

Listy



Botanická
zahrada

Univerzita Palackého v Olomouci
Přírodovědecká fakulta

srovnání anatomické a morfologické stavby slunných a zastíněných listů u listnatých stromů a keřů

teoretický úvod

List představuje nejplastičtější rostlinný orgán - působení vnějších podmínek prostředí (především světla) vyvolává u listů výraznější adaptační změny než u jiných rostlinných orgánů. Vedle světla ovlivňují anatomicko-morfologické utváření listů i další vlivy prostředí, např. teplota, vlhkost, pořadí inzerce listů na větvích - kompetice listů o vodu, živiny aj.

Listy vyšších inzerce jsou vystaveny intenzivnějším záření a mají proto větší množství xeromorfních znaků než listy nižších inzerce (Zalenského zákon, 1904).

Heliofilní (slunné) listy na obvodu koruny (především z JV, J až JZ strany), mají na rozdíl od **sciofilních (stinných)** listů uvnitř koruny, větší tloušťku listu (především vyšší buňky palisádového parenchymu a také více vrstev palisádového parenchymu), delší a rozvětvenější žilnatinu, více sklerenchymatických pletiv, menší epidermální buňky, silnější kutikulu a epidermis, větší počet chloroplastů, ale nižší obsah chlorofylu na jednotku sušiny, menší objem intercelulár, větší hustotu stomat, menší délku stomat. Heliofilní listy mají často také menší plochu než listy sciofilní.

charakteristika kvantitativních znaků

Všechny uvedené znaky jsou znaky kvantitativní, které lze stručně charakterizovat takto:

- Mají kontinuální proměnlivost (= variabilitu), nejčastěji podle Gaussovy křivky (tzv. normální rozdělení četností).
- Jsou vedeny mnoha geny malého účinku (polygeny).
- Jsou ovlivnitelné prostředím.

Ke zpracování naměřených hodnot kvantitativních znaků slouží biostatistika (biometrika). V základním botanickém praktiku je možno srovnávat např. listové plochy, tloušťku listů, délku a hustotu stomat a naměřená data vyhodnotit jednoduchými statistickými metodami.

Úkol 1: Měření plochy listové čepele,
srovnání plochy heliofilních a sciofilních listů

postup

— **Sběr materiálu:**

k odběru listů vybíráme vhodné stromy nebo keře nižšího věku (bezpečnost při odběru listů), s hustou korunou. Odebereme 20 listů z obvodu koruny osluněné strany stromu a 20 listů z vnitřní části koruny. K přesnějším analýzám je nutno stanovit počet odebraných listů (reprezentativní vzorek) pomocí biostatistických metod. Obecně platí, že čím jsou zkoumané znaky (např. listová plocha) proměnlivější, tím větší počet vzorků musíme odebrat a proměřit.

— **Měření plochy listů:**

k měření plochy listů využijeme rychlou, jednoduchou a poměrně přesnou bodovou (zásahovou) metodu (obr. 1). Nejprve si připravíme systém bodů na průsvitnou fólii používanou k projekci na Meotaru. Pod fólii podložíme milimetrový papír a nesmazatelnou fixou vytvoříme síť bodů 0,5 cm x 0,5 cm. List překryjeme fólií a spočítáme zásahy. Zásahy na okraji listové čepele počítáme pouze každý druhý nebo jenom zásahy na polovině obvodu čepele. Chceme-li dosáhnout přesnějších výsledků proměříme každý list 3x, vždy pootočený zhruba o 30°, a vypočteme aritmetický průměr. Každý zásah představuje 0,25 cm² listové plochy. Výslednou plochu listu vypočteme jako celkový počet zásahů x 0,25.

statistické vyhodnocení naměřených hodnot

Pro každý měřený soubor vypočteme základní statistické charakteristiky.

Aritmetický průměr:

$$\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n} \quad \text{[v měřených jednotkách]}$$

Míry variability:

vyjadřují proměnlivost (variabilitu) měřených znaků.

