STRUKTURNÍ ANALÝZA JEHLIC HORSKÉHO SMRKU S RŮZNOU STRATEGIÍ RŮSTU

STRUCTURAL ANALYSIS OF NEEDLES OF MOUNTAIN SPRUCE WITH DIFFERENT GROWTH STRATEGIES

Václav Krpeš¹⁾ - Jan Leugner²⁾ - Jarmila Martincová²⁾

¹⁾ Ostravská univerzita, Přírodovědecká fakulta, Ostrava

²⁾ Výzkumný ústav lesního hospodářství a myslivosti, v. v. i., VS Opočno

ABSTRACT

The primary hypothesis is based on the assumption that Norway spruce individuals which show slow growth in the juvenile stage belong to the population with "K strategy" of growth. This indication is based on the used parameters R and K growth patterns indicating a capacity of the environment driving the maximum achievable size of individuals. In other words, this can be considered a "climax strategy". The experiment aims to recognize anatomical differences occurring in treatments with different growth strategies. Results suggest that in variants showing slower growth in nursery ("medium" and "small") occurred better health compared with trees showing intensive growth in nursery ("large" and "control"). Treatment "medium" shows the highest area of xylem, phloem and albuminous cells. Ratio of the vessel area to total needle section area suggests the good adaptation syndrome in the variant "small". There is a better potential for adaptation and growth in these initially smaller treatments.

Klíčová slova: smrk ztepilý, strukturální analýza jehlic, horské populace, cévní svazek

Key words: Norway spruce, structural analysis of needles, mountain population, vascular bundle

ÚVOD

Stabilita lesních ekosystémů v horských polohách (7.–8. LVS) je závislá na odolnosti smrku ztepilého vůči stresovým faktorům. Smrk ztepilý *Picea abies* (L.) KARST. je ve vysokých nadmořských výškách jedním z nejdůležitějších stromů pro plnění všech významných funkcí lesa. Snaha o jeho zachování a optimální růst nás vede k úsilí hledat pro jeho výsadbu co nejvhodnější sadební materiál tvořený stanovištně odpovídajícími sazenicemi z geneticky odpovídajícího osiva z místních ekotypů, které jsou nejlépe adaptovány na místní podmínky.

Stav rostlinných pletiv je ovlivněn řadou biotických a abiotických činitelů, kteří zasahují do fyziologických procesů a mají určující význam pro růst rostlin. V případě smrku ztepilého se projevují nežádoucím způsobem zejména abiotické vlivy. Podle současných poznatků jsou to především škodlivé látky v ovzduší, které pronikají stomaty do pletiva jehlic, kde vyvolávají reakce obranných mechanismů. Jestliže jsou tyto mechanismy v důsledku silných koncentrací škodlivých plynů přetíženy, dochází k poškození rostlinných pletiv, na nichž se začínají objevovat strukturální změny (RUETZE et al. 1988). Pokusy s jehlicemi stromů uměle vystavených působení škodlivých plynů (SO₂, O₃, NO₂) prokázaly v histologickém obrazu znatelná poškození různých pletivových komponentů (GRILL, HÄRTL1969; ITO 1975).

Jednou z hlavních příčin novodobých onemocnění smrkových porostů je uváděno škodlivé působení ozonu (O₃). Jeho koncentrace výrazně stoupají ve vysokých horských polohách za jasných slunečných dnů především v létě, kdy jsou dávky slunečního záření nejvyšší. O jeho škodlivém vlivu bylo vytvořeno několik hypotéz, které se jejich autoři

snaží potvrdit pokusy v klimatizačních komorách, ale i pozorováním ve volné přírodě. Přitom se zvlášť zdůrazňuje synergické působení ozonu a ostatních škodlivin. Podle těchto hypotéz mohou vysoké koncentrace ozonu a dalších fotooxidantů poškodit buněčné membrány a učinit je propustnější pro kationty (PRINZ et al. 1982). Působením kyselých dešťů se zesiluje vymývání Mg, Ca, K, Zn a Mn z jehlic (TUKEY 1970). Urychlené vymývání Mg a Ca působením ozonu a kyselých srážek pokusně zjistili KRAUSE et al. (1983). Intenzita všech těchto škodlivých jevů je uváděna do souvislosti s vysokými koncentracemi O₃ ve vyšších horských polohách, kde dochází v důsledku intenzivního záření k urychlené fotooxidaci chlorofylu, ochuzování půd živinami, relativně vysokému přínosu N z atmosféry a zeslabení mrazuvzdornosti smrků (KRAUSE et al. 1985). K podobnému závěru dospěli také REHFUESS a BOSCH (1986). Jejich hypotéza bere v úvahu více škodlivě působících látek. Zvláštní roli přisuzují vymývání Mg a Ca z jehlic. Nedostatek Mg přisuzují nejen jeho malé koncentraci v půdě, ale také zvýšenému přínosu dusíku z atmosféry. Zcela zvláštní váhu přikládají náhlým teplotním zvratům, které vedou k viditelným barevným změnám, ztrátě jehlic a úhynu stromů. Jako řídící faktor intenzity škod určují genetickou konstituci smrku.

