

Univerzita Karlova v Praze

Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Anatomie a fyziologie rostlin



Radka Bardoňová

Změny sacharidového metabolismu vyvolané zvýšenou koncentrací CO₂ v prostředí

Carbohydrate metabolism under increased CO₂ concentration in the environment

Diplomová práce

Školitelka: Mgr. Zuzana Lhotáková, Ph.D.

Konzultantka: RNDr. Petra Mašková, Ph.D.

Praha, 2016

Poděkování

V první řadě děkuji své školitelce Mgr. Zuzaně Lhotákové, Ph. D., že se mě ujala a dovedla mě do cíle. Dále bych chtěla poděkovat RNDr. Petře Maškové Ph.D. za velmi užitečné rady a zasvěcení do tajů praktických záležitostí týkajících se tohoto tématu, Mgr. Haně Ševčíkové za obrovskou pomoc, starost a podporu a Doc. RNDr. Heleně Lipavské Ph.D. za velkou pomoc a cenné tipy. Dále patří můj velký dík doktorce Mirce Šprtové, doktoru Otmaru Urbanovi a dalším pracovníkům ÚVGZ nejen za možnost podílet se na jejich experimentu a umožnění fytotronového experimentu.

Také děkuji své rodině, hlavně mamce a prarodičům, za péči o mé nervy a stravu. A svojí zvěři za relativně nízkou úmrtnost. A svým kamarádkám za toleranci.

Práce byla vypracována v rámci projektu GA ČR č. P501/10/0340 s názvem „Vliv zvýšené koncentrace CO₂ a ozářenosti na strukturu a funkci fotosyntetického aparátu dřevin na různých hierarchických úrovních“.

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem tuto diplomovou práci napsala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla použita k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 2.5.2016

Podpis:

Abstrakt

Diplomová práce se zabývá hodnocením vlivu zvýšené koncentrace oxidu uhličitého [CO₂] a ozáření na obsah nestrukturních sacharidů v listech buku lesního (*Fagus sylvatica* L.) a jehlicích smrku ztepilého (*Picea abies* Karst.). Obsah nestrukturních sacharidů odráží rovnováhu mezi procesy asimilace a spotřeby či transportu v rostlině. Za zvýšené [CO₂] obvykle dochází ke zvýšení asimilační rychlosti a změnám procesů, v nichž se spotřebovávají asimiláty. Tyto změny jsou v mnoha případech doprovázeny zvýšením obsahu nestrukturních sacharidů v listech – rozpustných sacharidů i asimilačního škrobu.

V práci byl použit materiál z porostu na experimentálním stanovišti Ústavu výzkumu globální změny (ÚVGZ) AV ČR Bílý kříž v Beskydech odebraný ve dvou bodech růstové sezóny. Jednalo se o juvenilní jedince buku lesního a smrku ztepilého rostoucí za aktuální a zvýšené [CO₂] (700 ppm) šestým rokem. Pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie byl stanoven obsah rozpustných sacharidů a škrobu ve slunných a stinných listech a jehlicích. V doplňujícím krátkodobém experimentu byla sledována denní dynamika obsahu nestrukturních sacharidů v jehlicích smrku. V tomto experimentu byl použit materiál z juvenilních jedinců smrku ztepilého rostoucích po dobu čtyř týdnů v plně kontrolovaných podmínkách ve fytotronech ÚVGZ AV ČR.

Dlouhodobá kultivace stromů při zvýšené [CO₂] nevedla k významnému navýšení obsahu rozpustných sacharidů ani škrobu v listech buku lesního a jehlicích smrku ztepilého. Ozáření také neměla významný vliv na celkový obsah rozpustných sacharidů a škrobu v listech buku a jehlicích smrku. Ve stinných listech buku a jehlicích smrku byly zaznamenány rozdíly ve spektru rozpustných sacharidů oproti slunným listům a jehlicím bez ohledu na [CO₂]. V krátkodobém experimentu zaměřeném na denní průběh obsahu nestrukturních sacharidů byla zjištěna absence denní dynamiky obsahu škrobu v jehlicích smrku při zvýšené [CO₂] oproti akumulaci v průběhu dne a degradaci během noci při atmosferické [CO₂].

Přestože v listech buku lesního nedošlo za zvýšené koncentrace CO₂ k navýšení haldiny rozpustných sacharidů, došlo u něj k aklimační depresi fotosyntézy. U smrku ztepilého aklimační deprese fotosyntézy zaznamenána nebyla. Z těchto poznatků vyplývá, že ze zvýšení atmosferické CO₂ bude více profitovat smrk. Dále jsou zde poprvé prezentovány výsledky sledování denní dynamiky obsahu nestrukturních sacharidů v jehlicích za zvýšené [CO₂] u stálezeleného jehličnanu, smrku ztepilého.

Klíčová slova: zvýšená koncentrace CO₂, nestrukturní sacharidy, rozpustné sacharidy, škrob, *Fagus sylvatica*, *Picea abies*, fotosyntéza, aklimační deprese fotosyntézy

Abstract

This Master thesis deals with the effect of elevated atmospheric carbon dioxide concentration ($[CO_2]$) and irradiation on the content of nonstructural carbohydrates of European beech (*Fagus sylvatica* L.) leaves and Norway spruce (*Picea abies* Karst.) needles. Nonstructural carbohydrate content reflects the balance between carbon assimilation and utilization. Elevated $[CO_2]$ usually causes increase in the assimilation rate and changes in processes, in which assimilated carbon is utilized. These changes are often accompanied by increase of nonstructural carbohydrate levels – soluble carbohydrates and starch.

Material used in this thesis comes from experimental site of the Global Change Research Institute (GCRI) AS CR at Bílý kříž in the Beskydy mountains. Juvenile European beech and Norway spruce trees grown in a closed canopy were treated by elevated $[CO_2]$ (700 ppm) for six growing seasons. The samples were taken in two different times of the vegetation season from sun exposed and shades leaves and needles. The carbohydrate content and spectra were determined using high performance liquid chromatography. Supplemental short-term experiment focused on the diurnal dynamics of nonstructural carbohydrate content was performed using juvenile spruce trees growing for four weeks in fully controlled conditions in phytotrons of GCRI.

Neither long-term elevated $[CO_2]$ nor irradiation caused significant increase of total content of soluble sugars and starch content in both species studied. However, irradiance significantly influenced soluble carbohydrate spectra regardless $[CO_2]$ treatment. Short-term phytotron experiment revealed significant changes of starch day dynamics in elevated $[CO_2]$: in trees grown under elevated $[CO_2]$ the diurnal dynamic in starch content was absent.

Even though leaf soluble carbohydrate content of beech and was not increased by elevated $[CO_2]$, beech displayed signs of photosynthetic downregulation. However, photosynthetic downregulation did not occur in spruce needles. Therefore, based on these observations, I suppose that spruce benefits from elevated $[CO_2]$ more than beech. In this thesis the changes of carbohydrate dynamics caused by elevated $[CO_2]$ in needles of evergreen conifer, Norway spruce, are presented for the first time.

Key words: elevated CO_2 , nonstructural carbohydrates, soluble carbohydrates, starch, *Fagus sylvatica*, *Picea abies*, photosynthesis, downregulation of photosynthesis

Obsah

Abstrakt	3
Abstract	4
Seznam zkratk.....	7
1 Úvod	8
Cíle práce:.....	10
Hypotézy:.....	11
2 Literární přehled	12
2.1 Dřeviny mírného pásu – uhlíková bilance a sacharidový metabolismus.....	12
2.2 Fotosyntéza při zvýšené [CO ₂].....	14
2.2.1 Vliv zvýšené [CO ₂] na procesy fixace uhlíku	14
2.2.2 Aklimace fotosyntézy za zvýšené [CO ₂].....	14
2.2.3 Obsah a aktivita Rubisco za zvýšené [CO ₂].....	15
2.2.4 Enzymy Calvinova cyklu za zvýšené [CO ₂]	16
2.2.5 Změny exprese vybraných fotosyntetických genů za zvýšené [CO ₂].....	17
2.2.6 Role dalších vnějších a vnitřních faktorů v reakci fotosyntézy na zvýšení [CO ₂] v ovzduší	18
2.2.6.1 Vnitřní faktory	18
2.2.6.2 Vnější faktory.....	20
2.2.6.2.1 Ozáření	20
2.2.6.2.2 Vliv dostupnosti dusíku	21
2.3 Sacharidový metabolismus u dřevin	23
2.3.2.1 Vliv zvýšené [CO ₂] na obsah nestrukturních sacharidů v listech.....	25
2.3.2.1.1 Nestrukturní sacharidy v listech a aklimační deprese fotosyntézy	26
2.3.2.1.2 Vliv zvýšené [CO ₂] na obsah nestrukturních sacharidů v dalších částech rostliny	30
2.3.2.1.3 Role kompetice v reakci sacharidového metabolismu za zvýšené [CO ₂]	32
2.3.2.1.4 Role dalších vnějších a vnitřních faktorů v reakci sacharidového metabolismu na zvýšení [CO ₂] v ovzduší.....	33
2.3.2.1.4.1 Vnitřní faktory.....	33
2.3.2.1.4.2 Vnější faktory.....	35
2.3.2.1.4.2.1 Ozáření	35
2.3.2.1.4.2.2 Dostupnost dusíku.....	36
2.3.2.1.5 Ovlivnění exprese genů souvisejících se sacharidovým metabolismem zvýšenou [CO ₂]...	37

2.3.2.1.6 Změny obsahu a aktivity enzymů zahrnutých v sacharidovém metabolismu za zvýšené [CO ₂]	38
2.4 Vliv zvýšené [CO ₂] na procesy, v nichž se spotřebovává uhlík	39
2.4.1 Růst.....	39
2.4.1.1 Změny zastoupení strukturních sacharidů v pletivech dřevin za zvýšené [CO ₂]	41
2.4.2 Respirace	42
2.4.2.1. Ovlivnění respirace zvýšenou [CO ₂] v ovzduší	42
2.4.2.2 Vliv dalších vnitřních faktorů na respiraci za zvýšené [CO ₂]	44
2.4.2.3 Vliv vnějších faktorů a vnějších faktorů na respiraci za zvýšené [CO ₂]	45
2.4.3 Syntéza a akumulace sekundárních metabolitů za zvýšené [CO ₂]	46
3 Materiál a metody	49
3.1 Experiment s dlouhodobým ošetřením zvýšenou [CO ₂] - Bílý Kříž.....	49
3.1.1 Popis experimentálního stanoviště	49
3.2 Experiment s krátkodobým ošetřením zvýšenou [CO ₂] – sledování denní dynamiky.....	52
3.2.1 Popis experimentálních prostor	52
3.3.1 Rostlinný materiál	53
3.4 Stanovení obsahu nestrukturních sacharidů.....	55
3.4.1 Příprava vzorků pro analýzu rozpustných sacharidů	55
3.4.2 Příprava vzorků pro stanovení obsahu škrobu	56
3.4.3 Stanovení obsahu a spektra sacharidů.....	58
3.5 Statistické zpracování dat.....	58
4 Výsledky.....	59
4.1 Výsledky analýzy obsahu nestrukturních sacharidů v listech buku a jehlicích smrku z experimentálního stanoviště na Bílém Kříži	59
4.1.1 Obsah rozpustných sacharidů v listech buku lesního.....	59
4.1.2 Obsah rozpustných sacharidů v jehlicích smrku ztepilého.....	64
4.1.3 Obsah škrobu v listech buku lesního	69
4.1.4 Obsah škrobu v jehlicích smrku ztepilého	74
4.2 Výsledky analýzy denní dynamiky obsahu nestrukturních sacharidů	79
5 Diskuze.....	85
5.1 Obsah rozpustných sacharidů v listech buku lesního a smrku ztepilého v dlouhodobém experimentu se zvýšenou [CO ₂]	87
5.1.1. Změny v obsahu rozpustných sacharidů za zvýšené [CO ₂] u buku lesního	87
5.1.1.1 Zastoupení sacharidů ve spektru.....	89

5.1.2 Změny v obsahu rozpustných sacharidů za zvýšené [CO ₂] u smrku ztepilého	90
5.1.2.1. Zastoupení jednotlivých sacharidů ve spektru v jehlicích smrku ztepilého	93
5.1.3 Obsah rozpustných sacharidů v jehlicích buku lesního a smrku ztepilého - porovnání.....	94
5.2 Obsah škrobu v listech buku lesního a smrku v dlouhodobém experimentu se zvýšenou [CO ₂] ...	94
5.2.1 Obsah škrobu v listech buku lesního	95
5.2.2 Obsah škrobu v jehlicích smrku ztepilého	97
5.2.3 Obsah škrobu v listech buku lesního a smrku ztepilého – shrnutí	99
5.4 Kompetice – růst ve smíšené kultuře	99
6 Závěr	106
7 Seznam použité literatury	109

Seznam zkratk

A_{growth}	Asimilační rychlost při růstové [CO ₂] a ozáření
A_{sat}	Asimilační rychlost při saturační [CO ₂] a růstové ozáření
A_{max}	Asimilační rychlost při saturační [CO ₂] a ozáření
AGPáza	Adenostndifosfátglukózapyrofosforyláza, ADP-glukózapyrofosforyláza
FACE	Systém pro navýšení [CO ₂] ve volném vzduchu bez nutnosti použití růstových komor, představuje zatím nejrealističtější možnou situaci (free-air CO ₂ enrichment)
J_{max}	Maximální možná rychlost transportu elektronů na membráně thylakoidu při saturaci energií fotonů
$V_{\text{C,max}}$	Maximální karboxylační kapacita Rubisco
PAR	Fotosynteticky aktivní záření
R_d	Respirace
rbcS	Malá podjednotka Rubisco
RFO	Oligosacharidy rafinózové řady
SPS	Sacharózafosfátsyntáza

1 Úvod

Koncentrace oxidu uhličitého ($[\text{CO}_2]$) v ovzduší od průmyslové revoluce vzrostla z přibližně 270 ppm na aktuálních cca 405 ppm a stále se zvyšuje (www.co2.earth). Není pochyb, že tento nárůst je do značné míry způsoben lidskou činností, především spalováním fosilních paliv (Karl, 2009). Otázka koncentrace $[\text{CO}_2]$ je palčivá nejen z důvodu, že se jedná o významný skleníkový plyn, ale také protože CO_2 je substrátem pro jeden z nejdůležitějších procesů v globálním cyklu uhlíku, který zajišťují živé organismy – fotosyntézu.

Za zvýšené $[\text{CO}_2]$ obvykle dochází ke zvýšení asimilační rychlosti, což může vést k dalším změnám v rostlině. Reakce na zvýšenou $[\text{CO}_2]$ v ovzduší není u všech druhů stejná. Rostliny s C3 metabolismem jsou obvykle více responsivní než rostliny C4. To je dáno tím, že u C3 rostlin je primárním enzymem zajišťujícím fixaci uhlíku z CO_2 Rubisco, které je schopné i oxygenázové aktivity, tedy fixace vzdušného kyslíku. Zvýšením $[\text{CO}_2]$ dojde k potlačení oxygenázové aktivity Rubisco a posílení aktivity karboxylační. U C4 rostlin je uhlík zpravidla nejprve navázán v mezofylových buňkách na organickou molekulu pomocí fosfoenolpyruvátkarboxylázy, která nemá schopnost fixovat vzdušný kyslík. Následně je v buňkách pochev cévních svazků uvolněn a fixován pomocí Rubisco. Tím dojde k potlačení oxygenázové aktivity Rubisco. C4 typ fotosyntézy je tedy výhodnější za nižších $[\text{CO}_2]$, zatímco zvýšená $[\text{CO}_2]$ zvýhodňuje C3 rostliny.

Vliv zvýšené $[\text{CO}_2]$ na rostliny je intenzivně zkoumaný problém. Většinou jsou však v experimentech sledovány byliny, zatímco dřevinám je věnováno méně pozornosti. Jednak protože mezi byliny patří nejdůležitější zemědělské plodiny a také je provedení experimentů s bylinami technicky méně náročné. Experimenty s dřevinami jsou technicky náročnější, kvůli jejich dlouhověkosti a vzrůstu. Většina experimentů sledujících reakci dřevin na zvýšenou $[\text{CO}_2]$ je proto provedena se semenáčky či velmi mladými rostlinami. Dřevní hmota představuje důležitý uhlíkový sink, jehož aktivita může být za zvýšené $[\text{CO}_2]$ posílena. Rovnováha mezi aktivitou zdroje uhlíku (asimilace CO_2) a aktivitou uhlíkového sinku se odráží v obsahu nestrukturních sacharidů. Pokud aktivita zdroje (asimilační rychlost) výrazně převyšuje aktivitu sinků (např. růst a respirace), dochází k akumulaci nestrukturních sacharidů. Nestrukturní sacharidy, především tedy rozpustné, v listech hrají důležitou roli

v regulaci fotosyntézy a mohou být zprostředkovateli takzvané aklimační deprese fotosyntézy za zvýšené [CO₂].

Problémem sledování reakce dřevin na zvýšenou [CO₂] je, že se tato reakce může vyvíjet v průběhu let. Pro její vyhodnocení a interpretaci je zcela zásadní, jak dlouho probíhal experiment, v němž byla sledována. Ve své práci budu při potřebě rozlišení pro usnadnění používat termín „dlouhodobý experiment“ pro experimenty trvající alespoň 3 růstové sezóny a „krátkodobý experiment“ pro experimenty, které trvaly maximálně 1 růstovou sezónu. Většinu prací, na které budu odkazovat v literárním přehledu a diskuzi, lze zařadit do jedné z těchto skupin. V případě, že ne, a je-li to nutné, trvání experimentu upřesním v textu.

Ve své diplomové práci se zabývám obsahem nestrukturních sacharidů v listech dvou dřevin mírného pásu – smrku ztepilého a buku lesního. Abych tuto problematiku zasadila do kontextu, budu se v literárním přehledu věnovat vlivu zvýšené [CO₂] nejen na sacharidový metabolismus, ale i na fotosyntézu, jakožto zdroji uhlíku a stručně i na růst, respiraci a tvorbu sekundárních metabolitů, což jsou procesy představující významné sinky uhlíku.

