

JIHOČESKÁ UNIVERZITA, BIOLOGICKÁ FAKULTA  
ČESKÉ BUDĚJOVICE

MAGISTERSKÁ PRÁCE

**Zhodnocení variability růstových odpovědí  
na různé pH a výživu u semenáčků *Pinus  
sylvestris L.* a invazního druhu *Pinus strobus L.***

Vypracovala: D. Hanzélyová

Ved. mag. práce: RNDr. F. Seidlová, CSc.

Fakultní garant: Doc. RNDr. J. Lepš, CSc.

České Budějovice, 26. dubna 1996.

**Prohlašuji, že jsem uvedenou práci vypracovala samostatně, jen s použitím uvedené literatury.**

*Hana Hanzelová Dáša*

Dáša Hanzelová, autor

## ***OBSAH***

I. ÚVOD	1
II. MATERIÁL A METODY	3
III. RŮST A PŘEŽÍVÁNÍ	5
3.1. Úvod	5
3.2. Metodika	5
3.2.1. Růst semenáčků	5
3.2.2. Přežívání	6
3.2.3 Růst terminálních pupenů	6
3.3. Výsledky	7
3.3.1. Růst semenáčků	7
3.3.2. Přežívání semenáčků	9
3.3.3. Růst terminálních pupenů	10
3.3.4. Větvení	10
3.4. Diskuse	11
3.4.1. Růst semenáčků	11
3.4.2. Přežívání semenáčků	12
3.4.3. Růst terminálních pupenů	14
3.4.4. Větvení	15
IV. KLÍČENÍ A FYTOHORMONY	15
4.1. Úvod	16
4.2. Metodika	16
4.3. Výsledky	17
4.3.1. Vliv cytokininu a giberelinu na klíčivost semen	17

4.3.2. Vliv sterilizace semen na odolnost vůči houbovým infekcím	17
4.4. Diskuse	17
4.4.1. Vliv fytoormonů na klíčivost semen	17
4.4.2. Vliv sterilizace semen na odolnost vůči houbovým infekcím	18
<b>V. FOTOSYNTÉZA</b>	<b>19</b>
5.1. Úvod	19
5.2. Metodika	20
5.2.1. Fotosyntéza	20
5.2.2. Pigmenty	20
5.3. Výsledky	21
5.3.1. Fotosyntéza	21
5.3.2. Pigmenty	21
5.4. Diskuse	22
5.4.1. Fotosyntéza	22
5.4.2. Pigmenty	24
<b>VI. ZÁVĚR</b>	<b>25</b>
Poděkování	26
Literatura	27
Grafická příloha	32
Fotografická příloha	

## I. ÚVOD

Velké množství prvků se dostává do terestrických ekosystému depozicí emisí z atmosféry (Abrahamsen & Stuanes, 1983). Emisní znečištění atmosféry v Evropě je poměrně vysoké (Likens & Butler, 1981; Lindberg et. al., 1990; Lovett & Lindberg, 1993), proto množství látek, které se touto cestou dostávají do ekosystému Evropy není zanedbatelné. Hlavní efekty tohoto vstupu jsou:

- 1) fertilizační efekt způsobený depozicí N a pravděpodobně i S (příp. i jiné látky) (např. Abrahamsen, 1981)
- 2) acidifikační efekt způsobený zvýšeným spadem  $H^+$  ionů a zvyšujícím se vyluhováním bazických iontů (např. Reich et. al., 1987b; Likens & Butler, 1981)
- 3) toxicita půd v důsledku zvýšené koncentrace  $Al^{3+}$  iontů, jejíž příčinou je zvyšující se kyselost půd (např. Eldhuset et. al., 1987).

Všechny tyto faktory nepůsobí odděleně, ale jsou vzájemně úzce provázané.

Množství látek vstupujících do ekosystému z atmosféry kvantifikují Lindberg (1990) a Lovett & Lindberg (1993) (měřeno v Německu), kteří popisují suchou depozici jako signifikantní cestu vstupu N do lesního ekosystému. Podíl N na celkově deponovaných iontech činí 46%.

Zdá se, že depozice polutantů má na vegetaci dva základní vlivy: 1) přímé poškození (např. asimilačního aparátu, kořenů a pod.) (Bäck et. al., 1995) 2) nepřímý vliv způsobený změnou zdrojů živin (změna poměrů v půdě) nebo produkcí toxických látek v půdě (Abrahamsen, 1984)

Fertilizačními efekty se zabývá mnoho prací (např. Sverdrup et. al., 1994; Abrahamsen, 1980; Mc Laughlin et. al., 1982; Bäck et. al., 1993), které popisují pozitivní působení spadu na lesní ekosystém. Druhou stranou mince je zvýšený přísun  $H^+$  ionů a okyselování půd následkem vyluhování bází, které působí na růst lesa spíše negativně (Abrahamsen, 1980).

Protože Česká republika není, co se týká znečištění ovzduší, výjimkou v rámci Evropy, dá se podobný vliv očekávat i zde. Mokrú depozice činila např. v roce 1993 v Ústí nad Labem průměrně  $1,3 \text{ g/m}^2$  čistého N /měsíc, co je asi  $156 \text{ kg/ha/rok}$ , a to ve formě  $NH_4$  ( $1,05 \text{ g/m}^2$ ) a  $NO_3$  ( $2,18 \text{ g/m}^2$ ) (REPORT CHI).

V posledních 20-ti letech je na území severních Čech (konkrétně v oblasti CHKO Labské pískovce, ale také na Ostravsku a na Královohradecku) patrná zvýšená invaze borovice vejmutovky (*Pinus strobus* L.) do původních lesních společenstev -

reliktních borů. Protože je tento druh na tomto území vysazen už přibližně 90 let (Hanzélyová, 1994) a jeho invazivnost se začala projevovat až v poslední době, není vyloučeno spojení tohoto jevu s dlouhodobým místním, případně velkoplošnějším spadem. Vzhledem k výše uvedeným hodnotám spadu N na daném území se dá předpokládat fertilizační efekt (Rejmánek, pers. com). Dá se očekávat, že ne všechny druhy budou reagovat na fertilizaci stejně. U některých může být pozitivní růstová odpověď výraznější než u jiných, případně některé druhy mohou být tolerantnější k okyselování půd. Půdy v CHKO Labské pískovce jsou značně písčité, z čehož se dá usuzovat na jejich nízkou pufrací schopnost při okyselování. Spad dusíku současně by mohl na těchto půdách působit jako výrazný zdroj jedné z důležitých živin (Mohren & Ilvesniemi, 1995).

Není jasné, které z vyjmenovaných a „podezřelých“ procesů jsou klíčové pro invazi borovice vejmutovky, ale je pravděpodobné, že tyto faktory působí komplexně. Proto je tato práce především porovnávací studií dvou druhů borovic v některých základních růstových parametrech, s cílem najít oblast budoucího podrobnějšího zkoumání.

#### Cílem této magisterské práce bylo:

- 1) zjistit ve skleníkových, částečně regulovaných podmínkách odpověď invazního druhu *Pinus strobus* a jím vytlačovaného druhu *Pinus sylvestris* na různé koncentrace živin v umělé půdě
- 2) zjistit toleranci obou druhů k různé kyselosti růstového substrátu příp.
- 3) zjistit jiné vlastnosti, v nichž se tyto dva druhy odlišují nebo naopak jsou stejné, a které by mohly mít vliv na jejich vzájemnou konkurenceschopnost a na následné změny ve složení původních společenstev v přírodních podmínkách.

Práce je pro přehlednost rozdělena na menší kapitoly, které popisují růstové odpovědi, klíčení semen a základní fotosyntetické parametry obou druhů.

## II. MATERIÁL A METODY

*Materiál:* Semena borovic *Pinus sylvestris* a *Pinus strobus* byla zakoupena u semenářského závodu Lesy České republiky s.p., Týniště nad Orlicí..

*Roztoky:* Roztoky pro příslušné zásahy v kultivaci vznikly ředěním zásobních roztoků A a B, jejichž složení je popsáno níže. Základní koncentrace používaná v průtokových kulturách je 1ml A/l + 1ml B/l H<sub>2</sub>O (Ingestad & Kähr, 1985). Táto koncentrace byla použita jako zásah s minimálním množstvím živin. Kyselost roztoků byla upravována 1 M HCl. Koncentrace živin a pH jednotlivých roztoků pro jednotlivé zásahy popisuje **tabulka 1.**

Složení zásobního roztoku ( Ingestad & Kähr, 1985):

**A:** NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> = 167.14 g; NH<sub>4</sub>Cl = 113.08 g; K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> = 121.6 g; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> = 83.56 g  
doplnit H<sub>2</sub>O do 2l,

**B:** Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> · 4 H<sub>2</sub>O = 35.42 g; Mg(N<sub>3</sub>O)<sub>2</sub> · 6 H<sub>2</sub>O = 63.33 g; HNO<sub>3</sub> (4M) = 12.5 ml; mikroprvky 50ml, doplnit H<sub>2</sub>O do 2l,

**mikroprvky:** HNO<sub>3</sub> (4M) = 12.5 ml; H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> = 11.44 g; Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub> · 2 H<sub>2</sub>O = 0.177 g; CuCl<sub>2</sub> · 2 H<sub>2</sub>O = 0.8 g; Zn(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> · 6 H<sub>2</sub>O = 1.37 g; MnSO<sub>4</sub> · H<sub>2</sub>O = 12.31 g; FeCl<sub>3</sub> · 6 H<sub>2</sub>O = 33.72 g doplnit H<sub>2</sub>O do 0.5l

**Tab.1.** pH a koncentrace živin roztoků použité pro pěstování *Pinus strobus* a *Pinus sylvestris*. Koncentrace živin v roztocích vznikly ředěním základních roztoků A a B (uvedeno ve druhém sloupci). Koncentrace **1ml A +1ml B/1l H<sub>2</sub>O** obsahuje: **50mg N, 32.4 mg K, 7.43 mg P, 3.01 mg Ca, 3.01 mg Mg a 5.59 mg S + stopové prvky.** Čtvrtý sloupec uvádí zkratku experimentálního zásahu používanou v práci a grafech. Výrazně označena je základní koncentrace (Ingestad & Kähr, 1985).

\* Pro jednodušší orientaci a přehlednost jsou koncentrace živin v roztoku uváděny jako množství dusíku v 1 litru roztoku; to však neznamená vyzdvihování tohoto prvku oproti ostatním. Se znásobením koncentrace dusíku se úměrně znásobí i množství ostatních prvků v roztoku.

	ř e d ě n í	p H	z k r a t k a
e x p e r i m e n t 1	2 m l A / l + 2 m l B / l	6 , 2	6 , 2
	2 m l A / l + 2 m l B / l	4	4
	2 m l A / l + 2 m l B / l	2 , 7	2 , 7
e x p e r i m e n t 2	0 m l A / l + 0 m l B / l	6 , 2	0 m g N / l
	1 m l A / l + 1 m l B / l	6 , 2	5 0 m g N / l
	2 m l A / l + 2 m l B / l	6 , 2	1 0 0 m g N / l
	4 m l A / l + 4 m l B / l	6 , 2	2 0 0 m g N / l
	6 m l A / l + 6 m l B / l	6 , 2	3 0 0 m g N / l

V každém experimentu byly pěstovány oba druhy borovic.

*Experiment 1:* sloužil pro testování vlivu pH na růst semenáčků. Každý druh byl pěstován ve třech hydroponických roztocích s různou kyselostí ( pH = 2.7, pH = 4 a pH = 6.2 ).

*Experiment 2:* sloužil pro testování vlivu množství živin na růst semenáčků. Pokus byl uspořádán jako gradient koncentrace živin v hydroponickém roztoku (viz tab.1).

*Klíčení:* Semena obou druhů byla čtyři měsíce (únor - květen) stratifikována v lednici při 4°C mezi vrstvami vlhké buničité vaty (Bärtels, 1988; Li et. al., 1994). Po stratifikaci byla semena ponechána k předklíčení při laboratorní teplotě (25 °C). Po naklíčení (v půlce května) byla vybrána zdravá semena (délka klíčků do 0,5 cm )

*Kultivace:* Naklíčená semena byla vyseta do vlhkého perlitu (Heiskanen, 1993) po jednom do každé jamky sadbovače, umístěného v misce s hydroponickým roztokem. Rostliny byly pěstovány v zastíněném skleníku s automatickým větráním při stoupaní teplot nad 25°C. Misky s roztoky a semenáčky borovic byly umístěny na stolech . K omezení vlivu různé expozice misek ke světlu, byly misky v průběhu experimentu pravidelně přemísťovány. Kvůli snížení odparu z roztoků, byla automatickým postřikovačem udržována vysoká relativní vzdušná vlhkost. Po celou vegetační sezónu (od konce května do listopadu) nepřekročily teploty ve skleníku hodnoty 35°C (sledováno maximálním teploměrem). V zimním období byl skleník temperován na minimální teploty 0°C.

Pokus trval od konce května 1995 do března 1996.

Metodika odběrů pěstovaných rostlin spolu s metodami použitými pro jednotlivé analýzy jsou blíže popsány v jednotlivých kapitolách.



### III. RŮST A PŘEŽÍVÁNÍ

#### 3.1. ÚVOD

Na zhodnocení a porovnání primární produkce rostlin se používají základní růstové charakteristiky, jako: nárůst sušiny v čase, relativní rychlost růstu a některé alometrické poměry (Hunt, 1978, 1982; Šesták et. al., 1971). Různé druhy dřevin se mohou lišit ve variabilitě rychlosti růstu, nebo jeho znacích. Tato variabilita je geneticky kontrolována, ale zároveň je i výsledkem odpovědi různých morfologických charakteristik na podmínky okolí nebo stres (Kozłowski et. al., 1991; van den Driessche, 1991; Larcher, 1988).

Většina dřevin je nejcitlivější ke stresům v nejranějších stádiích vývoje (Kozłowski et. al., 1991; Raynal et.al., 1982a, b). Nejčastějšími stresovými faktory jsou kromě nedostatku vody a světla také nepříznivé pH půdy a nízký, nebo naopak příliš vysoký obsah živin v půdě. Schopnost přežít a růst v daných nepříznivých podmínkách může být pro daný druh rozhodující.

Růst a vývoj jedince je výsledkem interakce exogenních a endogenních faktorů, které na něj v průběhu času působí. Přechod mezi jednotlivými fázemi vývoje rostliny stejně jako střídání fází růstu s fázemi dormance je řízen hormonálně (Crabbe, 1994; Wareing & Phillips, 1981).

#### 3.2. METODIKA

##### 3.2.1. *Růst semenáčků*

V průběhu vegetační sezóny bylo v intervalech tří týdnů provedeno 6 až 7 odběrů z každého experimentálního zásahu. První odběr byl uskutečněn 1. července ve věku semenáčků 45 dnů. Každý odběr se skládal z 5 až 10 ks rostlin (podle počtu přežívajících jedinců). Po vysušení 24 h při 85°C byla u každého jedince určena hmotnost nadzemní části a kořenů.

Délka kořenů a plocha primárních jehlic jedinců (dále v textu uváděno jako listová plocha) byla určována přístrojem Image Analyser. Naměřené hodnoty kolmého průmětu jehlic byly násobeny koeficientem 2,8 pro výpočet skutečné plochy asimilačního aparátu borovic.

Relativní rychlost růstu byla počítána podle vzorce (Hunt, 1982, Šesták et. al. 1971)

$$\overline{R} = \frac{\ln W_2 - \ln W_1}{T_2 - T_1}$$

K prezentaci výsledků byly použity zobecněné aditivní modely obsaženy v programu S-Plus. Jako proměnná byl použit čas od počátku experimentu (transformována funkce cubic-splite smoother) (Hastie, & Tibshirami, 1990).

Průběh křivek RGR, změny listové plochy a délky kořenů byl vynášen z průměrných hodnot.

### 3.2.2. *Přežívání*

V období prvních sedmi měsíců života semenáčků, byly v pravidelných měsíčních intervalech zjišťovány počty semenáčků, které se uchytily a přežily v jednotlivých experimentálních zásazích.

Za uchycené semenáčky byly považovány ty, které po vysazení naklíčených semen do perlitu vyrostly a přežily alespoň jeden týden.

Počty přežívajících semenáčků byly vyhodnoceny Analýzou přežívání - Statgraphics, Logrank testem, dosažené výsledky byly upraveny Bonferroniho korekcí (Havránek, 1993)

### 3.2.3. *Růst terminálních pupenů*

V zimním období byla třikrát ( 4.12., 22.1. a 1.3.) změřena na všech semenáčcích, které přežily sezónu a nebyly odebrány pro účely analýzy růstu, výška a šířka terminálního pupenu a výška prvního internodia, a zjištěn počet laterálních pupenů a laterálních větví. Intervaly pro měření pupenů byly voleny tak, aby naměřené hodnoty vybraných parametrů přibližně odpovídaly stavu pupenů na začátku, uprostřed a na konci dormantního období, do kterého upadají pupeny na zimu.

Výška pupenu byla měřena od viditelného přechodu mezi zelenou částí rostliny a hnědými šupinami pupenu po vrchol pupenu.

Data byla vyhodnocena použitím zobecněných lineárních modelů a prezentována pomocí metody box plotu, s použitím programu S-Plus.

### 3.3. VÝSLEDKY

#### 3.3.1. Růst semenáčků

##### pH

Různé pH má signifikantní vliv na hmotnost celkové sušiny semenáčků obou druhů ( $\alpha < 0.05$ ) (**obr.1**).

Semenáčky *Pinus strobus* a také *Pinus sylvestris* dosáhly maximální hmotnost při pH=6,2 a 4 a dá říci, že růstová odpověď při obou hodnotách pH je téměř identická. Oproti tomu semenáčky v půdě s pH=2,7 dosahovaly ve věku 145 dní jen 34% (*Pinus sylvestris*) a 54% (*Pinus strobus*) váhy sušiny semenáčků rostoucích při pH=6,2. Konfidenční intervaly ukazují rostoucí variabilitu váhy sušiny s věkem.

##### živiny

Rozdíly v hmotnosti sušiny semenáčků rostoucích v různé koncentraci živin byly rovněž signifikantní ( $\alpha < 0.05$ ) (**obr.2**). Optimální koncentrace pro růst semenáčků se u obou druhů výrazně neliší. Druh *Pinus sylvestris* dosáhl maximálních hodnot sušiny při koncentraci 100 mg N/l a druh *Pinus strobus* při koncentracích 50 mg N/l a 100 mg N/l. Koncentrace 0 mg N/l a 300 mg N/l jsou pro oba druhy nejméně příznivé. Maximální variabilitu hmotnosti sušiny jeví oba druhy při koncentracích, které jsou pro ně optimální (50 a 100 mg N/l). Druh *Pinus sylvestris* reaguje na různé koncentrace živin citlivěji než *Pinus strobus*, což je patrné z křivek na obrázku 2.

U některých jedinců *Pinus sylvestris* se v průběhu sezóny projevovaly barevné změny na jehlicích, zvláště při koncentracích živin 200 mg N/l a 300 mg N/l a při pH=2,7.

##### *Poměr hmotnosti nadzemní části a kořenů (R/S)*

Poměr váhy nadzemní části a kořenů rostlin u obou druhů dosahoval na začátku sezóny hodnot přibližně 0,2 a s postupem času mírně klesal. Minimální hodnoty dosáhl koncem července. Koncem srpna začaly hodnoty R/S stoupat a tento trend zůstal zachován až do konce sezóny (**obr.3, 4, Příl.1, 2**).

##### pH

U *Pinus strobus* jsou hodnoty R/S velmi podobné pro semenáčky rostoucí v roztocích s různým pH. U *Pinus sylvestris* je R/S pro semenáčky rostoucí v půdě s pH=2,7 menší oproti ostatním zásahům (**obr. 3, Příl. 1**)

##### živiny

Největší hodnoty R/S měly po celou dobu semenáčky obou druhů rostoucí v destilované vodě, navíc s výrazným nárůstem od druhé poloviny září. Podobný trend

ve vztahu k ostatním zásahům byl u obou druhů borovic i při koncentraci 50 mg N/l. V hodnotách R/S semenáčků rostoucích při koncentraci živin 100, 200 a 300 mg N/l nebyly velké rozdíly (**obr. 4, Příl. 2**)

#### *Relativní rychlost růstu (RGR)*

Relativní rychlost růstu byla maximální téměř u všech zásahů na přelomu července a srpna, t. j. ve vrcholném létě. Tvar křivek, znázorňujících změny RGR v čase pro nadzemní část, kořen a celou rostlinu, je přibližně stejný pro oba druhy a pro všechny experimentální zásahy (**obr.5, 6**).

V absolutních hodnotách RGR se oba druhy mezi sebou odlišují. Inhibice růstu je u semenáčků *Pinus sylvestris* rostoucích v pH=2,7 a destilované vodě patrná i z nižších hodnot RGR oproti ostatním zásahům (**obr. 5, 6**).

#### *Délka kořenů*

##### živiny

Na konci vegetační sezóny, t.j. na přelomu října a listopadu, dosahovaly největší délky kořenů semenáčky *Pinus sylvestris* rostoucí v půdě s koncentrací živin 100mg N/l. Pro ostatní koncentrace živin platí, že délka kořenů s rostoucími koncentracemi klesala. U druhu *Pinus sylvestris* jsou rozdíly v délkách kořenů výraznější než u *Pinus strobus*. U *Pinus strobus* se v délce kořenů nápadně odlišují (od ostatních semenáčků) pouze semenáčky rostoucí v roztoku s koncentrací živin 50 mg N/l (**obr.7**).

Na různé pH reagovaly oba druhy podobně. Délka kořenů dosahovala na konci sezóny u semenáčků *Pinus sylvestris* rostoucích při pH=2,7 pouze 20% maximálních hodnot délky kořenů oproti semenáčkům z roztoku s pH=6,2. U semenáčků *Pinus strobus*, rostoucích v roztoku s pH=2,7 byly hodnoty délky kořenů menší o 50% oproti maximu u semenáčků v pH=6,2. Růst kořenů při pH=6.2 a 4 je u obou druhů borovic podobný.

#### *Velikost listové plochy*

Nízké pH (pH=2,7) i nulová koncentrace živin v roztoku měly negativní vliv na velikost listové plochy obou druhů borovic (**obr.8**). Největší listovou plochu dosahovaly semenáčky *Pinus sylvestris* při koncentraci 100 mg N/l a *Pinus strobus* při koncentraci 50 mg N/l.

### Morfologický popis semenáčků

Na semenáčcích obou druhů byly na konci sezóny morfologicky dobře rozlišitelné tyto části: kořen, hypokotyl, dělohy, první internodium, primární jehlice, terminální pupen na konci prvního internodia, laterální pupeny a laterální větve za dělohami na přechodu mezi hypokotylem a prvním internodiem.

### 3.3.2. Přežívání semenáčků

Nejrannější stádia vývoje jsou nejvíce citlivá k různým stresům (např. nízké pH a vysoké koncentrace živin), což se projevilo rozdíly v procentech uchycených semenáčků (tab.2). Rozdíly v počtech uchycených semenáčků mezi jednotlivými experimentálními zásahy byly větší u druhu *Pinus sylvestris* než u druhu *Pinus strobus*.

Tab2. Procento uchycených semenáčků v jednotlivých zásazích pro oba druhy (počet vyšetřovaných naklíčených semen = 100 %). Hladiny faktoru živiny jsou udávány jako množství N v 1 litru roztoku.

druh	živiny					pH		
	0	50	100	200	300	2.7	4.0	6.2
<i>Pinus sylvestris</i> L..	87%	89%	87%	67%	69%	56%	70%	87%
<i>Pinus strobus</i> L.	64%	69%	62%	60%	62%	61%	63%	62%

Výsledky analýzy přežívání jedinců v průběhu sezóny v miskách s různými kultivačními podmínkami ukázaly rozdíly v reakcích semenáčků na tyto podmínky.

#### pH

Na velmi nízké pH živného média negativně reagují především semenáčky *Pinus sylvestris* (obr.9c, 10b). V roztoku s nejnižším pH klesla pravděpodobnost přežití semenáčků do půlky sezóny na 28%.

Přežívání semenáčků druhu *Pinus strobus* nebylo kyselostí roztoku výrazně ovlivněno.

#### živiny

Druh *Pinus sylvestris* se jeví jako citlivější i k vysokým koncentracím živin v půdě (obr.9.a, b, 10a). Pravděpodobnost přežití byla nejnižší při koncentracích živin 200 a 300 mg N/l. Rozdíly v křivkách přežívání byly signifikantní na  $\alpha < 0,05$ .

### 3.3.3. Růst terminálních pupenů

Opakovaná měření ukázala rozdíly jak ve variabilitě, tak i ve velikosti terminálních pupenů semenáčků rostoucích v kultuře s různým pH a různou koncentrací živin ( $\alpha < 0,01$ ), a ve velikosti pupenů mezi oběma druhy ( $\alpha < 0,05$ ) (**obr.11**). Velikost pupenů druhu *Pinus sylvestris* byla proti velikosti pupenů *Pinus strobus* přibližně dvojnásobná už na začátku zimního období a tento rozdíl zůstal zachován po celou dobu měření.

Z **obr.11** je zřejmá změna průměrné výšky terminálního pupenu ke konci zimního období (1. března) oproti hodnotám na počátku zimy, a to hlavně u druhu *Pinus strobus*. Semenáčky *Pinus strobus* měly největší terminální pupeny při pH=6,2 a při koncentraci živin 100 mg N/l.

