

## VLIV SVĚTELNÝCH PODMÍNEK NA REAKCI SAZENIC JEDLE BĚLOKORÉ NA POZDNÍ MRÁZ

### IMPACT OF LIGHT ON THE RESPONSE OF SILVER FIR SAPLINGS TO THE LATE FROST

ONDŘEJ ŠPULÁK ✉ - JARMILA MARTINCOVÁ

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

✉ e-mail: [spulak@vulhmop.cz](mailto:spulak@vulhmop.cz)

#### ABSTRACT

The work evaluates the impact of simulated late frost and subsequent exposure to different irradiation on damage of the assimilation apparatus of fir (*Abies alba* Mill.) seedlings grown in different light conditions. Seedlings grown in shaded bed or in full sun were exposed for 5 hours to freezing temperatures with minimum temperature of  $-4.5\text{ }^{\circ}\text{C}$  in a growth chamber. Subsequently, one part of seedlings was exposed to light intensity of cca 15,000 lux, and the other to 500 lux during 16 hours of simulated day ( $17\text{ }^{\circ}\text{C}$ ). Prior and after the application of frost, and then at weekly intervals chlorophyll fluorescence of one-year-old needles was measured. Analyzed parameters were as follows: maximum quantum yield of chlorophyll fluorescence ( $F_v/F_m$ ), performance index on absorption basis ( $PI_{abs}$ ), absorptivity (Abs) and electron transport rate (ETR). Flushing seedlings were more susceptible to frost damage than seedlings that did not begin to flush yet. Unlike the flushing shoots, the frost damage of one-year-old needles was reversible, and their assimilation apparatus regenerated during 1–2 weeks. Assimilation apparatus of the seedlings exposed after frost to weak radiation was damaged significantly less than that of seedlings exposed to full light.

For more information see Summary at the end of the article.

**Klíčová slova:** jedle; rašení; jehličí; světlo; pozdní mráz; poškození; fluorescence chlorofylu

**Key words:** silver fir; flushing; needles; light; late frost; damage; chlorophyll fluorescence

#### ÚVOD

Pozdní mrazy v jarním období jsou klimatické extrémy s vysokou ekologickou a evoluční důležitostí (VANONI et al. 2016). Z jehličnanů je nejcitlivější k mrazu jedle bělokora (*Abies alba* Mill.). Typicky roste v mírně chladných klimatických podmínkách, je pozdně sukcesní, tolerantní ke stínu a citlivá k nízkým zimním teplotám a pozdním mrazům (ÚRADNÍČEK et al. 2009).

Pozdní mráz přichází v době, kdy už dochází k uvolňování dormance (BECK et al. 2004) a postihuje přízemní vrstvy vzduchu (ŠPULÁK, BALCAR 2013; GALLO et al. 2014). Stromy, které raší, jsou citlivější k poškození jarními mrazy než stromy, které ještě rašit nezačaly (JONES, CREGG 2006). Poškození pozdním mrazem má negativní vliv na růst a v součinnosti s dalšími stresujícími jevy (např. sluneční záření, poškození zvěří či myšovitými hlodavci, překonávání šoku z přesazení atd.) se může stát letálním faktorem.

Náhlé pozdní mrazy mohou vést až k destrukci a odumření buněčné protoplazmy, a to v důsledku tvorby ledu v pletivech (BEADLE, SANDS

2004; NEUNER, BEIKIRCHER 2010). Nejnáchylnější k poškození mrazem jsou mladá pletiva narašených výhonů (NEUNER, BEIKIRCHER 2010), poškození pozdními mrazy se však projevuje i na starších výhonech a v důsledku tak ovlivňuje růst (DITTMAR et al. 2006).

Mimo zimní období voda v apoplastu začíná běžně mrznout při teplotách  $-1$  až  $-3\text{ }^{\circ}\text{C}$ , v závislosti na obsahu látek, které snižují bod tuhnutí (SAKAI, LARCHER 1987). Prvním projevem stresu listů je poškození fotosystému II (MAXWELL, JOHNSON 2000). Proto je měření fluorescence chlorofylu vhodným prostředkem pro kvantifikování odolnosti k mrazu (PERCIVAL, HENDERSON 2003; PERKS et al. 2004; SILFVER et al. 2008; PEGUERO-PINA et al. 2008).

Dřeviny potřebují dostatek světla pro fotosyntézu, na druhou stranu potřebují být chráněny proti nadměrnému přísunu sluneční energie (NIYOGI 1999). Intenzivní sluneční záření následující po pozdních mrazech zvyrazňuje jejich stresující efekt na vegetaci, naopak stínění může poškození rostlinných pletiv mrazem zmírnit (ÖRLANDER 1993; WELANDER et al. 1994; LANGVALL, ÖRLANDER 2001; ŠPULÁK, MARTINCOVÁ 2016).

Cílem příspěvku je pomocí analýzy vybraných parametrů fluorescence chlorofylu vyhodnotit vliv simulovaného pozdního mrazu a následného ozáření na stav jednoletého jehličí sazenic jedle bělokoré s různou historií pěstování.

Průběh teplot a relativní vlhkosti vzduchu v klimatizované komoře byl nezávisle monitorován pomocí loggerů S3631 (firma Comet System, ČR).

## MATERIÁL A METODIKA

### Materiál

Sazenice jedle bělokoré (číslo uznané jednotky CZ-1-2C-JD-190-16-4-J) z výsevu v roce 2007 byly pěstované 2 roky na stíněném (stínící textilií) a nestíněném pařníku, v roce 2009 byly přeškolovány do shodných variant světelných podmínek.

Dne 26. 3. 2012 bylo třikrát 12 sazenic ze stíněného a stejný počet z nestíněného záhonu přesazeno do přepravky. Jedle pěstovaná na plném slunci vykazovala v té době vzhled oslabeného jedince a redukci asimilačního aparátu.

