

VLIV SIMULOVANÉHO POZDŇÍHO MRAZU A NÁSLEDNÝCH SVĚTELNÝCH PODMÍNEK NA FLUORESCENCI CHLOROFYLU A VITALITU RAŠÍCÍCH SAZENIC SMRKU ZTEPILÉHO

EFFECT OF SIMULATED LATE FROST AND SUBSEQUENT LIGHT CONDITIONS ON CHLOROPHYLL FLUORESCENCE AND VITALITY OF SPROUTING NORWAY SPRUCE SEEDLINGS

ONDŘEJ ŠPULÁK ✉ - JARMILA MARTINCOVÁ

Výzkumný ústav lesního hospodářství a myslivosti, v. v. i., Výzkumná stanice Opočno, Na Olivě 550, CZ - 517 73 Opočno, Czech Republic

✉ e-mail: spulak@vulhmop.cz

ABSTRACT

The article analyzes impact of simulated late frost and subsequent two levels of light conditions on damage of sprouting buds and chlorophyll fluorescence of one-year-old shoots of Norway spruce. There were three-year-old containerized seedlings exposed to low temperatures simulating two night frosts followed by days with different intensities of illumination in the plant growth chamber. Damage to sprouting buds (forming shoots) was visually evaluated. Chlorophyll fluorescence changes of one-year-old needles were monitored prior and after frost expositions. Young shoot damage of each tree was related to sprouting index of its lateral shoots. It was found that higher phase of sprouting corresponded to damage of sprouting buds as well as to disturbance of physiological state of older needles. Overcast day with lower light intensity following frost event lowers the damage of new sprouts as well as fluctuation of the fluorescence parameters of the older shoots of spruce in comparison to sunny day.

Klíčová slova: pozdní mráz, smrk ztepilý, rašení, poškození, fluorescence chlorofylu

Key words: late frost, *Picea abies*, budding, sprouting, damage, chlorophyll fluorescence

ÚVOD

Smrk ztepilý v podmínkách svého přirozeného rozšíření bývá vystaven působení pozdních jarních mrazů, často v době, kdy mladé stromky již ukončily dormanci a začínají rašit (AUSSENAC 2000). Tyto situace mohou působit problém při obnově lesa v podmínkách holin kalamitního charakteru nebo mrazových poloh, ale i vyskytnou-li se v lesních školkách. Pokud jsou totiž mrazovým teplotám vystaveni na-rašení jedinci, může docházet k letálnímu poškození nových výhonů, a tím ke ztrátám na přírůstu. V případě, že se jedná o sazenice dosud překonávající šok z přesazení, nebo dojde k souběhu více stresových faktorů (např. sluneční záření, poškození zvěří či myšovitými hlodavci), může docházet až k úhynu sazenic.

Na jaře v rostlinných pletivech klesá obsah látek, které snižují bod tuhnutí. Proto voda v apoplastu začíná mrznout již při teplotách blízkých 0 °C, tj. při -1 °C až -3 °C (HOLMSGAARD 1962; SAKAI, LARCHER 1987) a náhlé mrazy mimo zimní období mohou způsobit až okamžitou destrukci a odumření buněčné protoplazmy (BEADLE, SANDS 2004; NEUNER, BEIKIRCHER 2010). Nejcitlivější k nízkým teplotám jsou u rostlin květy, klíčící semena (především radix), rašící pupeny listů a pletiva mladých výhonů (především kambium) (NEUNER, BEIKIRCHER 2010). Poškození pozdními mrazy se však projevuje i na starších výhonech a v důsledku tak ovlivňuje růst (DITTMAR et

al. 2006). Prvním důsledkem mrazu je poškození asimilačního aparátu, zejména fotosystému II (PSII) (MAXWELL, JOHNSON 2000). Stresující vliv může být dále zvýrazněn intenzivním slunečním zářením následujícím po pozdních jarních mrazech (LANGVALL, ÖRLANDER 2001).

Měření fluorescence chlorofylu poskytuje informaci o rozsahu, v jakém je PSII schopen absorbovat a využívat fotosynteticky účinnou radiaci. Parametry fluorescence chlorofylu u jehličí mohou být využity i jako indikátory stresu mrazem (BINDER, FIELDER 1996; RITCHIE, LANDIS 2005; SILFVER et al. 2008; PEGUERO-PINA et al. 2008).

Cílem příspěvku je vyhodnotit vliv simulovaného pozdního mrazu a následných dvou různých světelných podmínek na a) poškození rašících výhonů a b) na parametry fluorescence chlorofylu jednoletých výhonů u sazenic smrku ztepilého.

MATERIÁL A METODIKA

Na jaře 2012 byly tříleté krytokořenné sazenice smrku ztepilého (pěstební vzorec f1+fk1+k1) po krátkodobém skladování v klimatizovaném prostoru (3 týdny při teplotě +3 °C až +5 °C) umístěny dne 3. 5. 2012 do růstové komory (SGC 120, Weiss Technik, UK). Pro intenzivní probouzení sazenic z dormance byl nastaven 16hodinový den

o teplotě 22 °C (intenzita záření ca 15 000 lux) a 8hodinová noc s teplotou 15 °C. Pro pokus bylo použito 96 sazenic (8 sadbovačů).

Průběžně (2 × týdně) byl sledován postup rašení jednotlivých sazenic. Rašení bylo hodnoceno pomocí indexů podle stupnice uvedené v tab. 1, odděleně pro terminální výhon a pro boční výhony, kde byl hodnocen nejvíce rozvinutý pupen.

Tab. 1.