V průměru největší terminální pupeny měly semenáčky *Pinus sylvestris* při pH=4 a při koncentraci živin 100 mg N/l. U obou druhů velikost pupenů klesala směrem k maximálním a minimálním koncentracím živin v roztoku. Při měnící se kyselosti roztoku nebyly rozdíly tak výrazné.

Závislost výšky terminálního pupenu na výšce stromů a na zásahu byla signifikantní ( $\alpha < 0,01$  v obou případech).

Variabilita ve velikosti terminálního pupenu u druhu *Pinus sylvestris* byla největší u nejlépe rostoucích semenáčků (pH=6,2 a koncentrace živin 100 a 200 mg N/l) (**obr.13**, **obr.12**). Dá se říci, že variabilita ve velikosti terminálního pupenu byla u druhu *Pinus sylvestris* celkově větší.

### 3.3.4. Větvení

Počty laterálních větví semenáčků se signifikantně lišily mezi druhy i mezi jednotlivými zásahy (a to jak pro pH, tak pro živiny) ( $\alpha < 0,01$  ve všech případech). Semenáčky *Pinus sylvestris* měly průměrně dvě větve; u *Pinus strobus* byl průměrný počet větví menší přibližně jedna (**obr.14**).

Výsledky modelování závislosti počtu větví na výšce stromu ukazují, že u druhu *Pinus sylvestris* roste počet větví s výškou stromu, zatímco u druhu *Pinus strobus* je trend opačný (**obr.15**, **16**).

### 3.4. DISKUSE

#### 3.4.1. Růst semenáčků

Některé odpovědi semenáčků na prováděné zásahy byly pro oba druhy společné, část jich však byla druhově specifická.

##### Společné reakce pro oba druhy:

Oba druhy reagovaly přibližně stejně na změny pH půdy. Na základě průběhu a maximálních hodnot proložených křivek (**obr.1**) můžeme říci, že na hodnoty pH=6,2 a 4 reagují oba druhy podobně. Velmi nízké pH půdy (pH=2,7) způsobilo redukci růstu u obou druhů, což se projevilo nízkou hmotností sušiny celkové biomasy jedinců, zkrácením délky kořenů, snížením R/S (hlavně na konci sezóny) a redukcí listové plochy. Důvodem těchto změn je zřejmě toxicita  $H^+$  iontů, které ve vysokých koncentracích způsobují změny v permeabilitě membrám buněk kořenů. Tyto změny mají negativní vliv na protonový gradient na membránách buněk a na energii potřebnou pro transportní děje (Fitter & Hay, 1981; van den Driessche, 1991).

Oba druhy měly hodnoty R/S v rozmezí kolem 0,2, což je ve shodě s hodnotami R/S udávanými pro dřeviny temperátních lesů (Kozłowski et. al., 1991). Mírný posun k vyšším hodnotám, stejně jako prodloužení doby růstu kořenů v podzimním období může být způsoben prodloužením sezóny ve skleníkových podmínkách.

##### Druhově specifické reakce:

*Pinus sylvestris*. Zdá se, že tomuto druhu nejvíce vyhovuje koncentrace živin 100 mg N/l, což potvrzují křivky proložené zjištěnými hodnotami sušiny biomasy. Také velikost listové plochy v tomto případě dosahuje výrazně nejvyšších hodnot (**obr.8**). Tento výsledek koresponduje se závěry Trewavase (1985), který popisuje vztah mezi velikostí listové plochy a množstvím dostupných nitrátů.

Pokud jde o další v pokusu použité koncentrace živin, pak koncentrace 50 mg N/l a 200 mg N/l jsou ve svých účincích na růst velmi podobné. Liší se pouze ve vlivu na růst kořenů (hlavně na konci sezóny), ve vlivu na velikost dormantních pupenů a ve změnách zabarvení jehlic semenáčků (viz. popis změn níže). Na základě rozdílů v těchto charakteristikách se dá říci, že koncentrace 50 mg N/l je pro růst a přežívání semenáčků *Pinus sylvestris* příznivější než koncentrace 200 mg N/l.

Absolutní nedostatek živin v destilované vodě se projevila inhibicí růstu, ale hlavně ve výrazném posunu R/S směrem k vyšším hodnotám. Tento posun je zřejmě způsoben změnami v alokaci fotosyntetických produktů ve prospěch kořenů jako zásobního orgánu a naznačuje stresové podmínky růstu (Fitter & Hay, 1981; Ingestad & Lund, 1979).

*Barevné změny* na jehlicích semenáčků *Pinus sylvestris*, které se projevily v průběhu vegetační sezóny, jsou popisovány v kapitolách 2.4.2 a 3.4.2. Tyto změny souvisejí pravděpodobně s nevhodnými osmotickými poměry v roztoku při nízkém pH a nedostatku nebo naopak vysokých koncentracích živin (Mengel & Kirkby, 1982; von Evers & Hüttl, 1995; van den Driessche, 1991)

*Pinus strobus*. Výsledky RGR ukazují jen minimální rozdíly v rychlosti růstu mezi semenáčky rostoucími v roztocích s různými koncentracemi živin. Také křivky proložené získanými hodnotami hmotnosti sušiny ukazují menší rozdíly v hmotnostech biomasy jedinců, než je tomu u *Pinus sylvestris*. Na základě těchto křivek by se mohlo zdát, že pro *Pinus strobus* je optimální koncentrace živin 50 až 100 mg N/l. Při vzájemném porovnání růstových křivek pro tyto dvě koncentrace s dalšími růstovými charakteristikami je vidět rozdíly v délce kořenů, listové ploše a v hodnotách R/S. Tyto rozdíly, hlavně vysoké hodnoty R/S naznačují, že koncentrace živin 50 mg N/l, podobně jako koncentrace 0 mg N/l jsou suboptimální (Ingestad, 1991, 1985; van den Driessche, 1987). Optimálnímu množství živin odpovídá tedy koncentrace 100 mg N/l.

## SOUHRN

Z výsledku analýzy růstu vyplynulo, že: 1) optimální koncentrací živin pro růst semenáčků obou druhů je 100mg N/l. 2) pH = 6.2 a 4 má na růst semenáčků obou druhů podobný vliv 3) při pH=2.7 nastává u obou druhů redukce růstu ve všech zjišťovaných morfologických parametrech (listová plocha, délka kořenů, hmotnost sušiny, velikost terminálních pupenů) 4) *Pinus sylvestris* má za optimálních, či optimu blízkých podmínek přibližně dvakrát větší rychlost růstu než *Pinus strobus*.

### 3.4.2. Přežívání semenáčků

Sníženou vitalitu spolu s nekrotickými skvrnami na listech nejmladších vývojových stadií semenáčků v podmínkách extrémní kyselosti růstového substrátu popisuje Raynal et. al. (1982a). Vysoká mortalita u semenáčků patrná, z **tab2**, je spojena u obou druhů s redukcí růstu při pH=2,7 diskutovanou v předcházející části práce a je v souladu s výsledky analýzy přežívání na semenáčcích *Acer saccharum* (Raynal et. al., 1982a). Důvodem zvýšené mortality semenáčků při těchto hodnotách pH může být pravděpodobně snížená odolnost kořinek uchycujících se stromků k bakteriálním infekcím (Raynal et. al., 1982a, b; Kozłowski et. al., 1991). Z **obr.10b** a **obr.9c** je patrné, že *Pinus sylvestris* je druh reagující na nízké pH a na vysoké koncentrace

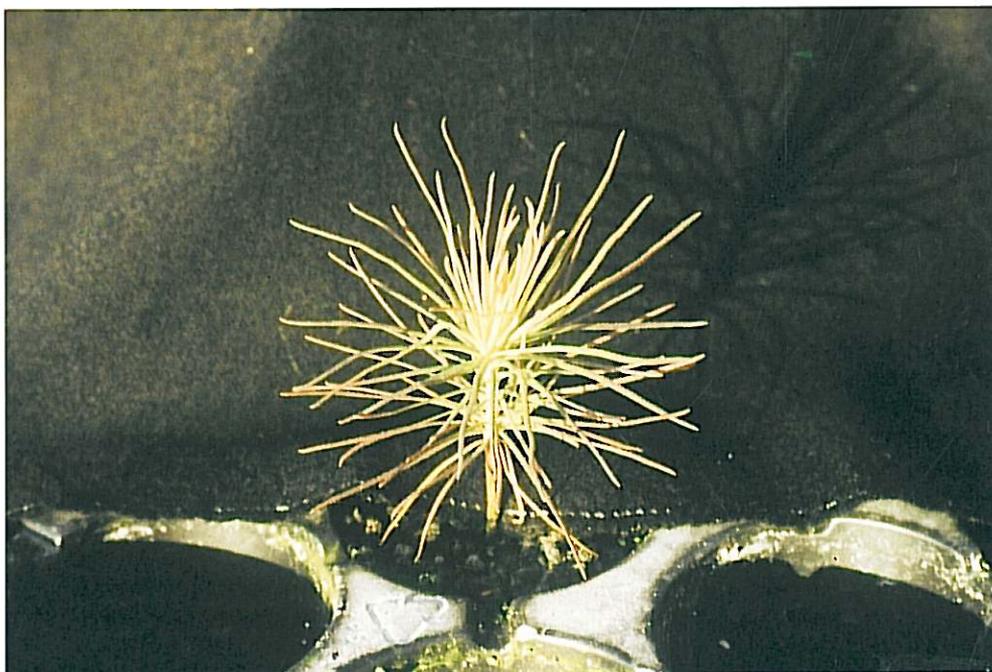


živin v kultivačním médiu zvýšenou mortalitou. Z toho lze soudit, že první stadia růstu jsou u tohoto druhu velmi citlivá vůči extrémním podmínkám prostředí.

Velmi nápadným jevem souvisejícím s přežíváním semenáčků byly barevné změny na jehlicích u druhu *Pinus sylvestris*. Při koncentraci živin 200 mg N/l a 300 mg N/l byly nejmladší jehlice některých jedinců silně chlorotické (viz **foto. 1**), což se projevilo sníženou vitalitou stromků. Při koncentraci 300 mg N/l se u chloroticky zbarvených rostlin začaly postupně od špiček jehlice zabarvovat měděno-oranžově až fialově.

Podobný jev jako při koncentraci živin 300 mg N/l byl u *Pinus sylvestris* pozorován i při pH=2,7, avšak s tím rozdílem, že fialově oranžovému zabarvení nepředcházelo zežloutnutí jehlic. Tmavě zelená barva jehlic byla postupně od špiček nahrazována fialovou. Obě tyto změny na jehlicích končily smrtí jedince.

*Foto.1.* Typický příklad barevné změny (popsané v textu) na jehlicích u semenáčků *Pinus sylvestris* rostoucích při koncentraci živin 200 a 300 mg N/l.



## SOUHRN

Z analýzy přežívání obou druhů vyplynulo, že *Pinus strobus* je tolerantnější ke stresům v podobě nízkého pH a nevyrovnaných osmotických poměrů. U *Pinus sylvestris* se citlivost na tyto podmínky projevila výraznými rozdíly v počtu

uchycených semenáčků a zvýšenou mortalitou jedinců, spojenou s chlorotickými změnami na jehlicích semenáčků v průběhu růstu.

### 3.4.3. Růst terminálních pupenů

I když teploty v temperovaném skleníku byly pro růst sledovaných druhů borovic neobvyklé, oba druhy vytvořily v zimě dormantní terminální pupeny. U *Pinus sylvestris* pěstované v pH = 6,2 se první terminální pupeny objevily koncem srpna, většina jedinců (více jak 50%) je však vytvořila pupeny až o měsíc později - v půlce září. Při pH=2,7 se tvoření dormantních terminálních pupenů opozdilo oproti semenáčkům daného druhu rostoucích v roztocích s pH = 4 a 6,2, a velikost pupenů byla oproti ostatním semenáčkům nejmenší **obr.11**. Inhibice růstu a tvoření terminálních pupenů u *Pinus sylvestris* je patrná i u semenáčků rostoucích v roztoku bez živin.

Terminální pupeny u *Pinus sylvestris* rostoucí v roztoku s pH=6,2 byly v době prvního měření (4. prosince) již v dormantním stavu, což je patrné z porovnání variability a průměru výšky pupenů při prvních dvou měřeních pro daný druh na **obr.11**. U *Pinus strobus* byly ve stejnou dobu terminální pupeny malé a ve velikosti málo variabilní, z čeho lze usuzovat, že pupeny ještě většinou nebyly dobře vytvořeny. Při druhém měření (22. ledna) byl patrný nárůst průměrné velikosti pupenů až na dvojnásobek oproti hodnotám zjištěným v prvním měření a současně se zvětšila i variabilita naměřených hodnot, která se do konce zimního období prakticky neměnila. Změny ve variabilitě naměřených hodnot se dají vysvětlit tím, že na začátku zimního období nebyly plně vytvořeny dormantní pupeny u všech jedinců v dané skupině a že v průběhu zimy terminální pupeny stále dorůstaly. Uprostřed zimy se variabilita zmenšuje, což je spojeno s přechodem pupenů většiny stromů do dormantního stavu. Zvětšení variability ke konci zimy souvisí s ukončením dormantního období u některých jedinců a zahájením růstu. U *Pinus sylvestris* byl tento jev patrný dříve než u *Pinus strobus* (**obr.11**).

Z porovnání velikosti terminálních pupenů je vidět, že růstová kondice semenáčků se liší podle typu půdy, ve kterém rostou (Leyton). Dalo se očekávat, že nejlépe rostoucí stromy (v experimentu 1 hladina pH=6,2 a 4 a v experimentu 2 při koncentraci živin 100 mg N/l a 50 mg N/l) obou druhů budou mít dostatek rezerv k vytvoření velkých terminálních pupenů, které tvoří základ růstu jedince v budoucí sezóně což se, jak je vidět na **obr.12, 13**, potvrdilo.

## SOUHRN

Výsledky měření velikosti terminálních pupenů v zimním období u semenáčků obou druhů ukázaly, že velikost pupenů *Pinus sylvestris* je v průměru dvakrát větší než u *Pinus strobus* a že druhy se vzájemně liší obdobím, ve kterém terminální pupeny semenáčků přecházejí do dormantního stavu.

### 3.4.4. Větvení

Výsledky ukazují, že *Pinus strobus* větví obecně méně než *Pinus sylvestris*. Při koncentracích 50 a 200 mg N/l je u *Pinus strobus* variabilita v počtu větví velká a průměrný počet větví je malý v porovnání s ostatními experimentálními zásahy (obr.14). Nižší délkový růst a podpora větvení *Pinus strobus* při těchto koncentracích živin je pravděpodobně regulována hladinou giberelinů (van den Driessche, 1987).

I když se závislost počtu větví na výšce stromů nepodařilo statisticky prokázat, na základě trendů proložených daty se dá usuzovat, že studované druhy se liší ve způsobu růstu a větvení. Počet větví u semenáčků *Pinus sylvestris* roste s výškou stromu, u druhu *Pinus strobus* je tento trend opačný. Z těchto závislostí se dá soudit, že u *Pinus strobus* je při větším počtu větví snížený délkový růst hlavního kmene. Počet větví u *Pinus sylvestris* nemá na délkový růst semenáčků výrazný vliv.

## SOUHRN

Vyšší apikální dominance u *Pinus strobus* oproti *Pinus sylvestris* naznačuje, že mezi těmito druhy pravděpodobně existují rozdíly v distribuci auxinu a cytokininů. Zdá se, že u *Pinus strobus* tyto regulace souvisejí s množstvím živin v půdě.

## IV. KLÍČENÍ A FYTOHORMONY

### 4.1. ÚVOD

„Semeno reprezentuje vývojový přechod mezi mateřskou a dceřinnou rostlinou: Proto dormance semen nemůže být oddělována od počátku vývoje embrya, od klíčení a od růstu semenáčků.“ (J. Crabbe)

Klíčení semen v přirozených podmínkách je ovlivněno mikroprostředím, ve kterém se semena ocitnou po oddělení od mateřské rostliny. Toto mikroprostředí je formováno a ovlivňováno mnoha abiotickými i biotickými faktory, mimo jiné i kořenovými exudáty okolních jedinců. Látky vylučované v těchto exudátech mohou ovlivňovat mnoho fyziologických procesů, také klíčivost semen. Z těchto látek hrají nepochybně důležitou roli cytokininy a látky jim podobné (Kovač et. al., 1993). Cytokininy byly zjištěny v kořenových exudátech mnoha druhů rostlin, v neposlední řadě i u borovice lesní (Gogala, 1970). Je nepochybné, že koncentrace tohoto hormonu bude hrát důležitou roli při klíčení.

Experimenty s aplikací exogenních fytohormónů ukázaly, že dormance většiny semen může být potlačena aplikací giberelinů, cytokininů nebo ethylenu (např. Steward, 1972; Sweet et. al., 1974; Derkx, 1993). Nejčastěji studovanými hormony jsou však hormony ze skupiny giberelinů (méně cytokininu), které částečně nahrazují stratifikaci a světelnou indukci semen (Mac Millan, 1980; Derkx, 1993; Crabbe, 1994). Tento mechanismus se vysvětluje tím, že v době stratifikace stoupá množství giberelinů v semenech a že exogenní aplikace tohoto hormonu může tento stav napodobit (Crabbe, 1994). Ukončení dormance semen vyvolané aplikací giberelinů se dá očekávat u druhů vyžadujících světlo, vysušení nebo mráz jako faktory rušící dormanci semen (Wareing, 1981).

#### 4.2. METODIKA

*Sterilizace semen:* Před výsevem byla semena obou druhů borovic sterilizována 15 min v 0,5% koncentraci SAVa, podle standardního postupu (Vangelisti et. al., 1995; Li, 1994). Protože se tento způsob ošetření semen proti plesnivění neosvědčil (zvláště u *Pinus strobus*), byla po dalších pokusech zvolena jako optimální varianta pro prevenci plísní oplachování semen před výsevem pod tekoucí vodou.

*Klíčení* bylo provedeno v Petriho miskách. V každé misce byla stejná vrstva buničité vaty přikrytá jednou vrstvou filtračního papíru. Přidání 20 ml roztoku fytohormonu resp. destilované vody postačilo na navlhčení této vrstvy buničiny. Vyseto bylo 25 semen do každé misky, ve třech opakováních. Použité fytohormony a koncentrace jsou v **tabulce 3**. Misky s klíčovými semeny byly uloženy v termoboxu při teplotě 25°C a ve tmě (Kovač et. al., 1993). Semena v tomto pokusu nebyla stratifikována

**Tab.3.** Pro lepší vzájemné porovnání účinku fytohormónů a grafické zobrazení jsou v práci používány koncentrace v mg/l. Některé práce pojednávající o fytohormonech však používají molární koncentrace, proto je v tabulce uveden přepočtený množství hormonu v roztoku na molární koncentraci roztoku. (BAP = 6 benzylaminopurin, GA3 = kyselina gibberelova)

Množství v roztoku [mg/l]	0	0.01	0.03	0.1	0.3	1	3	10
Molární koncentrace [mol/l] BAP	0	$4,4 \times 10^{-8}$	$1,3 \times 10^{-7}$	$4,4 \times 10^{-7}$	$1,3 \times 10^{-6}$	$4,4 \times 10^{-6}$	$1,3 \times 10^{-5}$	$4,4 \times 10^{-5}$
GA3	0	$3,5 \times 10^{-8}$	$10^{-7}$	$3,5 \times 10^{-7}$	$10^{-6}$	$3,5 \times 10^{-6}$	$10^{-5}$	$3,5 \times 10^{-5}$

### 4.3. VÝSLEDKY

#### 4.3.1. Vliv cytokininu a giberelinu na klíčivost semen

Cytokinin (BAP). U *Pinus sylvestris* měla aplikace téměř všech koncentrací BAP mírně stimulační vliv na ukončení dormance semen, i když tyto výsledky byly statisticky neprůkazné (**obr.17**). Nejvyšších hodnot klíčivosti bylo dosaženo při koncentraci 0,01 mg/l. Klíčivost v kontrole byla 17%.

Statisticky se podařilo prokázat rozdíly v počtu klíčících semem v závislosti na koncentraci cytokininu pouze u druhu *Pinus strobus* ( $\alpha < 0,05$ ). Nejvyšších klíčivosti bylo dosaženo při koncentracích 0 mg/l, 1 mg/l a 0,03 mg/l. Klíčivost kontroly byla 83%.

Při vysoké koncentraci (10 mg/l) bylo klíčení semen obou druhů borovic inhibováno.

Giberelin (GA3). Statisticky se nepodařilo prokázat vliv ani jedné z použitých koncentrací giberelinu na klíčení semen žádného druhů při použité hladině významnosti ( $\alpha < 0,05$ ). U semen *Pinus sylvestris* je vidět mírně stimulační účinek všech koncentrací kromě 0.01, naopak u *Pinus strobus* je účinek mírně inhibující (**obr.18**).

#### 4.3.2. Vliv sterilizace semen na odolnost vůči houbovým infekcím

Až 95% vyšetřovaných semen *Pinus strobus* plesnivělo i po sterilizaci v 0,5%, 2,5% a koncentrovaném SAVu. Nejméně (maximálně 5 - 10%) semen tohoto druhu plesnivělo tehdy, když byly před výsevem pouze opláchnuté pod tekoucí vodou.

## 4.4. DISKUSE

### 4.4.1. Vliv fytohormonů na klíčivost semen

Podle Kovače et al. (1993) má aplikace kořenových exudátů *Pinus sylvestris*, bohatého na cytokinin, vliv jak na procento tak i na rychlost klíčení semen stejného druhu. Vysoké koncentrace exudátu měly na klíčení semen inhibiční vliv.

I když získané výsledky klíčení semen v GA3 nebyly statisticky významné (na hladině významnosti  $\alpha < 0,05$ ), z obr. 18 je zřejmé, že nestratifikovaná semena druhu *Pinus sylvestris* mají nízkou klíčivost, která se dá vhodnou koncentrací BAP nebo GA3 zvýšit. V souladu s výsledky Kovače měla vysoká koncentrace BAP (10 mg/l) hlavně u *Pinus strobus* inhibiční vliv na klíčení semen. Pro přesnější výsledky je potřebné pokus zopakovat s nižšími koncentracemi fytohormónů.

Výrazné rozdíly mezi druhy byly v průběhu klíčení. U *Pinus sylvestris* začíná klíčení některých semen třetí den od výsevu a maximální počet jich vyklíčí už po třinácti dnech. Nástup klíčení u *Pinus strobus* nastává 5-7 den po výsevu a maximální množství semen klíčí až po 25 dnech.

## SOUHRN

Druhy *Pinus sylvestris* a *Pinus strobus* se liší ve svých projevech dormance semen. Klíčení semen *Pinus sylvestris* se dá mírně stimulovat vhodnou koncentrací BAP i GA3, což podtrhuje význam stratifikace semen u tohoto druhu. U *Pinus strobus* se efekt stimulace klíčení neprojevil ani u jednoho fytohormonu. Doba potřebná k vyklíčení maximálního množství semen je u *Pinus sylvestris* třináct dní, u *Pinus strobus* je pro to potřeba 25 dnů. Společným znakem obou druhů je inhibice klíčení při supraoptimální koncentraci 10 mg/l.

### 4.4.2. Vliv sterilizace semen na odolnost vůči houbovým infekcím

Práce s klíčením semen (Vangelisti et al. 1995, Li 1994) popisují různé postupy ošetření semen proti houbovým infekcím před klíčením semen, nejčastěji v 5% hypochloridu sodném (naše SAVO), nebo v různě koncentrovaném peroxidu vodíku, anebo jen opláchnutím pod tekoucí vodou.

Protože semena, která byla sterilizována 10 min v koncentraci 0,5% SAVO i po tomto postupu zplesnivěla, byl pokus zopakován s koncentracemi SAVa 2,5% a 5% (koncentrované) a časy 15min a 45min použitými faktoriálně. Výsledky byly opět v rozporu s předpokladem, že sterilizací budou semena odolnější vůči plísním. Vyšší koncentrace nejenže klíčení inhibovaly, což se dalo očekávat, ale semena také

výrazně víc plesnivěla i navzdory sterilním podmínkám při výsevu. Proti očekávání byl výsledek, že semena v miskách s kontrolou (destilovaná voda) plesnivěla nejméně - max. 20%. Po těchto výsledcích bylo klíčení zopakováno v nesterilních podmínkách a bez chemické dezinfekce. Při třetím pokusu byla semena *Pinus strobus* máčena 12 h v destilované vodě, 5 minut propírána pod tekoucí vodou a třetí varianta byla kontrola bez zásahu. Po třech týdnech klíčení byly výsledky následovné: semena máčená 12 h - plesnivělo max. 8-15%; semena propraná pod tekoucí vodou - plesnivělo max. 5-10%; kontrola - plesnivělo 10-20% semen.

Z těchto výsledků se dá usuzovat na to, že semena *Pinus strobus* pravděpodobně vylučují při klíčení látky inhibující růst plísní a že při delším namáčení ve vodě nebo při sterilizaci semen v SAVU byly tyto látky vylouženy. Naopak při absolutním neošetření semen před výsevem se houbové infekce pravděpodobně „stihnou“ rozšířit dříve (vzhledem k hojnému výskytu na povrchu semen), než začnou inhibující látky v semenu působit. Proto, zdá se, že opláchnutí pod tekoucí vodou působí jako dostatečný faktor inhibující růst plísní na semenech. Zmínku o tomto jevu se mi v literatuře zatím nepodařilo najít.

