

VARIABILITA PARAMETRŮ FLUORESCENCE CHLOROFYLU V RÁMCI MLADÝCH STÍNĚNÝCH A NESTÍNĚNÝCH SAZENIC JEDLE BĚLOROKÉ (*ABIES ALBA* MILL.) MĚŘENÁ DVĚMA ODLIŠNÝMI PŘÍSTUPY

CHLOROPHYLL FLUORESCENCE VARIABILITY OF YOUNG SHADED AND NON-SHADED SILVER FIR (*ABIES ALBA* MILL.) TREES MEASURED BY TWO DIFFERENT TECHNIQUES

ONDŘEJ ŠPULÁK - JARMILA MARTINCOVÁ

Výzkumný ústav lesního hospodářství a myslivosti, v. v. i., VS Opočno

ABSTRACT

One of the most important factors influencing development of plants is light. Common adaptation of leaves to different light environment is to form sun and shade leaves which differ in morphological features and physiological characteristics. Chlorophyll fluorescence provides information on physiological condition of plant in detail. Maximum quantum yield of PS II photochemistry (F_v/F_m) is strongly affected by quality and quantity of excitation energy, wavelength range and sensors' sensitivity. Therefore, absolute values of different instruments can differ. This study assesses chlorophyll fluorescence variability of the young fir plants' needles related to growing environment (light), age of needles and position within the crown. Two independent instruments representing two different approaches of chlorophyll fluorescence measurement were used.

Klíčová slova: fluorescence chlorofylu, jedle, světlo, stín, stáří jehlic, Plant Efficiency Analyser PEA, Imaging-PAM

Key words: chlorophyll fluorescence, silver fir, sun, shade, needle age, Plant Efficiency Analyser PEA, Imaging-PAM

ÚVOD

Vývoj rostlin je ovlivněn celou řadou faktorů, které mají svoji odezvu ve fyziologické kondici a schopnosti přizpůsobení na měnící se parametry prostředí. Asimilační aparát fotosyntetizujících organismů se formuje v závislosti na fyziologickém stavu, stavu výživy a působení dalších faktorů prostředí. Významný vliv na vývoj listů (jehličí) má přístup a charakter slunečního záření. Jednotlivé druhy dřevin mají často specifické požadavky a toleranci k záření, které se s věkem mohou měnit (OTTO 1994). Všeobecně (bez ohledu na vývojovou příslušnost rostlin) rozšířenou adaptací na rozdílné světelné poměry je tvorba slunných a stinných pletiv (DEMMIG-ADAMS 1998; MAREK et al. 1999; ROBAKOWSKI, ANTCZAK 2008; SARIJEVA et al. 2007) vyznačujících se specifickými vlastnostmi a morfologickými parametry (MÉSZÁROS et al. 1998; ŠPULÁK 2008), a to i ve vztahu k měnícímu se obsahu CO_2 v ovzduší (MAREK et al. 2001; KALINA et al. 2001). Také výšková poloha v koruně, projevující se variabilitou v sezónní vyzrállosti listů i v nástupu fáze senescence (ADAMS et al. 1990; KOIKE et al. 1992), bude mít významnou souvislost s přístupem světla.

S růstem nových výhonů u jehličnatých dřevin dochází k postupné změně postavení starších ročníků. Z vylučného fotosyntetizujícího aparátu adaptovaného na maximálně dostupné sluneční záření se dostávají do stinnějších poloh interiéru koruny. Fotosyntetická aktivita jednolétých a víceletých výhonů se tak bude lišit a v rámci koruny i u relativně mladé sazenice lze očekávat rozdíly. Výsledky pokusů s douglaskou potvrzují hypotézu, že fotosyntetický aparát dospělých (starších) jehlic může sloužit jako zdroj živin pro vyvíjející se jehlice, dokonce i na úkor fotosyntetické funkce jehlic dospělých (CAMM 1993).

Analýza fluorescence chlorofylu, jako jedna z moderních metod hodnocení fyziologického stavu rostlin, umožňuje podat detailní informaci o tom, co se děje uvnitř fotosyntetizujícího organismu (SCHREIBER 2004). Vedle metod založených na sledování respirace, rychlosti fotosyntézy, obsahu chlorofylů apod. představuje další nástroj nabízející parciální náhled do průběhu fotosyntézy. Fluorescence chlorofylu je v inverzním vztahu k fotosyntéze, s výjimkou situace, kdy v mechanismu fotosyntéza - produkce tepla - emise fluorescence chlorofylu převažuje nefotochemické zhášení (quenching), to znamená vyzařování nadbytečné energie ve formě tepla (MOHAMMED et al. 1995). Metoda měření fluorescence chlorofylu *a* nalézá své uplatnění v mnoha lesnických oborech, často v kombinaci s dalšími postupy hodnocení fyziologického stavu. Dobře se uplatní především tam, kde jsou požadována opakovaná nedestruktivní hodnocení stejného rostlinného materiálu (MOHAMMED et al. 1995). Teoretické základy uvedených procesů na biochemické úrovni a metody měření fluorescence chlorofylu je možno nalézt v řadě základních fyziologických prací (SCHREIBER et al. 1986, 1995; MAXWELL, JOHNSON 2000; ROHÁČEK 2002; ROSENQVIST, VAN KOOTEN 2003; LICHTENTHALER et al. 2005). Nejčastěji hodnocenými charakteristikami jsou F_0 - minimální (bazální) fluorescence vzorku adaptovaného na tmu a F_m - maximální fluorescence po ozáření tohoto vzorku silným zábleskem světla. Z nich je potom zjišťován maximální kvantový výtěžek fotochemie fotosystému II (F_v/F_m), který je počítán podle vzorce:

$$F_v/F_m = (F_m - F_0)/F_m$$

Přístupy k měření fluorescence chlorofylu se liší. Pro měření základních (temnostních) parametrů fluorescence chlorofylu jsou přístroje

uzpůsobeny dokonalému stínění rostlinného materiálu adaptovaného na tmu (např. HANSATECH 1999). Dalším přístupem je měření dvojdimenzionální heterogenity fotosyntetické aktivity listů (např. WALZ 2004), při kterém je pro zachování předpokladů měření temnostní fáze nutná vnější stabilizace podmínek.

Vzhledem k tomu, že výtěžek fluorescence chlorofylu silně závisí na kvalitě a kvantitě excitační radiace, na rozmezí vlnových délek a na citlivosti senzorů fluorescence, absolutní hodnoty jednotlivých parametrů fluorescence chlorofylu měřené různými přístroji se mohou poněkud lišit (LICHTENTHALER et al. 2005). Rozdíly relativních hodnot (např. poměru F_v/F_m) a reakce na působení různých vlivů by však při měření různými přístroji měly být obdobné.

Cílem studie je 1) porovnání dvou nezávislých přístrojů reprezentujících výše zmiňované přístupy a 2) posouzení variability fluorescenční reakce chlorofylu jehličí u sazenic jedle a) podle způsobu pěstování, b) podle stáří jehličí a c) podle polohy v rámci koruny.