Cíle práce:

1. Porovnat reakci sacharidového metabolismu na zvýšení $[\text{CO}_2]$ v ovzduší u dvou druhů dřevin – opadavého buku lesního a stálezeleného smrku ztepilého – pomocí měření obsahu nestrukturních sacharidů (rozpuštěných sacharidů a škrobu) v listech.
2. Vyhodnotit vliv genotypové variability na odpověď celého souboru jedinců na zvýšení atmosferické $[\text{CO}_2]$.
3. Porovnat obsah nestrukturních sacharidů za aktuální a zvýšené $[\text{CO}_2]$ ve dvou obdobích vegetační sezóny.
4. Srovnat reakce na zvýšení $[\text{CO}_2]$ u dvou typů listů v závislosti na ozáření.
5. změny v denní dynamice obsahu nestrukturních sacharidů za zvýšené $[\text{CO}_2]$.

Hypotézy:

1. a) Obsah nestrukturních sacharidů bude vyšší v listech stromů rostoucích za zvýšené $[\text{CO}_2]$.
b) Na zvýšení $[\text{CO}_2]$ v atmosféře budou buky a smrky reagovat odlišně. V listech buku dojde za zvýšené koncentrace CO_2 k navýšení obsahu rozpustných sacharidů i škrobu, zatímco v jehlicích smrku bude za zvýšené $[\text{CO}_2]$ navýšen pouze obsah škrobu.
2. Obsah nestrukturních sacharidů bude za dané situace odlišný u jednotlivých jedinců daného druhu. I přesto bude reakce celého souboru jedinců na zvýšenou $[\text{CO}_2]$ patrná.
3. V pozdější fázi vegetační sezóny bude akumulace nestrukturních sacharidů za zvýšené $[\text{CO}_2]$ výraznější.
4. Slunné a stinné listy se budou lišit v obsahu nestrukturních sacharidů. Vlivem zvýšené $[\text{CO}_2]$ dojde k zmenšení rozdílu v obsahu nestrukturních sacharidů mezi slunnými a stinnými listy
5. Zvýšená $[\text{CO}_2]$ změní denní dynamiku obsahu nestrukturních sacharidů. Za zvýšené koncentrace CO_2 bude docházet ke zvýšené akumulaci nestrukturních sacharidů a to obzvláště kolem poledne.

2 Literární přehled

2.1 Dřeviny mírného pásu – uhlíková bilance a sacharidový metabolismus

Lesy jsou důležitý klimatotvorný činitel. Podílí se zásadní měrou v globálním cyklu uhlíku, ale i kyslíku a vody. V dřevní hmotě je vázaná podstatná část uhlíku, díky čemuž dřeviny tvoří největší terestrický zásobník nadzemní biomasy (Dietze et al. 2014). Uhlík vázaný ve strukturních složkách, jakými je především celulóza a lignin, již nemůže být v případě potřeby remobilizován. Naproti tomu nestrukturní uhlíkaté sloučeniny představují zásobu uhlíku, který může být v případě potřeby remobilizován a využit pro procesy, jako je růst či respirace. Neplatí však, že všechny strukturní složky představují imobilní zásoby uhlíku a všechny nestrukturní složky představují zásobník mobilní. Hemicelulózy pravděpodobně tvoří důležitý mobilní zásobník uhlíku, přestože se jedná o strukturní sacharidy. Naproti tomu škrob obsažený v nejvnitřnějších vrstvách xylému jádrových dřevin již neplní roli mobilní zásoby uhlíku (Hoch 2007).

Dřeviny lze rozdělit do dvou skupin z hlediska jejich strategie s nakládáním s fotosyntetickým aparátem - opadavé dřeviny provádí jeho každoroční výměnu, zatímco u stálezelených dřevin zůstává listovní funkční po několik let. Odlišnost těchto strategií se promítá i v jejich sacharidové bilanci. Stálezelené dřeviny mírného pásu, mezi něž patří převážně jehličnany, musí svůj fotosyntetický aparát přes zimu chránit před negativními účinky teplot pod bodem mrazu. V toleranci k mrazu hrají významnou roli rozpustné sacharidy v listech. Opadavé dřeviny, mezi něž patří hlavně většina listnatých dřevin, naproti tomu na zimu transportují sacharidy ven z listů a tvoří zásoby v nefotosyntetizujících částech, z nichž je poté na jaře umožněno rašení pupenů a tvorba nového listovní (Hoch et al. 2003). Jelikož je experimentální část mé diplomové práce zaměřená na dřeviny mírného pásu, soustředím se i v literárním přehledu převážně na stromy náležící do této skupiny. Jiným skupinám se budu věnovat jen v případě nedostatku literatury týkající se skupiny, na kterou se zaměřuji. Zaměřovat se budu převážně na odlišnosti reakcí opadavých listnatých dřevin a stálezelených jehličnanů.

Hlavní zásobníky nestrukturních uhlíkatých látek jsou kmen a kořeny. U jehličnanů může být i jehličí významným zásobníkem nestrukturních sacharidů. Nestrukturní sacharidy v listech představují spíše krátkodobé zásoby (Fajardo et al. 2013). Zásoba nestrukturních uhlíkatých látek je vyšší v listnatých stromech, které snáze podléhají defoliaci (Hoch et al. 2003, Fajardo

et al. 2013). Hoch et al. (2003) uvádí, že ze zásob nestrukturního uhlíku v kmeni a kořenech opadavého listnatého stromu by bylo možné třikrát až čtyřikrát kompletně nahradit celé listoví. To autory dovedlo k závěru, že růst těchto dřevin není limitován dostupností uhlíku a předpokládají, že stimulace růstu při zvýšení $[CO_2]$ již nebude velmi výrazná (Hoch et al. 2003).

Další důležitou odlišností (opadavých) listnatých dřevin a stálezelených (jehličnanů) je anatomická stavba jejich listů. Ploché listy s definovaným palisádovým parenchymem dovolují efektivnější využití světla a snadnější průnik CO_2 (Terashima et al. 2006, Wyka et al. 2012). Naproti tomu víceleté jehlice vykazují mnohem menší strukturní plasticitu (Wyka et al. 2007), Wyka et al. 2012, Carnicer et al. 2013). Podobně i strukturní odlišnosti slunných a stinných listů stálezelených listnáčů jsou mnohem menší v porovnání s opadavými (Carnicer et al., 2013). Tento fakt hovoří spíše pro to, že menší plasticita je způsobena požadavky na určité strukturní vlastnosti, pokud má být list schopný vytrvat funkční po několik let (Wyka et al. 2012). Jehlice zpravidla obsahují méně dusíku (na jednotku hmotnosti (Wyka et al. 2012).

Jelikož důležitou součástí mé práce bylo sledování odlišné reakce slunných a stinných listů na zvýšenou $[CO_2]$, ráda bych zde předeslala některé odlišnosti slunných a stinných listů. Ozáření zásadním způsobem ovlivňuje morfologii a fyziologii listu (Tissue et al., 2001) (Kubiske et al., 2002), Wyka et al. 2012) a také odpověď listu na zvýšení $[CO_2]$ v ovzduší (Agrell et al. 2000, Tissue et al. 2001, Kubiske et al. 2002). Slunné listy mají obvykle vyšší asimilační rychlost (Liberloo et al., 2006, Marek et al., 2002, Lichtenthaler et al., 2007). Schopnost přizpůsobit se různým světelným podmínkám je druhově specifická a souvisí s preferencemi daného druhu, co se týče světelných podmínek (Legner et al., 2014, Kuehne et al., 2014). Jehličnany mají obvykle menší plasticitu odpovědi na vnější podmínky včetně ozáření, což je pravděpodobně dáno charakteristikami jehlic souvisejícími s delší životností (Wyka et al. 2012). Buk dovede přizpůsobit své listoví velkému rozptylu hodnot ozáření (Valladares et al., 2002).

2.2 Fotosyntéza při zvýšené [CO₂]

Na začátku se budu věnovat fotosyntéze, procesu, ve kterém se fixuje uhlík z CO₂ a tvoří se sacharidy. Pokud se změní dostupnost CO₂ jakožto donoru uhlíku, ovlivní tak asimilační procesy. Taková změna se pak odrazí i na obsahu nestrukturních sacharidů.

2.2.1 Vliv zvýšené [CO₂] na procesy fixace uhlíku

Nejčastější reakcí rostlin na zvýšení [CO₂] v ovzduší je, alespoň krátkodobě, zvýšení rychlosti asimilace. Ovlivněním rychlosti asimilace se věnuje mnoho přehledných prací (např. (Nowak et al. 2004, Ainsworth a Rogers 2007, Leakey et al. 2009a). Zvýšením [CO₂] v ovzduší dochází ke zvýšení dostupnosti substrátu pro fotosyntetickou fixaci CO₂ enzymem ribulóza-1,5-bisfosfátkarboxylázou/oxygenázou (Rubisco) a potlačení jeho oxygenázové aktivity, a tedy snížení podílu ztrát daných fotorespirací. Zvýšení rychlosti asimilace může i přetrvávat dlouhodobě, např. u borovice kadidlové *Pinus taeda* (L.) byla zvýšená rychlost asimilace pozorována i po 11 letech růstu za zvýšené [CO₂] (Ellsworth et al., 2012). Bader et al. (2010) pozorovali zvýšenou rychlost asimilace po 8 letech růstu v prostředí se zvýšenou [CO₂] u *Fagus sylvatica* (L.), *Quercus petraea*, *Carpinus betulus* (L.), *Acer campestre* (L.) a *Tilia platyphylloides* (Scop.). Podobně i u topolů *Populus alba* (L.), *P. x euramericana* a *P. nigra* (L.) byla i po 7 letech vystavení zvýšené [CO₂] pozorována vyšší rychlost asimilace (Taylor et al. 2008).

2.2.2 Aklimace fotosyntézy za zvýšené [CO₂]

Při dlouhodobém růstu za zvýšené [CO₂] se mnohdy objevuje takzvaná aklimační deprese fotosyntézy, kdy dochází k opětovnému snížení rychlosti fotosyntézy při růstové [CO₂] a ozářenosti (A_{growth}) na úroveň shodnou s kontrolními rostlinami a někdy dokonce i nižší. Aklimační deprese fotosyntézy patrně souvisí s kapacitou rostliny pro využití asimilovaného uhlíku (Ainsworth et al., 2004, Ainsworth and Long, 2005). U stromů dochází k aklimační depresi fotosyntézy v menší míře než u bylin (Nowak et al. 2004, Ainsworth a Rogers 2007), protože dřeviny mají oproti bylinám další významný uhlíkový sink – dřevní hmotu (Saxe et al. 1998). U bylin i dřevin může být podstatným sinkem pro uhlík kořenový systém. Proto je při interpretaci experimentálních výsledků zásadní, jakým způsobem byly rostliny pěstovány, zda byl omezen růst jejich kořenového systému. Z tohoto hlediska jsou problematické experimenty s rostlinami pěstovanými v květináči (Arp, 1991, Koerner, 2006). Aklimační

deprese fotosyntézy byla pozorována i u několika dřevin. U některých byla zjevná už po několika týdnech růstu za $[CO_2]$, například u *Fagus crenata* (Blume) pěstovaného v květináčích ve fytotronech začala asimilační rychlost po počátečním zvýšení klesat už od 7. týdne vystavení zvýšené $[CO_2]$ (Watanabe et al. 2010). Jinde se aklimační deprese fotosyntézy projevila až po několika letech růstu za zvýšené $[CO_2]$, například u *Liquidambar styraciflua* (L.) rostoucího 12 let v systému FACE (Warren et al., 2015) a dále u *Pinus radiata* (D. Don), v jejichž jehlicích byl pokles asimilační rychlosti po počátečním zvýšení zaznamenán až ve čtvrtém roce růstu za zvýšené $[CO_2]$ (Griffin et al. 2000). Aklimace fotosyntézy tedy byla pozorována jak u opadavých listnatých stromů, tak u stálezelených jehličnanů. Avšak v dlouholetých experimentech v systémech FACE s několika druhy rodu *Populus* (Davey et al. 2006, Taylor et al. 2008) a s *Pinus taeda* (Ellsworth et al. 2012) aklimační deprese fotosyntézy zaznamenána nebyla.

Obvykle je aklimační deprese fotosyntézy doprovázena zvýšeným hromaděním nestrukturních sacharidů a poklesem koncentrace dusíku v listech (Leakey et al., 2009a). Dusík je nezbytný pro tvorbu proteinů enzym Rubisco nevyjímaje. Rozpustné sacharidy regulují expresi mnoha genů, včetně těch zahrnutých ve fotosyntéze (Pego et al., 2000, Smeekens et al., 2010). O roli rozpustných sacharidů v regulaci aklimační odpovědi fotosyntézy za zvýšené $[CO_2]$ bude více řečeno níže.

2.2.3 Obsah a aktivita Rubisco za zvýšené $[CO_2]$

Rubisco je klíčovým enzymem při fixaci CO_2 . Aktuální $[CO_2]$ není pro enzym Rubisco, který zajišťuje fixaci CO_2 , saturační (Drake et al., 1997, Lemoine et al., 2013). Není pak překvapivé, že na změny $[CO_2]$ v ovzduší rostliny mnohdy reagují změnami v obsahu a aktivitě enzymu Rubisco.

Často pozorovaná aklimační deprese fotosyntézy za zvýšené $[CO_2]$ bývá doprovázena snížením aktivity či obsahu enzymu Rubisco, případně obojího. Snížení aktivity Rubisco při zvýšené $[CO_2]$ bylo pozorováno například u *Betula pendula* (Roth.) (Kontunen-Soppela et al., 2010), pomerančovníku (kříženec *Citrus reticulata* (Blanco) a hybridu *C. paradisi* (Macfad) x *C. reticulata*) (Vu et al., 2002) a smrku *Picea abies* (H.Karst) (Kosvancova et al. 2009). Naopak

u *Fagus sylvatica* a tropického opadavého stromu *Gmelina arborea* (Roxb.) došlo ke zvýšení aktivity Rubisco (Kořvancová et al. 2009, (Rasineni et al. 2011). Snížení obsahu Rubisco bylo pozorováno u *Fagus sylvatica* a *Picea abies* rostoucích třetí až čtvrtou růstovou sezónu za zvýšené $[CO_2]$ (Kořvancová et al. 2009), u mladých rostlin hybridního pomerančovníku vystavených zvýšené koncentraci CO_2 po dva a půl roku (Vu et al. 2002) a u *Populus tremuloides* (Michx.) (Wustman et al. 2001). U jiných druhů topolů (*P. alba*, *P. nigra* a *P. x euramericana*) ale nebyl pozorován vliv zvýšené $[CO_2]$ na obsah proteinu Rubisco v listech (Davey et al. 2006). Specifická aktivita Rubisco, vyjadřující poměr aktivity k obsahu u buku a smrku za zvýšené $[CO_2]$ vzrostla, u buku výrazněji než u smrku (Kořvancová et al. 2009), podobně také u *Pinus sylvestris* (L.) bylo pozorováno zvýšení specifické aktivity Rubisco (Sallas et al. 2003).

2.2.4 Enzymy Calvinova cyklu za zvýšené $[CO_2]$

Asimilační rychlost závisí nejen na obsahu a aktivitě enzymu Rubisco, ale také na obsahu a aktivitě enzymů Calvinova cyklu zajišťujících regeneraci substrátu (ribulóza-1,5-bisfosfát) pro Rubisco a proteinů zajišťujících přeměnu světelné energie. Podíl vlivu Rubisco na asimilační rychlosti je nejčastěji popisován pomocí maximální karboxylační kapacity, $V_{C,max}$. Zastoupení vlivu procesů vedoucích k regeneraci substrátu pro Rubisco pak popisuje maximální rychlost regenerace substrátu pro Rubisco skrze elektronový transport, J_{max} . Poměr $J_{max} / V_{C,max}$ vypovídá o tom, zda je rychlost asimilace řízená spíše enzymem Rubisco nebo regenerací substrátu. Aklimační deprese fotosyntézy za zvýšené $[CO_2]$ je obvykle doprovázena zvýšením tohoto poměru, což poukazuje na snížení poměru obsahu a/nebo aktivity Rubisco vůči proteinům zahrnutým v přeměně světelné energie (Long et al. 2004) Ainsworth a Long 2005). To bylo pozorováno např. u *Fagus sylvatica* (Liozon et al., 2000) či *Picea sitchensis* (Carr.) (Murray et al. 2000). Avšak toto navýšení poměru $J_{max}/V_{C,max}$ bylo pozorováno také u topolů, u nichž se aklimační deprese fotosyntézy neprojevila (Liberloo et al. 2007). Vysvětlením je patrně skutečnost, že zatímco v prvních dvou případech došlo ke zvýšení poměru snížením $V_{C,max}$, případně i J_{max} , v případě třetím nedošlo ke změně $V_{C,max}$, a J_{max} byl zvýšen. Navíc se tyto experimenty lišily v řešení dostupnosti dusíku pro rostliny. Buk a smrk projevovaly známky aklimační deprese fotosyntézy spojenou se změnou $J_{max}/V_{C,max}$ hlavně při nízké dostupnosti živin, topoly nedostatkem živin netrpěly (Liozon et al. 2000, Murray et al. 2000, Liberloo et al. 2007).

2.2.5 Změny exprese vybraných fotosyntetických genů za zvýšené [CO₂]

Změnám genové exprese dřevin za zvýšené [CO₂] v ovzduší se nevěnuje mnoho prací. Dospívají však k závěru, že na úrovni regulace genové exprese se za zvýšené [CO₂] odehrává jen překvapivě málo změn (Gupta et al. 2005, Cseke et al. 2009). Množství a funkce genů, které jsou za zvýšené [CO₂] odlišně exprimovány je navíc značně závislé na průběhu růstové sezóny.

