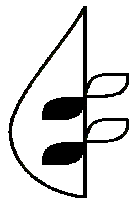


Univerzita Karlova v Praze
Přírodovědecká fakulta
Katedra fyziologie rostlin



***STUDIE LISTOVÍ VYBRANÝCH JEHLIČNANŮ VE VZTAHU K PODMÍNKÁM
PROSTŘEDÍ S VYUŽITÍM PŘÍSTUPŮ KVANTITATIVNÍ ANATOMIE A
LABORATORNÍ SPEKTROSKOPIE***

Autoreferát dizertační práce

Mgr. Zuzana Lhotáková



Praha 2008

Školitel: Doc. RNDr. Jana Albrechtová PhD.
Konzultant: RNDr. Lucie Kubínová CSc.

Poděkování:

Na prvním místě patří dík Dr. Janě Albrechtové za přátelské vedení a podporu během mého doktorského studia a zvláště za dodání síly při sepisování práce. Děkuji konzultantce Dr. Lucii Kubínové za podporu, podnětné konzultace a trpělivost. Dále děkuji panu prof. Lubomíru Nátrovi za podnětné diskuze a motivaci dotáhnout práci do konce. Děkuji kolegům ze „smrkového týmu“, hlavně Mgr. Zdeňkovi Seidlovi za pomoc se stereologickým měřením. Děkuji všem kolegům z Katedry fyziologie rostlin za příjemné pracovní prostředí během mého doktorského studia.

Díky patří též Dr. Jiřímu Janáčkovi a Dr. Báře Radochové z oddělení biomatematiky, Fyziologického ústavu AV ČR; prof. Michalu Markovi, Dr. Otmaru Urbanovi, Dr. Ivaně Tomáškové a Mgr. Martině Košvancové z Ústavu systémové biologie a ekologie AV ČR za možnost pracovat na experimentálním stanovišti Bílý Kříž a též Dr. Pavlovi Culdínovi ze stejné instituce.

Děkuji Dr. Jacqueline Aitkenhead-Peterson, prof. Williamu McDowellovi and prof. Barrett N. Rockovi z University of New Hampshire, kteří mi vytvořili zázemí během mého měsíčního výzkumného pobytu ve Spojených státech v roce 2005.

Děkuji Dr. Zbyňkovi Malenovskému z Wageningen University za pomoc při zpracování reflektančních dat, společnou práci na manuskriptech a motivaci.

Na neposledním místě patří dík mé rodině a přátelům za podporu během studia.

Práce byla podpořena z následujících grantových projektů:

A600110507, Grantová agentura Akademiě věd ČR, “Nové metody trojrozměrné analýzy anatomické stavby jehlic smrku ztepilého s využitím stereologie, analýzy obrazu a dvoufotonové mikroskopie” (2005-2008).

Kontakt: ME 658 / NSF: DEB 108385, Česko-americký projekt ” Vztah mezi chemickým složením povrchových vod, půd a listoví podél imisního gradientu v ČR”. 2003-2006, z české strany MŠMT, z americké strany NSF (National Science Foundation).

206/03/H137 a 206-08-H409 Grantová agentura České republiky “Lokální adaptace v rostlinných populacích: určující mechanismy a význam v dynamicky měnící se krajině.” (2004-2008)

OBSAH

<i>ÚVOD</i>	1
<i>CÍLE A HYPOTÉZY:</i>	4
<i>VÝSLEDKY A DISKUZE</i>	5
<i>1 Kvantitativní stanovení geometrických parametrů mezofylu smrku ztepilého pomocí konfokální mikroskopie a stereologie</i>	5
<i>1.1 Zmrazené jehlice je možno použít pro stereologická měření – úprava metodiky</i>	6
<i>1.2 Význam systematicky rovnoměrně náhodného výběru vzorků při hodnocení geometrických parametrů</i>	7
<i>2 Struktura mezofylu jehlic smrku ztepilého pod dlouhodobým vlivem zvýšené koncentrace CO₂</i>	8
<i>3 Heterogenita biochemických a z nich odvozených spektrálních parametrů listoví v rámci koruny stromu</i>	10
<i>4 Vztahy mezi chemickým složením půdy, obsahem chlorofylu v listoví a spektrálními parametry listoví</i>	10
<i>ZÁVĚRY</i>	12
<i>CITOVANÁ LITERATURA</i>	14
<i>CURRICULUM VITAE</i>	17
<i>PUBLIKAČNÍ ČINNOST</i>	19



ÚVOD

Význam terestrické vegetace jakožto nejdůležitějšího zdroje primární produkce biomasy, základu potravního řetězce a v neposlední řadě důležitého krajinnotvorného činitele je všeobecně uznáván. V poslední době je často tématem odborné i veřejné diskuze právě role suchozemské vegetace v souvislosti se zvyšující se atmosférickou koncentrací oxidu uhličitého. Pozornost je věnována hlavně lesním ekosystémům, kde je uhlík ukládán ve formě listové i dřevní biomasy, v opadu či půdě, což dává těmto ekosystémům potenciál sehrát důležitou roli ve zmírnění dopadu globálních změn klimatu způsobených nárůstem koncentrace skleníkových plynů v atmosféře. Klíčový proces pro fixaci atmosférického CO₂ je fotosyntéza, proto je nezbytné porozumět vztahům mezi fotosyntetickou funkcí a vnitřní strukturou listů, které se vzájemně podmiňují. Struktura a funkce listů je utvářena také působením vnějších faktorů prostředí a tyto procesy je žádoucí pochopit pro odhalení potenciálu fixace CO₂ jednotlivými rostlinnými druhy či ekosystémy.

Tato práce je zaměřena na studium vnitřní struktury listu v závislosti na jeho funkci ve specifických podmínkách prostředí. Jako hlavní rostlinný objekt výzkumu byl vybrán smrk ztepilý (*Picea abies* L. Karst), nejhojněji zastoupený druh dřevin v lesních porostech pěstovaných v České republice (53% zalesněné plochy v ČR tvořily porosty smrku ztepilého v roce 2006 <http://www.uhul.cz/zelenazprava/index.php>) a dalších zemích střední a severní Evropy. Součástí práce je též studie provedená na dvou severoamerických jehličnanech - jedli balzámové (*Abies balsamea* L. Mill.) a smrku červeném (*Picea rubens* Sarg.) v rámci mezinárodní spolupráce s kolegy z University of New Hampshire ve Spojených státech amerických.

Smrk ztepilý je vysoce citlivý k atmosférickému znečištění, obzvláště kyselému spadu, který ve formě SO₂ spolu s troposférickým ozonem a oxidy dusíku byl jednou z příčin velkoplošného odumírání lesních porostů ve střední Evropě včetně České republiky (např. Smith 1990, Masuch 1992; Viskari a kol. 2000; Soukupová a kol. 2001). Změny ve vnitřní struktuře jehlic způsobené kombinací atmosférického znečištění a nepříznivých klimatických podmínek byly při výzkumu odumírání lesů využívány jako „mikroskopické indikátory poškození stromů“ širokým okruhem výzkumných skupin, včetně týmu Dr. Albrechtové z Katedry fyziologie rostlin, Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy v Praze a jejich spolupracovníky ze Spojených států amerických z University of New Hampshire (Albrechtová a kol. 2001; Moss a kol. 1998; Soukupová a kol. 2001).

Ačkoliv kvantitativní přístupy v rostlinné anatomii jsou zavedeny minimálně od 30. let 20. století (Turrell, 1936), většina studií věnovaných výzkumu poškození lesních porostů využívala pouze kvalitativní popis změn ve struktuře listů, např. porušení celistvosti chloroplastů (Moss a kol. 1998). V dnešní době mnohdy nastává nutnost disponovat kvantitativními metodami k nevychýlenému odhadu geometrických parametrů vnitřní struktury listu (např. vnitřní povrch listu nebo objem a počet mezofylových buněk) pro potřeby modelování fotosyntetických procesů (Aalto and Juurola 2002; Juurola a kol. 2005), či průniku záření (Ustin a kol. 2001) na úrovni listu. Nejnovější metody kvantitativní rostlinné anatomie využívající možností konfokální mikroskopie a stereologie byly v poslední době testovány na různých rostlinných vzorcích (Kubínová a Janáček 1998; 2001) a v této studii byl testován potenciál jejich využití i v ekofyziologickém výzkumu.

Možnost aplikace konfokální mikroskopie a stereologických metod na řezech jehlicemi smrku ztepilého při vyhodnocování změn ve struktuře vyvolaných ošetřením simulovaným kyselým deštěm byla prokázána v první studii, která je ve formě publikace zahrnuta v této práci (Albrechtová a kol. 2007, Paper I.). Ve většině anatomických studií zaměřených na vnitřní strukturu listů bylo pro kvantitativní stanovení geometrických parametrů využito mezofylu fixovaných listových segmentů, které byly následně uzavřeny do parafínu či pryskyřice (e.g. Turrell, 1936; Niinemets a kol. 2007). S úmyslem vyvarovat se náročné proceduře odvodňování a uzavírání listových segmentů do podpůrného média byla úspěšně otestována možnost použít tlusté ruční řezy čerstvých jehlic a jehlic skladovaných



ve zmrazeném stavu. Druhá publikace, která je součástí této práce (Lhotáková *a kol.* 2008, Paper II.) představuje upřesnění technických detailů při použití řezů zmrazených jehlic pro aplikaci konfokální mikroskopie a následný odhad geometrických parametrů mezofylu (např. hustota vnitřního povrchu mezofylu) pomocí stereologické metody fakír (Kubínová a Janáček 1998). Možnost uchování zmrazených vzorků pro pozdější kvantitativní hodnocení dává zmíněným metodám potenciál využití v rozsáhlejších ekofyziologických studiích, kdy není možné zpracovat okamžitě velké množství odebraného materiálu.

