

**Univerzita Karlova v Praze**  
**Přírodovědecká fakulta**  
**Katedra fyziologie rostlin**



## **Vliv zvýšené koncentrace CO<sub>2</sub> na anatomii listu jehličnanů**

**Bakalářská práce**

Zuzana Kubínová

Praha 2008

**Vedoucí bakalářské práce:**

Mgr. Zuzana Lhotáková, Katedra fyziologie rostlin PřF UK

**Konzultant bakalářské práce:**

doc. RNDr. Jana Albrechtová, Ph.D., Katedra fyziologie rostlin PřF UK

*Prohlašuji, že jsem tuto bakalářskou práci vypracovala samostatně s použitím citované literatury pod vedením Mgr. Zuzany Lhotákové a doc. Jany Albrechtové a souhlasím s jejím zveřejněním.*

*V Praze, dne*

*Zuzana Kubínová*

## **Poděkování**

Děkuji Zuzce Lhotákové a doc. Janě Albrechtové za nezměrnou vstřícnost, podporu a trpělivost a za cenné připomínky v průběhu vytváření této práce.

Děkuji za příjemné prostředí a podporu dalším členům Katedry fyziologie rostlin PřF UK v Praze.

Děkuji svým rodičům za povzbuzování a toleranci a své sestře za přípravu pokrmů, které mi dodaly síly do další práce.

## OBSAH:

Seznam použitých zkratk	4
Abstrakt	5
Abstract	6
1. Úvod	7
1.1 Anatomie listu jehličnanů – stavba jehlice	7
1.1.1 Pokožka	8
1.1.2 Mezofyl	9
1.1.3 Vodivá pletiva	9
1.2 Koncentrace CO <sub>2</sub> a její vliv na rostliny	11
1.2.1 Změny koncentrace CO <sub>2</sub> v atmosféře Země	11
1.2.2 Studium vlivu zvýšené koncentrace CO <sub>2</sub> na rostliny	13
1.2.3 Vliv zvýšeného obsahu CO <sub>2</sub> v atmosféře na rostliny	18
2. Vliv oxidu uhličitého na strukturu listu	20
2.1 Změny v morfogenezi listu	20
2.1.1 Změny v zakládání a senescenci listů	20
2.1.2 Změny v relativní rychlosti růstu listů	21
2.1.3 Změny ve zvětšování a tvorbě buněčné stěny	23
2.1.4 Změny v morfologických parametrech listu	25
2.1.5 Změny v tvorbě sušiny a asimilátů	26
2.2 Mikroskopické změny struktury listu	28
2.2.1 Krycí pletiva	28
2.2.1.1 Průduchy	28
2.2.2 Mezofyl	30
2.2.2.1 Chloroplasty	31
2.2.2.2 Obsah nestrukturních sacharidů v listu	33
2.2.3 Vodivá pletiva	33
3. Závěr	34
4. Citovaná literatura	36

## Seznam použitých zkratk

**AC** (ambient concentration) normální koncentrace CO<sub>2</sub>

**EC** (elevated concentration) zvýšená koncentrace CO<sub>2</sub>

**FACE** free air CO<sub>2</sub> enrichment

**OTC** (open top chamber) otevřená růstová komora

**ppm** (parts per milion) jednotka koncentrace – miliontina objemu (1:10<sup>6</sup>), počet objemových jednotek z milionu těchto jednotek

**RGR** (relative growth rate) relativní rychlost růstu, tj. změna hmotnosti biomasy na jednotku biomasy za čas

**SLA** (specific leaf area) specifická listová plocha, tj. plocha listu vztažená na jednotku hmotnosti sušiny listu

**SLW** (specific leaf weight) specifická hmotnost listu, tj. hmotnost sušiny listu vztažená na plochu listu; též **LMA** (specific leaf mass area), **SLM** (specific leaf mass), **LSM** (leaf specific mass)

**UDP-Glc dehydrogenáza** uridindifosfát-glukóza dehydrogenáza, enzym, který se podílí na dráze tvorby součástí buněčné stěny

**XET** (xyloglucan endotransglycosylase) xyloglukan endotransglykosyláza

**[CO<sub>2</sub>]** koncentrace oxidu uhličitého

## **Abstrakt**

V posledních desetiletích narůstá koncentrace CO<sub>2</sub> v atmosféře Země, což má vliv na rostliny, neboť CO<sub>2</sub> je substrátem pro fotosyntézu a zdrojem uhlíku, jenž je vázán do jejich biomasy. Bylo zjištěno, že zvýšená koncentrace CO<sub>2</sub> v atmosféře ovlivňuje fyziologické procesy v rostlinách, zejména má vliv na rychlost fotosyntézy, tvorbu a ukládání zásobních látek a na fyziologické procesy ovlivňované průduchy. Vzhledem k propojenosti struktur a funkce též působí změny stavby rostlinných orgánů, především listů, které jsou místem, kde fotosyntéza probíhá.

Změny v anatomii listu se mohou projevit na všech úrovních pozorování. Nejsou však u všech zkoumaných druhů rostlin konzistentní, což naznačuje komplikovanost působení změn koncentrace CO<sub>2</sub> na rostliny. U anatomických struktur se vliv zvýšené koncentrace CO<sub>2</sub> nejvíce projevuje při jejich vytváření, zatímco po ukončení vývoje listu nedochází k výrazným změnám jeho stavby. Zvýšenou koncentrací CO<sub>2</sub> jsou proto více ovlivněny mladé, rostoucí rostliny. Při morfogenezi listu se může změnit velikost a rychlost tvorby buněk, a tím i tvar a velikost celého listu. Změny se dále projevují ve fyziologických a strukturálních vlastnostech pletiv, např. v parametrech mezofylu a vodivých pletiv či v počtu průduchů, kdy se při vyšší koncentraci CO<sub>2</sub> obvykle snižuje hustota průduchů. V neposlední řadě může být ovlivněna ultrastruktura chloroplastů.

Ze studií působení zvýšené koncentrace CO<sub>2</sub> na anatomii listu často i u příbuzných druhů vyplývají protichůdné výsledky. Tato skutečnost je zřejmě způsobena kombinací environmentálních a vnitřních faktorů, jejichž vliv je třeba brát v potaz při odhalování mechanismů tohoto komplikovaného procesu.

Cílem předkládané práce je zhodnotit vliv zvýšené koncentrace CO<sub>2</sub> v atmosféře na anatomii listu jehličnanů. První část práce nabízí nejprve shrnutí základních anatomických charakteristik listů jehličnanů, dále je věnována změnám koncentrace oxidu uhličitého v atmosféře, vlivům CO<sub>2</sub> na rostliny a souhrnu experimentálních metod studia působení CO<sub>2</sub> na rostliny. Ve druhé, hlavní části práce je popsáno působení oxidu uhličitého na anatomii listu se zaměřením na jehlice jehličnanů ve vztahu k procesům morfogeneze listu a mikroskopickým změnám struktury jehlic.

**Klíčová slova:** anatomie listu, jehlice, koncentrace CO<sub>2</sub>, mezofyl, morfogeneze listu, pokožka, průduchy, strukturální parametry listu, rychlost růstu

## **Abstract**

During the last decades CO<sub>2</sub> concentration has been increasing in the Earth atmosphere, thus affecting plants because CO<sub>2</sub> represents a substrate for photosynthesis and a source of carbon, which is bound into their biomass. It was found that the elevated CO<sub>2</sub> concentration affects physiological processes in plants, namely photosynthetic rate, production and accumulation of storage substances and the physiological processes affected by stomata. Regarding interconnection of structure and function, elevated CO<sub>2</sub> concentration also causes changes in the structure of plant organs, particularly leaves, in which photosynthesis takes place.

Changes in the leaf anatomy can be found at all levels of observation. However, they are not consistent, which indicates the complexity of the effect of the elevated CO<sub>2</sub> concentration on plants. In the case of leaf anatomical structures, this effect is strongest during the leaf development, while in the structure of mature leaves there are not so distinct changes. Young, developing plants are thus more strongly affected by the elevated CO<sub>2</sub> concentration. During the leaf morphogenesis the cell size and cell production rate can change, resulting also in shape and size changes of entire leaf. Further, there are changes in physiological and structural characteristics of tissues, e.g. in parameters of mesophyll, vascular tissues and stomata. The elevated CO<sub>2</sub> concentration can result in the increase of the stomatal density and stomatal index. It can also influence the chloroplast ultrastructure.

The results of studies of the effect of the elevated CO<sub>2</sub> concentration on leaf anatomy are often contradictory, even in the case of related species. This fact is caused by the combined effect of different environmental and internal factors, which has to be taken into account in elucidation of mechanisms of this complicated process.

The aim of the present review was to evaluate the effect of elevated CO<sub>2</sub> concentration on leaf anatomy of coniferous needles. The first part of the review briefly describes basic anatomical characteristics of needles, then shortly refers to changes in CO<sub>2</sub> concentration in atmosphere and finally it reviews currently available methods of simulation of CO<sub>2</sub> enrichment. The second, main part then describes the effects of elevated CO<sub>2</sub> concentration on leaf anatomy with emphasis given to coniferous needles. This part is focused on processes of leaf morphogenesis and on microscopic changes of needles.

**Keywords:** leaf anatomy, needles, CO<sub>2</sub> concentration, mesophyll, leaf morphogenesis, epidermis, stomata, leaf structural parameteres, growth rate

## 1. Úvod

Anatomie listu rostlin je ovlivněna podmínkami, ve kterých rostliny rostou. Jedním z faktorů prostředí, který ovlivňuje strukturu listů, je hodnota koncentrace oxidu uhličitého v okolním vzduchu. Cílem této práce je shrnout poznatky o vlivech zvýšené koncentrace CO<sub>2</sub> v atmosféře na anatomii listu jehličnanů. Původním záměrem práce bylo soustředit se na danou problematiku pouze u jehličnanů, avšak vzhledem k menšímu množství literatury zabývající se jehličnany byly využity i výsledky prací, které zkoumaly vliv zvýšené koncentrace CO<sub>2</sub> na strukturu listů jiných rostlin.

První, úvodní část práce nabízí shrnutí základních anatomických charakteristik listů jehličnanů, dále je věnována změnám koncentrace oxidu uhličitého v atmosféře, vlivům CO<sub>2</sub> na rostliny a souhrnu experimentálních metod studia působení CO<sub>2</sub> na rostliny. Ve druhé, hlavní části práce – v kapitole 2 – je popsáno působení oxidu uhličitého na anatomii listu se zaměřením na jehlice jehličnanů na různých úrovních pozorování – od změn na makroskopické úrovni až po změny v ultrastruktuře. Tato část pojednává o změnách v morfogenezi listu způsobených zvýšenou koncentrací CO<sub>2</sub> (kap. 2.1.) a dále o mikroskopických změnách struktury zralých jehlic (kap. 2.2). Následuje závěr a seznam citované literatury.

### 1.1 Anatomie listu jehličnanů – stavba jehlice

Anatomická stavba listu byla studována již od objevení mikroskopie a byla popsána v mnoha učebních textech, které se zabývají anatomii rostlin (Esau, 1977; Mauseth, 1988; Fahn, 1990; Pazourek a Votrubová, 1997; Dickison, 2000; Votrubová, 2001; Evert, 2006), poznatky z uvedených zdrojů byly využity v celé této kapitole. Jehlice smrku ztepilého byly experimentálním materiálem několika diplomových a dizertačních prací týmu doc. Albrechtové a následných publikací (Soukupová *et al.*, 2000a; Soukupová *et al.*, 2000b), ze kterých byla v této kapitole využita některá jejich mikroskopická dokumentace.

List je nejrozmanitějším rostlinným orgánem. Existuje více typů listu, nejčastější jsou asimilační listy (trofofyly), kterých se týkají dále uváděné údaje. Stavba listu je dána jeho funkcí – list slouží hlavně k fotosyntéze a transpiraci. Je třeba, aby zachytil co nejvíce záření, a proto bývá u většiny rostlin plochý a zároveň tenký, aby se záření dostalo skrze list do všech jeho částí. Listy jehličnanů jsou tenké, úzké a protáhlé; pro svůj tvar se nazývají jehlice. Jsou to jednožilné xeromorfní listy, které vyrůstají ve svazcích o jedné až pěti jehlicích. Počtem



jehlic ve svazku může být ovlivněn jejich tvar na příčném průřezu, příkladem je tvar jehlice borovice, který záleží na počtu jehlic ve svazku – svazek je na průřezu kruhový – viz obr. 1.1 c. Na obrázcích 1.1a-f je znázorněna stavba jehlic několika druhů stromů. Listy jehličnanů většinou přes zimu neopadávají, výjimkou je například modřín a tis.

### 1.1.1 Pokožka

List je ohraničen krycím pletivem – pokožkou (epidermis), která bývá tvořena jednou vrstvou dlaždicovitých, těsně se dotýkajících buněk (obr. 1.1a, e). Části jejich buněčných stěn vystavené okolnímu prostředí bývají ztlustlé a nacházejí se v nich hydrofóbní látky – kutin, vosky a na povrchu nebuněčná vrstva kutikula. Tyto látky omezují propustnost stěn pro vodu. Jehlice bývají často vystaveny působení faktorů prostředí i po několik let, a proto mají buňky jejich pokožky tlusté buněčné stěny a povrch jehlic je potažen silnou kutikulou s epikutikulárními vosky.

V pokožce se nacházejí průduchy, které umožňují výměnu plynů mezi vnitřním prostorem listu a okolím. U jehlic, stejně jako u jiných listů, obsahují svěrací buňky průduchů narozdíl od ostatních buněk pokožky chloroplasty. Míra dostupnosti  $\text{CO}_2$  pro biochemický a fotochemický aparát fotosyntézy, která reguluje tok  $\text{CO}_2$  podle jeho potřeby uvnitř listu, je vyjádřena parametrem vodivosti průduchů. Při uzavření průduchů je rychlost fotosyntézy limitována dostupností  $\text{CO}_2$ , jehož koncentrace je v intercelulárách nízká. Průduchy mohou být u jehlic zanořené pod povrch listu, jako je tomu například u smrku ztepilého a některých druhů borovic a douglasek (obr. 1.1b), aby se z nich uvolněné molekuly vody nedostaly snadno do volného vzduchu, ale hromadily se v epistomatální dutině. Tím vytvoří vyšší koncentraci vodní páry v okolí průduchu, čímž se sníží výdej vody z listu.