Variační rozpětí:

rozdíl mezi maximální a minimální hodnotou souboru. Pokud se v měřeném souboru vyskytuje extrémní hodnota odlišná od ostatních hodnot (odlehle pozorování) je hodnota variačního rozpětí velmi zkreslující.

$$R = x_{\max} - x_{\min} \quad \text{[v měřených jednotkách]}$$

Směrodatná odchylka:

charakterizuje variabilitu souboru v původních měrných jednotkách. V případě normálního rozdělení četností hodnot souboru se v intervalu aritmetický průměr ± 1 směrodatná odchylka nachází přibližně 68 % měřených vzorků.

$$s_x = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}} \quad \text{[v měřených jednotkách]}$$

Variační koeficient (relativní směrodatná odchylka):
umožňuje porovnávat variabilitu souborů.

$$V_x = \frac{s_x}{\bar{x}} \cdot 100$$

Ilustrační modelový příklad na výpočet základních statistických charakteristik. Bodovou metodou byla proměřena plocha deseti listových čepelí dubu červeného. Vypočítejte základní statistické charakteristiky.

n	x_i [cm ²]	$x_i - \bar{x}$ [cm ²]	$(x_i - \bar{x})^2$ [cm ²]
1.	101	-3	9
2.	90	-14	196
3.	110	6	36
4.	108	4	16
5.	98	-6	36
6.	113	9	81
7.	102	-2	4
8.	93	-11	121
9.	118	14	196
10.	107	3	9
	Σ1040		Σ704

$$\bar{x} = \frac{1040}{10} = 104 \quad [\text{cm}^2]$$

$$s_x = \sqrt{\frac{704}{9}} = 8,8 \quad [\text{cm}^2]$$

$$R = 118 - 90 = 28 \quad [\text{cm}^2]$$

$$V_x = \frac{8,8}{104} \cdot 100 = 8,46 \quad [\%]$$

Aritmetický průměr a variační koeficient umožňují pouze orientační porovnání souborů. Chceme-li s jistou pravděpodobností (nejčastěji 95 %) prokázat, zda má sluneční záření vliv na velikost listové čepelí, a zda tedy existuje statisticky průkazný (signifikantní) rozdíl mezi aritmetickými průměry měřených souborů, musíme využít testu průkaznosti rozdílnosti aritmetických průměrů (objasnění teoretických principů testování hypotéz lze nalézt v odborné literatuře).

zjednodušený postup při testování

1. Stanovíme nulovou hypotézu H_0 :

neexistuje signifikantní rozdíl mezi testovanými průměry (sluneční záření nemá vliv na velikost listové plochy, zjištěné rozdílné hodnoty aritmetických průměrů testovaných souborů jsou statisticky neprůkazné, tedy náhodné). V případě zamítnutí H_0 přijímáme alternativní hypotézu H_1 : zjištěné rozdíly jsou statisticky průkazné.

2. Vypočteme testové kritérium podle vzorce:

(zjednodušený matematický zápis). Při použití tohoto vzorce je nutný stejný rozsah souborů.

$$t_{(2n-2)} = |\bar{x}_A - \bar{x}_B| \cdot \sqrt{\frac{n \cdot (n-1)}{\sum (x_A - \bar{x}_A)^2 + \sum (x_B - \bar{x}_B)^2}}$$

3. Test vyhodnotíme:

Vypočtené testové kritérium porovnáme s tabulkovou hodnotou pro stanovenou pravděpodobnost (95%, tzn., že vyhledáváme hodnotu na hladině významnosti $P = 0,05$) a pro odpovídající počet stupňů volnosti ($2n - 2$).

t vypočítaná < t tabulková.....přijímáme H_0

t vypočítaná > t tabulková.....zamítáme H_0 a přijímáme H_1 .