Prudký nárůst atmosférické koncentrace oxidu uhličitého za posledních 150 let, který je zejména důsledkem činnosti člověka, klade nároky na fyziologické přizpůsobení rostlin. Tato přizpůsobení mohou mít zásadní důsledky v produktivitě nejen zemědělských ekosystémů, ale i přirozených ekosystémů a celkových biogeochemických cyklů prvků nebo koloběhu vody v krajině. V posledních dvou desetiletích byl výzkum vlivu zvýšené koncentrace CO₂ na rostliny ve středu pozornosti ekofyziologického výzkumu (shrnuje např. Urban, 2003). Nejčastěji zmiňované reakce rostlin na fyziologické úrovni jsou aktivace enzymu Rubisco, pokles jeho oxygenázové aktivity a následné potlačení fotorespirace a zvýšení rychlosti čisté fotosyntézy (Maier *a kol.* 2008) nebo pokles vodivosti průduchů (Zhang *a kol.* 2008a). Změny v těchto primárních fyziologických procesech vedou ke zvýšení syntézy a obsahu nestrukturních sacharidů a změnám v rovnováze sinků v rostlině a následné fotosyntetické aklimaci (Zhang *a kol.* 2008a).

Reakce rostlin na zvýšenou koncentraci CO₂ v atmosféře se však různí v závislosti na rostlinném druhu, stáří rostlin, dostupnosti minerálních živin, délce a způsobu ošetření zvýšenou koncentrací CO₂. Třetí publikace zahrnutá do této práce (Lhotáková *a kol.*, podáno k publikaci, Paper III.) je soustředěna na vyhodnocení změn ve fotosyntetických parametrech, respiraci a vnitřní struktuře jehlic smrku ztepilého pěstovaného po osm let v experimentálním systému regulované otevíratelných komor při zvýšené koncentraci CO₂. Pro analýzu vnitřní struktury těchto jehlic byly využity metodiky a poznatky získané v rámci prvních dvou studií (Albrechtová *a kol.* 2007; Lhotáková *a kol.* 2008, Paper I. a Paper II.).

V suchozemských ekosystémech hraje fotosyntéza důležitou roli v propojení koloběhu uhlíku a dusíku. Velký význam zde má též produkce půdní organické hmoty, a její dekompozice mikrobiálními společenstvy (McDowell, 2003; Pritchard *a kol.* 2008). Zejména v temperátních a boreálních lesních ekosystémech může dostupnost dusíku v půdě ovlivňovat míru fixace CO₂ rostlinami. V mnoha řízených experimentech, kde byl sledován vliv zvýšené koncentrace CO₂ na lesní dřeviny, se jejich reakce ukázala být závislá právě na dostupnosti dusíku v půdě (Eguchi *a kol.* 2004; Eguchi *a kol.* 2008; Maier *a kol.* 2008). Tento fakt dokládá potřebu porozumět interakcím mezi fyziologickým stavem vegetace a chemickým složením opadu a půdy. Toky uhlíku a dusíku mezi půdou a vegetací bývají často druhově specifické a zároveň ovlivněné lidskými zásahy (Ollinger *a kol.* 2002). Mechanismy, které propojují fyziologické procesy rostlin a půdní procesy, je žádoucí objasnit na regionální úrovni, aby mohly být posléze vztaženy na úroveň kontinentů či úroveň globální. Jako nástroje vhodné pro tento typ zkoumání byly sledovány metody dálkového průzkumu Země nebo ekosystémového modelování.

Metody dálkového průzkumu Země využívají pro odhad biochemického složení listoví modelů radiativního transferu nebo specifických vegetačních spektrálních indexů odvozených od odrazivosti (reflektance) vegetace (Ollinger *a kol.* 2002; Serrano *a kol.* 2002; Ollinger a Smith 2005; Zhang *a kol.* 2008b). Obsah chlorofylu v listoví je jedním z nejdůležitějších faktorů, které určují jeho optické vlastnosti ve viditelné oblasti elektromagnetického spektra. Byly vyvinuty specifické spektrální indexy, které lze použít pro neinvazivní odhad obsahu chlorofylu. Avšak tyto indexy bývají specifické pro daný rostlinný druh, a pro univerzální použití je třeba sílu vztahu mezi těmito indexy a danou biochemickou vlastností listoví ověřit. V poslední době za účelem sledování stavu vegetace využívá dálkový průzkum Země hyperspektrálních dat s vysokým prostorovým rozlišením (Malenovský *a kol.* 2008) a v takových případech mohou být jednotlivé koruny stromů zastoupeny na zobrazeném snímku více než jedním obrazovým bodem (pixel). Z tohoto důvodu, je potřebné získat představu o heterogenitě optických vlastností listoví v koruně stromu. Další studie, která je součástí této práce, je zaměřena na vyhodnocení heterogenity



v obsahu fotosyntetických pigmentů, rozpustných fenolických látek, struktury jehlic a jejich optických vlastností v závislosti na orientaci větve v koruně smrku ztepilého (Lhotáková *a kol.* 2007, Paper IV.).

Znalost biochemického složení listoví, odhadovaná v regionálním měřítku pomocí dálkového průzkumu Země, může sloužit k odhadu některých půdních vlastností. Poslední studie zahrnutá do této práce se soustřeďuje na možnost odhadu obsahu organického rozpustného dusíku a uhlíku v lesní půdě pomocí specifických spektrálních indexů odvozených z odrazivosti jehlic ve vlnových délkách absorpčních maxim chlorofylu ve smíšeném lesním porostu s převahou jehličnanů (smrk červený a jedle balzámová) v New Hampshire ve Spojených státech amerických (Albrechtová *a kol.* 2008, Paper V.).



CÍLE A HYPOTÉZY:

- 1. *Vyvinout a modifikovat účinné metody pro detailní popis změn geometrických parametrů mezofylu jehličnanů s využitím konfokální mikroskopie a stereologie.***

Hypotézy:

- Jemné změny ve struktuře jehlic vyvolané působením faktorů prostředí (např. simulací kyselého deště), lze kvantitativně charakterizovat pomocí vybraných citlivých stereologických metod: fakíru a prostorové sondy disektoru.
- Ruční řezy jehlic čerstvých a jehlic skladovaných ve zmrazeném stavu jsou vhodné pro snímání pomocí konfokální mikroskopie a následnou stereologickou analýzu.
- Vybrané geometrické parametry mezofylu: podíl mezibuněčných prostor a hustota vnitřního povrchu mezofylu nejsou ovlivněny zmrazením jehlic

- 2. *Charakterizovat změny ve struktuře mezofylu jehlic smrku ztepilého pod vlivem zvýšené koncentrace CO₂ s použitím metod vyvinutých v rámci cíle 1.***

Hypotézy:

- Objemový podíl mezofylu jehlic stromů pěstovaných při zvýšené koncentraci CO₂ se zvýší.
- Vnitřní povrch mezofylu jehlic stromů pěstovaných při zvýšené koncentraci CO₂ se zvýší.
- Rozdíl ve struktuře mezofylu slunných a stinných jehlic stromů pěstovaných při zvýšené koncentraci CO₂ bude potlačen oproti kontrolním jedincům.

- 3. *Charakterizovat, jak pozice jehlic (orientace větve do světových stran) ovlivňuje vybrané biochemické, anatomické a spektrální parametry jehlic.***

Hypotéza:

- Vybrané biochemické, anatomické a spektrální parametry jehlic z osluněné části koruny smrku ztepilého se liší v závislosti na orientaci větve do základních čtyř světových stran.

- 4. *Zkoumat existenci možných vztahů mezi vybranými biochemickými a spektrálními vlastnostmi jehlic a půdní vodou extrahovatelným rozpustným organickým uhlíkem (DOC) a dusíkem (DON) ve smíšeném jehličnatém lese v New Hampshire v Nové Anglii, USA.***

Hypotézy:

- Existují vztahy mezi biochemickými parametry listoví, pravděpodobně obsahem chlorofylu, jedle balzámové a smrku červeného a obsahem DOC a DON v půdě.
- Tyto vztahy mohou být popsány pomocí spektrálních vegetačních indexů odvozených od obsahu chlorofylu v listoví.