Průduchy jsou na všech stranách jehlice, obvykle uspořádané v řadách, jako je tomu např. u smrku a borovice. Počet a hustota průduchů záleží druhu rostliny i na podmínkách okolního prostředí. Hustota průduchů, tedy počet průduchů na  $\text{mm}^2$ , se liší mezi druhy rostlin i mezi oblastmi listu, protože v rámci listu existují vývojové gradienty, a její hodnota se pohybuje od desítek po stovky. Hustota průduchů je citlivá na změny koncentrace  $\text{CO}_2$ , čehož je využíváno při paleoklimatologických studiích (viz kapitola 2.2.1.1). Na krátkodobé nebo náhlé změny vlastností okolního prostředí průduchy odpovídají změnami otevřenosti, která ovlivňuje vodivost průduchů a tím i rychlost transpirace.

### 1.1.2 Mezofyl

Pod pokožkou se u jehlic obvykle nachází vrstva sklerenchymatických buněk, které tvoří spodní pokožku, takzvanou hypodermis (Fahn, 1990). Tato vrstva není v místech, kde se nacházejí vertikální řady průduchů (obr. 1.1e). Hypodermis se nalézá u většiny druhů jehličnanů, například u smrku ztepilého *Picea abies*, u borovic, u čeledi *Araucariaceae* a u dalších druhů, zatímco u tisu a toreje se nevyskytuje vůbec (Esau, 1977).

Základní listové pletivo – listový mezofyl – tvoří parenchymatické buňky, v nichž se nachází velký počet chloroplastů. Mezofylové buňky bývají u jehlic laločnaté, s výběžky buněčných stěn trčícími do mezibuněčných prostor, které se nazývají interceluláry, a jimiž proudí do mezofylu plyny přijaté prostřednictvím průduchů. Vnitřní povrch listu, tj. součet povrchů všech stěn mezofylových buněk vystavených intercelulárám, je důležitý kvantitativní parametr listu.

Jehlice jsou listy ekvifaciální, tj. mají podobnou stavbu mezofylu na obou stranách listu. Jejich mezofyl je tvořen buď několika vrstvami nerozlišených laločnatých chlorchymatických buněk – např. u borovice, smrku a cedru, nebo je rozlišen na houbovitý a palisádový parenchym – např. u jedle, tisu, douglasky, blahočetu, ostrolistce, sekvoje a *Podocarpu* (Mauseth, 1988). V mezofylu jehlic se může vyskytovat různý počet pryskyřičných kanálků, které mají na průřezu kruhový okraj tvořený epiteliálními buňkami (obr. 1.1a).

### 1.1.3 Vodivá pletiva

Vodivá pletiva se nacházejí ve středním válci jehlice, který je ohraničen endodermis, vrstvou zpravidla tlustostěnných buněk (obr. 1.1a, e). Jehlicemi probíhá jeden (např. rod *Picea*) nebo dva (např. rod *Pinus*) cévní svazky, které bývají nerozvětvené. Sestávají z xylému, umístěného blíže k přivrácené (adaxiální) straně a z floému blíže k spodní, odvrácené (abaxiální) straně jehlice. Prostor mezi cévními svazky a endodermis vyplňuje u jehlic transfúzní pletivo, tvořené tracheidami a parenchymatickými buňkami, z nichž mnohé obsahují velké vakuoly s polyfenolickými látkami. Ve středním válci se nevyskytují žádné mezibuněčné prostory (Esau, 1977).





**Obr. 1.1:** Struktura jehlic na příčném řezu

**a** Jehlice *Pinus monophylla*. **A** příčný řez celou jehlicí, **B** podélný řez mezofylem a trasfúzním pletivem, **C** příčný řez středem jehlice. Převzato z Esau (1977), upraveno.

**b** Detail zanořeného průduchu smrku ztepilého *Picea abies* ucaného voskem. Převzato ze Soukupová *et al.* (2000a).

**c** Schéma uspořádání jehlic borovic ve svazcích a tvarů jejich příčných řezů. Převzato z <<http://www.lovett-pinetum.org/drawingneedles.jpg>> a upraveno.

**d** Příčný řez jehlicí *Picea pungens*. Převzato ze Soukupová *et al.* (2000b).

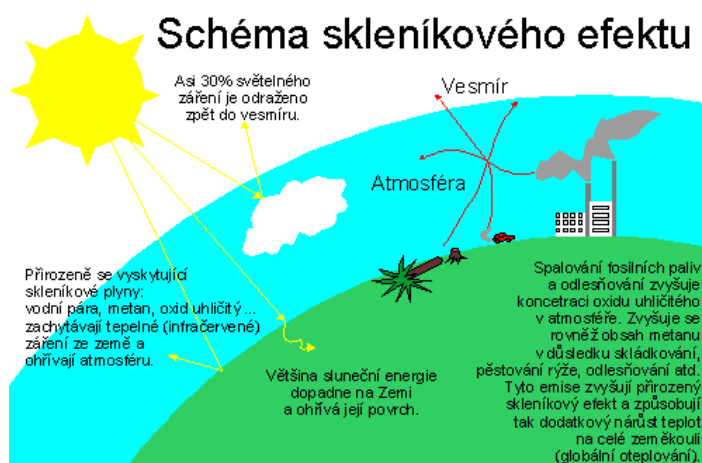
**e** Popis základních struktur na příkladu jehlice *P. pungens*. Převzato ze Soukupová *et al.* (2000b) a upraveno.

**f** Příčné řezy jehlicemi: **A** borovice černé *Pinus nigra*, **B** modřínu *Larix* sp., **C** tisů *Taxus canadensis*, **D** *Abies* sp. Převzato z Esau (1977), upraveno.

## 1.2 Koncentrace CO<sub>2</sub> a její vliv na rostliny

### 1.2.1 Změny koncentrace CO<sub>2</sub> v atmosféře Země

Oxid uhličitý patří mezi tzv. skleníkové plyny, které zachycují a odrážejí infračervené záření, jež by se bez jejich přítomnosti v atmosféře rychleji uvolnilo do vesmíru, čímž se podílejí na zvyšování teploty zemské atmosféry. Tento jev se nazývá skleníkový efekt. Je popsán na obr. 1.2.

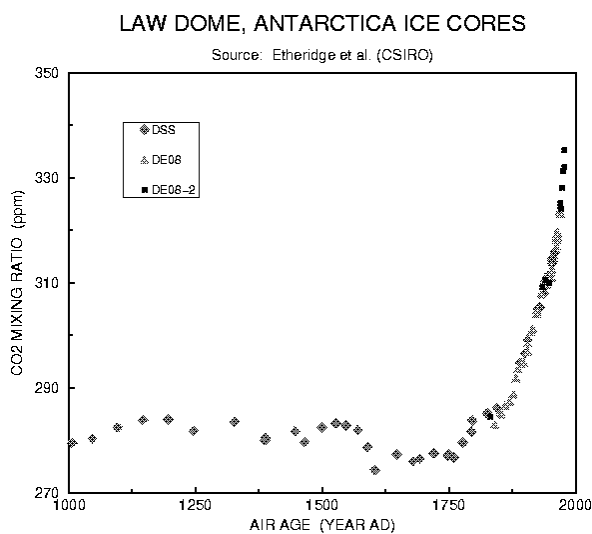


**Obr 1.2:** Schéma skleníkového efektu. Převzato z Wikimedia

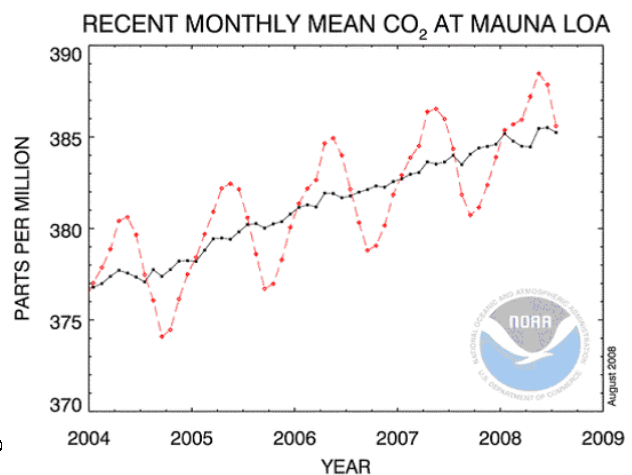
<[http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/e/ec/Schema\\_sklenikovy\\_efekt.gif](http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/e/ec/Schema_sklenikovy_efekt.gif)>

Z údajů mnoha měření vyplývá, že se v posledních desítkách let zvyšuje obsah oxidu uhličitého v zemské atmosféře (viz grafy na obr. 1.3 a 1.4). V důsledku lidské činnosti, tj. spalování fosilních paliv, průmyslovou výrobou a změnami využití krajiny, zejména

odlesňováním, dochází ke zvyšování emisí CO<sub>2</sub> do atmosféry (Nátr, 2000). Strmý nárůst obsahu CO<sub>2</sub> v atmosféře se datuje do 19. století, kdy začala [CO<sub>2</sub>] stoupat z hodnot kolem 280 ppm, na kterých se držela v posledních několika tisících letech, na hodnoty přes 290 ppm na začátku 20. století a dále až na dnešní hodnoty přes 380 ppm. Trend ke zvyšování [CO<sub>2</sub>] stále přetrvává. Modely vývoje složení atmosféry naznačují další nárůst koncentrace CO<sub>2</sub> v následujících letech a desetiletích (Etheridge *et al.*, 1998; WMO, 2007; Tans, 2008). Současný roční nárůst průměrné roční [CO<sub>2</sub>] v lokalitě Mauna Loa na Havaji (s nejstarší stanicí pro měření koncentrace CO<sub>2</sub> v atmosféře na světě) se pohybuje přibližně okolo 2 ppm CO<sub>2</sub> (Tans, 2008)(Obr. 1.4).



**Obr. 1.3:** Koncentrace CO<sub>2</sub> ve vzduchových bublinách z let 1006 až 1978 uchovaných v ledovci Law Dome na Antarktidě. DSS, DE08 a DE08-2 jsou označení vrtů v ledovci, ze kterých byla získána data vynesena do grafu, bližší podrobnosti viz Etheridge *et al.* (1998), odkud byl graf převzat.



**Obr. 1.4:** Průměrná globální měsíční koncentrace CO<sub>2</sub> v zemské atmosféře měřená v Mauna Loa od roku 2003 do srpna roku 2008. Převzato z Tans (2008). V období zimních měsíců na severní polokouli koncentrace CO<sub>2</sub> globálně stoupá, protože klesá jeho spotřeba fotosyntézou vegetace severní polokoule.

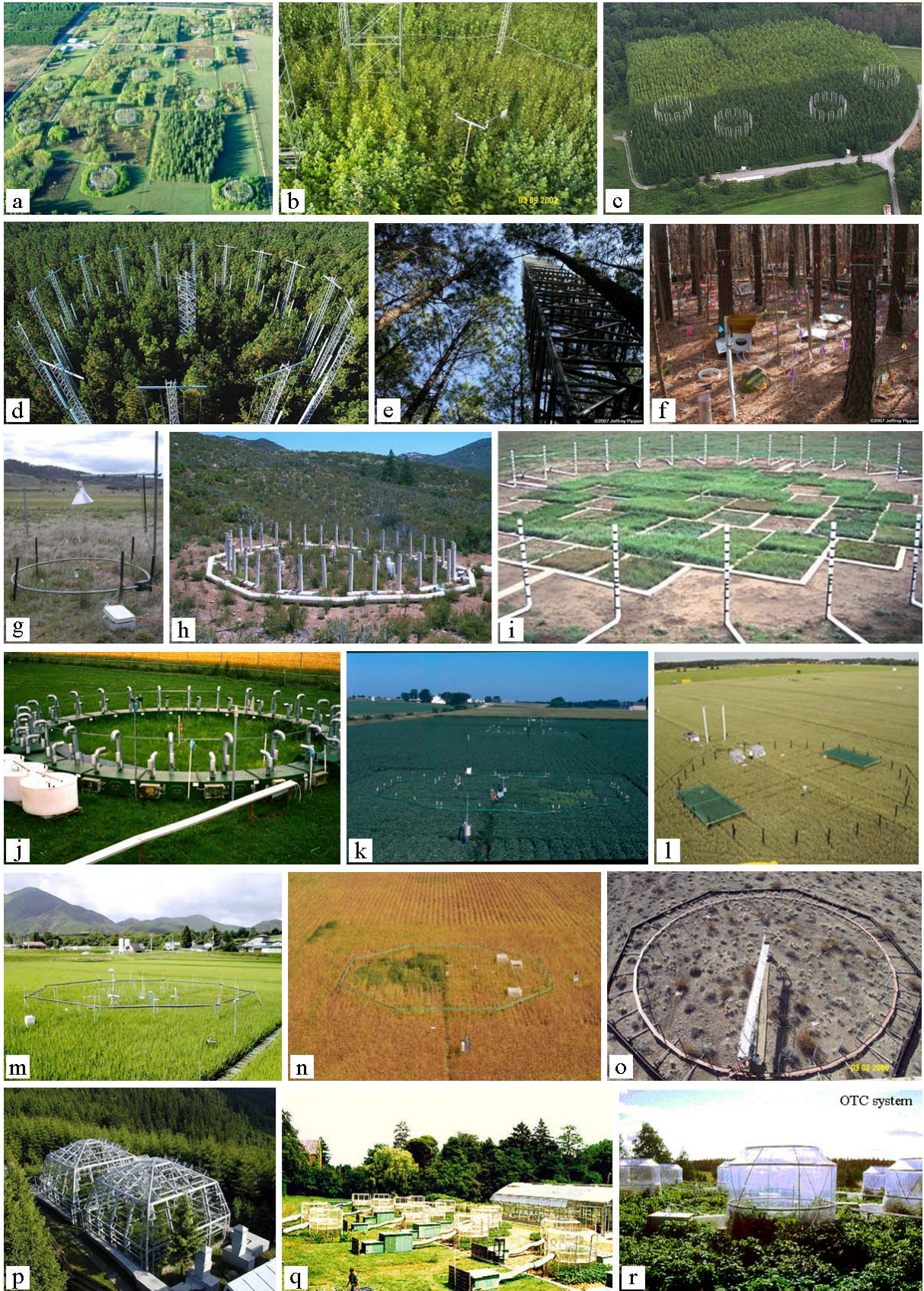
### 1.2.2 Studium vlivu zvýšené koncentrace CO<sub>2</sub> na rostliny

Při studiu vlivů zvýšené [CO<sub>2</sub>] na rostliny se používají různé metody obohacování vzduchu oxidem uhličitým, které mají své výhody i nevýhody, přičemž v současné době se jeví jako nejvhodnější metoda FACE, tj. Free Air CO<sub>2</sub> Enrichment (přehled viz Nátr, 2000). Nyní je ve světě v provozu několik desítek těchto systémů, viz např. seznam na webových stránkách <[http://public.ornl.gov/face/global\\_face.shtml](http://public.ornl.gov/face/global_face.shtml)>. Na obr. 1.5a-o jsou fotografie některých lokalit. Systém FACE sestává z dutých sloupků, postavených okolo pokusné plochy, ze kterých na pokusné rostliny tryská oxid uhličitý. Díky informacím z čidel je pomocí počítačů regulován přívod CO<sub>2</sub> tak, aby byl na pokusné ploše homogenní vzduch se zadaným obsahem CO<sub>2</sub>. Mezi výhody této metody patří zejména skutečnost, že pokusné rostliny rostou při zvýšené [CO<sub>2</sub>], ale jinak téměř ve svém přirozeném prostředí, a že jsou zvýšenou [CO<sub>2</sub>] ovlivněna celá společenstva rostlin na ekosystémové úrovni. Hlavní nevýhodou metody FACE je její nákladnost, zejména kvůli velké spotřebě CO<sub>2</sub> (Ceulemans a Mousseau, 1994).