METODIKA

Materiál

Měření fluorescence chlorofylu probíhala na sazenicích jedle bělokoré (*Abies alba* MILL.) vysazených na jaře 2009 jednak na volnou nestíněnou plochu, jednak do stínu porostu propouštějícího podle ambulantního měření během 3 slunečných dnů 35 % slunečního záření. Na každou z těchto ploch bylo vysazeno po 25 kusech 5letých sazenic pěstovaných poslední rok před výsadbou na zastíněných nebo nezastíněných záhonech (tab. 1).

Tab. 1.

Označení experimentálních variant jedle bělokoré
Treatment description of experiment with silver fir

Varianta/ Name of treatment	Světelné podmínky/Light conditions	
	záhon 2008/ nursery bed 2008	po výsadbě 2009/ after planting 2009
s-s	slunce/sun	slunce/sun
s-t	slunce/sun	stín/shade
t-s	stín/shade	slunce/sun
t-t	stín/shade	stín/shade

Pro pokus byly vybrány sazenice s minimálně 4 přesleny, viditelně prosperující, vykazující přírůsty na všech přeslenech. Dne 21. 7. 2010 bylo náhodně vybráno 6 jedinců z každé varianty a z každého jedince byly odebrány a analyzovány vzorky jednoletého jehličí, a to z 1. (nejvyššího) až 4. (nejnižšího) přeslenu. Následující den byly u stejných jedinců adekvátním způsobem odebrány a analyzovány vzorky 2. ročníku jehličí, a to z 2. až 4. přeslenu. V letech 2007 až 2010 byla na konci každého vegetačního období hodnocena tloušťka kořenového krčku, výška sazenic, výškový přírůst terminálního výhonu a délka nejdelší větve v nejvyšším přeslenu.

Metody

Měření fluorescence chlorofylu bylo prováděno dvěma přístroji zastupujícími dva základní přístupy k měření: Plant Efficiency Analyser (verze PEA.MK.2) od firmy Hansatech (dále označován PEA) a Ima-

ging-PAM od firmy Walz. Přístroj PEA umožňuje dokonalou adaptaci analyzovaného materiálu na tmu a měření průměrných hodnot skutečných temnostních parametrů fluorescence chlorofylu kruhové oblasti o pevné velikosti (průměru) 4 mm (HANSATECH 1999). Přístroj Imaging-PAM je konstruován pro sledování dvojdimenzionální variability fotosyntetické aktivity listů. Zajištění a udržení dokonalé adaptace vzorků na tmu je obtížnější, měření je však významně flexibilní (WALZ 2004; LICHTENTHALER et al. 2005).

• Měření přístrojem PEA

Z každého analyzovaného vzorníku byl náhodně vybrán dostatečný počet jehlic (většinou se jednalo o 3 – 4 jehlice), ty byly lícem vzhůru nalepeny na černou podkladní destičku s mírným překryvem okrajů tak, aby vytvořily souvislou plochu o minimální šířce 6 mm, vzorek byl zaividován. Každá varianta byla zastoupena ve 2 (1. ročník jehličí) nebo 3 (2. ročník) opakováních. Vzorky byly před měřením minimálně 30 minut adaptovány na tmu, měření probíhalo přibližně na středu plochy z jehličí. Při měření byla nastavena intenzita aktinického světla o maximální vlnové délce 650 nm na 50 % a délka osvitů 5 sekund. Zde hodnoceným parametrem je maximální kvantový výtěžek fotochemie PS II (F_v/F_m).

• Měření přístrojem Imaging-PAM

Pro měření přístrojem Imaging-PAM bylo vybráno po 4 jehlicích z jednoho jedince z každé varianty, které byly společně nalepeny na černou podkladní destičku. Uprostřed každé jehlice byla vyznačena samostatná měřená oblast (AOI). Celkem bylo v jednom vzorku hodnoceno zároveň 16 jehlic. Analyzované přesleny u každého jedince byly měřeny ve 2 opakováních u 1. ročníku jehličí (celkem 8 jehlic ze sazenice) a ve 3 opakováních u 2. ročníku jehličí (celkem 12 jehlic z každé sazenice). U jehlic adaptovaných na tmu byly v zatemnělé místnosti měřeny základní parametry fluorescence: minimální fluorescence F_0 a maximální fluorescence F_m a z nich dopočítána hodnota maximálního výtěžku fotochemie F_v/F_m . Pro měření bylo aplikováno měřící světlo intenzity $3 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ a saturační impuls intenzity $2400 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ v trvání 800 ms.

Další hodnocenou charakteristikou byla absorptivita (ABS), která je měřítkem poměru červeného světla (R) a blízko-infračerveného záření (NIR) absorbovaného pletivem:

$$ABS = 1 - R/NIR.$$

Tento parametr velice těsně vyjadřuje absorptivitu fotosynteticky účinného světla (WALZ 2004).

Statistické hodnocení

Získaná data byla podle potřeby za účelem zlepšení parametru normality a charakteru rozptylu transformována Box-Coxovou transformací, na základě metody modifikovaných vnitřních hradeb byla vypuštěna výrazně odlehlá měření (podle parametru F_v/F_m) a data byla statisticky vyhodnocena ve statistickém programu Unistat 5.6. Vzhledem k heteroskedasticitě dat byl použit test shodnosti středních hodnot u dvou výběrů při nehomogenitě rozptylů (MELOUN, MILITKÝ 2004). Pro vzájemné porovnání výsledků obou použitých metod měření byla aplikována lineární regrese s výpočtem korelačních koeficientů. Variabilita dat je v grafech znázorněna pomocí horního a dolního kvartilu (dolní kvartil odpovídá 25%, horní pak 75% percentilu).

VÝSLEDKY A DISKUSE

Porovnání různých metod měření

Při testování dvou metod měření fluorescence chlorofylu – přístrojem PEA a přístrojem Imaging-PAM – byla pozornost zaměřena na hodnocení maximálního kvantového výtěžku fotochemie fotosystému II (F_v/F_m), který je měřitelný oběma přístroji. Porovnání parametrů F_v/F_m zjištěných oběma uvedenými přístroji ukázalo velmi blízké hodnoty a stejné relace mezi středními hodnotami hodnocených souborů jedle bělokoré pěstovaných v různých světelných podmínkách (obr. 1, obr. 3). Průměrné hodnoty naměřené pro jednotlivé sazenice a přesleny v případě 1. ročníku jehličí dosahovaly Pearsonova korelačního

koeficientu 0,628; korelace hodnot u 2. ročníku jehličí byla 0,529. Přes relativně nízké koeficienty je tato korelace v obou případech vysoce průkazná. Protože pro každý přístroj byly použity jiné jehlice, nízký koeficient korelace může být ovlivněn také variabilitou jehličí v rámci stromku.