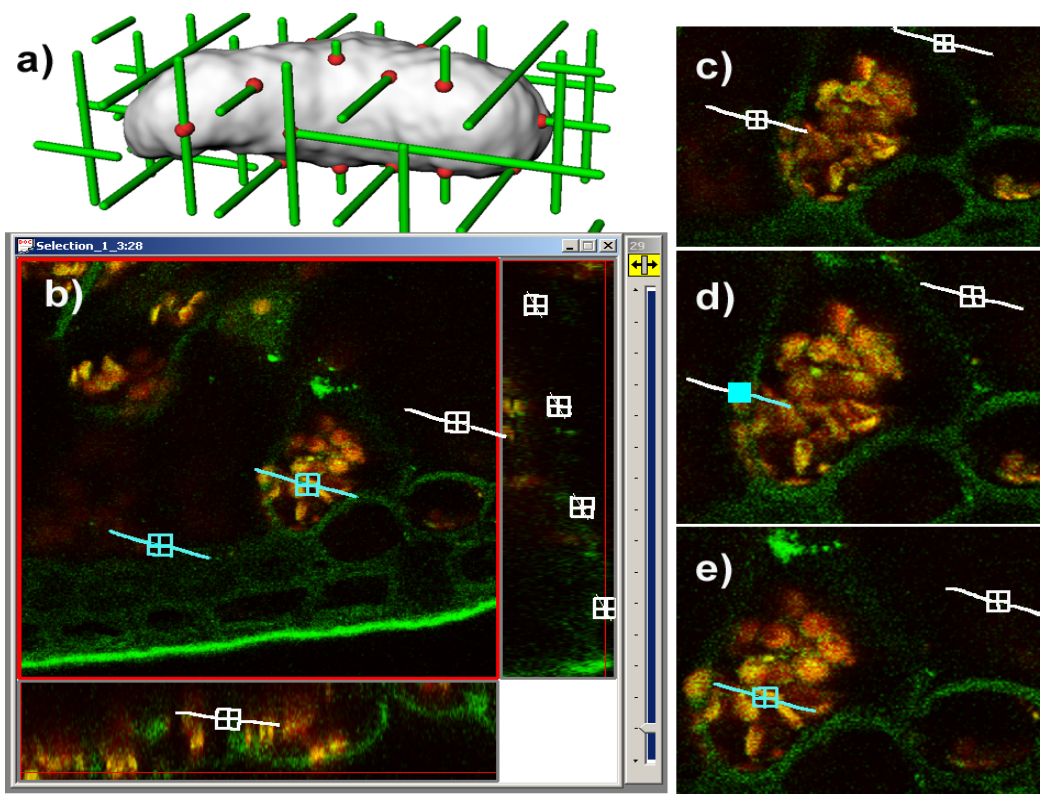


VÝSLEDKY A DISKUZE

1 Kvantitativní stanovení geometrických parametrů mezofylu smrku ztepilého pomocí konfokální mikroskopie a stereologie

Díky intenzivní autofluorescenci chlorofylu v chloroplastech a fenolických látek vázaných v buněčných stěnách se čerstvé ruční řezy jehlic smrku ztepilého prokázaly jako vhodné pro získání obrazu struktury mezofylu a dalších pletiv laserovou skenovací konfokální mikroskopií i bez fixace a specifického barvení (Albrechtová a kol. 2008, Paper.). K odhadu vnitřního povrchu mezofylu byla použita metoda fakíra (Kubínová a Janáček 1998), která narozdíl od jiných stereologických metod nevyžaduje náhodnou orientaci řezů z důvodu uplatnění náhodné orientace počítačově generovaných virtuálních fakířských sond (Obr. 1). Citlivost vybraných geometrických parametrů mezofylu k faktorům prostředí byla testována pomocí aplikace simulovaného kyselého deště. Příznaky poškození jehlic způsobené kyselým deštěm byly již v minulosti popsány, jedná se např. o zvýšení objemového podílu mezibuněčných prostor (Masuch a kol. 1992). Naše výsledky odpovídaly těmto již popsaným příznakům např. zvýšení objemového podílu mezibuněčných prostor, snížení vnitřního povrchu jehlice či snížení počtu mezofylových buněk na objemovou jednotku jehlice (Albrechtová a kol. 2008, Paper I.).

Obr. 1:



Obrázek 1: Měření vnitřního povrchu mezofylu jehlice smrku ztepilého. a) Fakířská sonda procházející izolovanou mezofylovou buňkou. Červené body odpovídají průsečíkům testovacích linií a povrchu buňky. b) Vybrané vzorkovací okno v programu Ellipse se zobrazením fakířských sond v náhodné orientaci. Proces měření je popsán na následujících třech optických řezech. První optický řez c), druhý optický řez d), třetí optický řez e). Testovací linie procházející mezofylovou buňkou jsou zpočátku bílé c). Střed bílých čtverců odpovídají průsečíku testovací linie a zobrazeného optického řezu. Jakmile takový bod protne buněčnou stěnu (v okně d), je interaktivně označen a přebarví se na modro (d). Část testovací linie nad tímto bodem se rovněž přebarví modře (d, e). V posledním obrázku (e) je znázorněno označení jednoho průsečíku.

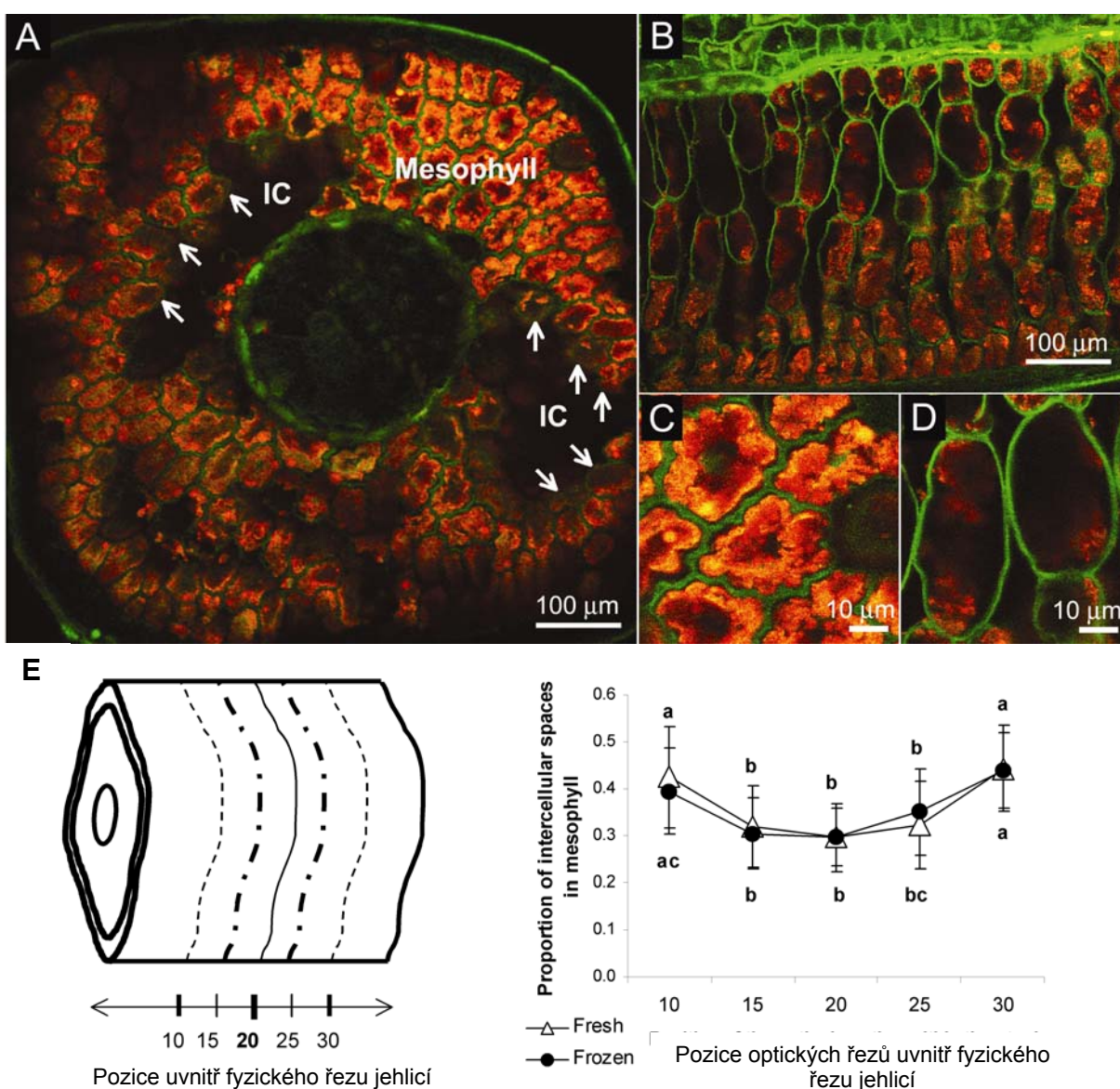


1.1 Zmrazené jehlice je možno použít pro stereologická měření – úprava metodiky

V rámci rozsáhlejších ekofyziologických terénních studií narážíme na omezení v případě použití čerstvého rostlinného materiálu pro anatomické analýzy, jelikož větší množství vzorků nelze obvykle ihned zpracovat. Testovali jsme tedy, zda je možné pro anatomickou analýzu použít jehlice uchované ve zmrazeném stavu. Dle výsledků pilotní studie nemělo zmrazení jehlic vliv na sledované geometrické parametry mezofylu (objemový podíl mezibuněčných prostor a hustota vnitřního povrchu mezofylu) a tím se prokázalo, že zmrazené vzorky je možné použít pro rutinní měření v terénním ekofyziologickém výzkumu (Lhotáková *a kol.* 2008, Paper II.).

Při ručním řezání může docházet k deformacím pletiv na řezném povrchu, proto bylo třeba pro stereologická měření použít část série optických řezů mezofylu získanou hlouběji v rámci tlustého fyzického řezu (Obr. 2, Lhotáková *a kol.* 2008, Paper II.).

Obr. 2:



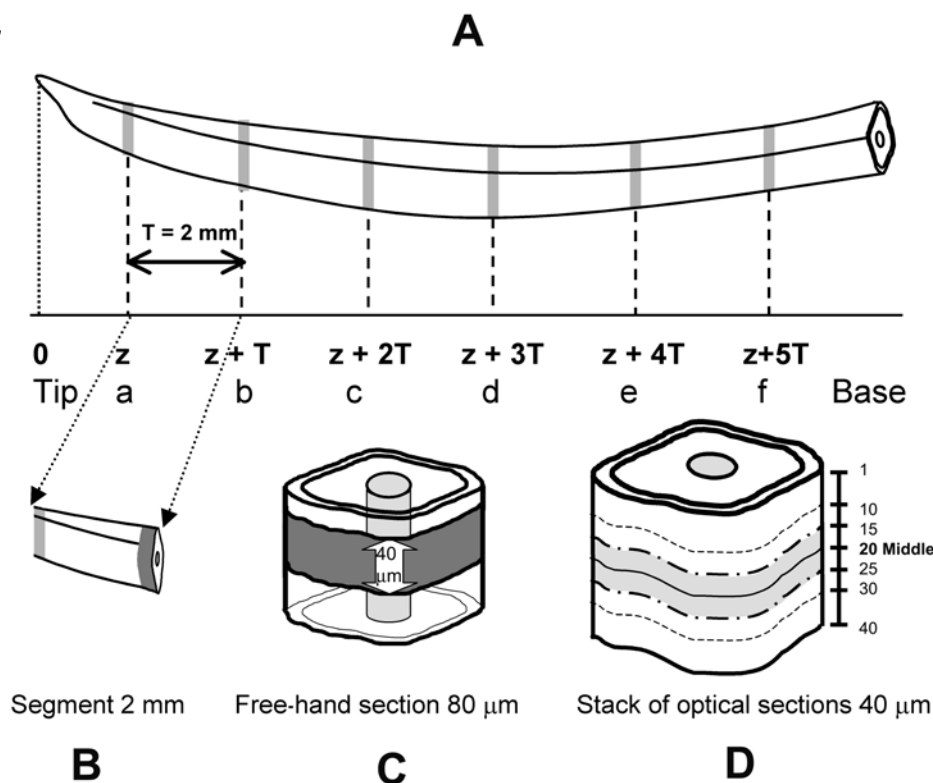


Obrázek 2: Optické řezy jehlic smrku ztepilého získané konfokálním mikroskopem. Autofluorescence fenolických látek v buněčných stěnách zeleně, autofluorescence chlorofylu červeně. (A) Příčný řez jehlicí smrku ztepilého. IC = mezibuněčné prostory, bílé šipky ukazují na povrch mezofylových buněk vystavený mezibuněčným prostorům – vnitřní povrch listu. (B) Podélný řez jehlicí. (C) Detail mezofylové buňky na příčném řezu. (D) Detail mezofylové buňky na podélném řezu. (E) Objemový podíl mezibuněčných prostor měřený v různých hloubkách tlustého fyzického řezu. Číslo na ose x odpovídají pořadí optického řezu ve 40 μm tlusté sérii optických řezů. Úsečky odpovídají směrodatným odchylkám, rozdílná písmena značí statisticky průkazný rozdíl mezi průměry na základě analýzy rozptylu s jednoduchým tříděním. Rozdíl mezi čerstvými (Fresh) a zmrazenými (Frozen) jehlicemi není statisticky průkazný. $\alpha = 0.05$. (Lhotáková a kol. 2008, Paper II.)

1.2 Význam systematicky rovnoměrně náhodného výběru vzorků při hodnocení geometrických parametrů

Teorie histofyziologických gradientů (Prat 1948) klade důraz na heterogenitu anatomických parametrů v rámci rostliny či dokonce jednotlivých jejích orgánů, což má význam z hlediska odběru vzorků a navrhování anatomických analýz. Gradient v ploše příčného řezu jehlice byl pozorován v jedné z našich studií (Obr. 3, Lhotáková a kol. 2007, Paper IV.), kdy plocha příčného řezu se lišila v závislosti na vzdálenosti řezu od špičky jehlice, zatímco plošné podíly jednotlivých pletiv na řezu (mezofyl, epidermis a hypodermis) zůstaly konstantní bez ohledu na pozici řezu. Podobně objemový podíl mezibuněčných prostor a hustota vnitřního povrchu mezofylu se neměnila s pozicí řezu podél osy jehlice (Lhotáková a kol., 2008, Paper II.). Tato zjištění jsou srovnatelná s údaji v literatuře (Zwieniecki a kol. 2006), kde byly sledovány geometrické parametry jehlic (obvod řezu, hustota průduchů, průměr tracheid) konstantní pro tři vybrané druhy borovice. Systematicky rovnoměrně náhodný výběr řezů podél osy jehlice umožňuje zohlednění gradientu anatomických parametrů a poskytuje tak jejich nevyčýlený odhad.

Obr. 3:





Obrázek 3: Příprava vzorků jehlic na konfokální mikroskopii. (A) Systematicky rovnoměrně náhodný výběr příčných řezů: z = náhodná pozice prvního řezu v intervalu $(0; T]$, $T = 2$ mm. Pozice příčných řezů jsou označeny písmeny a, b, c, d, e, f. (B) 2mm dlouhý segment jehlice. (C) 80 μ m tlustý ruční řez ze kterého byly získány 40 μ m tlusté série optických řezů. (D) Série 40ti optických řezů vzdálených 1 μ m od sebe, linie znázorňují optické řezy vzdálené od sebe 5 μ m, kde byl měřen objemový podíl mezibuněčných prostor v mezofylu. (Lhotáková a kol. 2008, Paper II.)

2 Struktura mezofylu jehlic smrku ztepilého pod dlouhodobým vlivem zvýšené koncentrace CO₂

Vnitřní struktura mezofylu a uspořádání chloroplastů v mezofylových buňkách ovlivňuje průnik záření a difúzi oxidu uhličitého listem a tím zásadně podmiňují fotosyntetické procesy (Pandey a Kushwaha 2005). Jak strukturu tak fyziologické funkce listu jsou utvářeny i vnějšími faktory prostředí jako je ozáření, atmosférická koncentrace oxidu uhličitého, dostupnost vody nebo atmosférické znečištění. Avšak je nezbytné si stále uvědomovat, že žádný ze zmíněných faktorů nepůsobí na rostliny samostatně a vždy jde o interakce těchto činitelů (Niinemets, 2007).

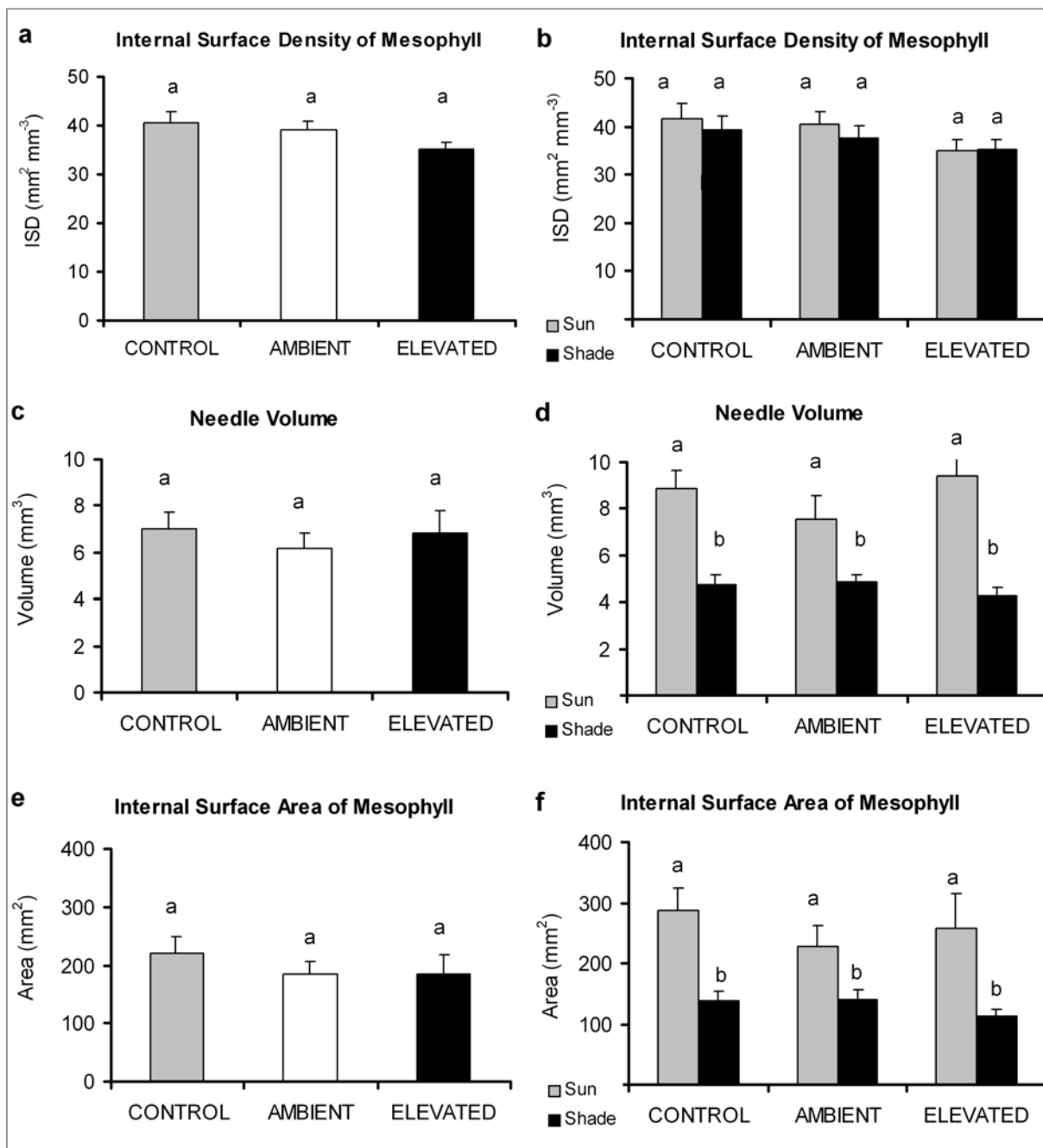
Z výsledků mnoha studií je patrné, že těsný vztah mezi strukturou a funkcí listu je zásadní pro přizpůsobení listů vysokým či nízkým ozářením (Pandey and Kushwaha 2005; Oguchi a kol. 2005), nebo zvýšené koncentraci CO₂ (Eguchi a kol. 2004). Zvýšení rychlosti čisté asimilace CO₂ jsme zaznamenali u smrku ztepilého i po osmi letech ošetření dvojnásobkem atmosférické koncentrace CO₂ (Lhotáková a kol. předloženo k publikaci, Paper III.), podobně jako bylo popsáno pro borovici kadidlovou rostoucí dlouhodobě v systému FACE (Free Air Carbon dioxide Enrichment) (Crous a kol. 2008; Maier a kol. 2008).