Další metodou, používanou při studiu vlivu EC na rostliny, je pěstování rostlin v růstových komorách. Nejdříve se začaly používat uzavřené růstové komory, často umístěné uvnitř skleníků. Jejich hlavní nevýhodou je snížená ozářenost pěstovaných rostlin. Tato nevýhoda se téměř vyloučí použitím otevřených růstových komor (OTC, Open Top Chamber), uvnitř kterých je množství světla srovnatelné s okolním prostředím (obr. 1.5p-r). OTC mohou obklopovat nejen rostliny v květináčích, ale i jedince rostoucí v přirozené půdě. Nevýhodou těchto komor je mírně odlišná teplota a relativní vlhkost vzduchu a také snížená rychlost větru vzhledem k okolí. Tato metoda je také nákladná díky velké spotřebě oxidu uhličitého (Ceulemans a Mousseau, 1994). V České republice se OTC nacházejí na experimentálním pracovišti ÚSBE na Bílém Kříži v Beskydech (obr. 1.5p).

Při měření fyziologických parametrů rostlin, např. při stanovování rychlosti fotosyntézy a transpirace při EC, se uplatňují kyvety nebo vaky připevňované na jednotlivé větve nebo části větví. Hlavní nevýhodou zmiňované metody je to, že jsou zvýšenou [CO<sub>2</sub>] ovlivněny pouze části rostlin (Nátr, 2000). V neposlední řadě lze ke studiu vlivu EC na rostliny využít přirozených výronů CO<sub>2</sub>. Výhodou je skutečně dlouhodobé působení EC na okolní rostliny, ale tato metoda má i četné nevýhody – např. vypouštění CO<sub>2</sub> ze zdroje není v průběhu času rovnoměrné a [CO<sub>2</sub>] kolísá působením větrů. Často se též k ovlivněným rostlinám obtížně hledají takové protějšky, které by rostly poblíž v obdobných podmínkách, avšak v AC (Nátr, 2000).





### **Obr. 1.5:**

#### **Systémy FACE (Free-Air CO<sub>2</sub> Enrichment):**

**a** Aspen FACE použitý na topoly v Harshaw Experimental Forest poblíž Rhinelanderu ve státě Wisconsin v USA. Převzato z <<http://aspenface.mtu.edu>>

**b** Systém FACE o průměru 22 m v porostu topolů *Populus alba*, *Populus nigra* a *Populus x euramericana* poblíž města Tuscania v provincii Viterbo ve střední Itálii.

Převzato z <<http://www.unitus.it/euroface/gallery/aero.htm>>

**c** Systémy FACE v lese s opadavými stromy v Oak Ridge National Laboratory v Tennessee v USA. Převzato z <[http://www.rmrs.nau.edu/USAMAB/images/southern-appalacian\\_aerial-Aug00.jpg](http://www.rmrs.nau.edu/USAMAB/images/southern-appalacian_aerial-Aug00.jpg)>

**d, e, f:** Experimentální systém v lese Duke Forest poblíž Chapel Hill v Orange County v Severní Karolíně v USA:

**d** Pohled shora, foto Les Todd, převzato

z <<http://www.dukemagazine.duke.edu/dukemag/issues/111205/depgaz17.html>>

**e** Pohled zespodu na centrální věž uprostřed kruhu FACE sloužící k odběru vzorků.

Převzato z <<http://www.duke.edu/~jspippen/work/face.htm>>

**f** Mnoho senzorů zaznamenává nejrůznější parametry půdy, stromů i ovzduší na experimentální ploše. <<http://www.duke.edu/~jspippen/work/face.htm>>

**g** Kruhy o průměru 1,5 m v projektu TasFACE v Pontville v Tasmánii, převzato

z <[http://www.utas.edu.au/docs/plant\\_science/ps/ps/face\\_approach.html](http://www.utas.edu.au/docs/plant_science/ps/ps/face_approach.html)>

**h** Pokusné pracoviště Sky Oaks, San Diego State University, USA.

Převzato z <<http://www.sci.sdsu.edu/GCRG/skyoaks/overhead.htm>>

**i** Pokusná plocha projektu BioCON v Cedar Creek v Minnesotě v USA.

Převzato z <<http://geology.about.com/library/weekly/aa071600b.htm>>

**j** Systém FACE o průměru 8 m v německém Giessenu

Převzato z <<http://www.uni-giessen.de/cms/fbz/fb08/biologie/pflanzenoek/forschung/Foeinr/UKL/projekte/GiFACE/GiFACE-System/image1>>

**k** Systém SoyFace pro zkoumání sóji – University of Illinois, Urbana Champaign, USA.

Převzato z <[http://www.soyface.uiuc.edu/WebImages/images/Slide11\\_tif.jpg](http://www.soyface.uiuc.edu/WebImages/images/Slide11_tif.jpg)>

**l** Systém FACE v Braunschweigu, Německo. Převzato

z <[http://www.fal.de/cln\\_044/nn\\_792590/DE/aktuell/pressemitteilungen/2007/presse\\_\\_30\\_\\_2007\\_\\_aoe.html\\_\\_nnn=true](http://www.fal.de/cln_044/nn_792590/DE/aktuell/pressemitteilungen/2007/presse__30__2007__aoe.html__nnn=true)>

**m** Experimentální rýžové pole se systémem FACE v Shizukuishi, Iwate v Japonsku. Převzato

z <[www.niaes.affrc.go.jp/annual/r2000/html/rp4.html](http://www.niaes.affrc.go.jp/annual/r2000/html/rp4.html)>

**n** Systém SoyFace pro zkoumání sóji – University of Illinois, Urbana Champaign, USA.

Převzato z <<http://www.soyface.uiuc.edu/WebImages/images/ring6.jpg>>

**o** Systém FACE v Mohavské poušti ve státě Nevada v USA. Převzato

z <[http://www.unlv.edu/Climate\\_Change\\_Research/Pictures/NDFFF1.htm](http://www.unlv.edu/Climate_Change_Research/Pictures/NDFFF1.htm)>

#### **OTC – otevřené komory:**

**p** Kultivační sféry se smrkem na pracovišti ÚSBE na Bílém Kříži v Beskydech

<[http://www.usbe.cas.cz/lefr/kultivacni\\_sfery.htm](http://www.usbe.cas.cz/lefr/kultivacni_sfery.htm)>

**q** Tervuren, Belgie <[www.var.fgov.be/chip.php](http://www.var.fgov.be/chip.php)>

**r** Jokioinen, Finsko <[www.var.fgov.be/chip.php](http://www.var.fgov.be/chip.php)>

---

Výsledky experimentů záleží nejen na použité metodě zvýšení [CO<sub>2</sub>], délce působení EC a na stáří zkoumaných rostlin, ale také na dalších faktorech. Körner (2006) zdůrazňuje, že



větší vliv na výsledek experimentu než použitá metoda obohacení vzduchu CO<sub>2</sub> mají další podmínky pro růst, zejména kvalita půdy, ve které jsou rostliny pěstovány.

K rozporům ve výsledcích může docházet i při srovnávání rostlin téhož druhu zkoumaného za velmi podobných podmínek. Aby se zamezilo nesrovnalostem, je třeba srovnávat dostatečný počet vzorků a při jejich odběru si všimnout dalších faktorů, které mohou vlastnosti vzorku ovlivnit – např. u jehlic vzít v úvahu jejich stáří a vertikální polohu v koruně (Lin *et al.*, 2001). Například se mezi vzorky odebranými v různých vrstvách koruny smrku projeví rozdíly v aktivitě enzymu ribulózy-1,5-bisfosfát karboxylázy/oxygenázy (Hrstka *et al.*, 2005). Při anatomických analýzách je třeba uvážit možnost gradientu sledovaných parametrů v rámci listu (Lhotáková *et al.*, 2007).

Nelze jednoznačně říci, zda jsou výsledky studií vlivu zvýšené koncentrace oxidu uhličitého na strukturu rostlin vždy porovnatelné, a to nejen proto, že jsou zkoumány odlišné druhy rostlin, ale také pro různé pojetí normální a zvýšené koncentrace oxidu uhličitého. Vzhledem k tomu, že [CO<sub>2</sub>] v atmosféře vzrůstá (obr. 1.3 a 1.4), vzrůstají během let i hodnoty koncentrace CO<sub>2</sub> považované v pokusech za normální – pohybují se od 250 do 400 ppm. Hodnoty zvýšené koncentrace bývají většinou dvojnásobkem normálních hodnot, ale zdaleka ne vždy. Tabulka 1.1 nabízí srovnání zkoumaných rostlinných druhů a použitých koncentrací CO<sub>2</sub>, které byly uvedeny ve studiích citovaných v této práci.

**Tab. 1.1:** Shrnutí zkoumaných druhů rostlin a koncentrací považovaných v jednotlivých studiích za normální (AC) a zvýšené (EC) koncentrace oxidu uhličitého.

**Vysvětlivky:** **d** – den; **n** – noc; **?** – autoři neuvádějí hodnotu koncentrace, kterou považovali v experimentu za normální, uvádějí pouze o kolik se zvýšená [CO<sub>2</sub>] lišila od AC; **d\*** - koncentrace CO<sub>2</sub> byla zvýšena na uvedenou hodnotu jen ve dne.

Autoři, rok vydání	AC (ppm)	EC (ppm)	Zkoumané rostliny
Apple <i>et al.</i> , 2000	?350	?350+200	<i>Pseudotsuga menziesii</i>
Cavender-Bares <i>et al.</i> , 2000	380	700	<i>Quercus rubra</i>
Conroy <i>et al.</i> , 1986	330	660	<i>Pinus radiata</i>
Eguchi <i>et al.</i> , 2004	360	720	<i>Larix kaempferi</i> Carr.
Fendrych, 2005	370	700	<i>Picea abies</i>
Ferris <i>et al.</i> , 2001	360	550	<i>Populus x euramericana</i> (hybrid <i>P. deltoides</i> x <i>P. nigra</i> , klon I-214) <i>Populus nigra</i> (Jean Pourtet) <i>Populus alba</i> (2AS-11)

Gibeaut <i>et al.</i> , 2000	360	1000	<i>Arabidopsis thaliana</i> (Landsberg erecta)
Griffin <i>et al.</i> , 2001	370d/450n	570d/650n	<i>Liquidambar styraciflua</i>
Griffin <i>et al.</i> , 2001	250	1000	<i>Glycine max</i>
Griffin <i>et al.</i> , 2001	360	730	<i>Abutilon theophrasti</i>
Griffin <i>et al.</i> , 2001	360	830±52	<i>Piper auritum</i> <i>Epipremnum pinnatum</i>
Griffin <i>et al.</i> , 2001	360	560	<i>Pinus taeda</i> <i>Pinus radiata</i> <i>Acer rubrum</i> <i>Cercis canadensis</i> <i>Liquidambar styraciflua</i>
Kinsman <i>et al.</i> , 1997	400±1,5	699±2,6	<i>Dactylis glomerata</i> L.
Leadley <i>et al.</i> , 1987	348	645	<i>Glycine max</i> L. Merr. 'Bragg'
Lin <i>et al.</i> , 2001	350	750	<i>Pinus sylvestris</i> L.
Luomala <i>et al.</i> , 2005	362±43	693±30	<i>Pinus sylvestris</i> L.
Norby a O'Neill, 1991	371±17	493±10 787±30	<i>Liriodendron tulipifera</i> L.
Oksanen <i>et al.</i> , 2001	360	560d*	<i>Populus tremuloides</i> Michx.
Oksanen <i>et al.</i> , 2005	1. rok 365 2. rok 371 3. rok 373	1. rok 651 2. rok 720 3. rok 729	<i>Betula pendula</i> Roth (klon 4 a klon 80)
Olszyk <i>et al.</i> , 2005	?	?+180	<i>Pseudotsuga menziesii</i> (Mirb.) Franco
Onoda <i>et al.</i> , 2007	370	530	<i>Polygonum sachalinense</i> <i>Sasa kurilensis</i> <i>Tiarella polyphylla</i>
Onoda <i>et al.</i> , 2007	370	760	<i>Hydrangea paniculata</i> <i>Phragmites australis</i> <i>Plantago asiatica</i>
Onoda <i>et al.</i> , 2007	375	670	<i>Hydrangea paniculata</i> <i>Polygonum sachalinense</i> <i>Sasa kurilensis</i>
Pritchard <i>et al.</i> , 1997	365	720	<i>Pinus palustris</i>
Ranasinghe a Taylor, 1996	330–350	620–640	<i>Phaseolus vulgaris</i> L. cv. Tender Green

Sholtis <i>et al.</i> , 2004	364	553	<i>Liquidambar styraciflua</i>
Taylor <i>et al.</i> , 2003	370	550	<i>Populus x euramericana</i> (hybrid <i>P. deltoides</i> x <i>P. nigra</i> , klon I-214)
Teng <i>et al.</i> , 2006	370	700	<i>Arabidopsis thaliana</i> L. (Col-0)
Thomas a Bazzaz, 1996	350	700	<i>Taraxacum officinale</i> Weber <i>Plantago major</i> <i>Rumex crispus</i>
Thomas a Harvey, 1983	340	520;718;910	<i>Zea mays</i> L. ‘Golden Bantam’ <i>Glycine max</i> L. Merril ‘Ransom’ <i>Pinus taeda</i> L. <i>Liquidambar styraciflua</i> L.
Tissue <i>et al.</i> , 1996	366±2	516±2; 666±3	<i>Pinus taeda</i> L.