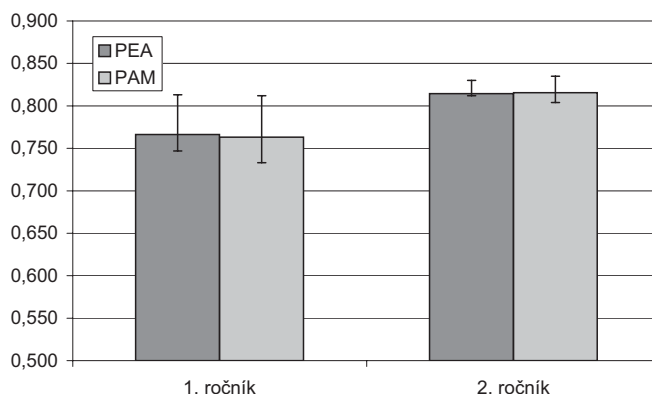
Výsledky vzájemného porovnání středních hodnot F_v/F_m pozorovaných při použití testovaných přístrojů ukázaly, že měření oběma přístroji je použitelné pro hodnocení stavu fotosyntetického aparátu sazenic jedle bělokoré rostoucích v různých světelných podmínkách. Bylo tak potvrzeno, že v případě dokonalého stínění laboratoře a dodržení výše popsaného postupu může přístroj Imaging-PAM podávat spolehlivé výsledky i co se temnostních parametrů fluorescence týče.

Obr. 1.

Porovnání průměrných hodnot maximálního kvantového výtěžku F_v/F_m u prvních a druhých ročníků jehličí jedle bělokoré. Úsečky vyjadřují hranice horního a dolního kvartilu

Fig. 1.

Mean maximum quantum yield of PS II (F_v/F_m) of the first (1. ročník) and second (2. ročník) needle year-class of silver fir. Bars represent upper and lower quartile

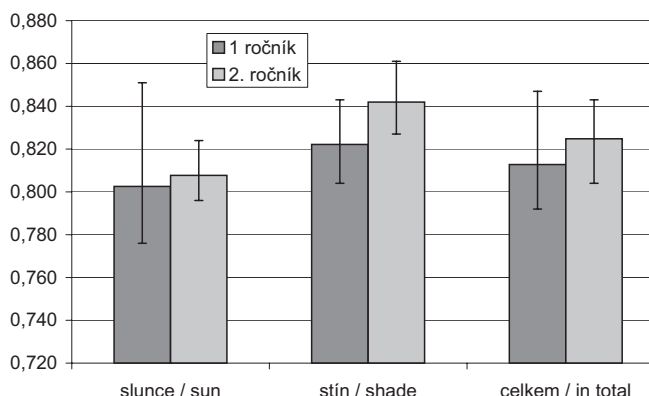


Obr. 2.

Hodnoty absorptivity (ABS) prvního a druhého ročníku jehličí jedle bělokoré měřené přístrojem Imaging-PAM v červenci 2010. Úsečky vyjadřují hranice horního a dolního kvartilu

Fig. 2.

Absorptivity (ABS) of the first (1. ročník) and second (2. ročník) needle year-class of silver fir measured by Imaging-PAM in July 2010. Bars represent upper and lower quartile

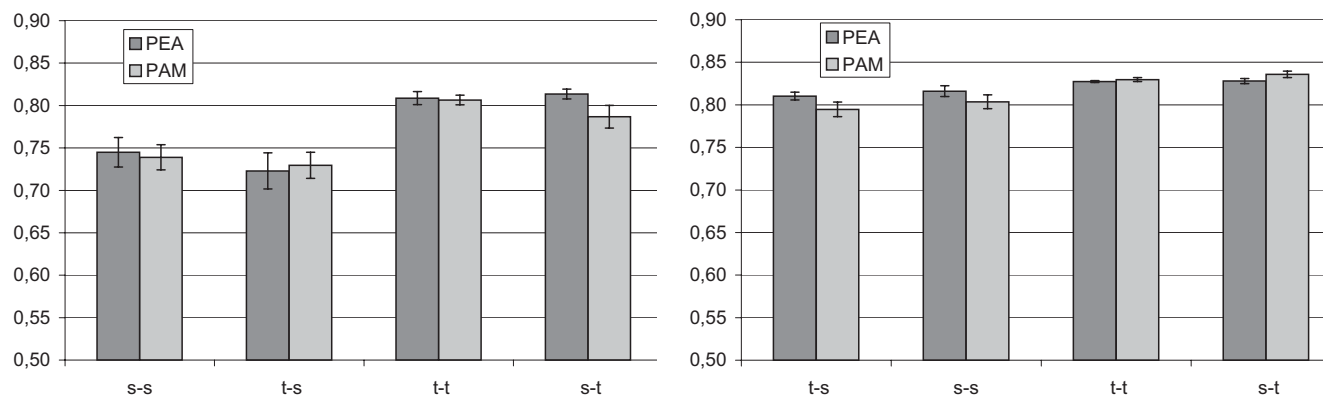


Obr. 3.

Maximální kvantový výtěžek fotosystému II F_v/F_m 1. (vlevo) a 2. (vpravo) ročníku jedle měřeny přístroji PEA a Imaging-PAM. Popis variant viz tab. 1. Úsečky vyjadřují hranice horního a dolního kvartilu

Fig. 3.

Maximum quantum yield of PS II photochemistry (F_v/F_m) of the first (left) and second (right) needle year-class measured by PEA and Imaging-PAM. For description of treatments see Table 1. Bars represent upper and lower quartile



Vliv pozice v koruně (přeslenu) na fluorescence chlorofylu

Podrobné výsledky hodnocení fluorescence chlorofylu jehlic jedle bělokoré z různých přeslenů jsou uvedeny v tabulkách 2 a 3. Ukázalo se, že u malých sazenic jedle bělokoré (výška nadzemních částí max. 45 cm) nejsou výraznější rozdíly ve sledovaných parametrech fluorescence chlorofylu mezi jehlicemi odebíranými z 1. až 4. přeslenu (počítáno od vrcholu sazenic), a to jak v případě 1. ročníku (tab. 2), tak 2. ročníku jehličí (tab. 3).

Jedinou výjimkou je varianta t-t (sazenice pěstované stále ve stínu), kde byly přístrojem Imaging-PAM zjištěny průkazně nižší hodnoty F_v/F_m a ABS u jehličí z nižších přeslenů (tab. 2).

Nepřítomnost signifikantních rozdílů mezi přesleny je zřejmě způsobena malými rozměry sledovaných stromků. Z literatury vyplývá (např. PRIWITZER et al. 1998), že u vyšších stromků, u kterých se vzhledem k postupnému zastínění částí koruny vytvoří podmínky pro formování slunného i stinného jehličí, lze vztah mezi polohou v koruně a fotosyntetickou aktivitou asimilačních orgánů detekovatelnou měřením fluorescence chlorofylu pozorovat.

Vliv stáří jehlic (1. a 2. ročník) na fluorescence chlorofylu

Vzhledem k tomu, že mezi jehlicemi stejného ročníku odebranými z různých přeslenů byly zjištěny pouze minimální rozdíly v hodnotách maximálního kvantového výtěžku fotosystému II (F_v/F_m), byly pro porovnání fluorescence chlorofylu mezi jehlicemi různého stáří sumarizovány hodnoty jehlic ze všech přeslenů (obr. 1). Výsledky ukázaly vysoce průkazné rozdíly parametrů F_v/F_m mezi jehlicemi prvního a druhého ročníku. Měření oběma přístroji dospělo k obdobným výsledkům.