Empirická stupnice rašení smrku – popis stavu a index rašení
Empirical scale of spruce sprouting – description and sprouting index

Stav/State	Index
Neraší/Not sprouting	0
Zvětšené pupeny/Swelling buds	1
Prosvítají zelené jehlice/ Green needles clearly showing through the bud scales	2
Sevřené svazečky jehlic vyrůstají mezi šupinami/ Confined bundle of needles growing from buds	3
Rozevřené svazečky jehlic, začátek délkového růstu/ Open bundle of needles, beginning of the extension growth	4
Délkový růst nových výhonů/ Elongation growth of new sprouts	5

Mrazové testy

Po vyrašení většiny sazenic (více jak 95 % s indexem rašení 2 a více) byly simulovány noční mrazové epizody. Délka trvání mrazu a minimální teploty byly stanoveny na základě reálných mrazových epizod ve vyšších horských polohách. Při fázích poklesu a ohřevu byly využity omezené možnosti komory (pouze dvoustupňové programování teplot) pro simulaci teplotně extrémní situace.

První mráz byl aplikován dne 22. 5. 2012, nejnižší teplota v komoře dosáhla -3,7 °C a celková doba s teplotou pod bodem mrazu byla ca 6 hodin (obr. 1 vlevo).

Uvedená aplikace mrazu způsobila pouze nevýrazné poškození rašících výhonů. Proto byla na shodné vzorníky dne 5. 6. 2012 aplikována druhá mrazová epizoda s minimální teplotou -4,2 °C a trváním teplot pod bodem mrazu ca 6 hodin (obr. 1 vpravo).

Po každé aplikaci mrazu byla první pozvolná fáze ohřevu bez osvětlení (15 min), dále byla po 16 hodin polovina sazenic ponechána v růstové komoře při plném osvětlení (varianta S – světlo; ca 15 000 lux, ca 170 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ve vzdálenosti 150 mm pod lampami při teplotě 25 °C) a druhá polovina při minimálním osvětlení (varianta T – stín; ca 500 lux, ca 60 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$). Plné osvětlení u obou variant bylo obnoveno až po následující temné noční periodě.

Vizuální hodnocení poškození rašících výhonů

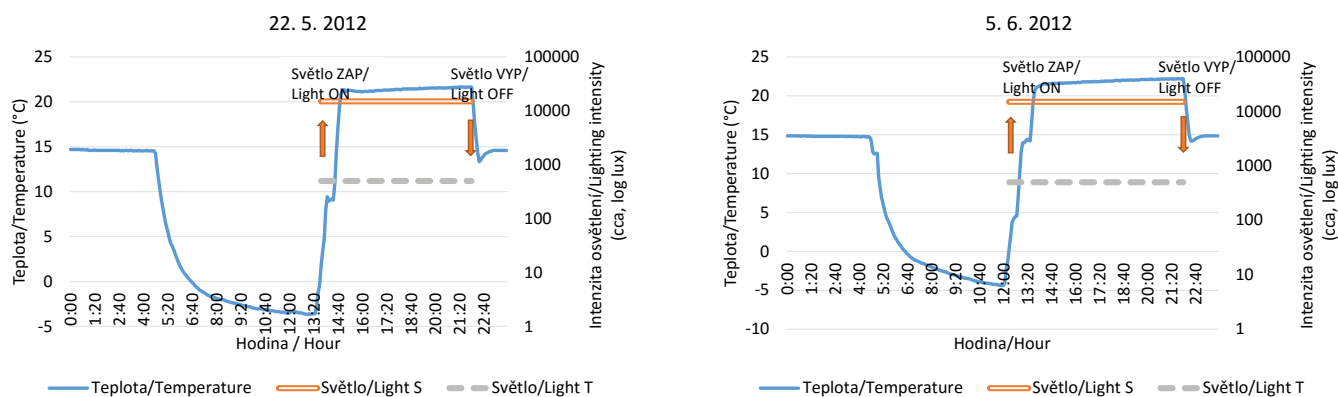
Poškození rašících výhonů bylo hodnoceno vizuálně podle stupnice: 0 – nepoškozené, 1 – slabě poškozené (s možností regenerace – ohnutí výhonu, barevné změny minimální), 2 – silně (letálně) poškozené (nekrotické šednutí svěšených výhonů). Hodnocení probíhalo odděleně pro boční výhony a terminální výhon. U bočních výhonů byl stanoven podíl výhonů s různým stupněm poškození v procentech.

Stupeň poškození byl vztahován k indexu rašení bočních výhonů dne 21. 5. 2012 (před první aplikací mrazových teplot) a ke světelným podmínkám po aplikaci mrazových teplot (varianty S a T).

Měření fluorescence chlorofylu

Fluorescence chlorofylu *a* posledního vyzrálého ročníku jehličí byla hodnocena v ca týdenních intervalech přístrojem Plant Efficiency Analyser (PEA; Hansatech Instruments, UK). Byla měřena na jednotlivém jehličí všech jedinců ze svrchní strany bočních letorostů v horní části korunky. Měření probíhalo v zatemnělé místnosti, pomocí originálních klipsů byly vzorky před měřením adaptovány na plnou tmou minimálně po dobu 30 minut. Intenzita záření byla nastavena na 50 % maximální intenzity, tj. cca 1500 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$. Každý vzorník byl měřen na dvou náhodně vybraných výhonech.

Hodnocen byl parametr maximální kvantový výtěžek fotochemických procesů fotosystému II pletiva adaptovaného na tmou (F_v/F_m ; MAXWELL, JOHNSON 2000). Do výpočtu parametru vstupují hodnoty



Obr. 1.

Průběh teplot v růstové komoře při mrazových testech a doba a intenzita ozáření variant S a T; označení doby zapnutí (ZAP) a vypnutí (VYP) osvětlení (šipky)

Fig. 1.