Ozonem a kyselými dešti působené specifické degenerativní změny povrchu jehlic, poškození epikutikulárních vosků, škody na stomatech, tvoření puklin a trhlin pozorovali MAGEL a ZIEGLER (1986). K těmto změnám dochází nezávisle na stavu výživy. Mohou vzniknout také pronikáním jemných aerosolových částeček do mezofylového pletiva a vymýváním živin z jehlic. Zvýšenou respiraci a snížený obsah chlorofylu působením ozonu experimentálně potvrdil BUSSOTTI et al. (2006). Geneticky určující vztah mezi koncentrací ozonu a měnící se mrazovou rezistencí smrku uvádějí BROWN a ROBERTS (1988). Vývojové vady v pupenech a jehlicích dospělého smrku ztepilého, vzhledem k nedostatečné koncentraci bóru, sledovali SUTINEN et al. (2006), kteří ve své studii identifikovali buněčnou smrt v apikálním meristému rozvíjejících se pupenů. Jedná se o jeden z hlavních typů programové buněčné smrti, který zahrnuje sled biochemických procesů vedoucích k typickým změnám vzhledu buňky (degradace cytoskeletu a následná změna tvaru cytoplazmatické membrány, smrštění buňky, fragmentace jádra i chromozomů uvnitř).

Předpokládá se, že v procesu adaptace k nepříznivým podmínkám horského prostředí získávají populace smrku vyšší odolnost na úkor intenzity růstu v juvenilním stadiu, tj. v několika prvních letech věku. Vychází to především ze skutečnosti, že výška nadzemních částí smrkových semenáčků klesá se stoupající nadmořskou výškou (MODRZYNSKI 1995; KOTRLA 1998). Semenáčky s pomalým růstem tak zřejmě v juvenilním stadiu představují velmi cennou část horských populací, nejlépe adaptovanou k extrémním podmínkám prostředí. Jedná se pravděpodobně o jedince, kteří jsou schopni přežít extrémní klimatické výkyvy, k nimž může docházet i jednou za několik desítek let (LANG 1989).

Příspěvek se zabývá hodnocením výskytu poškození a strukturální analýzou jehlic smrku ztepilého na výzkumné ploše Pláň v Krkonoších. V roce 1994 byly na tuto plochu odděleně vysázeny části populace horského smrku lišící se intenzitou juvenilního růstu. Důraz byl kladen na zachování nejmenších jedinců při běžném způsobu třídění ve školkách, obvykle vyřazovaných jako výmět. Základní hypotéza vychází z předpokladu, že tito jedinci jsou zástupci části populace s *"k strategií"* růstu (JURÁSEK et al. 2009). Označení vychází z používaných parametrů <u>r</u> a <u>k</u> růstového modelu, v němž <u>k</u> označuje *"nosnou kapacitu"* prostředí, tedy maximálně dosažitelnou velikost jedince. Přeneseně je možné toto označení rovněž chápat jako *"klimaxovou strategii"*. Jde o jedince, kteří se v počátečních fázích vývoje vyznačují poměrně pomalým růstem, avšak jejich přednost spočívá v tom, že v pozdější době bývají odolnější proti různým stresovým vlivům a nepříznivým podmínkám a tvoří stabilní kostru lesních porostů.

Cílem experimentu bylo provést strukturální analýzu rostlinných pletiv vytipovaných smrků a stanovit anatomické rozdíly, vyskytující se v jednotlivých růstově odlišných variantách (dílčích populacích s různou strategií růstu). Detailní analýzy byly zaměřeny na sledování zdravotního stavu a růstových odlišností v plošném zastoupení funkčních pletiv.

MATERIÁL A METODIKA

Výzkumná plocha Pláň byla založena v roce 1994 na severním svahu Stohu v Krkonoších v nadmořské výšce 1000 až 1100 m. Pro výsadbu byly použity čtyřleté sazenice smrku ztepilého vypěstované ze specificky tříděných semenáčků. Před školkováním byly dvouleté semenáčky rozděleny do 3 velikostních kategorií: menší než 8 cm (varianta "malé"), 8 až 15 cm (varianta "střední") a 15 až 22 cm (varianta "velké"). V sousedství výzkumné plochy byla vyznačena část stejně staré provozní výsadby ("kontrola").

V dubnu 2011 bylo odebráno na lokalitě Pláň v Krkonoších celkem 28 vzorků (jednoletých letorostů pro histologická šetření. Každý vzorek reprezentuje jeden strom ve variantě, odběr byl prováděn ze stejného osluněného místa v koruně. Vzorky byly ihned po odběru na ploše fixovány FAA roztokem. V laboratoři byly popsány a evidovány, fotograficky dokumentovány a provedeno jejich vizuální posouzení z hlediska zdravotního stavu, zejména výskytu barevných změn.