Z výsledků vyplývá, že jehlice jedle z letorostů běžného roku ještě ani v červenci (měření 21. 7. 2010) nedosahují úrovně hodnot maximálního kvantového výtěžku F_v/F_m pozorovaných u jehlic z předcházejícího roku. Obdobnou relaci mezi jehlicemi 1. a 2. ročníku jehličí popisují LA PORTA et al. (2006) u cypřiše. Ti se domnívají, že nižší hodnoty F_v/F_m u nového jehličí nejsou způsobeny fotoinhibicí, ale nízkou fotochemickou kapacitou, jak naznačují poměry chlorofylu a/b. Naproti tomu GIELEN et al. (2000) popisují u sazenic borovice od zahájení měření v červenci vyšší hodnoty F_v/F_m u letorostů oproti jehličí z předchozího roku s tím, že rozdíly byly průkazné pouze v měsících září a říjnu. Rozdílné chování jehličí jedle v naší studii a zmiňované

Tab. 2.

Základní parametry fluorescence chlorofylu 1. ročníku jehličí jedle naměřené přístroji PEA Hansatech a Imaging-PAM
Basic chlorophyll fluorescence parameters of the first needle year-class of silver fir measured by PEA Hansatech a Imaging-PAM

Varianta/ treatment	přeslen/ whorl	PEA		Imaging-PAM				ABS			
		F_v/F_m	Sx	F_0	F_m	F_v/F_m	Sx	průměr/ mean	Sx		
s-s	1	0,729	0,069	0,101	0,020	0,407	0,121	0,736	0,073	0,818	0,042
	2	0,755	0,066	0,113	0,029	0,450	0,101	0,744	0,053	0,805	0,048
	3	0,750	0,054	0,095	0,030	0,364	0,116	0,735	0,047	0,816	0,044
	4	0,746	0,041	0,099	0,017	0,390	0,087	0,741	0,035	0,811	0,039
Celkem z s-s/ In total s-s		0,745 b	0,059	0,102 c	0,026	0,403 b	0,112	0,739 c	0,053	0,812 abc	0,044
t-s	1	0,709	0,062	0,119	0,027	0,458	0,092	0,737	0,046	0,812	0,055
	2	0,733	0,059	0,121	0,038	0,433	0,127	0,717	0,054	0,797	0,070
	3	0,725	0,099	0,107	0,026	0,401	0,103	0,727	0,043	0,809	0,049
	4	0,726	0,054	0,100	0,027	0,399	0,126	0,736	0,063	0,747	0,122
Celkem z t-s/ In total t-s		0,723 b	0,072	0,112 bc	0,031	0,423 b	0,116	0,729 c	0,053	0,791 b	0,083
s-t	1	0,819	0,010	0,117	0,014	0,617 b	0,035	0,811	0,021	0,824	0,027
	2	0,808	0,027	0,116	0,015	0,612 ab	0,053	0,812	0,017	0,819	0,019
	3	0,809	0,015	0,125	0,010	0,629 ab	0,042	0,800	0,020	0,820	0,024
	4	0,820	0,011	0,128	0,016	0,645 a	0,022	0,802	0,022	0,834	0,033
Celkem z s-t/ In total s-t		0,814 a	0,019	0,121 b	0,015	0,626 a	0,042	0,806 a	0,021	0,824 ac	0,027
t-t	1	0,803	0,034	0,118 c	0,012	0,624 b	0,057	0,811 a	0,019	0,836 a	0,033
	2	0,807	0,031	0,122 c	0,019	0,627 b	0,060	0,805 a	0,029	0,828 a	0,030
	3	0,811	0,015	0,131 b	0,018	0,621 b	0,068	0,786 ab	0,042	0,824 ab	0,033
	4	0,813	0,016	0,170 a	0,047	0,680 a	0,064	0,751 b	0,061	0,799 b	0,038
Celkem z t-t/ In total t-t		0,809 a	0,025	0,136 a	0,035	0,639 a	0,067	0,787 b	0,048	0,821 a	0,036

borovice může být podmíněno odlišnými světelnými nároky dřevin. Přebírání hlavní fotosyntetické aktivity u nového jedličí u jedle jako stinné dřeviny může nastávat pomaleji.

Jednou z příčin nižších hodnot parametru F_v/F_m u letorostů jedle v naší studii by mohlo být i větší riziko ztráty vody během manipulace a při měření u jemnějších jehlic z letorostů v porovnání se staršími jehlicemi. Podle dostupných údajů je však možné větvičky jehličnanů bez ošetření proti ztrátám vody uchovávat po 24 hodin (MOHAMMED, NOLAND 1997) nebo až po 3 dny (RICHARDSON, BERLYN 2002) bez ovlivnění hodnot F_v/F_m . Tomu odpovídají i dosud nepublikované výsledky našich předchozích pokusů.

Hodnoty absorptivity jehličí měřené přístrojem Imaging-PAM ukazují, že v porovnání s druhým ročníkem mladé jehlice letorostů absorbovaly méně dopadajícího záření (obr. 2). Rozdíl byl průkazný u stíněných variant pokusu. Podobně CAMM (1993) popisuje nižší schopnost absorpce u mladých jehlic douglasky. Uvádí, že i když vyvíjející se jehlice neabsorbovaly tolik světla jako jednoleté stinné jehlice, fotony, které byly absorbovány fotosyntetickým aparátem, byly využívány účinněji.

Vliv způsobu pěstování (světelných podmínek) na fluorescenci chlorofylu

Hodnocení fluorescence chlorofylu jehličí sazenic jedle bělokoré vysazených na jaře 2009 na nezastíněnou plochu nebo do stínu porostu propouštějícího ca 35 % slunečního záření ukázalo statisticky průkazné rozdíly mezi zastíněnými a nezastíněnými rostlinami. Hodnoty maximálního kvantového výtěžku fotochemie F_v/F_m byly výrazně vyšší u sazenic rostoucích ve stínu (obr. 3).

