rostliny v pravidelných intervalech je možné stanovit množství vody ztracené v důsledku transpirace. Tato metoda se označuje jako gravimetrická či vážková.

Rychlost transpirace lze stanovit vážením dvojím způsobem, kdy se váží buď jednotlivé oddělené listy (Ivanov a kol. 1950), podle autora se metoda označuje také jako Ivanovova, nebo vážením intaktních rostlin (Wallace a Stout 1962).

V případě první uvedené metody se pracuje s předpokladem, že oddělené části rostliny v prvních minutách po odřezání transpirují stejným způsobem, jako by byly součástí neporušené rostliny. List je po odřezání ihned zvážen na analytických váhách, vážení se pak následně po určitou dobu v pravidelných krátkých intervalech (2-5 minut) opakuje. Odečty hodnot by měly být prováděny po dobu alespoň jedné hodiny.

Bylo prokázáno, že v případě listů, kdy byl řez proveden v parafínu, docházelo k menším ztrátám vody, než když listy byly odděleny na vzduchu (Ivanov 1950). Krátce po oddělení listu často dochází k tzv. Ivanovovu skoku, kdy se přechodně transpirace odděleného listu výrazně zvýší. K tomuto jevu dochází pravděpodobně v důsledku přerušování kohézních sloupců vody v cévách či otevřením průduchů původně hydropasivně přivřených. Je důležité, aby bylo v průběhu měření zajištěno dostatečné proudění vzduchu okolo listu. Stejně tak je potřeba zajistit konstantní a definované světelné podmínky

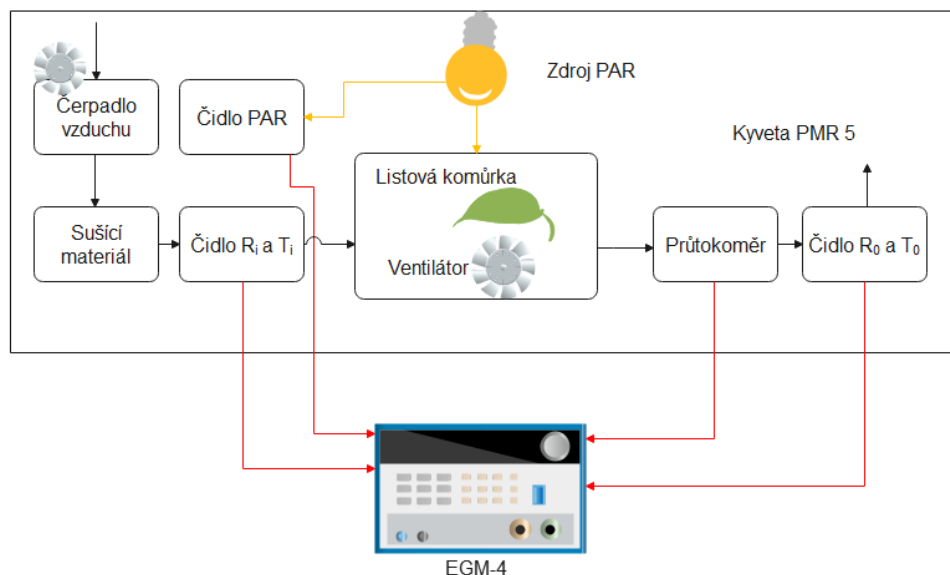
Změny hmotnosti listu v čase po oddělení jsou následně přepočteny na rychlost transpirace vyjádřenou na hmotnost či plochu listu.

Vážení intaktních rostlin nebo jejich částí za účelem stanovení rychlosti transpirace probíhá v nádobě zajištěné neprodyšným materiálem zamezujícím vypařování vody z nádoby. Je tomu tak

z toho důvodu, aby ve změnách hmotnosti byla započítána pouze voda odpařená rostlinou. V průběhu měření se mohou vyskytnout chyby projevující se ve změnách hmotnosti v důsledku respirace a fotosyntézy. Vzhledem ke změnám způsobeným transpirací jsou však tyto změny obvykle zanedbatelné. Díky této metodě lze poměrně jednoduchým způsobem získat nepřetržitý záznam ztrát vody během dne a noci. Nevýhodou metody je však skutečnost, že během měření nedochází k provzdušňování půdy tak, jak se děje za přirozených podmínek. Transpiraci výrazně ovlivňují okolní podmínky, proto je potřeba během měření věnovat zvýšenou pozornost faktorům jako je teplota, ozáření, vlhkost a pohyb vzduchu. Po ukončení měření se planimetricky stanoví listová plocha a dopočítá se rychlost transpirace jako změna hmotnosti na jednotku plochy listů za jednotku času.

2.7.2.2) Porometrická metoda

Porometr je přístroj určený k měření rychlosti transpirace E , resp. k určení stomatální vodivosti g_s . Základem pro tuto metodu je předpoklad, že rozdíl mezi koncentrací, tedy molárním zlomkem, vodní páry na vstupu do listové komůrky a koncentrací na výstupu z listové komůrky je úměrný rychlosti transpirace. List (resp. jeho část) je v průběhu měření uzavřen v listové komůrce (neboli kyvetě). Porometr umožňuje regulovat rychlost toku f a relativní vlhkost vzduchu R_i vstupujícího do listové komůrky. V kyvetě se nachází ventilátor, který minimalizuje odpor hraniční vrstvy vzduchu nad listem. Kyveta obsahuje čidla měřící teplotu a relativní vlhkost vzduchu vstupujícího a vystupujícího z kyvety. Čidla jsou umístěna blízko sebe, aby se mezi nimi minimalizoval teplotní gradient. V našich experimentech bylo použito zařízení složené z kyvety PMR 5 a přístroje EGM-4. Grafické znázornění porometru je zobrazeno na Obr. 5.



Obr. 5: Grafické schéma porometru.

2.7.2.3) Gazometrická metoda

Gazometrie je metoda, pomocí které se zjišťuje změna koncentrace plynů, v případě transpirace změna koncentrace H_2O , v okolí rostliny nebo její části, a tím tedy i množství vody, které se vypařilo za určitý čas. Gazometrická aparatura je systém, který dokáže současně měřit koncentraci CO_2 a H_2O v komůrce s uzavřeným listem. Princip měření rychlosti transpirace spočívá v detekci rozdílů koncentrace vodní páry ve vzduchu vstupujícím do měřicí komůrky, uvnitř které je umístěn list, a vzduchu, který z komůrky vychází. Při měření změn v koncentraci H_2O se využívá heteroatomického složení molekuly, tedy specifické absorpce v infračervené oblasti. Hlavní absorpční pás vodní páry má maximum při $2,59 \mu m$. Rychlost transpirace se počítá pomocí vztahu

$$E = \frac{(w_0 - w_i) \cdot f}{S}, \quad (12)$$

kde w_0 je molární frakce H_2O ve vzduchu vystupujícím z listové komůrky, w_i je molární frakce H_2O ve vzduchu vstupujícím do listové komůrky, f je průtok vzduchu a S je plocha listu uzavřená v komůrce.

3) Cíl práce

1) Vypracovat přehled problematiky na téma transpirace rostlin včetně metodik měření rychlosti transpirace.

2) Srovnání četnosti průduchů na povrchu listů pomocí světelného mikroskopu za využití mikroreliefových metody.

3) Gravimetrické stanovení úbytku vody po oddělení listů, stanovení změn rychlosti transpirace po oddělení listů. Doplňkově provést srovnání s měřením transpirace porometrem.

4) Posouzení efektu rozdílných pěstebních podmínek (jasně definované podmínky u rostlin pěstovaných ve fytokomoře, pokojově pěstované rostliny), efektu intenzity PAR a vlivu stáří rostlin na rychlost transpirace po oddělení listů.

4) Metody a rostlinný materiál

4.1) Rostlinný materiál

Pro většinu měření byly využity listy tabáku virginského (*Nicotiana tabacum* L. cv. Samsun). Rostliny byly pěstovány ve fytokomoře za přesně definovaných podmínek (viz níže), část rostlin byla před vlastním měřením přesunutá na několik týdnů do pracovny a rostla za pokojových podmínek.

Pěstební podmínky ve fytokomoře byly následující. Relativní vlhkost vzduchu činila 60 %, ozáření $100 \mu\text{mol}(\text{fotonů}) \cdot \text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$, teplota 21 °C. Rostliny byly pěstovány v režimu dlouhého dne (16 hod světlo, 8 hod. tma). Rostliny byly pravidelně zalévány vodou z vodovodního řádu a jednou týdně Knopovým roztokem.

V případě rostlin pěstovaných za pokojových podmínek se teplota pohybovala v rozsahu 21–25 °C, relativní vlhkost vzduchu se pohybovala v rozmezí 22-30 %. Rostliny byly pravidelně zalévány. Ozáření se v průběhu dne v místě pěstování rostlin pohybovala v rozmezí 20–50 $\mu\text{mol}(\text{fotonů}) \cdot \text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$.

Ke stanovení počtu průduchů na mm^2 u listů tabáku za využití mikroreliefové metody bylo využito celkem 5 rostlin tabáku pěstovaných ve fytokomoře, z každé byly odebrány dva listy. Vždy jeden byl použit k pozorování adaxiální strany, druhý k pozorování strany abaxiální. Byl odebrán vždy třetí či čtvrtý list (počítáno od báze). Rostliny pěstované ve fytokomoře byly zasazeny 26. 2. 2021, rozesazeny 19. 3. 2021. Jejich stáří v době měření bylo 7 týdnů. V případě rostlin pěstovaných za pokojových podmínek bylo využito ke stanovení počtu průduchů dvou rostlin starých 19 týdnů. Byl odebrán 12. – 14. list (počítáno od báze). Počet průduchů na mm^2 byl také stanoven u listů jahodníku obecného (*Fragaria vesca* L.) a merlíku bílého (*Chenopodium album* L.), stáří není známo. Rostliny rostly ve venkovním prostředí v areálu PřF UP na ul. Šlechtitelů, vzorky byly odebrány v ranních hodinách dne 5. 6. 2021. Počet průduchů byl stanoven na třech listech v jedné oblasti, u každého listu bylo provedeno deset odečtů. Podobným způsobem byl stanoven počet průduchů také u listů jedenáctitýdenních rostlin tabáku pěstovaných ve fytokomoře a v pokojových podmínkách.

Ke stanovení úbytku hmotnosti listů po jejich oddělení i k měření rychlosti transpirace pomocí porometru byly využity rostliny tabáku různého stáří, konkrétně pět, šest, osm, jedenáct a devatenáct týdnů. Měřené rostliny byly pěstovány ve fytokomoře, část rostlin byla před vlastním

měřením přesunutá do pracovny a rostla za pokojových podmínek. Dále byly k měření gravimetrickou metodou využity listy výše zmíněných rostlin jahodníku obecného (*Fragaria vesca* L.) a merlíku bílého (*Chenopodium album* L.).

4.2) Metodika

4.2.1) Měření počtu průduchu na mm^2 u listu tabáku za využití mikroreliefové metody

Zhotovení otisku povrchu pokožky listů bylo provedeno pomocí mikroreliefové metody. Po oddělení listů byla pomocí bezbarvého laku na nehty zafixovaná malá část struktury epidermis. Lak se nechal zaschnout a následně byl zhotoven otisk pomocí lepící pásky. Díky akrylové lepící části pásky byla oddělená tenká blanka listu, jakožto struktura mikroreliefu, jež byla následně přenesená na podložní sklíčko. V této práci byla využita mikroreliefová metoda jakožto kvantitativní anatomická metoda ke stanovení počtu průduchů na mm^2 .

4.2.1.1) Počítání struktur

Ke zjištění průměrného počtu průduchů na mm^2 byl každý list měřen ve třech oblastech vyznačených na Obr. 6. V případě listů tabáku byla každá oblast listu přeměřená desetkrát, tudíž bylo odečteno celkem 300 hodnot počtu průduchů. Byl použit mikroskop Amplival (Carl Zeiss Jena, Německo) a objektiv se zvětšením 12,5krát.



Obr. 6: Měřené oblasti listu tabáku – vlevo adaxiální strana, vpravo abaxiální strana.

Velikost zorného pole byla stanovena za pomoci měřicího okuláru a Bürkerovy komůrky. Určení velikosti bylo provedeno následujícím způsobem.

Strana malého čtverce Bürkerovy komůrky má rozměr 50 μm , na posuvném šroubu měřicího okuláru bylo odečteno 80 dílků připadajících na tento rozměr, podílem těchto dvou hodnot jsme získali rozměr jednoho dílku měřicího okuláru, který je 0,625 μm . Zorné pole mělo tvar osmiúhelníku. V průměru kružnice opsané tomuto osmiúhelníku jsme získali odečet 615 dílků. Násobek 615 a 0,625 μm tedy činí 384,375 μm .