Temperatures in growth chamber during frost tests and illumination duration and intensity of treatments S (sun) and T (shade)

maximální fluorescence (F_m) a minimální fluorescence (intenzita fluorescence v 50 μ s; F_0), jejichž rozdíl je označován jako variabilní fluorescence (F_v). Hodnota F_v/F_m byla dopočítána obslužným softwarem podle vztahu

$$F_v/F_m = (F_m - F_0)/F_m \quad (1)$$

Vitalita rostlin byla charakterizována parametrem index výkonnosti (performance index on absorption basis, PI_{abs} , STRASSER et al. 2004), vypočteným podle vztahu:

$$PI_{abs} = \frac{1-(F_0/F_M)}{M_0/V_J} \times \frac{F_M-F_0}{F_0} \times \frac{1-V_J}{V_J} \quad (2)$$

kde V_J je relativní variabilní fluorescence v čase 2 ms vypočtená jako:

$$V_J = (F_J - F_0)/(F_M - F_0) \quad (3)$$

kde F_J je intenzita fluorescence v čase 2 ms (tzv. krok J). M_0 reprezentuje počáteční sklon křivky průběhu fluorescence (fluorescence kinetics) a je vypočten podle vztahu:

$$M_0 = 4 \times (F_{300\mu s} - F_0)/(F_M - F_0) \quad (4)$$

kde $F_{300\mu s}$ je intenzita fluorescence v čase 300 μ s.

Statistické hodnocení

Po odstranění odlehlých hodnot pozbývajících biofyzikální smysl byly v každém termínu vypočítány průměrné hodnoty za jednotlivé vzorky. Statistické soubory byly vzájemně porovnávány pomocí neparametrických testů, podle charakteru úlohy buď Man-Whitney testem, nebo Kruskal-Wallis testem s následným porovnáním variant. Testy byly prováděny ve statistickém prostředí R (3.1.3, The R Foundation for Statistical Computing 2015). Rozdíly byly považovány za průkazné, jestliže $P < 0.05$. Z důvodu nižších počtů jedinců byli pro detailnější hodnocení jedinci s indexy rašení 1 až 3, představující pozdně rašící jedince, sloučeni.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Smrk ztepilý vykazuje poměrně značnou variabilitu v časnosti rašení, průměrná intenzita rašení jedinců z obou variant ozáření však byla srovnatelná (obr. 2).

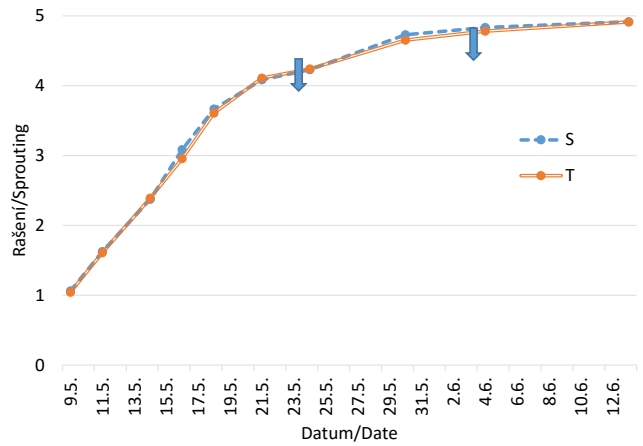
Po aplikaci simulovaného mrazu dne 22. 5. 2012 (-3,7 °C) došlo k poškození rašících bočních výhonů (vizuálně hodnocené barevné změny). Slabě poškozené výhony (stupeň 1) částečně regenerovaly. Podíl jedinců s výskytem poškození stupněm 1 a jeho pokles během následujících dvou týdnů byl u obou variant (S a T) srovnatelný. Silné poškození (stupeň 2) se po první aplikaci mrazu vyskytlo u většího počtu jedinců vystavených po mrazení silnějšímu světlu (varianta S) a následná regenerace nebyla pozorována (obr. 3).

Druhá aplikace mrazu dne 5. 6. 2012 byla silnější (-4,2 °C) a způsobila výraznější poškození rašících výhonů. Stupeň poškození 2 se u varianty T vyskytoval u 91 % jedinců a u varianty S u 94 % jedinců. Průměrné poškození varianty S bylo o cca 10 % vyšší než u varianty T (obr. 3). Výhony se stupněm poškození 2 postupně odumíraly. Podíl jedinců s poškozením stupně 1 klesal, zpravidla docházelo k jejich regeneraci, méně k (i pozvolnému) přechodu do stupně poškození 2.

Uvedené výsledky odpovídají údajům o tom, že u stromů mírného pásu jsou nové výhony v době od vyrašení pupenů do vyžrání letořtů velmi citlivé k mrazu a zpravidla nejsou schopny vydržet vystavení teplotám nižším než -3 °C bez poškození (GLERUM 1985; BURR 1990).

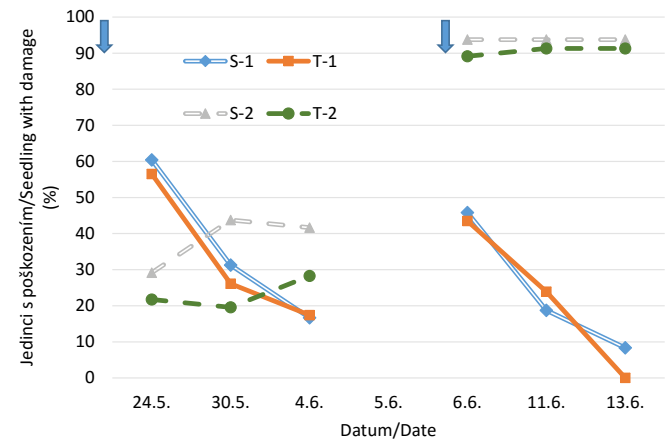
Výskyt poškození rašících výhonů byl sledován ve vztahu k indexu rašení jednotlivých sazenic. Zřetelný vliv časnosti rašení (stavu rašení v době aplikace mrazu) na poškození čerstvě vyrašených výhonů je

patrný z obr. 4 a 5. U pozdně rašících sazenic, u kterých v době aplikace mrazu rašení teprve začínalo (index rašení 1 až 3), bylo pozorováno pouze minimální poškození. U sazenic, které již před první aplikací mrazu (22. 5. 2012) vykazovaly výrazný délkový přírůst u nových výhonů (index 5), byl rozsah i intenzita poškození nejvyšší. Více byli přitom poškození jedinci vystavení po mraze silnějšímu osvětlení (va-