Pro detailní histologická šetření byly vzorky upraveny do 114 bloků a následně zpracovány podle metodiky trvalých preparátů botanické

mikroskopické techniky. Vzorky byly odvodněny a prosyceny parafinem v přístroji Shandon Citadel TM – karuselový typ. Zkoumaný materiál byl zalit do Bio-Plastu při teplotě 58 °C. Krájení parafinových bloků v sériích se uskutečnilo na rotačním mikrotomu HM 325, MICROM GmbH (Německo). Síla řezů činila podle možností od 4 do 6 µm. Výhodné bylo použití silanizovaných skel a speciálních elektrostatických podložních skel Superfrost+. Po odparafinování byly vzorky barveny základní metodou hematoxylin - eozin. Pro barvení jader se využíval Weigerttův hematoxylin. Cytoplazma buněk a jejich pozadí bylo barveno alkoholovým roztokem eozinu. Byla ověřena specifická barviva. Jako nejvhodnější pro sledování pletiv byla vybrána malachitová zeleň s kyselým fuchsinem a toluidinová modř. Uzavřené nabarvené preparáty byly zapuštěny do enthellanu (MERCK). Obraz byl zviditelněn mikroskopem firmy ZEISS Axiostar Plus propojeným s kamerou fy OLYMPUS C5060 WZ a multimediálním PC. Pro analýzu obrazu a statistiku byl využit software QuickPhotoCamera 2.3, GIMP 2.2.10. V rámci výzkumu bylo takto analyzováno celkem 324 preparátů.

Pro posouzení kvalitativních odlišností fyziologických procesů uvnitř rostlinných pletiv jehlic byla zaměřena pozornost na určení rozsahu plošné velikosti základních fyziologických komponent, která podávají informaci o růstové aktivitě jedinců ze tří variant lišících se intenzitou juvenilního růstu. Měření ploch se uskutečnilo pomocí freeware programu CERNOTA (KALINA, SLOVÁK 2004), který bylo nutné kalibrovat. Program počítá množství černých pixelů ve vloženém obrázku, tuto hodnotu pak dosazuje do kalibrační rovnice, čímž získává plochu černě zbarveného objektu. Pro kalibraci bylo vytvořeno 9 černých objektů o známém počtu pixelů. Tyto obrázky byly následně vloženy do programu QuickPhotoCamera 2.3, který umožňuje měřit délku sledovaných objektů pro různá zvětšení. U každého objektu byla změřena jeho délka a šířka. Z těchto hodnot byl vypočítán obsah. Po vztažení počtu pixelů k vypočítanému obsahu byla získána kalibrační rovnice. Programem CERNOTA byly u jehlic měřeny plochy cévního svazku s cílem určit kvantitativní odlišnosti. Kvantitativní analýza byla zaměřena na rozdíl ploch mezofylového parenchymu a centrálního cévního svazku s rozlišením na podíl xylému a floému. Dále bylo posuzováno plošné zastoupení albuminózních buněk vyrovnávajících osmotický tlak v pletivu jehlic, plošné zastoupení xylémových buněk a linie floémových buněk. Celkový obraz anatomického příčného řezu byl z technických důvodů zpracován při 32násobném zvětšení.

Statistické vyhodnocení bylo provedeno jednofaktorovou analýzou variance (ANOVA) a následným párovým posuzováním Scheffého metodou.

VÝSLEDKY

Identifikace patologických jevů na jehlicích

1) Makroskopické posouzení morfologicko-patologických jevů na jehlicích

Výsledky šetření ukázaly, že na lokalitě Pláň dochází k poškození smrkových porostů po působení biotických i abiotických činitelů, která jsou obvyklá pro horská stanoviště 7. a 8. lesního vegetačního stupně. Jedná se o poškození projevující se světle zeleným nebo žlutavým zbarvením se zřetelnými vybledlými zaokrouhlenými skvrnami o průměru 1 až 2 mm, typickými pro svrchní letorosty a boční strany jehlic. Poškození začíná od hrotů jehlic ve svrchní plně ozářené části koruny. V terénu bývá přisuzováno působení ozonu. Může však být způsobeno také biotickými činiteli (houboví patogeni, mšice, roztoči). Příčiny makroskopického poškození jsou obtížně zjistitelné, protože odumřelé mezofylové buňky jsou skryty v poměrně celistvých krycích pletivech



Obr. 1.

Makrofotografie segmentů vzorku se souborem jehlic a označením patologických změn - č. 3 "kontrola" a č.11 varianta "malé"

Fig. 1. Macro-photo of segments of sample 3 "control" and 11 variant "small"



Obr. 2.

Příklad poškození krycích a mezofylových pletiv. Poškození mezofylového parenchymu provázené delignifikací buněk prostupující až k vodivým pletivům.V autonomních oblastech pozorována atrofie mezofylových buněk, projevující se nápadným "zúžením" **Fig. 2.**

Example damage of protective and mesophyll tissues. Damage of mesophyll parenchym with delignification of cells through to vascular tissue. Atrophy of mesophyll cells observed in the autonomous areas, as seen in conspicuous "narrowing"



Obr. 3.

Ukázka zpracování anatomického příčného řezu jehlic připraveného pro analýzu softwarem CERNOTA. Černá plocha zobrazuje soustavu krycích pletiv a mezofylového parenchymu bez cévního svazku (zvětšení 32krát)

Fig. 3.