Gupta et al. (2005) sledovali změny genové exprese za zvýšené [CO₂] u osiky *P. tremuloides*. Ze 4600 sekvencí bylo zvýšenou [CO₂] ovlivněno jen 20. Mezi geny jejichž exprese byla stimulována zvýšenou [CO₂] byly geny kódující 30S ribosomální protein a geny proteiny pro fotosystému II a chinon b, díky čemuž mohla a být navýšena rychlost fotosyntézy. Snížení exprese bylo pozorováno například u genů kódujících malou podjednotku Rubisco (*rbcS*) a aktivázy Rubisco (Gupta et al. 2005). V pozdější práci srovnávající genovou expresi dvou genotypů tohoto druhu za zvýšené [CO₂] jsou však rozdíly v expresi aktivázy Rubisco připisovány spíše sezónním změnám a genotypovým rozdílům, nežli reakci na zvýšení [CO₂] (Cseke et al. 2009). Také Taylor et al. (2005) pozorovali, že transkripty pro proteiny účastníci se fotosyntézy, ale i dalších procesů jako metabolismu sacharidů a aminokyselin, regulace buněčného cyklu a proteosyntézy jsou spíše než [CO₂] ovlivněny ontogenetickým stářím listu. Například zastoupení transkriptu *rbcS* bylo za zvýšené [CO₂] vyšší u mladých listů, u starších bylo ve dvou případech pozorováno a snížení obsahu tohoto transkriptu. Autoři v práci vyslovují názor, že zvýšená [CO₂] může urychlovat vývoj listu (Taylor et al., 2005). Avšak další autoři na stejném experimentálním materiálu zjistili, že za zvýšené [CO₂] sice docházelo k urychlení vývoje listů, avšak nikoli k časnější senescenci. Senescence listů byla naopak za zvýšené [CO₂] opožděná. Došlo tedy k prodloužení vegetační sezóny za zvýšené [CO₂] (Rae et al., 2006, Tallis et al., 2010). Opoždění senescence listů bylo pozorováno i u dalších druhů. Jedním z těchto druhů byla bříza bělokorá *Betula pendula* (Roth), u níž bylo za zvýšené [CO₂] ke konci sezóny pozorováno snížení množství transkriptů spojených se senescencí listu (Kontunen-Soppela et al. 2010).

2.2.6 Role dalších vnějších a vnitřních faktorů v reakci fotosyntézy na zvýšení [CO₂] v ovzduší

Reakce asimilačních procesů na zvýšení [CO₂] v ovzduší je ovlivněna řadou vnitřních i vnějších faktorů. Důležitou roli hraje strategie nakládání s fotosyntetickým aparátem. Dalšími důležitými faktory je stáří rostliny a fáze ontogenetického vývoje listu, v němž se rostlina nachází. Z vnějších faktorů hrají zásadní roli v ovlivnění asimilačních procesů za zvýšené [CO₂] ozářenost a dostupnost dusíku (Li et al. 2015). Reakce rostliny na zvýšenou [CO₂] v ovzduší ovlivněná i dalšími vnějšími faktory, např. dostupností dalších živin, vody a s teplotou (Saxe et al. 1998, (Li et al., 2015, Duan et al., 2013, Uddling and Wallin, 2012) kterými se ale v této práci zabývat nebudu.

2.2.6.1 Vnitřní faktory

Odlišná strategie nakládání s fotosyntetickým aparátem hraje podstatnou roli při reakci asimilačních procesů na zvýšenou [CO₂] v mnoha ohledech. Za zvýšené [CO₂] každoroční obměna listoví umožňuje zbavit se „nadbytečného“ uhlíku v listech skrze opad (Streit et al., 2013). Zdálo by se tedy, že stálezelené jehličnany se svou nižší plasticitou jehličí budou na zvýšení [CO₂] v ovzduší reagovat méně výrazně, než opadavé listnáče. Recentní práce toto však nepotvrzují, což pomocí různých modelů na úrovni struktury listu a vodivosti mezofylu vysvětlují (Niinemets et al., 2011). Rozdíl reakce může dokumentovat situace u juvenilních jedinců mnoha sledovaných druhů: u stálezeleného jehličnanu *Picea abies* v dlouhodobém experimentu bylo pozorováno za zvýšené [CO₂] navýšení asimilační rychlosti a asimilační kapacity, zatímco u opadavého *Fagus sylvatica* proběhla výrazná aklimační deprese fotosyntézy (Albrechtová et al. 2014).

Reakce asimilační rychlosti na zvýšení [CO₂] v ovzduší může být proměnlivá během sezóny. Na začátku sezóny, kdy dochází k tvorbě nových výhonů a listoví, které jsou významnými uhlíkovými sinky, bývá asimilační rychlost za zvýšené [CO₂] stimulována. S postupem sezóny pak dochází k aklimaci fotosyntézy za zvýšené [CO₂] (Marek a kol. 2011). U *Picea abies* ale pokles stimulace asimilační rychlosti zvýšenou koncentrací CO₂ během sezóny pozorován nebyl. S postupem sezóny však byl pozorován vliv [CO₂] na Rubisco. Za zvýšené [CO₂] byl snížen obsah a zvýšena specifická aktivita tohoto enzymu (Urban et al., 2012a). U pěti druhů opadavých listnatých stromů mírného pásu zastoupených dospělými jedinci byla v

dlouhodobém experimentu také zaznamenána stimulace asimilační rychlosti během celé růstové sezóny (Bader et al., 2010).

Odlišnosti reakce asimilačních procesů stálezelených dřevin v závislosti na stáří listu jsou poměrně dobře prozkoumány u jehličnanů, obzvláště rodu *Pinus*. V dlouhodobém experimentu s *Pinus taeda* rostoucí za podmínek výrazné limitace dusíkem bylo také zaznamenáno na počátku zvýšení asimilační rychlosti následované aklimační depresí po dvou letech (Rogers and Ellsworth, 2002) a přetrvávající i dalších letech experimentu, avšak pouze u druhých ročníků (Crous et al., 2008, Logan et al., 2009). Autoři předpokládali, že má-li být platná hypotéza o určení aklimační deprese vztahy mezi zdroji a sinky v rostlině, bude se tato aklimační deprese projevovat u prvních ročníků na podzim (protože poblíž se nenachází rostoucí uhlíkové sinky a samy tyto jehlice už nerostou) a nebude se projevovat u druhých ročníků na začátku růstové sezóny a v průběhu léta (protože se v blízkosti nachází uhlíkové sinky – nově se vyvíjející výhony a jehlice). Avšak výsledek byl opačný, u prvních ročníků nebyla pozorována aklimační deprese fotosyntézy za zvýšené $[CO_2]$ v žádné části sezóny, zatímco u druhých byla přítomna po celou sezónu. Tuto skutečnost autoři připisují důležitější roli vzdálenějších sinků, jakým jsou například kořeny (Rogers a Ellsworth 2002). V tříletém experimentu s *P. sylvestris* (jedinci staří 25-30 let) byla zaznamenána značná variabilita odpovědi asimilačních procesů na zvýšenou $[CO_2]$ v průběhu let. Zde pozorovaná aklimační deprese fotosyntézy ale nebyla vždy výraznější u druhých ročníků jehlic (Luomala et al., 2003). U *Pinus sylvestrifomis* byla za zvýšené $[CO_2]$ stimulována asimilační kapacita prvních i druhých ročníků jehlic, u prvních ročníků ale byla stimulace výraznější (Zhou et al., 2007). U *Pinus koraiensis* byla asimilační kapacita za zvýšené koncentrace pozitivně ovlivněna pouze v jehlicích prvního ročníku (Zhou et al. 2011). U smrku ztepilého (*Picea abies*) byla asimilační kapacita za zvýšené $[CO_2]$ navýšena u prvních i druhých ročníků jehlic. U prvních ročníků bylo navýšení výraznější. I přes toto zvýšení asimilační kapacity ale stromy vykazovaly určité známky aklimace fotosyntézy, došlo ke snížení $V_{C,max}$ za zvýšené $[CO_2]$, a to u obou ročníků jehlic. U druhých ročníků bylo navíc pozorováno snížení J_{max} a zvýšení poměru $J_{max}/V_{C,max}$ (Urban et al. 2012).

2.2.6.2 Vnější faktory

Na následujících stránkách se budu věnovat vlivu ozáření a dostupnosti dusíku na reakci fotosyntézy na zvýšení $[CO_2]$. Ozáření jsem vybrala, protože se experimentálně zabývám slunnými a stinnými listy. Dostupnost dusíku jsem vybrala jako faktor, kterému je hodně pozornosti věnováno v literatuře. Dusík je součástí všech proteinů, tedy i těch, které se účastní asimilace CO_2 . Není proto překvapivé, že dostupnost dusíku v půdě může značně modulovat odpověď rostliny na zvýšení $[CO_2]$. Důležitou roli v reakci fotosyntézy na zvýšenou $[CO_2]$ hraje také dostupnost fosforu. Jelikož prací zabývajících se problematikou dostupnosti fosforu a fotosyntézou za zvýšené $[CO_2]$ u dřevin je jen velmi málo (např. Tissue and Lewis, 2010), budu se dále zabývat pouze dále zabývat pouze ovlivnění reakcí na zvýšenou $[CO_2]$ dostupností dusíku.

2.2.6.2.1 Ozáření

Záření je zdrojem energie pro fotosyntézu a důležitý morfogenní faktor. V korunách dřevin panují velmi heterogenní světelné podmínky, kterým se listy přizpůsobují na různých úrovních. Dále jsou listy v koruně stromu vystavené různým světelným podmínkám v závislosti na aktuálním počasí či denní době.

Při nižších ozářeních je rychlost fotosyntézy limitovaná množstvím dopadajícího fotosynteticky aktivního záření, za vyšších ozářeních je pak limitována procesy fixace uhlíku. Za nízké ozáření (PPFD pod $200 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) nebyl u *Fagus sylvatica* ani u *Picea abies* pozorován žádný efekt zvýšené $[CO_2]$ na asimilační rychlost. Při vyšší ozáření (PPFD nad $200 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) pak byla asimilační rychlost stimulována vyšší $[CO_2]$ (Holišová et al. 2012).

V rámci koruny jsou v závislosti na ozáření diferencovány slunné a stinné listy, které se od sebe odlišují ve svých morfologických, anatomických a fyziologických parametrech. Cílem těchto odlišností je maximalizace denní asimilace uhlíku v rámci celé koruny (Kull, 2002). Zvýšená $[CO_2]$ může ovlivnit asimilační rychlost listů v různých částech koruny odlišně. Z tohoto pohledu je obzvláště vhodné pozorovat stromy v systému FACE, kde rostou větší stromy v zápoji a tedy mají diferencovány slunné a stinné listy. Například u *Populus tremuloides* byla za zvýšené $[CO_2]$ stimulována asimilační rychlost pouze ve slunných listech (Takeuchi et al. 2001), u jiných zástupců stejného rodu (*P. alba*, *P. nigra* a *P. x euramericana*) však byla asimilační rychlost za zvýšené $[CO_2]$ vyšší nezávisle na pozici v koruně (Liberloo et

al. 2007). V případě ambroně *Liquidambar styraciflua* (L.) bylo pozorováno navýšení asimilační rychlosti za zvýšené $[CO_2]$ u slunných i stinných listů, avšak u slunných listů bylo mnohem výraznější (Herrick and Thomas, 2001). Stimulace asimilační kapacity (A_{sat}) při růstu za zvýšené $[CO_2]$ v dlouhodobém experimentu s *Pinus taeda* bylo výraznější v jehlicích z osluněné části koruny (Springer et al., 2005).

Co se charakteristik enzymu Rubisco týče, bylo například u *Picea abies* pozorováno zmírnění rozdílů v aktivitě enzymu Rubisco v rámci koruny za zvýšené $[CO_2]$. Aktivita Rubisco byla za aktuální $[CO_2]$ vyšší ve slunných jehlicích. Za zvýšené $[CO_2]$ došlo k poklesu aktivity Rubisco v jehlicích ve všech částech koruny, výraznější byl však v horní části (Hrstka et al., 2005).

Při růstu v přirozených podmínkách se kromě světelných gradientů v rámci koruny rostliny setkávají se změnami ozáření dané denní dobou, a změnami počasí. Za jasného počasí jsou listy v horních částech koruny vystaveny intenzivnímu přímému záření, kdy může docházet až k fotoinhibici, zatímco na listy ve spodních částech koruny dopadá záření o nízké intenzitě, mnohdy i pod světelným kompenzačním bodem (Urban et al., 2012b, Urban et al., 2014, Reiter et al., 2005). Naproti tomu za oblačného počasí je záření difúzního charakteru, a toto pak lépe proniká do spodních pater koruny (Marek a kol. 2011). Za oblačných dní s převládajícím difúzním zářením se zvyšuje příspěvek listoví ze zastíněné části koruny k celkové uhlíkové bilanci (Urban et al. 2012b). U *Fagus sylvatica* byl pozorován pozitivní efekt zvýšené $[CO_2]$ na asimilační rychlost pouze za jasných dní. Za oblačných dní byl efekt zvýšené $[CO_2]$ na asimilační rychlost spíše negativní, což autoři připisují disipaci absorbované energie světelného záření skrze xantofylový cyklus (Urban et al. 2014).

2.2.6.2.2 Vliv dostupnosti dusíku

Při zvýšené $[CO_2]$ obvykle nastává nerovnováha mezi poměrem uhlíku k dusíku v rostlině ve prospěch uhlíku. Na to rostlina reaguje změnou investic do uhlíkatých a dusíkatých metabolitů. Investice do proteinů zahrnutých v asimilačních procesech se sníží.

Asimilační rychlost za zvýšené $[CO_2]$ při nedostatku dusíku v půdě je obvykle nižší, než je-li dusíku dostatek, ale není tomu tak vždy. Jedním z případů negativního ovlivnění asimilační rychlosti za zvýšené $[CO_2]$ je *Betula maximowicziana*. Na neúrodné půdě vykazoval tento

druh za zvýšené $[\text{CO}_2]$ dokonce nižší asimilační rychlost než kontrolní rostliny (Eguchi et al., 2008). U dalšího druhu břízy *B. platyphylla* (Sukaczev) var. *Japonica*, která rostla za podmínek limitace dusíkem, také došlo ke snížení asimilační rychlosti za zvýšené $[\text{CO}_2]$ (Komatsu et al., 2013). Podobně *Pinus sylvestris* vykazovala na neúrodné půdě snížení asimilační rychlosti za zvýšené $[\text{CO}_2]$. Na úrodné půdě nebyla asimilační rychlost ovlivněná $[\text{CO}_2]$ (Laitinen et al., 2000). Asimilační rychlost u *Picea sitchensis* byla sice zvýšená jak při dostatku, tak i při nedostatku dusíku, avšak při nedostatku dusíku bylo toto zvýšení méně výrazné (Murray et al., 2000). Závisí také na tom, jaké půdní podmínky daný druh preferuje (Eguchi et al. 2008)

Stromy s víceletými listy (jehlicemi) mohou nedostatečnou dostupnost dusíku alespoň částečně kompenzovat remobilizací dusíku ze starších listů či jehlic. To bylo pozorováno například u *Pinus taeda* v podmínkách limitace dusíkem (Crous et al. 2008). Ke zvýšení rychlosti asimilace za zvýšené $[\text{CO}_2]$ zde došlo u jednoletých i starších jehlic. Avšak analýza obsahu dusíku ukázala, že ve starších výhonech došlo ke snížení alokace dusíku do proteinu Rubisco, což vypovídá o remobilizaci dusíku ze starších jehlic (Crous et al. 2008).

Dostupnost dusíku, může také ovlivnit odpověď karboxylační kapacity Rubisco ($V_{C,\text{max}}$) na zvýšenou $[\text{CO}_2]$. Za nedostatku dusíku při zvýšené $[\text{CO}_2]$ bývá pozorováno její snížení (Lindroth 2010). Taková souvislost dostupnosti dusíku s $V_{C,\text{max}}$ za zvýšené $[\text{CO}_2]$ byla pozorována u buku lesního (*F. sylvatica*). Při dostatečném zásobení dusíkem za zvýšené $[\text{CO}_2]$ nedošlo ke změně $V_{C,\text{max}}$, avšak rostly-li stromy za nedostatku dusíku, byla $V_{C,\text{max}}$ za zvýšené $[\text{CO}_2]$ snížena (Liozon et al. 2000). Podobně *Picea sitchensis* nevykazoval za zvýšené $[\text{CO}_2]$ změny $V_{C,\text{max}}$ při dobré dostupnosti dusíku, zatímco při nedostatku dusíku byla $V_{C,\text{max}}$ nižší. Byl-li pak dusík postupně dodáván, docházelo také k postupnému růstu $V_{C,\text{max}}$ zkoumaných smrků (Murray et al. 2000). Obdobně bříza *B. platyphylla* var. *Japonica* vykazovala za podmínek limitace dusíkem a zvýšené $[\text{CO}_2]$ snížení $V_{C,\text{max}}$ i J_{max} a rovněž snížení obsahu dusíku na plochu listu, přičemž mezi snížením $V_{C,\text{max}}$ a J_{max} a obsahem dusíku byla vyzorována pozitivní korelace (Komatsu et al. 2013). Naopak v případě břízy *B. platyphylla* a olše *Alnus hirsuta* došlo ke snížení $V_{C,\text{max}}$ za zvýšené $[\text{CO}_2]$ na úrodnější půdě při zvýšení $[\text{CO}_2]$. Olše za zvýšené $[\text{CO}_2]$ na úrodnější půdě jevila známky aklimace fotosyntézy s nadměrnou akumulací škrobu (Eguchi et al. 2008). Je však nutno podotknout, že olše je

mezi dřevinami výjimečná svou strategií získávání dusíku využitím symbiomy s bakteriemi fixujícími vzdušný dusík.

Obdobně ovlivněna dostupností živin byla také J_{\max} . Buk *F. sylvatica* vykazoval v půdě s nedostatkem dusíku krátkodobé snížení J_{\max} (Liozon et al. 2000). J_{\max} smrku *P. sitchensis* vykazovala v závislosti na dostupnosti dusíku a $[CO_2]$ obdobné trendy jako $V_{C,\max}$. Tedy za dostatku dusíku ke změně J_{\max} nedošlo, za nedostatku dusíku byla $J_{C,\max}$ snížena a byl - li poté postupně dusík dodáván, zvyšovala se postupně i J_{\max} (Murray et al. 2000). Rovněž bříza *B. maximowicziana* reagovala na zvýšenou koncentraci CO_2 snížením J_{\max} pouze na neúrodné půdě (Eguchi et al. 2008). Obdobně i u modřínu *Larix gmelini* var. *Japonica* x *L. kaempferi* na neúrodné půdě došlo za zvýšení $[CO_2]$ k poklesu J_{\max} (Watanabe et al. 2011).

Tedy dostupnost dusíku značně moduluje odpověď asimilace na zvýšenou $[CO_2]$. Při nedostatku dusíku se zpravidla objevuje výraznější aklimační deprese fotosyntézy. Ovšem neplatí to pro všechny druhy. Některé druhy preferují půdy chudé na živiny a na takových pak lépe prospívají i za zvýšené $[CO_2]$.