Výpočet plochy zorného pole (obsahu osmiúhelníku) byl proveden na základě vzorce

$$S = 2 \cdot r^2 \cdot \sqrt{2}. \quad (13)$$

Plocha zorného pole tedy činila 0,1045 mm^2 . V případě merlíku a jahodníku byla plocha zorného pole stanovena podobným způsobem při zvětšení 25krát a činila 0,3 mm^2 .

Následně byla stanovena hustota průduchu α na 1 mm^2 pomocí následujícího vztahu.

$$\alpha = \frac{x}{S_{obj}}, \quad (14)$$

kde S je obsah zorného pole a x je počet průduchů napočítaných v zorném poli.

Aritmetický průměr byl spočítán pomocí vztahu

$$\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n}. \quad (15)$$

Směrodatná odchylka byla vypočtená pomocí vztahu

$$S_x = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}}. \quad (16)$$

4.2.2) Stanovení úbytku hmotnosti listů po jejich oddělení

List byl ihned po odstřížení zvážen na analytických váhách s odečtem přesným na desetiny miligramu. Poté byl zvážen znovu po 30 sekundách a následně první hodinu probíhalo každé další vážení vždy po pěti minutách.

Druhou hodinu po odstřížení již vážení probíhalo každých 10 minut, třetí hodinu každých 20 minut a následující dvě hodiny již bylo měření prováděno vždy po šedesáti minutách. Celková doba vážení tedy byla 5 hodin.

V první fázi měření byl zkoumán rozdíl v úbytku hmotnosti listů ve dvou případech. V jednom byl řapík ponechán bez úprav, v druhém byl po odstřížení zalepen vazelínou. Pro oba

případy, zalepený i nezalepený řapík, vždy byly použity listy rostlin pěstovaných za stejných podmínek a vystavené stejné ozáření. V druhé fázi měření již byly řapíky zalepeny pokaždé.

Měření probíhalo ve třech variantách ozáření, které byly listy po oddělení vystaveny. První variantou byla ozáření $5 \mu\text{mol}(\text{fotonů}) \cdot \text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$, kdy se jednalo o světelné podmínky v laboratorní místnosti bez přidaného zdroje světla. Další variantou byla ozáření o velikosti $1200 \mu\text{mol}(\text{fotonů}) \cdot \text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$, kdy byly listy umístěny pod panelem s bílými LED. Tato ozáření je srovnatelná se světelnými podmínkami během letního dne s polojasnou oblohou. Poslední variantou byla ozáření $60 \mu\text{mol}(\text{fotonů}) \cdot \text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$, kdy byly listy umístěny pod panel se zářivkami. Tuto ozáření lze připodobnit k jarnímu či podzimmímu dni se zataženou oblohou. V tab. 1 je uvedena specifikace jednotlivých měření.

Výsledné hodnoty byly v případě stanovení úbytku hmotnosti v důsledku ztráty vody převedeny na relativní hmotnost listu, která je zde uvedená v procentech. Rychlost transpirace byla následně vypočtená vydělením úbytku hmotnosti listů počáteční vahou listů v gramech a příslušným časem a převedením na molární hmotnost.

Tab. 1: Specifikace měření úbytku hmotnosti po oddělení listů.

Druh	Stáří rostliny [týden]	Zalepení řapíku	Ozáření $\mu\text{mol}(\text{fotonů}) \cdot \text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$	Pěstební prostředí
<i>Nicotiana tabacum</i>	5	ne	4–10	fytokomora
<i>Nicotiana tabacum</i>	5	ano	4–10	fytokomora
<i>Nicotiana tabacum</i>	6	ne	1200	fytokomora
<i>Nicotiana tabacum</i>	6	ano	1200	fytokomora
<i>Nicotiana tabacum</i>	8	ano	1200	fytokomora
<i>Nicotiana tabacum</i>	8	ano	60	fytokomora
<i>Nicotiana tabacum</i>	11	ano	60	fytokomora
<i>Nicotiana tabacum</i>	11	ano	60	pracovna
<i>Nicotiana tabacum</i>	19	ne	4–10	pracovna
<i>Nicotiana tabacum</i>	19	ano	4–10	pracovna
<i>Fragaria vesca</i>	-	ano	60	venkovní rostlina
<i>Chenopodium album</i>	-	ano	60	venkovní rostlina

V průběhu měření byla sledována teplota a relativní vlhkost vzduchu pomocí dataloggeru Comet S3120. Teplota se pohybovala v rozmezí 20–23 °C, relativní vlhkost vzduchu byla 20–28 %. Ozáření byla měřena pomocí kvantového radiometru LI-250A (LI-COR, Nebraska, USA).

4.2.3) Měření rychlosti transpirace pomocí porometru

Rychlost transpirace [$\text{mmol}(\text{H}_2\text{O})\cdot\text{m}^2\cdot\text{s}^{-1}$] byla měřena pomocí porometru složeného z přístroje EGM-4 a přístroje PMR-5 (PP Systems, Hitchin, Hertfordshire, Velká Británie).

Po spuštění přístroje byl nastaven odpor hraniční vrstvy vzduchu r_B na hodnotu $0,13 \text{ mol}^1\cdot\text{m}^2\cdot\text{s}$ a typ světelného zdroje použitého během měření (LED panel nebo panel se zářivkami, jak bylo uvedeno výše). Průtok vzduchu byl udržován na hodnotě přibližně $30 \text{ ml}\cdot\text{m}^{-1}$. Tlak vodní páry ve vzduchu vstupujícím do listové komůrky byl pomocí regulace průtoku vzduchu přes desikátor udržován přibližně na hodnotě $0,8 \text{ kPa}$.

Data byla zobrazována pomocí programu PP System – Transfer, interval odečtu měřených hodnot byl $1,6 \text{ s}$. Po vložení listu do měřicí komůrky porometru (měřená plocha listu byla $1,25 \text{ cm}^2$) bylo ihned spuštěno měření, po ustálení hodnot rychlosti transpirace (zpravidla přibližně po 30 min) byl list odstřižen od rostliny, přičemž měření kontinuálně pokračovalo minimálně do té doby, než rychlost transpirace dosáhla nulové hodnoty.

5) Výsledky

5.1) Měření počtu průduchů na mm²

Výsledky určení počtu průduchů na mm² u listů rostlin tabáku pomocí mikroreliefové metody jsou zobrazeny v Tab. 2, Tab. 3. a Tab. 4. Počet průduchů na mm² ve třech vybraných oblastech čepele listů tabáku na adaxiální nebo abaxiální straně se příliš nelišil, viz Tab. 2. Hustota průduchů byla u listů tabáku větší na abaxiální straně v porovnání se stranou adaxiální, a to jak u rostlin pěstovaných ve fytokomoře, tak u rostlin pěstovaných po určitou dobu za pokojových podmínek. U rostlin pěstovaných ve fytokomoře nebyl rozdíl mezi adaxiální a abaxiální stranou příliš výrazný, počet průduchů na mm² na abaxiální straně byl vyšší pouze o přibližně 32 %.

Tab. 2: Počet průduchů na 1 mm² adaxiální a abaxiální strany listů rostlin tabáku pěstovaných ve fytokomoře, starých 7 týdnů, a za pokojových podmínek, starých 19 týdnů, ve třech různých oblastech. Statisticky významné rozdíly mezi oblastmi označeny hvězdičkami (* $P < 0,05$; ** $P < 0,01$), v pořadí srovnání mezi 1. a 2. oblastí, srovnání mezi 1. a 3. oblastí. Mezi 2. a 3. oblastí neprokázán statisticky významný rozdíl. Uvedeny průměry a směrodatné odchylky, n = 50.

	Fytokomora			Pokojové podmínky		
	1. oblast	2. oblast	3. oblast	1. oblast	2. oblast	3. oblast
Adaxiální strana	35 ± 12	34 ± 16	33 ± 18	* ** 55 ± 13	44 ± 10	40 ± 13
Abaxiální strana	** ** 41 ± 12	54 ± 13	54 ± 14	130 ± 15	137 ± 16	114 ± 25

Pokojové rostliny celkově vykazovaly větší hustotu průduchů nežli rostliny pěstované ve fytokomoře (Tab. 3). Průměrná hustota průduchů rostlin pěstovaných ve fytokomoře byla $\alpha = 42 \text{ mm}^{-2}$, zatímco průměrná hustota průduchů rostlin pěstovaných za pokojových podmínek byla $\alpha = 86 \text{ mm}^{-2}$. Z dat výsledných průměrných hustot je zřejmé, že hustota průduchů rostlin pěstovaných za pokojových podmínek byla více než dvojnásobná, než tomu bylo u rostlin pěstovaných ve fytokomoře. Výraznější rozdíly v počtu průduchů na mm² mezi rostlinami pěstovanými ve fytokomoře a za pokojových podmínek byly pozorovány u strany abaxiální. Tento rozdíl činil 37 %. V případě adaxiální strany listu se počet průduchů na mm² lišil u rostlin pěstovaných ve fytokomoře o 26 % oproti listům rostlin pěstovaných za pokojových podmínek.

Tab. 3: Počet průduchů na 1 mm² adaxiální a abaxiální strany listů rostlin tabáku pěstovaných ve fyto-komóře, starých 7 týdnů, a za pokojových podmínek, starých 19 týdnů. Statisticky významné rozdíly mezi pěstebními podmínkami označeny hvězdičkami (***) $P < 0,01$). Uvedeny průměry a směrodatné odchylky, n = 150.

		Fyto-komóra	Pokojové podmínky
Adaxiální strana	***	34 ± 16	46 ± 14
Abaxiální strana	***	50 ± 14	127 ± 21

V případě listů rostlin tabáku starých 11 týdnů (Tab. 4) byl opět počet průduchů vyšší na straně abaxiální listu oproti straně adaxiální. U rostlin pěstovaných ve fyto-komóře byl stanoven počet průduchů abaxiální strany listu $\alpha = 126 \pm 12 \text{ mm}^{-2}$, u adaxiální strany listu činil počet průduchů $\alpha = 56 \pm 12 \text{ mm}^{-2}$. V případě listů rostlin tabáku pěstovaných za pokojových podmínek byl počet průduchů abaxiální strany listu $\alpha = 143 \pm 12 \text{ mm}^{-2}$, počet průduchů adaxiální strany listu činil $\alpha = 60 \pm 10 \text{ mm}^{-2}$. Rozdíl počtu průduchů adaxiální strany listu u rostlin pěstovaných ve fyto-komóře a za pokojových podmínek byl o něco méně výraznější než v předchozím případě. Tento rozdíl činil pouze 7 %. Stejně tak tomu bylo u abaxiální strany listů, kdy činil rozdíl mezi listy rostlin pěstovaných ve fyto-komóře a za pokojových podmínek 12 %. Je pravděpodobné že tento rozdíl mezi výsledky určování počtu průduchů uvedenými v Tab. 3 a Tab. 4 je způsobený v důsledku různého stáří listů. V předchozím případě byly rostliny pěstované ve fyto-komóře staré 7 týdnů a rostliny pěstované za pokojových podmínek 19 týdnů. V Tab. 4 jsou uvedeny výsledky určení počtu průduchů na mm² v situaci, kdy byly rostliny pěstované ve fyto-komóře i za pokojových podmínek stejně staré.

Tab. 4 Počet průduchů na 1 mm² adaxiální a abaxiální strany listů rostlin *Nicotiana tabacum* pěstovaných ve fyto-komóře a za pokojových podmínek, starých 11 týdnů. Statisticky významné rozdíly mezi adaxiální a abaxiální stranou příslušného druhu označeny hvězdičkami (***) $P < 0,001$). Uvedeny průměry a směrodatné odchylky, n = 30.

		Fyto-komóra	Pokojové podmínky
Adaxiální strana	***	56 ± 12	*** 60 ± 10
Abaxiální strana		126 ± 12	143 ± 12

Výsledky určení počtu průduchů na mm² listů rostlin rostoucích ve venkovním prostředí jsou zaznamenány v Tab. 5. Počet průduchů u jahodníku obecného byl oproti počtu průduchů na mm² určených u tabáku výrazně vyšší. Naopak počet průduchů u merlíku bílého byl ze všech tří rostlinných druhů, jejichž listy byly pozorovány, nejnižší.