Obr. 2. Průběh průměrného indexu rašení (empirická stupnice, tab. 1) bočních výhonů smrků podle variant; šipky znázorňují termíny aplikace mrazu

Fig. 2. Average sprouting index (empirical scale, Tab. 1) of lateral shoots of spruce according to treatments; arrows show days of the frost tests



Obr. 3. Podíl sazenic s výskytem poškození 1. a 2. stupně v důsledku simulovaných mrazů (viz šipky) podle variant – všichni jedinci. S-1 – jedinci varianty S se stupněm poškození 1, S-2 – jedinci varianty S se stupněm poškození 2, obdobně u T. Pozn.: Jestliže se na vzorníku vyskytovaly oba stupně poškození, byl vzorník započítán ve statistice obou stupňů

Fig. 3. Proportion of seedlings with sprout damage of 1st and 2nd degree as result of frost tests (arrows) according to treatments – all individuals. S-1 – individuals of the treatment S with 1st damage degree, S-2 – individuals of the treatment S with 2nd damage degree etc. Note: If the seedling had sprouts with both damage degrees it was included in the statistics of both degrees concurrently

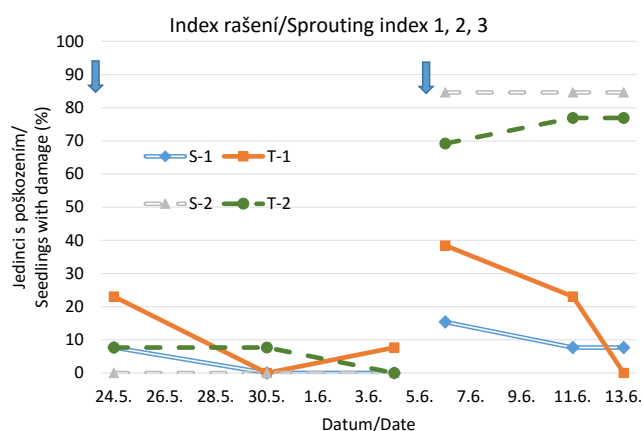
rianta S), což se projevilo jak na počtu poškozených jedinců (obr. 4), tak na míře jejich poškození (obr. 5). Ke shodnému závěru dospěl také ÖRLANDER (1993), který posuzoval řízkovance smrku pěstované ve venkovních podmínkách.

Obdobné výsledky byly získány i v případě hodnocení poškození terminálních výhonů, celkově vyšší procento poškozených výhonů bylo pozorováno u sazenic varianty S (obr. 6).

Výrazný vliv stadia vývoje pupenů na poškození, ujímavost a následný růst pozorovali BIGRAS et al. (2004) u semenáčků *Picea glauca*. Zjistili přitom mnohem silnější vliv velikosti mrazu než doby jeho působení. HANNERZ (1994) zjistil u tříletých sazenic smrku ztepilého, že nově se vyvíjející výhony byly nejcitlivější k mrazu v době rašení a jejich citlivost během dalšího růstu postupně klesala.

Pozdní mraz v jarním období může poškodit i starší jehličí, i když toto poškození není viditelné. Změny se však projevují mj. na fluorescenci chlorofylu (MOHAMMED et al. 1995; BINDER, FIELDER 1996; PERCIVAL, HENDERSON 2003; RITCHIE, LANDIS 2005).

Při hodnocení sazenic smrku ztepilého v růstové komoře byly zjištěny hodnoty maximálního kvantového výtěžku PSII (F_v/F_m) posledního vyzrálého ročníku jehličí vyšší než 0,83, s nízkou variabilitou (obr. 7). Jde o běžné hodnoty zdravého funkčního asimilačního aparátu (STRAND, LUNDMARK 1995; RITCHIE, LANDIS 2005). První mrazový test vedl k mírnému poklesu středních hodnot F_v/F_m a výraznému zvýšení variability tohoto parametru, bez rozdílů mezi variantami. Během následujícího týdne se hodnoty opět stabilizovaly.