2.3 Sacharidový metabolismus u dřevin

V této kapitole nejprve stručně představím metabolismus sacharidů u dřevin. Budu se zabývat nestrukturními sacharidy, jejich funkcí, lokalizací a změnám v průběhu růstové sezóny. Následně se budu soustředit na ovlivnění nestrukturních sacharidů za zvýšené $[CO_2]$ a jejich roli zprostředkovatele aklimační deprese fotosyntézy za zvýšené $[CO_2]$. Nakonec se budu zabývat vlivem dalších vybraných vnitřních a vnějších faktorů na reakci sacharidového metabolismu na zvýšenou $[CO_2]$.

2.3.1 Sacharidový metabolismus u dřevin

Produkty vytvořené při fotosyntéze v chloroplastech (triózafosfáty) jsou využity jednak k syntéze škrobu jako zásoba uhlíku pro noční metabolismus a jednak transportovány do cytosolu, kde se z nich syntetizuje sacharóza. Část vytvořených sacharidů je pak prodýchána přímo v mezofylové buňce. Další část může být transportována a přeměňována v různých metabolických procesech na další látky, z nichž se skládá rostlinné tělo (Kozłowski, 1992).

Nestrukturní uhlíkaté látky tedy poskytují uhlík a energii pro růst a další procesy v rostlině. Mezi nestrukturní uhlíkaté složky rostlin patří kromě nestrukturních sacharidů také proteiny, lipidy a sekundární metabolity. Lipidy mohou být ukládány v dřevní hmotě některých rodů dřevin jako zásoba uhlíkatých látek (Hoch et al. 2003). Roli nestrukturních uhlíkatých složek, hlavně nestrukturních sacharidů, v metabolismu dřevin se věnuje recentní přehledná práce Dietze et al. (2014). Jelikož se problematika lipidů ve dřevní hmotě stromů přímo netýká tématu mé diplomové práce, budu se dále věnovat pouze nestrukturním sacharidům.

Nestrukturní sacharidy lze rozdělit na dvě skupiny, které plní v rostlině odlišné role. První skupinou jsou rozpustné sacharidy, v dřevinách reprezentované hlavně sacharózou, glukózou a fruktózou, méně pak cukernými alkoholy (cyklitoly a sorbitol) a oligosacharidy (např. rafinóza, stachyóza) (Hoch et al. 2003). Rozpustné sacharidy jsou hlavní transportní formou asimilátů, u většiny rostlin je transportována převážně sacharóza. Poskytují stavební jednotky pro tvorbu strukturních a zásobních polysacharidů, a samy také mohou sloužit jako pohotová zásoba sacharidů (Teiz 2010). Důležitá je také jejich role v osmoregulaci. A v neposlední řadě hrají důležitou roli v regulaci fotosyntézy (Pego et al. 2000).

Druhou skupinu tvoří nerozpustné polysacharidy, konkrétně tedy škrob. Škrob je hlavním zásobní formou uhlíku většiny rostlin (Dietze et al., 2014). V listech se jedná především o tranzientní škrob, který je spotřebováván během noci (Zeeman et al., 2010). Ve víceletých jehlicích může plnit i jinou roli. Na jaře se akumuluje v jehlicích druhého ročníku velké množství škrobu, který není spotřebován během noci. Slouží zde jako zásoba pro tvorbu nových výhonů (Senser et al. 1975).

Důležitou otázkou v této problematice je, do jaké míry odráží dynamika obsahu nestrukturních uhlíkatých sloučenin podíl aktivního procesu ukládání oproti pasivnímu. Pasivní proces ukládání je charakterizován rovnováhou mezi získáváním uhlíku skrze fotosyntézu (zdroj uhlíku) a potřebou uhlíku pro růst a respiraci (uhlíkové sinky) (Korner, 2003). V práci (Chapin et al. 1990) byly definovány 3 procesy určující obsah nestrukturních uhlíkatých látek v dřevinách. Prvním je pasivní proces akumulace, kdy nabídka převyšuje poptávku. Druhým je aktivní tvorba zásob. Posledním je aktivní proces recyklace, kdy jsou již dříve utvořené uhlíkaté látky rozloženy a jejich komponenty znovu použity pro další růst (Chapin et al. 1990).

Hladiny nestrukturních uhlíkatých látek se mění v průběhu roku (Lindroth et al., 2001) Hoch et al. 2003). Pro buněčný metabolismus jsou důležité hlavně nestrukturní sacharidy, mezi nimiž důležitou roli hrají především rozpustné sacharidy, případně cukerné alkoholy a škrob. Obecně se má za to, že rozpustné sacharidy a cukerné alkoholy tvoří spíše krátkodobé zásoby, zatímco škrob trvalejší. Během roku se mění poměr zastoupení těchto dvou skupin (Hoch et al. 2003). Škrob naakumulovaný během růstové sezóny v zásobních pletivech (hlavně dřevní hmota kmene a kořeny) je na konci přeměňován zčásti na cukry, které poskytují uhlík a energii prorůstajícím pupenům, dokud samy nedokáží asimilovat dostatek uhlíku. V jehlicích stálezelených jehličnanů hrají rozpustné sacharidy mimo jiné roli i v toleranci ke chladu (Wiemken and Ineichen, 2000) (Bigras and Bertrand, 2006). Na jaře nově rašící pupeny opadavých dřevin čerpají uhlík uložený přes zimu v zásobních pletivech (Hoch et al. 2003). Stálezelené dřeviny při rašení pupenů spoléhají do velké míry na uhlík nově zafixovaný v dané růstové sezóně staršími listy (Senser et al. 1975, Mildner et al., 2014).

Obsah nestrukturních sacharidů v listech odráží rovnováhu mezi aktivitou uhlíkového zdroje a sinků (Körner 2003, Sala et al. 2012). Dojde-li ke zvýšení aktivity zdroje, například zvýšení asimilační rychlosti při zvýšené koncentraci CO₂, lze očekávat změny v této rovnováze, které se odrazí na hladině nestrukturních sacharidů v listech.

2.3.2 Sacharidový metabolismus u dřevin pod vlivem zvýšené koncentrace CO₂

2.3.2.1 Vliv zvýšené [CO₂] na obsah nestrukturních sacharidů v listech

Častým jevem doprovázejícím růst dřevin za zvýšené [CO₂] je akumulace nestrukturních sacharidů v listech. Pokud ale zároveň se zvýšením dostupnosti uhlíku nedojde k adekvátní změně v příjmu dusíku, dochází ke změně rovnováhy mezi uhlíkovými a dusíkovými metabolity v rostlině. Pokud je po odečtení obsahu nestrukturních sacharidů obsah dusíku v listech srovnatelný v aktuální [CO₂] a zvýšené [CO₂], hovoří se o takzvaném efektu zředění (Reich et al., 2006). Nestrukturní sacharidy, hlavně tedy rozpustné sacharidy, mohou hrát významnou roli při aklimaci fotosyntézy skrze regulaci genové exprese (Pego et al. 2000), či při extrémní akumulaci škrobu v chloroplastech zabráněním difúzi CO₂ v chloroplastu a mechanickým narušením systému tylakoidních membrán (Makino, 1994, Equiza et al., 2006). Mimo takové extrémní případy je však listový škrob, na rozdíl od rozpustných sacharidů, považován za dočasný uhlíkový sink, který neinterferuje s fotosyntézou (Gibson et al., 2011).

2.3.2.1.1 Nestrurní sacharidy v listech a aklimační deprese fotosyntézy

Pro vysvětlení souvislostí mezi akumulací rozpustných sacharidů a aklimační depresí fotosyntézy byl navržen molekulární model aklimace fotosyntézy za zvýšené $[CO_2]$ (Van Oosten 1994, Moore a Sheen 1999, Moore et al. 1999). Pokud je překročena kapacita uhlíkových sinků rostliny, ale stále probíhá asimilace uhlíku, dochází k akumulaci rozpustných sacharidů, jejichž hladina je sledována hexokinázou, která zprostředkovává represi genů zahrnutých ve fotosyntéze a zvýšení exprese genů souvisejících se skladováním a užitím sacharidů (Van Oosten 1994, Saxe et al. 1998, Moore et al. 1999). Jinou hypotézu aklimace fotosyntézy za zvýšené $[CO_2]$ (Curtis et al. 2000). Jejich hypotéza souvisí s dostupností dusíku pro různé složky v rostlině. Předpokládá, že za zvýšené $[CO_2]$ dochází ke snížení obsahu dusíku v listech (což bylo skutečně v mnoha případech pozorováno, viz (Tissue et al. 2001, Calfapietra et al. 2007, Komatsu et al. 2013, Gunthardt-Goerg a Vollenweider 2015) a dochází k přerozdělení dusíku ve prospěch jiných procesů než fixace uhlíku. Podle této hypotézy by měla aklimace nastoupit časněji v podmínkách, kdy rostliny rostou v půdě chudé na dusík (Curtis et al. 2000). Dalším možným spouštěčem aklimace fotosyntézy je nedostatek anorganického fosfátu či jeho redistribuce. Při zvýšené asimilační rychlosti vzniká větší požadavek na fosfát pro tvorbu fosforylovaných sacharidů – produktů a meziproduktů Calvinova cyklu. Tím se snižuje dostupnost fosfátu pro tvorbu ATP potřebného mimo jiné pro aktivaci Rubisco (Campbell and Sage, 2006).

Například u *Pinus taeda* byla pozorována aklimační deprese fotosyntézy v jehlicích druhého ročníku. Analýza obsahu nestrurních sacharidů a dusíku byla v souladu s oběma výše zmíněnými hypotézami o příčinách aklimační depresí fotosyntézy. V jehlicích druhého ročníku byl zaznamenán nárůst obsahu rozpustných sacharidů a snížení obsahu dusíku (Rogers a Ellsworth 2002). Nárůst obsahu sacharózy v listech *Betula albosiensis* rostoucí za zvýšené $[CO_2]$ koreloval s poklesem aktivity enzymu Rubisco. Pravděpodobně zde došlo k aklimační depresí fotosyntézy, která byla zprostředkována cukry, jejichž obsah v listech byl za zvýšené $[CO_2]$ výrazně navýšen (Zhang et al. 2008).

V několika případech naopak nebyla aklimační deprese fotosyntézy spojená s nárůstem obsahu nestrurních sacharidů v listech. Aklimace fotosyntézy zde byla pravděpodobně spojená se změnou distribuce dusíku mezi různé proteiny, do enzymu Rubisco bylo

investováno méně, jak uvádí např. (Osborne a Beerling 2003) u metasekvoje *Metasequoia glyptosporoides*. To potvrzují i práce na *Ceratonia siliqua*, *Picea mariana* a *Pinus radiata*, ve kterých byly pozorovány známky aklimační deprese fotosyntézy, přestože nedocházelo ke zvýšené akumulaci nestrukturních sacharidů, (Griffin et al. 2000, Osorio et al. 2005, Bigras a Bertrand 2006).

V listech jedinců *Quercus ilex* z míst s přirozeně zvýšenou $[CO_2]$ byl naměřen nižší obsah rozpustných sacharidů než v listech jedinců rostoucích za aktuální $[CO_2]$, zatímco obsah škrobu v listech se mezi populacemi nelišil. Asimilační rychlost jedinců v jejich původních podmínkách se nelišila, jedinci rostoucí celý život v místech s přirozeně zvýšenou koncentrací CO_2 ale vykazovali nižší asimilační kapacitu. Jedinci rostoucí celoživotně za zvýšené $[CO_2]$ také měli vyšší biomasu, než jedinci rostoucí za aktuální $[CO_2]$ (Aranda et al., 2006).

Zvýšená akumulace nestrukturních sacharidů, a to jak rozpustných sacharidů, tak i škrobu, spojená s aklimací fotosyntézy byla pozorována například i u hybridního pomerančovníku (Vu et al. 2000). Naproti tomu u ambroně *Liquidambar styraciflua* došlo po dvou letech růstu za zvýšené $[CO_2]$ ke zvýšení obsahu škrobu i rozpustných sacharidů, avšak aklimace fotosyntézy pozorována nebyla (Sholtis et al., 2004). Liu et al. (2004, 2005) uvádějí zvýšenou akumulaci rozpustných sacharidů i škrobu v listech *F. sylvatica*. V jiné práci však nebylo ani po osmiletém růstu buku za zvýšené $[CO_2]$ pozorováno žádné zvýšení obsahu nestrukturních sacharidů a rovněž se u nich neprojevila aklimace fotosyntézy (Bader et al. 2010). Zde je ovšem důležité podotknout, že jedinci hodnocení v jednotlivých pracích se výrazně lišili svým stářím. Zatímco v práci Liu et al. (2004, 2005) byly použity juvenilní stromky staré 2-3 roky, práce Bader et al (2010) se zabývala dospělými stromy ve věkovém rozmezí 80-120 let. Gunthardt-Goerg a Vollenweider (2015) pozorovali u juvenilních rostlin buku při zvýšené $[CO_2]$ akumulaci velkých škrobových zrn v chloroplastech mezofylových buněk. Nestanovili však obsah škrobu jinou metodou a nezabývali se ani obsahem rozpustných sacharidů (Gunthardt-Goerg and Vollenweider, 2015). Obdobně u několika druhů dubu bylo po 8 letech růstu dospělých jedinců za zvýšené $[CO_2]$ v systému FACE zjištěno zvýšení obsahu nestrukturních sacharidů v listech (Bader et al. 2010). U několika dalších druhů opadavých listnatých dřevin mírného pásu, zastoupených však dospělými jedinci, také nebyl pozorován vliv zvýšené $[CO_2]$ na obsah nestrukturních sacharidů (Bader et al. 2010).

U jehličnanů dochází častěji k navýšení pouze obsahu škrobu, bez ovlivnění rozpustných sacharidů, i když výsledky nejsou vždy jednoznačné, jak bude vidět dále. Taková reakce byla pozorována u smrku *Picea abies*, a to v krátkodobých i dlouhodobějších experimentech (Sallas et al. 2003, Liu et al. 2004). Zvýšení obsahu škrobu v jehlicích bylo pozorováno také u modřínů *Larix decidua* (Hattenschwiler et al., 2002) a *L. gmelini var. japonica x L. kaempferi* (Watanabe et al. 2011). V jehlicích modřínu opadavého (*L. decidua*) naproti tomu jiní autoři nepozorovali žádné změny v obsahu škrobu ani rozpustných sacharidů vlivem zvýšení [CO₂] a to jak v jehlicích, tak i v dalších částech rostlin (Dawes et al. 2013), Streit et al. 2013). Šlo o stromy rostoucí na hranici lesa v Alpách, tyto rostliny jsou limitovány spíše teplotou než dostupností CO₂ z ovzduší. Autoři uvádějí nižší rychlost transferu uhlíku a pouze nízkou míru remobilizace sacharidů z jehlic na podzim (Streit et al. 2013). Hlavním uhlíkovým sinkem byl růst, který byl obzvláště zvýšený v letech s teplým jarem, a s ním spojená tvorba dřevní hmoty (Dawes et al. 2013). Dále u *Picea mariana* nebylo za zvýšené [CO₂] pozorováno zvýšení obsahu škrobu ani rozpustných sacharidů (Bigras a Bertrand 2006).

Z velké variability ve změnách obsahu nestrukturních sacharidů u jednoho druhu – borovice lesní – je patrné, že velmi záleží na věku stromů i na délce vystavení zvýšené [CO₂]. U borovice lesní rostoucí za zvýšené [CO₂] krátkodobě (7 týdnů) ke zvýšení obsahu škrobu v jehlicích nedošlo (Sallas et al. 2003). Avšak (Janssens et al., 1998) pozorovali navýšení obsahu škrobu v jehlicích semenáčků *P. sylvestris* už po 6 měsících experimentu. V dlouhodobějších experimentech (3 roky a více) navýšení obsahu škrobu bylo pozorováno opakovaně: (Kainulainen et al., 1998) pozorovali navyšování obsahu škrobu v jehlicích *P. sylvestris* ve 3. roce růstu za zvýšené [CO₂]. Stejně tak Zha et al. (2001) uvádějí navýšení obsahu škrobu a dokonce i rozpustných sacharidů v jehlicích *P. sylvestris* rostoucí po 4 roky za zvýšené [CO₂]. V prvním případě (Janssens et al 1998) šlo o semenáčky, zatímco v experimentech prezentovaných Kailunainen et al. (1998) a Zha et al. (2001) byly použity stromy ve věku kolem 20 let, z čehož vyplývá, že mladší jedinci reagovali na zvýšenou [CO₂] rychleji. U jiného druhu borovice, *P. uncinata*, bylo zvýšení obsahu škrobu v jehlicích pozorováno už při jednoletém experimentu, přičemž šlo o stromy ve věku kolem 30 let (Hattenschwiler et al 2002).

Ve většině studií bylo za zvýšené [CO₂] pozorováno navýšení obsahu rozpustných sacharidů a/nebo škrobu. V některých případech ale ke zvýšení obsahu nestrukturních sacharidů v listech za zvýšené [CO₂] v ovzduší nedošlo. Mezi nimi byl kromě výše zmíněného smrku *P. mariana* (Bigras a Bertrand 2006), také rohovník *Ceratonia siliqua* (Osorio et al. 2005) a metasekvoje *Metasequoia glyptosporoides* (Osborne a Beerling 2003).

Z výše zmíněných informací je zřejmé, že se reakce sacharidového metabolismu na zvýšenou [CO₂] značně liší u různých druhů nepříbuzných dřevin. Sacharidový metabolismus však může reagovat výrazně odlišně i např. u různých druhů téhož rodu. Kromě výše zmíněných rozdílů u rodu *Pinus* a *Picea* byly takové odlišnosti pozorovány například u rodu *Betula*. U druhu *Betula albosiensis* došlo za zvýšené [CO₂] k navýšení obsahu škrobu i rozpustných sacharidů (Zhang et al. 2008). V listech *B. papyrifera* došlo ke zvýšení obsahu škrobu (Agrell et al., 2000) během první růstové sezóny za zvýšené [CO₂] a ve třetí růstové sezóně byla na tomtéž experimentálním místě pozorována akumulace větších škrobových zrn v chloroplastech (Oksanen et al., 2005). V jiné práci bylo u tohoto druhu za zvýšené [CO₂] zaznamenáno navýšení obsahu škrobu i rozpustných sacharidů (Lindroth et al., 1995). U *B. maximowicziana* došlo za zvýšené [CO₂] dokonce ke snížení obsahu škrobu, souhrnný obsah nestrukturních sacharidů vykazoval trend ke snížení, který ale nebyl statisticky průkazný (Eguchi et al. 2008). Velmi odlišné reakce obsahu nestrukturních sacharidů v listech na zvýšenou [CO₂] byly zaznamenány v rámci druhu *Betula platyphylla* (Kitao et al., 2007), Eguchi et al. 2008, Komatsu et al. 2013). Jelikož se ale jedná o různé experimenty, je otázkou, do jaké míry jsou rozdíly mezi druhy dány příslušností k danému druhu. Podstatnou roli může hrát způsob provedení experimentu.

