

ROZKVETLÉ JEHLIČÍ

Anna Marie Mikulecká, Lenka Sloupová, Jana Pokorná, Sylva Neradová

Martin Starý, Pavel Teplý

a.m.mikulecka@gmail.com

ÚVOD

TLC chromatografie je metoda, kterou jsme identifikovali rozdílné složení celkového souboru barviv v jehličích. Mezi nahosemenné rostliny patří i jinan dvoulaločný (*Ginkgo biloba*, L.), který je morfologicky podobný krytosemenným rostlinám a stejně jako jejich zástupce javor mléč (*Acer platanooides*, L.) nám umožnil pozorovat rozdíly způsobené odlišným vývojem.

CÍLE

- Určení společných základních barviv pro nahosemenné rostliny
- Srovnání počtu barviv u jinanu dvoulaločného s ostatními nahosemennými rostlinami (*Ginkgo biloba*, L.)
- Výpočet retenčních faktorů (Rf) pro určení identity barviva
- Odlišení modřínu opadavého (*Larix decidua*, Mill.) pomocí obsahu jednotlivých barviv v jehličích

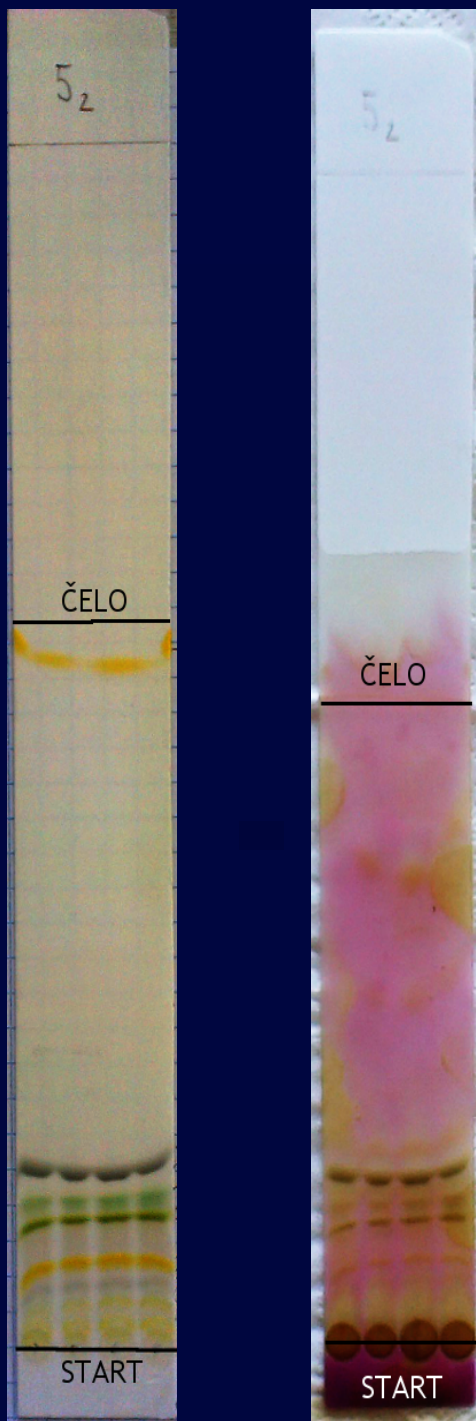
VÝSLEDKY

- Chromatografie a manganistanová lázeň potvrdila univerzální výskyt fyofytinu, chlorofylů A a B a luteinu
- Jinan dvoulaločný, na rozdíl od ostatních nahosemenných rostlin, postrádá barvivo violaxanthin
- Retenční faktory u nahosemenných rostlin nejsou dostatečně přesným indikátorem pro odlišení rodů na základě obsahu barviv
- Údaje ze spektrofotometru ukazují na snížené množství karotenoidů v modřínu opadavém