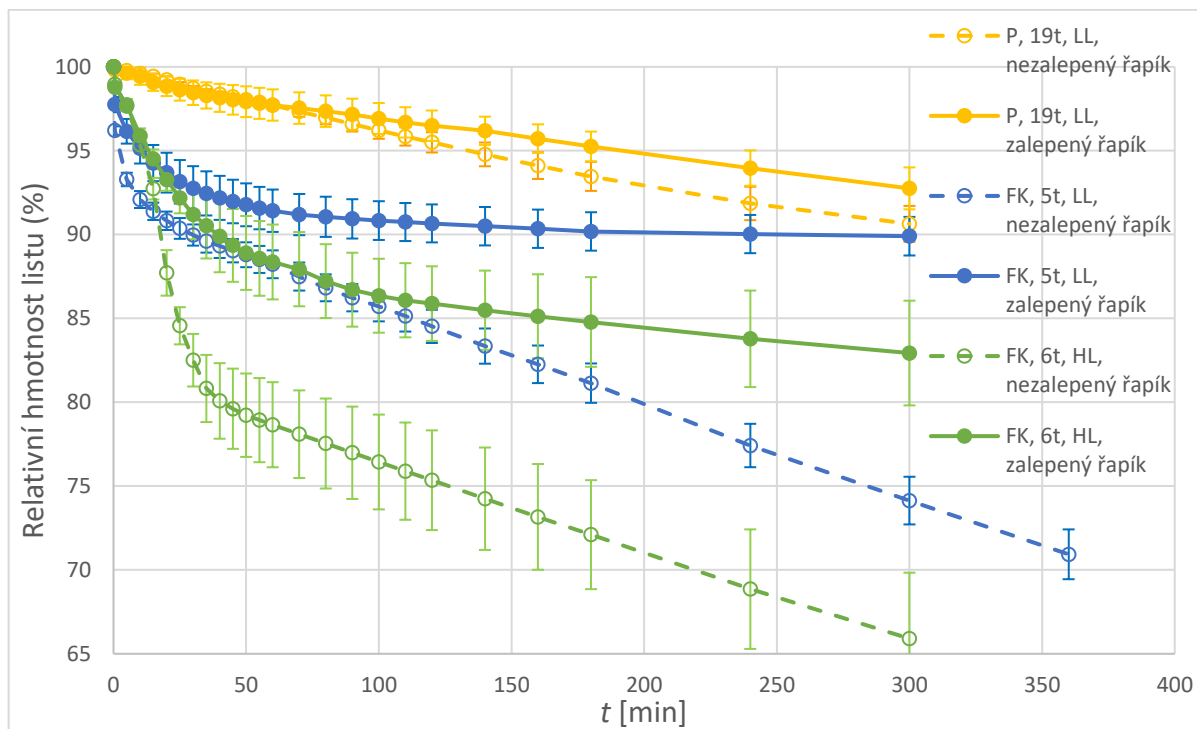
Tab. 5: Počet průduchů na 1 mm² adaxiální a abaxiální strany listů rostlin jahodníku obecného (*Fragaria vesca* L.) a merlíku bílého (*Chenopodium album* L.). Statisticky významné rozdíly mezi adaxiální a abaxiální stranou příslušného druhu označeny hvězdičkami (***) $P < 0,001$). Uvedeny průměry a směrodatné odchylky, n = 30.

		<i>Fragaria vesca</i>		<i>Chenopodium album</i>
Adaxiální strana	***	318 ± 17	***	23 ± 9
Abaxiální strana		384 ± 25		102 ± 12

5.2) Měření transpirace stanovením úbytku hmotnosti v důsledku ztráty vody

Výsledky měření poklesu hmotnosti listů tabáku důsledkem vysychání gravimetrickou metodou jsou zobrazeny v relativních jednotkách hmotnosti vztažených k počáteční hmotnosti listu na Obr. 7. Při tomto experimentu jsme zjistili, že u listů, jejichž řapík byl ošetřen proti úniku vody vazelínou, docházelo po oddělení k výrazně menším ztrátám hmotnosti. Tento efekt byl pozorován ve všech třech sledovaných variantách experimentu – tj. u listů šestitýdenních rostlin pěstovaných ve fyto komoře, které byly po oddělení vystaveny vysoké ozáření (1200 $\mu\text{mol}(\text{fotonů}) \cdot \text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$; HL), u listů pětitydenních rostlin pěstovaných ve fyto komoře, které byly po oddělení vystaveny nízké ozáření (5 $\mu\text{mol}(\text{fotonů}) \cdot \text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$; LL) a u listů rostlin starých 19 týdnů, které byly 4 týdny před měřením pěstovány při pokojových podmínkách, přičemž tyto listy byly po oddělení vystaveny LL. U listů rostlin starých šest týdnů pěstovaných ve fyto komoře, na které po oddělení působila vysoká ozáření (zelené hodnoty), došlo k poklesu relativní hmotnosti v případě zalepeného řapíku na 66 % původní hmotnosti, zatímco u zalepeného řapíku došlo k poklesu na 83 % původní hmotnosti. Tento pokles byl ze všech tří variant největší. Listy rostlin starých pět týdnů, pěstovaných ve fyto komoře, které byly po odříznutí vystaveny nízké ozáření (modré hodnoty) dosáhly po pěti hodinách v případě nezalepeného řapíku poklesu na 74 % původní hmotnosti, v případě zalepeného řapíku došlo pouze k poklesu na 90 % původní hmotnosti. Nejmenšího poklesu hmotnosti bylo po oddělení dosaženo u listů rostlin starých 19 týdnů pěstovaných za pokojových podmínek, jejichž pokles hmotnosti byl sledován při nízké

ozáření (žluté hodnoty). V případě nezalepeného řapíku klesla relativní hmotnost u těchto listů po 5 hod po oddělení pouze o 10 %, v případě zalepeného řapíku přibližně o 7 %, efekt zalepení řapíku byl tedy nejmenší v rámci sledovaných variant.



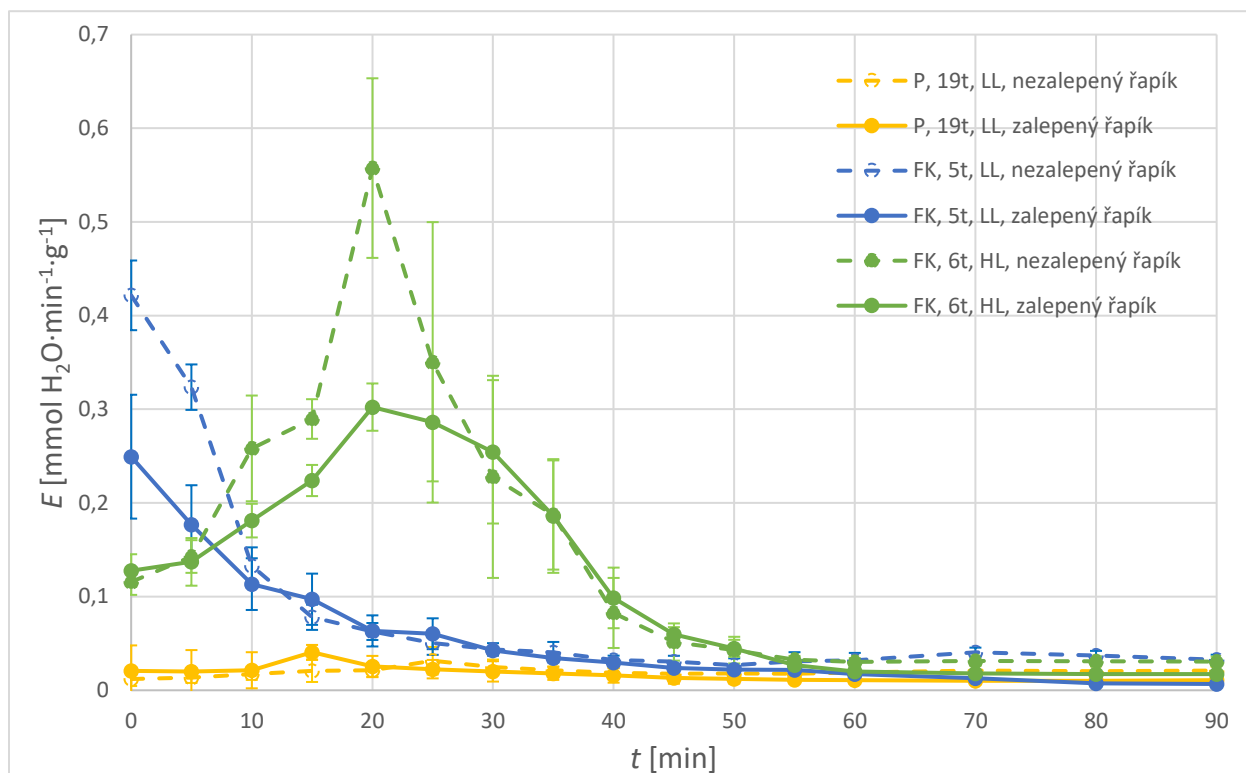
Obr. 7: Efekt zalepení řapíku na pokles relativní hmotnosti listů *Nicotiana tabacum* v důsledku vysychání měřený gravimetrickou metodou. Symbolem P jsou označeny rostliny pěstované při pokojových podmínkách, FK označuje rostliny pěstované ve fyto-komóře, LL – listy vystavené ozáření 5 $\mu\text{mol}(\text{fotonů}) \cdot \text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$, HL – listy vystavené ozáření 1200 $\mu\text{mol}(\text{fotonů}) \cdot \text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$. Údaje 19t, 5t a 6t značí stáří rostlin v týdnech. Uvedeny průměry a směrodatné odchylky, $n = 5$.

Změna rychlosti transpirace v důsledku vysychání výše popsaných listů je zobrazená na Obr. 8. Za účelem přehlednějšího znázornění rozdílů mezi variantami jsou v Obr. 8 (i v dalších obrázcích s rychlostí transpirace stanovenou gravimetricky) prezentovány změny v prvních 90 min po oddělení listů, i když vážení probíhalo po dobu 5 hodin. Listy rostlin starých pět týdnů, které byly pěstovány ve fyto-komóře a po odštížení byly vystaveny ozáření 5 $\mu\text{mol}(\text{fotonů}) \cdot \text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ (LL, modré hodnoty), dosahovaly počáteční rychlosti transpirace u nezalepeného řapíku 0,42 $\text{mmol H}_2\text{O} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$, u zalepeného řapíku 0,25 $\text{mmol H}_2\text{O} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$. V případě nezalepeného i zalepeného řapíku docházelo k postupnému snižování rychlosti

transpirace již od počátku. K nejprudšímu poklesu došlo do 15 minut od oddělení listu od rostliny, kdy rychlost transpirace dosáhla $0,1 \text{ mmol H}_2\text{O}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$, poté rychlost klesala již mírněji a v 40. minutě dosáhla hodnoty $0,03 \text{ mmol H}_2\text{O}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$, následně se již tato rychlost příliš neměnila. Listy, jejichž řapík byl zalepen vazelínou, vykazovaly do 10. minuty menší rychlost transpirace, poté byla rychlost transpirace u listů se zalepeným řapíkem přibližně stejná jako u listů s nezalepeným řapíkem a od 60. minuty po oddělení pak byla rychlost transpirace větší u listů, jejichž řapík nebyl zalepen.

Listy rostlin starých šest týdnů pěstovaných ve fytofotochomře vystavené ozáření 1200 $\mu\text{mol}(\text{fotonů})\cdot\text{m}^2\cdot\text{s}^{-1}$ (HL, zelené hodnoty) transpirovaly v prvních 5 minutách pomaleji, v případě nezalepeného i zalepeného řapíku rychlost transpirace na počátku činila $0,13 \text{ mmol H}_2\text{O}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$, oproti listům rostlin starých pět týdnů (LL, modré hodnoty). Do 20. minuty se však rychlost transpirace listů u rostlin starých šest týdnů pěstovaných ve fytofotochomře a vystavených HL (zelené hodnoty) zvyšovala a dosáhla u rostlin s nezalepeným řapíkem ze všech měření zobrazených v tomto grafu nejvyšší hodnoty $0,56 \text{ mmol H}_2\text{O}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$, u zalepeného řapíku byla nejvyšší dosažená rychlost transpirace $0,3 \text{ mmol H}_2\text{O}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$. Následně začala rychlost transpirace v případě nezalepeného i zalepeného řapíku klesat a od 55. minuty po oddělení listů od rostliny dosáhla hodnoty $0,03 \text{ mmol H}_2\text{O}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$, dále již byla přibližně konstantní. V případě listů obou popsaných variant (modré i zelené hodnoty) rostlin pěstovaných ve fytofotochomře se ve změnách rychlosti transpirace projevil efekt zalepení řapíku (Obr. 8).