Reakce sacharidové bilance na zvýšenou [CO₂] se však může lišit i v rámci jednoho druhu. Jednotlivé genotypy *Populus tremuloides*, které se od sebe liší například citlivostí k polutantům a fenologií, se mohou lišit i reakcí na zvýšení [CO₂] v ovzduší (Kaakinen et al., 2004) (Riikonen et al., 2008) (Cseke et al. 2009). Cseke et al. (2009) sledovali reakce na zvýšenou [CO₂] dvou klonů *P. tremuloides*. Sledované klony se od sebe lišily svou odpovědí na zvýšenou [CO₂] v ovzduší. Zatímco u klonu 271 došlo za zvýšené [CO₂] k výraznému navýšení růstové rychlosti, u klonu 216 nebyly zaznamenány žádné změny růstové rychlosti za zvýšené [CO₂] (Isebrands et al., 2001, Kubiske et al., 2007). Za zvýšené [CO₂] došlo k navýšení obsahu

škrobu v listech obou těchto klonů, výraznější byl však u klonu 271. Klon 271 ukládá přes den více uhlíku do tranzientního škrobu v listech, který pak využívá pro noční metabolismus (Cseke et al. 2009). Zhao et al. (2011) sledovali reakci dvoudomé dřeviny *Populus cathayana* na zvýšenou [CO₂] v ovzduší a její odlišnosti mezi samčími a samičími jedinci. Samičí jedinci měli celkově vyšší obsah nestrurních sacharidů v listech než samčí. Také dosahovali nižší asimilační rychlosti a menší produkce biomasy. Za zvýšené [CO₂] došlo k navýšení obsahu rozpustných sacharidů i škrobu zástupců obou pohlaví. Samčí jedinci však vykazovali vyšší nárůst obsahu rozpustných sacharidů, zatímco samičí jedinci vykazovali vyšší nárůst obsahu škrobu. Méně výraznou reakci obsahu rozpustných sacharidů na zvýšenou [CO₂] v listech samičích jedinců přičítají autoři na vrub tomu, že i za aktuální [CO₂] samičí jedinci měli celkově vyšší obsah nestrurních sacharidů v listech než samčí a dosahovali nižší asimilační rychlosti a menší produkce biomasy (Zhao et al., 2012). Tedy z výše zmíněných příkladů je zřejmé, že i v rámci jednoho druhu mohou být reakce obsahu nestrurních sacharidů v listech na zvýšenou [CO₂] velmi odlišné. Jednotliví jedinci daného druhu se mohou výrazně odlišovat svou kapacitou pro využití případných „nadbytečných“ asimilátů. Jde-li nám o určení reakce nějakého druhu na dané podmínky, je nutné sledovat dostatečně velký soubor jedinců. Co však již je dostatečně velký soubor?

2.3.2.1.2 Vliv zvýšené [CO₂] na obsah nestrurních sacharidů v dalších částech rostliny

Zvýšená [CO₂] neovlivňuje obsah rozpustných sacharidů pouze v listech, ale i v jiných částech rostliny. Zatímco v listech může zvýšený obsah nestrurních sacharidů negativně ovlivňovat fotosyntézu, v jiných částech rostliny mohou být tyto sacharidy skladovány jako zásoby pro růst a další procesy, aniž by narušovaly fotosyntetické procesy. U dřevin jsou zásoby v podobě nestrurních sacharidů ukládány především v dřevnatých částech rostliny, kmeni a kořenech. Dřevnaté části opadavých dřevin obvykle obsahují větší množství nestrurních sacharidů (případně lipidů) než stálezelené. Koncentrace nestrurních sacharidů v dřevnatých částech větví je obvykle podobná jako v listech, zatímco ve kmeni je koncentrace nestrurních sacharidů mnohem nižší a obvykle klesá směrem od povrchu do středu (Hoch et al. 2003).

V práci Schulte et al. (2002) byly srovnávány duby *Q. ilex* vystavené zvýšené koncentraci CO₂ krátkodobě a celoživotně (stromy rostoucí poblíž výronů CO₂). U jedinců vystavených

zvýšené [CO₂] pouze po dobu experimentu došlo k hromadění nestrukturních sacharidů, a to hlavně v kořenech. Složení floémových exudátů zůstalo nezměněno. Stromy rostoucí za zvýšené [CO₂] celoživotně vykazovaly podobné charakteristiky jako kontrolní rostliny. Po vystavení těchto jedinců prostředí s aktuální [CO₂] došlo ke snížení obsahu nestrukturních sacharidů, které bylo nejvýraznější v kůře spodní části kmene. Floémové exudáty však zůstaly beze změny (Schulte et al., 2002). Obsah cukrů ve floémových exudátech vypovídá o jejich transportu v rostlině. Pro umožnění zvýšení růstové rychlosti by mělo dojít k navýšení transportu ze zdrojových míst do míst spotřeby (Polle et al., 2001). Zvýšení obsahu cukrů ve floémových exudátech bylo zaznamenáno u semenáčků dubů *Q. ilex* a *Q. pubescens* (Blaschke et al., 2001), avšak u výše zmíněného *Q. ilex* nikoli. Rozdíl mohl být dán odlišným stářím použitých jedinců. V práci Schulte et al. (2002) byli zkoumáni dospělí jedinci (30-50 let), zatímco Blaschke et al. (2001) testovali reakci semenáčků.

Za zvýšené [CO₂] byl zaznamenán nárůst obsahu rozpustných sacharidů a škrobu v kořenech (hrubých i jemných) mladých jedinců *Fagus sylvatica*, v kmeni došlo pouze k navýšení obsahu škrobu a v listech pouze rozpustných sacharidů. Zvýšená [CO₂] způsobila nárůst obsahu rozpustných sacharidů i škrobu v jehlicích, kmeni a jemných kořenech *Picea abies*, ale nezapříčinila změny v obsahu a spektru nestrukturních sacharidů v hrubých kořenech (Liu et al., 2004). Ke zvýšení celkového obsahu nestrukturních sacharidů (tedy souhrnu rozpustných sacharidů a škrobu) v dřevnatých částech došlo po třech letech růstu za zvýšené [CO₂] také u 2 klonů (259 a 271, z 5 zkoumaných) *Populus tremuloides*. Zvýšení obsahu samotného škrobu pouze u jednoho klonu (8L) (Kaakinen et al. 2004). Po pěti letech aly byla odpověď těchto stromků na zvýšenou [CO₂] odlišná. U klonu 8L došlo ke snížení obsahu rozpustných sacharidů a u 42E k jeho zvýšení. Klon 42E vykazoval ze všech sledovaných nejvýraznější růstovou odpověď na zvýšené [CO₂], klon 259 měl celkově nejnižší růstovou rychlost (Kubiske et al. 2007, po sedmi letech růstu za zvýšené [CO₂]). Obsah škrobu nebyl ovlivněn (Kostiainen et al. 2008). V dřevní hmotě *Betula papyrifera* rostoucí za zvýšené [CO₂] pět let bylo zaznamenáno snížení obsahu škrobu (Kostiainen et al. 2008), při dřívějším měření taková reakce zaznamenána nebyla (Kaakinen et al. 2004).

V dlouhodobém experimentu s dospělými jedinci *Larix decidua* nebyly za zvýšené [CO₂] zaznamenány změny v obsahu a spektru nestrukturních sacharidů v žádné ze sledovaných

částí rostlin (jehlice, kůra, dřevo) (Streit et al. 2013). U *Pinus taeda* v dlouhodobém experimentu na dospělých stromech nedošlo k žádným změnám obsahu nestrukturních sacharidů v jemných kořenech (Drake et al., 2008).

Z výše zmíněných informací vyplývá, že ke změnám obsahu nestrukturních sacharidů za zvýšené [CO₂] může docházet v různých částech stromu. Výraznější změny byly zaznamenány u velmi mladých jedinců (Blaschke et al. 2001, Liu et al. 2004). Odpověď na zvýšenou [CO₂] se může měnit s rostoucí délkou vystavení zvýšené [CO₂] (Kaakinen et al. 2004, Kostianen et al. 2008).

2.3.2.1.3 Role kompetice v reakci sacharidového metabolismu za zvýšené [CO₂]

Obsah sacharidů za zvýšené [CO₂] může být ovlivněn také kompeticí rostlin na stanovišti, a to jak mezidruhovou, tak i vnitrodruhovou. Například u *Fagus sylvatica* došlo k vymizení vlivu zvýšené [CO₂] na obsah nestrukturních sacharidů v kmeni, pokud byly rostliny pěstovány ve smíšené kultuře s *Picea abies*, efekt [CO₂] zůstal v případě buku patrný pouze na obsah rozpustných sacharidů v listech *F. sylvatica*. U *P. abies* ve smíšené kultuře přetrvával efekt zvýšené [CO₂] v jehlicích na rozpustné sacharidy i škrob a došlo k navýšení obsahu škrobu v hrubých kořenech (Liu et al. 2004). Tedy v případě buku došlo vlivem mezidruhové kompetice k vymizení pozitivních efektů zvýšené [CO₂] na obsah nestrukturních sacharidů, přetrvávalo pouze zvýšení obsahu rozpustných sacharidů v listech, které jsou dávány do souvislosti s aklimační depresí fotosyntézy (Moore et al. 1999), zatímco u smrku byl i ve smíšené kultuře patrný pozitivní vliv zvýšené [CO₂] na škrob v různých částech rostliny (Liu et al. 2004), což je v souladu s předpokladem, že z těchto dvou druhů je právě smrk silnějším kompetitorem (Grams et al., 2002).

Zhang et al. (2008) zjišťovali odlišnosti v obsahu nestrukturních sacharidů za zvýšené [CO₂] v listech *Betula albosinensis* při dvou různých hustotách sadby. Za zvýšené [CO₂] došlo ke zvýšení obsahu rozpustných sacharidů i škrobu za při obou hustotách sadby, avšak v řidším porostu byl tento nárůst výraznější. Nejvíce se lišil podíl sacharózy, který v řidším porostu vzrostl téměř dvojnásobně (v hustším jen o cca 68%) (Zhang et al 2008).

2.3.2.1.4 Role dalších vnějších a vnitřních faktorů v reakci sacharidového metabolismu na zvýšení [CO₂] v ovzduší

Sacharidová bilance rostliny je samozřejmě ovlivněna řadou vnitřních a vnějších faktorů. Reakce obsahu nestrukturních sacharidů v listech na zvýšení [CO₂] v ovzduší je ovlivněna stářím listu a vykazuje značnou sezónní dynamiku, která může být pozměněna zvýšením [CO₂] v ovzduší. Významnými vnějšími faktory, které ovlivňují odpověď sacharidové bilance rostliny na zvýšenou koncentraci CO₂, jsou ozáření a dostupnost dusíku. Samozřejmě i jiné vnější faktory mohou tuto reakci ovlivnit, avšak ve své práci se budu zabývat pouze dvěma výše zmíněnými.

2.3.2.1.4.1 Vnitřní faktory

Důležitým faktorem ovlivňujícím obsah sacharidů v listech je jejich ontogenetické stáří. U dubu *Quercus suber* došlo za zvýšené [CO₂] ke zvýšení obsahu rozpustných sacharidů v mladých listech, avšak u plně vyvinutých listů a listů staršího ročníku nebylo pozorováno výraznější zvýšení (Maroco et al. 2002).

V několika pracích bylo ukázáno, že obsah nestrukturních sacharidů závisí na stáří jehlic. Li et al. (2009) sledovali obsah nestrukturních sacharidů v jehlicích různého stáří u dvou druhů dřevin – jedle *Abies georgei* a jalovce *Juniperus saltuaria*. Obsah rozpustných sacharidů byl závislý na stáří jehlic pouze v případě jedle. Obsah rozpustných sacharidů strmě rostl od prvních ke třetím ročníkům, od třetích k šestým pak pozvolna klesal (Li et al., 2008).

Zvýšená koncentrace [CO₂] pak může ovlivnit obsah nestrukturních sacharidů v jehlicích různého stáří stejnou měrou nebo může mít výraznější vliv pouze na některé ročníky. U druhých ročníků jehlic borovice *Pinus radiata* byly naměřeny vyšší hodnoty rozpustných sacharidů než u mladších jehlic, přičemž za zvýšené [CO₂] došlo k navýšení obsahu škrobu u obou věkových skupin (Tissue et al. 2001). Griffin et al. (2000) uvádějí u stejného experimentálního materiálu o rok později vyšší obsah rozpustných sacharidů u prvních ročníků. Obsah rozpustných sacharidů ani škrobu nebyl ovlivněn [CO₂] (Griffin et al. 2000).

V dalším dlouhodobém experimentu s *Pinus taeda* byl v jehlicích druhého ročníku zaznamenán nárůst obsahu rozpustných sacharidů (a snížení obsahu dusíku). Zároveň u nich byla pozorována aklimační deprese fotosyntézy za zvýšené [CO₂]. Jehlice prvního ročníku

však v těchto parametrech nejevily reakci na zvýšení $[CO_2]$ v ovzduší (Rogers a Ellsworth 2002, Logan et al. 2009).

Luomala et al. (2003) ve víceletém experimentu s *Pinus sylvestris* pozorovali navýšení obsahu škrobu v jehlicích za zvýšené $[CO_2]$ pouze u prvních ročníků jehlic (a navíc jen v některých letech experimentu). Obsah škrobu v jehlicích staršího ročníků nebyl ovlivněn $[CO_2]$. Zha et al. (2001) pozorovali v dlouhodobém experimentu navýšení obsahu škrobu i rozpustných sacharidů za zvýšené $[CO_2]$ v prvních i druhých ročnících jehlic tohoto druhu. Druhé ročníky obsahovaly vždy více nestrukturních sacharidů než první a tento rozdíl nebyl změněn zvýšenou $[CO_2]$ (Zha et al., 2001). 2001).

Obsah nestrukturních sacharidů v listech se mění v průběhu růstové sezóny. Obvykle je nejvyšší na začátku růstové sezóny a poté postupně klesá (Hoch et al. 2003). Reakce dřevin na zvýšenou $[CO_2]$ může záviset i na období růstové sezóny. Například u rychle rostoucích topolů *Populus alba*, *P. nigra* a *P. x euramericana* bylo navýšení obsahu škrobu za zvýšené $[CO_2]$ pozorováno pouze v červnu. Tyto topoly nevykazovaly známky aklimační deprese fotosyntézy za zvýšené $[CO_2]$ (Davey et al. 2006). Obdobně k letnímu nárůstu obsahu škrobu došlo u *Sequoia sempervirens* a *Taxodium distichum*, u *T. distichum* byl navýšen i obsah rozpustných sacharidů. U obou druhů byla zaznamenána aklimační deprese fotosyntézy. Autoři zde však aklimaci fotosyntézy nedávali do souvislosti s nadměrným hromaděním nestrukturních sacharidů, nýbrž s poklesem obsahu dusíku v pletivech (Osborne a Beerling 2003). Zha et al. (2001) pozorovali u *Pinus sylvestris* navýšení obsahu nestrukturních sacharidů (rozpustných sacharidů i škrobu) za zvýšené $[CO_2]$ během celé sezóny. V přezimujících jehlicích stálezelených jehličnanů hrají rozpustné sacharidy důležitou roli při otužování. Dynamika obsahu nestrukturních sacharidů během sezóny v dalších částech rostliny není stejná jako v listech. Například Hoch et al. (2003) uvádějí v listech několika druhů opadavých i stálezelených dřevin pokles obsahu nestrukturních sacharidů během sezóny, zatímco obsah nestrukturních sacharidů v kmeni nepodléhal zjevným změnám během sezóny.

Kromě sezónní dynamiky podléhají nestrukturní sacharidy také denní dynamice. U topolů *P. alba*, *P. nigra* a *P. x euramericana* došlo během poledne za zvýšené $[CO_2]$ k navýšení obsahu sacharidů vyjádřeného jako hexózové ekvivalenty (to zahrnuje rozpustné sacharidy i škrob) o

50 %, avšak večerní hladiny byly stejné jako u kontrolních rostlin. Většina uhlíku získaného za zvýšené [CO₂] navíc oproti kontrole tedy byla využita před soumrakem. Jedinci rostoucí za zvýšené [CO₂] vykazovali vyšší rychlost utilizace a exportu sacharidů (Davey et al. 2006). Obdobně zvýšení obsahu škrobu v listech *Sequoia sempervirens* a *Taxodium distichum* bylo pouze přechodné. Během noci byl exportován či metabolizován, jeho dalším osudem se autoři nezabývali (Osborne a Beerling 2003). U *Populus deltoides* docházelo za aktuální i zvýšené [CO₂] k nárůstu obsahu škrobu v průběhu dne. V noci pak docházelo za aktuální [CO₂] k postupnému snižování, zatímco za zvýšené [CO₂] se obsah škrobu v první polovině noci stále zvyšoval, poté došlo ke strmému poklesu. V ranních hodinách byl obsah škrobu v listech jedinců rostoucích za aktuální a zvýšené [CO₂] srovnatelný (Walter et al. 2005).

2.3.2.1.4.2 Vnější faktory

2.3.2.1.4.2.1 Ozáření

Interakcí ozáření a zvýšené [CO₂] na obsah nestrukturních sacharidů v listech se nezabývá mnoho prací. Většina popisuje stav pouze ve slunných listech, případně je prováděna pouze na juvenilních jedincích, kde nedochází k výrazné redukci ozáření při průchodu slunečního záření korunou. Dalším problémem v tomto ohledu je, že u mnoha prací zabývajících se listovými charakteristikami v různých částech koruny není uveden rozdíl ozáření v těchto částech. Případné rozdíly ve sledovaných parametrech pak mohou být dány i vztahy mezi zdroji a sinky v dané části koruny, nežli pouze ozáření.