Přepravky se sazenicemi byly umístěny do řízených podmínek růstové komory (SGC 120, Weiss Technik, UK). Nastaven byl 16hodinový den o teplotě 17 °C (intenzita záření cca 15 000 lux; zářivky Philips Master TL-D 36W/840) a noc o teplotě 10 °C.

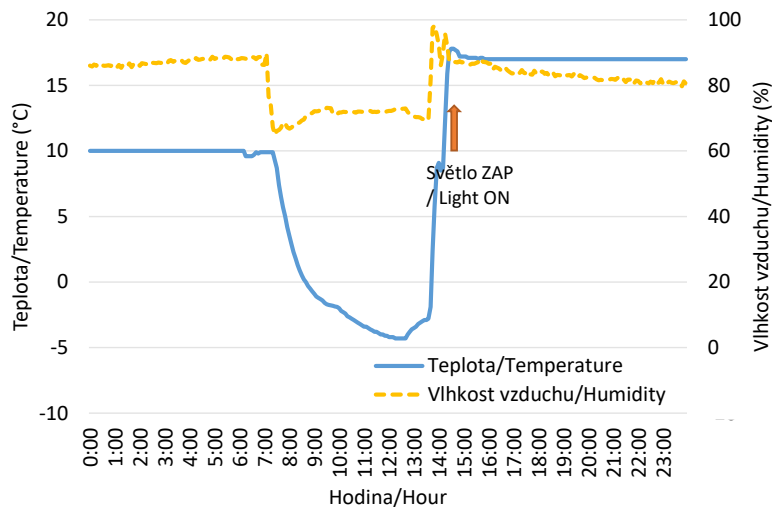
### Mrazový test

Po 3 týdnech v řízených podmínkách růstové komory, dne 17. 4. 2012, byl proveden mrazový test sazenic jedle. Testu byly vystaveny 2 opakování (2 přepravky po 12 sazenicích) od každé varianty, třetí opakování představovalo kontrolu umístěnou po dobu testu až do následujícího dne mimo klimatizovanou komoru v laboratoři, při teplotě cca 20 °C. Teploty vzduchu v klimatizované růstové komoře se pohybovaly pod bodem mrazu po dobu 5 hodin s maximálním poklesem na -4,5 °C (obr. 1). Následovalo období ohřevu a teploty standardního dne (17 °C a 10 °C). Po mrazu, v době simulace dne, bylo vždy jedno opakování ozářeno plnou intenzitou osvětlení komory (cca 15 000 lux, 170 μmol.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup> ve vzdálenosti 150 mm pod lampami) a druhé opakování pouze minimální intenzitou (cca 500 lux, 60 μmol.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup>). Vlhkost vzduchu byla v době simulace noci před začátkem mrazového testu vyšší než 85 %, v době testu poklesla na cca 70 %. Kompletní přehled variant je uveden v tab. 1.

Tab. 1.

Varianty pokusu mrazového testu jedle bělokoré (m. p. – mrazová perioda)  
Variants of the fir frost test (f. p. – frost period)

Podmínky pěstování – zkratka/ Growing conditions – abbr.	Varianta/ Variant	Popis/Description
Stíněný záhon/Shaded seedbed – T	T-K	kontrola – mimo komoru/control – outside the chamber
	T-S	po m. p. při vysoké intenzitě osvětlení (cca 15 000 lux)/ after f. p. in high illumination intensity (cca 15,000 lux)
	T-T	po m.p. při nízké intenzitě osvětlení (cca 500 lux)/ after f. p. in low illumination intensity (cca 500 lux)
Nestíněný záhon/Sunny seedbed – S	S-K	kontrola – mimo komoru/control – outside the chamber
	S-S	po m. p. při vysoké intenzitě osvětlení (cca 15 000 lux)/ after f. p. in high illumination intensity (cca 15,000 lux)
	S-T	po m.p. při nízké intenzitě osvětlení (cca 500 lux)/ after f. p. in low illumination intensity (cca 500 lux)



Obr. 1.

Průběh teplot a vlhkosti vzduchu v růstové komoře při mrazovém testu s označením doby zapnutí (ZAP) osvětlení  
Fig. 1.

Air temperatures and humidity in growth chamber during frost test and the time of switching the illumination on

Všechny varianty sazenic byly dále ponechány v růstové komoře v podmínkách stejných jako před mrazovým testem (viz výše) až do 3. května 2012, kdy byly přemístěny na venkovní záhon. Varianty pěstované v předchozích letech na plném slunci byly přitom opět umístěny na slunce, sazenice pěstované původně ve stinných podmínkách pod stínící textilii.

### Vizuální hodnocení rašení a poškození rašících výhonů

V období před mrazovým testem bylo vizuálně hodnoceno rašení jednotlivých sazenic podle pětistupňové stupnice publikované pro smrk (ŠPULÁK, MARTINCOVÁ 2016).

Po aplikaci mrazového testu bylo hodnoceno poškození rašících výhonů vizuálně podle stupnice: 0 – nepoškozené, 1 – slabě poškozené (s možností regenerace – ohnutí výhonu, barevné změny minimální), 2 – silně (letálně) poškozené (nekrotické šednutí svěšených výhonů).

### Měření fluorescence chlorofylu

Fluorescence chlorofylu *a* posledního vyzrálého ročníku jehličí byla hodnocena den před a následující den po mrazovém testu a dále v cca týdenních intervalech v laboratorních podmínkách (teplota 20–22 °C).