Stupeň volnosti	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
Hodnota t-rozdělení	2,23	2,20	2,18	2,16	2,14	2,13	2,12	2,11	2,10	2,09	2,09	2,08	2,07

Stupeň volnosti	23	24	25	26	27	28	29	30	40	50	60	100	∞
Hodnota t-rozdělení	2,07	2,06	2,06	2,06	2,05	2,05	2,05	2,04	2,02	2,01	2,00	1,98	1,96

Tabulka kritických hodnot t-rozdělení na hladině významnosti $P = 0,05$

Ilustrační modelový příklad na testování průkaznosti rozdílů aritmetických průměrů mezi dvěma soubory. Z koruny stromu slivoně meruňky bylo odebráno 10 heliofilních a 10 sciofilních listů. Bodovou metodou byly proměřeny plochy listových čepelí. Existuje mezi aritmetickými průměry testovaných souborů statisticky průkazný rozdíl?

n	Plocha heliofilního listu [cm ²]	Plocha sciofilního listu [cm ²]	$(x_A - \bar{x}_A)^2$	$(x_B - \bar{x}_B)^2$
1.	40	51	49	1
2.	48	48	1	4
3.	54	52	49	4
4.	42	58	25	64
5.	46	43	1	49
6.	47	45	0	25
7.	50	46	9	16
8.	53	53	36	9
9.	45	56	4	36
10.	45	48	4	4
	$\bar{x}=47$	$\bar{x}=50$	$\Sigma 158$	$\Sigma 212$

$$t_{18} = |47 - 50| \cdot \sqrt{\frac{10 \cdot 9}{158 + 212}} = 1,48$$

1,48 (vypočítaná hodnota) < 2,10 (tabulková hodnota, P = 0,05; stupeň volnosti = 18) přijímáme H₀ (s 95% pravděpodobností) mezi aritmetickými průměry testovaných souborů neexistuje statisticky průkazný rozdíl (rozdíl je náhodný). V našem případě tedy poloha listu v koruně stromu (vliv slunečního záření) nemá vliv na plochu listové čepele.

Je třeba zdůraznit, že výše uvedený příklad je pouze ilustrační - pro zjednodušení předpokládáme nezávislost testovaných souborů (jistý stupeň závislosti je však daný tím, že všechny listy koruny jsou napojeny na společný kořenový systém), rovněž rozsah výběrových souborů je velmi malý, a tedy nereprezentativní, nejsou exaktně ověřeny podmínky pro použití t-testu aj.

Úkol 2: Měření délky a hustoty stomat, srovnání délky a hustoty stomat heliofilních a sciofilních listů

teoretický úvod

Průduchové štěrby vytvářejí v epidermis multiperforátní septum, jehož plocha tvoří jen asi 1% povrchu listové čepele.

Základní kvantitativní znaky stomat jsou **délka stomat** (nejčastěji 10 - 60 μm) a **hustota stomat** (nejčastěji 50 - 300 stomat /mm²). Tyto znaky jsou ovlivněny podmínkami prostředí. U zastíněných listů (sciofilní listy) bývají stomata delší a méně četná než u slunných listů (heliofilní listy). Délka stomat je u některých druhů rostlin v pozitivní korelaci se stupněm ploidie.

postup

— **Sběr materiálu:**

z koruny vybrané dřeviny odebereme 3 listy ze slunné strany obvodu koruny a 3 listy ze středu koruny (pro školní účely je tento počet dostačující). Přibližně ve středu listu, ze spodní epidermis připravíme otiskový nebo nativní preparát (u listů s hrubou epidermis).