Vliv pozice v koruně na obsah nestrukturních sacharidů v jehlicích a jeho reakci na zvýšenou [CO₂] byl pozorován u *Pinus radiata*. Jehlice ve spodní části koruny obsahovaly méně škrobu než jehlice v horní části. Za zvýšené [CO₂] došlo k nárůstu obsahu škrobu, který byl výraznější ve spodní části koruny. Z hlediska obsahu škrobu došlo tedy ke zmírnění rozdílů v koruně (Tissue et al. 2001). Naopak Agrell et al. (2000) pozorovali za zvýšené [CO₂] u *Populus tremuloides* nárůst obsahu škrobu u slunných a stinných listů srovnatelný, rozdíly v koruně (vyšší obsah škrobu ve slunných listech) zde tedy zůstaly zachovány. V listech *Acer saccharum* a *Betula papyrifera* byl však nárůst obsahu škrobu za zvýšené [CO₂] výraznější u slunných listů, čímž došlo k prohloubení rozdílů v rámci koruny (Agrell et al. 2000).

2.3.2.1.4.2.2 Dostupnost dusíku

Důležitým faktorem ovlivňujícím obsah nestrukturních sacharidů v listech za zvýšené [CO₂] je dostupnost živin z půdy, hlavně dusíku. Ovšem i vliv tohoto faktoru na sacharidovou bilanci je značně variabilní mezi různými druhy. Závisí mimo jiné na preferenci určitých podmínek, zda patří mezi rychle rostoucí pionýrské druhy, které mnohdy obsazují stanoviště bohatá na živiny, nebo mezi pomaleji rostoucí pozdně sukcesní druhy, které jsou adaptovány na nižší dostupnost živin v půdě. Většina studií je prováděna na rychle rostoucích druzích, jakými jsou například topoly a břízy. Již dříve zmíněná práce Eguchi et al. (2008) se zabývala reakcí 3 druhů dřevin na zvýšenou [CO₂] v závislosti na dostupnosti živin v půdě. U břízy *B. platyphylla* došlo za zvýšené [CO₂] při růstu na úrodné půdě k poklesu obsahu nestrukturních sacharidů celkově, na neúrodné byl snížen pouze obsah škrobu (Eguchi et al. 2008). V jiné práci zabývající se *B. platyphylla* var. *japonica* rostoucí v podmínkách limitace dusíkem bylo pozorováno navýšení obsahu rozpustných sacharidů a škrob zůstal beze změn (Komatsu et al. 2013). A v další práci na tomtéž druhu v podmínkách limitace dusíkem bylo za zvýšené [CO₂] pozorováno zvýšení obsahu škrobu, ale obsah rozpustných sacharidů se nezměnil (Kitao et al. 2007). Ve všech případech se jednalo o mladé stromky. Kitao et al. (2007) a Komatsu et al. (2013) pracovali s jednoletými semenáčky, jedinci v práci Eguchi et al. (2008) s dvouletými. Eguchi et al. (2008) demonstrují důležitou roli půdy, v níž rostlina roste. Tento experiment však probíhal ve zcela jiných podmínkách na jiném experimentálním místě (FACE) než experiment provedený Kitao et al. (2007) a Komatsu et al. (2013) (fytotrony, stejný experimentální design). Kitao et al. (2007) a Komatsu et al. (2013) prováděli měření u listů různého stáří (30 a 50 dní), což by mohlo zapříčinit posun v sacharidovém spektru. V listech *B. maximowicziana* byl za zvýšené [CO₂] snížen pouze obsah škrobu, a to v úrodné i neúrodné půdě, celkové množství nestrukturních sacharidů nebylo ovlivněno ani [CO₂], ani typem půdy (Eguchi et al. 2008). Jediným stromem v této práci, u něž byla pozorována zvýšená akumulace nestrukturních sacharidů za zvýšené [CO₂] byla olše *A. hirsuta*, a to na úrodné půdě. Tato akumulace sacharidů může podobně jako fotosyntetické parametry souviset s její strategií získávání dusíku (Eguchi et al. 2008). Modřín *L. gmelini* var. *japonica* x *L. kaempferi* reagoval na zvýšení [CO₂] v ovzduší navýšením obsahu škrobu nezávisle na dostupnosti dusíku v půdě (Watanabe et al. 2011).

Při experimentu Coley et al. (2002) zabývajícím se reakcí několika druhů tropických stromů na zvýšení [CO₂] a přidavek hnojiva došlo ke zvýšení obsahu nestrukturních sacharidů celkově (včetně zvýšení obsahu škrobu) u *Ficus insipida* nezávisle na hnojení. U *Virola surinamensis* došlo vlivem zvýšené [CO₂], pokud nebyl hnojen, k poklesu obsahu nestrukturních sacharidů. Obsah škrobu byl však za zvýšené [CO₂] vyšší nezávisle na hnojení (Coley et al., 2002).

Příjem živin může být značně vylepšen díky mykorhizní symbióze. Ošetřením zvýšenou [CO₂] obohacenou o značený uhlík (¹³C) bylo zjištěno, že výrazným sinkem pro nově zabudovaný uhlík v opadavém listnatém lese byly hlavně listy a nově se tvořící dřevo a dále také mykorhizní houby (Keel et al., 2012). (Loewe et al. 2000) pozorovali v krátkodobém experimentu snížení obsahu škrobu v listech semenáčků *Populus tremula x tremuloides* vlivem mykorhizy za normální i za zvýšené [CO₂]. U neinokulovaných jedinců došlo za zvýšené [CO₂] k nárůstu obsahu škrobu. Obsah glukózy a fruktózy nebyl výrazně ovlivněn [CO₂] ani mykorhizou. U *Picea abies* došlo ke snížení obsahu škrobu u rostlin inokulovaných mykorhizními houbami pouze za zvýšené [CO₂]. Obsah rozpustných sacharidů však zůstal, podobně jako u osiky, bez výrazných změn. Zároveň u obou druhů byl pozorován pozitivní vliv zvýšené [CO₂] a inokulace mykorhizními houbami na asimilační rychlost. Také byl za zvýšené [CO₂] stimulován růst podzemní části obou druhů a nadzemní části smrku. Mykorhiza na růst rostlin vliv neměla (Loewe et al. 2000). Mykorhizní symbióza může tedy pomoci rostlině za zvýšené [CO₂] vyrovnat se se stimulací asimilace uhlíku a zmírnit její případné negativní dopady na rovnováhu mezi hladinou nestrukturních sacharidů a dalších metabolitů rostliny. Houby účastnící se mykorhizní symbiózy představují důležitý uhlíkový sink, kterému mohou být dodávány případné „nadbytečné“ asimiláty za zvýšené [CO₂] (Keel et al. 2012).

2.3.2.1.5 Ovlivnění exprese genů souvisejících se sacharidovým metabolismem zvýšenou [CO₂]

Jak již bylo řečeno výše, změny genové exprese dřevin rostoucích za zvýšené [CO₂] jsou málo probádaná oblast. Nejpodrobněji je tato problematika popsána u topolu osikového. U tohoto

druhu bylo za zvýšené [CO₂] pozorováno výrazné zvýšení asimilační rychlosti a rychlosti růstu (Kubiske et al. 2007).

Ve výše zmíněné práci Cseke et al. (2009) zabývající se změnou genové exprese u dvou genotypů *Populus tremuloides* s odlišnou růstovou reakcí na zvýšenou [CO₂] byla u obou genotypů za zvýšené [CO₂] zjištěna zvýšená exprese genu pro uridindifosfoglukózapyrofosforylázu. Tento enzym hraje klíčovou roli v sacharidovém metabolismu rostlin. Poskytuje metabolity jak pro syntézu buněčné stěny a s ní spojený růst, tak i pro syntézu škrobu a sacharózy a s ní spojenou tvorbu zásob (Koch 2004). V další práci na témže druhu, avšak akcentující význam ontogenetického stáří listu, bylo pozorováno v mladých listech výrazné navýšení exprese genu pro Ca²⁺ dependentní proteinkinázu (CPK2) (Taylor et al. 2005). Ca²⁺ dependentní proteinkinázy jsou důležité mimo jiné pro fungování sacharózasyntázy a sacharózafosfátsyntázy – dvou důležitých enzymů metabolismu sacharózy (Koch, 2004). Wei et al. (2013) sledovali na tomtéž experimentálním stanovišti transkriptom v listech a v kmeni (v zóně vaskulárního kambia) dvou genotypů *P. tremuloides* s podobnou růstovou odpovědí na zvýšenou [CO₂]. Za zvýšené [CO₂] byla v listech posílena exprese genů pro proteiny zahrnuté ve fixaci uhlíku z CO₂. V kmeni byla posílena exprese genů pro proteiny účastnící se rozvolňování a tvorby buněčné stěny a další procesy umožňující navýšení růstové rychlosti (Wei et al., 2013).

2.3.2.1.6 Změny obsahu a aktivity enzymů zahrnutých v sacharidovém metabolismu za zvýšené [CO₂]

Změny obsahu a aktivit enzymů účastnících se metabolismu nestrukturních sacharidů za zvýšené [CO₂] jsou poměrně málo probádaná oblast, obzvláště u dřevin. Většina psací se zabývá pouze sacharózafosfátsyntázou (SPS) či ADP-glukózapyrofosforylázou (AGPáza).

Sacharózafosfátsyntáza (SPS) katalyzuje tvorbu sacharóza-P z UDP-glukózy a fruktóza-6-P. Tento klok je klíčovým kontrolním bodem v biosyntéze sacharózy (Koch 2004). Zvýšení aktivity SPS za zvýšené [CO₂] je zdokumentováno u *Pinus ponderosa*, obsah SPS ovlivněn nebyl. Zároveň zde došlo ke stimulaci radiálního růstu kmene za zvýšené [CO₂]. Odpověď na CO₂ však vykazovala výraznou vnitrodruhovou variabilitu (Pushnik et al., 1999). U hybridního

pomerančovníku za zvýšené [CO₂] nebyla ovlivněna aktivita SPS, přesto došlo ke zvýšení obsahu sacharózy (Vu et al. 2000).

ADP-glukózapyrofosforyláza je klíčový enzym syntézy škrobu. U již dříve zmíněného pomerančovníku nedošlo za zvýšené [CO₂] ke změně aktivity AGPázy u mladých listů, u starších byla její aktivita dokonce snížena. Přesto byla pozorována výrazná akumulace škrobu v listech (Vu et al. 2000). Také u tří druhů topolu (*P. alba*, *P. nigra* a *P. x euramericana*) nebyla aktivita AGPázy ovlivněna zvýšenou koncentrací CO₂ v ovzduší, a přesto byl obsah škrobu v listech zvýšen (Davey et al. 2006).

Vypadá to tedy, že za zvýšené [CO₂] nebude u dřevin docházet k výrazným změnám aktivit sledovaných enzymů účastnících se sacharidového metabolismu. Avšak prací na toto téma je opravdu velmi málo na to, aby se dalo říct, že to bude obecně rozšířená reakce.

2.4 Vliv zvýšené [CO₂] na procesy, v nichž se spotřebovává uhlík

Poté, co je uhlík z CO₂ zabudován do sacharidů a případně transportován do dalších orgánů, účastní se dalších procesů. Část asimilátů je zabudována do strukturních sacharidů a podílí se na expanzi buněk a růstu rostliny. Další část je spotřebována při respiraci a vrací se opět jako CO₂ do atmosféry. Určitý podíl asimilátů slouží k syntéze sekundárních metabolitů. Na několika následujících stranách se budu stručně věnovat změnám v těchto procesech u rostlin vystavených zvýšené [CO₂].

2.4.1 Růst

Nejčastější reakcí stromů na zvýšení [CO₂], provázené obvykle zvýšením rychlosti fotosyntézy, je současné zvýšení rychlosti růstu. Změnami rychlostí růstu dřevin za zvýšené koncentrace oxidu uhličitého se zabývá mnoho souhrnných prací (např. Saxe et al. 1998, (Poorter a Navas 2003, Norby et al. 2005, Lindroth 2010, Michopoulos 2011, Norby et al. 2005, Norby et al., 2016). Často dochází ke změně poměru hmotnosti kořenů vůči nadzemní části ve prospěch kořenů, např. při růstu *Betula papyrifera* za zvýšené [CO₂] byl pozorován nárůst sušiny listů a kořenů (Mattson et al. 2005).

Mnoho prací se zabývá reakcí semenáčků a mladých stromků. To může být obtížně porovnatelné s reakcí vzrostlých stromů z několika důvodů. Jednak v prvních několika letech

růstu se tvoří tzv. juvenilní dřevo, které má odlišné anatomické vlastnosti (Bonham and Barnett, 2001). Dále s postupujícím růstem dřeviny dochází k fyziologickým změnám a změnám alokace uhlíku (Norby et al. 1999).

Změny rychlosti růstu za zvýšené [CO₂] se samozřejmě, stejně jako další parametry, liší u různých druhů dřevin. Odlišné růstové reakce na zvýšení [CO₂] byly pozorovány i mezi různými genotypy jednoho druhu v rámci jednoho experimentálního porostu. Bylo zjištěno, že některé genotypy *Populus tremuloides* při zvýšené [CO₂] vykazovaly výrazné zvýšení rychlosti růstu a jiné nikoli, přestože rychlost asimilace byla zvýšena u obou skupin (Kubiske et al. 2007). U genotypu s výraznou růstovou reakcí na zvýšenou [CO₂] byla pozorována vyšší exprese genů souvisejících s expanzí buněk a růstem rostliny. Mezi nimi byly například geny kódující proteiny vážící auxin a enzym xyloglukanendotransglykosylázu, která se účastní rozvolňování buněčných stěn (Gupta et al. 2005). Další studie z tohoto porostu ukázaly, že genotypy, u nichž k výraznému zvýšení rychlosti růstu nedošlo, investovaly získaný uhlík více do sekundárních metabolitů (hlavně fenolických látek), zatímco genotypy, u nichž byla růstová rychlost výrazně zvýšena, investují více uhlíku do syntézy strukturních sacharidů (Cseke et al. 2009). Studie zabývající se změnou transkriptomu těchto osik za zvýšené [CO₂] u jednoho z genotypů s výrazně zvýšenou růstovou rychlostí ukázala, že zde dochází ke zvýšení exprese genů pro proteiny související s rozvolňováním buněčné stěny a syntézou složek buněčné stěny (Cseke et al. 2009). Také byla zvýšena exprese některých genů zahrnutých v buněčném cyklu, které pravděpodobně podporuje dělení buněk. Také další procesy související s dělením a růstem buněk byly posíleny (vezikulární transport, tvorba a uspořádání mikrotubulárního cytoskeletu). Rovněž exprese genů souvisejících s rovnováhou fytohormonů byla pozměněna, a to ve prospěch zvýšení rychlosti růstu. Byla posílena exprese genu pro auxinový transport v kmeni (transportér LAX3) a exprese genů pro cytokininovou signalizaci, naopak exprese genů pro signalizaci kyselinou abscisovou byla potlačena (Wei et al. 2013). V listech *Ginkgo biloba* (L.) byl při růstu za zvýšené [CO₂] zaznamenán nižší obsah kyseliny abscisové a vyšší obsah některých auxinů, cytokininů a gibberelinů což pravděpodobně souvisí s pozitivním vlivem zvýšené [CO₂] na růst (Li et al. 2011).

2.4.1.1 Změny zastoupení strukturních sacharidů v pletivech dřevin za zvýšené [CO₂]

Asimilovaný uhlík je zabudován do strukturních sacharidů, čímž je umožněn nárůst biomasy rostlin. Růst a s ním spojená tvorba dřevní hmoty je velmi důležitým uhlíkovým sinkem dřevin.

V některých případech byly pozorovány i změny v zastoupení strukturních sacharidů (celulózy, hemicelulóz, pektinů) v listech. V listech jedinců *Quercus ilex* rostoucích za zvýšené [CO₂] byl vyšší obsah celulózy, zatímco obsah hemicelulóz změněn nebyl (Aranda et al. 2006). V listech *Quercus myrifolia* naopak nebyly pozorovány změny obsahu celulózy vlivem zvýšené [CO₂], došlo však ke zvýšení obsahu hemicelulóz (Hall et al., 2006). Podobně u dalších dvou druhů dubů, *Q. cerris* a *Q. pubescens* nebyly pozorovány změny v zastoupení celulózy (Gahrooe 1998), obsah hemicelulóz však autor neuvádí. Zvýšení obsahu hemicelulóz bylo pozorováno také u *Betula pendula*, obsah celulózy byl v jejím případě snížen (Kasurinen et al. 2006, Kontunen-Soppela et al. 2010). V listech *Betula papyrifera* nebyly pozorovány změny obsahu strukturních sacharidů (Mattson et al. 2005). U *Populus tremuloides* došlo rovněž k poklesu obsahu celulózy, obsah hemicelulóz nebyl změněn (Liu et al., 2005a). Poorter et al. (1997) sledovali změny chemického složení listů širšího spektra rostlin, mezi nimiž bylo také 6 druhů dřevin (*Acacia auriculiformis*, *A. melanoxylon*, *Eucalyptus camaldulensis*, *E. cypellocarpa*, *E. pauciflora* a *Vitis vinifera*). Nepozorovali výrazné ovlivnění obsahu strukturních sacharidů zvýšenou [CO₂], pouze mírné snížení jejich obsahu (kromě *V. vinifera*) (Poorter et al. 1997). V jehlicích borovice *Pinus palustris* nebyl obsah celulózy ovlivněn [CO₂], obsah hemicelulóz nebyl uveden (Entry et al., 1998).