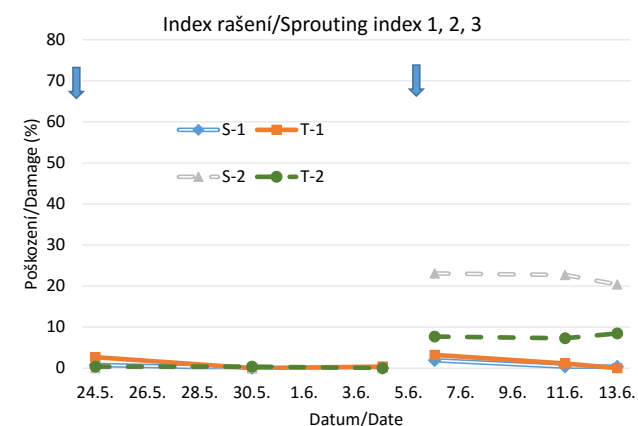
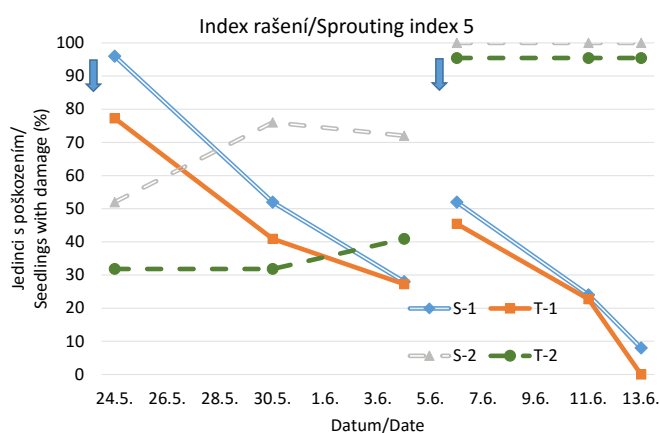


Obr. 4.

Podíl jedinců s výskytem poškození 1. a 2. stupně rašících pupenů u pozdně (vlevo) a časně (vpravo) rašících jedinců podle variant. S-1 – jedinci varianty S se stupněm poškození 1, S-2 – jedinci varianty S se stupněm poškození 2, obdobně u T

Fig. 4.

Share of seedlings with sprouts damaged by 1st and 2nd damage degree in late (left) and early (right) sprouting seedlings in accordance to treatments. S-1 – individuals of the treatment S with 1st damage degree, S-2 – individuals of the treatment S with 2nd damage degree etc.



Obr. 5.

Průměrný podíl rašících pupenů poškozených 1. a 2. stupněm poškození u pozdně (vlevo) a časně (vpravo) rašících jedinců podle variant; vysvětlivky viz u obr. 4

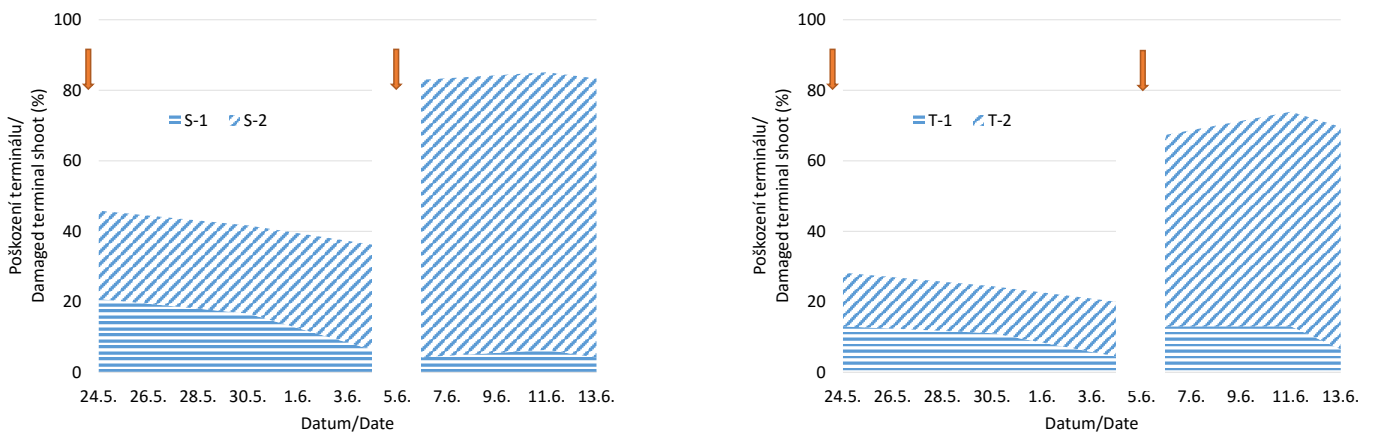
Fig. 5.

Average share of sprouting buds damaged by 1st and 2nd damage degree in late (left) and early (right) sprouting seedlings in accordance to treatments; for explanatory notes see Fig. 4

Vlivem druhé simulované mrazové epizody došlo k výraznému poklesu hodnot, průkazně vyšší propad nastal u varianty S, u níž se střední hodnota snížila až na hodnotu blízkou 0,6, která již signalizuje významné poškození fotosyntetických procesů (RITCHIE, LANDIS 2005; LANDIS et al. 2010). Průkazné rozdíly přetrvávaly i 14 dní po aplikaci mrazu (obr. 7). Výrazné snížení hodnot F_v/F_m a následného růstu u smrku ztepilého po nočních mrazových teplotách dosahujících $-5\text{ }^\circ\text{C}$, následovaných vysokou úrovní záření v době rašení pupenů a prodlužování výhonů popisuje WELANDER et al. (1994). Nízké teploty, například noční mraz, v interakci s vysokou intenzitou záření zesilují vývoj fotoinhibičního poškození asimilačního aparátu (STRAND, LUNDMARK 1987). Nižší intenzita záření (zastínění) rozsah poškození