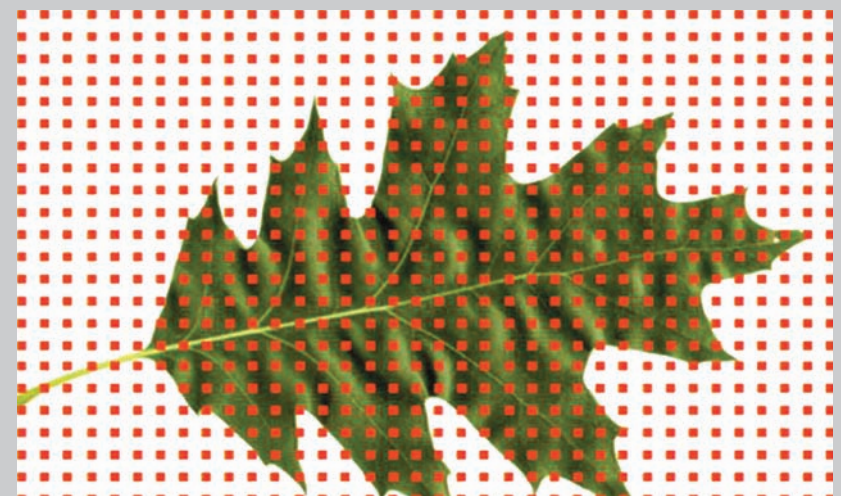
— **Měření délky stomat:**

k měření délky stomat použijeme okulárový mikrometr - skleněná kruhovitá destička s měřítkem, která se vkládá do okuláru (měřítkem dolů). Měřením okulárovým mikrometrem dostáváme velikost objektu v dílcích okulárového měřítka - při různých zvětšeních, tj. při použití různých objektivů, naměříme různou velikost objektu (různý počet dílků). Ke zjištění skutečné velikosti objektu (délky stomat) musíme vypočítat mikrometrický koeficient, který udává, kolika mikrometrům odpovídá jeden dílek okulárového měřítka při daném zvětšení. Použijeme objektivový mikrometr - podložní sklíčko s měřítkem 1 mm rozděleným na 100 dílků (1 dílek = 0,01 mm = 10 μm). Měřítka okulárového mikrometru umístíme tak, aby bylo rovnoběžné s měřítkem objektivového mikrometru. Vyhledáme překrývající se rysky v levé a pravé části zorného pole. V tomto úseku spočítáme dílky okulárového a objektivového měřítka a vypočteme mikrometrický koeficient:

$k = \text{počet dílků objektivového mikrometru} \times 10 / \text{počet dílků okulárového mikrometru}$.

1

obr. 1 Příklad měření plochy listové čepele dubu červeného (*Quercus rubra*) - 308 (počet zásahů) x 0,25 = 77 cm². Částečné zásahy na hranici okraje listu počítáme pouze na jedné polovině čepele nebo každý druhý zásah.



Skutečnou velikost měřeného objektu (délku stomat) vypočteme tak, že naměřený počet dílků okulárovým mikrometrem vynásobíme mikrometrickým koeficientem.

Na každém preparátu proměříme 10 stomat, celkem tedy získáme 30 hodnot pro každý soubor.

— **Měření hustoty stomat (počet stomat/mm²):**

k měření hustoty stomat využijeme preparáty připravené pro měření délky stomat. Do okuláru vložíme kruhovou destičku s vyrytým čtvercem. Tento čtverec překryje náhodně část preparátu. Ve čtverci spočítáme stomata, stomata na obvodu zasahující mimo čtverec počítáme pouze na dvou stranách. Objektovým mikrometrem změříme stranu čtverce, vypočítáme plochu (μm²) a trojčlenkou přepočteme počet stomat na 1 mm². Na každém preparátu provedeme 5 měření tak, že čtverec přesuneme na jiné místo preparátu. Celkem tedy získáme 15 naměřených hodnot pro každý soubor.

— **Statistické vyhodnocení:**
postupujeme jako u úkolu 1.

Úkol 3: Měření tloušťky listu, srovnání tloušťky listu
a utváření mezofylu u heliofilních a sciofilních listů

postup

— **Sběr materiálu:**

z vybrané dřeviny odebereme po třech heliofilních a sciofilních listech. Z každého listu vyřízneme 3 malé čtverečky (v bazální, střední a apikální části listové čepele), které fixujeme v glycerolalkoholu.