RETENČNÍ FAKTOR

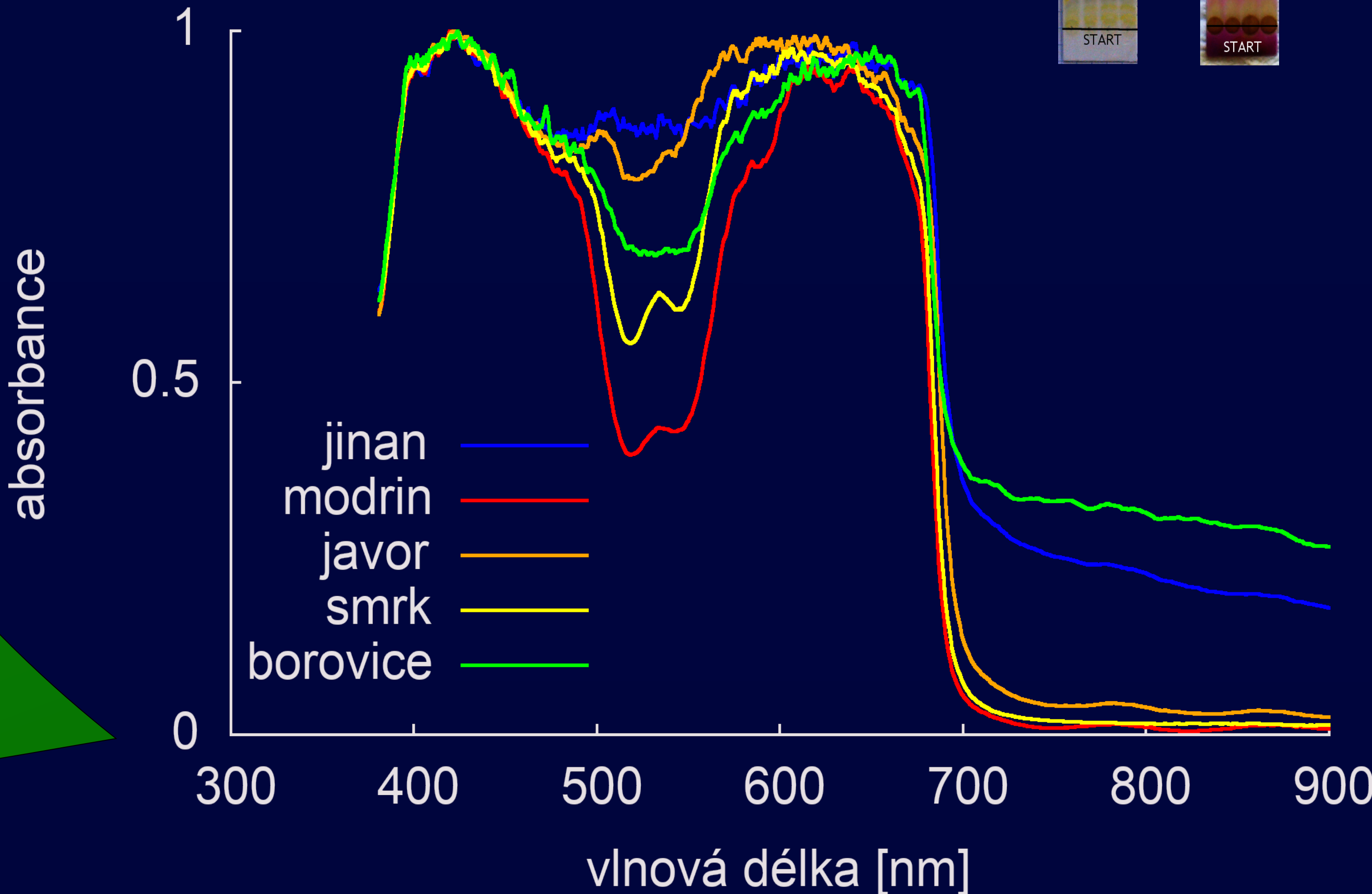
- Výpočet umožňuje určení jednotlivých barviv
- Hodnoty jsou specifické pro dané podmínky (Motl, 1980)

Barvivo	Vzorové hodnoty	Naměřené hodnoty
β-karoten	0,96	(0,95 ± 0,02)
Feofytin	0,36	(0,2 ± 0,05)