Při studiu působení zvýšené [CO<sub>2</sub>] na rostliny lze využít i jiných metod, které nejsou založeny na simulaci atmosféry se zvýšenou koncentrací CO<sub>2</sub>, např. metod dendrochronologie, která se zabývá studiem letokruhů dřevin (Ceulemans a Mousseau, 1994; Nátr, 2000), nebo paleobotaniky, například pro studium hustoty průduchů na fragmentech pokožky fosilních listů (Beerling a Chaloner, 1993).

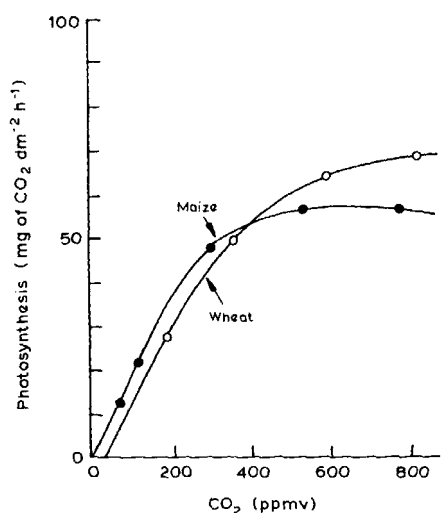
### 1.2.3 Vliv zvýšeného obsahu CO<sub>2</sub> v atmosféře na rostliny

Oxid uhličitý, jakožto substrát pro fotosyntézu, je pro rostliny nepostradatelný. Nárůst jeho koncentrace v atmosféře je však v poslední době velmi rychlý, pravděpodobně zejména vlivem rozvoje průmyslu a dopravy (a z toho vyplývajícího zvyšování emisí CO<sub>2</sub>) ve světě, takže nastává otázka, zda se rostliny dokáží tomuto tempu nárůstu přizpůsobit (Nátr, 2000). V této kapitole jsou zmíněny jen některé aspekty vlivu zvýšené koncentrace CO<sub>2</sub> v atmosféře – zkráceně EC – na rostliny, které jsou podrobněji popsány v dalších kapitolách spolu s dalšími změnami, které nejsou v této kapitole uvedeny.

Zvýšená [CO<sub>2</sub>] způsobuje změny mnoha fyziologických procesů v rostlinách, které spolu různým způsobem interagují, čímž komplikují porozumění vlivům EC na rostliny, které jsou vzájemně složitě propletené. Například v důsledku působení zvýšené koncentrace CO<sub>2</sub> se snižuje vodivost průduchů, a tím se zvyšuje účinnost využití vody (Nátr, 1998). Rostliny mohou díky přivření průduchů a následné větší účinnosti využití vody čerpat méně vody

z půdy, což má za následek, že v půdě zůstává více vody. Větší množství vody v půdě umožňuje rostlinám lépe přijímat živiny (Körner, 2003).

U rostlin pěstovaných při EC se zvyšuje obsah sacharidů, čímž klesá relativní obsah bílkovin. To vede ke změně kvality rostlinné potravy pro herbivory, čímž může být ovlivněno jejich přežívání a množení a tím druhové složení ekosystémů. Rozdíl v reakci rychlosti čisté fotosyntézy na zvýšenou  $[CO_2]$  rostlin C3 a C4 také může mít vliv na druhové složení ekosystémů, protože budou zvýhodněny druhy rostlin C3, které nejsou nynější koncentrací  $CO_2$  saturovány (Nátr, 1998); viz obr. 1.6.



**Obr. 1.6:** Graf závislosti rychlosti čisté fotosyntézy na koncentraci  $CO_2$  v atmosféře – porovnání rostlin C3 (pšenice – wheat) a C4 (kukuřice – maize). Převzato z <<http://www.ciesin.columbia.edu/docs/004-038/fig4-1.gif>>.

V důsledku přímých vlivů EC na rostliny (např. změn v rychlosti fotosyntézy, fotorespirace a dýchání, dále změn ve vodivosti průduchů a v účinnosti využití vody) dochází k vlivům nepřímým, například ke zvýšenému vytváření asimilátů, ke změně ukládání a složení sušiny, ke změně relativního obsahu uhlíku k dusíku, a z toho vyplývající změně kvality biomasy pro herbivory. Zvýšená  $[CO_2]$  dále ovlivňuje výnos, rychlost vývoje, vodní provoz, růst a vývoj, migraci, biodiverzitu a interakci rostlin s parazity. Působení  $CO_2$  je široké a může být umocněno interakcemi s dalšími faktory, například s teplotou a dostupností živin a vody (Nátr, 2000).

Ukázalo se, že EC působí na různé druhy rostlin ve stejných experimentálních podmínkách odlišně. Např. u *Betula platyphylla* nastalo vlivem EC snížení rychlosti fotosyntézy nezávisle na tom, zda byly rostliny pěstovány v půdě s malým nebo velkým obsahem živin, kdežto u *Betula Maximowicziana* došlo ke snížení rychlosti fotosyntézy v EC pouze u rostlin pěstovaných v půdě s malým množstvím živin (Eguchi *et al.*, 2008). Dalším příkladem je odlišná reakce rychlosti růstu tří druhů topolů (viz kapitola 2.1.2) (Ferris *et al.*, 2001).

K nepřímým vlivům na rostliny náleží také změny v anatomii rostlin. V mnoha studiích bylo zjištěno, že růst rostlin při zvýšené koncentraci oxidu uhličitého v okolním vzduchu ovlivňuje stavbu rostlinných orgánů včetně listů. Změny ve stavbě listů se projeví na úrovni makroskopické, mikroskopické, na úrovni samotných buněk i v látkovém složení listů. Pro pochopení celkových vlivů EC na růst a vývoj rostlin, musí být změny v anatomii listů při zvýšené  $[CO_2]$  posuzovány v souvislostech se změnami fyziologických procesů (Leadley *et al.*, 1987).

## **2. Vliv oxidu uhličitého na strukturu listu**

Struktura listu je utvářena a ovlivňována mnoha endogenními i exogenními faktory. Tvorba listu je dynamický proces zahrnující v sobě celou řadu fyziologických procesů, v jejichž důsledku se vytváří určitá struktura, ve které se odehrávají fyziologické procesy probíhající v listu. Tato kapitola pojednává o vlivu EC na vzájemně spjatou strukturu a funkci listu, které jsou vzájemně spjaté. První část je věnována změnám procesů v důsledku zvýšené koncentrace  $CO_2$ , které mají vliv na morfogenezi listu. Druhá část pojednává o změnách anatomické struktury listu v důsledku působení zvýšené koncentrace  $CO_2$ .

### **2.1 Změny v morfogenezi listu**

Morfogeneze je podmíněna buněčným dělením, tj. tvorbou buněk, a jejich růstem. Oba tyto procesy jsou citlivé na koncentraci  $CO_2$ , ale velikost jejich změn závisí na druhu rostliny a na dalších podmínkách prostředí (Taylor *et al.*, 2003).

#### **2.1.1 Změny v zakládání a senescenci listů**

U různých druhů rostlin bylo pozorováno, že růst ve zvýšené  $[CO_2]$  ovlivňuje fenologii listů různým, až protikladným způsobem, přičemž důvody rozdílů nejsou zatím zcela známy.

U semenáčků *Quercus rubra* neměla zvýšená koncentrace  $CO_2$  na časovou posloupnost procesů vzniku a senescence listů žádný vliv (Cavender-Bares *et al.*, 2000). Naopak na semenáčky *Pinus sylvestris* L. zvýšená  $[CO_2]$  vliv měla – jejich pupeny přezimovaly v pokročilejším vývojovém stádiu, na jaře vyrašily dříve a vyvíjely se rychleji a na podzim jehlice předčasně opadávaly (Jach a Ceulemans, 1999). U listů *Populus nigra*,

*Populus alba* a *Populus x euramericana* došlo při EC k oddálení podzimní senescence (Tricker *et al.*, 2004).

Obvykle dochází ke zvýšení počtu vytvořených listů, často tedy ke zkrácení plastochronu, což je doba, která uběhne od založení jednoho listového primordia ve vrcholu stonku do založení dalšího, po něm bezprostředně následujícího. Šestileté působení EC na mladé stromky smrku ztepilého *Picea abies* L. Karst. se projevilo mimo jiné neprůkazným nárůstem počtu jehlic na délku výhonu (Tomaskova *et al.*, nepublikováno). V jiné práci, zabývající se topoly, Ferris *et al.* (2001) zjistili, že *Populus x euramericana* (I-214), *Populus nigra* (Jean Pourtet) a *Populus alba* (2AS-11) měly v prostředí s vyšší koncentrací oxidu uhličitého větší počet listů. K podobným zjištěním došli také Tissue *et al.* (1996), kteří zaznamenali při EC větší počet rašících výhonů na semenáčcích borovice kadidlové *Pinus taeda* L. a Conroy *et al.*, (1986), kteří uvádějí, že semenáčky borovice montereyké *Pinus radiata* D. Don měly v EC větší počet jehlic. Kinsman *et al.* (1997) se narozdíl od výše uvedených autorů zabývali ve své práci bylinami (srhou říznačkou, *Dactylis glomerata* L.) a naznačují příčiny zvýšeného počtu listů a jejich rychlejší tvorby na rostlinách ve zvýšené [CO<sub>2</sub>]: V apikálním dómu stonkového meristému *D. glomerata* vzrostl počet buněk s kratším trváním buněčného cyklu a díky tomu poklesl plastochron.

Zkrácení doby trvání buněčného cyklu může vést k vytváření většího počtu buněk a k větší rychlosti růstu pletiv a tím i ke změnám strukturních parametrů a rychlosti tvorby orgánů. Důvodem zkrácení doby trvání buněčného cyklu v EC je pravděpodobně zvýšená rychlost fotosyntézy a účinnější fixace CO<sub>2</sub> a s nimi spojená zvýšená tvorba sacharidů, které mohou působit jako signální molekuly a ovlivňovat tak průběh buněčného cyklu. Zvýšená [CO<sub>2</sub>] vede ke zvýšení rychlosti fotosyntézy, která způsobí zvýšenou tvorbu asimilátů, a tudíž stoupá i koncentrace sacharózy, která funguje jako signální molekula (Kinsman *et al.*, 1997). Sacharóza zvyšuje expresi genu pro cyklin D (CYCD3;1) a přítomnost sacharózy je nezbytná pro udržení hladiny tohoto proteinu a tím i pro přechod z G1 do S fáze. Pokud je při přechodu z G1 do S fáze nízká koncentrace cukrů, k přechodu do S fáze nedojde (Smith a Stitt, 2007).

### 2.1.2 Změny v relativní rychlosti růstu listů

S urychlením dělení buněk souvisí také rychlost růstu, která je ve zvýšené koncentraci CO<sub>2</sub> zpravidla vyšší. Nepodařilo se mi nalézt práci, která by se zabývala relativní rychlostí růstu (RGR) u listu jehličnanů. Jediné práce o jehličnanech pojednávají o relativní rychlosti přírůstku výšky hlavního výhonu borovice lesní. U semenáčků borovice lesní *P. sylvestris*, na

začátku experimentu starých 3 roky, byl v prvním roce pěstování nárůst výšky hlavního výhonu ve zvýšené [CO<sub>2</sub>] větší, ale ve druhém roce již byl prakticky shodný s relativní rychlostí růstu výšky v normální [CO<sub>2</sub>]. Z toho vyplývá, že došlo ke snížení míry působení EC na růst v čase (Jach a Ceulemans, 1999). Podobné závěry plynou i ze zkoumání relativní rychlosti růstu (RGR), tedy rychlosti přírůstku biomasy, rostlin semenáčků borovice kadidlové *P. taeda*. RGR byla v prvních 11 měsících působení zvýšené [CO<sub>2</sub>] vyšší u rostlin ve zvýšené koncentraci CO<sub>2</sub>, ale po delší době byla srovnatelná s RGR v normální koncentraci CO<sub>2</sub> (Tissue *et al.*, 2004).

Listy opadavých dřevin přetrvávají pouze jednu vegetační sezónu, během níž nastává jejich morfogeneze i senescence, kteréžto procesy jsou citlivé k působení zvýšené koncentrace CO<sub>2</sub>. Vlivem EC nastávají změny v RGR listů listnatých dřevin obvykle vedoucí ke zvýšené expanzi listů. Ferris *et al.* (2001) se zabývali vlivem [CO<sub>2</sub>] na rychlost zvětšování listové plochy semenáčků tří druhů topolů. Zjistili druhové rozdíly v rychlosti expanze listové plochy i ve způsobu odpovědi na EC. Rychlost byla u *P. x euramericana* nezávisle na [CO<sub>2</sub>] v daných podmínkách zhruba dvakrát vyšší než u *P. nigra* a *P. alba*. Ukázalo se, že u různých druhů existují rozdílné mechanismy reakce na EC: V listech *P. x euramericana* a *P. nigra* bylo zvětšení listů způsobené produkcí více a větších buněk, zatímco v listech *P. alba* tvorbou více malých buněk. Taylor *et al.* (2003) zkoumali zhruba o rok později na stejném experimentálním stanovišti expanzi listů přibližně rok a čtvrt starých jedinců *P. x euramericana* (hybrid *P. deltoides* x *P. nigra*, klon I-214). Jejich výsledky byly ve shodě s výsledky Ferrise *et al.* (2001) – zvýšená [CO<sub>2</sub>] urychlila expanzi listů. Počet buněk vytvořených za den v obou prostředích narostl na počátku vývoje listů, v dalších fázích vývoje klesal při AC dříve a rychleji než při EC. Ve zvýšené [CO<sub>2</sub>] se přechodně a v celém listu rovnoměrně zvýšila expanze epidermálních buněk, v pozdějších stádiích vývoje listu se velikost buněk mezi prostředími nelišila. Ani v jednom prostředí nebyly pozorovány zjevné rozdíly ve velikosti epidermálních buněk na různých místech čepele, tudíž nerovnoměrná expanze listů v obou koncentracích CO<sub>2</sub> byla pravděpodobně způsobena různou rychlostí dělení buněk v různých oblastech listu. To se potvrdilo při porovnání rychlosti tvorby buněk mezi sedmi segmenty listu vymezenými sekundárními žilkami od báze listu ke špičce. Byl pozorován zřetelný gradient rychlosti tvorby buněk od báze ke špičce listu. U báze byla rychlost tvorby buněk nejvyšší, což vedlo k tomu, že tam byla rychlost expanze listové plochy *P. x euramericana* výrazně vyšší než u zbylých částí listu (Taylor *et al.*, 2003). Ferris *et al.* (2001) došli k podobným výsledkům když u tří druhů topolů porovnávali relativní nárůst plochy listu mezi pěti segmenty listů, taktéž vymezenými sekundárními žilkami. Kromě

mezidruhových rozdílů se zde projevily i vliv koncentrace CO<sub>2</sub>: Rychlost růstu při EC byla průkazně vyšší v segmentech na bázích listů všech tří druhů, v ostatních segmentech měla tentýž trend, ale výsledky nebyly statisticky průkazné. Taylor *et al.* (2003) dále uvádějí, že toto prostorové rozložení rychlosti tvorby buněk bylo patrné při obou koncentracích CO<sub>2</sub>. Ve zvýšené [CO<sub>2</sub>] byla rychlost tvorby buněk ve všech segmentech větší, nejvíce se mezi koncentracemi lišil segment č. 2 u báze listu, ve kterém se při EC vytvářelo zhruba dvakrát tolik buněk než při AC.