— **Zhotovení preparátu:**

čtvereček upevníme do podélně rozříznuté bezové duše, z každého čtverečku zhotovíme několik tenkých příčných řezů, které přeneseme do kapky glycerolu na podložní sklíčko. Při menším zvětšení vybereme nejlepší řezy vhodné k měření, u každého čtverečku provedeme alespoň dvě měření, celkem tedy získáme 18 hodnot pro každý soubor. Preparát můžeme dobarvit safraninem (zvýraznění kontur epidermis, cévních svazků a sklerenchymu).

— **Pozorování pod mikroskopem:**

dřeviny mají nejčastěji bifaciální typ listu (mezofyl je rozlišen na palisádový a houbový parenchym). Rozdíly jsou patrné především v utváření palisádového parenchymu, který je u heliofilních listů vyšší (často dvou nebo vícevrstevný) než u sciofilních listů (obr.2 a obr.3).

— **Měření:**

k měření použijeme okulárový mikrometr. Měříme vzdálenost mezi vnějšími stěnami svrchní a spodní epidermis (tloušťka listu).

Při měření postupujeme jako při měření délky stomat (úkol 2).

— **Statistické vyhodnocení:**

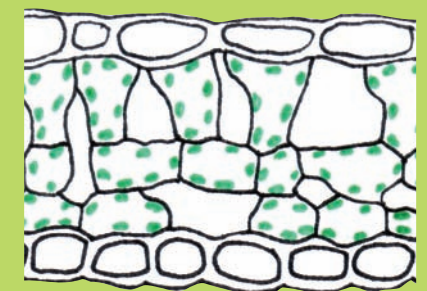
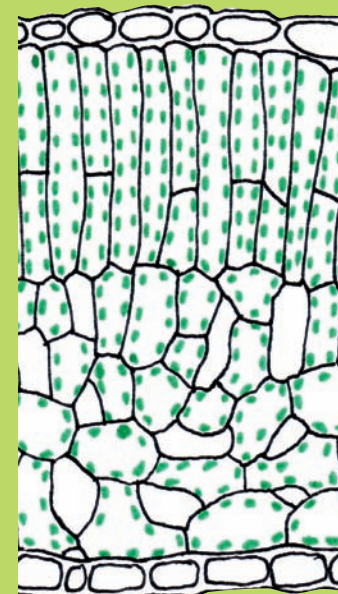
postupujeme jako u úkolu 1.

obr. 2 anatomická stavba
osluněného listu

2

obr. 3 anatomická stavba
zastíněného listu.

3



didaktické poznámky

Popsané úkoly jsou zaměřeny na měření a vyhodnocování kvantitativních anatomických a morfologických znaků listů. Úkoly jsou koncipovány tak, aby byly snadno realizovatelné v podmínkách středních škol a biologických kroužků s minimálním vybavením. I v případě, že studenti mají k dispozici analýzu obrazu k měření kvantitativních znaků a některý z mnoha statistických programů, je vhodné si na jednoduchých modelových příkladech samostatně vyzkoušet některé metody měření ploch, délek a počítání struktur, stejně jako vyhodnocení naměřených hodnot jednoduchými statistickými metodami.

Masivní využívání výpočetní techniky u studentů, kteří teprve pronikají do základů kvantitativní anatomie a morfologie rostlin, může vést k tzv. sekundární ngramotnosti, kdy student dosáhne správného výsledku, neví ale co a jak měřil a počítal (to za něho udělal počítač) a nedovede vypočtené výsledky správně interpretovat.

Vzhledem k tomu, že měření kvantitativních znaků je časově poměrně náročné, je výhodné, když každý student proměří vlastní soubor - získáme tak více naměřených hodnot ke statistickému zpracování.