## V. FOTOSYNTÉZA

### 5.1. ÚVOD

Fotosyntéza je děj, při kterém se energie světla využívá k syntéze uhlíkatých sloučenin potřebných k růstu. Přeměna energie světelných kvant v energii chemických vazeb se uskutečňuje v bílkovinných komplexech fotosyntetických membrán prostřednictvím molekul chlorofylu a s pomocí ostatních fotosyntetických barviv. Pigmentace listů a množství chlorofylů jsou obecně používanou charakteristikou růstové kondice (Osipova, 1965; Linder, 1980; Kramer et al., 1979). Van Driesche (1991) popisuje lineární závislost mezi množstvím chlorofylu *a* a *b* a množstvím živin a upozorňuje také, že tato závislost může být různá pro různé druhy. Maximální rychlost čisté fotosyntézy, měřená za standardních podmínek se dá použít pro charakteristiku fyziologických typů rostlin, druhů nebo i rostlinných ekotypů a zároveň ukazuje ekologické nároky druhů na světlo. Hladina saturace fotosyntetické křivky obyčejně odráží maximální hodnoty světelného toku, kterému jsou listy daného druhu vystaveny ve svém přirozeném prostředí růstu (Taiz, 1991).

Účelem této části magisterské práce bylo:

- a) porovnat závislosti rychlosti fotosyntézy na ozáření pro oba studované druhy ve standardních laboratorních podmínkách, s cílem zjistit rozdíly ve fotosyntetické kapacitě obou druhů, protože je jasné, že mezi fotosyntetickou aktivitou druhu a jeho růstem je těsná závislost
- b) zjistit rozdíly v obsahu chlorofylů *a* a *b* a také zachytit změny v pigmentaci listů studovaných konifer, které se vyskytly jako reakce na rozdílné podmínky růstu.

## 5.2 METODIKA

### 5.2.1 Fotosyntéza

Pro měření byly použity 2 měsíce staré semenáčky obou druhů ze série 1 experimentu z kultury s pH=6,2. Oba druhy byly celý čas růstu (od vyklíčení po měření) pěstovány ve skleníku bez regulované teploty a světelného režimu v hydroponické kultuře (viz výše). Čistá rychlost fotosyntézy byla měřena za standardních podmínek v laboratoři na celých semenáčcích umístěných v misce s živným roztokem. Dva dny před vlastním měřením fotosyntézy byly semenáčky přeneseny do místnosti se standardní teplotou 23°C, kde bylo prováděno měření, a po dobu 1 hodiny vystavené maximálnímu ozáření (asi 3000  $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ). Po dobu celého měření rychlosti fotosyntézy se teplota vzduchu v komůrce přístroje pohybovala v rozmezí 23±1°C, koncentrace CO<sub>2</sub> byla 360±10 ppm a relativní vlhkost vzduchu 70±1%. Rychlost čisté fotosyntézy byla měřena na gradientu ozáření (hustoty toku fotonů) v rozsahu 70 - 2950  $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ , na přístroji LI-COR LI 190 (Reich et. al., 1987a). Po měření byly jehlice příslušných stromů ostříhány, rozděleny na dvě poloviny se stejnou hmotností, podobně jako je to popsáno v metodice měření pigmentů. Jedna polovina byla vysušená, druhá použitá pro měření velikosti listové plochy a později pro stanovení množství pigmentů (podle postupu v metodice pigmentů). Rychlost čisté fotosyntézy byla přepočtena na jednotku plochy jehlic. Každé měření bylo opakováno na dvou semenáčcích

### 5.2.2. Pigmenty

Ve věku 9 týdnů (na začátku srpna) byly náhodně vybrány semenáčky z každého typu experimentálního zásahu a pro každý druh. Aby se zamezilo chybě, způsobené efektem kolísání množství pigmentů (chlorofyly a karotenoidy) během dne a sezóny (Linder, 1972), byly semenáčky odebrány ve stejný den a hodinu. Po odběru byly



jehlice ostříhány a rozděleny na dvě váhově stejné poloviny. Jedna polovina byla sušena 24h při teplotě 85° C a potom zvážena, druhá uložena do tmy a mrazu až do extrakce.

*Extrakce:* Jehlice byly rozstříhány na malé kousky a zhomogenizovány v 80% acetonu. Extrakt byl přefiltrován přes filtrační papír a doplněn do 50 ml acetonem. Koncentrace pigmentů vyextrahovaných do roztoku byla měřena na absorbním spektrofotometru při vlnových délkách 710nm, 663.2 nm, 646.8 nm a 470 nm. Celý postup extrakce byl proveden v tmavé místnosti, aby nedocházelo k degradaci pigmentů. Výsledný obsah pigmentů byl vypočten podle rovnic (Lichtenthaler, 1987):

$$c_a = 12,25 \times A_{663,2} - 2,79 \times A_{646,8}$$

$$c_b = 21,5 \times A_{646,8} - 5,1 \times A_{663,8}$$

$$c_{a+b} = 7,15 \times A_{663,2} + 18,71 \times A_{646,8}$$

$$c_{car} = \frac{1000 \times A_{470} - 1,82 \times c_a - 85,02 \times c_b}{198}$$

kde  $A$  = absorbance při dané vlnové délce a  $c$  = koncentrace pigmentů ( v mg na 1litr roztoku). Získané koncentrace byly přepočteny na suchou váhu jehlic.

## 5.3 VÝSLEDKY

### 5.3.1. Fotosyntéza

Křivky závislosti rychlosti čisté fotosyntézy na hustotě toku fotonů pro druhy *Pinus strobus* L. a *Pinus sylvestris* byly sestrojeny proložení naměřených hodnot fitovanými křivkami čisté fotosyntézy semenáčků v programu S-Plus.

Porovnání křivek naměřených hodnot čisté fotosyntézy pro oba jedince z obou druhů ukazuje **obr.19**. Podobnost křivek obou jedinců jednoho druhu a překrývání jejich 95% konfindenčních intervalů povolovala proložit naměřenými hodnotami jednu společnou křivku pro každý druh, která byla použita pro další porovnání.

Rozdíl mezi světelnými křivkami obou druhů je zřejmý z **obr.20**. Křivka borovice lesní je strmější a saturační hodnoty hustoty světelného toku jsou vyšší (přibližně 10  $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ) než u křivky borovice vejmutovky, která dosahuje maximálních hodnot přibližně 6  $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ . Při vysokých intenzitách osvětlení (nad 2500  $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ) je

vidět na obou křivkách pravděpodobně fotoinhibici, která je u borovice vejmutovky výraznější.

Kompenzační bod fotosyntézy druhu *Pinus sylvestris* leží v oblasti světelného toku přibližně  $90 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  obr. 20. U *Pinus strobus* se za daných experimentálních podmínek nepodařilo kompenzační bod zachytit.

### 5.3.2. Pigmenty

Množství získaných dat povolovalo statisticky testovat pouze rozdíly mezi druhy. Obr.22. ukazuje v množství jednotlivých pigmentů pro oba druhy. *Pinus strobus* dosahuje vyšších hodnot množství pigmentů v jehlicích než druh *Pinus sylvestris*. Rozdíly mezi druhy jsou v obsahu chlorofylu *a*, chlorofylu *b* a karotenoidů statisticky průkazné pouze pro různé koncentrace živin v roztoku ( $\alpha < 0,05$ ). Poměr chlorofylu *a/b* se u obou druhů pohybuje v rozmezí 2,2 až 2,4 jak pro pH tak pro živiny, poměr *a+b* ku karotenoidům v rozmezí 2,4 až 2,9, výjimkou je pH = 6.2 u druhu *Pinus sylvestris*, kde poměr *a+b*/karotenoidy dosáhl hodnoty 3,7. Vliv pH na množství pigmentů se při dané hladině významnosti nepodařilo prokázat.

Z Příl.3 je zřejmé, že rozdíly ve variabilitě naměřených hodnot obsahů pigmentů v listech semenáčků obou druhů ve vztahu k jednotlivým růstovým podmínkám jsou velké.

## 5.4. DISKUSE

### 5.4.1. Fotosyntéza

Maximální naměřené hodnoty rychlosti čisté fotosyntézy pro oba druhy se neliší od hodnot fotosyntézy uváděných Larcherem (1988), Kozlowskim (1991) a van Hovem (1992) pro stálezelené jehličnany. Vzhledem k tomu, že rychlost čisté fotosyntézy byla měřena na primárních jehlicích, nedá se vyloučit, že v případě měření na sekundárních jehlicích by mohly být za stejných podmínek naměřeny hodnoty nižší (Linder, 1979).

Z rozdílu křivek čisté fotosyntézy vztažené na jednotku plochy jehlic pro *Pinus strobus* a *Pinus sylvestris* se dá říci, že semenáčky těchto dvou druhů jsou, co se týká odpovědi na intenzitu ozáření, rozdílné. Výrazně rozdílné maximální hodnoty rychlosti čisté fotosyntézy ukazují rozdílnost nároků druhů na světlo, což potvrzují i jiné zjištěné skutečnosti, např. množství naměřených pigmentů (Taiz, 199; Kramer, 1979).

Rozdíly v maximálních hodnotách čisté fotosyntézy vztažené na jednotku plochy ukazují, že počet reakčních center na jednotku plochy je ve fotosyntetickém aparátu druhů rozdílný (*Pinus strobus* má asi poloviční počet RC proti *Pinus sylvestris*) (Šetlík, [in press]). Strmost fotosyntetické křivky ve světle limitovaném úseku ukazuje na vyšší účinnost pohlcení záření na jednotku ozářené plochy pro *Pinus sylvestris*. Pro přesnější zjištění rozdílů ve stavbě fotosystémů obou druhů byla rychlost čisté fotosyntézy přepočtena na gram chlorofylu a vynesena do grafu. Z obr. 21 je vidět, že prakticky neexistují rozdíly v rychlosti fotosyntézy přepočtené na gram chlorofylu. Z toho lze soudit, že optický průřez antén ve fotosystémech obou druhů je přibližně stejný.

Hodnoty kompenzačního ozáření křivky pro *Pinus sylvestris* ukazují na její světlomilnost. Velmi nízké hodnoty kompenzačního ozáření pro *Pinus strobus* (ve skutečnosti nenaměřeny) souvisejí se stínomilností tohoto druhu (Kozłowski et al., 1991).

Vzhledem k tomu, že pokusné rostliny obou druhů v experimentu byly vysety ve stejnou dobu a po celý čas rostly ve stejných podmínkách, dá se vyloučit zkreslení výsledků vlivem věku nebo stanovištních podmínek na rychlost fotosyntézy (Taiz, 1991; Linder, 1979).

V lesním porostu, kde se oba druhy vyskytují společně, mohou nastat dvě situace. Při dostatku světla v porostu se bude *Pinus sylvestris* projevovat vzhledem k větší účinnosti fotosyntézy, větší intenzitou růstu, čím „předběhne“ okolní semenáčky *Pinus strobus*, které navíc mohou být, v extrémním případě, v růstu inhibovány velkými intenzitami ozáření. Při opačné situaci, kdy by byl porost málo prosvětlen, by rychle klesající rychlost fotosyntézy u druhu *Pinus sylvestris* mohla vést, kromě samotné redukce rychlosti růstu semenáčků, k limitaci růstu kořenů, což může snižovat, kromě jiného, i toleranci druhu k suchu (Kozłowski, 1991). Vzhledem k propustným půdám na pískovcovém podloží v oblasti postižené invazí *Pinus strobus* není tato skutečnost zanedbatelná. V těchto podmínkách by se *Pinus strobus* jevila jako „konkurenčně úspěšnější“. K ověření těchto hypotéz jsou však nutná podrobná měření v terénu.

## SOUHRN

Protože listová plocha semenáčků *Pinus strobus* a množství reakčních center na jednotku plochy je menší než u semenáčků *Pinus sylvestris*, rychlost růstu *Pinus strobus* byla menší. Z parametrů fotosyntetických křivek a z množství chlorofylů v

jehlicích (viz níže) obou druhů se dá soudit na světlomilnost druhu *Pinus sylvestris* a na stínomilnost druhu *Pinus strobus*.

#### 5.4.2. Pigmenty

Semenáčky obou druhů reagovaly na nedostatek živin v destilované vodě výrazně světlejším odstínem zelené barvy proti jedincům téhož druhu, ale v roztocích se živinami. Tento symptom se začal projevovat už na dělohách, brzy po uchycení semenáček v půdě, které se začaly, hlavně u *Pinus sylvestris*, barvit do fialova (viz **foto.2**). V průběhu růstu jedinců tohoto druhu postupovalo zabarvení apikálním směrem (od primárních jehlic na bazální části prvního internodia k vrcholu stromu), takže na konci sezóny byly červenofialově zabarveny celé semenáčky *Pinus sylvestris*. U semenáček *Pinus strobus* fialové zabarvení děloh nepostupovalo výše, ale naopak časem zmizelo; semenáčky však zůstaly celou vegetační sezónu světle zelené.

*Foto 2.* Semenáčky *Pinus sylvestris* rostoucí v destilované vodě s červeně zabarvenými dělohami. Toto zbarvení postupovalo v průběhu sezóny apikálním směrem.



Na semenáčcích *Pinus sylvestris*, rostoucích v roztocích s vysokými koncentracemi živin se začaly projevovat nejdříve výrazné chlorózy, hlavně na mladších jehlicích, které byly časem „nahrazeny“ oranžovou až měděně-fialovou barvou a to postupně od

špičky jehlice k její bázi (viz **foto1**, popis změn je v kapitole 3.4.2. ). Protože tyto změny byly patrné pouze na některých jedincích v daných zásazích, pokusila jsem se, alespoň orientačně, tyto změny zachytit. Vzhledem k malému počtu semenáčků se však nedal změřit obsah pigmentů v jehlicích na dostatečně velkém souboru, proto **Příl. 3** ukazuje pouze rozpětí hodnot obsahů pigmentů pro jednotlivé zásahy. Při hodnocení výsledků se tudíž musí vzít v úvahu, že pro jednoznačné výsledky je třeba dalších pokusů.

Zjištěné hodnoty množství pigmentů odpovídají údajům uváděným Kramerem et.al. (1979), který udává, že množství chlorofylů *a* a *b* je asi trojnásobné oproti množství karotenoidů a že množství chlorofylu *a* je asi dvoj-trojnásobek množství chlorofylu *b*. Menší odchylky ve výsledcích mohou být způsobeny variabilitou těchto poměrů u různých druhů (Kramer et. al., 1971) Velké množství koncentrace chlorofylu *b* , který se nachází v anténě fotosyntetického aparátu se dá vysvětlit tím, že semenáčky rostly ve skleníku, kde jsou světelné poměry horší než venku, což vede k vytvoření velké antény na zachytávání svět. kvant.

## SOUHRN

Množství chlorofylů je přibližně dvojnásobné u druhu *Pinus strobus* oproti druhu *Pinus sylvestris*. V průběhu sezóny se na semenáčcích *Pinus sylvestris* v roztocích s pH=2,7 a koncentracemi živin 200 a 300 mg N/l projeví barevné změny na jehlicích, které indikují podmínky nepříznivé pro růst semenáčků tohoto druhu.

## VI. ZÁVĚR

Dalo se očekávat, že dva studované druhy borovic se budou v mnoha fyziologických reakcích podobat, ale některé reakce mohou být výrazně odlišné.

Na základě dosažených výsledků se dá říci, že na vzájemnou konkurenceschopnost obou druhů mohou mít podmínky okolí velký vliv. V podmínkách blízkých optimu zjištěnému v této práci, budou semenáčky *Pinus sylvestris* růst lépe než semenáčky *Pinus strobus*. Ve stresových podmínkách nízkého ozáření porostu, nízkého pH půdy a/nebo toxického vlivu živin v půdě bude růst a přežívání druhu *Pinus strobus* ovlivněn méně než u druhu *Pinus sylvestris*.

## PODĚKOVÁNÍ

Děkuji Dr. F. Seidlové za vedení této magisterské práce a Dr. I. Šetlíkovi za cenné připomínky ke kapitole fotosyntézy. Dále děkuji Dr. Květoňovi, Dr. I. Gálišovi, Dr. Květovi a Dr. Lepšovi za čas a pomoc, kterou mi poskytly.

Mé dík patří také M. Bastlovi za pomoc při zpracování dat a všem lidem dobré vůle, s kterými jsem v průběhu času spolupracovala a kteří mi vyšly vstříc a pomohly.

## Literatura:

- Abrahamsen, G. 1980. Acid precipitation, plant nutrients and forest growth. Proc., Int. conf. ecol. impact acid precip., Norway.
- Abrahamsen, G. 1981. Effects of air pollution on forests. In: Fazzolare, R. A. & Smith, C. B. [eds.]. Beyond the energy crisis opportunity and challenge. Pergamon Press Oxford and New York 1981.
- Abrahamsen, G. 1984. Effects of acid deposition on forest soil and vegetation. Phil. Trans. R. Soc. Lond. B 305:369-382.
- Abrahamsen, G. & Stuanes, O. A. 1983. Effects of acid deposition on soil: An overview. VDI-Berichte Nr. 500.
- Air Pollution in Czech Republic in 1994. REPORT CHI, Air Quality Protection Department, Praha.
- Bäck, J., Huttunen, S. & Roitto, M. 1993. Pollutant response and ecophysiology of conifer in open-top chamber experiments. Aquilo Ser. Bot. 32: 9-19.
- Bäck, J., Huttunen, S., Turunen, M. & Lamppu, J. 1995. Effects of acid rain on growth and nutrient concentrations in Scots pine and Norway spruce seedlings grown in a nutrient-rich soil. Environmental Pollution, Vol. 89, No. 2:177-187.
- Bärtels, A. 1988. Rozmnožování dřevin. SZN Praha.
- Boardmann, K. 1977. Comparative photosynthesis of sun and shade plants. Ann. Rev. Plant Physiol. 28: 355-377.
- Crabbe, J. 1994. Dormancy. In: Encyclopedia of Agricultural Science, Vol. 1. Academic Press.
- Derkx, M. P. M. 1993. Regulation of seasonal pattern in seed dormancy. CIP-DATA Koninklijke Bibliotheek, den Haag.
- Eldhuset, T., Göranson, A. & Ingestad, T. 1987. Aluminium toxicity in forest tree seedlings. In: Hutchinson, T. C. & Meema, K. M. [eds.]. Effects of Atmospheric Pollutants on Forest, Wetlands and Agricultural Ecosystems. Springer - Verlag Berlin. Heidelberg.
- Fitter, & Hay, 1981. Environmental Physiology of Plants. Academic Press.
- Hanzélyová, D. 1994. Korelácia morfometrických charakteristik u *Pinus strobus* v CHKO Labské Pískovce. Bakalárska práca.
- Hastie, T. J. & Tibshirami, R. J. 1990. Generalized Additive Models. Monographs on Statistics and Applied Probability 43. Chapman & Hall.
- Havránek, T. 1993. Statistika pro biologické a lékařské vědy. Academia, Praha.

- Heiskanen, J. 1993. Favourable Water and Aeration Conditions for Growth Media used in Containerized Tree Seedling Production: A Review. *Scandinavian Journal of Forest Research* 8: 337-358.
- Hunt, R. 1978. *Plant Growth Analysis. Studies in Biology* no. 96.
- Hunt, R. 1982. *Plant Growth Curves. The Functional Approach to Plant Growth Analysis.* Edward Arnold. Scotland.
- Ingestad, T. 1979 . A Definition of Optimum Nutrient Requirements in Birch Seedlings. III. Influence of pH and Temperature of Nutrient Solution. *Physiol. Plant.* 46: 31-35.
- Ingestad, T. 1981. Plant Growth in Relation to Nitrogen Supply. In: Clark, F. E. & Rosswall, T. [eds]. *Terrestrial Nitrogen Cycles. Ecological Bulletins* 33: 268-271
- Ingestad, T. 1991. Nutrition and growth of forest trees. *Tappi Journal*, Vol. 74, No. 1.: 55-62.
- Ingestad, T. & Kähr, M. 1985. Nutrition and growth of coniferous seedlings at varied relative nitrogen addition rate. *Physiologia Plantarum* 65:109-116
- Ingestad, T. & Lund, A. B. 1979. Nitrogen Stress in Birch Seedlings. I. Growth Technique and Growth. *Physiol. Plant.* 45: 137-148.
- Kermode, A. R. 1990. Regulatory Mechanism Involved in the Transition from Seed Development to Germination. *Plant Science* Vol. 9: 155-195.
- Kovač, M., Horgan, R. & Meilan, R. 1993. Cytokinins in Scotch pine seedling root exudates and their influence on seed germination. *Plant Physiol. Biochem.* 31: 35-40.
- Kozlowski, T. T., Kramer, P. J. & Pallardy, S. G. [eds] 1991. *The Physiological Ecology of Woody Plants.* Academic Press. California.
- Kramer, P. J. & Kozlowski, T. T. [eds] 1979. *Physiology of Woody Plants.* Academic Press. New York.
- Larcher, W. 1988. *Fyziologická ekologie rostlin. Československá akademie věd. Praha.*
- Leyton, L. *The Relationship Between the Growth and Mineral Nutrition of Conifers.*
- Li, X., J., Burton, P., J. & Leadem, C., L. 1994. Interactive effects of light and stratification on the germination of some British Columbia conifers. *Can. J. Bot.* 72: 1635-1646.
- Lichtenthaler, H., K. 1987. Chlorophylls and Carotenoids: Pigments of Photosynthetic Biomembranes. *Methods in Enzymology*, vol. 148, p. 366.
- Likens, G. E. & Butler, T. J. 1981. Recent acidification of precipitation in North Amerika. *Atmos. Environ.* 15: 1103 - 1109.



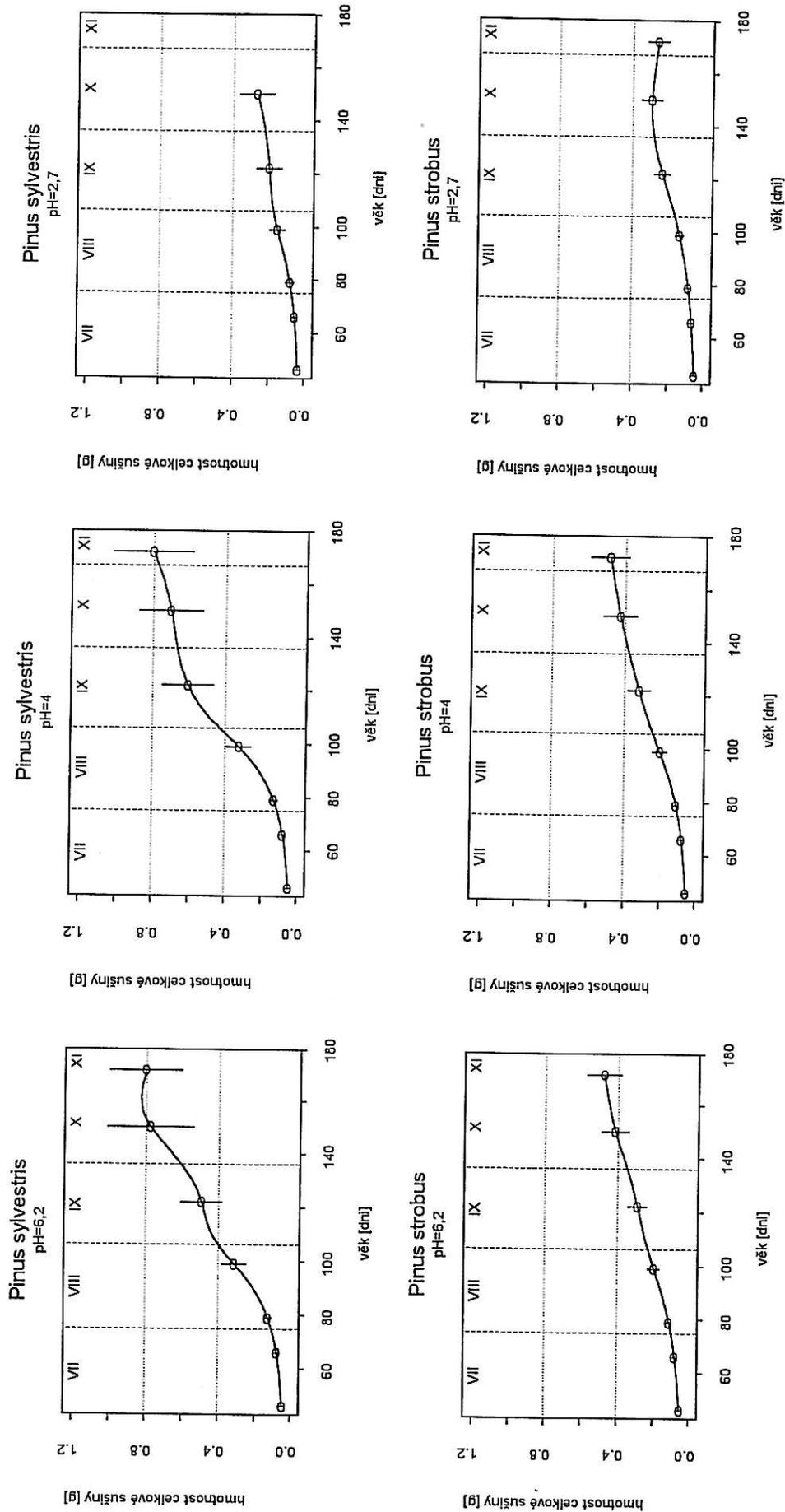
- Lindberg, S. E., Bredemeier, M., Schaefer, D. A. & Qi, L. 1990. Atmospheric concentrations and deposition of nitrogen and major ions in conifer forests in the United States and Federal Republic of Germany. *Atmospheric Environment* Vol. 24A, No.8:2207-2220.
- Linder, S. 1972. Seasonal Variation of Pigments in Needles. A Study of Scots Pine and Norway Spruce Seedlings Grown under Different Nursery Conditions. *Studia Forestalia Suecica* Nr.100.
- Linder, S. 1979. Photosynthesis and Respiration in Conifers. A Classified Reference List 1891-1977. *Studia Forestalia Suecica* Nr.149.
- Linder, S. 1980. Chlorophyll as an indicator of nitrogen status of coniferous seedlings. *N. Z. J. For. Sci* 10(1): 166-75.
- Lovett, G. M. & Lindberg, S. E. 1993. Atmospheric deposition and canopy interactions of nitrogen in forests. *Can. J. For. Res.* Vol. 23:1603-1616.
- Mac Millan, J. [ed] 1980. Hormonal Regulation of Development I: Molecular Aspects of Plant Hormones. *Encyclopedia of Plant Physiology* Vol. 9. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. New York.
- McLaughlin, S. B., McConathy, R. K., Duvick, D., and Mann, L. K. 1982. Effects of chronic air pollution stress on photosynthesis, carbon allocation, and growth of white pine trees. *For. Sci.* 28: 60-70.
- McLaughlin, S. B., West, D. C. & Blasing, T. J. 1984. Measuring effects of air pollution stress on forest productivity. *Tappi Journal* Vol. 67, No.1.
- Mengel, K. & Kirkby, E. A. [eds] 1982. Principles of Plant Nutrition. International Potash Institute. Switzerland.
- Mohren, G. M. J. & Ilvesniemi, H. 1995. Modelling effects of soil acidification on tree growth and nutrient status. *Ecological Modelling* 83:263-272.
- Nickell, L. G. 1986. Plant growth regulators in retrospect and in prospect. Extension Bulletin No. 235. Food & Fertilizer Technology Center.
- Osipova, O. P. 1965. Review of „Pigment of the plastids of green plants and methods of their investigation“. *Soviet Plant Physiol.* 12: 832-833.
- Raynal, D. J., Roman, J. R. & Eichenlaub, W. 1982a. Response of tree seedlings to acid precipitation - I. Effect of substrate acidity on seede germination. *Env. Exp. Bot.* 22: 377-383.
- Raynal, D. J., Roman, J. R. & Eichenlaub, W. 1982b. Response of tree seedlings to acid precipitation - II. Effect of simulated acidified canopy throughfall on sugar maple seedling growth. *Env. Exp. Bot.* 22: 385-392.