Sample of the processing of anatomical needle cross-sectional that is ready for analysis by software CERNOTA. The black area shows the system of protective tissue and mesophyll parenchym without vascular bundle (32x zoom)

jehlic s xeromorfní stavbou, pod pevnými vrstvami epidermis, hypodermis a subhypodermis. Na jehlicích je patrná zonální diskolorace, hnědnutí zejména v apikálních částech. Ojediněle se vyskytují lokální nekrózy nepravidelně v celé délce jehlice a drobné chlorózy s typickou zonální depigmentací. Dalším symptomem poškození, projevujícím se sekundárně působením endofytických hub, jsou hnědavě tečkovité kresby (obr. 1). Houby (plísně) nebylo možno kultivačně prokázat, protože materiál byl již fixován. Mykózy lze identifikovat v anatomickém řezu impregnační stříbřicí metodou. Příklady fytopatologických jevů jsou uvedeny na obr. 2. Popsaný typ poškození byl pozorován u všech variant sledovaných vzorků.

U varianty "kontrola" se častěji vyskytovala hnědá kupovitá skvrnitost a ojedinělé morfologické anomálie (krátké jehlice, deformace v apikální části, regenerace poškozených částí). U varianty "velké" byly zjištěny žlutavé jehlice s poruchami pigmentace a ztrátou chlorofylu. Projevoval se retardovaný a zakrslý růst jehlic a zdeformované pupeny.



Obr. 4.

Detail příčného řezu diploxylním cévním svazkem jehlice s označením jednotlivých částí vodivých pletiv. X_{1,2} – xylém; F_{1,2} – floém (1-8 počet floémových buněk v řadě); A_{1,2} – albuminózní buňky; S – sklerenchym - fibrózní buňky, kambium neaktivní (zvětšení 400krát) **Fig. 4.**

Detail of cross section of the diploxyl vascular bundle of needles with determination of individual parts of the vascular tissue. X $_{1,2}$ – xylem; $F_{1,2}$ – phloem (1-8 number of phloem cells in series); $A_{1,2}$ – albuminos cells; S - sclerenchyma-fibrous cells, cambium inactive (400x zoom)





Obr. 5.

Příklad digitálního zpracování obrazu metodou segmentace vodivých elementů – xylém (X, hnědá), floém (F, zelená), albuminózní buňky (A, červená)

Fig. 5.

Example of digital image processing method for segmentation of vascular elements – xylem (X, brown), phloem (F, green) and albuminous cells (A, red)

Některé jehlice byly kratší bez znatelných vizuálních změn, ojediněle se vyskytovaly zaschlé, nekrotické apikální části i znatelnější defoliace u mladších ročníků jehlic. Uvedené znaky svědčí o výraznějším stupni poškození u této varianty. Nejpříznivější stav vykazovala varianta "malé", kde převažovaly sytě zelené jehlice bez skvrnitosti a malého vzrůstu. I u této varianty se však místy projevovala u diskolorovaných jehlic hnědá skvrnitost s lokálním žloutnutím.

2) Mikroskopická analýza poškozených jehlic

Na krycích pletivech vzorků byly mikroskopickou analýzou rozlišeny ve volné disperzi výraznější patologické změny, které vykazují větší výskyt u varianty "kontrola". Za účelem určení patofyziologických jevů byla věnována pozornost rozsahu poškození mezofylového parenchymu a soustavy krycích a vodivých pletiv. V oblasti substomatárního mezofylu byly na anatomickém řezu zjištěny shlukovité nekrotické skupiny buněk a ojediněle difuzně rozptýlené nekrózy. Tyto nekrózy jsou lokalizovány pod epidermální a hypodermální řadou buněk a v pokročilé fázi dosahují k cévnímu svazku, který v některých případech prorůstají. Nápadným fenoménem je "zúžení" mezofylových buněk. Poškozená zóna, rozprostírající se v blízkosti horních krycích ploch, se rozpadá, je přesně lokálně omezena a hraničí se zdravými buňkami. V buňkách sousedících s mezofylovými nekrózami byla nepoškozená buněčná jádra. V některých případech byla pozorována delignifikace a porušení skeletizace mezofylových buněk.

Mikroskopická analýza jehlic prokázala výrazné patologické změny jak u varianty "kontrola", tak i v ostatních variantách. U varianty "velké" byly diagnostikovány nekrózy v kulovitých útvarech, prostupující až k vodivým pletivům. Byla rovněž zaznamenána přítomnost hub s následnou delignifikací buněčných stěn mezofylu. Soustava krycích pletiv byla narušena po destrukci vnějšími patogeny s následnou zborcenou skeletizací. U varianty "*střední*" byla zjištěna malformace u povrchové hnědavé skvrnitosti jehlic, formující se až do uzlovitých útvarů. Celkově byly u této varianty diagnostikovány mírné patologické změny. Podobně u varianty "malé" byly zaznamenány menší iniciační změny projevující se v deformaci mezofylových pletiv. Uvedené výsledky naznačují slabší poškození jehlic u variant "malé" a "střední" v porovnání s variantou "velké" a se sousední provozní výsadbou "kontrola".

Plošná kvantifikace specifických pletiv v jehlicích

Digitální mikroskopický obraz příčných řezů jehlic byl zpracováván v programu QuickPhotoCamera 2.3 a v grafickém programu Adobe Photoshop CS5. Objekt, u kterého byla měřena plocha, byl v první fázi označen pomocí nástroje "magnetické laso". Takto označená plocha byla obarvena černou barvou a uložena ve formátu jpg (obr. 3). Ve druhé fázi byl takto vytvořený obrázek nahrán do programu CERNOTA, který plochu vypočítá podle předem vytvořené kalibrační křivky.