Rozdíly mezi maximálním výtěžkem fotosystému II F_v/F_m u sazenic rostoucích ve stínu a na slunci byly výraznější u nejmladších (prvních) ročníků jehličí v porovnání s jehlicemi z předcházejícího roku (2. ročník). Všechna měření ukázala statisticky průkazně vyšší střední hodnoty F_v/F_m u zastíněných sazenic (tab. 2). Měření F_v/F_m přístrojem Imaging-PAM navíc ukázalo i statisticky významný rozdíl mezi oběma stíněnými variantami lišícími se světelnými podmínkami před výsadbou (varianty s-t a t-t), a to u 1. i 2. ročníků jehličí (tab. 2 a 3). ROBAKOWSKI (2005) pozoroval vyšší hodnoty F_v/F_m u smrku ztepilého rostoucího ve stínu oproti jedincům na slunci i během zimního období. Obecně platí, že hodnoty parametru F_v/F_m nižší než 0,8 poukazují na přítomnost fotoinhibice (ROBAKOWSKI et al. 2003). Podle tohoto kritéria se fotoinhibice projevila pouze u 1. ročníku jehličí. Pokles hodnot F_v/F_m signalizující fotoinhibici při výrazném zvýšení radiace byl pozorován u řady dřevin (MITAMURA et al. 2009; KHAN et al. 2000; NAIDU, DELUCIA 1997; TOGNETTI et al. 1997). EINHORN et al. (2004) konstatuje, že fotoinhibice pozorovaná u nezastíněných sazenic měla zpravidla adaptivní charakter a nepoškozovala asimilační aparát, na celkové akumulaci biomasy se neprojevovala. Fotoinhibiční procesy fotosystému II u semenáčků jedle *Abies veitchii* rostoucích na volnu byly pozorovány i na konci vegetační doby (MITAMURA et al. 2009), což napovídá, že semenáčky na volné ploše trpěly fotoinhibicí fotosystému II po dlouhou dobu.

Délka fotoinhibice je podle GRASSI et al. (2001) spojena se zásobou živin. V jeho pokusu semenáčky smrku ztepilého ze stínu, které měly nízkou zásobu živin, po přenesení na silné světlo vykazovaly prodlouženou fotoinhibici. Naproti tomu semenáčky s vysokou zásobou živin byly po přenesení na silné světlo schopné vyhnout se fotoinhibici a zvýšit svou fotosyntetickou kapacitu vzhledem k ploše jehlic. Výživa sazenic jedlí v našem pokusu byla zajišťována jednotně u všech variant

Tab. 3.

Základní parametry fluorescence chlorofylu 2. ročníku jehličí jedle naměřené přístroji PEA Hansatech a Imaging-PAM
Basic chlorophyll fluorescence parameters of the second needle year-class of silver fir measured by PEA Hansatech a Imaging-PAM

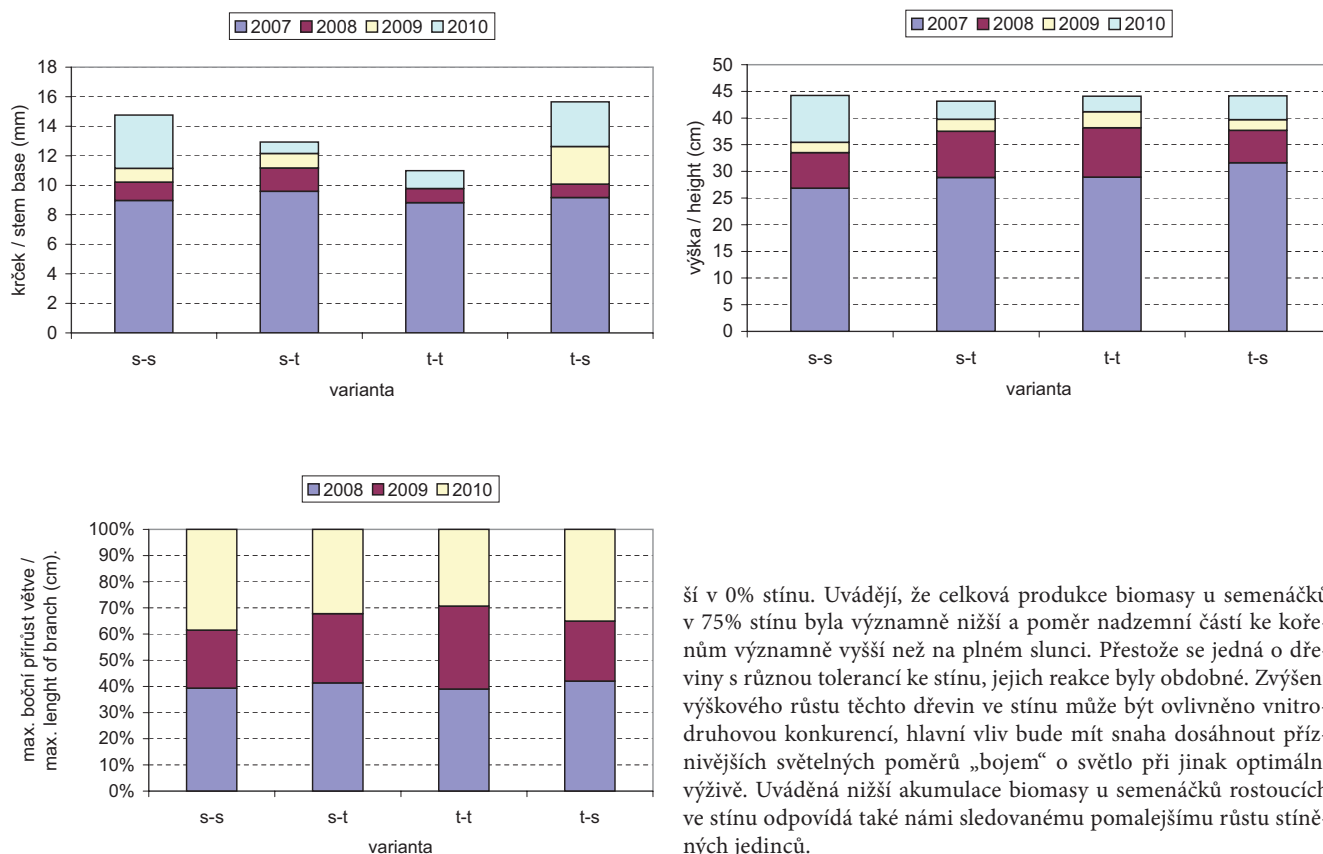
Varianta/ treatment	přesen/ whorl	PEA		Imaging-PAM		F_m průměr/ mean	Sx	F_v/F_m průměr/ mean	Sx	ABS průměr/ mean	Sx
		F_v/F_m průměr/ mean	Sx	F_0 průměr/ mean	Sx						
s-s	2	0,822	0,012	0,093	0,014	0,493	0,048	0,810	0,027	0,810	0,019
	3	0,809	0,029	0,094	0,014	0,471	0,052	0,798	0,028	0,821	0,021
	4	0,817	0,020	0,098	0,018	0,503	0,075	0,803	0,032	0,815	0,019
Celkem z s-s/ In total s-s		0,816 b	0,023	0,095 a	0,016	0,489 b	0,061	0,804 c	0,030	0,815 b	0,020
t-s	2	0,811	0,017	0,091	0,015	0,460	0,051	0,801	0,024	0,806	0,022
	3	0,810	0,016	0,092	0,022	0,433	0,059	0,788	0,038	0,800	0,022
	4	0,809	0,014	0,091	0,013	0,446	0,040	0,796	0,028	0,796	0,022
Celkem z t-s/ In total t-s		0,810 b	0,016	0,091 a	0,017	0,446 c	0,052	0,795 c	0,031	0,800 c	0,022
t-t	2	0,828	0,004	0,091	0,011	0,541	0,038	0,832	0,009	0,835	0,028
	3	0,828	0,004	0,095	0,013	0,555	0,061	0,829	0,008	0,847	0,018
	4	0,826	0,004	0,092	0,008	0,537	0,031	0,828	0,006	0,851	0,015
Celkem z t-t/ In total t-t		0,827 a	0,004	0,093 a	0,011	0,544 a	0,046	0,830 b	0,008	0,845 a	0,022
s-t	2	0,828	0,009	0,090	0,012	0,546	0,040	0,835	0,013	0,845	0,031
	3	0,832	0,009	0,089	0,011	0,558	0,044	0,840	0,012	0,843	0,028
	4	0,825	0,012	0,099	0,018	0,574	0,046	0,828	0,024	0,830	0,028
Celkem z s-t/ In total s-t		0,828 a	0,011	0,093 a	0,015	0,559 a	0,045	0,834 a	0,018	0,839 a	0,030

Obr. 4.