Obdobné důsledky působení zvýšené [CO<sub>2</sub>] na RGR jsou známy i u bylin. Relativní rychlost růstu listů (RGR), tedy rychlost přírůstku biomasy, byla v počátečních třech týdnech vývoje listů huseníčku rolního *Arabidopsis thaliana* L. vyšší u rostlin ve zvýšené [CO<sub>2</sub>], později měla přibližně stejnou hodnotu jako RGR v AC. Autoři dávají RGR listů do souvislosti s aktivitou enzymu UDP-Glc dehydrogenázy, která měla podobný průběh, tj. byla nejvyšší na začátku vývoje rostlin a postupně klesala, přičemž zhruba po třech týdnech začala klesat strměji. RGR i aktivita UDP-Glc dehydrogenázy měly v AC podobný průběh jako v EC, ale jejich hodnoty byly nižší. Regulace aktivity UDP-Glc dehydrogenázy by mohla být klíčová pro syntézu xyloglukanů a dalších polysacharidů z matrixu buněčné stěny se vztahem k jejímu růstu. (Gibeaut *et al.*, 2000). Díky růstu buněčné stěny je umožněno zvětšování buněk. To znamená, že zvýšená aktivita UDP-Glc dehydrogenázy pravděpodobně umožňuje větší rychlost růstu listů díky zvětšování buněčné stěny a tím objemu buněk. Domnívám se, že by aktivita UDP-Glc dehydrogenázy mohla být zvýšena díky většímu množství sacharidů, kterých je v EC více (viz kapitola 2.2.2.2).

### **2.1.3 Změny ve zvětšování a tvorbě buněčné stěny**

Buněčné stěny ohraničují buňky a částečně je omezují ve zvětšování. Rychlost zvětšování buňky je ovlivněna turgorem tlačícím na stěnu zevnitř buňky a extensibilitou buněčné stěny. Extensibilita (roztahitelnost) buněčné stěny je důležitá, protože díky rozvolnění stěny snižují buňky svůj vodní potenciál, a to vede k příjmu vody protoplastem a ke zvýšení turgoru, čímž je umožněno zvětšení buňky. Elasticita buněčných stěn je vratná extensibilita, plasticita je nevratná extensibilita. Extensibilitu ovlivňují hormony – auxiny a gibbereliny ji zvyšují a kyselina abscisová a etylén ji snižují (Evert, 2006). Podle hypotézy kyselého růstu auxiny aktivují ATPázy, které pumpují H<sup>+</sup> z cytosolu do buněčné stěny a tím se v ní sníží pH, což vede k rozvolnění stěny a následnému zvýšení turgoru. Kyselý růst zprostředkovávají proteiny expanziny, které rozpojují nekovalentní spojení mezi



polysacharidy, čímž je umožněno roztažení buněčné stěny, aniž by byla poškozena. Sekundárními rozvolňujícími faktory jsou XET (xyloglukan endotransglykosylázy), pektinázy, endoglukanázy a hydroxylové radikály. XET rozpojují a spojují xyloglukanové řetězce, přičemž nenarušují strukturu buněčné stěny (Evert, 2006).

Ve zvýšené [CO<sub>2</sub>] byla v rostlinách *A. thaliana* zjištěna vyšší aktivita UDP-Glc dehydrogenázy, která je klíčovým enzymem působícím v dráze vedoucí k biosyntéze mnohých polysacharidů buněčné stěny, např. xyloglukanu. Zvýšená aktivita UDP-Glc dehydrogenázy byla zaznamenána zejména v počátečním období vývoje rostlin *A. thaliana* v EC, kdy byla vyšší také relativní rychlost růstu a kdy byly nižší hodnoty poměru plochy listu k hmotnosti buněčné stěny (Gibeaut *et al.*, 2000). Buněčné stěny buněk listů *A. thaliana* byly při zvýšené koncentraci CO<sub>2</sub> výrazně tlustší a vzrostla rovněž koncentrace celulózy vztahovaná na hmotnost sušiny listu a obsah rozpustných sacharidů (Teng *et al.*, 2006). Zároveň byla pozorována vyšší koncentrace auxinu a kyseliny giberelové a nižší koncentrace kyseliny abscisové (Teng *et al.*, 2006). To mohlo zvýšit extensibilitu buněčných stěn, protože gibereliny ji zvyšují a kyselina abscisová ji snižuje (viz výše). Zvýšená extensibilita umožňuje rychlejší zvětšování buněk. U tří druhů topolu (*P. x euramericana*, *P. nigra* a *P. alba*) byla při zvýšené [CO<sub>2</sub>] pozorována vyšší extensibilita buněčných stěn. Výsledky stanovení prostorového rozložení extensibility buněčných stěn na různých místech listové čepele rostlin fazolu obecného *Phaseolus vulgaris* L. při zvýšené [CO<sub>2</sub>] ve fázi zvětšování buněk ukázaly, že se extensibilita buněčných stěn zvýšila zejména v oblasti spodních okrajů listu, což by mohlo způsobit změnu tvaru listu (Ranasinghe a Taylor, 1996). Tyto výsledky jsou ve shodě s výsledky Ferrise *et al.* (2001), kteří uvádějí, že se segmenty listu topolu blíže k bázi listu zvětšovaly rychleji než listové segmenty v ostatních částech listu (viz kapitola 2.1.2).

V mladých rostoucích listech topolů byla aktivita XET při EC vyšší než při normální koncentraci (Ferris *et al.*, 2001), následkem čehož vzrostla plasticita buněčných stěn. V listech *P. vulgaris* aktivita XET při EC vzrostla, ale jen pokud byla koncentrace CO<sub>2</sub> zvýšena pouze ve fázi zvětšování buněk a nikoli ve fázi dělení buněk. V ostatních kombinacích působení zvýšené [CO<sub>2</sub>] aktivita XET poklesla (Ranasinghe a Taylor, 1996), což opět ukazuje na druhovou specifitu odpovědi na působení EC. Při vzájemném porovnání druhů topolu byla celková plasticita největší u *P. alba*, dále u *P. nigra* a nejmenší byla u *P. x euramericana*. Výsledky naznačují, že některé účinky a mechanismy působení zvýšené [CO<sub>2</sub>] jsou druhové specifické i v rámci jednoho rodu. Aktivita XET také velmi pravděpodobně ovlivňovala rychlost růstu – např. u *P. alba* odpovídala nižší aktivita XET pomalejší rychlosti

růstu. Elasticita buněčných stěn se narozdíl od plasticity nelišila mezi třemi druhy topolu navzájem, ani u jednotlivých druhů mezi prostředními s různou koncentrací CO<sub>2</sub> (Ferris *et al.*, 2001). Při studiu vlivu EC na vlastností buněčných stěn se ukazuje, že i zde jsou zvýšenou [CO<sub>2</sub>] více ovlivněny ontogeneticky mladší listy a jedinci.

#### 2.1.4 Změny v morfologických parametrech listu

Se změnami rychlosti růstu některých úseků čepele listů nebo celých listů souvisejí změny rozměrů a tvarů listů, které jsou patrně závislé zejména na genotypu rostlin a na uspořádání experimentů – např. na různém stáří zkoumaných rostlin a rozdílné délce trvání působení EC. Často dochází k zvětšení některých rozměrů a biomasy listů.

Větší tloušťku jehlic přičítanou nárůstu mezofylu uvádějí Thomas a Harvey (1983). Zjistili, že při působení vyšší [CO<sub>2</sub>] = 910 ppm po dobu 45 dní byly jehlice ročních semenáčků *P. taeda* L. díky nárůstu mezofylu tlustší než jehlice v normální koncentraci CO<sub>2</sub>; nutno poznamenat, že se tloušťka v ostatních hodnotách EC (viz Tab. 1.1) průkazně nelišila od tloušťky v AC. Lin *et al.* (2001) zjistili, že se u jehlic sedmiletých stromů *P. sylvestris*, pěstovaných první tři roky v květináčích a poté přesazených do OTC a čtyři roky rostoucích v EC nebo v AC, zvětšil počet i rozměr mezofylových buněk v EC, v důsledku čehož se zvětšila poměrná plocha, kterou na ploše příčného řezu zabíral mezofyl. Vzrostla též plocha celého příčného řezu a jehlice měly v EC prokazatelně větší tloušťku a trend k větší šířce. Výsledky studií ukazují, že důsledky působení zvýšené [CO<sub>2</sub>] záleží na stáří rostlin – jsou ovlivněny zejména ontogeneticky mladší rostliny. To se potvrdilo v případě srovnání výsledků Lin *et al.* (2001) a Luomala *et al.* (2005), protože ve druhé z těchto studií nebyly zaznamenány průkazné rozdíly v tloušťce, délce a projekční ploše jehlic přibližně 20 let starých stromů *P. sylvestris* L., pěstovaných po tři roky v komorách při zvýšené [CO<sub>2</sub>].

Účinky EC na tloušťku listu byly též zaznamenány u bylin. Při zvýšené [CO<sub>2</sub>] byly tlustší listy *A. thaliana* (Teng *et al.*, 2006), dvou kultivarů sóji *Glycine max* L. – (Leadley *et al.*, 1987; Thomas a Harvey, 1983)– a dřeviny ambroně *Liquidambar styraciflua* L. (Thomas a Harvey, 1983), zatímco se tloušťka listů nezměnila u mladých stromů *P. x euramericana* (Taylor *et al.*, 2003) a u kukuřice *Zea mays* L. (Thomas a Harvey, 1983). S komplikovaným objasňováním působení EC na rozměry listu souvisí i to, že výsledky některých prací ukazují opačný trend – menší tloušťku listu při EC. Například u listů na začátku pokusu osmiletých stromů břízy bělokoré *Betula pendula* L., pěstovaných po tři roky v OTC, poklesla tloušťka

listů (Oksanen *et al.*, 2005) a rovněž listy smetánky lékařské *Taraxacum officinale* (L.) Web. byly po čtyřech měsících růstu v EC tenčí oproti listům v AC (Thomas a Bazzaz, 1996). Listy *T. officinale* ve zvýšené [CO<sub>2</sub>] navíc změnily svůj tvar – vykazovaly větší poměr obvodu k ploše, byly tedy více vykrojené (Thomas a Bazzaz, 1996).

Ke změně tvaru došlo i u listu topolu *P. x euramericana*, který se v EC rozšířil a u nějž se zvětšila jeho plocha. Výsledky ukázaly, že rychlost a časová posloupnost procesů tvorby buněk byly pro určení tvaru listu důležitější než expanze buněk, protože ta byla v celé čepeli stejná (viz kapitola 2.1.2) (Taylor *et al.*, 2003). Ferris *et al.* (2001) zaznamenali nárůst délky a konečné velikosti listů v prvním roce růstu mladých stromů tří druhů topolu (*P. x euramericana*, *P. nigra* a *P. alba*) v EC; přisuzují ho vyšší produkci biomasy při zvýšené [CO<sub>2</sub>].

Závěry ohledně změn rozměrů listů v EC nejsou ve všech studiích konzistentní. Například jehlice dvouletých semenáčků modřínu japonského *Larix kaempferi* Carr. pěstovaných 160 dní při zvýšené [CO<sub>2</sub>] měly přibližně stejnou tloušťku jako jehlice v AC (Eguchi *et al.*, 2004). Podobně se nezměnila šířka, délka ani plocha jehlic po tříletém působení zvýšené [CO<sub>2</sub>] na původně dvouleté semenáčky douglasky tisolisté *Pseudotsuga menziesii* Mirb. Franco (Apple *et al.*, 2000), stejně jako plocha příčného řezu jehlicí a jeho obvod u semenáčků téhož druhu pěstovaných po čtyři roky v EC (Olszyk *et al.*, 2005).

Při studiu vlivu EC na rostliny byly zjištěny rozdíly v jeho působení v závislosti na délce vystavení zvýšené koncentraci CO<sub>2</sub>. Například v krátkodobých pokusech u semenáčků *P. radiata*, na začátku experimentu starých osm týdnů, pěstovaných po dobu 22 týdnů v EC, byla zjištěna větší délka a průměr příčného řezu jehlic, přičemž rozdíl v průměru jehlic byl způsoben spíše větší velikostí buněk než jejich větším počtem (Conroy *et al.*, 1986). Dlouhodobější pokusy Pritcharda *et al.* (1998) ukázaly, že po 12 měsících působení EC na semenáčky borovice bahenní *Pinus palustris* Mill. byly jejich jehlice tlustší, měly větší objem cévních svazků a větší plochu příčného řezu než v AC. I proporce jednotlivých pletiv na řezu se změnily – transfúzní pletiva zaujímala průkazně větší část plochy a stejnou tendenci měl též mezofyl a vodivá pletiva. Avšak po 20 měsících v EC se anatomické parametry jehlic průkazně nelišily od AC, jehlice jehlice pouze měly neprůkazně menší objem cévních svazků. Tyto výsledky potvrzují domněnku, že velikost dospělých jehlic je nakonec obdobná v obou koncentracích CO<sub>2</sub> a naznačují fotosyntetickou aklimaci (Pritchard *et al.*, 1998).