Nejpomaleji transpirovaly listy rostlin tabáku starých devatenáct týdnů pěstovaných za pokojových podmínek, které byly po odříznutí vystaveny ozáření 5 $\mu\text{mol}(\text{fotonů})\cdot\text{m}^2\cdot\text{s}^{-1}$ (žluté hodnoty). V tomto případě rychlost transpirace v průběhu měření kolísala jen minimálně a pohybovala se okolo hodnoty $0,013\text{--}0,025 \text{ mmol H}_2\text{O}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ u listů s nezalepeným i zalepeným řapíkem. Listy se zalepeným řapíkem vykazovaly mírný výkyv rychlosti v 15. minutě po oddělení, kdy rychlost transpirace dosáhla maxima $0,04 \text{ mmol H}_2\text{O}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$. U listů s nezalepeným řapíkem došlo k zakolísání rychlosti transpirace v 25. minutě, kdy se rychlost transpirace nepatrně zvýšila na $0,3 \text{ mmol H}_2\text{O}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$. Ve zbytku času se však rychlost úbytku hmotnosti pohybovala u listů s nezalepeným i zalepeným řapíkem v rozmezí $0,02\text{--}0,025 \text{ mmol H}_2\text{O}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$.



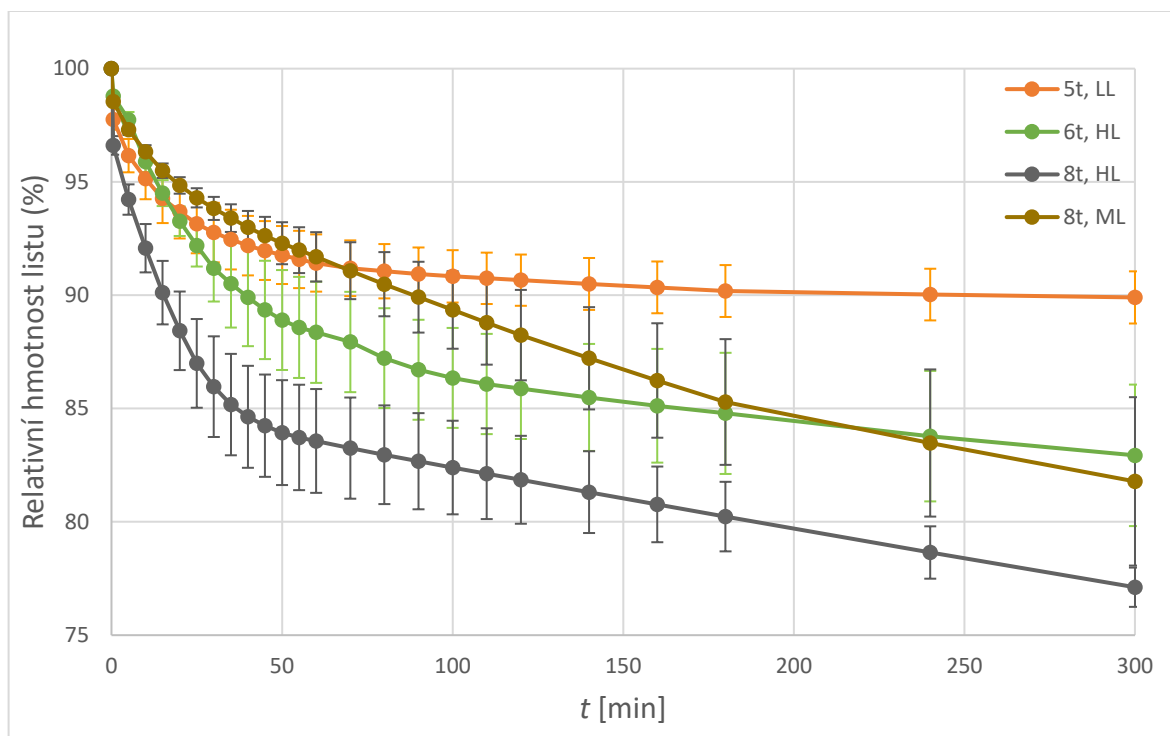
Obr. 8: Efekt zalepení řapíku na rychlost transpirace v důsledku vysychání listů *Nicotiana tabacum* měřenou gravimetrickou metodou. Symbolem P jsou označeny rostliny pěstované při pokojových podmínkách, FK označuje rostliny pěstované ve fytochomře, LL – listy vystavené ozáření 5 $\mu\text{mol}(\text{fotonů}) \cdot \text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$, HL – listy vystavené ozáření 1200 $\mu\text{mol}(\text{fotonů}) \cdot \text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$. Údaje 19t, 5t a 6t značí stáří rostlin v týdnech. Uvedeny průměry a směrodatné odchylky, $n = 5$.

Z uvedených výsledků je zřejmé, že v podstatě ve všech sledovaných případech vedlo zalepení řapíku odštížených listů ke zpomalení úbytku hmotnosti listů, tedy ke zpomalení ztráty vody (Obr. 7). To značí, že u listů s nezalepeným řapíkem se relativně velká část vody odpařovala přes řez řapíku. Tento efekt může zkreslovat stanovení rychlosti transpirace pomocí gravimetrické metody, protože úbytek vody způsobený transpirací může být ve skutečnosti menší než ten naměřený, jak vyplynulo ze srovnání rychlosti transpirace listů se zalepeným a nezalepeným řapíkem (Obr. 8). V dalších experimentech jsme tedy za účelem potlačení ztráty vody přes řez a sledování úbytku vody z listů především transpirací používali listy s řapíkem zalepeným vazelínou.

Na obr. 9 je prezentováno srovnání změn snížení hmotnosti v důsledku transpirace u listů tabáku, které po oddělení zasychaly při různých ozářenostech. Efekt ozářenosti byl pozorován na listech rostlin pěstovaných ve fytokomoře.

Listy rostlin starých pět týdnů byly po odstřížení vystaveny ozářenosti $5 \mu\text{mol}(\text{fotonů}) \cdot \text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ (oranžové hodnoty). U těchto listů byl zaznamenán nejmenší pokles hmotnosti, po pěti hodinách ztratily listy pouze 10 % své původní hmotnosti. Listy rostlin starých šest týdnů (zelené hodnoty) a osm týdnů (modré hodnoty), které byly po odstřížení vystaveny ozářenosti $1200 \mu\text{mol}(\text{fotonů}) \cdot \text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$, ubývaly na hmotnosti mnohem rychleji než listy zasychající na LL. Listy rostlin starých šest týdnů vykazovaly pomalejší a menší pokles hmotnosti oproti listům rostlin starých osm týdnů, po pěti hodinách od oddělení listu činila jejich hmotnost 83 % původní hmotnosti. Listy rostlin starých osm týdnů, které ze všech případů vykazovaly největší relativní pokles hmotnosti, dosáhly po pěti hodinách od oddělení listu hmotnosti 77 % původní hmotnosti.

Ozářenosti $60 \mu\text{mol}(\text{fotonů}) \cdot \text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ byly po odstřížení vystaveny listy rostlin starých osm týdnů (hnědé hodnoty). Tyto listy vykazovaly ve srovnání s ostatními případy střední pokles hmotnosti. Po pěti hodinách činila hmotnost 81 % jejich původní hmotnosti.



Obr. 9: Efekt intenzity PAR na pokles relativní hmotnosti listů *Nicotiana tabacum* v důsledku vysychání měřený gravimetrickou metodou. Rostliny byly pěstované ve fytokomoře, po oddělení byl řápek listů zalepen. LL – listy měřené při ozáření $5 \mu\text{mol}(\text{fotonů}) \cdot \text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$, ML – listy vystavené ozáření $60 \mu\text{mol}(\text{fotonů}) \cdot \text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$, HL – listy vystavené ozáření $1200 \mu\text{mol}(\text{fotonů}) \cdot \text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$. Údaje 5t, 6t a 8t značí stáří rostlin v týdnech. Uvedeny průměry a směrodatné odchylky, $n = 5$.

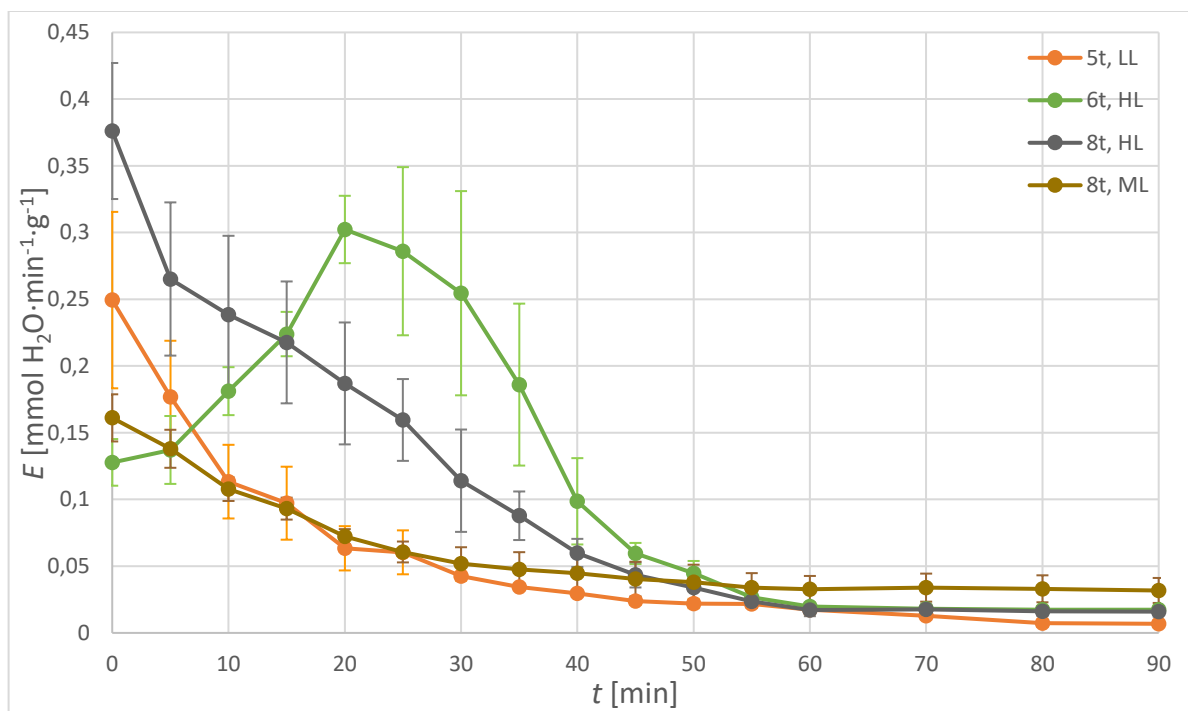
Efekt působení intenzity PAR na rychlost transpirace během vysychání oddělených listů tabáku, která byla měřena gravimetricky, je zobrazen na Obr. 10. Bezprostředně po oddělení listů byla transpirace nejrychlejší v případě listů rostlin starých osm týdnů vystavených HL (šedé hodnoty), rychlost dosahovala $0,37 \text{ mmol H}_2\text{O} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$. Po pěti minutách již rychlost transpirace činila $0,27 \text{ mmol H}_2\text{O} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$. K výraznějšímu poklesu rychlosti transpirace docházelo do 40. minuty, kdy rychlost transpirace činila $0,06 \text{ mmol H}_2\text{O} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$. V 60. minutě byla rychlost transpirace již $0,02 \text{ mmol H}_2\text{O} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ a následně se již příliš neměnila.

Druhá nejrychlejší transpirace na počátku měření byla zaznamenána v případě listů rostlin starých pět týdnů, které byly v průběhu měření vystaveny LL (oranžové hodnoty), rychlost dosahovala $0,25 \text{ mmol H}_2\text{O} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$. K nejvýraznějšímu poklesu rychlosti transpirace došlo do 10. minuty, kdy se rychlost transpirace snížila na $0,11 \text{ mmol H}_2\text{O} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$. Rychlost transpirace dosáhla po 45 minutách hodnoty $0,02 \text{ mmol H}_2\text{O} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ a dále se již příliš neměnila.

Listy rostlin starých osm týdnů, na které v průběhu měření působila ozářenost ML (hnědé hodnoty), dosahovaly na počátku měření rychlosti transpirace $0,16 \text{ mmol H}_2\text{O}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$. U těchto listů byly zaznamenány nejmenší změny rychlosti transpirace. Již po 30 minutách po oddělení dosáhla rychlost jejich transpirace relativně nízké hodnoty $0,05 \text{ mmol H}_2\text{O}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$, následně se pak tato rychlost měnila jen minimálně a dosahovala hodnot v rozmezí $0,02\text{--}0,04 \text{ mmol H}_2\text{O}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$.