- Reich, P. B., Schoettle, A. W., Stroo, H. F., Troiano, J. and Amundson, R. G. 1987a. Effects of ozone and acid rain on white pine (*Pinus strobus*) seedlings grown in five soils. I. Net photosynthesis and growth. *Can. J. Bot.* 65: 977-987.
- Reich, P. B., Schoettle, A. W., Stroo, H. F., Troiano, J. and Amundson, R. G. 1987b. Effects of ozone and acid rain on white pine (*Pinus strobus*) seedlings grown in five soils. III. Nutrient relations. *Can. J. Bot.* 65: 977-987.
- Statistical Sciences. 1995. User's manual, Version 3.3 for Windows. StatSci, a division of Mathsoft, Inc., Seattle, Washington, USA.
- Steward, F. C. [ed.] 1972. *Plant Physiology: A Treatise: Physiology of Development. Volume VI B: The Hormones.* Academic Press. London.
- Sverdrup, H., Warfvinge, P. & Nihlgård, B. 1994. Assessment of soil acidification effects on forest growth in Sweden. *Water, Air and Soil Pollution* 78: 1-36.
- Sweet, G. B., Zaerr, J. B. & Lavender, D. P. [eds] 1974. The effect of Some Manipulation on the Level of Gibberellins in Seedlings Douglas Fir. Forest Service Reprint No. 698 161.4: 174-7.
- Šesták, Z., Čatský, J. & Jarvis, P. G. eds. 1971. *Plant Photosynthetic Production. Manual of Methods.* Dr. W. Junk N. V. Publishers The Hague. Netherlands.
- Šetlík, I. 1996. *Skripta fyziologie rostlin a základy bioenergetiky.* In press.
- Taiz, L. and Zeiger, E. eds. 1991. *Plant Physiology.* The Benjamin/Cummings Publishing Company. California.
- Trewavas, A. 1985. A pivotal role of nitrate and leaf growth in plant development. - In: Baker, N. R., Davies, W. Y., Ong, C. K. [eds]: *Control of Leaf Growth.* Soc. Exp. Biol., Sem. Series 27, Cambridge Univ. Press.
- van den Driessche, R. 1987. Nursery growth of conifer seedlings using fertilisers of different solubilities and application time, and their forest growth. *Can. J. For. Res.*, Vol. 18.: 172-180.
- van den Driessche, R. [ed] 1991. *Mineral nutrition of conifer seedlings.* CRC Press.
- van Hove, L. W. A., Bossen, M. E., Mensink, M. G. J., and van Kooten, O. 1992. Physiological effects of long term exposure to low concentrations of NH<sub>3</sub>, NO<sub>2</sub> and SO<sub>2</sub> on Douglas fir (*Pseudotsuga menziesii*). *Physiologia Plantarum* 86: 559-567.
- Vangelisti, R., Viegi, L. & Renzoni, G. C. 1995. Response of *Pinus pinea* and *P. pinaster* seedling root substrata at different pH values. *Ann. Bot. Fennici* 32: 19-27.

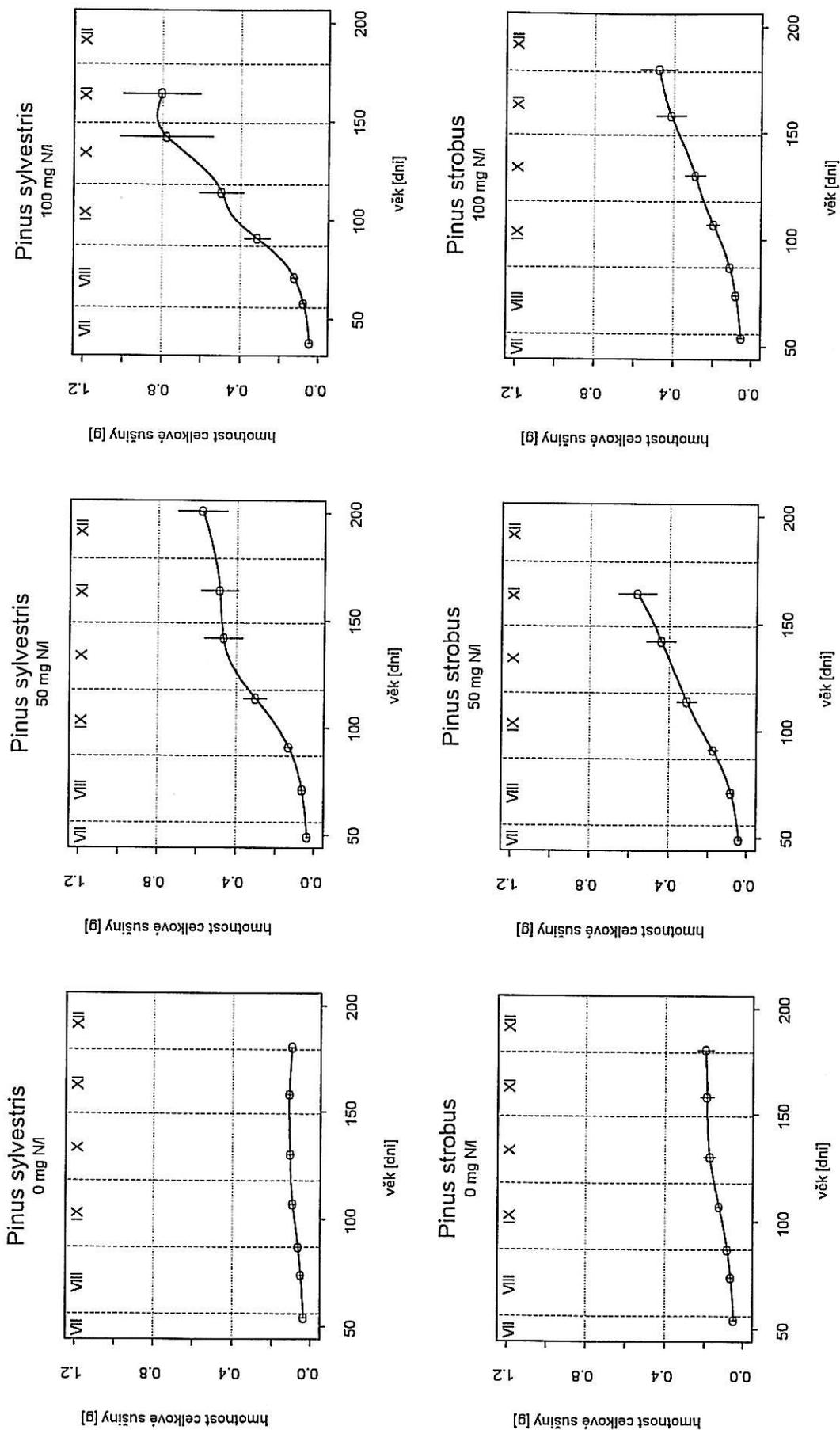
von Evers, F. H. & Hüttl, R. F. 1995. Magnesium-, Calcium- und Kaliummangel bei Waldbäumen - Ursachen, Symptome, Behebung -. Waldschutzmerkblatt 16.

Wareing, P. F. & Phillips, I. D. J. [eds] 1981. Growth and Differentiation in Plants. Pergamon Press.

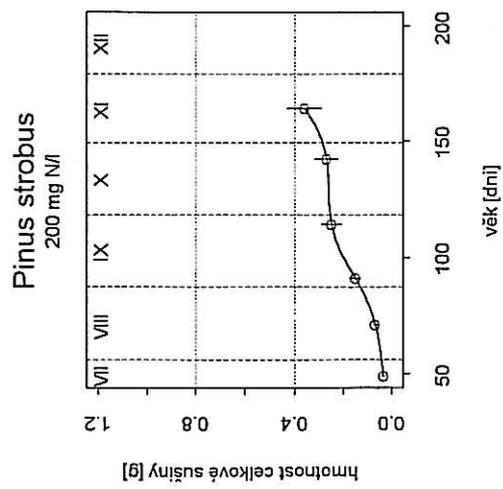
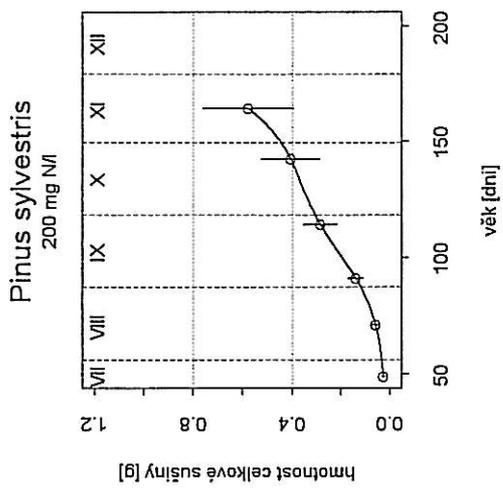
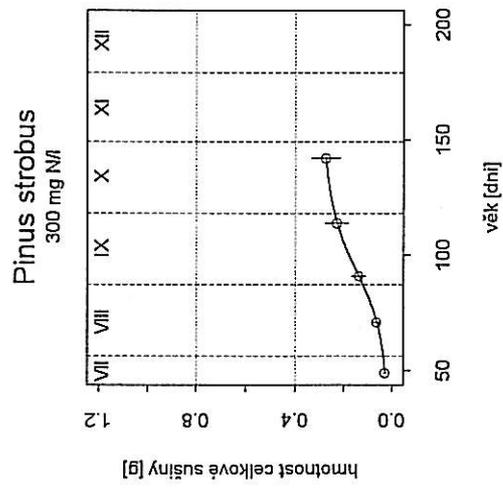
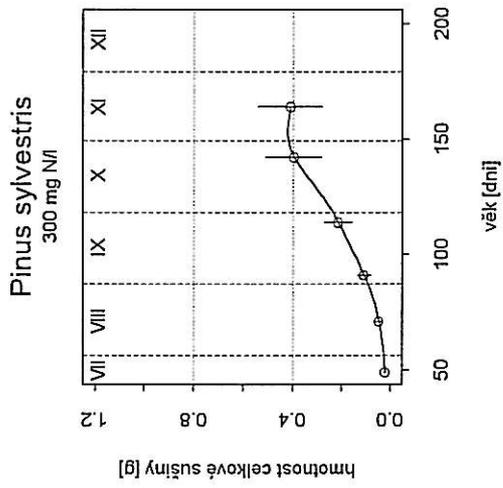
Zar, J.H. (1984): Biostatistical analysis. - Prentice-Hall, Englewood Cliffs, N. J.



**Obr.1.** Křivky závislosti hmotnosti sušiny biomasy na věku semenáčků obou druhů borovic rostoucích v roztoku s různým pH. Bary ukazují 95% konfidenční intervaly. Rozdíly mezi křivkami pro jednotlivé pH jsou signifikantní při  $\alpha < 0,01$ .

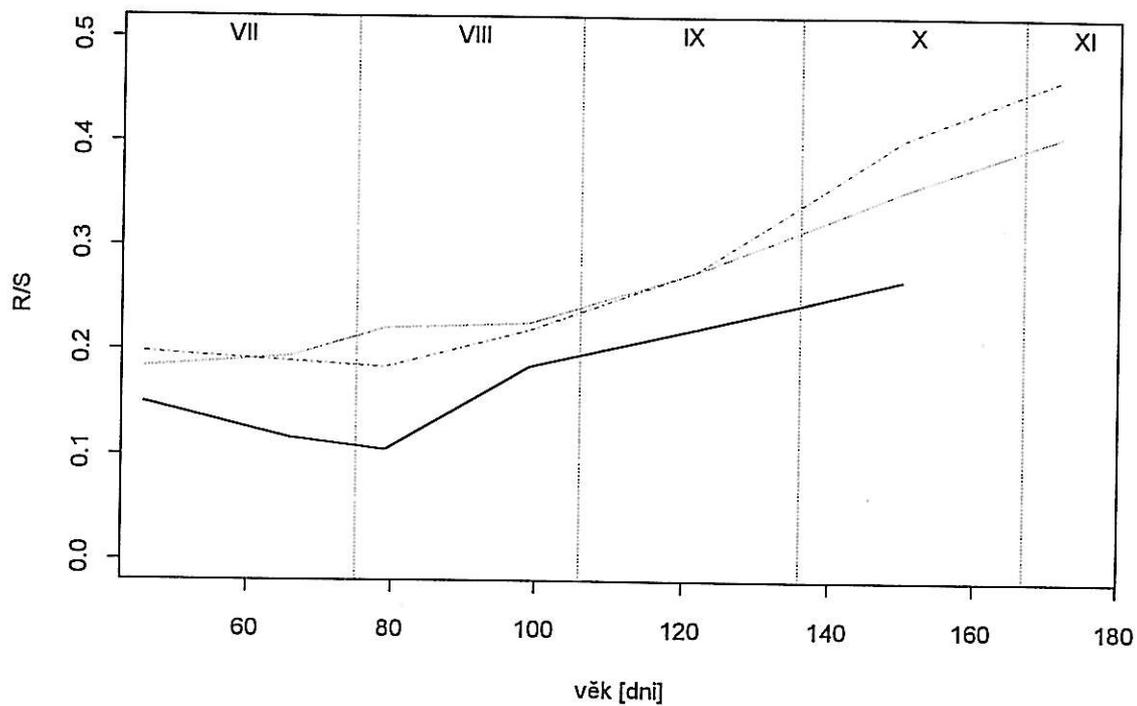


**Obr.2.** Křivky znázorňující změny hmotnosti biomasy semenáčků obou druhů v čase. Semenáčky rostly při různých koncentracích živin v roztoku. 95% konfidenční interval křivky je znázorněn bary. Rozdíly mezi křivkami pro jednotlivé zásahy jsou signifikantní na  $\alpha < 0,01$ .

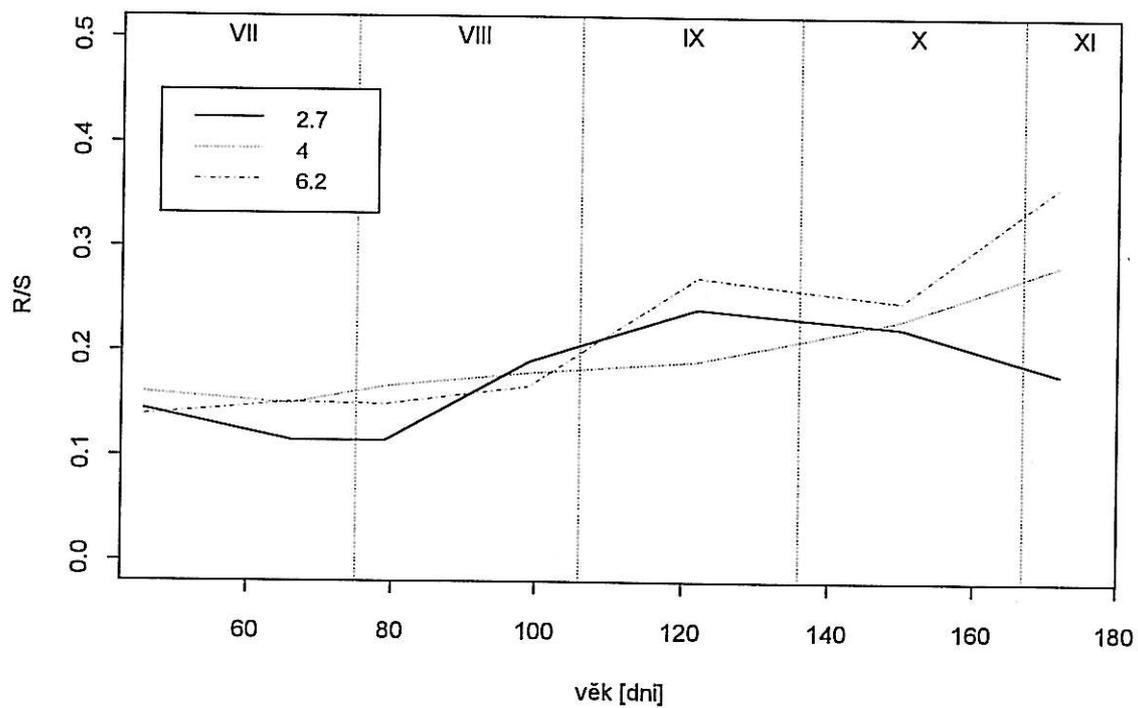


Pokračování obr. 2

### Pinus sylvestris

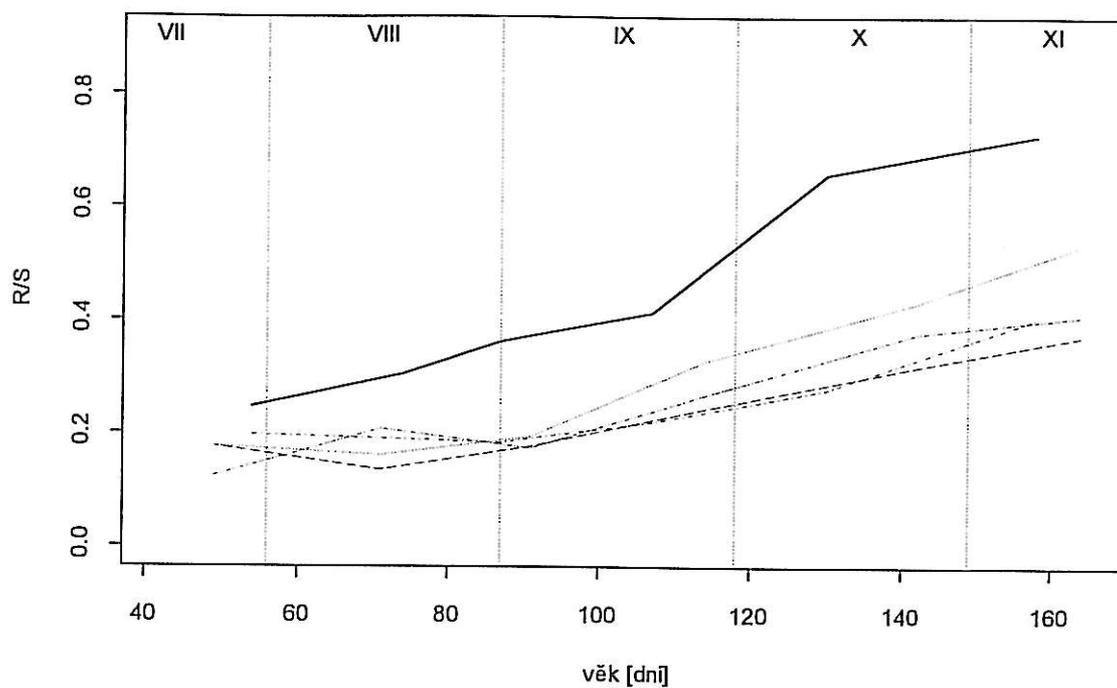


### Pinus strobus

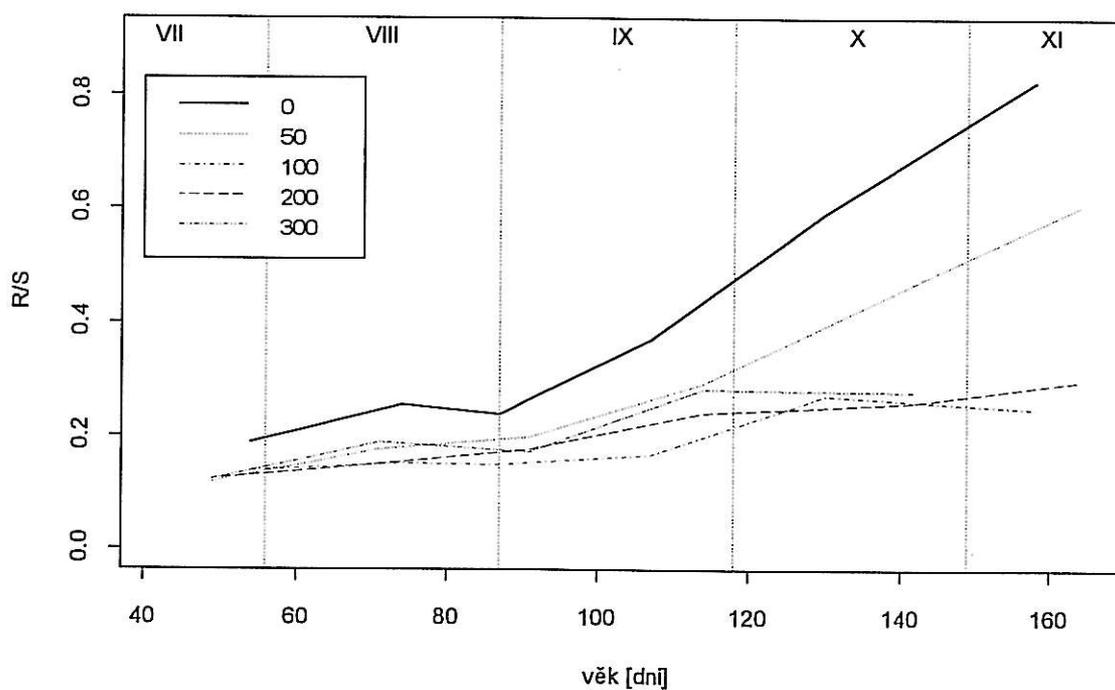


**Obr.3.** Změny poměru hmotnosti nadzemní části a kořenů rostlin *Pinus sylvestris* a *Pinus strobus* v průběhu sezóny pro různé hodnoty pH (uvedeno v legendě). Vertikální síť označuje měsíce v roce.