### 2.1.5 Změny v tvorbě sušiny a asimilátů

Rozmanitý vliv působení EC na vlastnosti listů se projevuje také při studiu vlivu EC na tvorbu sušiny a asimilátů, která ovlivňuje hmotnost listů. Pro svou lepší vypovídací hodnotu bývá často místo samotné hmotnosti sušiny používána hodnota specifické hmotnosti listu (s anglickými zkratkami SLW, LMA a SLM), která vyjadřuje poměr hmotnosti sušiny listu k ploše listu; v některých případech se uvádí její převrácená hodnota – specifická listová plocha (SLA), tj. poměr plochy k hmotnosti sušiny listu.

Ani v tomto případě nejsou výsledky studií jednotné a převládají zde spíše malé změny těchto parametrů. Například nebyla ovlivněna SLA jehlic *L. kaempferi* (Eguchi *et al.*, 2004), ani SLW a hmotnost jehlic *P. menziesii* nebyly průkazně větší (Apple *et al.*, 2000), a stejně tak ani čerstvá hmotnost a hmotnost sušiny jehlic 20 let starých stromů *P. sylvestris* (Luomala *et al.*, 2005). K průkazným změnám vlivem EC došlo pouze u jehlic semenáčků *P. menziesii*, které měly po čtyřech letech pěstování v EC větší SLW (Olszyk *et al.*, 2005).

Podobně jako jehlice jehličnanů reagují na EC i listy listnatých dřevin. SLA a/nebo SLW se vlivem EC průkazně nezměnily u listů tří druhů topolu (Ferris *et al.*, 2001), jitrocele většího *Plantago major* L. a šťovíku kadeřavého *Rumex crispus* L. (Thomas a Bazzaz, 1996). Naproti tomu se SLA snížilo vlivem EC u listů *B. pendula* (Oksanen *et al.*, 2005), *A. thaliana* (Gibeaut *et al.*, 2000) a *Taraxacum officinale* (Thomas a Bazzaz, 1996). Pokles SLA bývá vysvětlován nárůstem tloušťky listu, ale mohou existovat i jiná vysvětlení. Např. Oksanen *et al.* (2005) přičítají nižší SLA mírnému nárůstu tloušťky buněčných stěn mezofylových buněk a nárůstu velikosti škrobových zrn a počtu mitochondrií.

Onoda *et al.* (2007) srovnávali vlastnosti listů dvouděložných (D) i jednoděložných (J) rostlin, po desetiletí rostoucích na třech stanovištích poblíž přírodních zdrojů CO<sub>2</sub>, s rostlinami stejných druhů rostoucími nedaleko, ale v AC. Změny v SLW nebyly mezi druhy jednotné: *Polygonum sachalinense* (D) a *Plantago asiatica* (D) měly při EC vyšší SLW, zatímco *Sasa kurilensis* (J) měla nižší hodnotu SLW a na SLW listů *Hydrangea paniculata* (D), *Tiarella polyphylla* (J), *Phragmites australis* (J) neměla zvýšená [CO<sub>2</sub>] vliv. Autorům se nepodařilo potvrdit domněnky o rozdílné reakci listů jedno- a dvouděložných rostlin. Spíše lze očekávat rozdíly způsobené zvýšenou koncentrací CO<sub>2</sub> mezi rostlinami C3 a C4, u nichž je rozdílná závislost rychlosti čisté fotosyntézy na koncentraci CO<sub>2</sub> v atmosféře (obr. 1.6).

Z výše uvedených údajů je zřejmé, že interpretace důsledků působení EC je komplikovaná, protože spektrum procesů, které zvýšená koncentrace oxidu uhličitého ovlivňuje, je velké a záleží na mnoha podmínkách.

## 2.2 Mikroskopické změny struktury listu

### 2.2.1 Krycí pletiva

Z výsledků studií vyplývá, že u různých druhů rostlin reagují krycí pletiva listu na EC rozdílně. V dostupné literatuře však nebyly u jehličnanů změny ve strukturálních parametrech krycích pletiv studovány.

Vlivem zvýšené koncentrace CO<sub>2</sub> se na příčném řezu nezměnila plocha epidermis jehlic *P. palustris* (Pritchard *et al.*, 1998), ani plocha epidermis a hypodermis a jejich tloušťka měřená souhrnně (Lin *et al.*, 2001) i odděleně (Luomala *et al.*, 2005) v jehlicích *P. sylvestris*, a též tloušťka epidermální vrstvy jehlic *P. taeda* nepodlehla změnám (Thomas a Harvey, 1983). Stejně tak u bylin k změně tloušťky epidermis nedochází, jako například u listů *Z. mays* a *G. max* (Thomas a Harvey, 1983). Změny v počtu a velikosti epidermálních buněk vlivem EC byly studovány na bylinách i listnatých dřevinách. Ve velikosti epidermálních buněk na paradermálním řezu listem pšenice *Triticum aestivum* L. nebyly zaznamenány změny (Masle, 2000), zatímco studie na topolech (Ferris *et al.*, 2001) ukázala vliv EC i mezidruhových rozdílů: U *P. x euramericana* a *P. nigra* se na obou stranách listu kromě počtu zvětšila i velikost epidermálních buněk, kdežto u *P. alba* se vlivem EC zvýšil počet buněk pouze na abaxiální straně listu a navíc bez výrazných změn jejich velikosti.

Při studiu epidermis v EC bylo zkoumáno i množství a struktura epikutikulárních vosků a zase s ukázaly mezidruhové rozdíly působení EC. Struktura epikutikulárních vosků se u jehlic *P. menziesii* (Apple *et al.*, 2000) a *P. sylvestris* (Lin *et al.*, 2001) výrazně nezměnila. Ukládání epikutikulárních vosků na listech kukuřice nebylo působením EC dotčeno, narozdíl od sóji a dřeviny *L. styraciflua*, u kterých se při hodnotě [CO<sub>2</sub>] = 910 ppm na abaxiální straně listu ukládalo více epikutikulárních vosků (Thomas a Harvey, 1983).

#### 2.2.1.1 Průduchy

Množství průduchů a jejich vlastnosti ovlivňují rychlost fotosyntetické fixace CO<sub>2</sub>, proto lze předpokládat, že budou významně ovlivněny změnami koncentrace CO<sub>2</sub>.

Bylo zjištěno, že se hustota průduchů, tedy jejich počet na jednotku plochy, mění v závislosti na koncentraci CO<sub>2</sub> – při vzrůstající [CO<sub>2</sub>] se snižuje a naopak. Například hustota průduchů, naměřená na fosilních nálezech vrby *Salix herbacea*, ukazuje, že se v posledních 140 tisících letech se zvyšující se [CO<sub>2</sub>] hustota průduchů snižovala (Beerling a Chaloner,

1993). Tohoto vztahu mezi hustotou průduchů a  $[\text{CO}_2]$  v atmosféře se využívá pro rekonstrukce historických hodnot  $[\text{CO}_2]$ . Ukázalo se, že fosilie jehličnanů jsou velmi vhodné pro rekonstrukci historických hodnot  $[\text{CO}_2]$ , a to díky způsobu vývoje jejich jehlic. Při dospívání jehlic totiž dochází hlavně k zvětšování velikosti buněk namísto tvorby nových buněk, a proto se nemění parametry hustoty ani frekvence průduchů, tj. počtu průduchů vztažených k délce pozorované části jehlice (Kouwenberg *et al.*, 2004).

Autoři několika studií zabývajících se ovlivněním parametrů průduchů zvýšenou  $[\text{CO}_2]$  u několika druhů jehličnanů dospěli k podobným závěrům, a sice, že v těchto parametrech téměř nenastaly změny. Nebyla ovlivněna hustota, vodivost, ani rychlost transpirace průduchů semenáčků *P. menziesii* (Apple *et al.*, 2000), ani počet řad průduchů a hustota průduchů na jehlicích semenáčků *P. palustris* (Pritchard *et al.*, 1998), ani frekvence průduchů u *P. abies* (Fendrych, 2005) a konečně ani hustota průduchů *P. sylvestris* (Luomala *et al.*, 2005). Jedině na jehlicích *P. sylvestris* ve studii Lin *et al.* (2001) při zachování počtu řad poklesla hustota průduchů, dle autorů pravděpodobně kvůli nárůstu expanze epidermálních buněk; což by odpovídalo výše zmíněným údajům o vlivu EC na rozvolňování buněčné stěny a na expanzi buněk (viz kapitola 2.1.3).

Studie na bylinách přinesly pestřejší výsledky. Zatímco Ranasinghe a Taylor (1996) nezaznamenali u *P. vulgaris* rozdíly v hustotě průduchů ani ve stomatálním indexu listů, tj. v poměrném zastoupení stomatálních buněk v celkovém počtu stomatálních a epidermálních buněk, u *Glycine max* se stomatální index zvýšil společně s frekvencí průduchů, s výjimkou listů  $[\text{CO}_2] = 718$  ppm, kdy naopak hodnoty obou parametrů poklesly (Thomas a Harvey, 1983). Pokles hodnoty stomatálního indexu a hustoty průduchů u *A. thaliana* vyústil v pokles vodivosti průduchů a rychlosti transpirace (Teng *et al.*, 2006). Snížení vodivosti průduchů při zvýšené  $[\text{CO}_2]$  bylo také zjištěno u křídlatky sachalinské *P. sachalinense* a jitrocele asijského *P. asiatica* (Onoda *et al.*, 2007) a též u téměř všech 17 zkoumaných druhů rostlin, převážně bylin, rostoucích po mnoho generací na stanovišti s přirozeným výronem  $\text{CO}_2$ . Pokles vodivosti u nich nebyl doprovázen téměř žádnými změnami ve stomatálním indexu a hustotě průduchů, pouze u dvou ze 17 zkoumaných druhů došlo s poklesem vodivosti zároveň k poklesu hustoty průduchů, takže se neprokázala hypotéza o přizpůsobení se dlouhodobému působení EC změnou počtu průduchů (Bettarini *et al.*, 1998). Naznačení opačného vlivu EC na vodivost průduchů zaznamenali Norby a O'Neill (1991): U listů semenáčků liliovníku tulipánokvětého *Liriodendron tulipifera* L. měla vodivost tendenci se zvyšující se koncentrací  $\text{CO}_2$  stoupat. Autoři tuto rozdílnou změnu vodivosti průduchů přičítají tomu, že mohla být ovlivněna nárůstem účinnosti využití vody.

### 2.2.2 Mezofyl

Mezofylové buňky zprostředkovávají výměnu plynů, které vnikly do listu z vnějšího prostředí skrze průduchy. Příjem a výdej plynů do intercelulár závisí na struktuře mezofylu, která je ovlivněna genotypem rostlin a vlastnostmi vnějšího prostředí.

V listech bývá při zvýšené koncentraci CO<sub>2</sub> často naměřena větší tloušťka mezofylu. Děje se tomu tak často i u jehlic, například u *P. taeda* při [CO<sub>2</sub>] = 910 ppm byla tloušťka mezofylu vlivem EC větší (Thomas a Harvey, 1983) a u jehlic *P. sylvestris* byla nezanedbatelně větší plocha mezofylu na řezu jehlice a zvětšily se také mezofylové buňky i jejich počet (Lin *et al.*, 2001). Výsledky studií ovlivnění tloušťky mezofylu zvýšenou [CO<sub>2</sub>] však nejsou jednotné. V tohoročních jehlicích *P. sylvestris* byla vrstva mezofylu na abaxiální straně signifikantně tenčí při EC, ale nebyla celkově průkazně ovlivněna plocha intercelulár na příčném řezu jehlicemi (Luomala *et al.*, 2005). Podobně zůstala beze změn i plocha příčného řezu jehlic semenáčků *P. menziesii* a poměrné zastoupení mezofylu a intercelulár v něm (Olszyk *et al.*, 2005). Změny ve struktuře vlivem EC závisí i na délce doby jeho působení. Například u jehlic *P. palustris*, po 12 měsících pěstovaných v EC, mezofyl vykazoval trend k zaujímání větší plochy na příčném řezu než v AC, ale po 20 měsících v EC se již v tomto parametru nelišily od AC (Pritchard *et al.*, 1998).

Koncentrace CO<sub>2</sub> působí jako morfogenní faktor spolu s dalšími faktory prostředí. Spolupůsobení vlivu EC a množství dostupných živin na stavbu mezofylu zkoumali Eguchi *et al.* (2004). Při zvýšené [CO<sub>2</sub>] a zvýšeném množství živin (dusíku, fosforu a draslíku) bylo v jehlicích *L. kaempferi* přítomno více mezofylových buněk, v těchto podmínkách měly buňky významně menší výšku i průměr. Při sníženém množství živin byl naopak zjištěn menší počet mezofylových buněk a buňky měly větší průměr a spíše větší výšku. Autoři také uvádějí, že se u jehlic stromů ošetřovaných různým hnojením lišil poměr vnitřního povrchu jehlic k ploše jehlic následujícím způsobem: Ve zvýšené [CO<sub>2</sub>] v kombinaci se sníženým množstvím živin poklesl a se zvýšeným množstvím živin naopak vzrostl. Tento poměr je pravděpodobně odpovědný za změny rychlosti fotosyntézy, která poklesla při EC za současné nízké dostupnosti živin a vzrostla při EC a vysoké dostupnosti živin (Eguchi *et al.*, 2004).

U listnáčů byly pozorovány rozdílné změny ve stavbě mezofylu. U břízy *B. pendula* byl zjištěn pokles tloušťky palisádového i houbovitého parenchymu v listech (Oksanen *et al.*, 2005). Odpověď různých druhů topolů na EC se lišila: Zatímco se plocha, kterou zaujímaly buňky palisádového parenchymu na příčném řezu listem, zvětšila v listech u tří zkoumaných

druhů; plocha, kterou zaujímaly buňky houbovitého parenchymu na příčném řezu listem, narostla pouze u dvou druhů – *P. x euramericana* a *P. nigra* – a u *P. alba* se naopak snížila (Ferris *et al.*, 2001). Pouze u jednoho druhu topolu ze tří studovaných (u *P. x euramericana*) byl pozorován nárůst velikosti buněk palisádového i houbovitého parenchymu vlivem EC (Taylor *et al.*, 2003). U *A. thaliana* se plocha jednotlivých mezofylových buněk na řezu listem v rozdílných [CO<sub>2</sub>] výrazně nelišila (Teng *et al.*, 2006).