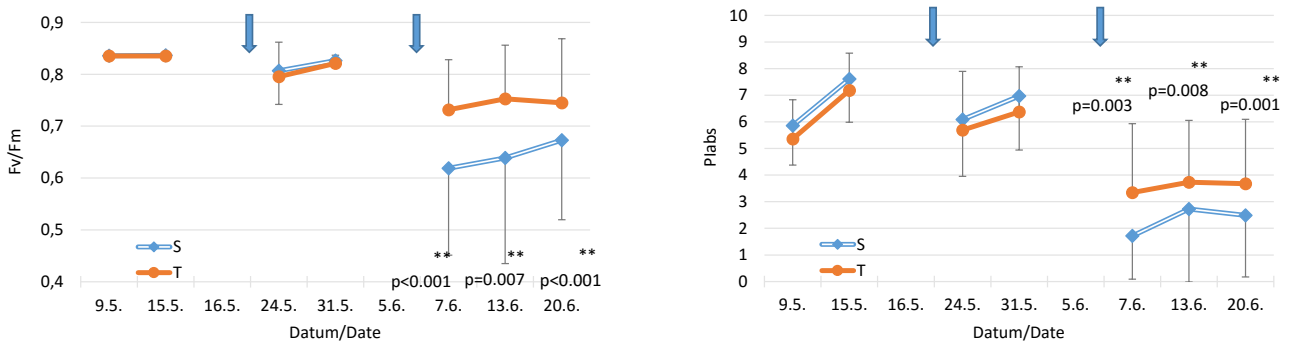
jehličí mrazem redukuje (ÖRLANDER 1993; LANGVALL, ÖRLANDER 2001).

Průměrné hodnoty indexu výkonnosti PI_{abs} , charakterizujícího vitalitu rostlin (AL-HABSI, PERCIVAL 2006), se na počátku sledování blížily hodnotě 6, v následujícím termínu (15. 5.) již byly vyšší než 7 (obr. 7). Hodnoty tohoto indexu jsou druhově specifické (např. CLARK et al. 2000; AL-HABSI, PERCIVAL 2006), byly zjištěny i rozdíly mezi klony (PERCIVAL et al. 2003). V důsledku první mrazové epizody hodnoty PI_{abs} spolu se zvýšením variability mírně poklesly, bez rozdílů mezi variantami. Pozvolná regenerace (indikována nárůstem PI_{abs}) byla ukončena druhým mrazem, v jehož důsledku průměrné hodnoty poklesly u varianty T na 3,3 v případě varianty S až na 1,7, s průkaznými rozdíly. Průkazné rozdíly přetrvávaly i následující dva týdny.



Obr. 6. Součtový graf zastoupení jedinců s poškozeným terminálním výhonem v souvislosti s mrazovými testy podle stupně poškození. Vlevo varianta S a vpravo T. S-1 – jedinci varianty S se stupněm poškození 1 atp.

Fig. 6. Cumulative chart of seedlings with terminal damaged during frost tests in accordance to shoot damage degrees. Treatment S left, treatment T right. S-1 – individuals of the treatment S with 1st damage degree etc.



Obr. 7. Vývoj maximálního kvantového výtěžku F_v/F_m a indexu vitality rostlin PI_{abs} (zobrazeny průměry a směrodatné odchylky) jednoletých výhonů v závislosti na aplikaci simulovaných mrazů (šipky). Hvězdičky s údajem o pravděpodobnosti značí statistickou průkaznost rozdílu v daném termínu měření (Man-Whitney test)

Fig. 7. Maximum quantum yield F_v/F_m and performance index PI_{abs} (mean and standard deviation) of one-year-old needles in the period of frost tests (arrows). Stars with probability values show statistically significant differences (Man-Whitney test)

Rozdílný vývoj parametrů fluorescence chlorofylu jehličí jednoletých výhonů byl patrný i při porovnávání skupin jedinců s odlišným indexem rašení (obr. 8). U pozdně rašících jedinců (s indexem rašení 1 až 3) byl pokles sledovaných parametrů v důsledku druhého mrazu minimální u varianty T. U varianty S naproti tomu hodnoty pozdně rašících jedinců (S-1, 2, 3) poklesly až na úroveň hodnot intenzivně rašících jedinců varianty T (T-5), regenerovaly však rychleji (obr. 8). Vliv interakce mrazových teplot a intenzity ozáření na poškození fotosystému II u smrku pozoroval také ÖRLANDER (1993).

ZÁVĚR

Z výsledků hodnocení vlivu simulovaného pozdního mrazu a následných světelných podmínek na sazenice smrku ztepilého vyplývá výrazný vliv stupně narašení na poškození nových výhonů i fyziologii vyzrálých výhonů sazenic. Se stupněm narašení roste náchylnost sazenic k poškození mrazem, které se projevuje snížením fyziologické aktivity i u starších jehlic, přestože jejich poškození není viditelné. Jako u řady druhů dřevin bylo i u smrku ztepilého potvrzeno, že následuje-li po mrazové epizodě den se sníženou intenzitou záření, dochází ke zmírnění vlivu mrazu na poškození tvořících se výhonů i k menšímu poškození starších letorostů a jehlic než v případě, kdy následuje den slunečný.

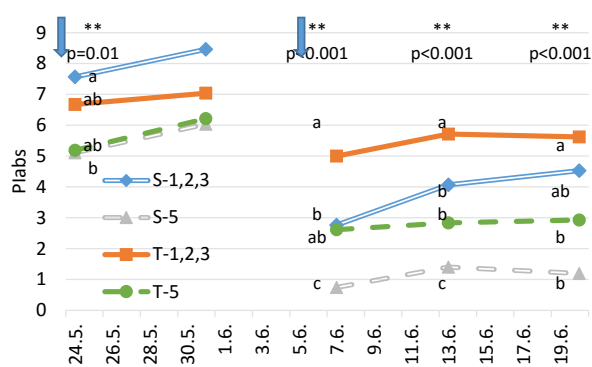
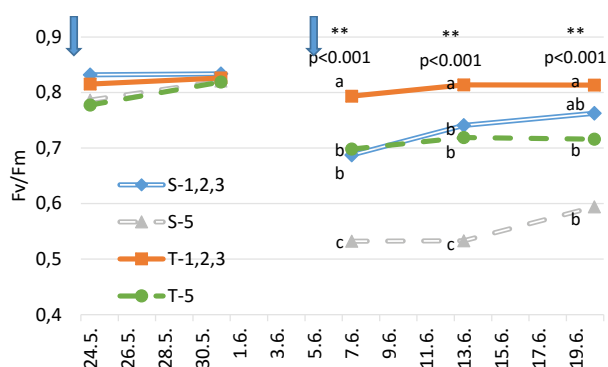
Stínění sazenic v době výskytu pozdních mrazů v lesních školkách se tak jeví účelné nejen vzhledem k předpokladu tlumení mrazových špiček, ale i z hlediska snížení možné míry poškození po mrazové epizodě.