### Pinus sylvestris

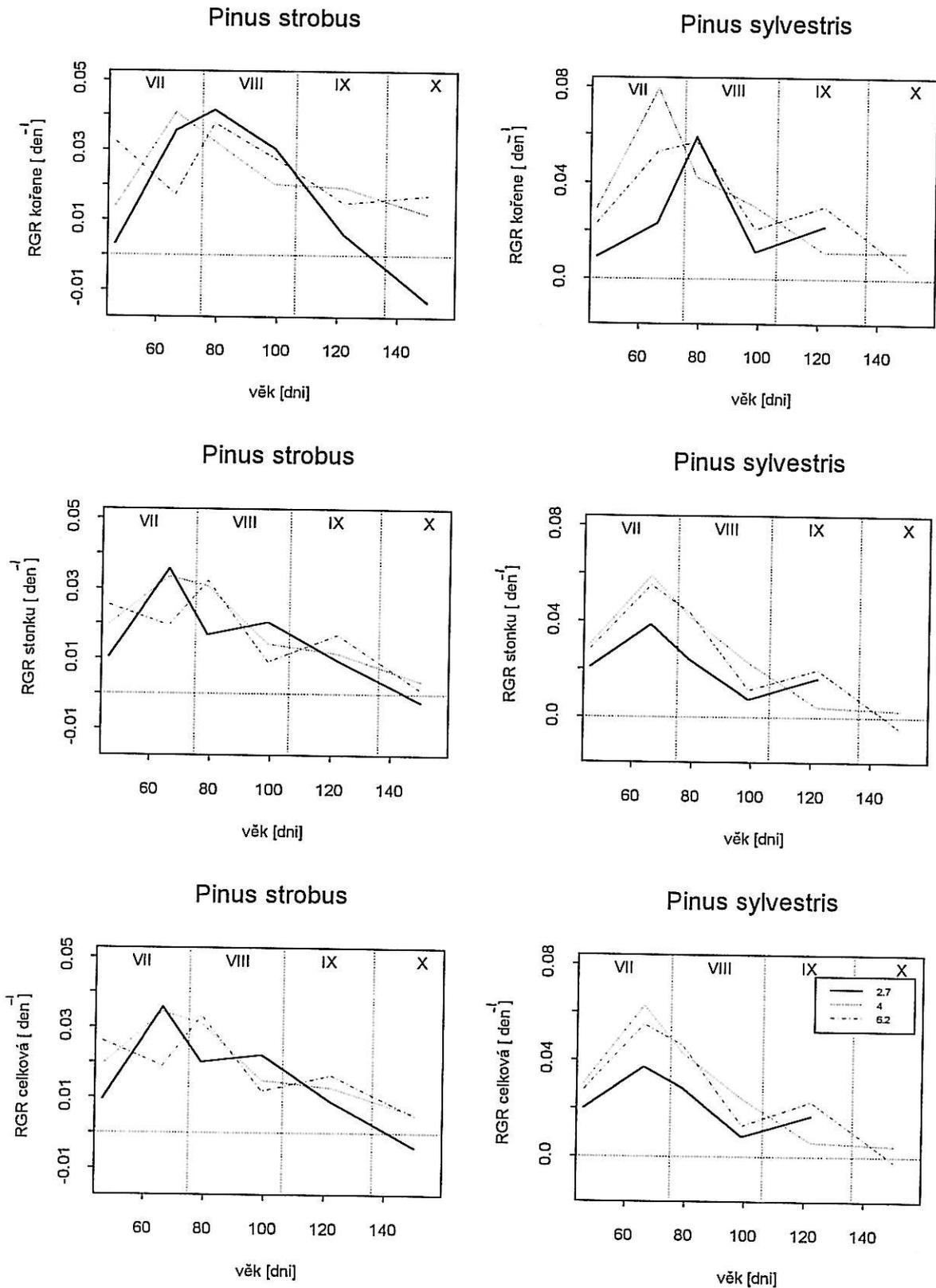


### Pinus strobus

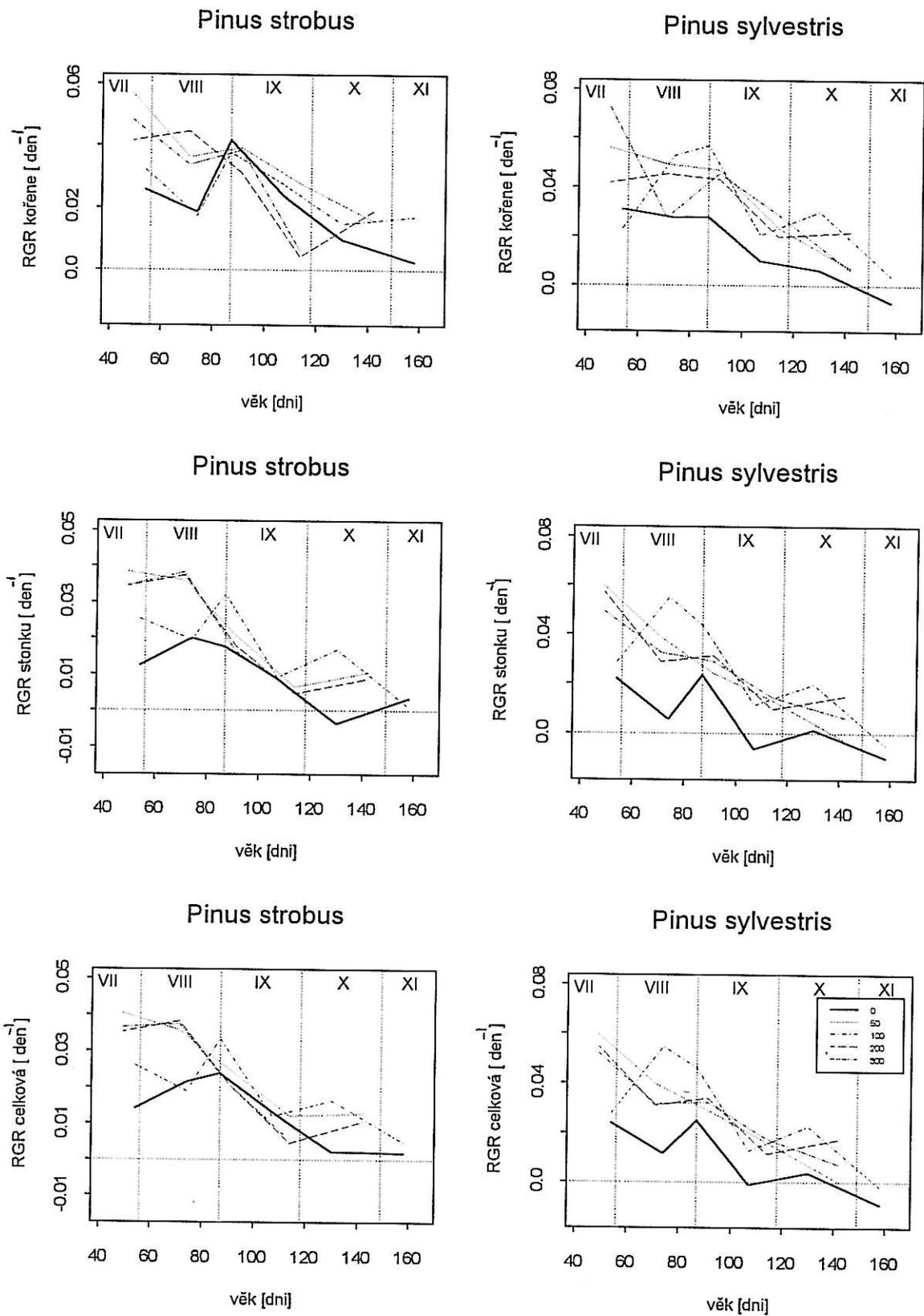


**Obr.4.** Změny poměru hmotnosti nadzemní části a kořenů rostlin *Pinus sylvestris* a *Pinus strobus* v průběhu sezóny pro semenáčky rostoucí v různých koncentracích živin v roztoku (uvedeno v legendě). Vertikální síť označuje měsíce v roce

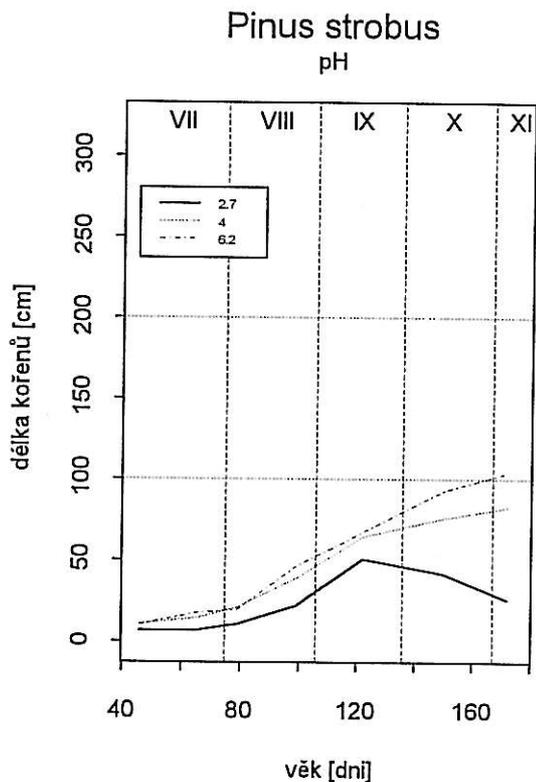
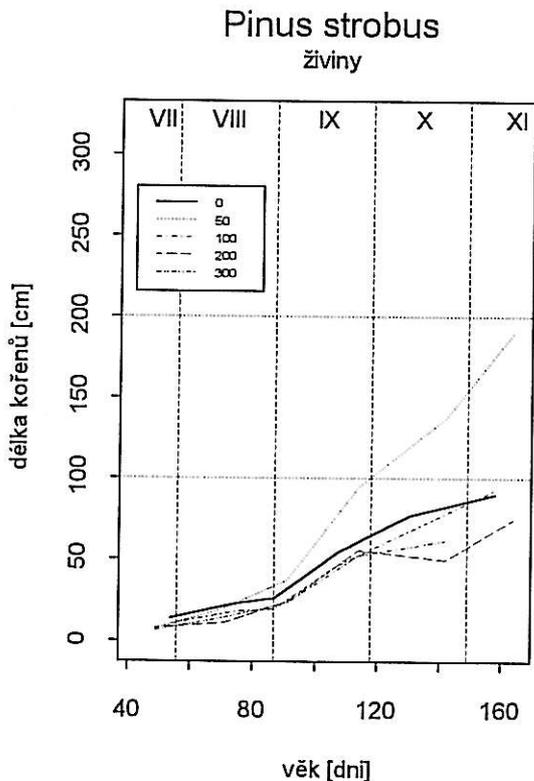
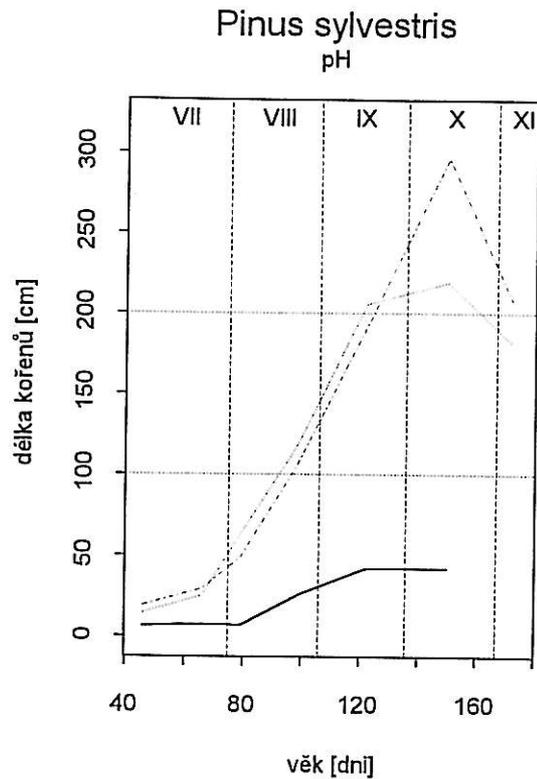
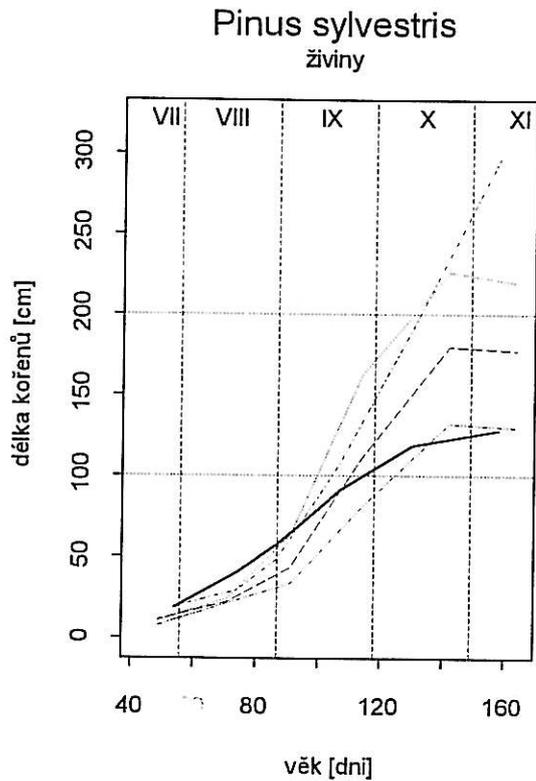




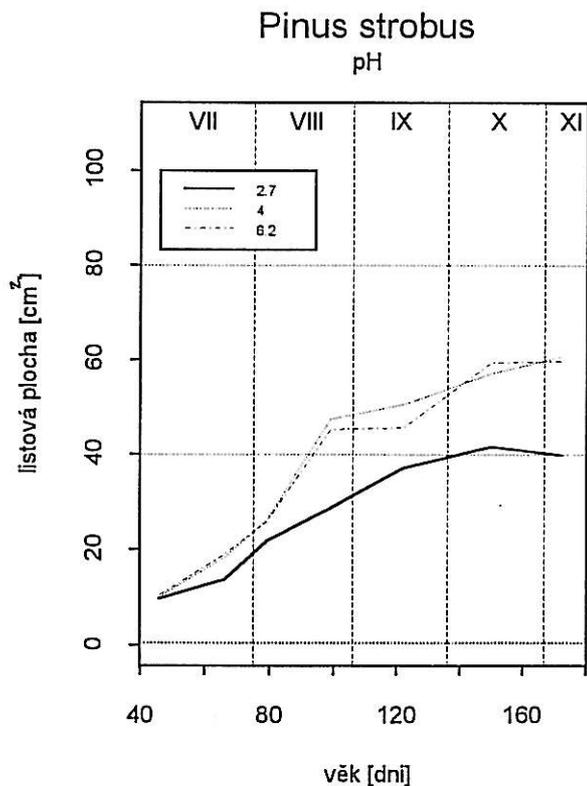
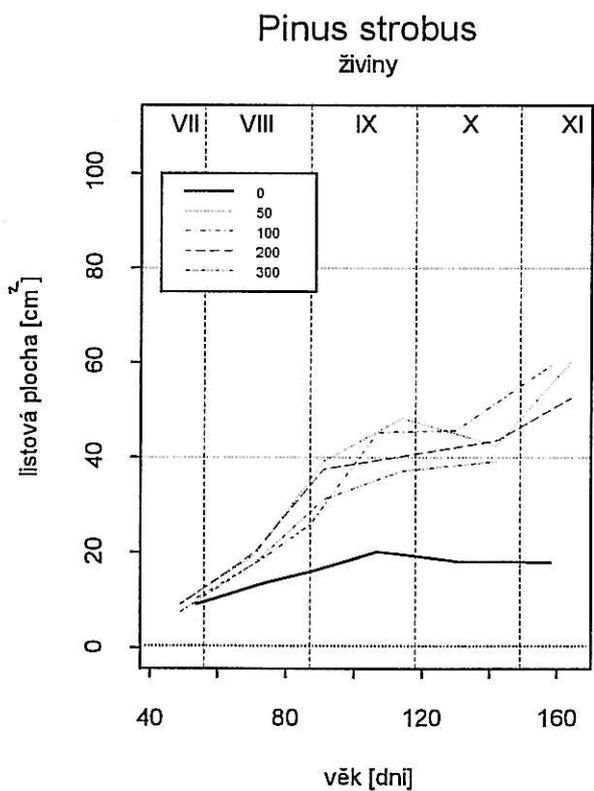
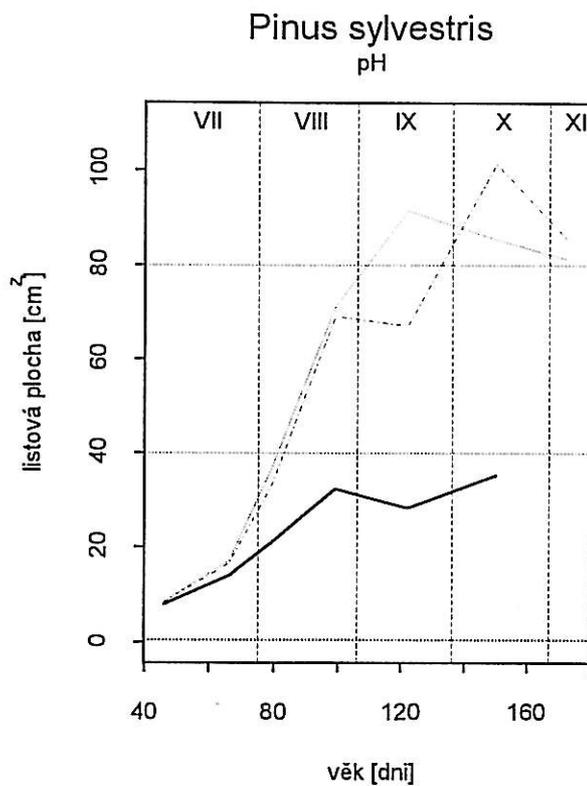
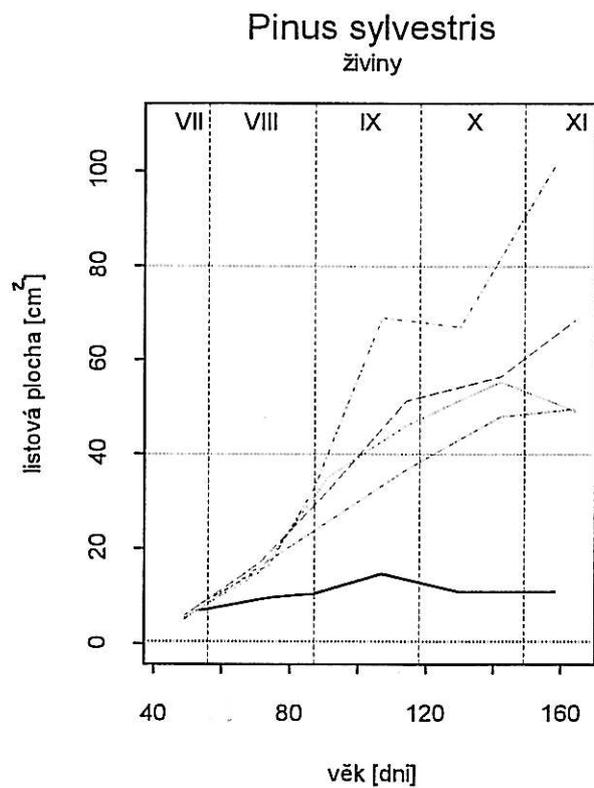
**Obr.5.** Křivky průběhu relativní rychlosti růstu u semenáčků rostoucích při různém pH (v legendě) v průběhu měsíců červenec až říjen. RGR byly vypočítány pro nadzemní část, kořeny a pro celé semenáčky obou druhů.



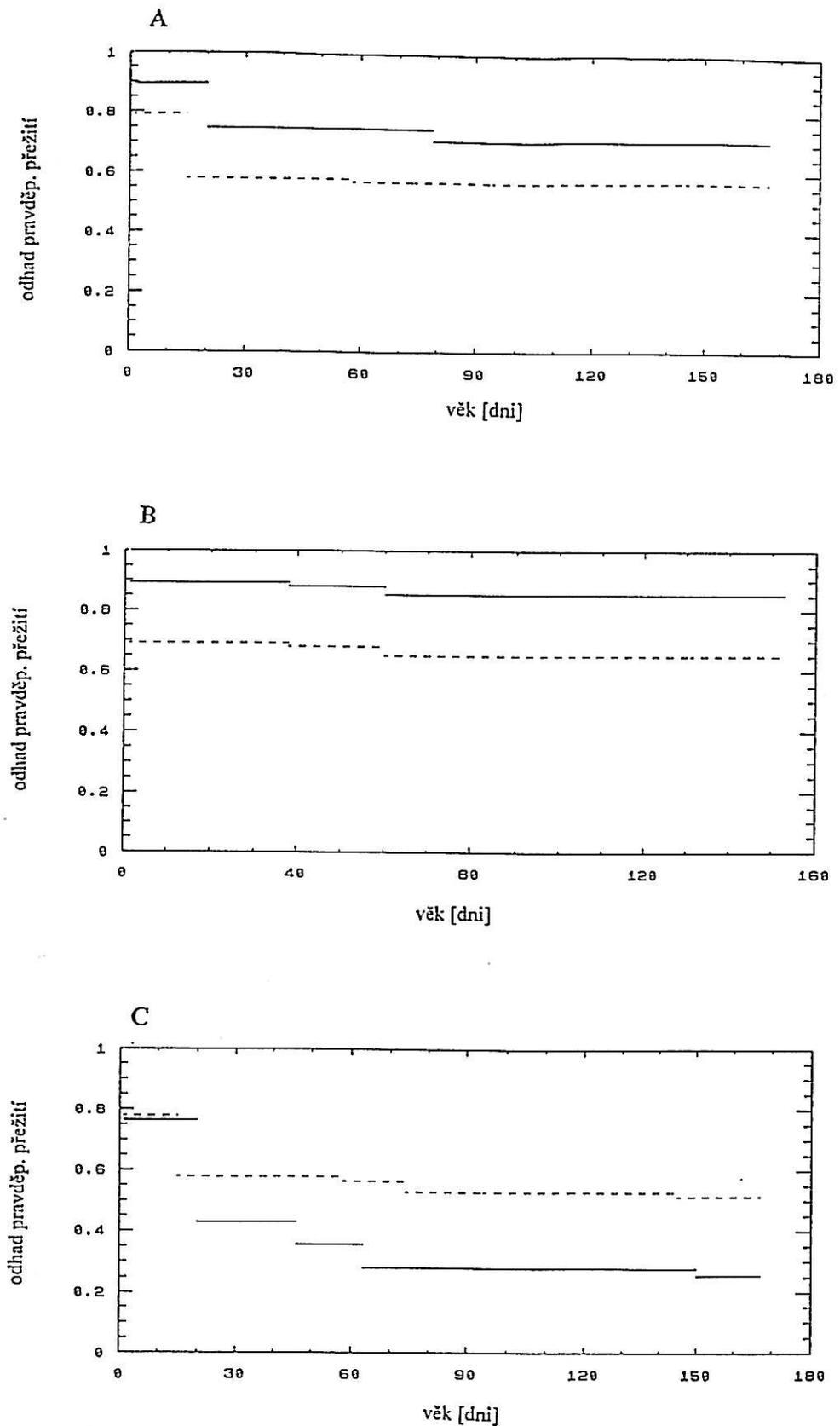
**Obr.6.** Křivky průběhu relativní rychlosti růstu u semenáčků rostoucích při různé koncentraci živin v půdě (koncentrace v legendě jsou v mg N/l) v průběhu měsíců červenec až říjen. RGR byly vypočítány pro nadzemní část, kořeny a pro celé semenáčky obou druhů.



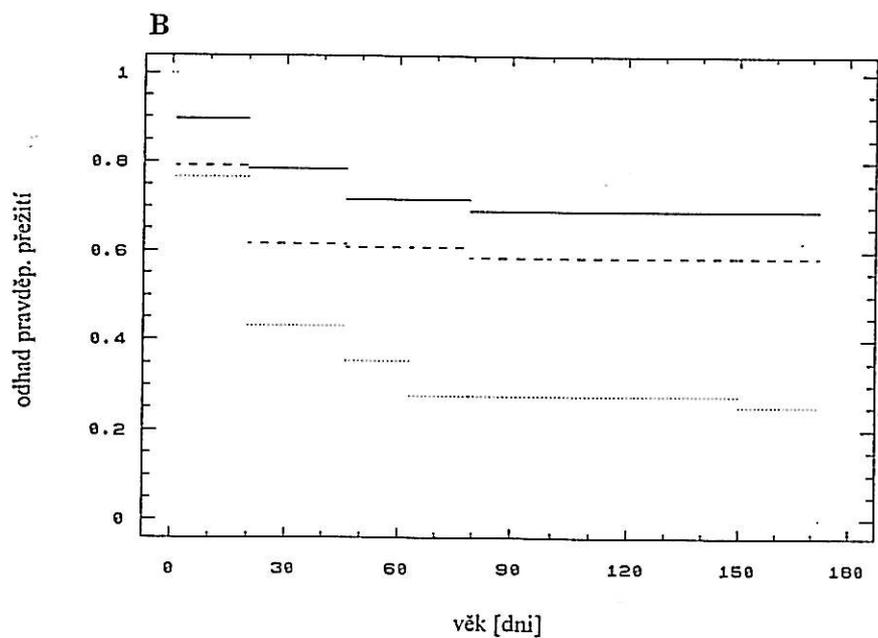
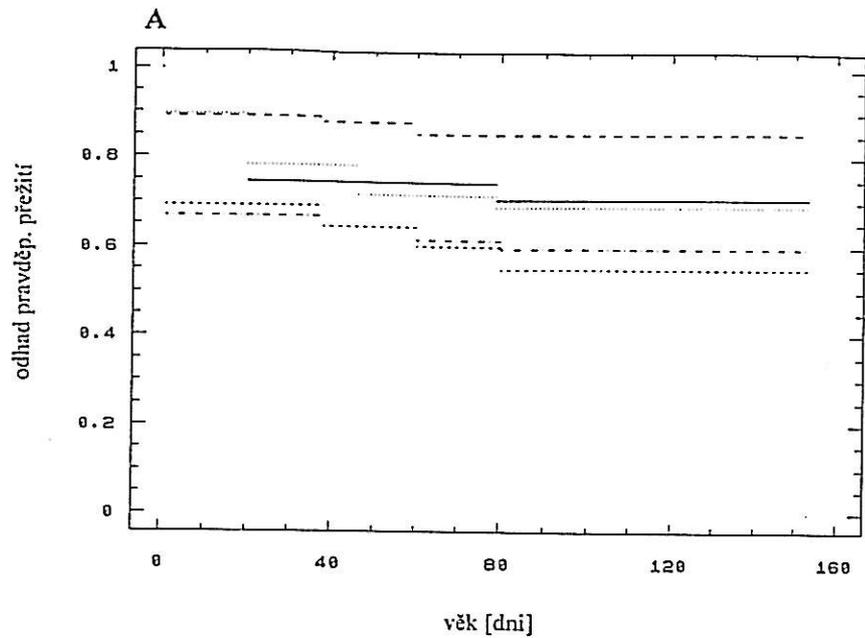
**Obr.7.** Křivky znázorňující závislost délky kořenů na věku semenáčků obou druhů rostoucích při různé koncentraci živin (levá strana) a různém pH (pravá strana). Vertikální síť označuje měsíce v roce, horizontální síť je referenční. Vysvětlení typu čar je v legendách obrázků. Koncentrace živin jsou udávány zkratkou (viz tab.1) v mg N/l.