Ke změnám zastoupení strukturních sacharidů může docházet za zvýšené [CO₂] kromě listů i v dalších orgánech či pletivech rostlin, např. v dřevnatých pletivech kmene. V případě *Acer saccharum* bylo pozorováno snížení obsahu celulózy, obsah hemicelulóz nebyl ovlivněn koncentrací CO₂ (Kaakinen et al. 2004). Naopak u *Betula papyrifera* a *Populus tremuloides* nebyl ovlivněn obsah celulózy, zato došlo ke snížení obsahu hemicelulóz (Kaakinen et al. 2004). Naopak Wei et al. (2013) pozorovali za zvýšené [CO₂] vyšší abundanci transkriptů pro enzymy účastnící se syntézy hemicelulóz a pektinů v zóně fascikulárního kambia. Mattson et al. (2005) uvádí u *B. papyrifera* mírné snížení obsahu strukturních sacharidů ve kmeni. Obdobně u *Pinus palustris* byla naměřena nižší koncentrace celulózy v dřevnatých pletivech

rostlin rostoucích za zvýšené [CO₂] (Entry et al. 1998). Avšak ve dřevnatých pletivech jiného druhu téhož rodu, *P. sylvestris*, nebyly pozorovány žádné změny v zastoupení strukturních sacharidů (Kilpelainen et al., 2005) (Overdieck and Fenselau, 2009).

Tedy změny v zastoupení strukturních sacharidů jsou nejednotné. Avšak z výše zmíněných pozorování vyplývá, že dojde-li ke změně obsahu celulózy, jde obvykle o snížení, zatímco u hemicelulóz dochází v listech spíše ke zvýšení, i když v dřevnatých pletivech bylo pozorováno i snížení obsahu hemicelulóz. Celulóza je silný irreverzibilní uhlíkový sink (Haigler et al., 2001). Hemicelulózy jsou důležitá složka buněčných stěn, mohly by tvořit důležitý zásobník pro uhlík získaný navíc za zvýšené [CO₂]. Hemicelulózy pravděpodobně mohou sloužit jako mobilní zásobník uhlíku (Hoch 2007).

2.4.2 Respiration

Způsob ovlivnění temnotní respirace (R_d) zvýšenou [CO₂] v ovzduší není zcela jednoznačný. Odlišnosti výsledků měření mohou být způsobeny mimo jiné použitím různých metod měření. Leakey et al. ve své přehledné práci uvádějí, že při použití otevřených systémů k měření výměny plynů výsledky naznačovaly, že za zvýšené [CO₂] dochází ke snížení respirace. Tyto výsledky jsou však podle autorů zkreslené, jelikož tuto metodu považují za značně nedokonalou (Leakey et al. 2009a, Leakey et al. 2009b). Při použití uzavřených gazometrických systémů k měření respirace byly výsledky různorodé, většinou však byla ovlivněna jen málo, nebo vůbec.

2.4.2.1. Ovlivnění respirace zvýšenou [CO₂] v ovzduší

Změny respirace za zvýšené [CO₂] mohou být způsobeny dvěma mechanismy. Prvním je změna dostupnosti substrátu pro respiraci za zvýšené [CO₂]. Za zvýšené [CO₂] mnohdy dochází ke zvýšené tvorbě asimilátu, které následně mohou být využity pro R_d . Tím dojde k nárůstu R_d (Gonzalez-Meler and Siedow 1999, Tjoelker et al. 1999). Druhým je přímá inhibice mitochondriálních enzymů účastnících se respirace zvýšenou [CO₂] (Gonzalez-Meller a Siedow 1999, Amthor 2000).

Respirace listů bývá za zvýšené koncentrace ovlivněna poměrně málo. Pokud dojde k nějaké změně, jedná se obvykle o snížení. Výraznější vliv zvýšené [CO₂] nebyl pozorován například u

buku *Fagus sylvatica* (Košovancová et al. 2009). Ke snížení došlo javoru *Acer pseudoplatanus* (Amthor 2000, Hattenschwiler a Korner 2000) dubu *Quercus robur* (Hattenschwiler a Korner 2000). Nárůst respirace listů za zvýšené $[CO_2]$ v prostředí je uváděn u *Populus tremuloides* (Landhausser and Lieffers 2001, Wang and Curtis 2001). V listech *Populus tremuloides* bylo opakovaně pozorováno navýšení obsahu tranzientního škrobu za zvýšené $[CO_2]$ (Agrell et al. 2000, Wang a Curtis 2001, Cseke et al. 2009), díky kterému mohlo být umožněno navýšení R_d .

Výrazné změny respirace jehlic nebyly pozorovány ani u *Picea abies* (Košovancová et al. 2009) a *P. mariana* (Bigras a Bertrand 2006) a *Pinus nigra* (Jach and Ceulemans 2000b) a *P. taeda* (Ellsworth et al. 2012). Snížení R_d bylo zaznamenáno u *Pinus sylvestris* (Zha et al., 2001). V jehlicích *Picea mariana* přesto bylo pozorováno za zvýšené $[CO_2]$ navýšení obsahu škrobu a v jehlicích *Pinus sylvestris* navýšení škrobu i rozpustných sacharidů (Bigras a Bertrand 2006, Zha et al. 2001). Tedy nepotvrdilo se, že zvýšení obsahu nestrukturních sacharidů za zvýšené $[CO_2]$ povede k navýšení R_d .

Míra respirace kmene bývá za zvýšené $[CO_2]$ obvykle zvýšena. To bylo pozorováno například u *Picea abies* (Acosta et al. 2010) a *Pinus taeda* (Moore et al. 2008). Zvýšení míry respirace dřevnatých pletiv kmene za zvýšené $[CO_2]$ pravděpodobně souvisí se zvýšenou rychlostí růstu a závislosti nefotosyntetizujících pletiv na dodávce asimilátů pro získávání energie dýcháním. Respirace rostlinných pletiv bývá dělena na udržovací a růstovou (Penning de Vries 1975). U dřevnatých pletiv větším objemem by mělo docházet při zvýšené koncentraci CO_2 ke zvýšení udržovací respirace. Za zvýšené $[CO_2]$ došlo u borovice lesní k nárůstu respirace dřevnatých pletiv a zvýšení podílu udržovací respirace, které korelovalo s přírůstkem kmene (Zha et al. 2005). K podobným změnám, tedy nárůstu respirace danému hlavně zvýšením podílu udržovací respirace, došlo i u jiného druhu borovice, *P. ponderosa* (Carey et al., 1996). Naopak *P. nigra* nevykazovala zvýšení míry respirace dané zvýšením $[CO_2]$ v prostředí. Avšak respirace pozitivně korelovala s tloušťkou kmene, tedy u kmenů s největším průměrem kmene byla naměřena i nejvyšší míra respirace (Liberloo et al., 2008). U ambroně *Liquidambar styraciflua* bylo pozorováno zvýšení obou složek respirace (Edwards et al. 2002).

Také v případě podzemních částí docházelo mnohdy k nárůstu respirace. To může souviset s nárůstem biomasy kořenů spolu se zvýšenou potřebou získávání živin z půdy. Nárůst respirace podzemní části stromů celkově byl zaznamenán například u *Populus deltoides* (Barron-Gafford et al. 2005). K nárůstu respirace kořenů došlo také u *Acer pseudoplatanus* (Edwards and Norby, 1999). Zvýšení míry respirace jemných ještě nezdřevnatělých kořenů, které jsou zásadní pro získávání živin z půdy, bylo zdokumentováno například u ambroně *Liquidambar styraciflua* (George et al. 2003). U některých druhů nebyla pozorována změna respirace jemných kořenů za zvýšené $[CO_2]$. Mezi tyto druhy patřil např. *Populus balsamifera*, duby *Quercus alba* a *Q. robur*. *Fagus sylvatica* v několikaletém experimentu zpočátku nevykazoval žádné změny respirace kořenů, avšak s postupem experimentu došlo k jejímu zvýšení (Spinnler et al. 2002). V některých případech však byl pozorován i mírný pokles respirace kořenů, například u osiky *Populus tremuloides*, modřínu *Larix laricina* a smrku *Picea mariana* (Tjoelker et al. 1999). Výraznější snížení respirace kořenů za zvýšené $[CO_2]$ bylo pozorováno u borovice *Pinus sylvestris* (Crookshanks et al., 1998). Naopak nárůst respirace kořenů byl zaznamenán u *P. banksiana* (Tjoelker et al. 1999). Respirace jemných kořenů nebyla výrazně ovlivněna krátkodobě zvýšenou $[CO_2]$ u *Juniperus monosperma*, *Picea glauca*, *Pinus edulis* a *P. ellioti* (Burton and Pregitzer 2002). Snížení respirace jemných kořenů bylo zaznamenáno u *P. taeda* (George et al. 2003). V jiné práci však toto pozorování nebylo potvrzeno, nedošlo k žádné změně respirace jemných kořenů *P. taeda* za zvýšené $[CO_2]$ (Drake et al. 2008).

2.4.2.2 Vliv dalších vnitřních faktorů na respiraci za zvýšené $[CO_2]$

Na příkladu *Populus tremuloides* lze ilustrovat, že ovlivnění respirace listů zvýšenou $[CO_2]$ se může lišit i v rámci jednoho druhu. Wang a Curtis (2001) zjišťovali, zda se liší respirace u dvoudomých dřevin v závislosti na pohlaví. U samčích rostlin *Populus tremuloides* byla naměřena vyšší rychlost respirace než u samičích. V obou případech však R_d za zvýšené $[CO_2]$ vzrostla (Wang a Curtis 2001).

Rychlost respirace se může lišit i v různých částech listu. Griffin et al. (2004) naměřili nejvyšší R_d na bázi jehlice borovice a nejnižší na její špičce. Za zvýšené $[CO_2]$ došlo ke snížení R_d u báze

a zvýšení u špičky, tedy rozdíly mezi R_d různých částí jehlice byly zmírněny (Griffin et al. 2004).

Dalším faktorem ovlivňujícím respiraci může být stáří listu. Jach a Ceulemans (2000) naměřili vyšší rychlost respirace u jehlic z daného roku, než u jehlic předešlého roku. Tento rozdíl zůstal zachován i za zvýšené $[CO_2]$ (Jach and Ceulemans 2000b).

Roli v reakci respirace na zvýšenou $[CO_2]$ se může hrát i stáří rostlin a délka vystavení zvýšené $[CO_2]$. Zhou et al. (2007) sledovali změny respirace za zvýšené $[CO_2]$ u dvou druhů borovice (*Pinus koraiensis* a *P. sylvestris*) v průběhu několika sezón. Zpočátku pozorovali výrazné zvýšení R_d jehlic, avšak během dalších růstových sezón docházelo k jejímu snižování a ve čtvrté růstové sezóně už byla R_d u obou druhů za zvýšené $[CO_2]$ nižší, než za aktuální $[CO_2]$ (Zhou et al. 2007).

2.4.2.3 Vliv vnějších faktorů a vnějších faktorů na respiraci za zvýšené $[CO_2]$

Z vnějších faktorů hraje důležitou roli v odpovědi rostlin na zvýšenou $[CO_2]$ dostupnost minerálních živin, především dusíku. Jelikož dusík je součástí všech proteinů a je známo, že za zvýšené $[CO_2]$ mnohdy dochází k přerozdělení dusíku z proteinů účastnících se fixace CO_2 do jiných proteinů (např. Crous et al. 2008), je možné, že podobným způsobem může být ovlivněna respirace. Jehlice *Picea sitchensis* vykazovaly za zvýšené $[CO_2]$ při nedostatku živin v půdě výrazné snížení respirace. Trend ke snížení respirace za zvýšené $[CO_2]$ byly pozorovány u jehlic stromů rostoucích v půdě dobře zásobené živinami, avšak rozdíl oproti kontrolním nebyl statisticky průkazný (Murray et al. 2000). Také u hybridního topolu *Populus x eramericana* došlo za zvýšené $[CO_2]$ při nedostatku živin ke snížení respirace listů, zatímco při dostatečném zásobení živinami nikoli. Tento efekt však závisel na datu měření. Uprostřed sezóny došlo ke zvýšení respirace vlivem zvýšené $[CO_2]$ u rostlin hnojených i nehnojených (Curtis et al. 1995).

Míra respirace dřevnatých částí kmene byla také dávána do souvislosti s dostupností živin. Janouš (Janous et al. 2000) zaznamenali u *Picea abies* za zvýšené $[CO_2]$ snížení respirace kmene, které připisovali nedostatečnému zásobení stromů dusíkem. Avšak u *Pinus sylvestris* míra respirace kmene nesouvisela s dostupností živin. Rostliny rostoucí za zvýšené $[CO_2]$ vykazovaly stejnou míru respirace v substrátech s různým množstvím živin (Kellomaki and

Wang 1997). Výdej CO₂ z kmene *Populus nigra* nebyl ovlivněn ani koncentrací CO₂ v ovzduší, ani tím, zda byly rostliny přihnojovány, či nikoli (Liberloo et al. 2008).

2.4.3 Syntéza a akumulace sekundárních metabolitů za zvýšené [CO₂]

Sekundární metabolity jsou bohatou skupinou různých sloučenin uhlíku rozmanitých struktur odvozených z primárního metabolismu. Rostliny tvoří tři základní skupiny sekundárních metabolitů: terpenoidy, fenolické látky a alkaloidy (a další sekundární metabolity obsahující dusík)y. V rostlině mohou plnit různé funkce, například mohou chránit rostlinu před patogeny či herbivory, dále mohou chránit rostlinu před negativními dopady ultrafialového záření, případně mohou sloužit rostlině při mezidruhové kompetici a v neposlední řadě mohou plnit roli atraktantů pro opylovače (Klepzig et al. 1995, Teiz 2010). Z hlediska reakce dřevin na zvýšenou [CO₂] mohou být také důležitým sinkem pro uhlík získaný navíc za zvýšené [CO₂]. U dřevin je obzvláště významnou látkou řadící se k sekundárním metabolitům lignin, který je důležitou složkou buněčných stěn. Jeho obsah může podléhat změnám, jsou-li rostliny vystaveny zvýšené [CO₂]. Dalšími často sledovanými sekundárními metabolity u dřevin jsou kondenzované taniny. Jedná se o stabilní koncové produkty, které se akumulují s narůstajícím stářím listu (Raisanen et al., 2008).

Za zvýšené [CO₂] bylo pozorováno zvýšení některých skupin sekundárních metabolitů. Mattson et al. (2005) pozorovali zvýšení obsah ligninu a fenolických látek celkově za zvýšené [CO₂] vzrostl v listech a kmenech a *Betula papyrifera*, v kořenech ale nikoli. V listech bříz *B. pendula* a *B. papyrifera* rostoucích za zvýšené [CO₂] byla zjištěna vyšší koncentrace kondenzovaných taninů (Lavola et al., 2000, Lindroth et al. 2001). V jiné práci bylo v listech břízy *B. pendula* pozorováno snížení zastoupení ligninu (Oksanen et al. 2005). Karonen et al. (2006) sledovali změny obsahu kondenzovaných taninů za zvýšené [CO₂] u jiných dvou druhů bříz (*Betula platyphylla* a *B. ermanii*). Nepozorovali výrazné ovlivnění koncentrace těchto látek v listech vystavených zvýšené [CO₂] (Karonen et al. 2006). To je poněkud v rozporu s výše zmíněnými poznatky o obsahu kondenzovaných taninů v listech *B. pendula* a *B. papyrifera* (Lavola et al 2000, Lindroth et al. 2001). Autoři se domnívají, že to mohlo být způsobeno rozdílnými podmínkami pěstování, případně různou citlivostí jednotlivých druhů ke zvýšení [CO₂] (Karonen et al., 2006). Dalším druhem, v jehož listech nebyly za zvýšené

[CO₂] zaznamenány změny obsahu kondenzovaných taninů byl *Fagus crenata* (Karonen et al. 2006). V listech jiného druhu buku, *F. sylvatica*, bylo pozorováno za zvýšené [CO₂] navýšení obsahu proanthocyanidinů a to hlavně rozpuštěných ve vakuolách mezofylových buněk (Gunthardt-Goerg a Vollenweider 2015).

Zvýšení koncentrace fenolických látek za zvýšené [CO₂] bylo pozorováno i v jehlicích stálezeleného jehličnanu *Picea abies* (Hattenschwiler a Schafellner 1999), ačkoli v jiném experimentu se nepotvrdilo, že jde o obecně platnou reakci tohoto druhu na zvýšenou [CO₂] (Lhotakova et al. 2012)

Za zvýšené [CO₂] může docházet ke změnám alokace uhlíku do jednotlivých skupin sekundárních metabolitů. U borovice *P. sylvestris* bylo zjištěno, že zvýšená [CO₂] ovlivnila různé skupiny sekundárních metabolitů různými, někdy až protichůdnými, způsoby. Za zvýšené [CO₂] byla koncentrace kondenzovaných taninů zvýšená mírně v jednoletých a výrazně ve dvouletých jehlicích. Dále k mírnému zvýšení koncentrace rozpustných fenolických látek došlo pouze v jednoletých jehlicích. Nejvýrazněji byly ze sledovaných skupin sekundárních metabolitů ovlivněny [CO₂] monoterpeny. Za zvýšené [CO₂] došlo k poklesu jejich obsahu u obou věkových skupin jehlic (Räisänen et al. 2008). Tedy při sledování reakce obsahu sekundárních metabolitů v listech nebo jehlicích stálezelených dřevin, je potřeba brát v úvahu stáří listu či jehlice. Lhotáková et al. (2012) však nepozorovali v jehlicích *Picea abies* rostoucího za zvýšené [CO₂] rozdíly v obsahu rozpustných fenolických látek oproti jehlicím kontrolních rostlin. Obsah se nelišil ani u 2 zkoumaných věkových skupin jehlic (1. a 3. Ročník). Na koncentraci rozpustných fenolických látek měla vliv pouze ozáření, slunné jehlice obsahovaly méně rozpustných fenolických látek než jehlice ze zastíněných větví. Obsah ligninu ani lokalizace těchto složek v pletivech jehlice rovněž nebylo ovlivněno [CO₂], stářím jehlic ani ozáření (Lhotáková et al. 2012). Gunthardt-Goerg a Vollenweider (2015) hodnotily reakci na zvýšenou [CO₂] jiné skupiny metabolitů. V jehlicích juvenilních jedinců *P. abies* pozorovaly za zvýšené [CO₂] nárůst obsahu proanthocyanidinů, hlavně rozpuštěných ve vakuolách mezofylových buněk, a to v 1. i 2. ročnících jehlic. Navýšení obsahu těchto látek navíc nebylo ovlivněno dostupností dusíku ani typem půdy (Gunthardt-Goerg a Vollenweider 2015).