Temnotní fáze fluorescence chlorofylu *a* vzorků adaptovaných na tmu byla hodnocena přístrojem Plant Efficiency Analyser (PEA; Hansatech Instruments, UK) na jednoletém jehličí ze svrchní strany bočních letorostů v horní části korunky u všech vzorníků. Přístroj PEA umožňuje stabilní stínění a měření skutečných temnotních parametrů (LICHTENTHALER et al. 2005). Před měřením byly vzorky s umístěnými klipsy adaptovány na plnou tmu minimálně 30 minut, měření probíhalo v zatemněné místnosti. Pro testování byla intenzita záření 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 tmu ( $F_v/F_m$ ; MAXWELL, JOHNSON 2000) vypočítaný z maximální ( $F_m$ ) a minimální fluorescence (intenzita fluorescence v 50  $\mu\text{s}$ ;  $F_0$ ), jejichž rozdíl je označován jako variabilní fluorescence ( $F_v$ ), 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,  $PI_{\text{abs}}$ ; STRASSER et al. 2004), vypočteným podle vztahu:

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

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:

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

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

Měření fluorescence chlorofylu vzorků adaptovaných na světlo bylo realizováno pomocí přístroje Imaging-PAM (Walz, GE). Náhodně vybrané jednoleté jehlice (z posledního vyzrálého ročníku jehličí) z prvního bočního výhonu v horní části korunky byly umístěny na lepovou destičku lícni stranou vzhůru. Každý jedinec byl zastoupen 2 opakováními (jehlicemi), tzn. 24 měření z každé varianty. Nastavena byla intenzita měřicího světla 3  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ , frekvence pulzů 1 Hz, saturační

pulsy v intervalech 10 s byly aplikovány v 22 krocích s maximem 1414  $\text{mmol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  PAR. Dále byl měřen parametr Abs představující absorptivitu vypočítanou z poměru R- a NIR-obrazu podle vztahu:

$$\text{Abs} = 1 - R/\text{NIR} \quad (5)$$

Tento parametr může být považován za odhad absorptivity fotosynteticky aktivní radiace (PAR; IMAGING-PAM 2003).

Ze světlostních parametrů byl analyzován parametr maximální rychlost transportu elektronů (maximum electron transport rate;  $\text{ETR}_{\text{max}}$ ). Parametr ETR byl počítán podle vztahu:

$$\text{ETR} = 0.5 * Y(\text{II}) * \text{PAR} * \text{Abs}_{\text{std}} \quad (6)$$

kde  $Y(\text{II})$  je efektivní kvantový výtěžek PSII (effective PSII quantum yield), PAR hodnota intenzity fotosynteticky aktivního záření a  $\text{Abs}_{\text{std}}$  je typická hodnota absorptivity standardního zeleného listu a rovná se 0,84 (IMAGING-PAM 2003).

### Statistické hodnocení

Po odstranění odlehlých měření pozbývajících biofyzikální smysl byla data jednotlivých parametrů pro přiblížení k normálnímu rozdělení dat a stabilizaci rozptylů transformována pomocí Box-Coxovy transformace (FOX, WEISBERG 2011). Testy byly prováděny ve statistickém prostředí R (3.1.3, The R Foundation for Statistical Computing 2015). Podle charakteru úlohy byla data porovnáována pomocí studentova t-testu (varianty stínění před mrazovým testem), nebo, vzhledem k převládající nenormalitě i u transformovaných dat, neparametrického Kruskal-Wallis testu s mnohonásobným porovnáním metodou kruskalmc z balíku pgirmess (příslušné dílčí varianty). Rozdíly byly považovány za průkazné, jestliže  $P < 0.05$ .

## VÝSLEDKY A DISKUSE

### Rašení a poškození nových výhonů

Po třech týdnech v řízených podmínkách růstové komory, v den předcházející aplikaci mrazu, byly sazenice stíněného souboru (T) plně narašené, u převážně většiny sazenic byl již pozorován délkový růst nových výhonů. Naproti tomu sazenice pěstované v předchozích letech na plném slunci vykazovaly výrazně pomalejší průběh rašení, téměř 70 % jedinců stále nejevilo známky zvětšování pupenů. Postup rašení byl opačný, než pozorovali LANGVALL a LÖFVENIUS (2002) u smrku – ten rašil dříve na holině v porovnání s výsadbou pod porostní clonou.

Řízený stres mrazem způsobil poškození rašících letorostů u sazenic pěstovaných v předchozích letech ve stíněných podmínkách (T). U varianty silně ozářené po mrazu (varianta T-S) bylo letální poškození rašících výhonů téměř dvojnásobné v porovnání s výhony sazenic vystavených po mrazu jen slabému ozáření (T-T). Při hodnocení výskytu mírně poškozených výhonů nebyl mezi různě osvětlenými variantami pozorován žádný rozdíl (tab. 2). U sazenic pěstovaných v předchozích letech na slunci (S) nebylo poškození nových výhonů kvůli nízkému stupni narašení pozorováno. Všeobecně jsou nerašící stromy považovány za odolnější vůči působení pozdního mrazu v porovnání s rašícími jedinci a nejcitlivější jsou mladá pletiva rašících výhonů (BIGRAS et al. 2004; JONES, CREGG 2006).

### Fluorescence chlorofylu

V termínu před mrazovým testem (16. 4. 2012) byly zjištěny u jedlí pěstovaných ve stíněných podmínkách (soubor T) průkazně vyšší hodnoty  $F_v/F_m$  v porovnání s variantami pěstovanými na plném slunci (S). Průměrné hodnoty  $F_v/F_m$  u sazenic pěstovaných pod stíněním se pohybovaly v rozmezí 0,79 až 0,84, které je obecně považováno za op-

timální pro většinu druhů rostlin (MAXWELL, JOHNSON 2000). Svědčí to již o plné funkčnosti fotochemických procesů. Naproti tomu hodnoty parametru  $F_v/F_m$  u sazenic pěstovaných na plném slunci (S) ukázaly na určitou míru fotoinhibice (obr. 2). Reverzibilní fotoinhibice se vztahuje k výdeji nadbytečné energie a slouží k ochraně fotosyntetického aparátu před poškozením nízkou teplotou a nadbytečným světlem (ROBAKOWSKI 2005a). Silný fotoinhibiční stres může vést až k odbarvení jehlic (ROBAKOWSKI 2005b).