Mikroskopický rozbor příčných řezů vedených středem jehlic (obr. 4, 5) ukázal odlišnosti mezi variantami. Průměrné naměřené fyziologické hodnoty parametrů, které vyznačují růstovou aktivitu zkoumaných jedinců, jsou souhrnně uvedeny v tab. 1 a 2.

Uvedené výsledky naznačují fyziologickou a strukturální odlišnost v anatomické stavbě jehlic jednotlivých variant. Sledujeme-li plošné zastoupení xylému, který má funkci vedení vody s roztoky minerálních látek, vidíme, že nejvyšší hodnoty vykazuje varianta "střední". Podobně je tomu i u floému, který rozvádí asimiláty, a také u albuminózních buněk, které vyrovnávají osmotický tlak v cévním svazku



Obr. 6.

Poměrné zastoupení plochy cévního svazku vůči ploše příčného řezu jehlicí a poměrné zastoupení plochy xylému vůči ploše cévního svazku (medián, obdélník znázorňuje horní a dolní kvartil, usečky znázorňují "vnitřní hradby" dat, červené body mohou představovat "outliery") **Fig. 6.**

Proportional representation of vascular bundle area to the cross-sectional area of needles and the proportional representation area of xylem to vascular bundle area (median, rectangle is a 25%–75% quantile, black stripes are non outlier range, red point may represent "outlier") (1 – control, 2 – small, 3 – medium, 4 – large)

Tab. 1.

Průměrné hodnoty parametrů vyznačujících růstovou aktivitu zkoumaných jedinců podle variant "malé", "střední", "velké" a "kontrola", (celkové plochy, plochy mezofylu – cévního svazku a poměr cévního svazku k celkové ploše řezu – zvětšení 32x)

Average values of the parameters of growth activity of individuals studied according to the variants of "small", "medium", "large" and "control", (total needle profile area, mesophyll area – vascular bundle and ratio of vascular bundle area to total needle profile area – 32x zoom)

Skupina	S ŘEZ [µm²]	S MEZO [µm²]	S CEVY [µm²]	SC/SŘ	S. o. SC/SŘ
Kontrola/Control	605579	546228	59351	9,86%	1,10%
Střední/Medium	653434	602284	51151	8,06%	1,42%
Malé/Small	345582	319383	26200	7,70%	1,24%
Velké/Large	552736	509254	43482	7,90%	0,77%

Vysvětlivky/Captions: S ŘEZ = celková plocha řezu jehlicí/total needle section area; S MEZO = celková plocha mezofylu/total mesophyll area; S CEVY= plocha cévy/vascular bundle area; SC/SŘ = poměr plochy cévy k ploše řezu/ratio of vascular bundle area to total needle section area; S.o. SC/SŘ = směrodatná odchylka poměru plochy cévy k ploše řezu/standard deviation of ratio of vascular bundle area to total needle section area

Tab. 2.

Průměrné hodnoty parametrů vyznačujících růstovou aktivitu zkoumaných jedinců podle variant "malé", "střední", "selké" a "kontrola" (plocha cévního svazku, plocha xylému, plocha albuminózních buněk, počet sklerenchymatických buněk, poměr plochy xylému k ploše cévního svazku, poměr plochy floému k ploše cévního svazku, počet floémových buněk v linii – zvětšení 200x)

Average values of the parameters of growth activity of individuals studied according to the variants "small", "medium", "large" and "control" (vascular bundle area, xylem area, phloem area, albuminous cells area, number of sclerenchymatic cells, ratio of xylem area to vascular bundle area, ratio of phloem area to vascular bundle area, number of phloem cells in the line – zoom 200x)

Skupina	S CEVY [µm²]	S xylem [µm²]	S floem [µm²]	S albumin [µm²]	Sx/Sc2	S. o. Sx/Sc2	Sf/Sc2	S. o. Sf/Sc2
Kontrola/ Control	58944	1502	1878	2279	2,58%	0,32%	3,25%	0,75%
Střední/Medium	49876	1747	2113	2761	3,47%	0,42%	4,13%	0,77%
Malé/Small	27359	1383	1160	2254	5,11%	1,13%	4,36%	1,63%
Velké/Large	42893	1461	1651	2527	3,42%	0,98%	3,54%	0,98%

Vysvětlivky/Captions: S CEVY= celková plocha cévy při zvětšení 200x/total vascular bundle area, 200x zoom; S xylem = plocha xylému/xylem area; S floém = plocha floému/phloem area; S albumin = plocha albuminózních buněk/albumin cells area; Sx/Sc2= poměr plochy xylému k ploše cévního svazku/ratio of xylem area to vascular bundle area; S.o. Sx/Sc2 = směrodatná odchylka poměru plochy xylému k ploše cévního svazku/standard deviation of ratio of xylem area to vascular bundle area; Sf/Sc2 = poměr plochy floému k ploše cévního svazku/ratio of phloem area to vascular bundle area; S.o. St/Sc2 = směrodatná odchylka poměru plochy floému k ploše cévního svazku/ratio of phloem area to vascular bundle area; S.o. St/Sc2 = směrodatná odchylka poměru plochy floému k ploše cévního svazku/standard deviation of ratio of ratio of phloem area to vascular bundle area