**Obr.8.** Křivky znázorňující závislost velikosti plochy primárních jehlic na věku semenáčků obou druhů rostoucích při různé koncentraci živin (grafy na levé straně) a různém pH (grafy na pravé straně). Referenční síť je vysvětlena v obr.7.



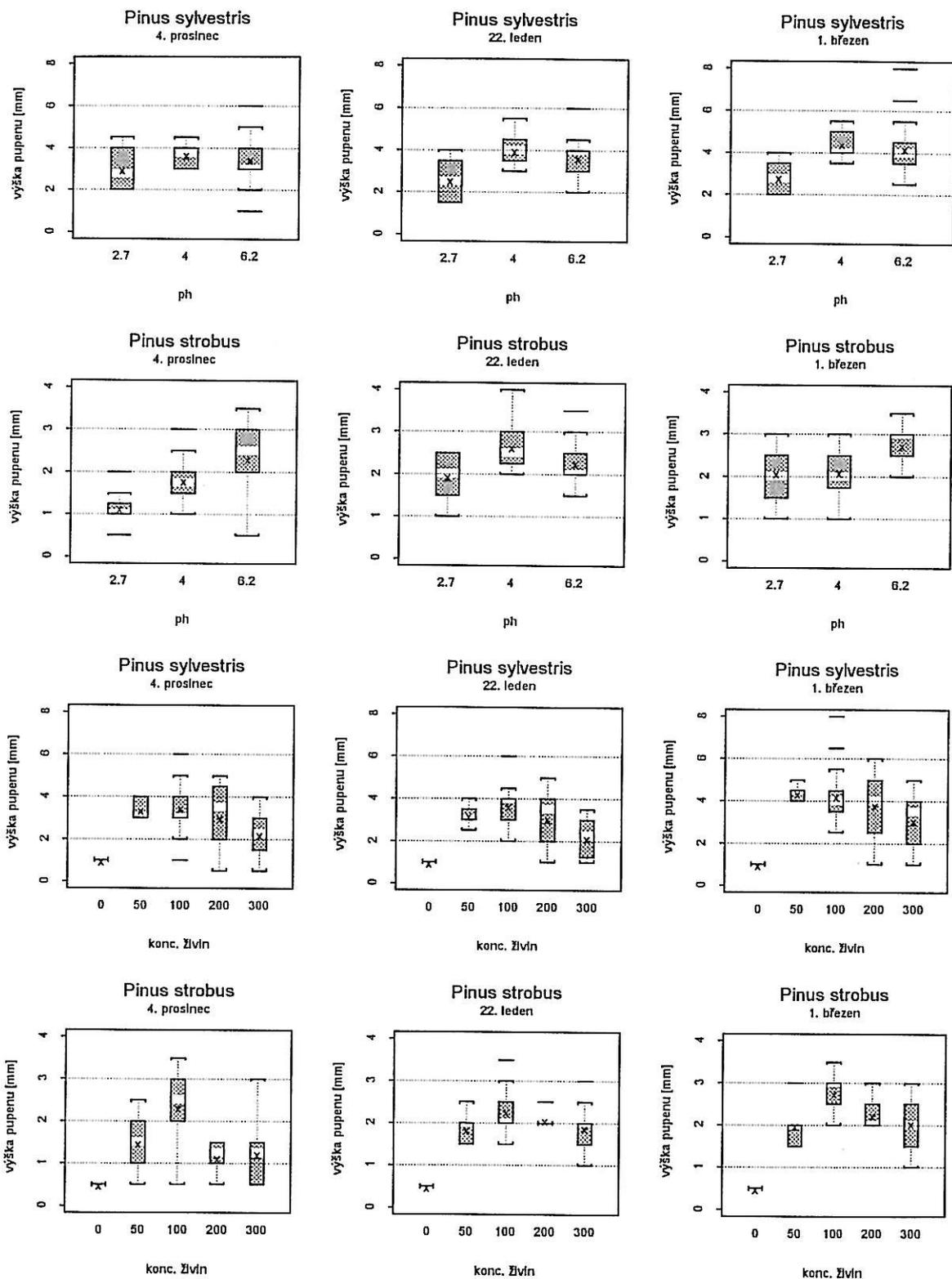
Obr.9. Výsledky analýzy přežívání pro druhy *Pinus sylvestris* a *Pinus strobus*: A pro semenáčky rostoucí v destilované vodě, B pro semenáčky rostoucí v půdě s koncentrací živin 50 mg N/l, a C pro semenáčky rostoucí v půdě s kyselostí pH=2,7. (*Pinus sylvestris* —————, *Pinus strobus* - - - -). Ve všech zobrazených případech byl zjištěn signifikantní rozdíl v přežívání druhů *Pinus sylvestris* a *Pinus strobu*. ( $\alpha < 0,05$ ).



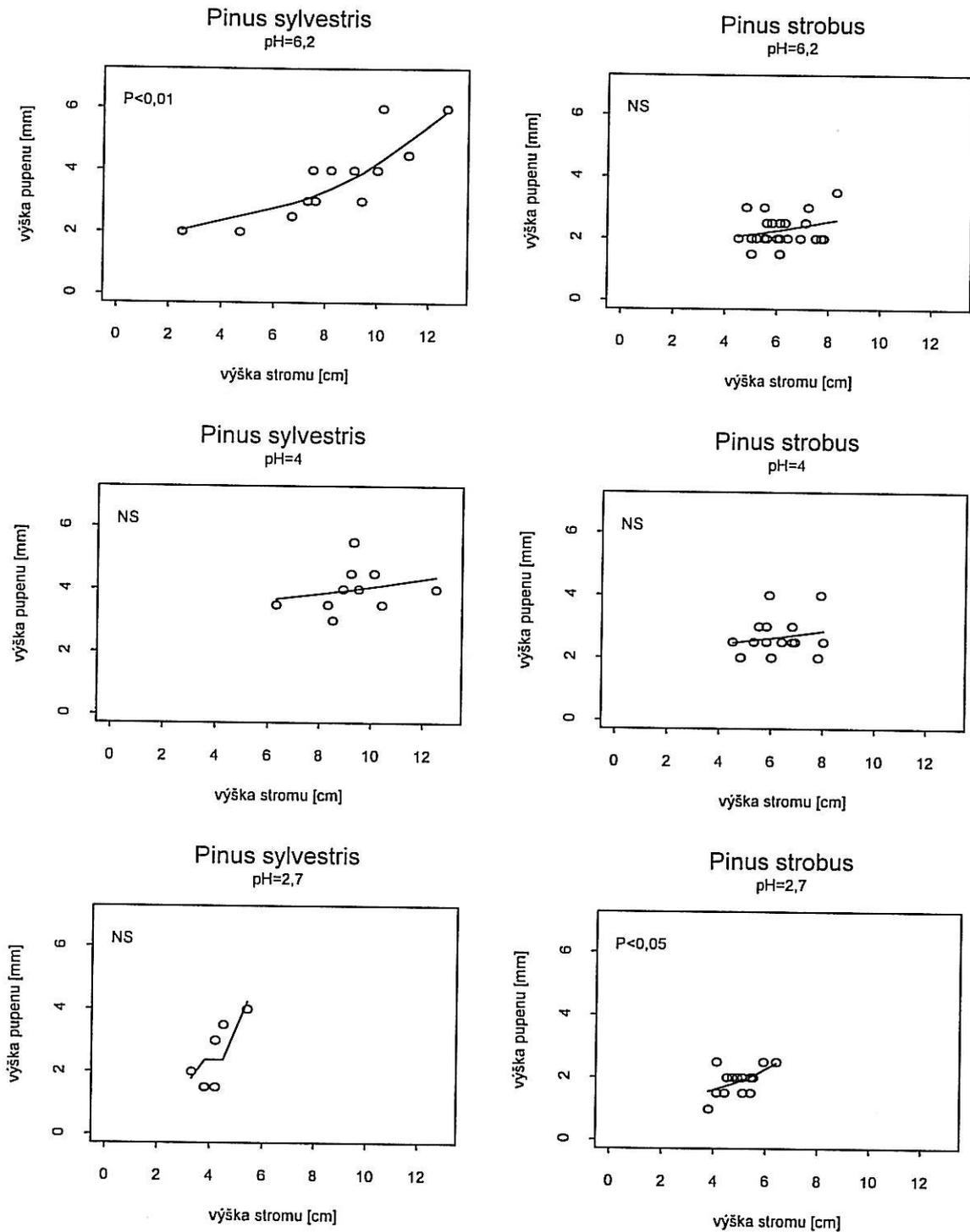
**Obr.10.** Výsledky analýzy přežívání pro druh *Pinus sylvestris*. ( $\alpha < 0,05$ ).

Graf A ukazuje výsledky analýzy přežívání v půdě různou koncentraci živin (— 0 mg N/l, - - - - 50 mg N/l, ..... 100 mg N/l, - . - . - 200 mg N/l a - - - - - 300 mg N/l ;

B odhad pravděpodobnosti přežívání v půdě s různým pH (— 6,2; - - - 4 a . . . . . 2,7 ). V obou zobrazených případech byl zjištěn signifikantní rozdíl v přežívání semenáčku druhu *Pinus sylvestris* v různých zásadách (pH i koncentrace živin) ( $\alpha < 0,05$ ).

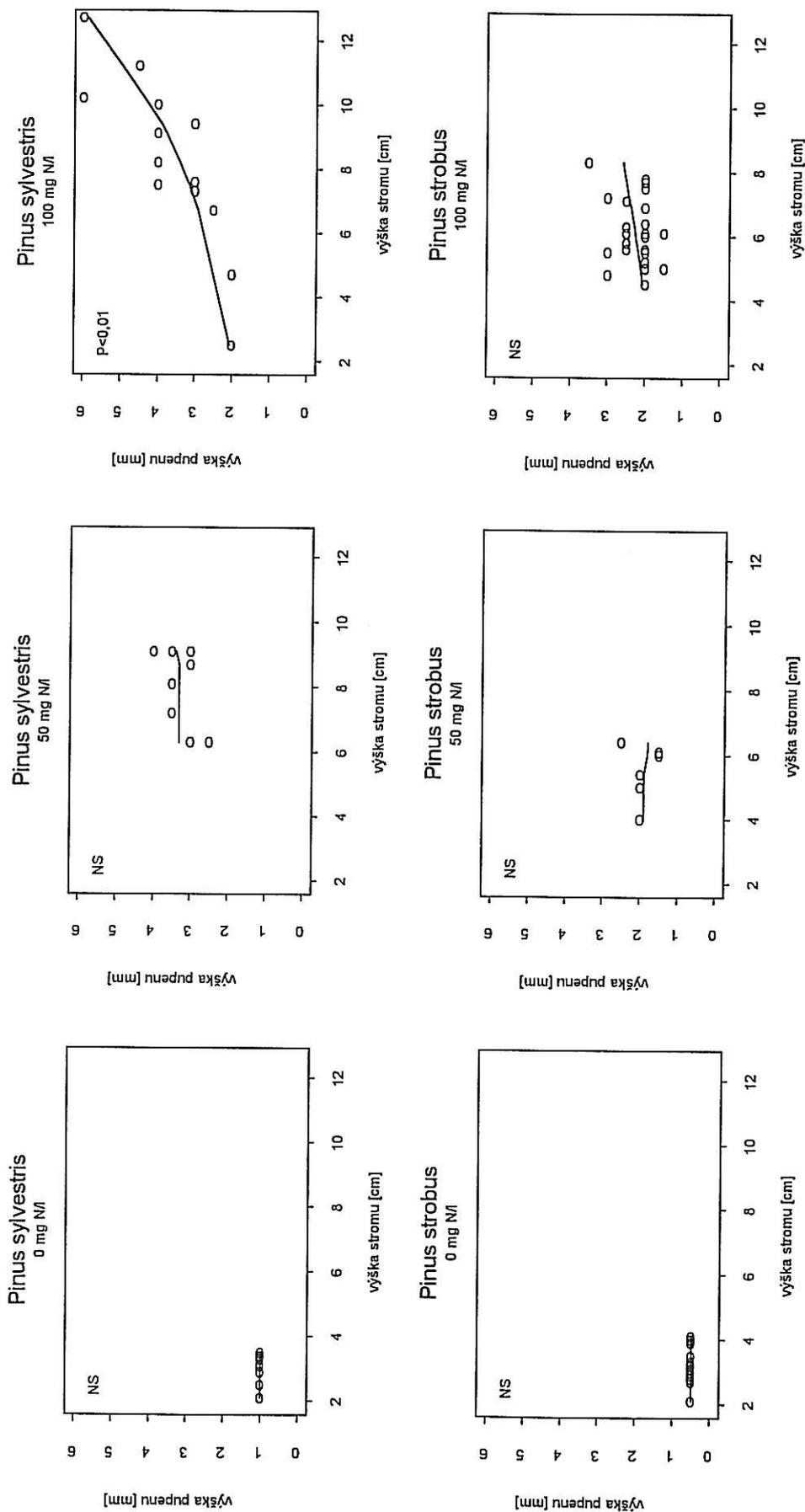


**Obr.11.** Box plot znázorňující změny výšky pupenů v zimním období u semenáčků *Pinus sylvestris* a *Pinus strobus*, rostoucích půdě s různou koncentrací živin (dolní část) a s různým pH (horní část obrázku). Rozdíly mezi zásahy i mezi druhy jsou signifikantní na hladině významnosti  $\alpha=0,01$  (v obou případech). Průměrné hodnoty počtu větví jsou vyznačeny křížkem, medián je označen bílým proužkem.

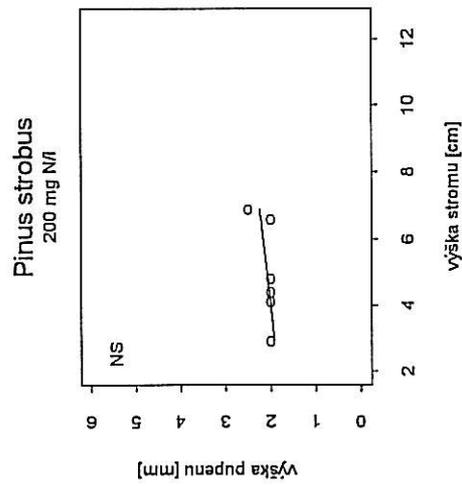
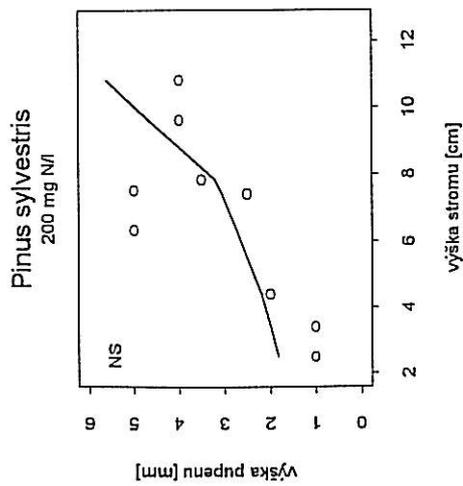
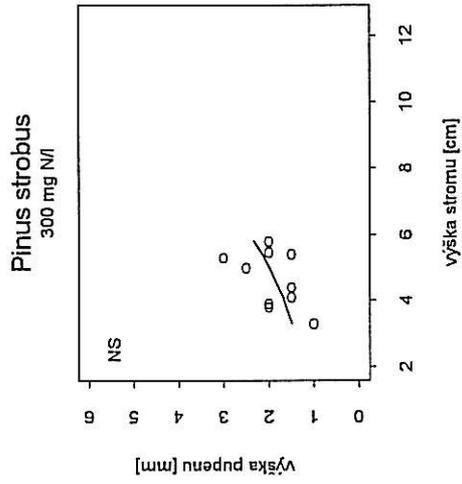
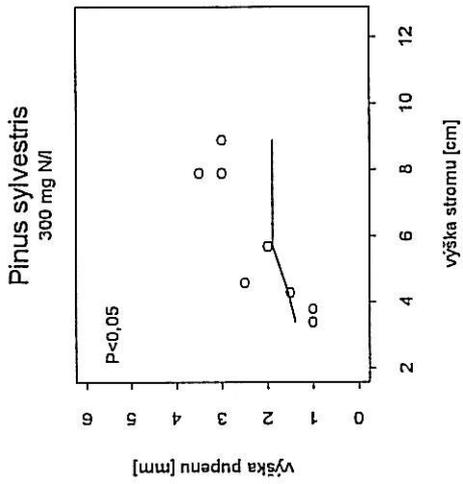


**Obr.12.** Grafy závislosti výšky terminálního pupenu na výšce stromu v období dormance (22.ledna). Semenáčky obou druhů byly pěstovány v půdě s různým pH (pH půdy je uvedeny v záhlaví grafů, spolu s jménem druhů). V levém horním rohu jsou zobrazeny výsledky testů analýzy variance pro jednotlivé zásahy. K znázornění trendu byla data proložena křivka (metodou Lowess v programu S-Plus).

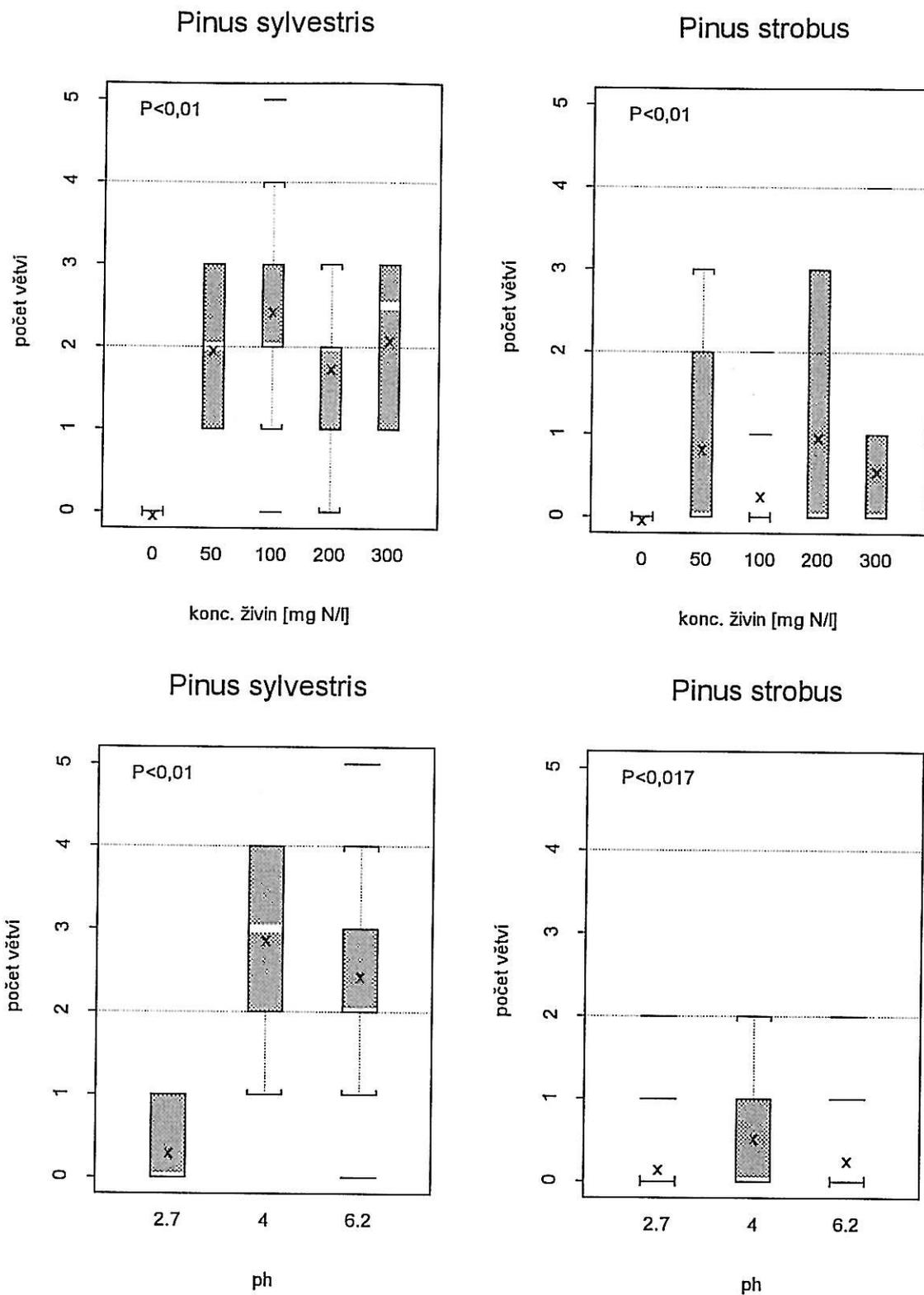




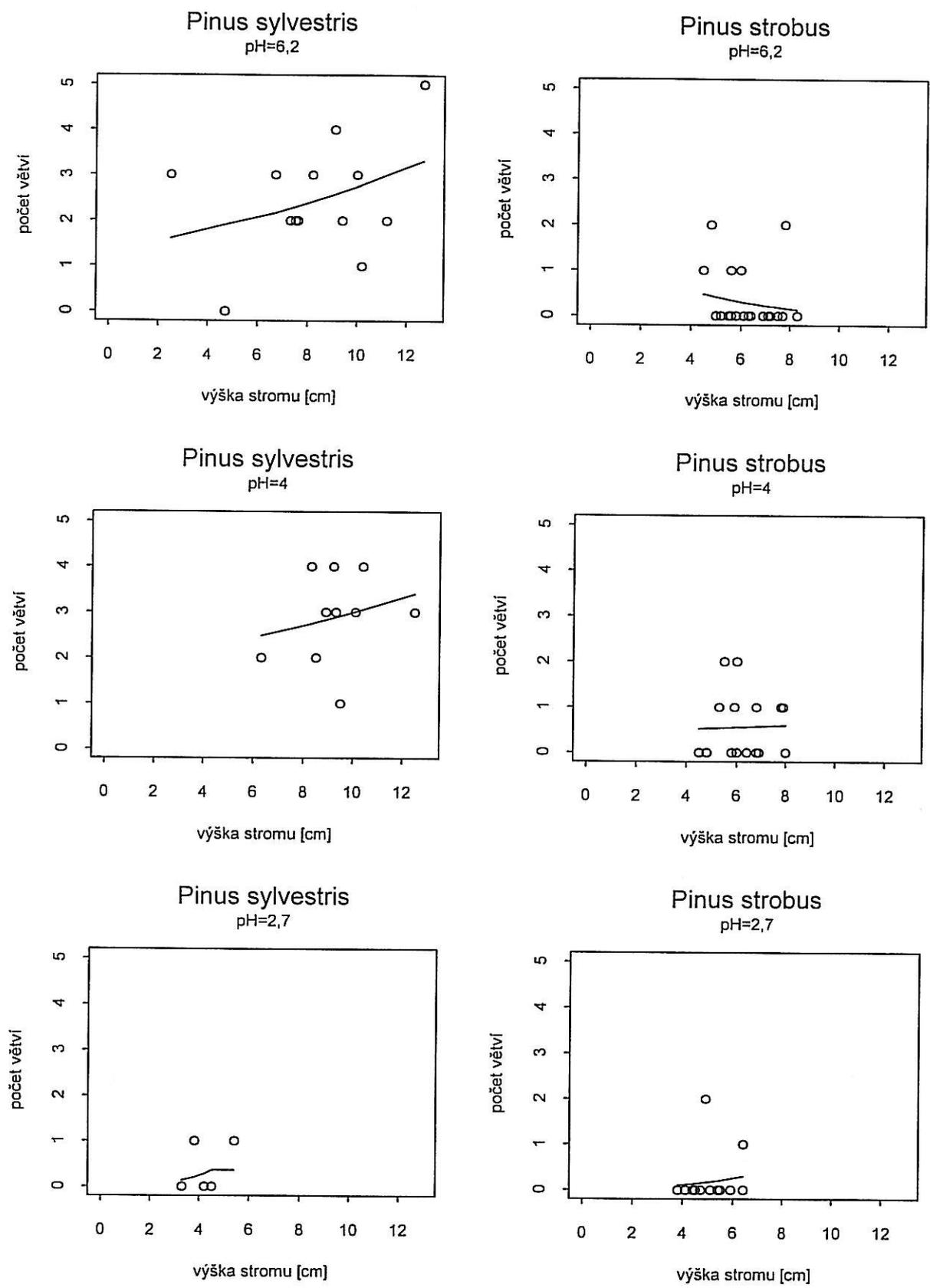
**Obr.13.** Grafy závislosti výšky terminálního pupenu na výšce stromu v období dormance (22.ledna). Semenačky obou druhů byly pěstovány v půdě s různou koncentrací živin (koncentrace živin v půdě jsou uvedeny v záhlaví grafů, spolu s jménem druhů). V levém horním rohu jsou zobrazeny výsledky testů analýzy variance pro jednotlivé zásahy. K znázornění trendu byla data proložena křivka (metodou Lowess v programu S-Plus).