Následující den po mrazovém testu byl pozorován pokles maximálního výtěžku fotochemie ( $F_v/F_m$ ) u všech variant vystavených mrazu. Tyto výsledky odpovídají údajům o tom, že parametr  $F_v/F_m$  je indikátorem poškození asimilačního aparátu jehlic mrazem (PERKS et al. 2004). Výraznější pokles hodnot  $F_v/F_m$  byl pozorován u variant vystavených po mrazení silnému světlu (varianty T-S, S-S). U sazenic vypěstovaných ve stínu došlo po mrazovém testu k rychlé obnově funkčnosti asimilačního aparátu, zatímco u sazenic pěstovaných na slunci hodnoty  $F_v/F_m$  klesaly i v následujících týdnech. Nastolené trendy pokračovaly i po přenesení sazenic do venkovního prostředí (obr. 2). Podle prahových hodnot uváděných pro jehličí smrku (BOLHAR-NORDENKAMPE, GÖTZL 1992) se hodnoty  $F_v/F_m$  varianty S-T (pěstování na slunci, po mrazu slabé světlo) pohybovaly již v oblasti poruch a u varianty S-S (pěstování na slunci, po mraze silné světlo) na konci pokusu dokonce v oblasti těžkých, ale stále ještě reverzibilních poruch asimilačního aparátu.

Také index výkonnosti  $PI_{abs}$  byl před aplikací mrazu výrazně vyšší u sazenic pěstovaných ve stínu v porovnání se sazenicemi z nestíněného záhonu. Zejména u stíněných variant pak byly pozorovány výrazné změny indexu  $PI_{abs}$  v důsledku simulovaného mrazu a v následujících týdnech (obr. 3). Nejvýraznější pokles indexu výkonnosti  $PI_{abs}$  po mrazovém testu byl pozorován u varianty vypěstované ve stínu a po mrazení vystavené silnému světlu (T-S). U nestíněných sazenic (soubory S) bylo kolísání indexu  $PI_{abs}$  malé a jeho hodnoty po celou

dobu zůstávaly významně nižší než u sazenic vypěstovaných ve stínu (soubory T). Zatímco po přenesení sazenic do podmínek venkovního záhonu se průměrné hodnoty  $F_v/F_m$  všech variant T vyrovnaly, parametr  $PI_{abs}$  u mražených variant zůstával oproti kontrole nižší, i když rozdíly byly neprůkazné (obr. 3).

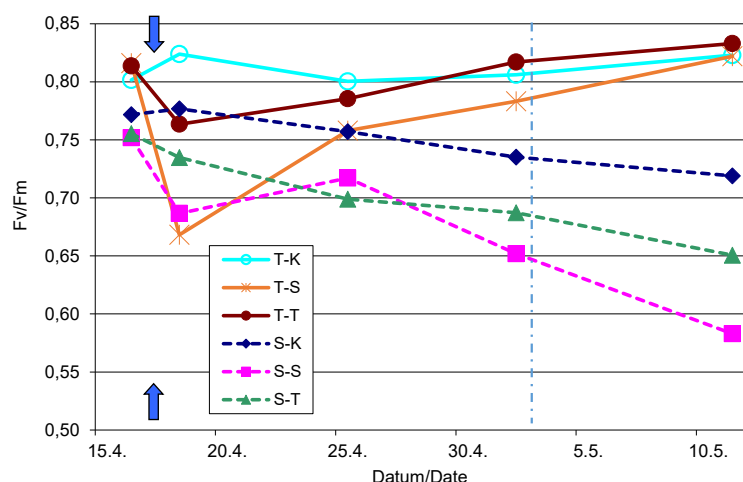
Už v době před mrazovým testem byla u sazenic pěstovaných ve stíněných podmínkách (T) rovněž zjištěna průkazně vyšší absorptivita Abs. Vyšší hodnoty variant původem ze stínu byly zjištěny i v dalších termínech měření, přičemž na průkaznosti rozdílů se různě projevila zvýšená variabilita hodnot (obr. 4). Vystavení sazenic mrazovému testu absorptivitu asimilačního aparátu výrazněji neovlivnilo.

**Tab. 2.**

Podíl sazenic jedle bělokoré s poškozenými rašícími výhonky podle variant (%); u sazenic variant S nebylo poškození nových výhonů pro nízký stupeň narašení pozorováno

Proportion of damaged flushing shoots of silver fir seedlings by variants; due to low intensity of flushing, damage to seedlings of variants from sunny bed (S) was not observed

Varianta/Variant	Poškození/Frost damage (%)	
	1 – mírné/ slight	2 – letální/ lethal
T-K	0,0	0,0
T-T	17,0	33,3
T-S	16,7	58,3



**Obr. 2.**

Vývoj maximálního kvantového výtěžku  $F_v/F_m$  jednotlivých variant. Šipky označují aplikaci mrazového testu, čerchovaná čára naznačuje den přenesení z růstové komory na venkovní záhony. Písmena v tabulce označují příslušnost ke skupinám statistické homogenity v rámci termínu měření (16. 4. t-test, v ostatních případech Kruskal-Wallis test)

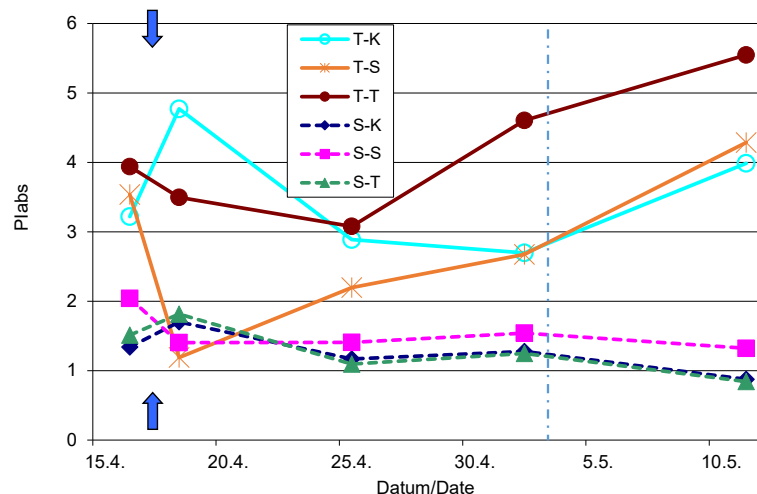
**Fig. 2.**

Course of the maximum quantum yield  $F_v/F_m$  of individual variants. The arrows indicate the application of freeze test, dotted line indicates the date of transfer from the growth chamber onto the outdoor beds. Letters in the table indicate group of statistical homogeneity within the term measurements (t-test on 16. 4.; otherwise Kruskal-Wallis one-way analysis of variance)