V případě listů rostlin starých šest týdnů vystavených HL (zelené hodnoty) dosahovala rychlost transpirace ihned po oddělení listů hodnoty $0,13 \text{ mmol H}_2\text{O}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$, následně (narozdíl od všech ostatních variant) došlo k nárůstu rychlosti transpirace. Tato rychlost byla maximální ve 20. minutě od oddělení listu a dosahovala hodnoty $0,3 \text{ mmol H}_2\text{O}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$, poté rychlost transpirace klesala a přibližně v 50. min se vyrovnala rychlosti transpirace ostatních variant.

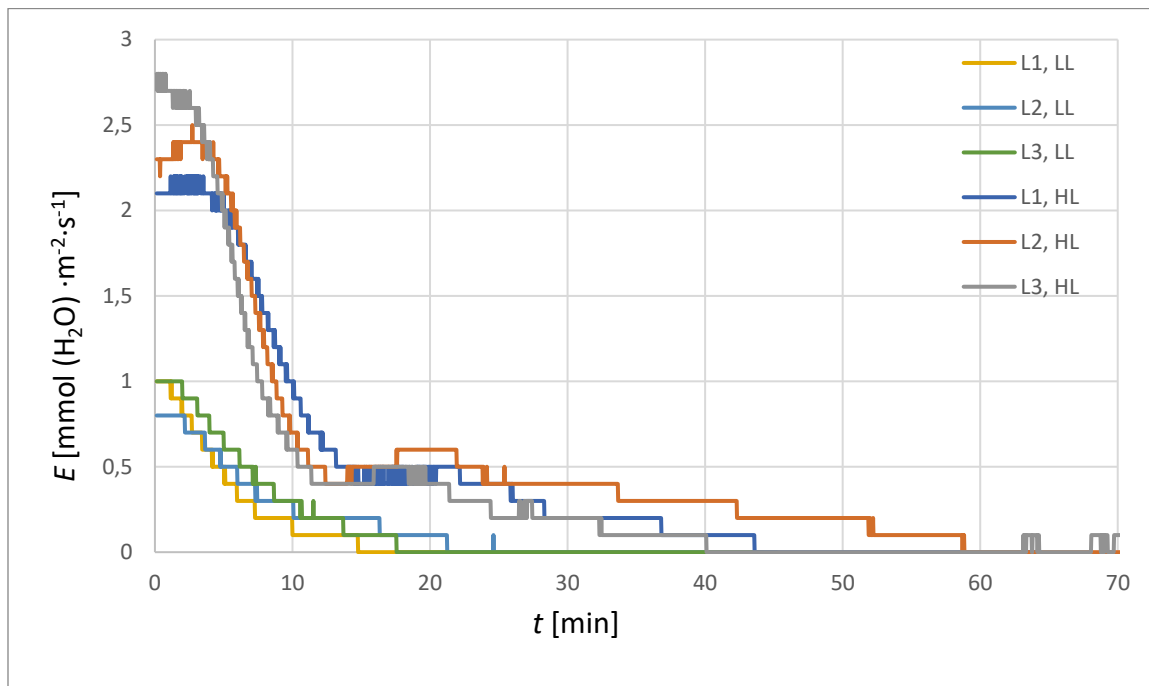
U všech zkoumaných listů rostlin tabáku, s výjimkou listů rostlin starých osm týdnů, na které v průběhu měření působila ozářenost ML (hnědé hodnoty) se rychlost transpirace ustálila okolo 60. minuty, kdy dosahovala rychlosti $0,02 \text{ mmol H}_2\text{O}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$.



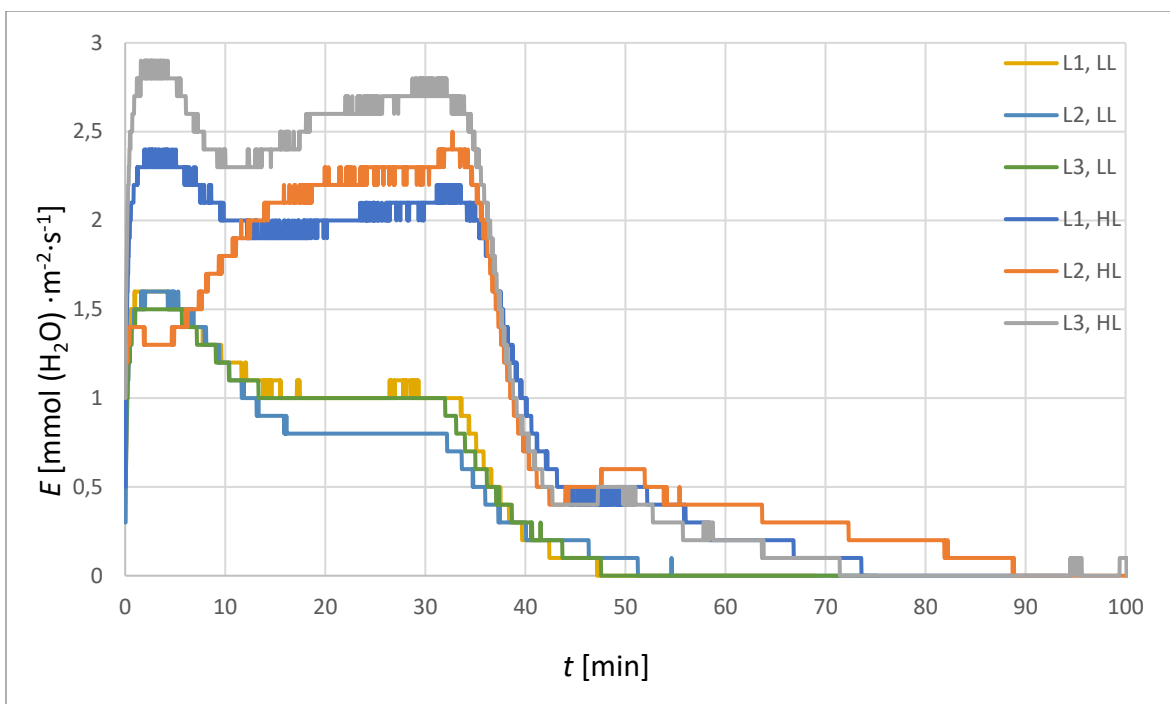
Obr. 10: Efekt intenzity PAR na rychlost transpirace listů *Nicotiana tabacum* v důsledku vysychání měřenou gravimetrickou metodou. Rostliny byly pěstované ve fyto-komóře, po oddělení byl řápek listů zalepen. LL – listy měřené při ozáření 5 $\mu\text{mol}(\text{fotonů}) \cdot \text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$, ML – listy vystavené ozáření 60 $\mu\text{mol}(\text{fotonů}) \cdot \text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$, HL – listy vystavené ozáření 1200 $\mu\text{mol}(\text{fotonů}) \cdot \text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$. Údaje 5t, 6t a 8t značí stáří rostlin v týdnech. Uvedeny průměry a směrodatné odchylky, $n = 5$.

Ze srovnání poklesu relativní hmotnosti (Obr. 9) a rychlosti transpirace (Obr. 10) u listů osmítýdenních rostlin, které byly po oddělení vystaveny ozáření 60 a 1200 $\mu\text{mol}(\text{fotonů}) \cdot \text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$, vyplývá, že listy při vysoké ozáření ztrácely vodu mnohem rychleji než listy při nižší ozáření, což znamená, že při vyšší ozáření byla rychlost transpirace podstatně vyšší. To bylo ověřeno měřením rychlosti transpirace pomocí porometru (Obr. 11), kde můžeme pozorovat výrazné rozdíly v rychlosti transpirace mezi listy, které byly vystaveny ozáření 1200 $\mu\text{mol}(\text{fotonů}) \cdot \text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ a ozáření 100 $\mu\text{mol}(\text{fotonů}) \cdot \text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$. Průměrná rychlost transpirace stanovená porometrem u listů vystavených ozáření 1200 $\mu\text{mol}(\text{fotonů}) \cdot \text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ v čase oddělení činila 2,4 $\text{mmol H}_2\text{O} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$ a během 12 minut po oddělení poklesla na 0,4 $\text{mmol H}_2\text{O} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$. U listů vystavených ozáření 100 $\mu\text{mol}(\text{fotonů}) \cdot \text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ průměrná rychlost transpirace v čase oddělení činila 0,9 $\text{mmol H}_2\text{O} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$ a po 20 minutách již dosáhla nulové hodnoty.

Na Obr. 12 je znázorněn kompletní průběh rychlosti transpirace měřené porometrem, tj. i v čase (přibližně 30 minut) před oddělením listů. Je zřejmé, že listy tabáku měly při ozáření 1200 $\mu\text{mol}(\text{fotonů}) \cdot \text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ před oddělením více než dvojnásobnou rychlost transpirace a že tato rychlost po oddělení listů klesala rychleji v porovnání s listy vystavenými ozáření 100 $\mu\text{mol}(\text{fotonů}) \cdot \text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$.

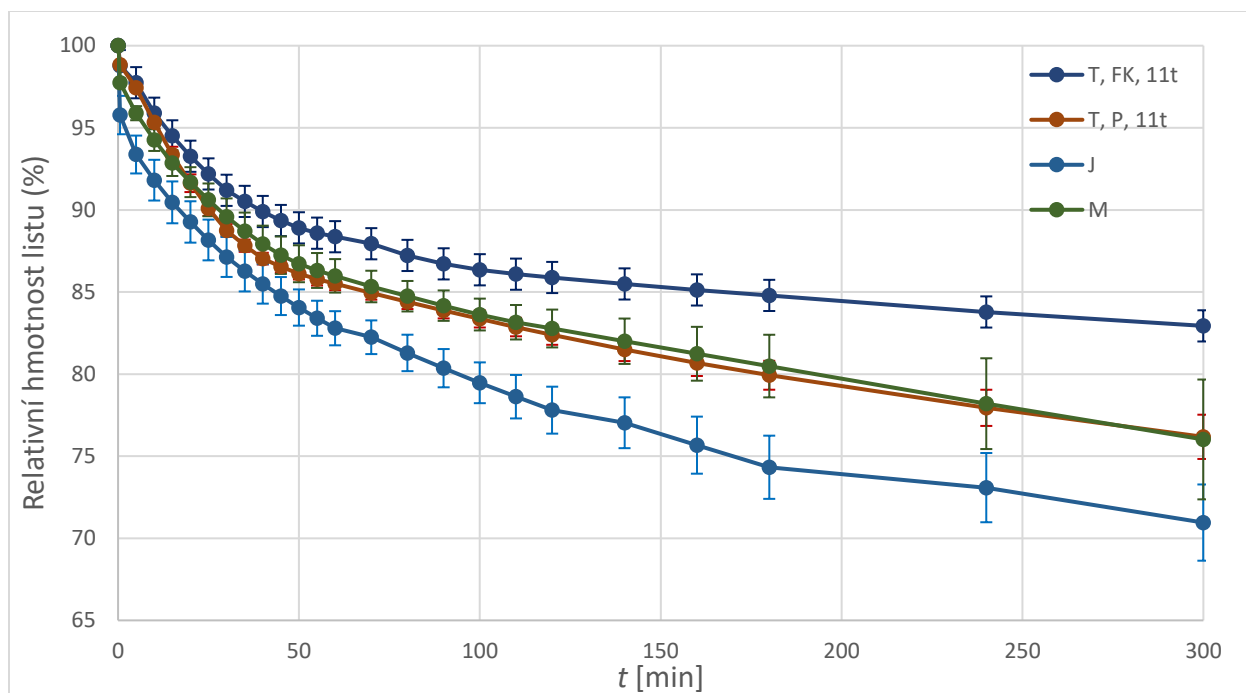


Obr. 11: Efekt intenzity PAR na rychlost transpirace listů *Nicotiana tabacum* v důsledku vysychání měřenou porometrem. Rostliny byly pěstované ve fyto komoře, stáří 8–9 týdnů. Po oddělení byl řapík listů zalepen. LL – listy vystavené ozáření 100 $\mu\text{mol}(\text{fotonů}) \cdot \text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$, HL – listy vystavené ozáření 1200 $\mu\text{mol}(\text{fotonů}) \cdot \text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$. Označení L1, L2, L3 označuje konkrétní měřený list.