Změny v geometrických parametrech mezofylu způsobené zvýšenou koncentrací CO₂, se zdají být ovlivněny i dostupností dusíku, jak naznačují výsledky Eguchi a kol. (2004). Vnitřní povrch mezofylu vztážený na jednotku vnější plochy jehlice modřínu japonského (A_{mes}/A) byl ovlivněn zvýšenou koncentrací CO₂ diametrálně odlišně (opačně) u stromů s nízkou a vysokou dostupností dusíku. Autoři přisuzují změny v parametru A_{mes}/A hlavně změnám ve velikosti a počtu mezofylových buněk, kdy se sníženou dostupností dusíku klesala velikost mezofylových buněk a vzrostl jejich počet (Eguchi a kol. 2004). V případě naší studie jehlic smrku ztepilého měly stromy dostatek všech živin, proto jsme předpokládali nárůst vnitřního povrchu mezofylu jehlic. Nicméně všechny sledované geometrické parametry (objem jehlic, vnitřní povrch mezofylu, objemové podíly pletiv) zůstaly nezměněny i po dlouhodobém ošetření stromů zvýšenou koncentrací CO₂ (Obr. 4., Lhotáková a kol. podáno k publikaci, Paper III.).

Předchozí hodnocení fotosyntetických charakteristik stromů ze stejného experimentálního stanoviště ukázalo, že zvýšená koncentrace CO₂ výrazněji stimuluje fotosyntetickou aktivitu stinných jehlic oproti slunným (Hrstka a kol. 2005; Marek a kol. 2002). Na základě těchto výsledků byla vyslovena hypotéza, že stinné jehlice mohou lépe využít potenciál zvýšené koncentrace CO₂ a jejich anatomická stavba se bude více přibližovat stavbě jehlic slunných. Avšak všechny zkoumané geometrické parametry mezofylu vykazovaly shodné rozdíly mezi slunnými a stinnými jehlicemi bez ohledu na ošetření oxidem uhličitým. Ozáření je tedy pravděpodobně faktor, který silněji podmiňuje vnitřní strukturu jehlic oproti koncentraci oxidu uhličitého (Lhotáková a kol. podáno k publikaci, Paper III.).



Obr. 4:



Obrázek 4: Srovnání anatomických parametrů slunných a stinných jehlic smrku ztepiléh pěstovaného při různé koncentraci CO₂. V levé části obrázku jsou znázorněny průměry pro jednotlivá ošetření CO₂: Control = atmosférická koncentrace CO₂, volný porost, Ambient = 380 μmol mol⁻¹ CO₂ atmosférická koncentrace, porost ve speciální sféře, Elevated = 700 μmol mol⁻¹ CO₂, porost ve speciální sféře. V levé části obrázku jsou znázorněny zvláště průměry pro slunné (Sun) a stinné (Shade) jehlice. **a, b)** Hustota vnitřního povrchu mezofylu; **c, d)** Objem jehlice; **e, f)** Vnitřní povrch mezofylu. Úsečky nad sloupci odpovídají směrodatným odchýlkám, (n = 5). Odlišná písmena znázorňují statisticky průkazný rozdíl, p < 0.05. (Lhotáková a kol. podáno k publikaci, Paper III.).



3 Heterogenita biochemických a z nich odvozených spektrálních parametrů listoví v rámci koruny stromu

Biochemické složení listoví, např. obsah fotosyntetických pigmentů (Tzvetkova a kol. 2006), a vnitřní struktura listů (Nakatani a kol. 2004; Albrechtová a kol. 2007) jsou často chápány jako indikátory aktuálního fyziologického stavu rostlin. Optické vlastnosti listoví, zvláště odrazivost, jsou podmíněny biochemickým složením a strukturou listoví a proto začaly být využívány jako vhodný neinvazivní nástroj ke sledování stresových reakcí vegetace (Horler a kol. 1980). Pro monitoring fyziologického stavu vegetace, hlavně lesních porostů, jsou využívána především hyperspektrální data získaná senzory nesenými letadly nebo satelity, které mají vysoké prostorové rozlišení (1m, Moorthy a kol. 2008), or less (Malenovský a kol. 2008). Koruny jednotlivých stromů pak bývají na snímku zastoupeny více než jedním obrazovým bodem (pixel) a proto je výhodné znát, zda existuje heterogenita v optických vlastnostech listoví.

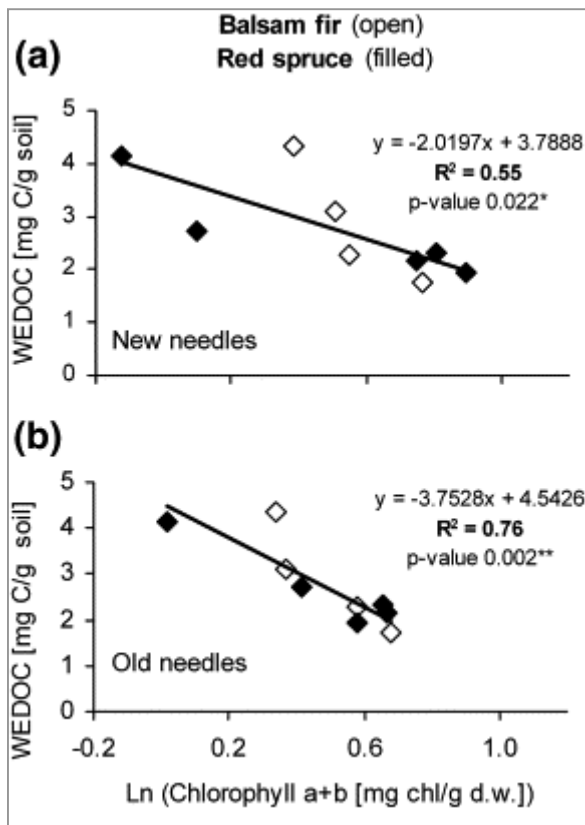
U stálezelených druhů, hlavně jehličnanů, je znám vliv stáří listů na biochemické složení, vnitřní strukturu a jimi podmíněné optické vlastnosti listoví či odvozené vegetační optické indexy (např. Rock a kol. 1988, 1994; Soukupová a kol. 2001). Statisticky silnější vztah mezi optickými vegetačními indexy a obsahem chlorofylu byl sledován pro mladší jehlice (nejmladší 3 ročníky oproti nejstarším jehlicím) (Albrechtová a kol. 2008, Paper V.). Testovali jsme hypotézu, že orientace větve do různých světových stran ovlivní biochemické, anatomické a spektrální parametry jehlic v horní osluněné části koruny smrku. Avšak naše studie prokázala, že sledované parametry jehlic nebyly orientací větve ovlivněny (Lhotáková a kol. 2007, Paper IV.). K podobným výsledkům došli též Zhang a kol. (nepublikováno) pro smrk černý. Toto zjištění podporuje předpoklad, že spektrální informace získaná z horní části osluněné koruny je reprezentativní vzorek koruny a může být použita pro kalibraci dat z dálkového průzkumu za účelem sledování fyziologického stavu lesních porostů

4 Vztahy mezi chemickým složením půdy, obsahem chlorofylu v listoví a spektrálními parametry listoví

Rozpustný organický uhlík a dusík (DOC a DON) hrají důležitou roli v cyklech těchto prvků v lesním ekosystému (McDowell, 2003) zejména v procesech jako pedogeneze (Dawson a kol. 1978), nebo metabolismus mikrobiálních společenstev (Yano a kol. 1998). Produkce DOC v lesní půdě závisí na půdním poměru C:N (např. Aitkenhead a kol. 2000), který je možné odhadnout na základě jeho vztahu s biochemickým složením listoví, zejména poměru lignin:dusík (Ollinger a kol. 2002; Aitkenhead-Peterson a kol. 2006). O funkci DON v lesní půdě je známo méně, produkce DON se jeví jako nezávislá na vzniku DOC (e.g. (McDowell a kol. 2004). Naše studie byla zaměřena na hledání vztahu mezi rozpustným organickým uhlíkem a dusíkem a obsahem chlorofylu v listoví dvou severoamerických jehličnanů – jedle balzámové a smrku červeného (Albrechtová a kol. 2008, Paper V). Obsah chlorofylu v listoví je dobře zavedeným indikátorem aktuálního fyziologického stavu rostlin (např. Larcher 2003) a je používán i pro sledování zdravotního stavu lesních porostů (e.g. Albrechtová a kol. 2001; Petkovšek a kol. 2008). Obsah chlorofylu v listoví je rovněž vhodným parametrem, který lze odhadovat pomocí odrazivosti listoví zaznamenané metodami dálkového průzkumu Země (Huber a kol. 2008; Moorthy a kol. 2008; Zhang a kol. 2008b). Na úrovni laboratorní spektroskopie (měření odrazivosti výhonů) byly nalezeny korelace mezi obsahem DOC a DON v lesní půdě (Obr. 5) a vybranými spektrálními indexy (TCARI/OSAVI, ANMB₆₅₀₋₇₂₅ and Chl NDI) pro jehlice jedle balzámové a smrku červeného (Obr. 6; Albrechtová a kol. 2008, Paper V.). Ačkoliv tyto vztahy jsou pravděpodobně nepřímé a ovlivněné mnoha biotickými i abiotickými faktory, naznačují možnost sledování obsahů rozpustných organických látek s obsahem dusíku a uhlíku pomocí dálkového průzkumu Země.