Pěstování	Varianta	Datum/Date				
		16.4.	18.4.	25.4.	2.5.	11.5.
T	T-K	a	a	a	a	a
	T-S		b	a	ab	a
	T-T		ab	a	a	a
S	S-K	b	ab	a	ab	b
	S-S		b	a	b	b
	S-T		b	a	b	b

U maximálních hodnot fotosyntetického transportu elektronů odečtených z křivek znázorňujících reakci na zvyšující se intenzitu ozáření u vzorků adaptovaných na světlo ( $ETR_{max}$ ) nebyly zjištěny průkazné rozdíly mezi sazenicemi pěstovanými na světle nebo ve stínu. Na vystavení mrazu zareagovaly snížením  $ETR_{max}$  zejména rostliny vypěstované ve stínu (varianty T-S a T-T), statisticky průkazný

byl pokles těchto hodnot u rostlin vystavených po mrazení plnému světlu (T-S) (obr. 5). I u nich však byla pozorována rychlá obnova hodnoty  $ETR_{max}$  v následujících termínech měření, hodnoty po přenesení sazenic do venkovních podmínek zůstaly stabilní. Z šetření vyplývá, že mráz nezpůsobil výraznější narušení fotosyntézy jednotlivých výhonů sazenic jedle. To odpovídá poznatkům o tom, že po-



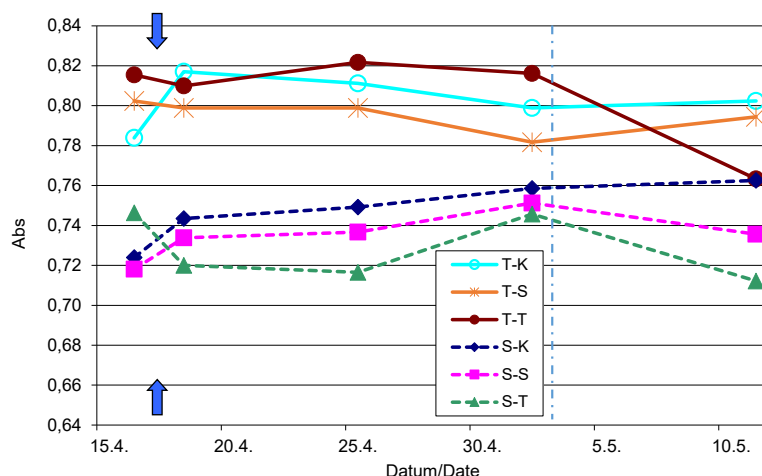
Pěstování	Varianta	16.4.	18.4.	25.4.	2.5.	11.5.
T	T-K	a	a	a	ab	a
	T-S		c	ab	ab	a
	T-T		ab	a	a	a
S	S-K	b	bc	b	b	b
	S-S		c	b	b	b
	S-T		bc	b	b	b

**Obr. 3.**

Vývoj indexu výkonnosti  $PI_{abs}$  jednotlivých variant. Šipky označují aplikaci mrazového testu, čerchovaná čára naznačuje den přenesení z růstové komory na venkovní záhony. Písmena v tabulce označují příslušnost ke skupinám statistické homogenity (16. 4. t-test, v ostatních případech Kruskal-Wallis test)

**Fig. 3.**

Development of the performance index on absorption basis  $PI_{abs}$  of individual variants. The arrows indicate the application of freeze test, dotted line indicates the date of transfer from the growth chamber onto the outdoor beds. Letters in the table indicate group of statistical homogeneity within the term measurements (t-test on 16. 4., otherwise Kruskal-Wallis one-way analysis of variance)



Pěstování	Varianta	16.4.	18.4.	25.4.	2.5.	11.5.
T	T-K	a	a	a	ab	a
	T-S		ab	a	abc	a
	T-T		a	a	a	ab
S	S-K	b	bc	b	bc	ab
	S-S		bc	b	bc	b
	S-T		c	b	c	b

**Obr. 4.**

Vývoj absorptivity (Abs) jednotlivých variant. Šipky označují aplikaci mrazového testu, čerchovaná čára naznačuje den přenesení z růstové komory na venkovní záhony. Písmena v tabulce označují příslušnost ke skupinám statistické homogenity (16. 4. t-test, v ostatních případech Kruskal-Wallis test)

**Fig. 4.**

Development of the absorbivity (Abs) of individual variants. The arrows indicate the application of freeze test, dotted line indicates the date of transfer from the growth chamber onto the outdoor beds. Letters in the table indicate group of statistical homogeneity within the term measurements (t-test on 16. 4., otherwise Kruskal-Wallis one-way analysis of variance)

kud mraz neklesne pod hranici způsobující tvorbu ledových krystalů v pletivech, neovlivní výrazněji fotosyntézu (PISEK, KEMNITZER 1968).

Uvedené výsledky ukázaly horší kondici asimilačního aparátu sazenic jedle bělokore pěstované na plném slunci v porovnání se sazenicemi pěstovanými na zastíněném záhonu. Asimilační aparát sazenic ze stínu byl citlivější k pozdnímu mrazu. Částečně to souvisí s odlišným průběhem rašení, kdy v době mrazového testu tyto sazenice již rašily, na rozdíl od sazenic pěstovaných na slunci. Je prokázáno, že narašené stromy jsou citlivější k poškození mrazem než stromy, u nichž rašení ještě nezačalo (JONES, CREGG 2006). Stinná a slunná pletiva však mají také odlišné morfologické a fyziologické parametry (LICHTENTHALER et al. 2007), které mohly být v pozadí rozdílů v poškození obou skupin sazenic.