Poděkování:

Výzkum byl financován z prostředků projektu QJ1230330 „Stabilizace lesních ekosystémů vyváženým poměrem přirozené a umělé obnovy lesa“ a poskytnuté institucionální podpory na dlouhodobý koncepční rozvoj výzkumné organizace MZe ČR – Rozhodnutí č. RO0115 (č. j. 5774/2015-MZE-17011).

LITERATURA

- AL-HABSI S., PERCIVAL G.C. 2006. Sucrose-induced tolerance to and recovery from deicing salt damage in containerized *Ilex aquifolium* L. and *Quercus robur* L. *Arboriculture & Urban Forestry*, 32 (6): 277–285.
- AUSSENAC G. 2000. Interactions between forest stands and microclimate: ecophysiological aspects and consequences for silviculture. *Annals of Forest Science*, 57: 287–301.
- BEADLE C., SANDS R. 2004. Physiology and silviculture. In: Burley, J. (ed): *Encyclopedia of Forest Sciences*. Volume Four. Oxford, Elsevier: 2061 s.
- BIGRAS F.J., COURSOLE C., MARGOLIS H.A. 2004. Survival and growth of *Picea glauca* seedlings as a function of freezing temperatures and exposure times during budbreak and shoot elongation. *Scandinavian Journal of Forest Research*, 19: 206–216.
- BINDER W.D., FIELDER P. 1996. Chlorophyll fluorescence as an indicator of frost hardiness in white spruce seedlings from different latitudes. *New Forests*, 11: 233–253.
- BURR K.E. 1990. The target seedling concepts: bud dormancy and cold hardiness. In: Target seedlings symposium. Proceedings, Combined Meeting of the Western Forest Nursery Associations. August 13–17, 1990, Roseburg, Oregon. Fort Collins, Rocky Mountain Forest and Range Experiment Station: 79–90. USDA Forest Service. General Technical Report RM-200.
- CLARK A.J., LANDOLT W., BUCHER J.B., STRASSER R.J. 2000. How wind affects the photosynthetic performance of trees: quantified with chlorophyll a fluorescence and open-top chambers. *Photosynthetica*, 38 (3): 349–360.
- DITTMAR CH., FRICKE W., ELLING W. 2006. Impact of late frost events on radial growth of common beech (*Fagus sylvatica* L.) in Southern Germany. *European Journal of Forest Research*, 125: 249–259.
- GLERUM C. 1985. Frost hardiness of coniferous seedlings: principles and applications. In: Duryea, M.L. (ed.): *Evaluating seedling*



Obr. 8.

Vývoj maximálního kvantového výtěžku fotosyntézy F_v/F_m a indexu PI_{abs} jednoletých výhonů v závislosti na aplikaci simulovaných mrazů (šipky) podle indexu rašení. Z důvodu nižších počtů jedinců byli jedinci s indexem rašení 1 až 3 sloučeni. Hvězdičky s údajem o pravděpodobnosti značí průkazný rozdíl v daném termínu měření (Kruskal-Wallis test); shodné písmeno značí příslušnost ke shodné skupině statistické homogenity (Fig. 8).

Maximum quantum yield F_v/F_m and performance index PI_{abs} of one year old needles in the period of frost tests (arrows) according to index of sprouting. Due to small numbers of individuals the indexes of sprouting 1, 2 and 3 were merged. Different letters and probability values denote significant differences (Kruskal-Wallis test)