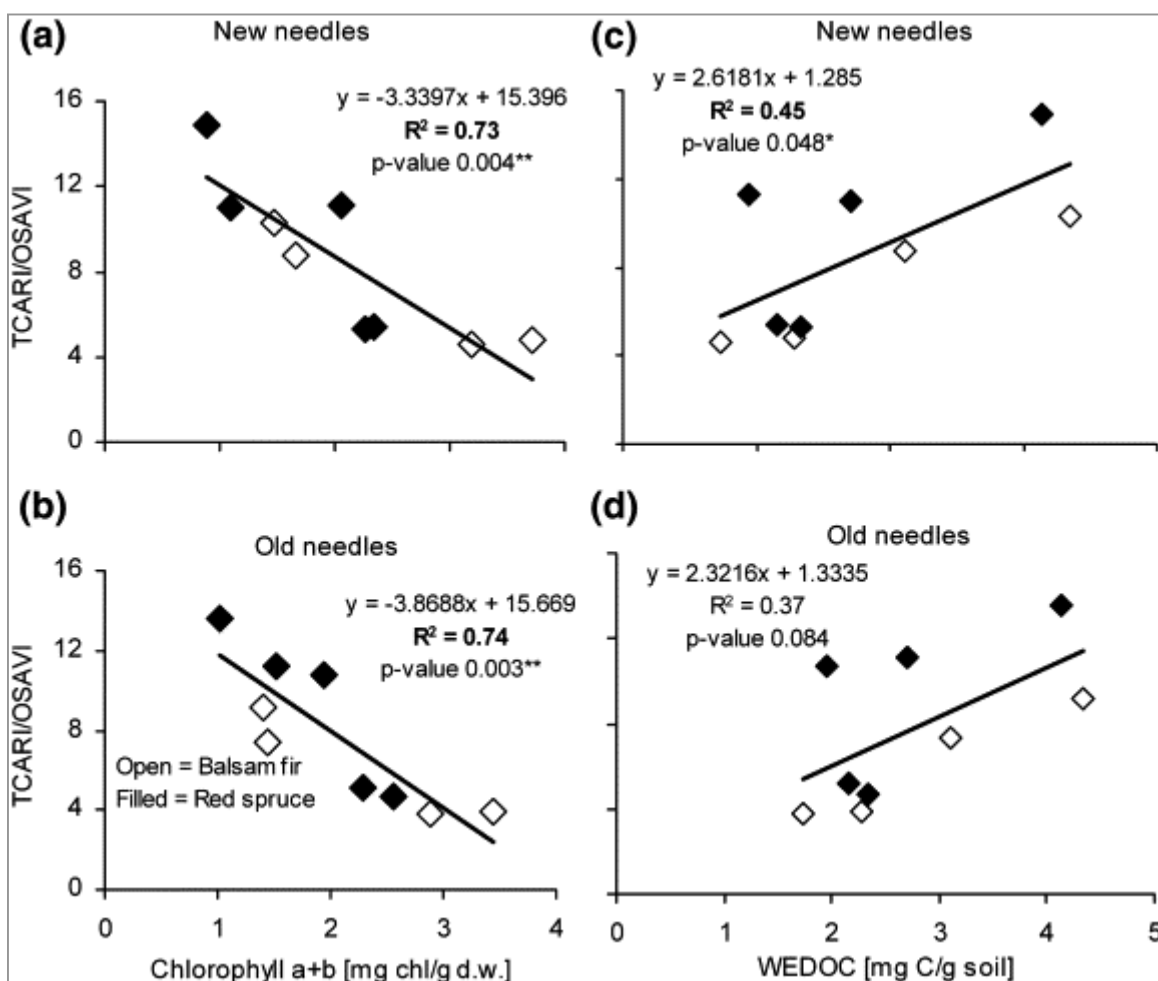
Obr. 5:



Obrázek 5: Vztah mezi obsahem vodou rozpustného organického uhlíku (WEDOC) a obsahem chlorofylu v různě starých jehlicích jedle balsámové (prázdné symboly) a smrku červeného (plné symboly). Statistická průkaznost zobrazených vztahů: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$. (Albrechtová a kol. 2008, Paper V.).

Obrázek 5: Vztahy mezi spektrálním indexem TCARI/OSAVI a (a, b) obsahem chlorofylu v jehlicích; a vztahy TCARI/OSAVI a obsahem vodou extrahovatelného rozpustného organického uhlíku v půdě (c, d) pro jedli balsámovou (prázdné symboly) a smrk červený (plné symboly). Vztahy jsou uvedeny pro různě staré jehlice. Statistická průkaznost zobrazených vztahů: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$. (Albrechtová a kol. 2008, Paper V.).

Obr. 6:





ZÁVĚRY:

Hlavním přínosem práce je kombinace dvou metodických přístupů pro zjištění vlivu faktorů prostředí na různých hierarchických úrovních rostlinné ekologické fyziologie, které jsou využitelné pro terénní studie za účelem porozumění koloběhu uhlíku v lesním ekosystému, s důrazem na jehličnanové porosty.

Kvantitativní anatomie reprezentuje první přístup na úrovni lisu. Geometrické parametry mezofylu odhadnuté pomocí nevychýlených stereologických metod se ukázaly jako citlivé indikátory ke sledování změn ve struktuře jehlic vyvolaných podmínkami prostředí jako např. atmosférické znečištění (simulace kyselého deště) nebo diferenciaci slunných a stinných jehlic. S využitím systematicky rovnoměrně náhodného výběru zkoumaných řezů jehlicemi byl potvrzen předpoklad, že střední část jehlice mohla být použita jako reprezentativní vzorek pro anatomické analýzy smrkových jehlic.

Laboratorní spektroskopie – měření odrazivosti výhonů v laboratorních podmínkách – reprezentuje druhý použitý přístup rostlinné ekologické fyziologie, který je důležitým krokem při kalibraci a ověřování vztahů mezi biochemickým složením listů a jeho optickými vlastnostmi. Tyto vztahy mohou být následně použity ke sledování fyziologického stavu lesních porostů, chemického složení listů či půdy pomocí metod dálkového průzkumu Země. V případě koruny smrku ztepilého se stejně staré jehlice z horní části koruny ukázaly být reprezentativním vzorkem pro odhad vybraných biochemických, anatomických a spektrálních parametrů jehlic bez ohledu na orientaci větví do světových stran. Vybrané spektrální indexy odvozené z odrazivosti jehlic ve vlnových délkách absorpčních maxim chlorofylu jsou potenciálně využitelné pro odhad obsahu rozpustného organického uhlíku a dusíku v lesní půdě.

Na základě vytyčených cílů a testovaných hypotéz byly vyvozeny následující závěry:

- 1. Tlusté ruční řezy čerstvými jehlicemi i jehlicemi uchovaných ve zmrazeném stavu se prokázaly jako vhodné k odhadu geometrických parametrů mezofylu s využitím metod konfokální mikroskopie a na designu založených nevychýlených stereologických metod (fakír a disektor).***
 - Vybrané stereologické metody, fakír a disektor, se prokázaly jako dostatečně citlivé pro kvantitativní popis změn ve struktuře mezofylu jehlic smrku ztepilého vyvolaných simulací kyselého deště.
 - Vybrané geometrické parametry mezofylu, objemový podíl mezibuněčných prostor a hustota vnitřního povrchu mezofylu, nebyly ovlivněny zmrazením jehlic. Při aplikaci stereologického měření těchto parametrů je třeba měření provádět ve střední části sérií optických řezů, nikoliv v těsné blízkosti rezné plochy.



2. ***Díky podrobné studii geometrických parametrů mezofylu pomocí stereologických metod bylo prokázáno, že zvýšená rychlost asimilace u slunných a stinných jehlic smrku ztepilého po osmiletém vystavení zvýšené koncentraci CO₂ není podmíněna změnami ve struktuře mezofylu.***
 - Objem jehlic, objemové podíly pletiv ani vnitřní povrch mezofylu se nelišil u jehlic stromů rostoucích v prostředí se zvýšenou koncentrací CO₂ a stromů v kontrolních podmínkách.
 - Po anatomické stránce byly slunné a stinné jehlice diferenciovány bez ohledu na okolní koncentraci CO₂, což naznačuje, že ozáření je prvotním faktorem ovlivňujícím vnitřní strukturu jehlic narozdíl od koncentrace CO₂.

3. ***Vybrané biochemické, anatomické a spektrální parametry jehlic smrku ztepilého se ukázaly jako nezávislé na orientaci větve do základních světových stran.***
 - Shodné obsahy fotosyntetických pigmentů, rozpustných fenolických látek, vnitřní struktura jehlic a jejich spektrální vlastnosti pro stejně staré jehlice odebrané z různě orientovaných větví prokázaly, že horní část osluněné koruny smrku ztepilého může být považována za reprezentativní vzorek pro studie využívající dálkový průzkum Země.

4. ***Byly popsány silné závislosti mezi obsahem chlorofylu v jehlicích jedle balzámové a smrku červeného a obsahem rozpustného organického uhlíku a dusíku v půdě. Tyto vztahy naznačují možnost odhadu obsahu půdního DOC a DON pomocí spektrálních indexů odvozených z odrazivosti jehlic ve vlnových délkách absorpčních maxim chlorofylu metodami dálkového průzkumu Země.***
 - Podstata vztahů mezi obsahem rozpustného organického uhlíku a dusíku v půdě zůstala neobjasněna. Tyto statisticky prokázané vztahy byly silnější pro mladé fyziologicky aktivní jehlice oproti starším ročníkům jehlic.
 - Vybrané spektrální indexy odvozené z odrazivosti jehlic ve vlnových délkách absorpčních maxim chlorofylu (ChINDI, TCARI/OSAVI and ANMB650–725) se jeví jako možný nástroj k odhadu obsahu půdního DOC a DON díky vztahu těchto půdních parametrů s obsahem chlorofylu v listoví. Z hlediska využití dálkového průzkumu Země jsou silnější vztahy mezi obsahem půdního DOC a DON a obsahem chlorofylu v listoví výhodné, jelikož mladší fyziologicky aktivnější jehlice tvoří většinu listové biomasy v horní osluněné části koruny a nejvíce přispívají k celkovému spektrálnímu signálu porostu.