Reakce asimilačního aparátu na aplikovaný mraz byla výrazně silnější u variant vystavených bezprostředně po mrazení silnému osvětlení v porovnání s variantami ponechanými po 16 hodin po mrazení v prostředí se slabou intenzitou světla. Pozitivní vliv stínění na zmírnění škod pozdními mrazy popisuje řada autorů (ÖRLANDER 1993; WELANDER et al. 1994; LANGVALL, ÖRLANDER 2001). U výsadeb je doporučována ochrana dospělým porostem, například KREYLING et al. (2012) doporučují pro ochranu buku proti pozdním mrazům zástin vyšší než 75 % (cover větší než 75 %). Výsadba pod porostem zmenšila pokles teploty při mrazové epizodě a eliminovala poškození sazenic jedle bělokore (AUSSENAC 1968). Částečnou ochranu před mrazem může mladým jedlím poskytovat i okolní porost (AUSSENAC 2000; HOUSKOVÁ et al. 2016). Závisí však na konkrétních porostních podmínkách, neboť v mezernatých porostech s nehomogenní strukturou se mohou vlivem omezeného proudění vzduchu vyskytovat i výrazně nižší teploty než na sousedních holých plochách (GEIGER 1950; KREČMER 1961). Na lokalitách s vysokým rizikem poškození pozdním mrazem doporučuje HEISKANEN (2004) boční stínění výsadeb i u smrku ztepilého. S ohledem na časnost rašení mohou rozdíl-

nou mírou poškození trpět nejen jednotlivé druhy rodu *Abies* (JONES, CREGG 2006; ŠINDELÁŘ; BERAN 2008), ale také jednotlivé provenience jedle bělokore (IVANKOVIC et al. 2007; KLISZ et al. 2016) nebo její klony (NIEMCZYK 2009).

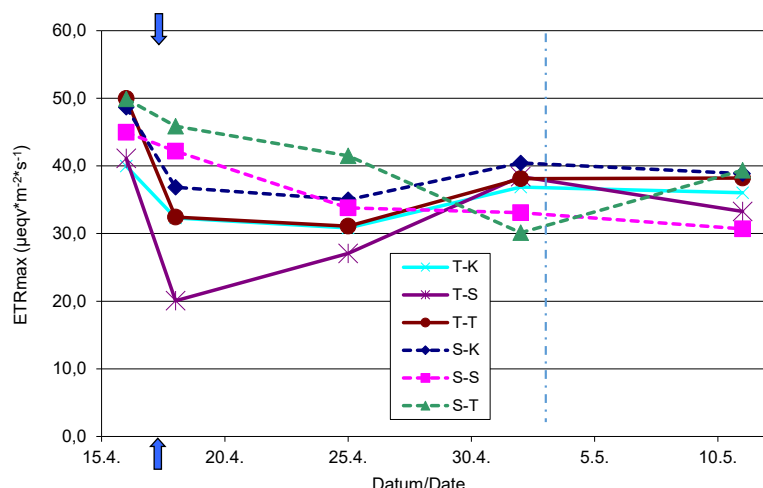
## ZÁVĚR

Studie hodnotící vliv světelných poměrů pěstování sazenic jedle na jejich reakci po aplikaci pozdního mrazu potvrdila významný vliv podmínek pěstování a stupně narašení na citlivost sazenic k poškození mrazem. Narašení sazenic v době pozdního mrazu se kromě poškození nových výhonů projevilo i na snížení efektivity fotosyntézy předchozího ročníku jehličí, zjišťované metodami měření fluorescence chlorofylu. Ze studie vyplývá, že vliv mírného pozdního mrazu na fluorescenci chlorofylu jehličí vyzrálých výhonů mladých jedinců jedle bělokore je krátkodobý. Jako u řady druhů dřevin bylo i u jedle potvrzeno, že když po mrazové epizodě následuje den se zvýšenou oblačností (sníženou intenzitou záření), dochází k menšímu poškození nových výhonů i k menšímu výkyvu a rychlejšímu vyrovnání parametrů fluorescence chlorofylu jednoletých jehlic než v případě slunečného dne.

Zakrývání sazenic jedle při očekávání výskytu pozdních mrazů ve školkách a výsadba pod ochranu porostů se tak jeví účelné nejen vzhledem k předpokladu tlumení mrazových špiček, ale i z hlediska snížení stresu působeného intenzivní radiací po mrazové epizodě.

### Poděkování:

Výzkum byl financován z poskytnuté institucionální podpory na dlouhodobý koncepční rozvoj výzkumné organizace MZe ČR – Rozhodnutí č. RO0117 (č. j. 6779/2017-MZE-14151).



Obr. 5.

Maximální hodnota parametru ETR transportu elektronů. Šipky označují aplikaci mrazového testu, čerchovaná čára naznačuje den přenesení z růstové komory na venkovní záhony. Písmena v tabulce označují příslušnost ke skupinám statistické homogenity (16. 4. t-test, v ostatních případech Kruskal-Wallis test)

Fig. 5.