(BRACEGIRDLE, MILES 1971). Rovněž celková plocha řezu a plocha mezofylu vykazuje u varianty "střední" nejvyšší hodnoty. Hypoteticky lze z toho usoudit na příznivější předpoklady ke stabilnímu růstu u této varianty. Nejnižší absolutní hodnoty těchto parametrů byly zaznamenány u varianty "malé", což ukazuje na malý průtočný profil xylému a floému a mohlo by být příčinou pomalejšího růstu u této varianty. Avšak výjimku u této varianty tvoří parametry průtočné plochy xylému k celkové ploše cévního svazku (Sx/Sc2), která činí 5,11 % a celkové plochy floému k ploše cévního svazku (Sf/Sc2), kde byly naměřeny průměrné hodnoty 4,36 %, tedy zásobování mezofylových pletiv xylémovou šťávou a odvádění asimilátů z mezofylových buněk se jeví u této varianty jako nejpříznivější. Porovnáme-li tyto údaje s variantou "kontrola", kde poměr Sx/Sc2 je 2,58 % a poměr Sf/Sc2 je 3,25 %, vidíme markantní rozdíl (obr. 6). Z uvedených výsledků jsou patrné signifikantní rozdíly. U varianty "malé" lze tedy usuzovat na optimálnější rozložení anatomických parametrů fyziologických komponent, které jsou předpokladem zdravějšího růstu v extrémních podmínkách 8. lesního vegetačního stupně.

DISKUSE

Na jehlicích zkoumaných jedinců z Krkonoš byly zjištěny barevné změny, které se běžně vyskytují u vysokohorských populací smrku, například v Moravskoslezských Beskydech (KRPEŠ 2000). Mikroskopická analýza jehlic prokázala výrazné patologické změny jak u "kontroly", tak i v ostatních variantách. Obdobná poškození jsou popsána i u smrků z jiných oblastí. V pokusech ve Schwarzwaldu bylo u smrků a jedlí zjištěno, že prvotní poškození začíná v cévním svazku (PARAMESWARAN et al. 1985). Přitom dochází v rozmezí kambia k anomálnímu dělení buněk, jakož i k proliferaci a hypertrofii transfuzního parenchymu. Počínající změny v cévním svazku nalezl rovněž SCHMITT et al. (1986) u ještě zelených jehlic poškozených smrků, z čehož usoudil, že působení škodlivých plynů má menší význam. Příčinu nutno hledat spíše v nedostatku minerální výživy a v biologicky důležitých vlastnostech stanoviště. SUTINEN (1987) popisuje poškození v cévním svazku, které prostupuje k endodermu a vede ke vzniku strazburgerových buněk u smrku po dvouměsíčním působení škodlivých plynů.

Výsledky ukázaly, že v jehlicích všech experimentálních variant i kontrolního porostu zkoumaných sazenic se vyskytují určité barevné a strukturální změny související s poškozením abiotickými i biotickými činiteli. Výskyt takových poškození je obvyklý ve vyšších horských polohách a nepředstavuje pro mladé smrkové porosty významnější riziko. V četnosti výskytu uvedených změn byly mezi experimentálními variantami pouze malé rozdíly.

Nejprůkaznější metodou, která ukazuje stav jednotlivých částí vodivých pletiv, je strukturální analýza příčných řezů jehlic. Výsledky provedených analýz naznačují fyziologickou a strukturální odlišnost v anatomické stavbě jehlic jednotlivých variant (lišících se intenzitou růstu v juvenilní fázi) v rámci jedné lokality a stejného genotypu populace smrku rostoucího na lokalitě Pláň. Šetřením bylo prokázáno, že optimální strukturální uspořádání funkčních pletiv se vyskytuje u varianty "střední", která má ze všech variant nejoptimálnější funkční plochu floému i xylému. Tyto funkční fyziologické jednotky jsou důležitou součástí transportních systémů minerálních látek, vody a asimilátů, jež jsou pro růst rostlin nepostradatelné (PROCHÁZKA et al. 1998). Hypoteticky lze tedy usuzovat na příznivější předpoklady stabilního růstu u varianty "střední".

Výsledky strukturálních šetření příčných řezů jehlic rovněž naznačují kvalitní adaptační syndrom zaměřený na zásobování a vedení vody celým transportním systémem u varianty "malé", tedy u smrků, u nichž je předpokládána klimaxová strategie růstu. Měření morfologických parametrů jednotlivých variant ukázalo signifikantně vyšší růstové parametry (výška, výčetní tloušťka) u jedinců varianty "malé" v porovnání s jedinci rychleji rostoucích v juvenilní fázi – varianta "velké" (JURÁSEK et al. 2009).

Další syntéza výsledků měření se strukturálními parametry asimilačního aparátu jehlic by mohlo přispět k lepšímu poznání této složité problematiky pěstování a zakládání lesů.