CITOVANÁ LITERATURA

- Aalto T, Juurola E.** 2002. A three-dimensional model of CO₂ transport in airspaces and mesophyll cells of a silver birch leaf. *Plant Cell and Environment* **25**, 1399-1409.
- Aitkenhead JA, McDowell WH.** 2000. Soil C : N ratio as a predictor of annual riverine DOC flux at local and global scales. *Global Biogeochemical Cycles* **14**, 127-138.
- Aitkenhead-Peterson JA, Alexander JE, Albrechtová J, Kram P, Rock B, Cudlin P, Hruska J, Lhotáková Z, Huntley R, Oulehle F, Polak T, McDowell WH.** 2006. Linking foliar chemistry to forest floor solid and solution phase organic C and N in *Picea abies* [L.] karst stands in northern Bohemia. *Plant and Soil* **283**, 187-201.
- Albrechtová J, Janáček J, Lhotáková Z, Radochova B, Kubínová L.** 2007. Novel efficient methods for measuring mesophyll anatomical characteristics from fresh thick sections using stereology and confocal microscopy: application on acid rain-treated Norway spruce needles. *Journal of Experimental Botany* **58**, 1451-1461.
- Albrechtová J, Rock BN, Soukupová J, Entcheva P, Šolcová B, Polák T.** 2001. Biochemical, histochemical, structural and reflectance markers of damage in Norway spruce from Krušné hory Mts. Used for interpretation of remote sensing data. *Journal of Forest Science* **47**, 26-33.
- Albrechtová J, Seidl Z, Aitkenhead-Peterson J, Lhotáková Z, Rock BN, Alexander JE, Malenovský Z, McDowell WH.** 2008. Spectral analysis of coniferous foliage and possible links to soil chemistry: Are spectral chlorophyll indices related to forest floor dissolved organic C and N? *Science of The Total Environment* **404**, 424-432.
- Crous KY, Walters MB, Ellsworth DS.** 2008. Elevated CO₂ concentration affects leaf photosynthesis-nitrogen relationships in *Pinus taeda* over nine years in FACE. *Tree Physiology* **28**, 607-614.
- Dawson HJ, Ugolini FC, Hrutfiord BF, Zachara J.** 1978. Role of Soluble Organics in Soil Processes of A Podzol, Central Cascades, Washington. *Soil Science* **126**, 290-296.
- Eguchi N, 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 CO₂ concentrations
1. *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 CO₂ enrichment system in northern Japan. *Trees-Structure and Function* **22**, 437-447.
- Horler DNH, Barber J, Barringer AR.** 1980. Effects of heavy metals on the absorbance and reflectance spectra of plants. *International Journal of Remote Sensing* **1**, 121-136.
- Hrstka M, Urban O, Marek MV.** 2005. Long-term effect of elevated CO₂ on spatial differentiation of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase activity in Norway spruce canopy. *Photosynthetica* **43**, 211-216.
- Huber S, Kneubuhler M, Psomas A, Itten K, Zimmermann NE.** 2008. Estimating foliar biochemistry from hyperspectral data in mixed forest canopy. *Forest Ecology and Management* **256**, 491-501.
- Juurola E, Aalto T, Thum T, Vesala T, Hari P.** 2005. Temperature dependence of leaf-level CO₂ fixation: revising biochemical coefficients through analysis of leaf three-dimensional structure
1. *New Phytologist* **166**, 205-215.
- Kubínová L, Janáček J.** 1998. Estimating surface area by the isotropic fakir method from thick slices cut in an arbitrary direction
1. *Journal of Microscopy-Oxford* **191**, 201-211.
- Kubínová L, Janáček J.** 2001. Confocal microscopy and stereology: Estimating volume, number, surface area and length by virtual test probes applied to three-dimensional images
2. *Microscopy Research and Technique* **53**, 425-435.



- Kukkola E, Rautio P, Huttunen S.** 2005. Long-term symptoms due to metal and acid precipitation treatments in scots pine (*Pinus sylvestris*) needles in the subarctic. *Arctic Antarctic and Alpine Research* **37**, 68-74.
- Lhotáková Z, Albrechtová J, Janáček J, Kubínová L.** 2008. Advantages and pitfalls of using free-hand sections of frozen needles for three-dimensional analysis of mesophyll by stereology and confocal microscopy. *Journal of Microscopy-Oxford* **232**, 56-63.
- 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.
- Maier CA, Palmroth S, Ward E.** 2008. Short-term effects of fertilization on photosynthesis and leaf morphology of field-grown loblolly pine following long-term exposure to elevated CO₂ concentration. *Tree Physiology* **28**, 597-606.
- Malenovský Z, Martin E, Homolová L, Gastellu-Etchegorry JP, Zurita-Milla R, Schaepman ME, Pokorný R, Clevers JGPW, Cudlín P.** 2008. Influence of woody elements of a Norway spruce canopy on nadir reflectance simulated by the DART model at very high spatial resolution. *Remote Sensing of Environment* **112**, 1-18.
- Marek MV, Urban O, Šprtová M, Pokorný R, Rosová Z, Kulhavý J.** 2002. Photosynthetic assimilation of sun versus shade Norway spruce [*Picea abies* (L.) Karst] needles under the long-term impact of elevated CO₂ concentration. *Photosynthetica*, **40**, 259-267.
- Masuch G, Franz JT, Kicinski HG, Kettrup A.** 1992. Histological and Biochemical Differences of Slightly and Severely Injured Spruce Needles of 2 Stands in Northrhine Westphalia. *Environmental and Experimental Botany* **32**, 163-182.
- McDowell WH, Magill AH, itkenhead-Peterson JA, Aber JD, Merriam JL, Kaushal SS.** 2004. Effects of chronic nitrogen amendment on dissolved organic matter and inorganic nitrogen in soil solution. *Forest Ecology and Management* **196**, 29-41.
- McDowell WH.** 2003. Dissolved organic matter in soils - future directions and unanswered questions. *Geoderma* **113**, 179-186.
- Moorthy I, Miller JR, Noland TL.** 2008. Estimating chlorophyll concentration in conifer needles with hyperspectral data: An assessment at the needle and canopy level. *Remote Sensing of Environment* **112**, 2824-2838.
- Moss DM, Rock BN, Bogle AL, Bilkova J.** 1998. Anatomical evidence of the development of damage symptoms across a growing season in needles of red spruce from central New Hampshire. *Environmental and Experimental Botany* **39**, 247-262.
- Nakatani N, Kume A, Kobayashi T, Hirakawa T, Sakugawa H.** 2004. Needle morphology related to chemical contents in the needles of Japanese fir (*Abies firma*) trees subjected to acidic depositions at Mt. Oyama, eastern Japan. *Water Air and Soil Pollution* **152**, 97-110.
- Niinemets U, Lukjanova A, Turnbull MH, Sparrow AD.** 2007. Plasticity in mesophyll volume fraction modulates light-acclimation in needle photosynthesis in two pines. *Tree Physiology* **27**, 1137-1151.
- Oguchi R, Hikosaka K, Hirose T.** 2005. Leaf anatomy as a constraint for photosynthetic acclimation: differential responses in leaf anatomy to increasing growth irradiance among three deciduous trees
1. *Plant Cell and Environment* **28**, 916-927.
- Ollinger SV, Smith ML, Martin ME, Hallett RA, Goodale CL, Aber JD.** 2002. Regional variation in foliar chemistry and N cycling among forests of diverse history and composition. *Ecology* **83**, 339-355.
- Ollinger SV, Smith ML.** 2005. Net primary production and canopy nitrogen in a temperate forest landscape: An analysis using imaging spectroscopy, modeling and field data. *Ecosystems* **8**, 760-778.
- Pandey S, Kushwaha R.** 2005. Leaf anatomy and photosynthetic acclimation in *Valeriana jatamansi* L. grown under high and low irradiance
1. *Photosynthetica* **43**, 85-90.



- Petkovšek SAS, Batic F, Lasnik CR.** 2008. Norway spruce needles as bioindicator of air pollution in the area of influence of the Sostanj Thermal Power Plant, Slovenia. *Environmental Pollution* **151**, 287-291.
- Prat H.** 1948. Histo-Physiological Gradients and Plant Organogenesis. *Botanical Review* **14**, 603-643.
- Pritchard SG, Strand AE, McCormack ML, Davis MA, Oren R.** 2008. Mycorrhizal and rhizomorph dynamics in a loblolly pine forest during 5 years of free-air-CO₂-enrichment. *Global Change Biology* **14**, 1252-1264.
- Serrano L, Penuelas J, Ustin SL.** 2002. Remote sensing of nitrogen and lignin in Mediterranean vegetation from AVIRIS data: Decomposing biochemical from structural signals. *Remote Sensing of Environment* **81**, 355-364.
- Soukupová J, Rock BN, Albrechtová J.** 2001. Comparative study of two spruce species in a polluted mountainous region. *New Phytologist* **150**, 133-145.
- Turrell FM.** 1936. The area of the internal exposed surface of dicotyledon leaves. *American Journal of Botany* **23**, 255-264.
- Tzvetkova N, Hadjiivanova C.** 2006. Chemical composition and biochemical changes in needles of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) stands at different stages of decline in Bulgaria. *Trees-Structure and Function* **20**, 405-409.
- Urban O.** 2003. Physiological impacts of elevated CO₂ concentration ranging from molecular to whole plant responses. *Photosynthetica* **41**, 9-20.
- Ustin SL, Jacquemoud S, Govaerts Y.** 2001. Simulation of photon transport in a three-dimensional leaf: implications for photosynthesis
1. *Plant Cell and Environment* **24**, 1095-1103.
- Viskari EL, Hohopainen T, Karenlampi L.** 2000. Responses of spruce seedlings (*Picea abies*) to exhaust gas under laboratory conditions - II - ultrastructural changes and stomatal behaviour. *Environmental Pollution* **107**, 99-107.
- Yano Y, McDowell WH, Kinner NE.** 1998. Quantification of biodegradable dissolved organic carbon in soil solution with flow-through bioreactors. *Soil Science Society of America Journal* **62**, 1556-1564.
- Zhang YB, Duan BL, Qiao YZ, Wang KY, Korpelainen H, Li CY.** 2008a. Leaf photosynthesis of *Betula albosinensis* seedlings as affected by elevated CO₂ and planting density. *Forest Ecology and Management* **255**, 1937-1944.
- Zhang YQ, Chen JM, John R, Miller JR, Noland TL. Unpublished,** Retrieving chlorophyll content in conifer needles from hyperspectral measurements. unpublished manuscript submitted to Canadian Journal of Remote sensing. Manuscript kindly provided by the first author.
- Zhang YQ, Chen JM, Miller JR, Noland TL.** 2008b. Leaf chlorophyll content retrieval from airborne hyperspectral remote sensing imagery. *Remote Sensing of Environment* **112**, 3234-3247.
- Zwieniecki MA, Stone HA, Leigh A, Boyce CK, Holbrook NM.** 2006. Hydraulic design of pine needles: one-dimensional optimization for single-vein leaves
1. *Plant Cell and Environment* **29**, 803-809.