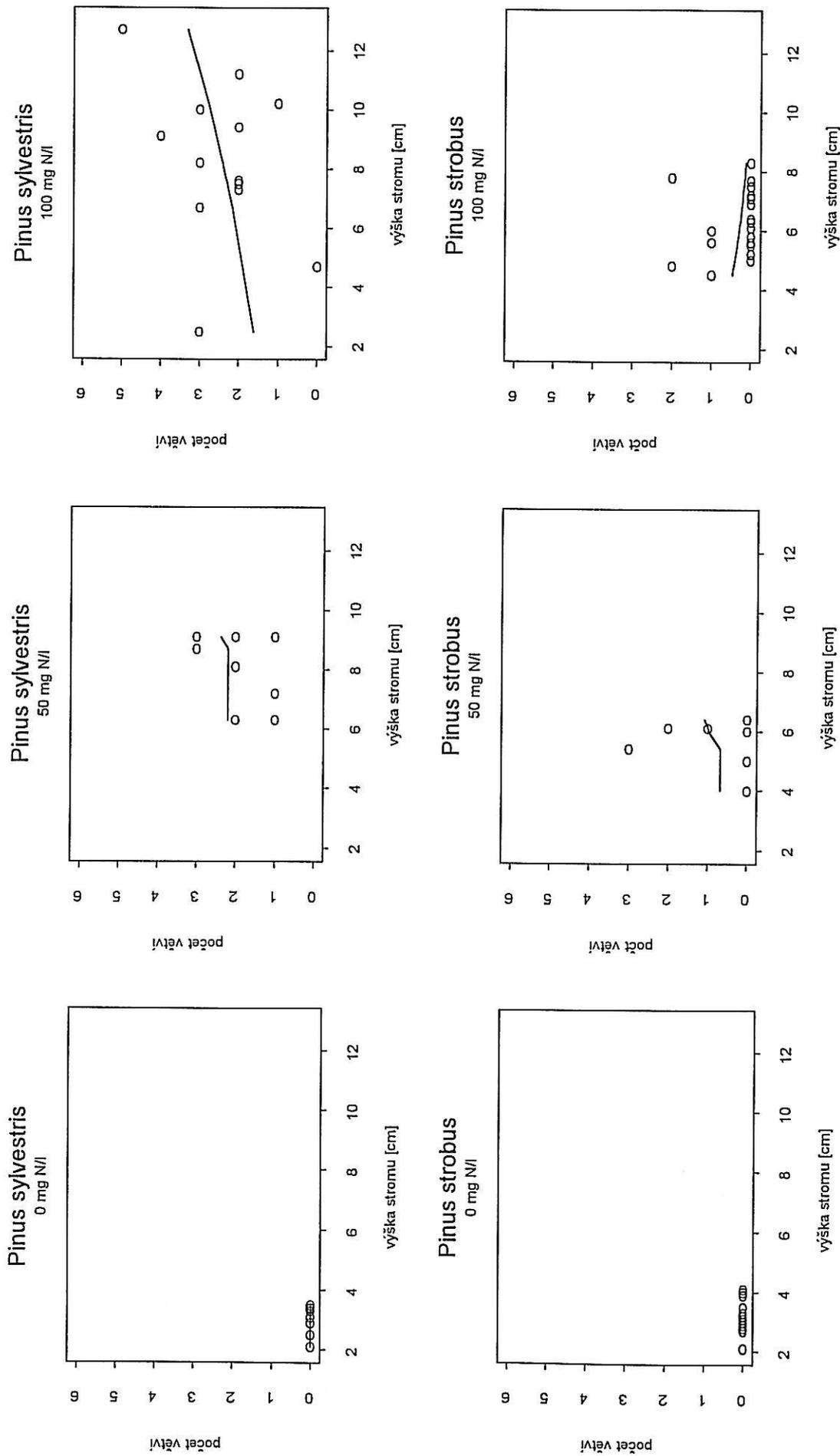
Pokračování obr.13.



**Obr.14.** Box plot pro počet laterálních větví u semenáčků *Pinus sylvestris* a *Pinus strobus* rostoucích při různých koncentracích živin v půdě (horní polovina obrázku) a při různém pH půdy (dolní polovina obrázku). Rozdíly mezi druhy byly signifikantní na  $\alpha \leq 0,01$ , výsledky testů rozdílů mezi jednotlivými zásahy jsou uvedeny v levém horním rohu obrázků. Průměrné hodnoty počtu větví jsou vyznačeny křížkem, medián je označen bílým proužkem.

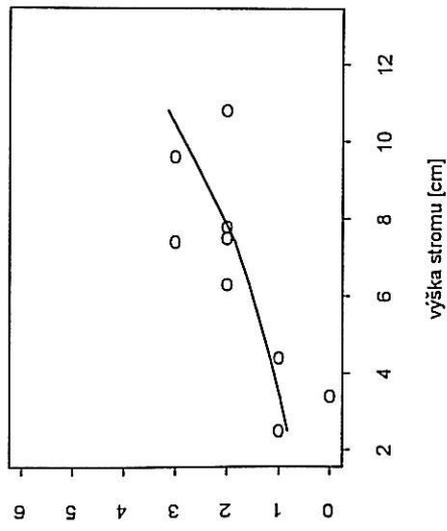


**Obr.15.** Grafy závislostí počtu laterálních větví na výšce stromu u semenáčků obou druhů borovic rostoucích při různém pH. K znázornění trendu byla data proložena křivka (metodou Lowess v programu S-Plus).

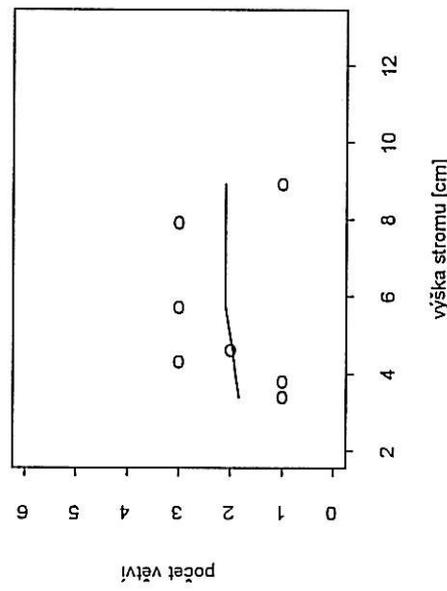


**Obr.16.** Grafy závislosti počtu laterálních větví na výšce stromu u semenáčků obou druhů borovic rostoucích v půdě s různou koncentrací živin. K znázornění trendu byla data proložena křivka (metodou Lowess v programu S-Plus).

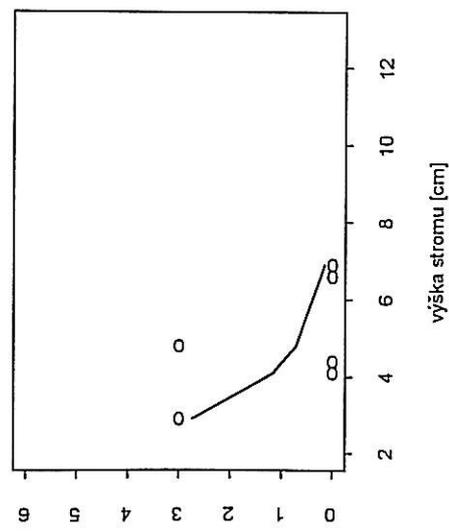
Pinus sylvestris  
200 mg N/l



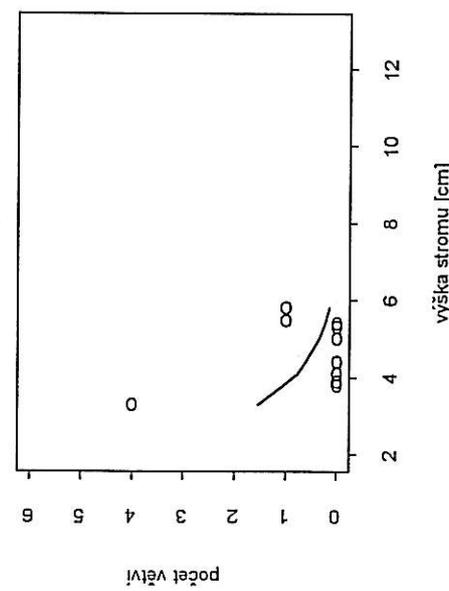
Pinus sylvestris  
300 mg N/l



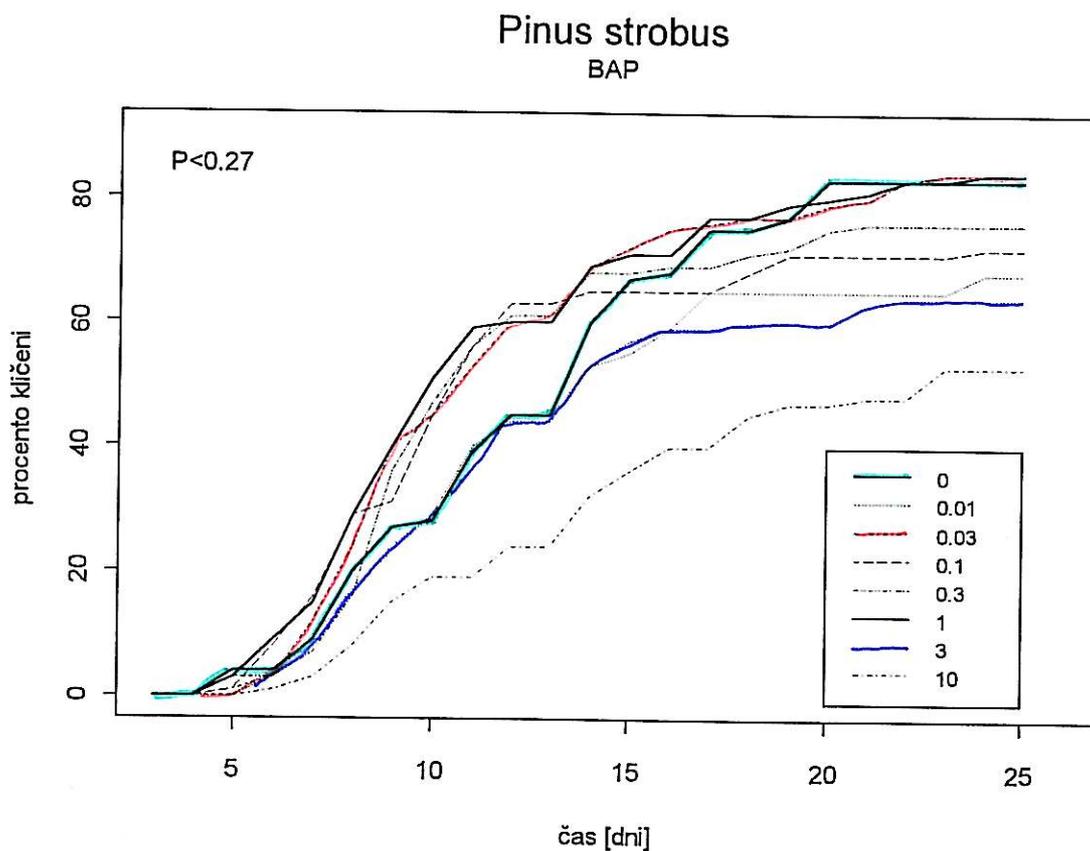
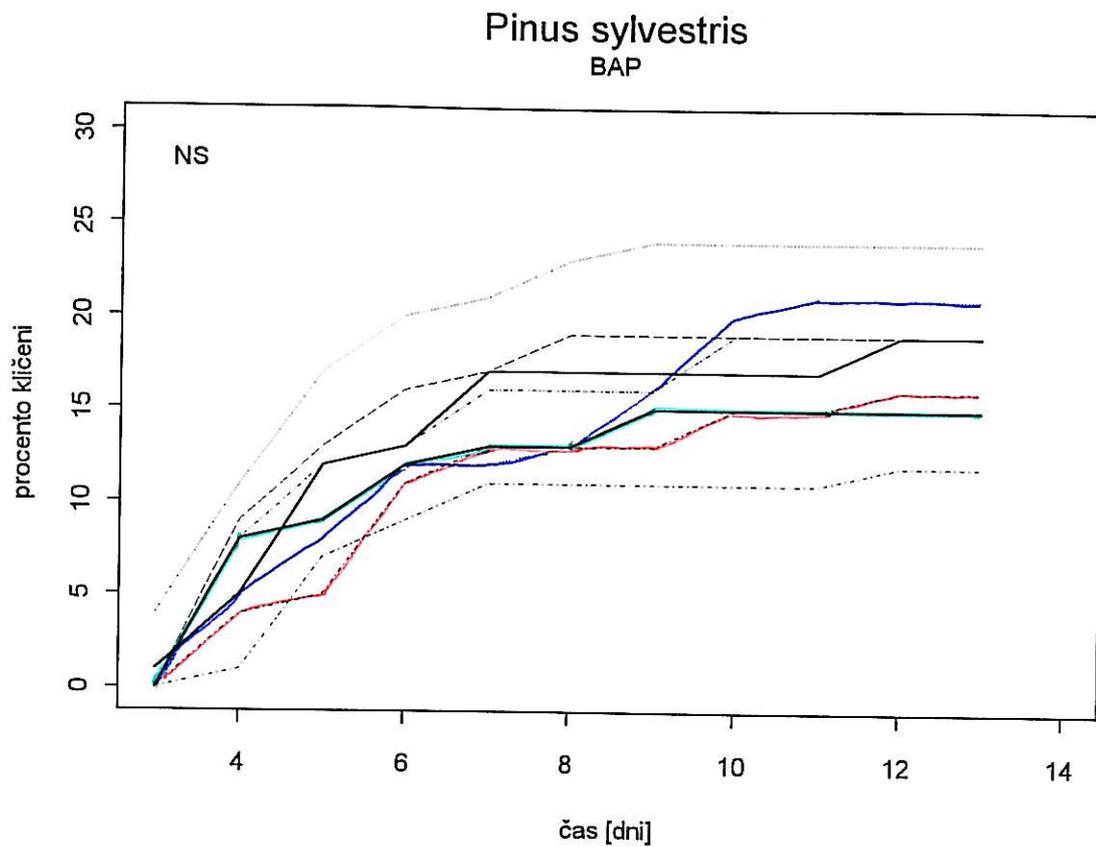
Pinus strobus  
200 mg N/l



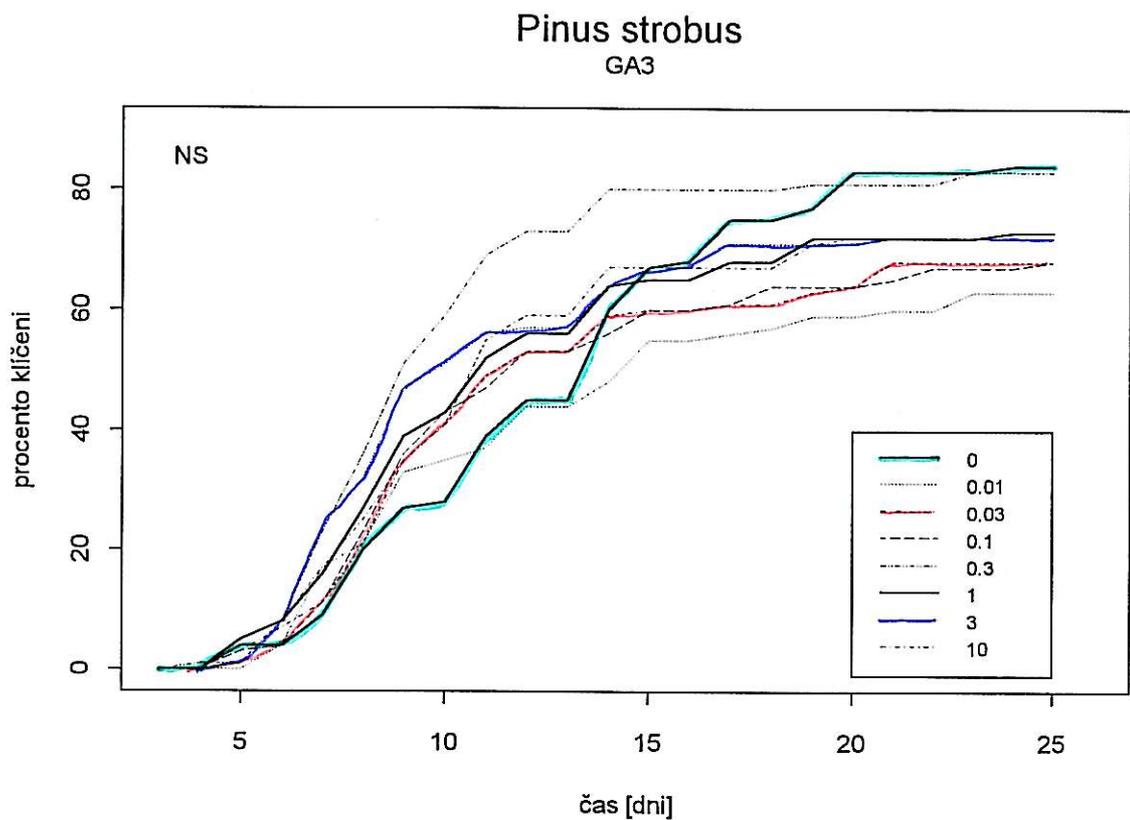
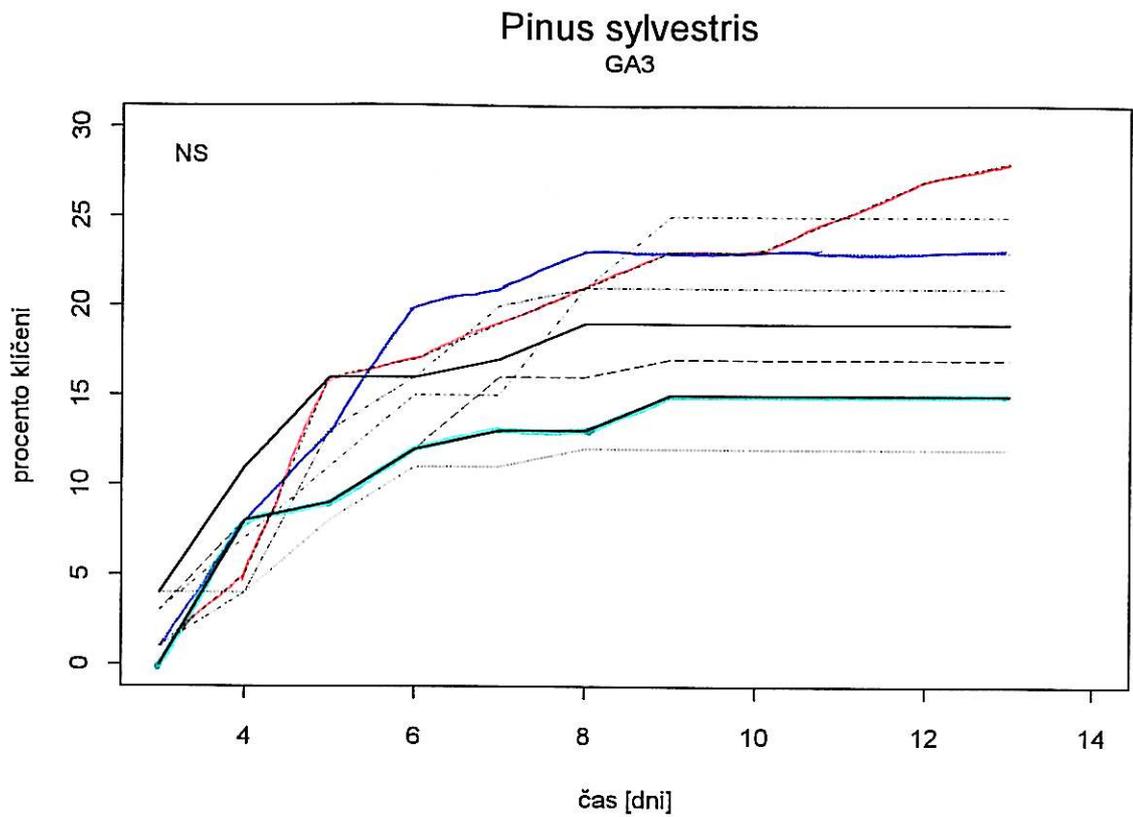
Pinus strobus  
300 mg N/l



Pokračování obr.16.



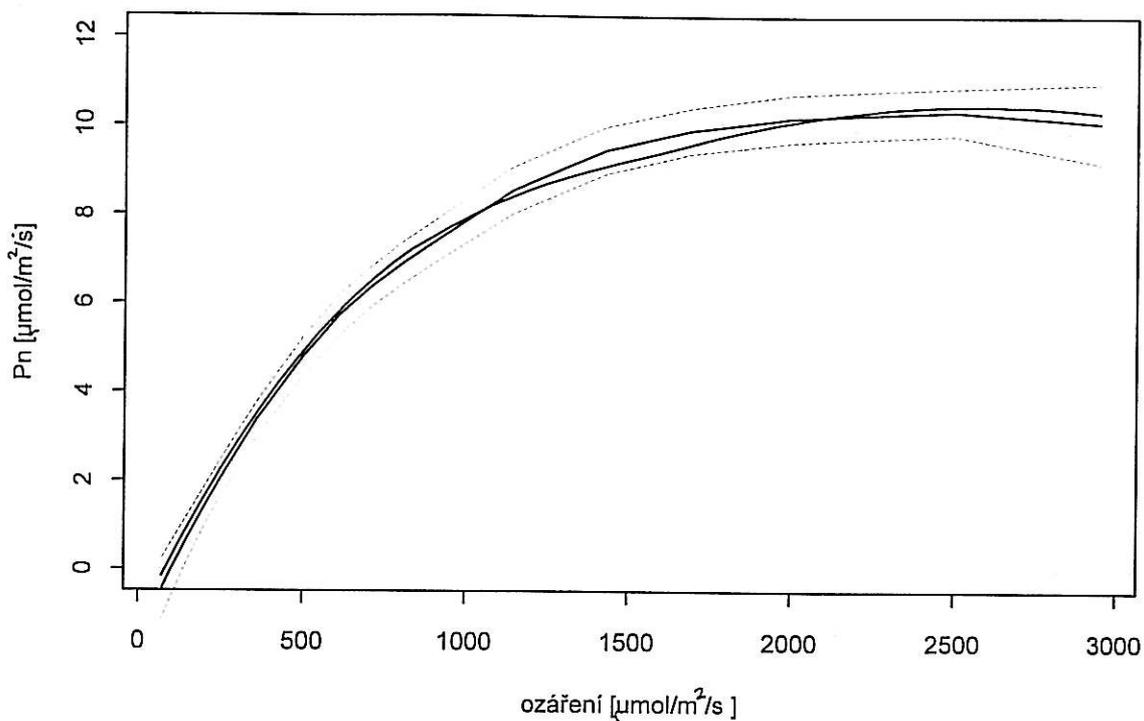
**Obr.17.** Křivky znázorňující vliv koncentrace BAP na klíčení semen *Pinus sylvestris* (horní obrázek) a *Pinus strobus* (dolní obrázek). Koncentrace fytohormonu v legendě dolního obrázku jsou udávány v množství hormonu [mg] v litru roztoku. Koncentrace 0 mg/l je považována za kontrolu.



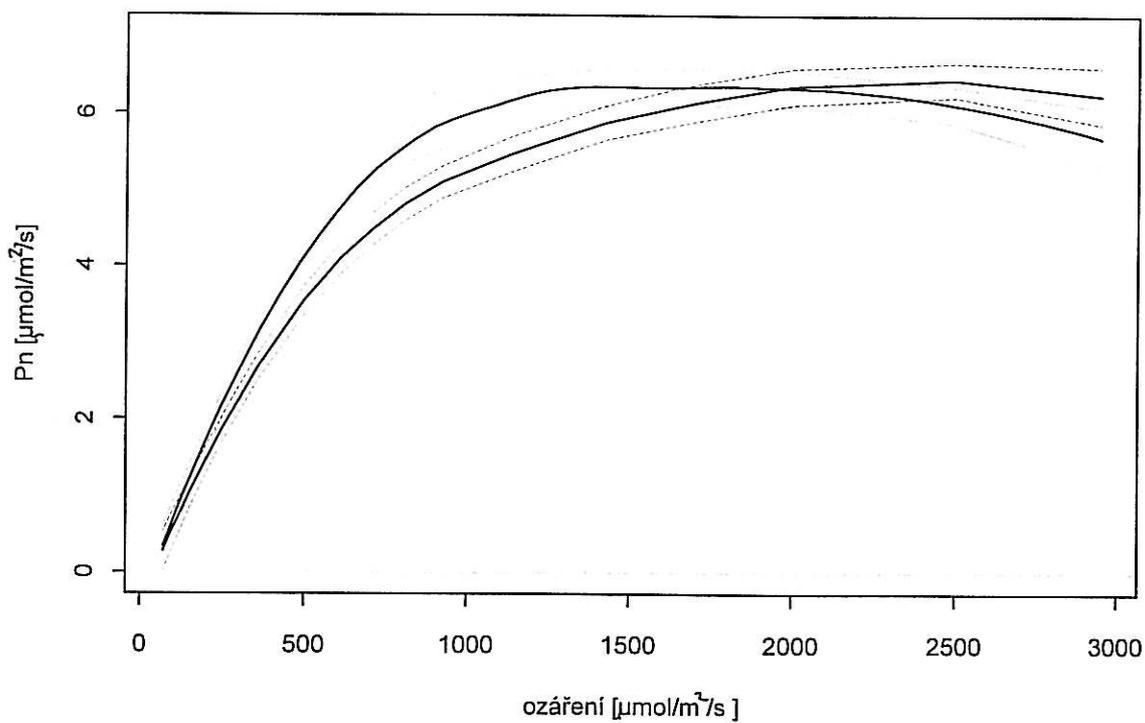
**Obr. 18.** Křivky znázorňující vliv koncentrace GA3 na klíčení semen *Pinus sylvestris* (horní obrázek) a *Pinus strobus* (dolní obrázek). Koncentrace fytohormonu v legendě dolního obrázku jsou udávány v množství hormonu [mg] v litru roztoku. Koncentrace 0 mg/l je považována za kontrolu.