Obr. 12: Efekt intenzity PAR na rychlost transpirace listů *Nicotiana tabacum* měřenou porometrem. Rostliny byly pěstované ve fyto komoře, stáří 8–9 týdnů. LL – listy vystavené ozáření 100 $\mu\text{mol}(\text{fotonů}) \cdot \text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$, HL – listy vystavené ozáření 1200 $\mu\text{mol}(\text{fotonů}) \cdot \text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$. Označení L1, L2, L3 označuje konkrétní měřený list. Listy byly neoddělené vloženy do komůrky v čase 0 min, ve 30. min byly listy odděleny od rostliny a jejich řapík zalepen vazelínou.

V dalších experimentech byl u listů stejně starých (11 týdnů) rostlin tabáku sledován efekt rozdílných pěstebních podmínek (fytotron, pokojové podmínky) a dále byly použity listy vybraných druhů rostlin (jahodník obecný, merlík bílý) rostoucích na svých přirozených stanovištích. Ve všech případech byly listy po oddělení vystaveny ozáření 60 $\mu\text{mol}(\text{fotonů}) \cdot \text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$. K největšímu poklesu relativní hmotnosti došlo u listů jahodníku obecného. (Obr. 13). Po pěti hodinách po oddělení listů se jejich hmotnost snížila na 71 % původní hodnoty. Celkový pokles relativní hmotnosti byl po pěti hodinách od oddělení podobný u listů rostlin tabáku pěstovaných za pokojových podmínek a u listů merlíku bílého, listy obou druhů rostlin dosáhly relativní hmotnosti 76 %. K nejmenšímu poklesu relativní hmotnosti došlo u listů rostlin tabáku pěstovaných ve fyto komoře. Po pěti hodinách od jejich oddělení činila jejich hmotnost 83 % původní hmotnosti.

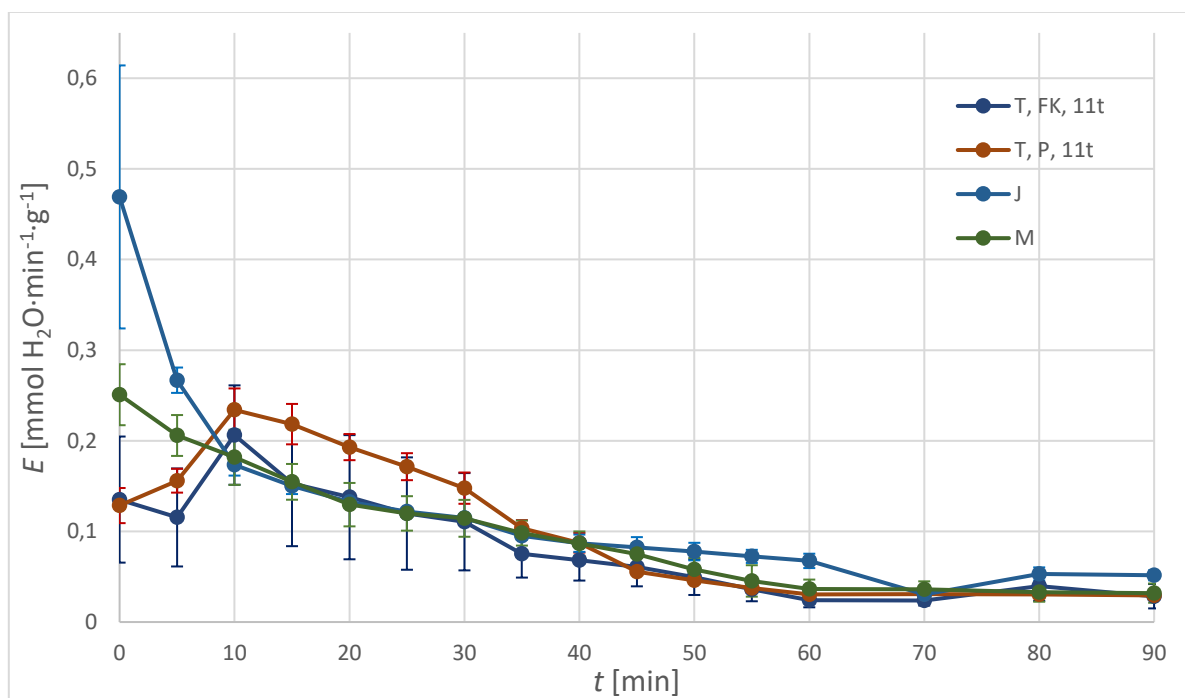


Obr. 13: Pokles relativní hmotnosti v důsledku vysychání listů měřený gravimetrickou metodou. Byly využity listy 11týdenních rostlin tabáku virginského (*Nicotiana tabacum*), symbol T, jahodníku obecného (*Fragaria vesca*), symbol J, a merlíku bílého (*Chenopodium album*), symbol M. Symbolem P jsou označeny rostliny tabáku pěstované při pokojových podmínkách, FK označuje rostliny pěstované ve fytokomoře. Po oddělení byly listy vystaveny ozáření 60 $\mu\text{mol}(\text{fotonů})\cdot\text{m}^2\cdot\text{s}^{-1}$. Po oddělení byl řápek listů zalepený vazelínou. Uvedeny průměry a směrodatné odchylky, n = 5.

Rychlost transpirace stanovená na základě stanovení úbytku hmotnosti oddělených listů tabáku, jahodníku a merlíku je uvedena na Obr. 14. V případě listů jahodníku byla dle očekávání rychlost transpirace ze všech listů měřených rostlin nejvyšší. Ihned po oddělení listů činila rychlost transpirace 0,47 $\text{mmol H}_2\text{O}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$. V prvních deseti minutách po oddělení listu transpirovaly listy jahodníku nejrychleji, poté klesla na 0,18 $\text{mmol H}_2\text{O}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$. Následně do 60. minuty, kdy dosahovala hodnoty 0,07 $\text{mmol H}_2\text{O}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$, pomalu klesala, poté se rychlost transpirace až na malé odchylky pohybovala okolo 0,05 $\text{mmol H}_2\text{O}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$.

Listy merlíku bílého vykazovaly rychlost transpirace bezprostředně po oddělení listů 0,25 $\text{mmol H}_2\text{O}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$. Rychlost transpirace v průběhu měření pozvolna klesala a ustálila se v 55. minutě (přibližně na hodnotě 0,05 $\text{mmol H}_2\text{O}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$), kdy již následně nedocházelo k větším změnám.

Průběh rychlosti transpirace byl u listů rostlin tabáku starých jedenáct týdnů pěstovaných ve fyto komoře i za pokojových podmínek podobný. Listy rostlin tabáku pěstovaných ve fyto komoře nicméně vykazovaly během prvních 30 min po oddělení mírně nižší rychlost transpirace. U rostlin tabáku pěstovaných za pokojových podmínek dosáhla transpirace po deseti minutách svého maxima při hodnotě $0,23 \text{ mmol H}_2\text{O}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$, u rostlin z fyto komory byla maximální hodnota $0,2 \text{ mmol H}_2\text{O}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$. Rychlost transpirace se u listů rostlin tabáku pěstovaných ve fyto komoře i za pokojových podmínek ustálila po jedné hodině přibližně na hodnotě $0,04 \text{ mmol H}_2\text{O}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$, pak již byla přibližně konstantní.



Obr. 14: Rychlost transpirace v důsledku vysychání listů měřeného gravimetrickou metodou. Byly měřeny listy 11týdenních rostlin tabáku virginského (*Nicotiana tabacum*), symbol T, jahodníku obecného (*Fragaria vesca*), symbol J, a merlíku bílého (*Chenopodium album*), symbol M. Symbolem P jsou označeny rostliny tabáku pěstované při pokojových podmínkách, FK označuje rostliny pěstované ve fyto komoře. Během měření byly listy vystaveny ozáření $60 \mu\text{mol}(\text{fotonů}) \cdot \text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, po oddělení byly řapíky listů zalepeny vazelínou. Uvedeny průměry a směrodatné odchylky, $n = 5$.

6) Diskuse

Transpirace je důležitým procesem, který je ukončením tzv. transpiračního proudu výdejem vody z povrchu listu. Transpirace umožňuje zásobování všech částí rostliny vodou a minerálními živinami, a zároveň zabraňuje přehřívání listů. Transpirace probíhá hlavně skrze průduchy, přes které dochází nejen k výdeji vodní páry, ale také k příjmu CO₂, což přispívá k zajištění správného průběhu fotosyntézy a dýchání. Transpirace je rovněž důležitá pro celé ekosystémy, přispívá totiž k regulování teplotních gradientů, recyklaci vody a živin a je nedílnou součástí globálního vodního cyklu.

V této práci jsme se zabývali pozorováním vlivu různých podmínek na změny rychlosti transpirace po oddělení listů, kdy dochází k přerušení jejich vodního zásobování a následnému vysychání. Zaměřili jsme se na sledování vlivu různé ozáření, jíž byly listy po oddělení vystaveny. Dále jsme sledovali vliv stáří rostlin a také vliv pěstebních podmínek. Ke srovnání počtu průduchů i rychlosti transpirace byly využity listy tabáku virginského pěstovaného ve fyto komoře, za pevně stanovených neměnných podmínek, a listů rostlin, jež byly několik týdnů před měřením přeneseny do pracovny. Pozorovány byly také dva vybrané druhy rostlin – jahodník obecný a merlík bílý, které vyrostly v přírodních podmínkách.

K měření byla využita gravimetrická metoda, srovnávací metodou byla metoda porometrická. Gravimetrická, označuje se též jako vázková, metoda je velmi jednoduchou metodou. Gravimetrické měření lze provádět buď na intaktních rostlinách či na oddělených listech. Z praktických důvodů, kdy je obtížné použít k měření transpirace celé rostliny, jsme zvolili gravimetrii oddělených listů (Ivanov a kol. 1950). Z obav výrazné ztráty vody přes řapík jsme v první fázi experimentů provedli gravimetrické měření ve dvou variantách, kdy v jedné variantě byly ponechány oddělené listy bez ošetření řapíku, v druhé variantě byla na řapík ihned po oddělení listu aplikovaná vazelína ve snaze zamezit ztrátě vody jinak než samotnou transpirací.

Využitím porometrické metody jako kontrolního prostředku pro sledování průběhu transpirace listů rostlin tabáku vystavených po oddělení různé ozáření bylo navázáno na bakalářskou práci Jana Hlavinky, který sledoval reakci rostlin tabáku na lokální stimuly a standardizoval metodu porometrie (Hlavinka 2006).

Voda se ve vnitřních prostorách listu mění na vodní páru dostávající se do okolní atmosféry jak skrze průduchovou dutinu, tak přes kutikulu. Avšak určující složkou transpirace je u běžných typů rostlin transpirace přes průduchy (Jones 1998). Proto jsme za účelem vysvětlení případných

rozdílů v rychlosti transpirace u různých typů rostlin stanovovali ve vybraných případech hustotu průduchů pomocí mikroreliefové metody.

Počet průduchů na mm^2 byl v případě listů tabáku stanoven nejdříve ve třech oblastech čepele pro zjištění, zdali je rozmístění průduchů na ploše listu homogenní, což by mohlo být následně využito pro kontrolní měření porometrem, kdy je v měřicí komůrce umístěná pouze malá plocha listu. Stanovení počtu průduchů na mm^2 u listů tabáku ve třech oblastech čepele adaxiální i abaxiální strany však neprokázalo výrazné rozdíly hustoty průduchů v těchto oblastech. Dále již proto bylo stanovení počtu průduchů na mm^2 prováděno bez ohledu na původně zvolené oblasti. Výsledky stanovení počtu průduchů na mm^2 prokázaly, že ve všech sledovaných případech listů tabáku byla hustota průduchů na abaxiální straně větší než na straně adaxiální, což je v souladu s literaturou, uvádějící, že průduchy na straně abaxiální mají u řady rostlinných druhů větší hustotu než na straně adaxiální (Driscoll a kol. 2006, Schuster a kol. 2017).

Dalším zjištěním bylo, že rostliny tabáku pěstované po určitou dobu v pokojových podmínkách (charakterizovaných menší ozářeností a nižší relativní vlhkostí vzduchu) celkově vykazovaly větší hustotu průduchů nežli rostliny pěstované ve fytofotochomě. To bylo prokázáno jak při srovnání listů rostlin starých sedm týdnů pěstovaných ve fytofotochomě a rostlin starých devatenáct týdnů pěstovaných za pokojových podmínek (kde mohlo být příčinou rozdílu také různé stáří rostlin), tak při srovnání listů stejně starých (jedenáct týdnů) rostlin pěstovaných ve fytofotochomě a za pokojových podmínek. Počet průduchů u listů rostlin pěstovaných za pokojových podmínek byl přibližně dvojnásobný oproti listům rostlin pěstovaných za pokojových podmínek.