Tloušťkový a výškový růst a délka nejdelší větve v nejvyšším přeslenu sazenic jedle bělokoré rostoucích na slunci nebo ve stínu. Popis variant viz tab. 1.

Fig. 4.

Growth of root collar diameter, height growth and length of the branch in the highest whorl of the fir treatments. For description of treatments see Tab. 1.



stínění, proto je malý předpoklad zásobou živin podmíněných rozdílů v akumulaci živin u prosperujících jedinců.

Růst sazenic

Výsledky hodnocení výškového a tloušťkového růstu ukázaly, že sazenice vysazené na otevřenou plochu, před i po přesazení, rostly intenzivněji v porovnání s rostlinami vysazenými do stínu porostu (obr. 4). Patrné je to zejména ve druhém roce po výsadbě. Nepotvrdil se předpoklad, že sazenice vysazené do stínu mohou mít slabší šok z přesazení. Délka nejdelšího bočního výhonu mezi lety výrazně kolísala: zatímco v roce 2008 průkazně nejvyšší délku vykazovala varianta s-s a nejnižší varianta t-s, v roce 2010 bylo relativní pořadí obrácené.

V kontrastu s našim měřením popisují ROBAKOWSKI et al. (2003) na základě hodnocení růstových reakcí jedle na různé světelné podmínky nejintenzivnější přírůst terminálního výhonu a bočních větví při omezeném ozáření 18 %. Množství akumulované biomasy bylo však pozitivně korelováno se zvyšující se dostupností záření. Také KHAN et al. (2000) při sledování růstové reakce a akumulace biomasy v různých světelných podmínkách některých severoamerických jehličnanů (*Pinus ponderosa*, *Pseudotsuga menziesii*, *Thuja plicata* a *Tsuga heterophylla*) popisují nejvyšší výškový růst v 75% stínu a nejmen-

ší v 0% stínu. Uvádějí, že celková produkce biomasy u semenáčků v 75% stínu byla významně nižší a poměr nadzemní části ke kořenům významně vyšší než na plném slunci. Přestože se jedná o dřeviny s různou tolerancí ke stínu, jejich reakce byly obdobné. Zvýšení výškového růstu těchto dřevin ve stínu může být ovlivněno vnitrodruhovou konkurencí, hlavní vliv bude mít snaha dosáhnout příznivějších světelných poměrů „bojem“ o světlo při jinak optimální výživě. Uváděná nižší akumulace biomasy u semenáčků rostoucích ve stínu odpovídá také našim sledovanému pomalejšímu růstu stíněných jedinců.

Jedle je řazena mezi polostinné dřeviny v mládí tolerující velmi silné zastínění (ÚRADNÍČEK et al. 2009). Přesto přírůst jedinců v našem pokusu vysazených nebo později přesazených do stinné polohy byl pomalejší. Z charakteru naměřených primárních faktorů fluorescence chlorofylu vyplývá, že sazenice vysazené na přímé slunce mají větší sklon k fotoinhibici u pomaleji dozrávajících nových výhonů. V literatuře se také uvádí, že zastíněné jehlice mají vyšší obsah chlorofylu (KRPEŠ 2002; KHAN et al. 2000). Dalo by se tedy předpokládat, že tyto skutečnosti povedou k redukci přírůstové reakce stromků na přímém slunci. Na přírůst však má kromě fotosyntetické reakce jednotlivých jehlic vliv také listová plocha, dostupnost záření o optimální intenzitě a spektrálním složení, konkurence v korunovém prostoru (v našem pokusu zanedbatelná) apod. Lze předpokládat, že i přes redukci fotosyntézy v případě vysokých radičních period bude celková metabolická efektivita jedlí rostoucích na přímém slunci vyšší a vede tak ke schopnosti vyšší akumulace biomasy.

Světelné podmínky se projevují i na rozvoji kořenových systémů (v našem pokusu to nebylo sledováno). Pokud sazenice rostoucí ve stínu vytvářejí slabší kořenové systémy, jak pozorovali například BURSHEL a HUSS (1964) u semenáčků buku, může se to projevit i na slabším růstu nadzemních částí. Podobně REYNOLDS a FROCHOT (2003) uvádějí, že aklimatizace na vyšší intenzitu světla je postupný proces, ke kterému dochází během následných vegetačních období a může být v přímém vztahu k budoucímu vývoji větší biomasy kořenů u uvolněných semenáčků.

ZÁVĚR

Ze studie zaměřené na porovnání dvou přístrojů na měření fluorescence chlorofylu odlišných přístupů, přístrojů PEA (HANSATECH) a Imaging-PAM (WALZ 2004) a posouzení variability základních parametrů fluorescence chlorofylu sazenic jedle bělokoré pěstovaných v různých světelných podmínkách vyplývá, že:

- Měření oběma přístroji různých metodických přístupů je využitelné pro posouzení fotosyntetické aktivity jedlí rostoucích v odlišných světelných poměrech. Vzorky jehličí pro měření přístrojem PEA vyžadují časově náročnější a preciznější přípravu, měření přístrojem Imaging-PAM na druhou stranu předpokládá vyšší nároky na přípravu laboratoře - zajištění odpovídajícího zastínění. I při zachování adekvátních postupů však nelze počítat se vzájemnou kombinací měření oběma přístroji.
- Pozice 1. a 2. ročníku jehličí v rámci koruny malých sazenic jedle (1. až 4. přeslen) není průkazně určujícím faktorem ovlivňujícím fluorescenci chlorofylu, potažmo fotosyntetickou aktivitu.
- Maximální výtěžek fluorescence chlorofylu jehličí jednoletého výhonu jedle je i v druhé polovině léta průkazně nižší než u jehličí 2. ročníku, mladé jehlice jsou schopny absorbovat méně dopadajícího záření.
- Světelné poměry pěstování sazenic jedle výrazně určují charakter fluorescenční reakce chlorofylu, maximální kvantový výtěžek fluorescence jedlí rostoucích při plném oslunění je nižší, což naznačuje určitou ochrannou fotoinhibici. Tento rozdíl je výraznější u jednoletého jehličí.
- Opakované měření fluorescence chlorofylu ukázalo, že asimilační aparát jedle je schopen zahájit velice rychle adaptaci fluorescenční reakce na změnu světelných podmínek pěstování.
- Přes sklon sazenic jedlí pěstovaných na plném slunci k fotoinhibici je jejich přírůst kořenového krčku i výškový růst dynamičtější, což poukazuje na vliv řady dalších faktorů na růst (celková intenzita a rozložení využitelného fotosynteticky aktivního záření, listová plocha, vliv konkurence atd.).