- quality: Principles, procedures, and predictive abilities of major tests. Proceedings of the workshop. Corvallis, October 16–18, 1984. Corvallis, Forest Research Laboratory, Oregon State University: 107–126.
- HANNERZ M. 1994. Damage to Norway spruce (*Picea abies* (L.) Karst.) seedlings caused by a late spring frost. Report – SkogForsk, n. 5: 19 s.
- HOLMSGAARD E. 1962. Influence of weather on growth and reproduction of beech. Metsätieteellisen tutkimuslaitoksen julkaisuja – Communicationes Instituti Forestalis Fenniae, 55: 1–5.
- LANDIS T.D., DUMROESE R.K., HAASE D.L. 2010. The container tree nursery manual. Vol. 7. Seedling processing, storage, and outplanting. Washington, USDA Forest Service: 199 s. Dostupné na/Available on: <http://www.rngr.net/publications/ctnm/volume-7>
- LANGVALL O., ÖRLANDER G. 2001. Effects of pine shelterwoods on microclimate and frost damage to Norway spruce seedlings. Canadian Journal of Forest Research, 31 (1): 155–164.
- MAXWELL K., JOHNSON G.J. 2000. Chlorophyll fluorescence – a practical guide. Journal of Experimental Botany, 51: 659–668.
- 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. DOI: 10.1080/02827589509382904
- NEUNER G., BEIKIRCHER B. 2010. Critically reduced frost resistance of *Picea abies* during sprouting could be linked to cytological changes. Protoplasma, 243: 145–152.
- ÖRLANDER G. 1993. Shading reduces both visible and invisible frost damage to Norway spruce seedlings in the field. Forestry (Oxford), 66 (1): 27–36. DOI: 10.1093/forestry/66.1.27
- PEGUERO-PINA J.J., MORALES F., GIL-PELEGRÍN E. 2008. Frost damage in *Pinus sylvestris* L. stems assessed by chlorophyll fluorescence in cortical bark chlorenchyma. Annals of Forest Science, 65: 813p1–813p6. DOI: 10.1051/forest:2008068
- PERCIVAL G.C., FRASER G.A., OXENHAM G. 2003. Foliar salt tolerance of *Acer* genotypes using chlorophyll fluorescence. Journal of Arboriculture, 29 (2): 61–65.
- PERCIVAL G.C., HENDERSON A. 2003. An assessment of the freezing tolerance of urban trees using chlorophyll fluorescence. Journal of Horticultural Science and Biotechnology, 78: 254–260.
- RITCHIE G., LANDIS T.D. 2005. Seedling quality tests: chlorophyll fluorescence. Forest Nursery Notes: 12–16. USDA Forest Service, R6-CP-TP-11-04. Dostupné na/Available on: http://www.srs.fs.usda.gov/pubs/ja/ja_ritchie001.pdf
- SAKAI A., LARCHER W. 1987. Frost survival of plants. Responses and adaptation to freezing stress. Berlin, Springer: 321 s. Ecological Studies, 62.
- SILFVER T., HÄIKIÖ E., ROUSI M., HOLOPAINEN T., OKSANEN E. 2008. Interactive effects of elevated ozone and springtime frost on growth and physiology of birch (*Betula pendula*) in field conditions. Trees, 22: 291–301. DOI: 10.1007/s00468-007-0184-5
- STRAND M., LUNDMARK T. 1987. Effects of low night temperature and light on chlorophyll fluorescence of field-grown seedlings of Scots pine. Tree Physiology, 3: 211–224.
- STRAND M., LUNDMARK T. 1995. Recovery of photosynthesis in 1-year-old needles of unfertilized and fertilized Norway spruce (*Picea abies* (L.) Karst.) during spring. Tree Physiology, 15: 151–158.
- STRASSER R.J., TSIMILLI-MICHAEL M., SRIVASTAVA A. 2004. Analysis of the chlorophyll a fluorescence transient. In: Papageorgiou G.C., Govindjee (eds.): Chlorophyll a fluorescence: a signature of photosynthesis. Dordrecht, Springer: 321–362.
- WELANDER N.T., GEMMEL P., HELLGREN O., OTTOSSON, B. 1994. The consequences of freezing temperatures followed by high irradiance on in vivo chlorophyll fluorescence and growth in *Picea abies*. Physiologia Plantarum, 91 (1): 121–127.

EFFECT OF SIMULATED LATE FROST AND SUBSEQUENT LIGHT CONDITIONS ON CHLOROPHYLL FLUORESCENCE AND VITALITY OF SPROUTING NORWAY SPRUCE SEEDLINGS

SUMMARY

In its natural conditions, Norway spruce is commonly exposed to late frosts. Late frost can cause difficulties to reforestation of the extreme clearings, frost pockets and also in some forest nurseries. It occurs often in the period, when young trees finished their dormancy and the buds are flushing. The article evaluates impact of simulated late frosts and subsequent different light conditions on the damage of sprouting shoots and chlorophyll fluorescence parameters of one-year-old shoots of Norway spruce seedlings.

In the plant growth chamber, three-year-old containerized seedlings were two times exposed to low temperatures simulating late frost events, followed by days with different intensities of illumination (treatment S – ca 15 000 lux, treatment T – ca 500 lux; Fig. 1). Damage to sprouting buds (forming shoots) was visually assessed (0 – no damage, 1 – weakly damaged, 2 – heavily damaged). Impact of frost to one-year-old needles was evaluated by the method of chlorophyll *a* fluorescence measurement (Plant Efficiency Analyser, Hansatech). Maximum quantum yield of photosystem II primary photochemistry in the dark adapted state (F_v/F_m) and performance index on absorption basis (PI_{abs}) were analyzed. Damage of every spruce was related to index of sprouting of lateral buds (Tab. 1, Fig. 2) prior frost tests. Differences were considered to be statistically significant when $P \leq 0.05$.

The first frost event reaching minimum temperature of -3.7 °C (Fig. 1) caused smaller damage to sprouting shoots than the second one with minimum of -4.2 °C (Fig. 3). Seedlings with higher sprouting index (Tab. 1) were damaged more severely (Fig. 4, 5 and 6).

Only minimum decline of analyzed parameters of one-year-old needles' chlorophyll *a* fluorescence was observed after the first frost test and the regeneration period was short. Second simulated frost event caused severe decrease of F_v/F_m and PI_{abs} , the drop was significantly higher in the treatment with higher intensity of illumination after the frost test (S; Fig. 7). Chlorophyll fluorescence of the mature needles was also influenced by the stage of sprouting (Fig. 8). Weakly sprouting trees showed significantly lower drop of the chlorophyll fluorescence parameters (particularly in T treatment) comparing to spruces with extension growth of new shoots (index 5).

The research shows that frost stress of seedlings is positively related to state of sprouting buds. It manifests itself by higher damage of more developed new shoots as well as disturbance of physiology of older needles, although their injury is invisible. In case of day with lower irradiance intensity after frost event, the damage of sprouting buds and new shoots was lower and the drop of chlorophyll fluorescence parameters of older needles was milder than in the case of following sunny day. The practical application of the outcomes can be as follow: when late frost is expected, shading of the tree plants in forest nurseries can not only moderate frost peaks but also reduce the stress during a sunny day after a frost event.

Zasláno/Received: 23.11.2015

Přijato do tisku/Accepted: 07.01. 2016