CURRICULUM VITAE

Mgr. Zuzana Lhotáková

Narozena: 13. září 1979, Praha, Česká Republika

Adresa: Katedra fyziologie rostlin, Přírodovědecká fakulta
Univerzita Karlova v Praze
Viničná 5
128 44, Praha 2
Tel: +420 221 951 694, Fax: +420 221 951 704
E-mail: zuza.lhotak@seznam.cz

Vzdělání:

1991 – 1998 Gymnázium Ústavní, Praha
1998 maturitní zkouška

1998 – 2004 Univerzita Karlova v Praze, Přírodovědecká fakulta, Katedra fyziologie rostlin
2004 titul Mgr.
Téma diplomové práce: „Heterogenita vybraných fyziologických a strukturálních parametrů jehlic smrku ztepilého v rámci koruny stromu a využití těchto parametrů při odhadu aktuálního fyziologického stavu stromů“.

2004 - Univerzita Karlova v Praze, Přírodovědecká fakulta, Katedra fyziologie rostlin
Téma dizertační práce: „Study Of Coniferous Needles In Relation To Environmental Factors Using Approaches Of Quantitative Anatomy And Laboratory Spectroscopy“

Pracovní zkušenosti:

2001 - tým Doc. Albrechtové (Laboratoř ekofyziologické a vývojové anatomie),
terénní odběry, biochemické, anatomické a spektrální analýzy jehlic
2005 měsíční pobyt na University of New Hampshire, Department of Natural
Resources v laboratoři prof. W.H. McDowella
2005 - zaměstnána na Katedře fyziologie rostlin Přírodovědecké fakulty Univerzity
Karlovy v Praze jako vědecký pracovník
2005 - zaměstnána na Oddělení biomatematiky Fyziologického ústavu Akademie věd
ČR, v.v.i. jako vědecký pracovník

Pedagogická činnost:

2005 – 2008 Praktická cvičení k předmětu Anatomie a morfologie rostlin
2005 – 2007 Praktická cvičení v kurzu „Získání a zpracování obrazu v mikroskopii“
pořádaném Československou mikroskopickou společností
2007 Praktická cvičení k předmětu Kvantitativní anatomie rostlin
2007 – 2008 Semináře pro učitele a studenty pilotních středních škol projektu GLOBE

Školení a konzultace odborných prací

Konzultace diplomových prací: Marianna Dobisová (2005), Zdeněk Seidl (2006)
Konzultace bakalářských prací: Eliška Hlízová (2008)
Školení bakalářských prací: Zuzana Kubínová (2008)



Další vědecké aktivity:

Členství ve vědeckých organizacích:

2007 – 2008 členství v International Society for Stereology

Vybrané odborné semináře:

12. – 16. 11. 2007 Získání a zpracování obrazu v mikroskopii

Spoluúčast na řešení grantových projektů:

2003 – 2006 NSF –MŠMT Kontakt (ME658) „Vztah mezi chemickým složením povrchových vod, půd a listoví podle imisního gradientu v ČR“

2005 - GA AV (IAA600110507) „Nové metody trojrozměrné analýzy anatomické stavby jehlic smrku ztepilého s využitím stereologie, analýzy obrazu a dvoufotonové mikroskopie“

2006 - NSF, GLOBE, 2006-2009, (GEO-0627916) “Exploring Ecosystems & Atmosphere in the K-12 Classroom: Integrate NASA Carbon Cycle Science with GLOBE“, společný projekt s University of New Hampshire, CRSC, USA (hlavní řešitel - Scott Ollinger, UNH, U.S., řešitel v ČR Doc. Jana Albrechtová)



PUBLIKAČNÍ ČINNOST

Články v impaktovaných odborných časopisech:

Aitkenhead-Peterson JA, Alexander JE, Albrechtová J, Krám P, Rock B, Cudlín P, Hruška J, **Lhotáková Z**, Huntley R, Oulehle F, Polák T, McDowell WH. **2006**. Linking foliar chemistry to forest floor solid and solution phase organic C and N in *Picea abies* [L.] karst stands in northern Bohemia. *Plant and Soil* 283, 187-201.

Malenovský Z, Albrechtová J, **Lhotáková Z**, Zurita-Milla R, Clevers JGPW, Schaepman ME, Cudlín P. **2006**. Applicability of the PROSPECT model for Norway spruce needles. *International Journal of Remote Sensing* 27, 5315-5340.

*Albrechtová J, Janáček J, **Lhotáková Z**, Radochová B, Kubínová L. **2007**. Novel efficient methods for measuring mesophyll anatomical characteristics from fresh thick sections using stereology and confocal microscopy: application on acid rain-treated Norway spruce needles. *Journal of Experimental Botany* 58, 1451-1461.

***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.

***Lhotáková Z**, Albrechtová J, Janáček J, Kubínová L. **2008**. Advantages and pitfalls of using free-hand sections of frozen needles for three-dimensional analysis of mesophyll by stereology and confocal microscopy. *Journal of Microscopy-Oxford* 232, 56-63.

*Albrechtová J, Seidl Z, Aitkenhead-Peterson JA, **Lhotáková Z**, Rock BN, Alexander JE, Malenovský Z, McDowell WH. **2008** Spectral analysis of coniferous foliage and possible links to soil chemistry: Are spectral chlorophyll indices related to forest floor dissolved organic C and N? *Science of the Total Environment* 404, 424-432.

***Lhotáková Z**, Urban O, Dubánková M, Cvikrová M, Tomášková I, Kubínová L, Zvára K, Marek MV and Albrechtová J. The impact of long-term CO₂ enrichment on sun and shade needles of Norway spruce: photosynthetic performance, needle anatomy and phenolic compounds, manuskript zaslaný k publikaci do *Global Change Biology*

Článek v neimpaktovaném odborném časopise:

Malenovský Z, Ufer C, **Lhotáková Z**, Clevers JGPW, Schaepman ME, Albrechtová J, Cudlín P. **2006** A new hyperspectral index for chlorophyll estimation of a forest canopy: Area under curve normalised to maximal band depth between 650-725 nm. *EARSel* (European Association of Remote Sensing Laboratories) 5(2): 161-172.

http://las.physik.uni-oldenburg.de/eProceedings/vol05_2/05_2_malenovsky1.html

* Publikace je součástí doktorské práce



Přednášky:

Lhotáková Z, Albrechtová J, Janáček J, Kubínová L. **2006** Application of confocal microscopy and stereological methods to measuring mesophyll geometrical characteristics of fresh Norway spruce needles: method adjustment. S4G (Stereology, Spatial Statistics and Stochastic Geometry), Praha, Česká republika.

Lhotáková Z, Albrechtová J, Janáček J, Kubínová L. **2007** Are thick hand-cut sections of frozen needles suitable for stereological estimation of mesophyll geometrical characteristics? The 12th International Congress for Stereology, Saint Etienne, Francie. **Cena za nejlepší prezentaci mladých vědeckých pracovníků.**

Albrechtová J, **Lhotáková Z**, Janáček J, Kubínová L. **2007** Stereologická analýza anatomie jehlic smrku ztepilého pod vlivem faktorů prostředí. Vliv abiotických a biotických stresorů na vlastnosti rostlin. Výzkumný ústav rostlinné výroby v.v.i. Praha Ruzyně, Praha, Česká republika.

Lhotáková Z. 2008 Detection of changes in mesophyll structure using confocal microscopy and stereology: application on Norway spruce needles treated with elevated CO₂. Conference of PhD students Fresh Insights in Plant Affairs, Nové Hrady, Česká republika. **Cena za druhou nejlepší prezentaci mladých vědeckých pracovníků.**

Vybrané plakátové prezentace:

Lhotáková Z, Albrechtová J, Rock BN, Soukupová J, Stejskalová A, Šolcová B, Polák T. **2005** Development of actual physiological status of Norway spruce trees in Krušné hory along the pollution gradient between 1998 and 2002. Acid Rain 2005, Praha, Česká republika.

Lhotáková Z, Albrechtová J, Kubínová L. **2006** Anatomical study of Norway spruce needles exposed to ambient and elevated CO₂ – introduction of confocal stereology. 15 years of EU supported ecophysiological research in the Czech Republic, Olomouc, Česká republika.

Lhotáková Z, Albrechtová J, Seidl Z, Kubínová L, Aitkenhead-Peterson J, Rock BN. **2007** Vliv struktury mezofylu na odrazivost jehlic jedle balzámové (*Abies balsamea* L. Mill). XII Dny rostlinné fyziologie / Konference experimentální biologie rostlin, Olomouc, Česká republika.

Lhotáková Z, Albrechtová J, Urban O, Kubínová L, Janáček J. **2008** Impact of elevated CO₂ on Norway spruce needle structure – anatomical study based on confocal microscopy and stereology., FESPB 2008, Tampere, Finsko