Rovněž otázka optimální funkčnosti kvantitativního plošného zastoupení xylému a floému v cévním svazku ve vztahu k poměru Sx/Sc2 a Sf/Sc2 je složitá a vyžaduje další šetření zaměřená na měření rychlosti toku xylémové šťávy, sledování vodního režimu a dalších fyziologických parametrů.

ZÁVĚR

Při makroskopickém posouzení morfologicko-patologických jevů na jehlicích vykazovala nejpříznivější stav varianta "malé", kde převažovaly sytě zelené jehlice malého vzrůstu a bez skvrnitosti. I u této varianty se však místy projevovala u diskolorovaných jehlic hnědá skvrnitost s lokálním žloutnutím.

Výsledky mikroskopické analýzy poškozených jehlic naznačují slabší poškození jehlic u variant "malé" a "střední" v porovnání s variantou "velké" a se sousední provozní výsadbou "kontrola".

Na základě plošné kvantifikace specifických pletiv v jehlicích byly zjištěny největší absolutní hodnoty jednotlivých částí vodivých elementů u jedinců varianty "střední". Při posuzování parametrů průtočné plochy xylému k celkové ploše cévního svazku (Sx/Sc2) a celkové plochy floému k ploše cévního svazku (Sf/Sc2), tedy parametrů ovlivňujících zásobování mezofylových pletiv xylémovou šťávou a odvádění asimilátů z mezofylových buněk, se jeví jako nejpříznivější u varianty "malé".

Strukturální analýzy asimilačních orgánů tedy potvrzují hypotézu o velmi dobrém přizpůsobení jedinců smrku s pomalejším růstem v juvenilní fázi k nepříznivým horským podmínkám.

Poděkování:

Příspěvek byl zpracován v rámci projektu NAZV QI112A170 "Možnosti cíleného pěstování a využití genetický hodnotných částí populací sadebního materiálu smrku ztepilého s klimaxovou strategií růstu pro horské oblasti".

LITERATURA

- BRACEGIRDLE B., MILES P.H. 1971. An atlas of plant structure. London, Heinemann Educational Books: 121 s.
- BROWN K.A., ROBERTS T. 1988. Effects of ozone on foliar leasing in Norway spruce (*Picea abies* /L./ KARST.) confounding factors due to no_x production during ozone generation. Environmental Pollution, 55: 55-73.
- BUSSOTTI F., SCHAUB M., COZZI A., GEROSSA G., NOVAK K., HUG C. 2006. Sources of erros in assessing ozone visible symptoms on native vegetation. Environmental Pollution, 140: 257-268.
- GRILL D., HÄRTL O. 1969. Mikroskopische Untersuchungen an Fichtennadeln nach Begasung mit SO₂. Mikroskopie, 25: 115-122.

- ITO S. 1975. Histological responses of Japanese red pine needles exposed to sulfur dioxide. Journal of the Japanese Forestry Society, 57: 300-304.
- JURÁSEK A., LEUGNER J., MARTINCOVÁ J. 2009. Effect of initial height of seedlings on the growth of planting material of Norway spruce (*Picea abies* [L.] Karst.) in mountain conditions. Journal of Forest Science, 55: 112-118.
- KALINA J., SLOVÁK V. 2004. The inexpensive tool for the determination of projected leaf area. Ekológia (Bratislava), 23 (Suppl. 2): 163-167.
- KOTRLA P. 1998. Uchování a reprodukce genofondu původních populací smrku 8. lesního vegetačního stupně v Hrubém Jeseníku a Králickém Sněžníku. Disertační práce. Brno, MZLU: 139 s.
- KRAUSE G.H.M., JUNG K.D., PRINZ B. 1983. Neuere Untersuchungen zur Aufklärung immissionsbedingter Waldschäden. In: Saure Niederschläge. Acid precipitation. Ursachen und Wirkungen. Kolloquium Lindau 1983. Düsseldorf, Verein Deutscher Ingenieure Verlag: 257-266. VDI-Berichte 500.
- KRAUSE G. H. M., JUNG K. D., PRINZ B. 1985. Experimentelle Untersuchungen zur Aufkläung der neuartigen Waldschäden in der Bundesrepublik Deutschland. In: Waldschäden. Einflussfaktoren und ihre Bewertung. Kolloquium Goslar. 18 bis 20 Juni 1985. Düsseldorf, Verein Deutscher Ingenieure Verlag: 627–656. VDI-Berichte 560.
- KRPEŠ V. 2000. Dlouhodobý výzkum růstu smrku ztepilého Picea abies (L.) KARST. v nepříznivých podmínkách horského klimatu Beskyd. Sborník prací Přírodovědecké fakulty Ostravské univerzity. Biologie – ekologie, (6-7):17-44.
- LANG H.-P. 1989. Risks arising from the reduction of the genetic variability of some Alpine Norway spruce provenances by size grading. Forestry, 62 (Supplement): 49-52.
- MAGEL E., ZIEGLER H. 1986. Einfluss von Ozon und saurem Nebel auf die Struktur der stomatären Wachspfropfen in den Nadeln von *Picea abies* (L.) Karst. Forstwissenschaftliches Centralblatt, 105 (4): 234-238.
- MODRZYŃSKI J. 1995. Altitudinal adaptation of Norway spruce (*Picea abies* (L.) Karst.) progenies indicates small role of introduced populations in the Karkonosze mountains. Silvae Genetica, 44 (3): 70-75.
- PARAMESWARAN N., FINK S., LIESE W. 1985. Feinstrukturelle Untersuchungen an Nadeln geschädigter Tannen und Fichten aus Waldschadensgebieten im Schwarzwald. European Journal of Forest Pathology, 15 (3): 168-182.
- PRINZ B., KRAUSE H., STRATMANN H. 1982. Vorläufiger Bericht der Landesanstalt für Immissionsschutz über Untersuchungen zur Aufklärung der Waldschäden in der Bundesrepublik Deutschland. Essen, Landesanstalt für Immissionsschutz des Landes Norderhein-Westfalen: 154 s. LIS Berichte 28.
- PROCHÁZKA S., MACHÁČKOVÁ I., KREKULE J., ŠEBÁNEK J. 1998. Fyziologie rostlin. Praha, Academia: 484 s.
- REHFUESS K. E., BOSCH CH. R. 1986. Experimentelle Untersuchungen zur Erkrankung der Fichte (*Picea abies* [L.] KARST.) aufsauren Böden der Hochlagen: Arbeitshypothese und Versuchsplan. Forstwissenschaftliches Centralblatt,105: 201-206.
- RUETZE M., SCHMITT U., LIESE W., KÜPPERS K. 1988. Histologische Untersuchungen an Fichtennadeln (*Picea abies* L. Karst.) nach Begasung mit SO₂, O₃ und NO₂. Allgemeine Forst- und Jagdzeitung, 159 (9-10): 195-203.