Při vyhodnocování kvantitativních znaků se neobejdeme bez základů statistiky. Popsané úkoly tedy využívají mezipředmětové vztahy s matematikou. Jsou proto vhodné pro studenty vyšších ročníků přírodovědných gymnázií, kteří již absolvovali základy statistiky v rámci předmětu matematika, popř. pro studenty prvních ročníků vysokých škol.

základní literatura

- DUFEK J. (1992): Biometrika. - VŠZ, Brno.
NOVÁČEK F. (1982): Praktikum z rostlinné organologie s přehledem zástupců rostlinné říše. - Univerzita Palackého, Olomouc.
NOVÁČEK F. (1982): Praktikum z rostlinné cytologie a histologie se základy mikroskopické techniky. - Univerzita Palackého, Olomouc.
PAZOUREK J. (1975): Pracujeme s mikroskopem. - SNTL, Praha.
PAZOUREK J. (1963): Studium listové epidermis mikroreliéfovou metodou. - Preslia, Praha, 35: 210 - 216.
PAZOURKOVÁ Z. (1986): Botanická mikrotechnika. - Univerzita Karlova, Praha.
SLAVÍKOVÁ Z. (2002): Morfologie rostlin. - Univerzita Karlova, Praha.
STRASBURGER E., NOLL F., SCHENK H. et SCHIMPER A. F. W. (1991): Lehrbuch der Botanik für Hochschulen. - Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, Jena, New York.

- STŘÍHAVKOVÁ H. (1978): Praktikum z botaniky. - SPN, Praha.
URBAN Z. et al. (1978): Sběr, preparace a konzervace rostlinného materiálu. - SPN, Praha.
VINTER V. (2008): Rostliny pod mikroskopem (Základy anatomie cévnatých rostlin). - Vydavatelství UP, Olomouc.
VOTRUBOVÁ O. (2001): Anatomie rostlin. - Univerzita Karlova, Karolinum, Praha.
VOTRUBOVÁ O., OPATRná J. et BENEŠ K. (2001): Základní slovník rostlinné anatomie I - VI. - Živa, Academia, (1 - 6), Praha.





Botanická
zahrada

Univerzita Palackého v Olomouci
Přírodovědecká fakulta



Je situována v centru města ve Smetanových sadech,
v sousedství sbírkových skleníků
Výstaviště Flora Olomouc a.s.
Vchod je z ulice U botanické zahrady.

Adresa pro korespondenci:

Botanická zahrada Přírodovědecké fakulty
Univerzity Palackého v Olomouci
Třída Svobody 26, 771 46 Olomouc
tel.: 585 413 705, 585 634 820, 604 510 470,
773 690 498, 773 690 499

E-mail: garden@upol.cz

http:://botany.upol.cz

Otevřeno:

mimo pondělí denně, včetně víkendů a svátků
duben, září, říjen 10 - 16 hod.
květen - srpen 10 - 18 hod.
návštěvu mimo uvedenou dobu lze dohodnout
telefonicky nebo prostřednictvím e-mailu.

Autor textu: PaedDr. Ing. Vladimír Vinter, Dr.
Katedra botaniky PiF Univerzity Palackého v Olomouci

Autor fotografií: PaedDr. Ing. Vladimír Vinter, Dr.

Název: Srovnání anatomické a morfologické stavby
slunných a zastíněných listů u listnatých stromů a keřů

Výkonný redaktor: Prof. RNDr. Tomáš Opatrný, Dr.

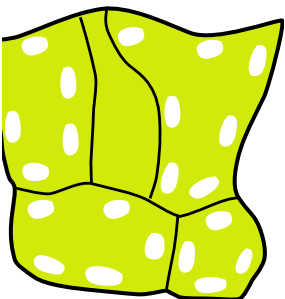
Grafický design: MgA. Tamara Schreiberová
SPHERA, Na Brance 206, 267 12 Loděnice

Vydala: Univerzita Palackého v Olomouci
Křížkovského 8, 771 47 Olomouc
www.upol.cz/vup

Tisk: Tiskárna TWIN s.r.o.
Holická 140/70, 779 00 Olomouc – Holice

Olomouc, 2008

1. vydání
ISBN 978-80-244-2186-5
NEPRODEJNÉ



Vydáno za finanční podpory Statutárního města Olomouce
a s podporou grantu MŠMT č. 2E 08021 NFS.