Je známo, že rostliny citlivě reagují na změny vnějších podmínek zvýšením či snížením počtu svých průduchů. Hustota průduchů je obecně vyšší ve vlhkém prostředí, při vyšší ozářenosti, teplotě či vyšší koncentraci CO_2 (Bakker 1991, Gay 1974, Rowland-Bamford 1990). Rostliny pěstované ve fytofotochomě rostly při relativní vlhkosti vzduchu 60 %, zatímco v pracovně se průměrně vlhkost vzduchu pohybovala okolo 22-30 %, ozářenost ve fytofotochomě činila $100 \mu\text{mol}(\text{fotonů}) \cdot \text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$, zatímco v pracovně se pohybovala ozářenost v rozmezí 20–50 $\mu\text{mol}(\text{fotonů}) \cdot \text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$. Z těchto údajů by bylo možno teoreticky vyvodit závěr, že by měl být počet průduchů na mm^2 vyšší u rostlin pěstovaných ve fytofotochomě. Pouze teplota byla v případě rostlin pěstovaných ve fytofotochomě nižší, kdy byla udržována na konstantních 21 °C, zatímco v pracovně se pohybovala v rozmezí 21–25 °C. Kromě teploty mohla mít případný vliv na vyšší počet

průduchů v případě rostlin pěstovaných v pracovně nutnost přizpůsobit se proměnlivějším podmínkám, vyloučen není ani vliv potenciálně vyšší koncentrace CO₂.

V porovnání s tabákem byl u listů jahodníku obecného počet průduchů výrazně vyšší (nejvyšší ze všech rostlinných druhů použitých v této práci), na adaxiální straně listu byl určen průměrný počet průduchů $\alpha = 318 \text{ mm}^{-2}$, na abaxiálně straně listu dosahovaly průduchy průměrného počtu $\alpha = 384 \text{ mm}^{-2}$. Toto zjištění odpovídá literatuře, kde je uváděn průměrný počet průduchů listů jahodníku v rozmezí 200–400 (Keutgen 1999). V případě merlíku bílého byl zjištěn velký rozdíl v hustotě průduchů mezi adaxiální ($\alpha = 23 \text{ mm}^{-2}$) a abaxiální ($\alpha = 102 \text{ mm}^{-2}$) stranou listu, rozdíl činil 75 %.

Rychlost transpirace je závislá nejen na hustotě a velikosti průduchů, ale také na jejich pohybu (otevírání a zavírání) (Jones 1988). Rychlost transpirace je stejně jako vývoj průduchů na listech ovlivněná tím, jak se rostlina přizpůsobuje okolním podmínkám, vliv má také stáří rostliny (Hölzl 1958, Solárová 1958), ozáření, jež způsobuje fotoaktivní otevírání průduchů (Kincl a Krpeš 2000), teplota, vlhkost okolního vzduchu a mnoho dalších faktorů. Gravimetrické určení úbytku hmotnosti listů v čase po jejich oddělení od rostliny tedy proběhlo u listů různě starých rostlin tabáku za účelem zjištění vlivu pěstebních podmínek, stáří rostliny a ozáření působící na listy. Zjišťován byl také efekt způsobu ošetření řapíku po oddělení listů, zdali lze nadměrné ztrátě vody přes řapík, která může v případě gravimetrie zkreslovat výsledky, zabránit aplikací vazelíny.

Z dosavadních studií je známo, že v případě, že je místo, ve kterém byl list oddělen od zbytku rostliny, ponořené v okamžiku oddělení do parafinu či vody, dochází pak následně k menším hmotnostním úbytkům a pomalejší transpiraci (Ivanov a kol. 1950). Tento postup však řeší pouze zabránění narušení transpirace kavitací v důsledku porušení vodních sloupců přítomností vzduchových bublin. Následně však již autory nebyla řešená ztráta vody únikem přes řapík. Náš experiment se zabýval naopak spíše touto částí problematiky a prokázal, že list ztrácí hmotnost v důsledku výdeje vody pomaleji i v případě, kdy k oddělení došlo na vzduchu a řez byl neprodleně zalepený vazelínou. O tomto postupu není v současné literatuře příliš zmínek.

Z výsledků měření poklesu relativní hmotnosti listů i z výpočtu rychlosti transpirace je zřejmý efekt zalepení řapíku na úbytek hmotnosti v důsledku ztráty vody v odděleném listu rostliny i na rychlost tohoto úbytku (Obr. 7, Obr. 8). Zvláště v případě mladších rostlin došlo k výraznému rozdílu úbytku hmotnosti u listů, jejichž řapík nebyl zalepen, oproti listům s řapíky ošetřenými

vazelínou. U listů vystavených po oddělení od rostliny vyšší ozáření došlo po 5 minutách k výraznému nárůstu rychlosti transpirace, který dosáhl svého maxima ve 20. minutě po oddělení listu. Tento jev nastávající po oddělení listu je v literatuře popsán (Falk 1966, Ivanov a kol. 1950). Předpokládá se, že po oddělení listu je transport vody v něm usnadněn díky snížení kohezního napětí, v důsledku čehož dochází ke změně tlaku vodní páry v mezofylových buňkách, nebo že je tento jev čistě důsledkem zvýšení objemu svěřacích buněk v důsledku urychleného transportu vody.

V našem případě došlo k tomuto nárůstu, označovanému také jako Ivanovův skok, pouze u listů, které byly po oddělení vystaveny ozáření 1200 $\mu\text{mol}(\text{fotonů}) \cdot \text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$. S obdobným jevem se také setkali autoři, kteří podobný experiment provedli na oddělených listech dubu červeného (*Quercus rubra*), dubu bílého (*Quercus alba*) a ořešáku černého (*Juglans nigra*). U oddělených listů dubu červeného a dubu bílého došlo nejdříve k prudkému poklesu transpirace, následně však v obou případech došlo k mírnému nárůstu transpirace, oproti ořešáku černému, kde docházelo kontinuálně v čase pouze k poklesu. Autoři tuto situaci vyhodnotili jako větší citlivost listů obou druhů dubu na oddělení, ve srovnání s listy ořešáku černého. Vysvětlují ji jak výrazně vyšší hustotou průduchů v případě dubu červeného (o 166 % oproti ořešáku černému), tak uvádějí také možnost prokázanou v dřívějších studiích, že se může jednat o důsledek rozdílného tlaku mezi epidermálními a svěřacími buňkami. Svěřací buňky průduchů, které mají v důsledku urychleného transportu vody stále vysoký turgor, mohou být po oddělení listů od sebe ještě více oddalovány v důsledku rychlého vysychání epidermálních buněk (Gauthier 2018, Powles a kol. 2006). Dále by k pozorovanému přechodnému nárůstu rychlosti transpirace mohlo přispívat fotoaktivní otvírání průduchů způsobené přemístěním listů (ihned po oddělení) z relativně nízké pěstební ozáření na ozáření vysokou.

Vliv stáří na schopnost rostliny regulovat rychlost transpirace potvrzuje velmi nízký úbytek hmotnosti v důsledku minimální transpirace oproti listům mladších rostlin. V případě listů rostlin starých devatenáct týdnů byla rychlost transpirace v průběhu 5 hodin po oddělení listů nízká a téměř neměnná. Toto pozorování je v souladu se zjištěními, že schopnost regulace transpirace s postupujícím stářím rostliny klesá. Listy tedy transpirují jen minimálně a v důsledku nízké hydratace jejich hmotnost klesá jen velmi pomalu (Hölzl 1958).

Již při sledování efektu zalepení řapíku byl pozorován vliv ozáření listu na úbytek jeho hmotnosti v důsledku ztráty vody (Obr. 8). Následné měření sledující efekt ozáření na ztrátu

hmotnosti a rychlost transpirace oddělených listů prokázalo, že u rostlin vystavených nejvyšší ozáření klesla hmotnost v důsledku ztráty vody nejvíce, a jedině v tomto případě byl zaznamenán také přechodný nárůst rychlosti transpirace krátce po oddělení listů (Obr. 9). U listů vystavených střední ozáření v porovnání s ostatními variantami došlo ke střednímu úbytku hmotnosti, rychlost transpirace jen postupně klesala, byla relativně nízká a nedocházelo k jejím výraznějším výkyvům. Rostliny vystavené nejnižší ozáření transpirovaly nejméně, což se projevilo jak nejnižším úbytkem hmotnosti, tak nejmenší rychlostí transpirace. Výsledky porometrického měření rychlosti transpirace listů tabáku potvrdily efekt ozáření na transpiraci, kdy rychlost transpirace byla vyšší u listů vystavených vyšší ozáření (Obr. 11 a Obr. 12).

Listy rostlin tabáku pěstovaných ve fytokomoře vykazovaly menší úbytek hmotnosti v důsledku ztráty vody oproti listům tabáku pěstovaných za pokojových podmínek. Transpirace listů rostlin pěstovaných ve fytokomoře měla také nižší rychlost oproti listům pěstovaných za pokojových podmínek. Tento rozdíl byl nejspíše způsoben větší četností průduchů na mm^2 u rostlin pěstovaných za pokojových podmínek oproti rostlinám pěstovaným ve fytokomoře. Tyto výsledky jsou rozdílné oproti výsledkům výzkumu, kdy bylo prokázáno, že listy slunečnice (*Helianthus annuus* L.) pěstované ve fytotronu při dlouhodobém udržování stabilních podmínek teploty, ozáření a optimální relativní vlhkosti vzduchu vadly v porovnání s listy slunečnice rostoucí ve venkovních podmínkách výrazně rychleji při stejné úrovni vodního deficitu v půdě (Hirasawa 1991). Jelikož jsme pozorovali rozdíly v reakci rychlosti transpirace i v počtu průduchů u listů rostlin tabáku pěstovaných ve fytokomoře a za pokojových podmínek, rozhodli jsme se dále provést měření na rostlinách, které vyrostly ve venkovním prostředí. Zvolili jsme pro to listy merlíku bílého a také jahodníku obecného, který má drobné listy a mohla by se takto ověřit citlivost gravimetrické metody v případě listů nízké hmotnosti, a tudíž i na její malé změny. U listů rostlin jahodníku (Obr. 13) došlo k nejvýraznějšímu poklesu relativní hmotnosti, oproti listům merlíku bílého. Také rychlost transpirace byla nejvyšší. Listy jahodníku s velkou pravděpodobností transpirovaly rychleji v důsledku vyššího počtu průduchů na mm^2 ($\alpha = 318\text{--}384 \text{ mm}^{-2}$).

7) Závěr

V bakalářské práci jsme se zabývali transpirací a vlivem vnějších i vnitřních podmínek jako je ozáření, pěstební podmínky, stáří rostliny, reakce listů na jejich oddělení od rostliny, a tedy zamezení příjmu vody, na její průběh. Ke sledování reakcí v důsledku působení těchto podmínek jsme využili gravimetrické metody. Kontrolní metodou pro sledování vlivu ozáření byla metoda porometrická. V případě dlouhodobě působících faktorů, jako jsou pěstební podmínky a stáří rostliny jsme také sledovali vliv na počet průduchů na mm^2 listu, který úzce souvisí s transpirací rostliny. Počet průduchů na mm^2 byl stanoven mikroreliefovou metodou. Měření rychlosti transpirace i stanovení počtu průduchů na mm^2 probíhalo na listech tabáku virginského (*Nicotiana tabacum* L. cv. Samsun), listech jahodníku obecného (*Fragaria vesca* L.) a merlíku bílého (*Chenopodium album* L.).

Sledování změn rychlosti transpirace pomocí gravimetrické metody prokázalo relativně velký vliv zalepení řapíku, k čemuž by mělo být přihlédnuto v případě, že ke stanovení rychlosti transpirace je použita právě tato metoda. Projevil se výrazný efekt ozáření, který byl potvrzen také porometrem, kdy listy tabáku vystavené vysoké intenzitě PAR dosahovaly vysoké rychlosti transpirace a jejich hmotnost v důsledku ztráty vody výrazně klesla. U listů vystavených vysoké ozáření došlo krátce po oddělení také k přechodnému nárůstu transpirace, což mohlo být způsobeno rychlým vysycháním epidermálních buněk a/nebo případně fotoaktivním otevíráním průduchů na vysokém světle. Listy mladých rostlin ztrácely po oddělení listu rychleji větší objem vody, oproti starším rostlinám, které vykazovaly pomalou transpiraci a zároveň po oddělení jejich hmotnost v důsledku ztráty vody klesla pouze minimálně. Sledování efektu pěstebních podmínek prokázalo, že u listů tabáku pěstovaného ve fytozimoře, jejichž počet průduchů na mm^2 byl nižší oproti rostlinám pěstovaným po část života za pokojových podmínek, klesla hmotnost v důsledku ztráty vody méně. Rychlost transpirace u těchto rostlin byla také nižší. U listů rostlin, které rostly ve venkovním prostředí, docházelo k rychlejšímu a většímu poklesu hmotnosti v důsledku ztráty vody oproti listům tabáku. K zvláště výraznému poklesu došlo v případě jahodníku obecného, jehož počet průduchů na mm^2 je výrazně větší oproti dalším měřeným rostlinám.