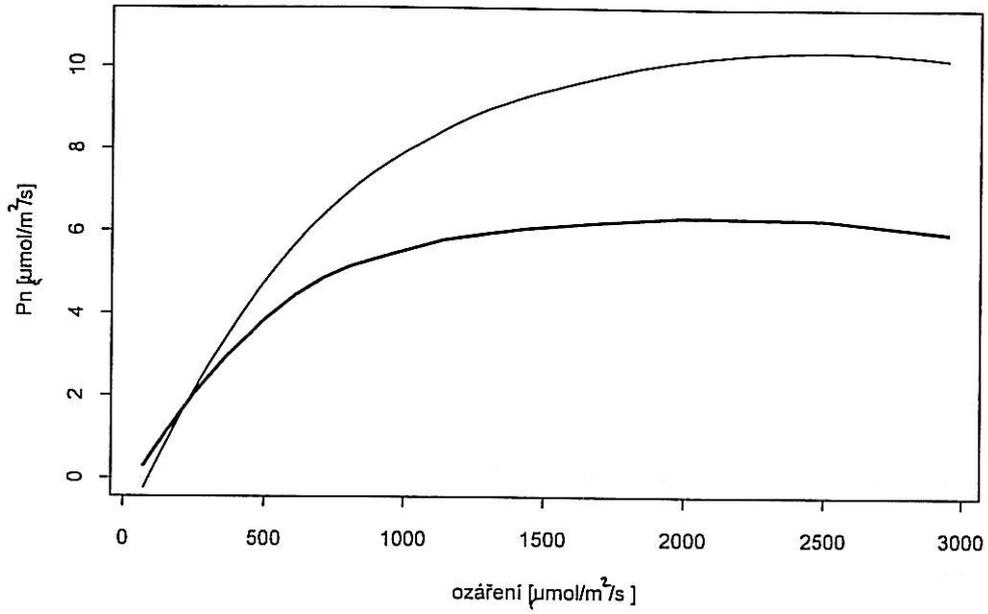
### Pinus sylvestris



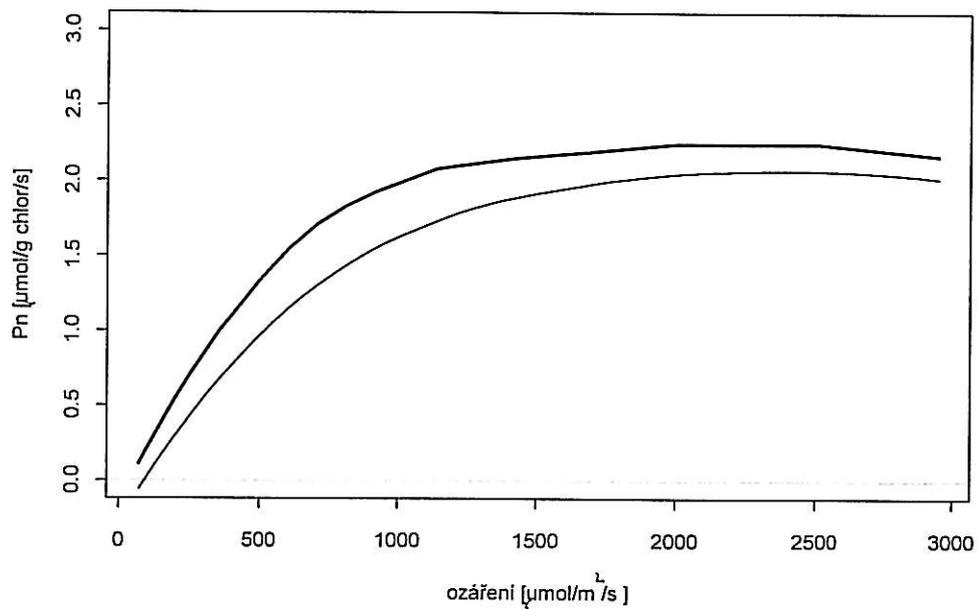
### Pinus strobus



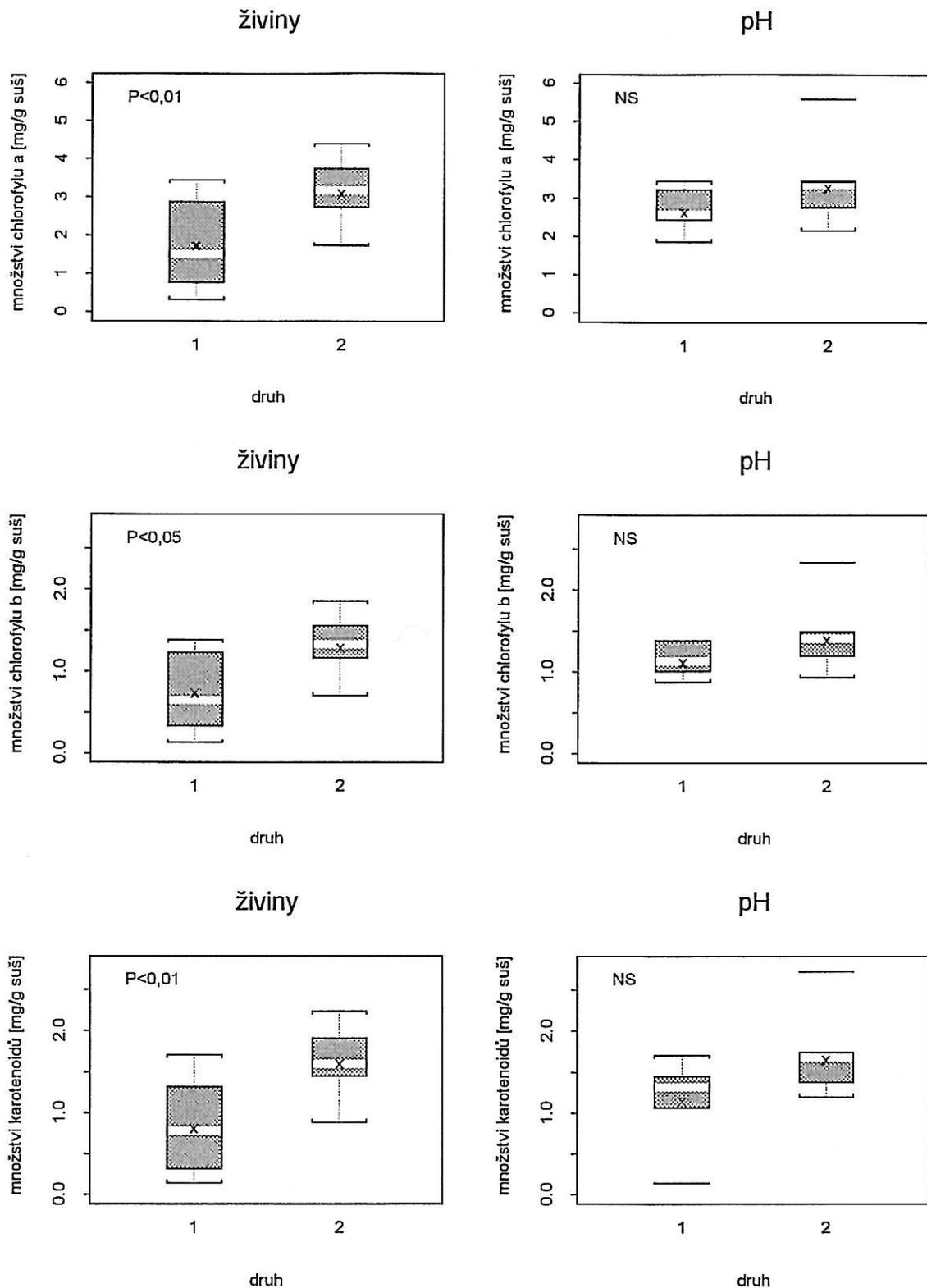
**Obr.19.** Křivky znázorňující závislost rychlosti čisté fotosyntézy  $P_n$  na ozáření (hustotě toku fotonů) pro *Pinus sylvestris* (horní obrázek) a *Pinus strobus* (dolní obrázek) spolu s 95% konfidenčními intervaly.



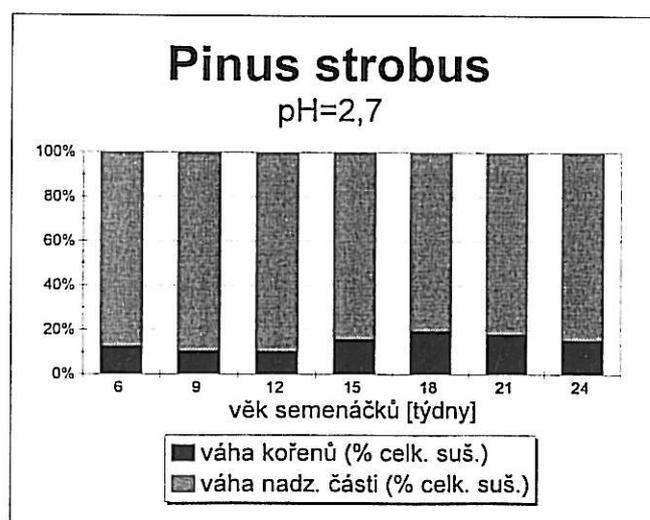
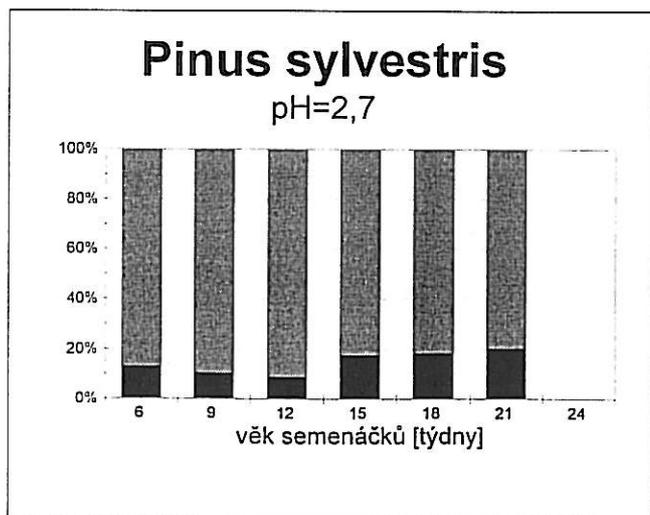
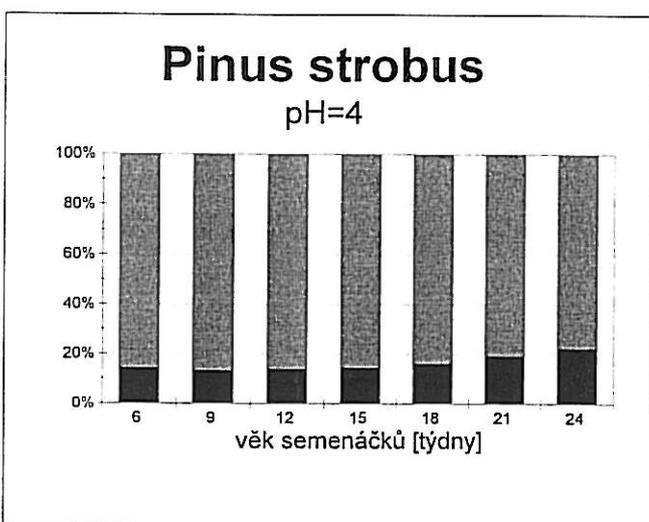
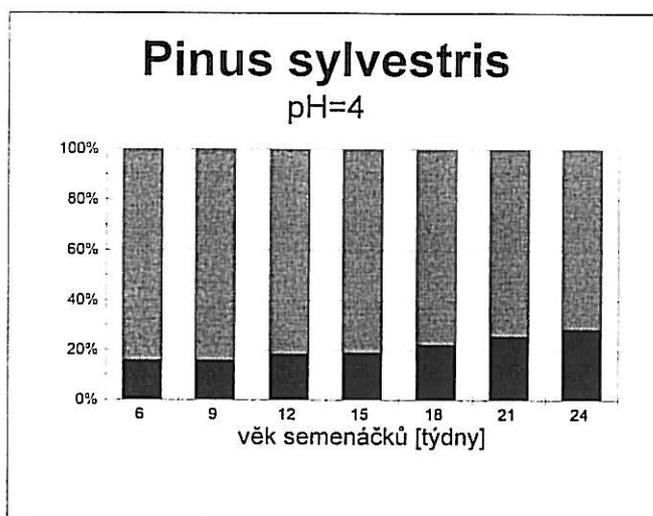
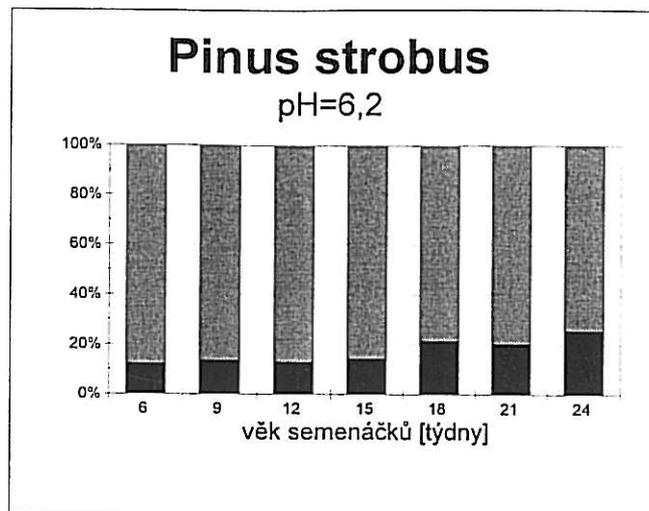
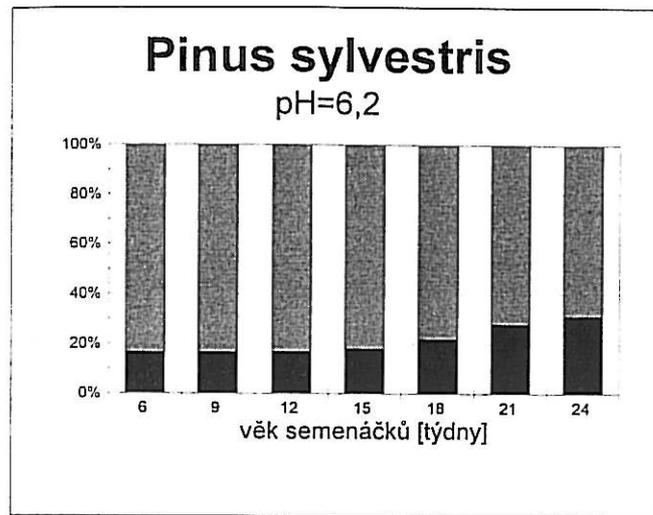
**Obr.20.** Křivky rychlosti čisté fotosyntézy  $P_n$  vyjádřené na jednotku plochy asimilačního aparátu, jako funkce ozáření pro oba druhy borovic. (Křivka pro *Pinus strobus* je vyznačena silnější čarou).



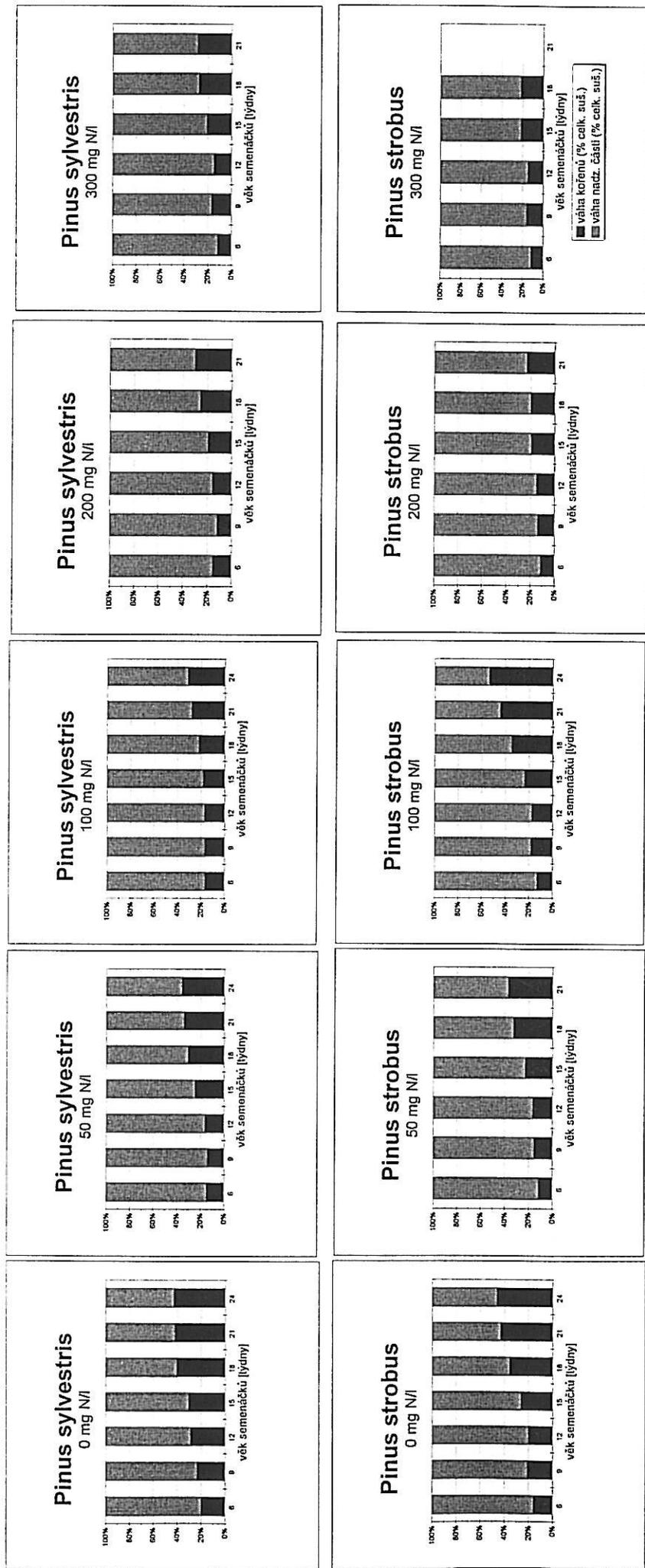
**Obr.21.** Křivky rychlosti čisté fotosyntézy  $P_n$  vyjádřené na gram chlorofylu, jako funkce ozáření pro oba druhy borovic. (Křivka pro *Pinus strobus* je vyznačena silnější čarou).



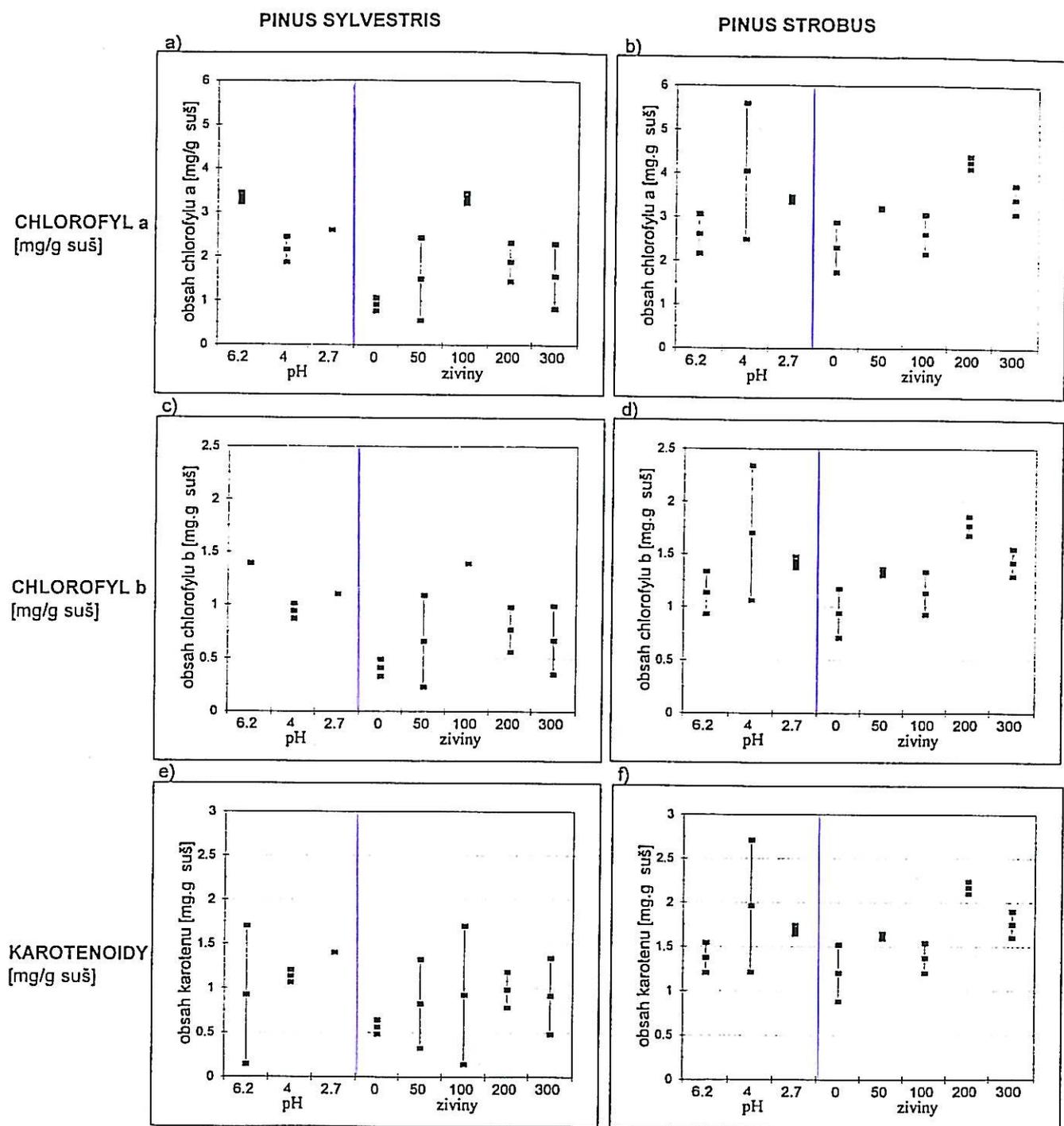
**Obr. 22.** Box plot ukazuje rozdíly v množství chlorofylu a, chlorofylu b a karotenoidů mezi oběma druhy borovic (*P. sylvestris* = 1, *P. strobus* = 2) v experimentu 1 (levý sloupec) a experimentu 2 (pravý sloupec). Křížek v boxu značí průměr, bílý proužek označuje medián, v levé horním rohu jsou dosažené hladiny signifikance při testování rozdílů mezi druhy analýzou variance.



**Příl.1.** Podíl nadzemní části a kořenů z celkové hmotnosti sušiny semenáčků *Pinus sylvestris* a *Pinus strobus*. Semenáčky byly pěstovány v půdě s různou kyselostí.



Příl.2. Podíl nadzemní části a kořenu z celkové hmotnosti sušiny semenáčků *Pinus sylvestris* a *Pinus strobus*. Semenáčky byly pěstovány v půdě s různou koncentrací živin.



Příl.3. Grafy znázorňující variabilitu v množství chlorofylu a, chlorofylu b a karotenoidů u druhů *Pinus sylvestris* a *Pinus strobus*. V grafu jsou zobrazeny minimální, průměrné a maximální hodnoty obsahů pigmentů pro semenáčky rostoucí v různém pH půdy (levá strana grafů) a v různé koncentraci živin v půdě (pravá strana grafů).



Foto 3. Semenáčky *Pinus sylvestris* L. rostoucí v hydroponickém roztoku s pH=6,2.  
Věk semenáčků - 79 dnů.



Foto 4. Semenáčky *Pinus strobus* L. rostoucí v hydroponickém roztoku s pH=6,2.  
Věk semenáčků - 79 dnů.



Foto 5. Typické barevné změny na semenáčku *Pinus sylvestris*L. rostoucím v umělé půdě při koncentraci živin 300 mg N/l. Měděno-oranžovému zbarvení předcházely chlorózy jehlic. Změny byly letální.



Foto 6. Barevné změny na semenáčku *Pinus sylvestris*L. rostoucím v umělé půdě s koncentrací živin 200 mg N/l. Změna zeleného zbarvení jehlic na oranžovo-hnědou barvu postupovala od špičky jehlic k bázi. Změny byly letální.