Development of maximum electron transport rate ( $ETR_{max}$ ) of individual variants. The arrows indicate the application of freeze test, dotted line indicates the date of transfer from the growth chamber onto the outdoor beds. Letters in the table indicate group of statistical homogeneity within the term measurements (t-test on 16. 4., otherwise Kruskal-Wallis one-way analysis of variance)

Pěstování	Varianta	Datum/Date				
		16.4.	18.4.	25.4.	3.5.	10.5.
T	T-K	a	ab	a	a	a
	T-S		b	a	a	a
	T-T		ab	a	a	a
S	S-K	a	a	a	a	a
	S-S		a	a	a	a
	S-T		a	a	a	a

## LITERATURA

- AUSSENAC G. 1968. Observations on the effects of a late frost. *Revue Forestiere Francaise*, 20 (3): 204–211.
- 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: *Encyclopedia of Forest Sciences, Volume Four*. Oxford, Elsevier: 1568–1577.
- BECK E.H., HEIM R., HANSEN J. 2004. Plant resistance to cold stress: Mechanisms and environmental signals triggering frost hardening and dehardening. *Journal of Biosciences*, 29: 449–459. DOI: 10.1007/BF02712118
- 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 (3): 206–216.
- BOLHAR-NORDENKAMPF H.R., GÖTZLM. 1992. Chlorophyllfluoreszenz als Indikator der mit Seehöhe zunehmenden Streßbelastung von Fichtennadeln. *FBVA-Berichte. Schriftenreihe der Forstlichen Bundesversuchsanstalt*, 67: 119–131.
- 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. DOI: 10.1007/s10342-005-0098-y
- FOX J., WEISBERG S. 2011. *An R companion to applied regression*. Thousand Oaks, SAGE Publications: 449 s.
- GALLO J., KUNEŠ I., BALÁŠ M., NOVÁKOVÁ O., DRURY M.L. 2014. Occurrence of frost episodes and their dynamics in height gradient above the ground in the Jizerské hory Mts. *Journal of Forest Science*, 60: 35–41.
- GEIGER R. 1950. *The climate near the ground*. Cambridge, Harvard University Press: 482 s.
- HEISKANEN J. 2004. Effects of pre- and post-planting shading on growth of container Norway spruce seedlings. *New Forests*, 27 (2): 101–114.
- HOUSKOVÁ K., MAUER O., VANĚK P. 2016. Vliv krytí na odrůstání jedle bělokoré. In: *Jedle bělokorá páteř evropských lesů. Sborník referátů z mezinárodní konference. 12. a 13. října 2016 Olšina u Horní Plané. S. I., Šumavský Králováci v nakladatelství Lesnická práce: 115–120.*
- IMAGING-PAM. ©2003. Chlorophyll fluorometer. Instrument description and information for users. 2.143/02.2003. Effeltrich (Germany), Heinz Walz GmbH: 134 s.
- IVANKOVIC M., MARJANOVIC H., FRANJIC J., SKVORC Z., BOGDAN S. 2007. Variability of silver fir (*Abies alba* Mill.) provenances in the number of lateral buds on terminal sprout and damage by the late frost. *Periodicum Biologorum*, 109: 55–59.
- JONES G.E., CREGG B. M. 2006. Budbreak and winter injury in exotic firs. *Hortscience*, 41 (1): 143–148.
- KLISZ M., JASTRZĘBOWSKI S., UKALSKA J., PRZYBYLSKI, P., MATRAS J., MIONSKOWSKI M. 2016. Podatność populacji jodły pospolitej na uszkodzenia od przymrozków późnych. (The vulnerability of silver fir populations to damage from late frosts.) *Leśne Prace Badawcze*, 77 (1): 24–31. DOI: 10.1515/frp-2016-0003
- KREČMER V. 1961. Proudění vzduchu na lesní mýtině (se zřetelem k měření srážek). *Meteorologické zprávy*, 14 (6): 144–147.
- KREYLING J., STAHLMANN R., BEIERKUHNLIN C. 2012. Räumliche Variation in der Blattschädigung von Waldbäumen nach dem extremen Spätfrostereignis im Mai 2011. (Spatial variation in leaf damage of forest trees and the regeneration after the extreme spring frost event in May 2011). *Allgemeine Forst und Jagdzeitung*, 183: 15–22.
- 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. DOI: 10.1139/cjfr-31-1-155
- LANGVALL O., LÖFVENIUS M. O. 2002. Effect of shelterwood density on nocturnal near-ground temperature, frost injury risk and budburst date of Norway spruce. *Forest Ecology and Management*, 168: 149–161. DOI: 10.1016/S0378-1127(01)00754-X
- LICHTENTHALER H.K., BUSCHMANN C., KNAPP M. 2005. How to correctly determine the different chlorophyll fluorescence parameters and the chlorophyll fluorescence decrease ratio  $R_{fd}$  of leaves with the PAM fluorometer. *Photosynthetica*, 43 (3): 379–393.
- LICHTENTHALER H.K., AČ A., MAREK M.V., KALINA J., URBAN O. 2007. Differences in pigment composition, photosynthetic rates and chlorophyll fluorescence images of sun and shade leaves of four tree species. *Plant Physiology and Biochemistry*, 45 (8): 577–588.
- MAXWELL K., JOHNSON G.J. 2000. Chlorophyll fluorescence – a practical guide. *Journal of Experimental Botany*, 51: 659–668.
- NEUNER G., BEIKIRCHER B. 2010. Critically reduced frost resistance of *Picea abies* during sprouting could be linked to cytological changes. *Protoplasma*, 243: 145–152.
- NIEMCZYK M. 2009. Fluorescencja chlorofilu igiel klonów jodłowych (*Abies alba* Mill.) w archiwach genetycznych zlokalizowanych na różnych wysokościach nad poziomem morza w Karkonoskim Parku Narodowym. Chlorophyll fluorescence of silver fir (*Abies alba* Mill.) clone needles in genetic archives located at different altitudes in the Karkonosze National Park. *Leśne Prace Badawcze*, 70 (3): 213–221. DOI: 10.2478/v10111-009-0020-3
- NIYOGI K.K. 1999. Photoprotection revisited: genetic and molecular approaches. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 50: 333–359. DOI: 10.1146/annurev.arplant.50.1.333
- 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.
- 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 (2): 254–260.
- PERKS M. P., OSBORNE B. A., MITCHELL D. T. 2004. Rapid predictions of cold tolerance in Douglas-fir seedlings using chlorophyll fluorescence after freezing. *New Forests*, 28 (1): 49–62.
- PISEK A., KEMNITZER R. 1968. The influence of frost on photosynthesis in *Abies alba*. *Flora, Jena*, 1968 (3): 314–326.
- ROBAKOWSKI P. 2005a. Species-specific acclimation to strong shade modifies susceptibility of conifers to photoinhibition. *Acta Physiologiae Plantarum*, 27, 3(A): 255–263.
- ROBAKOWSKI P. 2005b. Susceptibility to low-temperature photoinhibition in three conifers differing in successional status. *Tree Physiology*, 25 (9): 1151–1160.
- 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.
- STRASSER R.J., SRIVASTAVA A., TSIMILLI-MICHAEL M. 2004. Analysis of fluorescence transient. In: Papageorgiou, G., Govindjee (eds.): *Chlorophyll a fluorescence: a signature of photosynthesis*. Dordrecht, Springer: 321–362. *Advances in photosynthesis and respiration*, 19.
- ŠINDELÁŘ J., BERAN F. 2008. Exotic species of fir (*Abies Spec. Div.*) at the age of 30 years in the nature forest region no. 10 – Středočeská Pahorkatina (Central Bohemian upland). *Communicationes Instituti Forestalis Bohemicae*, 24: 115–130.
- ŠPULÁK O., BALCAR V. 2013. Temperatures at the margins of a young spruce stand in relation to aboveground height. *iForest*, 6: 302–309. DOI: 10.3832/ifor0815-006
- ŠPULÁK O., MARTINCOVÁ J. 2016. Vliv simulovaného pozdního mrazu a následných světelných podmínek na fluorescenci chlorofylu a vitalitu rašících sazenic smrku ztepilého. *Zprávy lesnického výzkumu*, 61 (2): 100–107.
- ÚRADNÍČEK L., MADĚRA P., TICHÁ S., KOBLÍŽEK J. 2009. *Dřeviny České republiky*. Kostelec nad Černými lesy, Lesnická práce: 367 s.
- VANONI M., BUGMANN H., NÖTZLI M., BIGLER CH. 2016. Drought and frost contribute to abrupt growth decreases before tree mortality in nine temperate tree species. *Forest Ecology and Management*, 382: 51–63. DOI: 10.1016/j.foreco.2016.10.001
- 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. DOI: 10.1111/j.1399-3054.1994.tb00667.x