Leadley *et al.* (1987) zjistili, že poměr vnitřního povrchu listu k ploše listu u *G. max*, poměr objemu celého mezofylu k celkovému objemu listu a ani poměr vnitřního povrchu listu k objemu celého mezofylu nebyl v EC rozdílný od AC. Při zkoumání vlastností samotného palisádového parenchymu však přišli na to, že poměr povrchu palisádového parenchymu k ploše listu, objem palisádového parenchymu vztažený k celkovému objemu listu i poměr povrchu k objemu palisádového parenchymu samotného při zvýšené [CO<sub>2</sub>] významně klesl.

Ve slunných listech *Populus tremuloides* vzrostla tloušťka mezofylu a také objem intercelulár pod vlivem zvýšené [CO<sub>2</sub>] (Oksanen *et al.*, 2001). Je známo, že u slunných listů bývá jako jedna ze strukturálních adaptací pozorováno zvětšení počtu vrstev palisádového parenchymu oproti stinným listům. Podobný jev byl pozorován i v důsledku působení zvýšené [CO<sub>2</sub>] u listů sóji *G. max*, u kterých byla tlustší vrstva houbovitého i palisádového parenchymu, který byl v EC tvořen třemi vrstvami namísto dvěma, jak tomu bylo v AC (Thomas a Harvey 1983).

### 2.2.2.1 Chloroplasty

Chloroplasty jsou orgány, ve kterých probíhají fotosyntetické reakce. Jelikož je oxid uhličitý substrátem pro fotosyntézu, lze při změně jeho koncentrace očekávat změny ve struktuře chloroplastů.

Při zvýšené koncentraci oxidu uhličitého obsahovaly buňky mezofylu *A. thaliana* větší počet chloroplastů na buňku. Mechanismus, jakým EC ovlivňuje počet chloroplastů zatím není znám (Teng *et al.*, 2006). Ve slunných listech *P. tremuloides* vzrostl podíl plochy chloroplastů k ploše buněk na řezu listem (Oksanen *et al.*, 2001). U jehlic *P. palustris*, odebraných na jaře po 12 měsících vystavení zvýšené koncentraci CO<sub>2</sub>, bylo pozorováno, že chloroplasty zaujímají na příčném řezu jehlicí větší plochu a obsahují v důsledku většího ukládání škrobu více škrobových zrn, která jsou větší než v AC (Pritchard *et al.*, 1997). Ve shodě s výše uvedenými daty jsou i výsledky měření objemu chloroplastů v pochvách cévních



svazků kukuřice, které měly trend být při EC větší (Thomas a Harvey, 1983). Naproti tomu se u jehlic *P. palustris*, vystavených EC po dobu 20 měsíců a odebraných na podzim, žádné rozdíly mezi koncentracemi CO<sub>2</sub> neprojevily, pouze v případě, kdy byly pěstovány při nedostatku dusíku a vody, měly v EC větší škrobová zrna i větší plochu chloroplastů na příčném řezu. Obdobné skutečnosti, tj. větší plocha chloroplastů na řezu a větší velikost i počet škrobových zrn, byly zjištěny též u listů bylin, např. *A. thaliana* (Teng *et al.*, 2006) a listnatých dřevin, např. *B. pendula* (Oksanen *et al.*, 2005).

Zvýšená koncentrace CO<sub>2</sub> vede k větší rychlosti čisté fotosyntézy (Griffin *et al.*, 2001; Sholtis *et al.*, 2004), z čehož vyplývá zvýšené ukládání škrobu, které způsobuje změny ve struktuře chloroplastů (Pritchard *et al.*, 1997, Teng *et al.*, 2006). Zvětšená škrobová zrna pravděpodobně tlačí na thylakoidní membrány a způsobují tím zprohýbání thylakoidních membrán; tento jev byl pozorován v chloroplastech listů *A. thaliana* (Teng *et al.*, 2006) i v chloroplastech jehlic *P. palustris* odebraných na jaře po 12 měsících vystavení působení EC (Pritchard *et al.*, 1997). Někdy může při dlouhodobém působení zvýšené [CO<sub>2</sub>] docházet k tak velké akumulaci škrobových zrn v chloroplastu, že se tím naruší struktura thylakoidních membrán, až dochází k tzv. aklimační depresi, tedy k poklesu rychlosti asimilace (Pritchard *et al.*, 1997).

Chloroplasty jehlic *P. palustris*, odebraných na podzim po 20 měsících vystavení zvýšené [CO<sub>2</sub>], měly na řezu více plastoglobulů – což jsou kulovité útvary, ve kterých se hromadí lipidy a které obvykle vznikají v důsledku stresu – než v normální [CO<sub>2</sub>]. Chloroplasty jehlic *P. palustris*, odebraných na jaře po 12 měsících vystavení zvýšené [CO<sub>2</sub>], měly na řezu méně plastoglobulů než v normální koncentraci CO<sub>2</sub>, ale tento jev nastal pouze při pěstování rostlin v půdě s dostatkem dusíku; při nízkém obsahu dusíku v půdě se rozdíly mezi koncentracemi CO<sub>2</sub> neprojevily (Pritchard *et al.*, 1997). U *A. thaliana* se při EC počet plastoglobulů v chloroplastu výrazně nelišil od počtu v AC (Teng *et al.*, 2006). Ve slunných listech topolu *P. tremuloides* při EC poklesl počet plastoglobulů (Oksanen *et al.*, 2001).

Při zvýšené [CO<sub>2</sub>] byl zjištěn větší poměr agranálních (stromatálních) thylakoidních membrán ke granálním v chloroplastech na řezu listů bylin *A. thaliana* (Teng *et al.*, 2006) a *Piper auritum* a dřevin *Acer rubrum*, *L. styraciflua* a *Cercis canadensis* (Griffin *et al.*, 2001) a u jehlic *P. palustris*, odebraných po 20 měsících v EC (Pritchard *et al.*, 1997). Tento jev vysvětlují Griffin *et al.* (2001) následovně: Granální thylakoidy obsahují zejména fotosystém II a kyslík uvolňující komplex, zatímco stromatální thylakoidy obsahují zejména fotosystém I, kde je redukován NADPH potřebný pro redukci CO<sub>2</sub> v Calvinově cyklu. Nárůstem podílu

stromatálních thylakoidů ke granálním se rostlina pravděpodobně přizpůsobuje EC, protože toto uspořádání vede k účinnější fixaci CO<sub>2</sub> a tvorbě cukerných produktů.

### 2.2.2.2 Obsah nestrukturních sacharidů v listu

Pod vlivem zvýšené [CO<sub>2</sub>] obvykle dochází k nárůstu tvorby a akumulace rozpustných sacharidů a škrobu v listech. Obsah škrobu v jehlicích semenáčků *L. kaempferi* (Eguchi *et al.*, 2004) a v listech dvouděložných rostlin *A. thaliana* (Teng *et al.*, 2006), *P. sachalinense*, *P. asiatica*, *H. paniculata* a jednoděložné *T. polyphylla* (Onoda *et al.*, 2007) byl vyšší při jejich pěstování ve zvýšené koncentraci CO<sub>2</sub>. V listech dvouděložné rostliny *L. styraciflua* také vzrostl v EC obsah nestrukturních sacharidů – tj. škrobu a rozpustných cukrů – na hmotnost listu; obsah škrobu nejvíce vzrostl na vrcholu vegetační sezóny, kdy byla rychlost čisté fotosyntézy nejvyšší (Sholtis *et al.*, 2004). Též u *A. thaliana* byla při zvýšené koncentraci CO<sub>2</sub> pozorována vyšší koncentrace nestrukturních sacharidů vztažená na hmotnost sušiny listu (Teng *et al.*, 2006). Podobná zjištění učinili i Griffin *et al.* (2001), kteří uvádějí jako pravděpodobnou příčinu zvýšeného hromadění škrobu nejen zvýšení rychlosti fotosyntézy, ale i účinnější fixaci CO<sub>2</sub> díky změně struktury thylakoidů (viz kapitola 2.2.2.1). Účinnější asimilace CO<sub>2</sub> při EC nastala v listech *G. max*. Ukázalo se, že zvýšená [CO<sub>2</sub>] podněcuje respirační odbourávání sacharidů, jenž poskytuje více energie a biochemických prekurzorů pro zvětšování a růst listů při EC (Ainsworth *et al.*, 2006). Naproti tomu listy jednoděložné rostliny *S. kurilensis* a *P. australis* obsahovaly při zvýšené i normální koncentraci CO<sub>2</sub> podobné množství škrobu na hmotnost sušiny listu, což bylo pravděpodobně způsobeno tím, že některé jednoděložné rostliny zřejmě ukládají místo škrobu sacharózu (Onoda *et al.*, 2007).

Ve slunných listech *P. tremuloides* vzrostlo množství škrobu v chloroplastech (Oksanen *et al.*, 2001). Záleží na době experimentálního působení, protože po delší době může nastat aklimace a zprvu pozorované rozdíly vymizí. Například jehlice *P. palustris* vystavené 20 měsíců EC a odebrané na podzim, obsahovaly méně škrobu než jehlice odebrané na jaře po 12 měsících (Pritchard *et al.*, 1997).

### 2.2.3 Vodivá pletiva

Zvýšená [CO<sub>2</sub>] způsobuje větší rychlost fotosyntézy a tedy i větší produkci asimilátů, které jsou z míst jejich vytvoření odváděny vodivými pletivy (floémem) do sinků. Proto se dá očekávat, že struktura cévních svazků bude EC ovlivněna.

Objem cévních svazků se pod vlivem zvýšené  $[CO_2]$  spíše zvětšuje či zůstává nezměněn. Po 12 měsících působení EC na semenáčky *P. palustris* měly jejich jehlice větší objem cévních svazků, po 20 měsících stále jevíly podobný trend (Pritchard *et al.*, 1998). U *P. taeda* také zaujímal vodivá a transfúzní pletiva v jehlicích větší díl plochy příčného řezu jehlic pěstovaných v EC (Thomas a Harvey, 1983). U *P. palustris* po 12 měsících v EC zaujímal transfúzní pletiva průkazně větší díl plochy na příčném řezu a stejnou tendenci měla i vodivá pletiva, po 20 měsících v EC již jehlice tyto rozdíly mezi EC a AC nevykazovaly (Pritchard *et al.*, 1998). Podobně na EC reagovaly i rostliny *Glycine max* – objem jejich vodivých pletiv v listech byl při zvýšené  $[CO_2]$  spíše vyšší, ale rozdíl nebyl průkazný (Leadley *et al.*, 1987).

Naproti tomu podíl plochy středního válce k ploše příčného řezu jehlicemi semenáčků *P. menziesii* nebyl zvýšenou  $[CO_2]$  ovlivněn (Olszyk *et al.*, 2005). Zatímco se tloušťka středního válce se při EC v jehlicích 20letých stromů *P. sylvestris* nezměnila (Luomala *et al.* 2005), Lin *et al.* (2001) zaznamenali pokles podílu plochy středního válce v celém příčném řezu jehlicí *P. sylvestris* zároveň s poklesem podílu xylému, zatímco podíl floému se zvýšil (Lin *et al.*, 2001). Pritchard *et al.* (1997) naopak zjistili, že floém na příčném řezu zaujímal v jehlicích *P. palustris* vystavených zvýšené koncentraci  $CO_2$  spíše menší relativní plochu, což bylo důsledkem menšího počtu sítkových buněk, nikoli tím, že by měly menší velikost.

Působení zvýšené  $[CO_2]$  při svém vlivu na strukturální parametry vodivých pletiv interaguje s dalšími faktory prostředí. V případě jednoho z nastavení experimentálních podmínek – při nedostatku dusíku a dostatku vody – byly sítkové buňky v EC zploštělé ve směru rovnoběžném k rovině buněčných dělení v kambiu oproti buňkám v normální koncentraci  $CO_2$ , jinak se žádné rozdíly v rozměrech buněk mezi koncentracemi  $CO_2$  neprojevíly. Zmenšení velikosti a počtu sítkových buněk by mohlo negativně ovlivnit schopnost transportovat asimiláty, kterých je v EC produkováno více (Pritchard *et al.*, 1997).

### 3. Závěr

Zvýšená  $[CO_2]$  způsobuje změny mnoha fyziologických procesů a struktur, v nichž tyto procesy probíhají. Z literatury je zřejmé, že zvýšená koncentrace oxidu uhličitého v atmosféře často způsobuje určité změny ve struktuře listu jehličnanů i listů jiných rostlin, avšak tyto změny nejsou zcela konzistentní. Jsou druhově specifické a závislé na faktorech prostředí, které spolu různým způsobem interagují, čímž komplikují porozumění vlivům EC na rostliny, které jsou vzájemně složitě propojené.

Vlivem zvýšené koncentrace dochází ve velké části případů ke zrychlení fotosyntézy a tím ke zvýšené tvorbě asimilátů, která může být spojena s hromaděním zásobních látek v listech, s rychlejší tvorbou buněk nebo s jejich zvětšováním, což může za následek např. zvětšování plochy listu a změnu jeho tvaru. Často dochází ke snížení hustoty průduchů a ke změnám ve struktuře mezofylu.

Změny ve struktuře jehlic a listů jsou obecně převážně započaty již při vzniku listů a v dospělých listech přetrvávají. Důvodem změn je ovlivnění fyziologických procesů, zejména fotosyntézy, buněčného cyklu a růstu buněk, které dále působí na utváření stavby listů.