- SCHMITT U., LIESE W., RUETZE, M. 1986. Ultrastruktyrekke Veranderungen in gruen Nadeln geschadigter Fichten. Angewandte Botanik, 60: 441-450.
- SUTINEN S. 1987. Ultrastructure of mesophyll cells of Spruce needles exposed to O₃ allone and together with SO₂. European Journal of Forest Pathology, 17: 362-368.
- SUTINEN S., VUORINEN M., RIKALA R. 2006. Developmental disorders in buds and needles of mature Norway spruce, *Picea abies* (L.) Karst., in relation to needle boron concentrations. Trees, 20 (5): 559-570.
- TUKEY H.B. 1970. The leaching of substances from plants. Annual Review of Plant Physiology, 21: 305-324.

STRUCTURAL ANALYSIS OF NEEDLES OF MOUNTAIN SPRUCE WITH DIFFERENT GROWTH STRATEGIES

SUMMARY

The stability of forest ecosystems on mountain sites depends on resistance of spruce, which is considered the most important tree species to fulfill all functions of the forest under harsh environmental conditions. In 1994, Norway spruce seedlings were planted in the experimental plot (1,040 m, Pláň locality, the Krkonoše Mts.) Prior to transplanting from nursery, two-year-old seedlings were sorted by height of the above ground part into three variants – "small", "medium" and "large" group.

The hypothesis is based on the assumption that Norway spruce seedlings, which show slow growth in the juvenile stage, belong to the population with "K growth strategy". This indication is based on the used parameters R and K growth patterns indicating a capacity of the environment driving the maximum achievable size of individuals. In other words, this can be considered a "climax strategy".

The experiment aims to perform a structural analysis of needles of trees with different growth strategy and recognize anatomical differences occurring in treatments with different growth strategies. The information may be used for prediction of growth activity of trees in different variants.

The vascular bundle area in cross section of needles was measured in order to determine the quantitative differences (Fig. 4, 5). To assess qualitative differences in physiological parameters of plant tissue needles, we measured quantitative parameters such as area of mesophyll parenchyma and central vascular bundle (xylem/phloem ratio).

In addition to the above mentioned characteristics we investigated the number of albumin cells important for the osmotic balance pressure in the tissue of the needles, the number of xylem cells, the chain of phloem cells and the number of sclerenchymatous fibrillar cells that determine the flexibility of needles.

The spruce needles showed color changes that were similar to the changes in the high-mountain populations of Norway spruce (e.g. the Moravskoslezské Beskydy Mts.). The tissues were affected by reactive oxygen substances causing damage typical of light green or yellow color with pale, round-shaped 1 to 2 mm spots in diameter which could be seen on the upper side of shoots and lateral parts of the needles (Fig. 1). Damage occurs first at the top of the needles in the upper part of crown (fully exposed to solar radiation).

Results suggest that in variants showing slower growth in nursery ("medium" and "small") occurred better health compared with trees showing intensive growth in nursery ("large" and "control"). Treatment "medium" shows the highest area of xylem, floem and albuminous cells (Tab. 1, 2). The ratio of the wessel area to total needle section area suggests the good adaptation syndrom in the variant "small" (Fig. 6). There is a better potential for adaptation and growth in these initially smaller treatments.

Recenzováno

ADRESA AUTORA/CORRESPONDING AUTHOR:

doc. Ing. Václav Krpeš, Ph.D., Ostravská univerzita, Přírodovědecká fakulta, Katedra biologie a ekologie Chittussiho 10, 710 00 Slezská Ostrava, Česká republika tel.: 597 092 324; e-mail: vaclav.krpes@osu.cz

Ing. Jan Leugner, 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: leugner@vulhmop.cz