TLC CHROMATOGRAFIE (CHROMATOGRAFIE NA TENKÉ VRSTVĚ)

- Polarita ovlivňuje výšku postupu základního barviva skupiny (β-karoten je nepolární vystoupá do nepolární části)
- Polarita barviv je konstantní (Guo, 2005)
- Přesnost určení barviv je možné zvýšit námi použitou manganistanovou lázní



SPEKTROFOTOMETRIE

Při využití chromatografie jsme detekovali oblast karotenoidů, která vykazovala mezi jednotlivými jedinci znatelné rozdíly (Rosenthal, 1996). Předloha pro β-karoten se shoduje (Kopczynski, 2005) s námi zpracovaným vzorkem modřínu opadavého (červeně). V oblasti od 450 nm do 520 nm můžeme pozorovat pokles v absorbanci karotenoidů, což ukazuje na zmenšené množství přítomných karotenoidů, které mohou absorbovat světlo z důvodu počínající senescence jehlic. Použit byl spektrofotometr SpectroVis Plus (přesnost ± 3 nm při 650 nm, ± 7 nm při 450 nm)

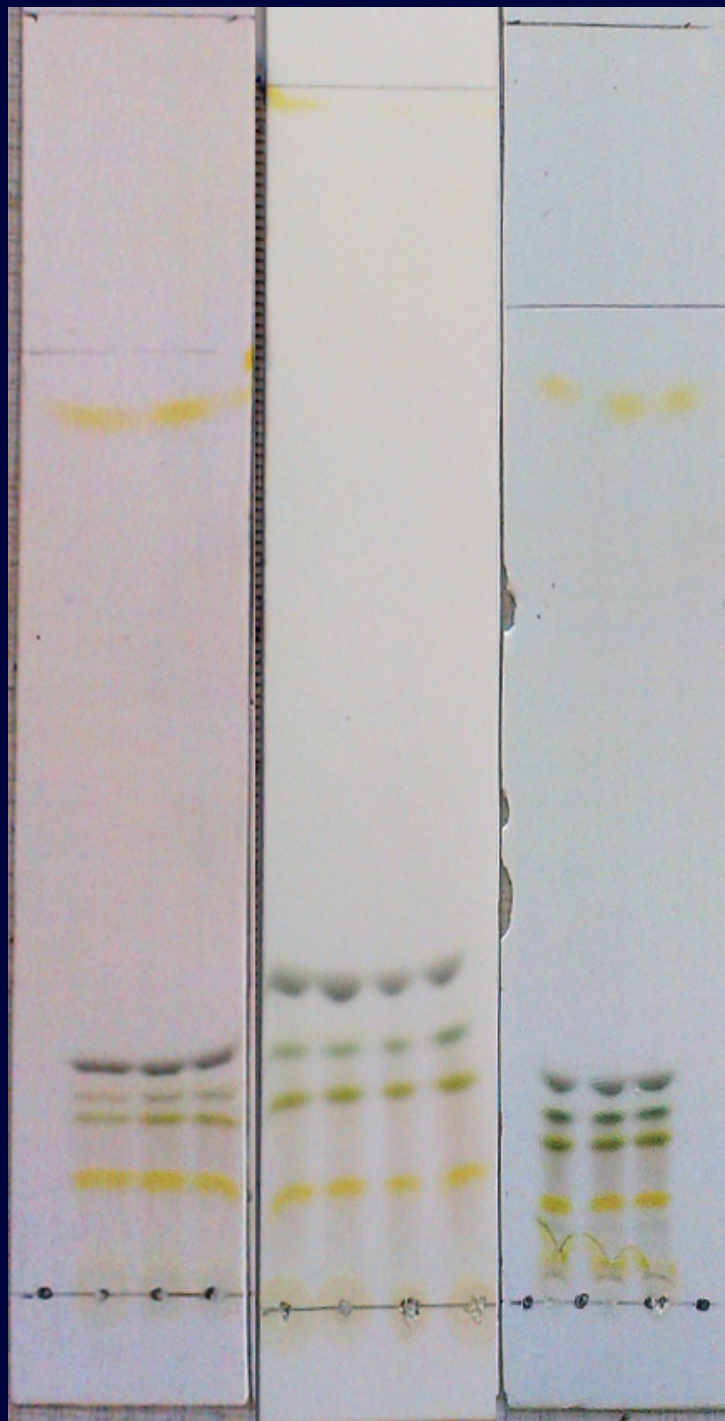
METODY A TECHNIKY

Provedli jsme výpočet retenčních faktorů na základě měření na silikagelových destičkách SIL G. Použili jsme vyvíjecí činidlo (100 ml benzínu, 10 ml 1-propanolu, 1 ml destilované vody) a 99,5% dimethylketon jako rozpouštědlo. Mobilní fáze trvala 30 minut.

Do manganistanové lázně (1,5 g manganistanu draselného, 10 g uhličitanu draselného, 1,25ml 10% hydroxidu sodného a 200 ml vody) jsme postupně namáčeli

Sběr v terénu probíhal po dobu 3 dnů. Výše zmíněnými technikami jsme zkoumali 124 vzorků. První den byl u všech vzorků proveden výpočet Rf. Druhý den byly všechny vzorky (i z předchozího dne) namočený do manganistanové lázně. Třetí den byl zpracován modřín opadavý jako kontrolní vzorek. Jinan dvoulaločný, modřín opadavý, javor mléč, smrk ztepilý a borovice lesní byly změřeny pomocí spektrofotometrie (Lichtenthaler, 2001).