Při studiu vlivu zvýšené koncentrace  $\text{CO}_2$  na rostliny musí být vzat v úvahu možný vznik artefaktů, který závisí na použitých metodách experimentu. Záleží nejen na metodě obohacování vzduchu oxidem uhličitým (mezi nejlépe hodnocené metody se v současné době řadí metoda FACE), ale také na obsahu vody a živin v půdě, na ozáření a na dalších faktorech prostředí. Dalším z problémů při snaze o porovnání výsledků různých experimentů je – mimo rozdílného stáří rostlin a odlišné délky trvání experimentu – rozdílné pojetí hodnot normální a zvýšené  $[\text{CO}_2]$ , které je způsobeno zejména rychle se měnící  $[\text{CO}_2]$  v atmosféře. Autoři většinou volili jako hodnotu EC dvojnásobek hodnoty AC, ale ani to nebylo vždy pravidlem. Dále musí být bráno v potaz, zda jsou vybrané vzorky reprezentativní (například z hlediska umístění jehlic v prostoru a gradientu strukturálních charakteristik v rámci jehlice). Dle mého názoru také velmi záleží na metodě získání a zpracování dat, včetně počtu vzorků zahrnutých do analýz. Z výše uvedeného vyplývá, že výsledky dosažené v odlišných experimentálních podmínkách jsou velmi obtížně porovnatelné. Pro lepší možnosti srovnávání by bylo třeba ustanovit nějaká všeobecně přijatelná pravidla pro zkoumání vlivu EC na strukturu listu.

Mechanismy působení zvýšené koncentrace oxidu uhličitého na anatomii listu nejsou v současné době zdaleka objasněny a zaslouží si proto další zkoumání vedoucí k vysvětlení působení zvýšené koncentrace  $\text{CO}_2$  na list, včetně jejích interakcí s dalšími faktory.

#### 4. Citovaná literatura

- Ainsworth EA, Rogers A, Vodkin LO, Walter A, Schurr U.** 2006. The effects of elevated CO<sub>2</sub> concentration on soybean gene expression. An analysis of growing and mature leaves. *Plant Physiology* **142**, 135–147.
- Apple ME, Olszyk DM, Ormrod DP, Lewis J, Southworth D, Tingey DT.** 2000. Morphology and stomatal function of douglas fir needles exposed to climate change: Elevated CO<sub>2</sub> and temperature. *International Journal of Plant Sciences* **161**, 127–132.
- Beerling DJ, Chaloner WG.** 1993. Evolutionary responses of stomatal density to global CO<sub>2</sub> change. *Biological Journal of Linnean Society* **48**, 343–353.
- Bettarini I, Vaccari F, Miglietta F.** 1998. Elevated CO<sub>2</sub> concentrations and stomatal density: observations from 17 plant species growing in a CO<sub>2</sub> spring in central Italy. *Global Change Biology* **4**, 17–22.
- Cavender-Bares J, Potts M, Zacharias E, Bazzaz FA.** 2000. Consequences of CO<sub>2</sub> and light interactions for leaf phenology, growth, and senescence in *Quercus rubra*. *Global Change Biology* **6**, 877–887.
- Ceulemans R, Mousseau M.** 1994. Effects of elevated atmospheric CO<sub>2</sub> on woody plants. *New Phytologist* **127**, 425–446.
- Conroy J, Barlow EWR, Bevege DI.** 1986. Response of *Pinus radiata* Seedlings to Carbon Dioxide Enrichment at Different Levels of Water and Phosphorus: Growth, Morphology and Anatomy. *Annals of Botany* **57**, 165–177.
- Dickison WC.** 2000. *Integrative Plant Anatomy*. Harcourt/Academic Press, San Diego, xvii 533p. ISBN 0-12-2151710-4.
- Eguchi E, Fukatsu E, Funada R, Tobita H, Kitao M, Maruyama Y, Koike T.** 2004. Changes in morphology, anatomy, and photosynthetic capacity of needles of Japanese larch (*Larix kaempferi*) seedlings grown in high CO<sub>2</sub> concentrations. *Photosynthetica* **42**, 173–178.
- Eguchi N, Karatsu K, Ueda T, Funada R, Takagi K, Hiura T, Sasa K, Koike T.** 2008. Photosynthetic responses of birch and alder saplings grown in a free air CO<sub>2</sub> enrichment system in northern Japan. *Trees* **22**, 437–447.
- Esau K.** 1977. *Anatomy of Seed Plants*. 2. ed. John Wiley & Sons, New York, xx, 550 p. ISBN 0-471-24520-8.
- Etheridge DM, Steele LP, Langenfelds RL, Francey RJ, Barnola J-M, Morgan VI.** 1998. *Historical CO<sub>2</sub> records from the Law Dome DE08, DE08-2, and DSS ice cores*. In *Trends: A Compendium of Data on Global Change* [online]. CDIAC, ORNL, June 1998. WWW: <<http://cdiac.ornl.gov/trends/co2/lawdome.html>>.
- Evert RF.** 2006. *Esau's Plant Anatomy*. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, xx, 601 p. ISBN 978-0-471-73843-5.
- Fahn A.** 1990. *Plant Anatomy*. Pergamon Press, Oxford, xi, 588 p. ISBN 0-08-037491-3.
- Fendrych M.** 2005. *Kvantitativní analýza průduchů jehlic smrku ztepilého pěstovaného ve zvýšené koncentraci CO<sub>2</sub>*. Praha, 34 s. Katedra fyziologie rostlin, Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy. Vedoucí seminární práce doc. Jana Albrechtová.
- Ferris R, Sabatti M, Miglietta F, Mills RF, Taylor G.** 2001. Leaf area is stimulated in *Populus* by free air CO<sub>2</sub> enrichment (POPFACE), through increased cell expansion and production. *Plant, Cell and Environment* **24**, 305–315.
- Gibeaut MD, Cramer GR, Seeman JR.,** 2000. Growth, cell walls, and UDP-Glc dehydrogenase activity of *Arabidopsis thaliana* grown in elevated carbon dioxide. *Journal of Plant Physiology*, **158**, 569–576.
- Griffin KL, Anderson OR, Gastrich MD, Lewis JD, Lin G, Schuster W, Seeman JR, Tissue DT, Turnbull MH, Whitehead D.** 2001. Plant growth in elevated CO<sub>2</sub> alters mitochondrial number and chloroplast fine structure. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **98**, 2473–2478.

- Jach ME, Ceulemans R.** 1999. Effects of elevated atmospheric CO<sub>2</sub> on phenology, growth and crown structure of Scots pine (*Pinus sylvestris*) seedlings after two years of exposure in the field. *Tree Physiology* **19**, 289–300.
- Hrstka M, Urban O, Marek MV.** 2005. Long-term effect of elevated CO<sub>2</sub> on spatial differentiation of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase activity in Norway spruce canopy. *Photosynthetica* **43**, 211–216.
- Kinsman EA, Lewis C, Davies MS, Young JE, Francis D, Vilhar B, Ougham HJ.** 1997. Elevated CO<sub>2</sub> stimulates cells to divide in grass meristems: a differential effect in two natural populations of *Dactylis glomerata*. *Plant, Cell and Environment* **20**, 1309–1316.
- Körner C.** 2003. Atmospheric CO<sub>2</sub> enrichment – an ecological perspective. in **Larcher W.** 2003. *Physiological Plant Ecology*. 4th edition. Springer, pages 177–184.
- Körner C.** 2006. Plant CO<sub>2</sub> responses: an issue of definition, time and resource supply. *New Phytologist* **172**, 393–411.
- Leadley PW, Reynolds JA, Thomas JF, Reynolds JF.** 1987. Effects of CO<sub>2</sub> enrichment on leaf surface area in soybeans. *Botanical Gazette* **148**, 137–140.
- Lhotáková Z, Albrechtová J, Malenovský Z, Rock BN, Polák T, Cudlín, P.** 2007. Does the azimuth orientation of Norway spruce (*Picea abies*/L./Karst.) branches within sunlit crown part influence the heterogeneity of biochemical, structural and spectral characteristics of needles? *Environmental and Experimental Botany* **59**, 283–292.
- Lin J, Jach ME, Ceulemans R.** 2001. Stomatal density and needle anatomy of Scots pine (*Pinus sylvestris*) are affected by elevated CO<sub>2</sub>. *New Phytologist* **150**, 665–674.
- Luomala E-M, Laitinen K, Sutinen S, Kellomäki S, Vapaavuori E.** 2005. Stomatal density, anatomy and nutrient concentrations of Scots pine needles are affected by elevated CO<sub>2</sub> and temperature. *Plant, cell and environment* **28**, 733–749.
- Masle J.** 2000. The effects of elevated CO<sub>2</sub> concentrations on cell division rates, growth patterns, and blade anatomy in young wheat plants are modulated by factors related to leaf position, vernalization, and genotype. *Plant Physiology* **122**, 1399–1415.
- Mauseth JD.** 1988. *Plant Anatomy*. The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc., Menlo Park, xiv, 560 p. ISBN 0-8053-4570-1.
- Nátr L** 1998. Fotosyntéza. In: Procházka S, Macháčková I, Krekule J, Šebánek J a kolektiv. *Fyziologie rostlin.*, 1. vyd. Academia, Praha, 484 s. ISBN 80-200-0586-2.
- Nátr L.** 2000. *Koncentrace CO<sub>2</sub> a rostliny*. ISV nakladatelství, Praha, 257 s. ISBN 80-85866-62-5.
- Norby RJ, O'Neill EG.** 1991. Leaf area compensation and nutrient interactions in CO<sub>2</sub>-enriched seedling of yellow poplar (*Liriodendron tulipifera* L.). *New Phytologist* **117**, 515–528.
- Oksanen E, Riikonen J, Kaakinen S, Holopainen T, Vapaavuori E.** 2005. Structural characteristics and chemical composition of birch (*Betula pendula*) leaves are modified by increasing CO<sub>2</sub> and ozone. *Global Change Biology* **11**, 732–748.
- Oksanen E, Sober J, Karnosky DF.** 2001. Impacts of elevated CO<sub>2</sub> and/or O<sub>3</sub> on leaf ultrastructure of aspen (*Populus tremuloides*) and birch (*Betula papyrifera*) in the Aspen FACE experiment. *Environmental Pollution* **115**, 437–446.
- Olszyk D, Apple A, Gartner B, Spicer R, Wise C, Buckner E, Benson-Scott A, Tingey D.** 2005. Xeromorphy increases in shoots of *Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco seedlings with exposure to elevated temperature but not elevated CO<sub>2</sub>. *Trees* **19**, 552–563.
- Onoda Y, Hirose T, Hikosaka K.** 2007. Effect of elevated CO<sub>2</sub> levels on leaf starch, nitrogen and photosynthesis of plants growing at three natural CO<sub>2</sub> springs in Japan. *Ecological Research* **22**, 475–484.
- Pazourek J, Votrubová O.** 1997. *Atlas of Plant Anatomy*. PERES Publishers, Praha, 447 p. ISBN 80-901691-2-0.

- Pritchard SG, Mosjidis C, Peterson CM, Runion B, Rogers HH.** 1998. Anatomical and morphological alterations in longleaf pine needles resulting from growth in elevated CO<sub>2</sub>: Interactions with soil resource availability. *International Journal of Plant Sciences* **159**, 1002–1009
- Pritchard SG, Peterson CM, Prior SA, Rogers HH.** 1997. Elevated atmospheric CO<sub>2</sub> differentially affects needle chloroplast ultrastructure and phloem anatomy in *Pinus palustris*: interactions with soil resource availability. *Plant, Cell and Environment* **20**, 461–471.
- Ranasinghe S, Taylor G.** 1996. Mechanism for increased leaf growth in elevated CO<sub>2</sub>. *Journal of Experimental Botany* **47**, 349–358.
- Sholtis JD, Gunderson CA, Norby RJ, Tissue DT.** 2004. Persistent stimulation of photosynthesis by elevated CO<sub>2</sub> in a sweetgum (*Liquidambar styraciflua*) forest stand. *New Phytologist* **162**, 343–354.
- Smith AM, Stitt M.** 2007. Coordination of carbon supply and plant growth. *Plant, Cell and Environment* **30**, 1126–1149.
- Soukupova J, Cvikrova M, Albrechtova J, Rock BN, Eder J.** 2000a. Histochemical and biochemical approaches to the study of phenolic compounds and peroxidases in needles of Norway spruce (*Picea abies*). *New Phytologist* **146**, 403–414.
- Soukupova J, Rock BN, Albrechtova J.** 2000b. Comparative study of two spruce species in a polluted mountain region. *New Phytologist* **150**, 133–145.
- Tans P.** *Trends in Carbon Dioxide* [online]. NOAA/ESRL, March 2008. WWW: <<http://www.esrl.noaa.gov/gmd/ccgg/trends/>>.
- Taylor G, Tricker PJ, Zhang FZ, Alston VJ, Miglietta F, Kuzminsky E.** 2003. Spatial and temporal effects of Free-Air CO<sub>2</sub> Enrichment (POPFACE) on leaf growth, cell expansion, and cell production in a closed canopy of poplar. *Plant Physiology* **131**, 177–185.
- Teng N, Wang J, Chen T, Wu X, Wang Y, Lin J.** 2006. Elevated CO<sub>2</sub> induces physiological, biochemical and structural changes in leaves of *Arabidopsis thaliana*. *New Phytologist* **172**, 92–103.
- Thomas JF, Harvey CN.** 1983. Leaf anatomy of four species grown under continuous CO<sub>2</sub> enrichment. *Botanical Gazette* **144**, 303–309.
- Thomas SC, Bazzaz FA.** 1996. Elevated CO<sub>2</sub> and leaf shape: Are dandelions getting toothier? *American Journal of Botany* **83**, 106–111.
- Tissue TD, Thomas RB, Strain BR.** 1996. Growth and photosynthesis of loblolly pine (*Pinus taeda*) after exposure to elevated CO<sub>2</sub> for 12 months in the field. *Tree Physiology* **16**, 49–59.
- Tomaskova I, Pokorny R, Marek M.V.** Effect of elevated atmospheric CO<sub>2</sub> concentration on Norway spruce needle parameters. *Nepublikováno*.
- Tricker PJ, Calfapietra C, Kuzminsky E, Puleggi R, Ferris R, Nathoo M, Pleasants LJ, Alston V, de Angelis P, Taylor G.** 2004. Long-term acclimation of leaf production, development, longevity and quality following 3 yr exposure to free-air CO<sub>2</sub> enrichment during canopy closure in *Populus*. *New Phytologist* **162**, 413–426.
- Votrubová O.** 2001. *Anatomie rostlin*. 2. vyd. Nakladatelství Karolinum, Praha, 89 s. ISBN 80-246-0367-5.
- WMO.** 2007. *Greenhouse Gas Bulletin* [online]. WMO, November 2007. WWW: <<http://www.wmo.int/pages/prog/arep/gaw/ghg/documents/ghg-bulletin-3.pdf>>.