## IMPACT OF LIGHT ON THE RESPONSE OF SILVER FIR SAPLINGS TO THE LATE FROST

### SUMMARY

Late frosts in spring are climatic events with high ecological as well as evolutionary importance. It comes in a period, when trees release dormancy and their sensitivity to frost increases. Intensive irradiation after frost event can make the stress to plants stronger. In Europe, silver fir is the most sensitive coniferous species regarding late frost. The aim of the work is to analyze the impact of simulated late frost and subsequent irradiation intensity on one-year-old needles of silver fir seedlings grown in different light conditions of forest garden.

Two-year-old seedlings grown in shaded bed (T) or in full sun (S) were transferred to growth chamber (SGC 120, Weiss Technik, UK) on 26<sup>th</sup> of March 2012. Three sets of 12 T seedlings and the same number of S seedlings were exposed to simulated day (16 hours of day temperature 17 °C with irradiation of cca 15,000 lux and 10 °C at night). Flushing of seedlings was evaluated. Three weeks later freezing test was applied. Two sets of 12 seedlings of T and the same of S (with exception of set of 12 control seedlings) were exposed to freezing temperatures for 5 hours with minimum temperature of -4.5 °C (Fig. 1). Subsequently, half of tested seedlings was exposed during 16 hours to light intensity of 15,000 lux, and the other part to light intensity of 500 lux. Description of the variants is presented in Tab. 1.

After the frost test, damage to flushing shoots was evaluated individually in three level scale (0 – no damage; 1 – slight, reversible damage; 2 – lethal damage).

Before and after the application of frost and then repeatedly at cca weekly intervals, chlorophyll fluorescence parameters of dark-adapted (PEA Hansatech, UK) and light-exposed (Imaging-PAM Walz, GE) one-year-old needles were measured. Evaluated parameters were as follows: maximum quantum yield of chlorophyll fluorescence ( $F_v/F_m$ ) and performance index on absorption basis ( $PI_{abs}$ ) of needles adapted to darkness, absorptivity (Abs) and maximum electron transport rate ( $ETR_{max}$ ) under increasing radiation intensity. The parameters were computed by formulas shown in M & M section (from (1) to (6)).

At the day of simulated frost, seedlings grown in the shade flushed (new shoots elongated), while the seedlings grown in the full light did not start flushing yet. In flushing seedlings, lethal damage of considerable part of new shoots occurred, significantly more frequently in seedlings exposed to intensive light after freezing (Tab. 2).

Frost damage of one-year-old (mature) needles was reversible and more intensive in seedlings exposed to strong light after freezing. Values of ( $F_v/F_m$ ), and  $PI_{abs}$  in seedlings grown in the shade (T variants) were significantly higher compared with seedlings grown on full light. Immediately after freezing, these values strongly decreased and regenerated within 1–2 weeks (Fig. 2 and 3). Needles absorptivity (Abs) was significantly higher in seedlings from the shade than seedlings from the sun, and it was not substantially affected by frost (Fig. 4). Prior freezing test, there was no significant difference in maximum values of electron transport rate ( $ETR_{max}$ ). Exposure to freezing reduced  $ETR_{max}$  especially in seedlings grown in the shade (variants T-S and T-T): the values of T-T were significantly lower to S variants (Fig. 5). Also among these values there was a rapid recovery.

The results show that the impact of late frost to one-year-old needles of silver fir seedlings is only transient, however, intensive radiation after frost event can increase plant stress and damage to flushing shoots. Covering fir seedlings in nurseries during the threat of late frosts and planting firs under the protection of mature trees (underplantings) is thus advisable not only to mild frost peaks, but also to reduce stress caused by an intense radiation after frost episode.

Zasláno/Received: 02. 03. 2017

Přijato do tisku/Accepted: 28. 04. 2017