Chromatografy (zleva) borovice, modřínu a smrku znázorňující jejichspolečná barviva obsažená v jehličích:(od shora) feofytin, chlorofyl a, chlorofyl b a lutein. Žlutý β-karoten je dobře patrný pouze u borovice a smrku.



	Den 1	Den 2	Den 3
Počet vzorků	60	40	24
Testované druhy	3x smrk ztepilý (<i>Picea abies</i> , L.) 1x borovice lesní (<i>Pinus sylvestris</i> , L.) 1x modřín opadavý (<i>Larix decidua</i> , Mill.) 1x kultivar borovice lesní	2x smrk ztepilý (<i>Picea abies</i> , L.) 1x modřín opadavý (<i>Larix decidua</i> , Mill.) 2x jedle běłokorá (<i>Abies alba</i> , Mill.) 1x jinan dvoulaločný (<i>Ginkgo biloba</i> , L.) 1x javor mléč (<i>Acer platanooides</i> , L.)	1x modřín opadavý (<i>Larix decidua</i> , Mill.)

ROSENTHAL, S. I. et CAMM, E. L. (1996): Photosynthetic decline and pigment loss during autumn foliar senescence in western larch (*Larix occidentalis*). *Tree Physiology* 17, 767-775.
KUBAT, K. (2002): Kľíč ke květeně České republiky. Academia, Praha.
GUO, Y. et GAIKI S. (2005): Retention behavior of small polar compounds on polar stationary phases in hydrophilic interaction chromatography. Volume 1074, Issues 1-2.
LICHTENTHALER, H. K. et BUSCHMANN, C. (2001): UNIT F4.3 Chlorophylls and Carotenoids: Measurement and Characterization by UV-VIS Spectroscopy. [online][cit. 2017-9-1].
Dostupné z: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/0471142913.faf0403s01/abstract>

KOPCZYNSKI, M. et al. (2005): Ultrafast transient lens spectroscopy of various C40carotenoids: lycopene, β-carotene, (3R,3'R)-zeaxanthin, (3R,3'R,6'R)-lutein, echinenone, canthaxanthin, and astaxanthin. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2005,7, 2793-2803 [online] [cit. 2017-9-1]. Dostupné z: <http://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2005/cp/b506574g/unauth#divAbstract>
MOTL, O. et NOVOTNÝ, L.: Chromatografie na tenké vrstvě. In: Mikeš, O. et al. (1980): Laboratorní chromatografické metody, STNL Praha, 406 - 460