Měření fluorescence chlorofylu lze tedy považovat za dobrou a perspektivní metodu pro posuzování fyziologické kvality dřevin v juvenilním stadiu jejich růstu. Pro posouzení celkového růstového potenciálu testovaných dřevin je ovšem třeba mimo parametrů zjištěných výše uvedenou metodou posuzovat řadu dalších vlivů, které působí na jejich prosperitu.

Poděkování:

Příspěvek vznikl za podpory výzkumného záměru Ministerstva zemědělství České republiky MZE0002070203.

LITERATURA

- ADAMS W. W., WINTER K., SCHREIBER U., SCHRAMMEL P. 1990. Photosynthesis and chlorophyll fluorescence characteristics in relationship to changes in pigment and element composition of leaves of *Platanus occidentalis* L. during autumnal leaf senescence. *Plant Physiology*, 9: 1184-1190.
- BURSCHEL P., HUSS J.: 1964. Die Reaktion von Buchensamlingen auf Beschattung. *Forstarchiv*, 35: 225-233.
- CAMM E. 1993. Photosynthetic responses in developing and year-old Douglas-fir needles during new shoot development. *Trees: Structure and Function*, 8: 61-66.
- DEMMIG-ADAMS B. 1998. Survey of thermal energy dissipation and pigment composition in sun and shade leaves. *Plant and Cell Physiology*, 39: 474-482.
- EINHORN K. S., ROSENQVIST E., LEVERENZ J. W. 2004. Photoinhibition in seedlings of *Fraxinus* and *Fagus* under natural light conditions: implications for forest regeneration? *Oecologia*, 140: 241-251.
- GIELEN B., JACH M. E., CEULEMANS R. 2000. Effects of season, needle age, and elevated atmospheric CO₂ on chlorophyll fluorescence parameters and needle nitrogen concentration in Scots pine (*Pinus sylvestris*). *Photosynthetica*, 38: 13-21.
- GRASSI G., COLOM M. R., MINOTTA G. 2001. Effects of nutrient supply on photosynthetic acclimation and photoinhibition of one-year-old foliage of *Picea abies*. *Physiologia Plantarum*, 111: 245-254.
- HANSATECH 1999. Operating Instructions for Plant Efficiency Analyser Advanced Fluorescence Analysis. Hansatech Instruments Ltd, Revision date: 24/08/99: 93 s.
- KALINA J., URBAN O., ČAKÁNEK M., KURASOVÁ I., ŠPUNDA V., MAREK M. V. 2001. Different responses of Norway spruce needles from shaded and exposed crown layers to the prolonged exposure to elevated CO₂ studied by various chlorophyll a fluorescence techniques. *Photosynthetica*, 39: 369-376.
- KHAN S. R., ROSE R., HAASE D. L., SABIN T. E. 2000. Effects of shade on morphology, chlorophyll concentration, and chlorophyll fluorescence of four Pacific Northwest conifer species. *New Forests*, 19: 171-186.
- KOIKE T., SANADA M., LEI T., KITAO M., LECHOWICZ M. J. 1992. Senescence and the photosynthetic performance of individual leaves of deciduous broadleaved trees as related to forest dynamics. In: Murata N. (ed.): *Research in Photosynthesis. Proceedings of the IXth international congress on photosynthesis*. Nagoya, Japan, August 30 - September 4, 1992. Vol. IV. Dordrecht, Kluwer: 703-706.
- KRPEŠ V. 2002. Research on Norway spruce growth (*Picea abies*) under difficult circumstances on the Beskydy Mts. climate. *Spisy prací Přírodovědecké fakulty Ostravské univerzity č. 143/2002*. Ostrava, Ostravská univerzita: 119 s.
- LA PORTA N., BERTAMINI M., NEDUNCHEZHIAN N., MUTHUCHELIAN K. 2006. Photosynthetic changes that occur during aging of cypress (*Cupressus sempervirens* L.) needles. *Photosynthetica*, 44: 555-560.
- LICHTENTHALER H. K., BUSCHMANN C., KNAPP M. 2005. How to correctly determine the different chlorophyll fluorescence parameters and the chlorophyll fluorescence decrease ratio RFd of leaves with the PAM fluorometer. *Photosynthetica*, 43: 379-393.
- MAREK M. V., ŠPRTOVÁ M., URBAN O., ŠPUNDA V., KALINA J., GRILL D., HAVRANEK W. M., HUTTUNEN S., GUTTENBERGER H. 1999. Response of sun versus shade foliage photosynthesis to radiation in Norway spruce. *Phyton (Horn)*, 39: 131-137.