Naše práce ukázala, že i když je stanovení rychlosti transpirace pomocí gravimetrie velmi nenáročná metoda, je díky ní možné velmi dobře pozorovat rozdíly v průběhu transpirace za různých okolních podmínek. Nevýhodou metody může být náročnost na čas, kdy je potřeba provádět vážení listů velmi přesně v krátkých intervalech po delší dobu.

Využití gravimetrické metody by mohlo být v dalších experimentech prověřeno v souvislosti s intenzitou PAR kupříkladu u rostlin, které by se před oddělením zkoumaných listů nechaly delší dobu na danou intenzitu PAR aklimovat. Dále by se mohlo provést srovnání různých metodik oddělení listů, kupříkladu v kombinaci s listy, jejichž oddělovaná část by v době oddělení byla ponořená do vody a následně zalepená, v případě kdy došlo k oddělení listů pod vodou, ale řapík nebyl zalepen atp.

8) Seznam literatury

- Anderegg W.R.L., Arango-Velez A., Choat B., Chmura D.J., de Dios V.R., Jansen S., Kolb T., Li S., Meinzer F., Pita P., Sperry J.S., Wolfe B.T., Pacala S. (2017) Plant water potential improves prediction of empirical stomatal models. *Plos One* **12**: 10.
- Arve L.E., Torre S., Olsen J.E., Tanino K.K. (2011) Stomatal responses to drought stress and air humidity. In.: *Abiotic stress in plants-Mechanisms and adaptations*. (Shanker A. ed.), In Tech, Rijeka, Croatia, 267-280.
- Bakker J.C. (1991) Effects of humidity on stomatal density and its relation to leaf conductance. *Scientia Horticulturae* **48**, 205-212
- Beerling D.J., Berry J.A., Franks P.J. (2010) Stomata: key players in the earth system, past and present. *Current Opinion in Plant Biology* **13**, 232-239.
- Bird S.M., Gray J.E. (2003) Signals from the cuticle affect epidermal cell differentiation. *New Phytologist* **157**, 9-23.
- Bresinsky A., Kadereit, J.W., Körner Ch., Neuhaus G., Sonnewald U. (2013) Energetics of Metabolism In: *Strasburger's plant sciences: Including prokaryotes and fungi*, Springer, Berlin, Germany, 239-267
- Brunner U., Eller B.M. (1974) Stomatal opening in the dark at high temperatures. *Planta* **121**, 293-302.
- Casal J.J., Balasubramanian S. (2019) Thermomorphogenesis. *Annual Review of Plant Biology* **70**, 321-346.
- Casson S. A., Hetherington A.M. (2010) Environmental regulation of stomatal development. *Current Opinion in Plant Biology* **13**, 90-95.
- Carminati A., Javaux M. (2020) Soil rather than xylem vulnerability controls stomatal response to drought. *Trends in Plant Science* **25**, 868-880
- Decker J.P., Wien J.D. (1960) Transpirational surges in *Tamarix* and *Eucalyptus* as measured with an infrared gas analyzer. *Plant Physiology* **35**, 340-343.
- Driscoll S.P., Prins A., Olmos E., Kunert K.J., Foyer C.H. (2006) Specification of adaxial and abaxial stomata, epidermal structure and photosynthesis to CO₂ enrichment in maize leaves. *Journal of Experimental Botany* **57**, 381-390.

- Edwards D., Davies K.L., Axe L. (1992) A vascular conducting strand in the early land plant *Cooksonia*. *Nature* **357**, 683-685.
- Falk S.O. (1966) Quantitative determinations of the effect of excision on transpiration. *Physiologia Plantarum* **19**, 493-522.
- Field C.B., Behrenfeld M.J., Randerson J.T., Falkowski P. (1998) Primary production of the biosphere: integrating terrestrial and oceanic components. *Science* **281**, 237-240.
- Gates D.M. (1980). Evaporation and transpiration. *Biophysical Ecology*, 307-344.
- Gay A.P, Hurd R.G. (1974) The influence of light on stomatal density in the tomato. *New Phytologist* **75**, 37-46.
- Geisler M., Nadeau J., Sack F.D. (2000) Oriented asymmetric divisions that generate the stomatal spacing pattern in *Arabidopsis* are disrupted by the too many mouths mutation. *The Plant Cell* **12**, 2075-2086.
- Gleason S.M., Blackman C.J., Cook A.M., Laws C.A., Westoby M. (2014) Whole-plant capacitance, embolism resistance and slow transpiration rates all contribute to longer desiccation times in woody angiosperms from arid and wet habitats. *Tree Physiology* **34**, 275-284.
- Gauthier M.M., Jacobs D.F. (2018) Reductions in net photosynthesis and stomatal conductance vary with time since leaf detachment in three deciduous angiosperms. *Trees* **32**, 1247-1252.
- Hetherington A.M., Woodward F.I. (2003) The role of stomata in sensing and driving environmental change. *Nature* **424**, 901-908.
- Hirasawa T., Wakabayashi K., Touya S., Ishihara K. (1991) Stomatal responses to water deficits and abscisic acid in leaves of sunflower plants (*Helianthus annuus* L.) grown under different conditions. *Plant Cell Physiology* **36**, 955-964.
- Ivanov L.A., Silina A.A., Tsel'niker Y.L. (1950) Rapid weighing method for determining transpiration under natural conditions. *Botanicheskii Zhurnal* **35**, 171-85.
- Jones H.G. (1998) Stomatal control of photosynthesis and transpiration. *Journal of Experimental Botany* **49**, 387-398.
- Jung J.H., Domijan M., Klose C., Biswas S., Ezer D., Gao M., Khattak A.K., Box M.S., Charoensawan V., Cortijo S., Kumar M., Grant A., Locke J.C.W., Schäfer E., Jaeger K.E., Wigge P.A. (2016) Phytochromes function as thermosensors in *Arabidopsis*. *Science* **354**, 886-889.

- Kerstiens G. (1996) Cuticular water permeability and its physiological significance. *Journal of Experimental Botany* **47**, 1813-1832.
- Kiang N.Y., Siefert J., Blankenship R.E. (2007) Spectral signatures of photosynthesis. I. Review of earth organisms. *Astrobiology* **7**, 222-251.
- Kidner C.A., Timmermans M.C. (2010) Signaling sides: adaxial–abaxial patterning in leaves. *Current Topics in Developmental Biology* **91**, 141-168.
- Kincl M., Krpeš V. (2000) *Základy fyziologie rostlin*. 2. vyd., Montanex, Ostrava, 220 stran.
- Kostaki K.I., Coupel-Ledru A., Bonnell V.C. Gustavsson M., Sun P. McLaughlin F.J., Fraser D.P. McLachlan D.H., Hetherington A.M., Dodd A.N., Franklin K.A. (2020) Guard cells integrate light and temperature signals to control stomatal aperture. *Plant Physiology* **182**, 1404-1419.
- Keutgen N., Chen K., Lenz F. (1999) Stomatal responses of strawberry leaves to moderate ozone. *Gartenbauwissenschaft* **64**, 70-74
- Lisar S.Y., Motafakkerzad R., Hossain M.M., Rahman I.M. (2012) Causes, Effects and Responses. In: *Water stress* (Rahman M., Hasegawa H. eds.), In Tech, Rijeka, Coratia, 1-42.
- Lobell D.B., Costa-Roberts J., Schlenker W. (2011). Climate trends and global crop production since 1980. *Science* **333**, 616-620.
- Mahajan S., Tuteja N. (2005) Cold, salinity and drought stresses: an overview. *Archives of Biochemistry and Biophysics* **444**, 139-158.
- Machado R., Alves R.D.F.B., Cochard H., de Sousa L.F., Farnese S.F., Filho S.C.V.F., Loram-Lourenco L., Menezes-Silva P.E., Silva F.G., Torres-Ruiz J.M. (2021) Where do leaf water leaks come from? Trade-offs underlying the variability in minimum conductance across tropical savanna species with contrasting growth strategies. *New Phytologist* **229**, 1415-1430
- Němec B. (1962) *Botanická mikrotechnika..*, Nakladatelství československé akademie věd, Praha, 482 stran.
- Pazourková Z. (1982) *Botanická mikrotechnika..*, Univerzita Karlova, Praha, 166 stran.
- Penka M. (1985) *Transpirace a spotřeba vody rostlinami*. Academia, Praha, 250 stran.
- Pisek A., Berger E. (1938) Kutikuläre transpiration und trockenresistenz isolierter blätter und sprosse. *Planta* **28**, 124-155.

- Pirasteh-Anosheh H., Pakniyat H., Pessaraki M., Saed-Moucheshi A. (2016) Stomatal responses to drought stress. *Water Stress and Crop Plants*, 24-40
- Powles J.E., Farquhar, G.D., Nicotra A.B., Buckley T.N. (2006) Dynamics of stomatal water relations following leaf excision. *Plant, Cell & Environment* **29**, 981-992.
- Rich S., Turner N.C. (1972) Importance of moisture on stomatal behavior of plants subjected to ozone. *Journal of the Air Pollution Control Association* **22**, 718-721.
- Rowland_Bamford A.J., Baker J.T., Bowes G., Nordenbrock C., Allen L.H. (1990) Changes in stomatal density in rice grown under various CO₂ regimes with natural solar irradiance. *Environmental and Experimental Botany* **30**, 175-180.
- Rufelt H. (1956) Rapid changes in transpiration in plants. *Nature* **200**, 284
- Sadok, W., Jagadish, S.K. (2020). The hidden costs of nighttime warming on yields. *Trends in Plant Science*, **25**, 644-651.
- Schuster A.C., Burghardt M., Riederer M. (2017) The ecophysiology of leaf cuticular transpiration: are cuticular water permeabilities adapted to ecological conditions? *Journal of Experimental Botany* **68**, 5271-5279.
- Solárová J. (1969) Hydroreactivity of stomata in kale leaves of different insertion level as determined by analysis of transpiration curves, *Biologia Plantarum* **12**, 110-116
- Stålfelt M.G. (1955) The stomata as a hydrophotic regulator of the water deficit of the plant. *Physiologia Plantarum* **8**, 572-593.
- Taiz L., Zeiger E. (2010) Responses and adaptations to abiotic stress. *Plant Physiology, Fifth Edition*. Sunderland, MA: Sinauer Associates, Inc, 755-778.
- Taiz L., Zeiger, E. (2002) Photosynthesis: physiological and ecological considerations. *Plant Physiol* **9**, 172-174.
- Ustin S.L., Jacquemoud S., Govaerts, Y. (2001) Simulation of photon transport in a three-dimensional leaf: implications for photosynthesis. *Plant, Cell & Environment* **24**, 1095-1103.
- Vinter, V. (2008). *Rostliny pod mikroskopem: základy anatomie cévnatých rostlin.*, Univerzita Palackého v Olomouci, Olomouc, 186 stran.

- Wallace A. M., Stout N. B. (1962) Transpiration rates under controlled environment: Species, humidity, and available water as variables. *Ohio Journal of Science* **62**, 18-26.
- Wang Y., Noguchi K., Ono N., Inoue S.I., Terashima I., Kinoshita T. (2014) Overexpression of plasma membrane H⁺-ATPase in guard cells promotes light-induced stomatal opening and enhances plant growth. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **111**, 533-538.
- Willmer C., Fricker M. (1996) *Stomata*. Springer, Netherlands, 400 stran.
- Yang J., Li C., Kong D., Guo F., Wei H. (2020) Light-mediated signaling and metabolic changes coordinate stomatal opening and closure. *Frontiers in Plant Science* **11**, 1915.
- Zelitch I. (1965) Environmental and biochemical control of stomatal movement in leaves. *Biological Reviews* **40**, 463-481.
- Zhang Y., Devkota R.A., Du Z., Chen M., Chen Ch., Chen X., Chen Z., Sun W., Zhang W. (2020) A proposed method for simultaneous measurement of cuticular transpiration from different leaf surfaces in camellia sinensis. *Frontiers in Plant Science* **11**: 420