- MAREK M. V., ŠPRTOVÁ M., URBAN O., ŠPUNDA V. 2001. Chlorophyll *a* fluorescence response of Norway spruce needles to the long-term effect of elevated CO₂ in relation to their position within the canopy. *Photosynthetica*, 39: 437-445.
- MAXWELL K., JOHNSON G. J. 2000. Chlorophyll fluorescence - a practical guide. *Journal of Experimental Botany*, 51: 659-668.
- MELOUN M., MILITKÝ J. 2004. *Statistická analýza experimentálních dat*. Praha, Academia: 953 s.
- MÉSZÁROS I., TÓTH R. V., VERES S. 1998. Photosynthetic responses to spatial and diurnal variations of light conditions in seedlings of three deciduous tree species. In: Garab G. (ed.): *Photosynthesis: mechanisms and effects*. Proceedings of the XIth international congress on photosynthesis. Budapest, Hungary, 17-22 August, 1998. Vol. V. Dordrecht, Kluwer: 4081-4084.
- MITAMURA M., YAMAMURA Y., NAKANO T. 2009. Large-scale canopy opening causes decreased photosynthesis in the saplings of shade-tolerant conifer, *Abies veitchii*. *Tree Physiology*, 29: 137-145.
- MOHAMMED G. H., BINDER W. D., GILLIES S. L. 1995. Chlorophyll fluorescence: a review of its practical forestry applications and instrumentation. *Scandinavian Journal of Forest Research*, 10: 383-410.
- MOHAMMED G. H., NOLAND T. L. 1997. Influence of time of day and sampling methodology on chlorophyll fluorescence. *Forest Research Report - Ontario Forest Research Institute*, 142: 14 s.
- NAIDU S. L., DELUCIA E. H. 1997. Acclimation of shade-developed leaves on saplings exposed to late-season canopy gaps. *Tree Physiology*, 17: 367-376.
- OTTO H.-J. 1994. *Waldökologie*. Stuttgart, Ulmer: 383 s.
- PRIWITZER T., URBAN O., ŠPRTOVÁ M., MAREK M. V. 1998. Chloroplastic carbon dioxide concentration in Norway spruce (*Picea abies* (L.) KARST.) needles relates to the position within the crown. *Photosynthetica*, 35: 561-571.
- REYNOLDS P. E., FROCHOT H. 2003. Photosynthetic acclimation of beech seedlings to full sunlight following a major windstorm event in France. *Annals of Forest Science*, 60: 701-709.
- RICHARDSON A. D., BERLYN G. P. 2002. Changes in foliar spectral reflectance and chlorophyll fluorescence of four temperate species following branch cutting. *Tree Physiology*, 22: 499-506.
- ROBAKOWSKI P., MONTPIED P., DREYER E. 2003. Plasticity of morphological and physiological traits in response to different levels of irradiance in seedlings of silver fir (*Abies alba* MILL.). *Trees: Structure and Function*, 17: 431-441.
- ROBAKOWSKI P. 2005. Species-specific acclimation to strong shade modifies susceptibility of conifers to photoinhibition. *Acta Physiologiae Plantarum*, 27: 255-263.
- ROBAKOWSKI P., ANT CZAK P. 2008. Ability of Silver fir and European beech saplings to acclimate photochemical processes to the light environment under different canopies of trees. *Polish Journal of Ecology*, 56: 3-16.
- ROHÁČEK K. 2002. Chlorophyll fluorescence parameters: the definitions, photosynthetic meaning, and mutual relationships. *Photosynthetica*, 40: 13-29.
- ROSENQVIST E., VAN KOOTEN O. 2003. Chlorophyll fluorescence: A general description and nomenclature. In: Dell J. R., Toivonen P. M. A. (eds.): *Practical applications of chlorophyll fluorescence in plant biology*. Boston, Kluwer: 31-77.
- SARIJEVA G., KNAPP M., LICHTENTHALER H. K. 2007. Differences in photosynthetic activity, chlorophyll and carotenoid levels, and in chlorophyll fluorescence parameters in green sun and shade leaves of *Ginkgo* and *Fagus*. *Journal of Plant Physiology*, 164: 950-955.
- SCHREIBER U., SCHLIWA U., BILGER W. 1986. Continuous recording of photochemical and non-photochemical chlorophyll fluorescence quenching with a new type of modulation fluorometer. *Photosynthesis Research*, 10: 51-62.
- SCHREIBER U., BILGER W., NEUBAUER C. 1995. Chlorophyll fluorescence as a noninvasive indicator for rapid assessment of in vivo photosynthesis. In: Schultze, E.-D., Caldwell M. M. (eds): *Ecophysiology of photosynthesis*. Berlin, Springer: 49-70.
- SCHREIBER U. 2004. Pulse-Amplitude-Modulation (PAM) fluorometry and saturation pulse method: An overview. In: Papageorgiou G. C. (ed.): *Chlorophyll and fluorescence: a signature of photosynthesis*. Dordrecht, Kluwer Academic: 279-319.
- TOGNETTI R., JOHNSON J. D., MICHELOZZI M. 1997. Ecophysiological responses of *Fagus sylvatica* seedlings to changing light conditions. I. Interactions between photosynthetic acclimation and photoinhibition during simulated canopy gap formation. *Physiologia Plantarum*, 101: 115-123.
- ÚRADNÍČEK L., MADĚRA P. et al. 2009. *Dřeviny České republiky. Kostelec nad Černými lesy, Lesnická práce*: 367 s.
- WALZ H. 2004. *Imaging - PAM Chlorophyll Fluorometer. Instrument Description and Information for Users*. 2.143 / 02.2003, 4. Edition: February 2004: 134 s.

CHLOROPHYLL FLUORESCENCE VARIABILITY OF YOUNG SHADED AND NON-SHADED SILVER FIR (*ABIES ALBA* MILL.) TREES MEASURED BY TWO DIFFERENT TECHNIQUES

SUMMARY

Development of plants is influenced by many factors affecting their physiological quality and adaptation potential. One of the most important factors forming sun and shade leaves' adaptation is light. Also height position of photosynthetic apparatus within the tree crown, influencing flushing, leaf maturing and senescence, has its connection to light. Growth of new whorls changes position and function of older needle year-classes. All of these changes would have its response to photosynthesis. Chlorophyll fluorescence, one of the modern methods of physiological quality assessment, is in reverse relation to photosynthesis. However, the ways of chlorophyll fluorescence measuring differ. Basic approaches represent 1) point measuring of dark adapted leaves, 2) planar monitoring of fluorescence parameters variability within limited area without internal shading mechanisms. Output chlorophyll fluorescence parameters of both methods can differ.

The object of this study is to assess chlorophyll fluorescence variability of the young fir plants' needles depending on a) growing environment (light), b) age of needles, and c) position within the crown. Two independent instruments representing the two approaches mentioned were used.

For the purpose of this study, silver fir transplants were planted into sun and shaded (35% of full radiation) positions. The light conditions of the firs were changed regarding the year before (Tab. 1). In July 2010, six well growing plants were selected to take needle samples. Needles 1 (1st to 4th whorl) and 2 (2nd to 4th whorl) years old were taken to analysis.

Chlorophyll fluorescence was measured by two different means representing two elemental approaches to measure: Plant Efficiency Analyser (HANSATECH) and Imaging-PAM (WALZ, 2004). Each variant of plant and whorl was represented by 2 (1st year-class) or 3 (2nd year-class) samples. Before measuring the samples were dark-adapted for at least 30 minutes, Imaging-PAM analysis was done in well shaded (dark) room. Parameters analyzed were: F_0 – minimal fluorescence, F_m – maximal fluorescence, F_v/F_m maximum quantum yield of PS II photochemistry, and absorptivity (ABS). If necessary, the data were transformed by Box-Cox method and analyzed using Unistat 5.6 statistical software.

Although direct comparison of the outcomes of both methods was not possible, the study showed that both devices are efficient to evaluate photosynthetic activity of young silver firs grown in different light conditions. Position of the first and second needle-year on the young fir crown was not a significant factor influencing chlorophyll fluorescence outcomes. Even in the second half of the summer the maximal fluorescence yield of chlorophyll of new needles was significantly lower compared to 2nd needle year-class (Fig. 1); young needles are able to absorb less incoming light (Fig. 2). Character of chlorophyll fluorescence reaction is strongly affected by light conditions of growing environment of firs (Fig. 3). Parameter F_v/F_m of firs growing in sun was lower, which refers to protective photoinhibition. The difference was stronger by one year old needles. Assimilation apparatus of silver fir reflects changes of growing light conditions very rapidly. Despite the inclination of sun plants to photoinhibition their root collar diameter as well as height grew more intensively (Fig. 4). It shows that the impact of many other factors to the growth and prosperity of plants is to be considered.

Recenzováno

ADRESA AUTORA/CORRESPONDING AUTHOR:

Ing. Ondřej Špulák, Ph.D., Výzkumný ústav lesního hospodářství a myslivosti, v. v. i., VS Opočno
Na Olivě 550, 517 73 Opočno, Česká republika
tel.: 494 668 391; e-mail: spulak@vulhmop.cz