Různorodé výsledky jsou uváděny i při pozorování zastoupení sekundárních metabolitů v dřevnatých pletivech. Luo et al. (2008) sledovali změny obsahu sekundárních metabolitů za zvýšené [CO₂] ve dřevě *Populus nigra* (v dlouhodobějším experimentu). Zaměřovali se na obsah ligninu, rozpustných fenolických látek, fenolických látek vázaných v buněčné stěně a kondenzované taniny. Koncentrace kondenzovaných taninů byla za zvýšené [CO₂] mírně snižena. Ostatní sledované sekundární metabolity nebyly ovlivněny [CO₂] (Luo et al., 2008). Zato u *Pinus sylvestris* bylo pozorováno snížení obsahu ligninu (Overdieck a Fenselau 2009).

Reakce sekundárního metabolismu rostlin na zvýšení [CO₂] mohou být rozdílné nejen mezi různými druhy (viz výše), ale i v rámci jednoho druhu. Cseke et al. (2009) studovali transkriptomu dvou genotypů *Populus tremuloides* dlouhodobě rostoucích za zvýšené [CO₂]. Oba genotypy vykazovaly za zvýšené [CO₂] stejné zvýšení asimilační rychlosti, ale rozdílné růstové odpovědi. Růst klonu 271 byl za zvýšení [CO₂] výrazně posílen, zatímco růst klonu 216 nikoli (Taylor et al. 2008). Při porovnání transkriptomů těchto dvou genotypů se ukázalo, že exprese genů pro proteiny související s tvorbou sekundárních metabolitů skrze fenylypropanoidovou dráhu byla u klonu 216 výrazně posílena, zatímco u klonu 271 nikoli. Klon 216 investoval více získaného uhlíku do tvorby komponent buněčné stěny odvozených z fenylypropanoidové dráhy. Klon 217 využíval uhlík spíše k syntéze sacharidů a následně k růstu (Cseke et al. 2009).

Tedy sekundární metabolity opravdu mohou za zvýšené [CO₂] představovat sink pro „nadbytečný“ uhlík. Avšak z výše prezentovaných informací je zřejmé, že posílení syntézy sekundárních metabolitů za zvýšené [CO₂] je odlišné u různých druhů a může se lišit i v rámci jednoho druhu. Jelikož sekundární metabolity hrají důležitou roli i v trofických interakcích, může za zvýšené [CO₂] dojít ke změnám v těchto interakcích (Kuokkanen et al., 2004, Nabity et al., 2012, Veteli et al., 2002). Navíc pozměněné chemické složení listového opadu může vést ke změnám v rychlosti jeho dekompozice (Norby et al. 2001) a k ovlivnění půdních mikroorganismů, včetně těch, které hrají významnou roli v cyklu dusíku (Kelly et al. 2013). To může spolu s odlišnostmi reakce dalších procesů, např. růstu či transpirace, vést k jen obtížně předvídatelným změnám na úrovni ekosystémů (Lindroth 2010).

3 Materiál a metody

3.1 Experiment s dlouhodobým ošetřením zvýšenou [CO₂] - Bílý Kříž

3.1.1 Popis experimentálního stanoviště

Materiál byl odebrán ze stromů na experimentálním ekologickém stanovišti ekologické fyziologie rostlin Ústavu výzkumu globální změny AV ČR (CVGZ) na Bílém Kříži v Moravskoslezských Beskydech (49°30' s. š., 18°32' v. d.; 908 m. n. m.). Průměrná roční teplota je zde mezi 5-6°C, roční úhrn srážek mezi 1100-1400mm (Urban et al., 2001). Podloží je tvořeno godulským pískovcem flyšového typu, na kterém se nachází vrstva železitého podzolu (beskydy.ochranaprirody.cz). Obsah dusíku v půdě se v srpnu 2010 pohyboval mezi 3,6 a 4,5 µg.g⁻¹, přičemž převažující formou byly amonné ionty.

Porost na tomto stanovišti rostl ve dvou sférách o půdorysu 9 x 9 m a výšce (v centru) 6 m s různou koncentrací oxidu uhličitého (obrázek 1). V jedné sféře byla [CO₂] shodná s jeho koncentrací v okolním vzduchu (Aktuální [CO₂]; v roce 2011 to bylo 390,9 ppm; zdroj: <http://gnosis9.net/>). Ve druhé byla koncentrace CO₂ navýšena na 700 ppm (Zvýšená [CO₂]). Sféry disponují automaticky se otevírajícími okny, která reagují na směr a rychlost větru. Teplota ve sférách se od okolní nelišila o více než 1°C. Srážky byly ve sférách oproti okolí redukovány, což kompenzoval automatický zavlažovací systém. Propustnost pro fotosynteticky aktivní záření činila cca 78+/-3 % v létě při optimálním sklonu oken, nedocházelo ke změně spektrálního složení. Přes zimu byla okna úplně otevřená, sněhová pokrývka uvnitř sfér dosahovala asi 70 % okolní úrovně. Další podrobnosti lze najít v práci Urban et al. 2001.



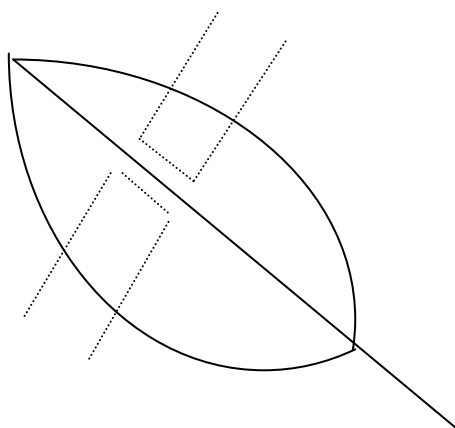
Obrázek 3.1.1: sféry na Bílém Kříži (foto autor)

3.1.2 Popis experimentálního materiálu a odběru

Ve sférách rostl zapojený porost juvenilních buků (*Fagus sylvatica* L.) a smrků (*Picea abies* Karst.) zasazených do přirozené půdy od roku 2005, kdy byly stromy staré asi 5 let. Při analýze úrody ve sférách v roce 2009 nebyla půda shledána deficientní na žádný z esenciálních minerálních prvků (data poskytnutá ÚVGZ). Stromy (celkem původně 60 buků a 35 smrků v každé sféře, v roce 2011 již jen 55 buků a 28 smrků v A a 52 buků a 28 smrků v E) zde rostly ve smíšeném porostu spolu s několika bylinnými druhy, které se přirozeně vyskytují v dané lokalitě.

Vzorky analyzované v této práci byly odebrány v roce 2011, tj. u jedenáctiletých stromů, pěstovaných 6 let za uvedených podmínek, a to během dvou odběrů. První odběr proběhl po úplné expanzi listů. Druhý později v průběhu vegetační sezóny. V případě buku byl první odběr proveden 28.6. mezi 11:15 a 13:00 (teplota: 17-21°C, relativní vzdušná vlhkost: 49-54%, PAR: 384-717 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-2}$), druhý odběr proběhl 2.8. mezi 10:45 a 12:35 (teplota: 16-20°C, relativní vzdušná vlhkost: 79-95%, PAR: 192-535 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-2}$). První odběr smrkových vzorků pro analýzu obsahu sacharidů proběhl 27.7. mezi 10:15 a 13:20 (teplota: 14-17°C, relativní vzdušná vlhkost: 84-96%, PAR: 22-213 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-2}$), druhý 4.10. mezi 10:30 a 12:20 (teplota: 18-24°C, relativní vzdušná vlhkost: 54-66% PAR: 402-592 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-2}$). Z deseti jedinců každého druhu v obou sférách bylo do mikrozkušavek odebráno 6 vzorků ze slunné a 6 ze stinné části koruny pro každý typ analýzy, pokud možno ze stejného přeslenu či výšky větví. Celkem tedy bylo pro naše analýzy odebráno 24 vzorků z každého jedince. Čerstvá

hmotnost jednoho vzorku se pohybovala okolo 250 mg. Z listů buku byla během odběru odstraněna střední žilka (Obrázek 3.1.3). Odběr vždy probíhal synchronně v obou sférách, aby byly minimalizovány potenciální rozdíly dané časem odběru v dané sféře. Vzorky byly ihned po odběru zmrazeny v tekutém dusíku, v něm v Dewarových nádobách dopraveny do Prahy a následně až do zpracování uchovávány při teplotě -80°C .



Obrázek 3.1.3: schematické znázornění odběru vzorku z listu buku. Při odběru byla z listu odstraněna střední žilka.

3.2 Experiment s krátkodobým ošetřením zvýšenou [CO₂] – sledování denní dynamiky

3.2.1 Popis experimentálních prostor

Odběry vzorků proběhly v areálu ÚVGZ v Brně. Zde byly stromky pěstovány v růstových komorách (fytotronech) s automatickou regulací složení atmosféry, teploty, vzdušné vlhkosti a intenzity a spektrálního složení světla. Ve fytotronech byl nastaven režim chodu světla (PPFD), teploty, vzdušné vlhkosti uvedený v Tabulce 1. V jednom fytotronu byla nastavena [CO₂] na 400 ppm. V tabulce je uveden světelný režim v tomto fytotronu. Ve fytotronu se zvýšenou [CO₂] byla [CO₂] nastavena na 700 ppm.

Čas	PPFD	Teplota	Vlhkost	Čas odběru
0:00	0	15	70	6:00 - 6:15
7:00	100	17	68	8:00- 8:15
9:00	300	19	63	10:00 – 10:15
11:00	700	22	55	12:00 – 12:15
13:00	1000	25	52	14:00 – 14:15
15:00	700	22	55	16:00 – 16:15
17:00	300	19	63	18:00 – 18:15
19:00	100	17	68	20:00 – 20:15
21:00	0	15	70	22:00 – 22:15

Tabulka 1: nastavení fytotronu s aktuální koncentrací CO₂. V levém sloupci je uveden čas, ve kterém se měnilo nastavené dalších parametrů. Dále je uvedena ozářenost (photosynthetic photon flux density, PPFD) v $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, teplota v °C, relativní vzdušná vlhkost (%). Úplně vpravo je uveden časový úsek v dané situaci, kdy proběhl samotný odběr.

3.3.1 Rostlinný materiál

Pro zjišťování denní dynamiky sacharidů byly použity asi tří- až čtyřleté sazeničky, jednalo se o tradiční semenný školkařský materiál v květináčích plněných komerční substrátem. Tyto stromky byly umístěny do fytotronů s předstihem čtyř týdnů. Změny světelného záření, teploty a vlhkosti probíhaly ve fytotronu se zvýšenou koncentrací CO₂ se zpožděním 30 min, díky čemuž bylo možné provádět odběr vždy stejně dlouho po změně světelného režimu. S 24h předstihem proběhlo měření fotosyntetických parametrů u jedinců, z nichž jsem následující den odebrala vzorky pro stanovení obsahu nestrukturních sacharidů.

Stanovení obsahu sacharidů proběhlo u tří stromků. Ve všech případech byl odběr proveden 1 hodinu po změně světelného režimu, výjimkou byl první ranní odběr, který byl proveden hodinu před rozsvícením světla ve fytotronech. Celkem bylo provedeno devět odběrů z každého jedince. Při odběru byly odebrány vždy tři vzorky z jednoho jedince o hmotnosti cca 50 až 100 mg. Vzorky byly ihned zmrazeny v kapalném dusíku. Vzorky v nádobách s kapalným dusíkem byly převezeny do Prahy a zde uloženy v -80°C do dalšího zpracování.

Následující obrázky slouží pro ilustraci fenotypové variability sledovaných jedinců.



Obrázek 3: sazenice smrku použité pro odběr vzorků na stanovení sacharidů v listopadu 2013, v horní řadě jsou stromky 1-3 z fytotronu s $[\text{CO}_2]$ 400 ppm, ve spodní řadě stromky 1-3 z fytotronu s $[\text{CO}_2]$ 700 ppm.

3.4 Stanovení obsahu nestrukturních sacharidů

V případě materiálu z Bílého Kříže byly z každého stromu připraveny vzorky pro stanovení obsahu rozpustných sacharidů a škrobu zvlášť. Vzorky pro stanovení obsahu škrobu byly homogenizovány, vzorky pro stanovení obsahu rozpustných sacharidů nikoli. U materiálu z experimentu v ÚVGZ v Brně takovéto rozdělení nebylo možné, vzhledem k menšímu množství materiálu. Stanovení obsahu rozpustných sacharidů i škrobu proběhlo z téhož vzorku, který byl ihned po vysušení homogenizován.

3.4.1 Příprava vzorků pro analýzu rozpustných sacharidů

Vzorky pro měření nestrukturních sacharidů byly připraveny následujícím způsobem:

1. Lyofilizace zmražených vzorků přes noc, cca 16 hod (Lyovac GT 2, Finn-Aqua)
2. Stanovení hmotnosti sušiny
3. Inkubace 10 min s 80% metanolem (0,5 ml na vzorek) při 75°C v termobločku
4. Odpaření roztoku pomocí vakua (Concentrator plus, Eppendorf)
5. Přidání demineralizované vody (MilliQ), množství podle suché hmotnosti vzorků (viz tabulka 2)
6. Promíchání
7. Ponoření na 15 min do ultrazvukové lázně (Bandelin Sonorex RK 31)
8. 10 min centrifugace při (Eppendorf Centrifuge 5415 D) na maximální výkon, tj. 13 200 rpm (rotor Eppendorf F-45-24-11)
9. Přefiltrování supernatantu do čisté mikrokumavky řes membránové filtry Millex Millipore (0,22 μm)
10. Zmrazení získaných vzorků a uchování při -18°C do měření
11. Stanovení spektra a obsahu sacharidů pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie

Suchá hmotnost (mg)	Objem vody (ml) - rozpustné sacharidy	Objem vody (ml) - škrob
Pod 5	0,2	0,2
5-10	0,3	0,2
10-20	0,5	0,3
20-30	1	0,5
30-40	1,5	1
Nad 40	1,5	1,5

Tabulka 2: Objem demineralizované vody přidané ke vzorku v závislosti na hmotnosti sušiny vzorku

3.4.2 Příprava vzorků pro stanovení obsahu škrobu

1. Lyofilizace (viz Rozpustné sacharidy)
2. Přesun do homogenizačních mikrozkuvek (Eppendorf) a homogenizace pomocí kulového mlýnku (Retsch MM 301) při frekvenci 25 úderů za sekundu s použitím dvou homogenizačních kuliček v každé mikrozkuvce (WC, Ø 5 mm)
3. Lyofilizace cca 2 hod
4. Stanovení hmotnosti sušiny
5. Inkubace 10 min s 80% metanolem při 75°C v termobločku
6. Odpaření roztoku pomocí vakua (Concentrator plus, Eppendorf)
7. Přesun supernatantu do čistých mikrozkuvek, uchování supernatantu v mikrozkuvkách při -20 až -80°C
8. Promytí peletu demineralizovanou vodou, 3x
 - 8.1. Přidání 1 ml demineralizované vody
 - 8.2. 15 min působení ultrazvukové lázně
 - 8.3. 15 min centrifugace (viz výše)
 - 8.4. Odsátí supernatantu
9. Přidání 0,5 ml 0,1M Na-acetátového pufru: 0,2M octan sodný; pH 4,5 (upraveno 0,2M HCl)

10. Ošetření v autoklávu (121°C, 204 kPa)
11. Přidání 100 µl enzymatického roztoku v 0,1 M Na-acetátovém pufru (výsledné ředění 35 U amylázy/vzorek a 70 U amyloglukosidázy/vzorek) Inkubace s enzymatickým roztokem při 40°C přes noc
12. Inaktivace enzymů 5 min při 95°C
13. Odpaření roztoku pomocí vakuové odparky (viz výše)
14. Přidání demineralizované vody v závislosti na suché hmotnosti vzorků (viz Tabulka2)
15. Promíchání
16. 15 min působení ultrazvukové lázně (viz výše)
17. 10 min centrifugace (viz výše)
18. Přefiltrování supernatantu do čisté mikrokumavky přes membránové filtry Millex Millipore (0,22 µm)
19. Zmrazení získaných vzorků a uchovávání při -18°C do měření
20. Stanovení obsahu glukózy pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie

3.4.3 Stanovení obsahu a spektra sacharidů

Obsah a spektrum sacharidů byly stanoveny pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC) s refraktometrickou detekcí (Shodex RI-71). Sacharidy byly eluovány demineralizovanou vodou (MilliQ). Objem injikovaného vzorku byl 10 μl . Rychlost průtoku systémem byla 500 $\mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$. Při měření rozpustných sacharidů z experimentu Bílý Kříž byly použity předkolony Hema-Bio 1000 SB+Q (Watrex); kolona polymer IEX Pb^{2+} (Watrex), v případě škrobových vzorků předkolony Hema-Bio 1000 SB+Q (Watrex); kolona polymer IEX Ca^{2+} (Watrex). Pro měření obsahu sacharidů ve vzorcích z fytotronového experimentu (denní profily) byly použity předkolony Column SP-G Pb^{2+} (Shodex); kolona SUGAR Column SP0810 Pb^{2+} (Shodex) při detekci rozpustných sacharidů, u škrobových vzorků byly použity předkolony Column SC-LG Ca^{2+} (Shodex); kolona SUGAR Column SC1011 Ca^{2+} (Shodex). Rozdělování na kolonách probíhalo při teplotě 80°C. Pro integraci byl použit počítačový program CSW 1.7.

3.5 Statistické zpracování dat

Statistická evaluace výsledků byla provedena v programu NCSS9 (NCSS, USA) pomocí metody Analýza rozptylu ANOVA, modul Repeated measures s využitím Tukey-Kramerova testu. Tento modul analyzuje jak variabilitu mezi jednotlivými stromy, tak i variabilitu v rámci jednoho stromu. Hodnocen byl vliv tří faktorů – ozářenosti, $[\text{CO}_2]$ a sezóny. Jako statisticky významný byl efekt vnějšího faktoru označen tehdy, pokud po provedení t-testu byla velikost p hodnoty menší než $p=0,05$. Hodnocení bude přiloženo v tabulkách 4.1 a 4.2.

4 Výsledky

4.1 Výsledky analýzy obsahu nestrukturních sacharidů v listech buku a jehlicích smrku z experimentálního stanoviště na Bílém Kříži

4.1.1 Obsah rozpustných sacharidů v listech buku lesního

V listech buku byla detekována sacharóza, glukóza, fruktóza a inozitol. U některých jedinců byly detekovány ještě další dva sacharidy, jež se nepovedlo identifikovat.

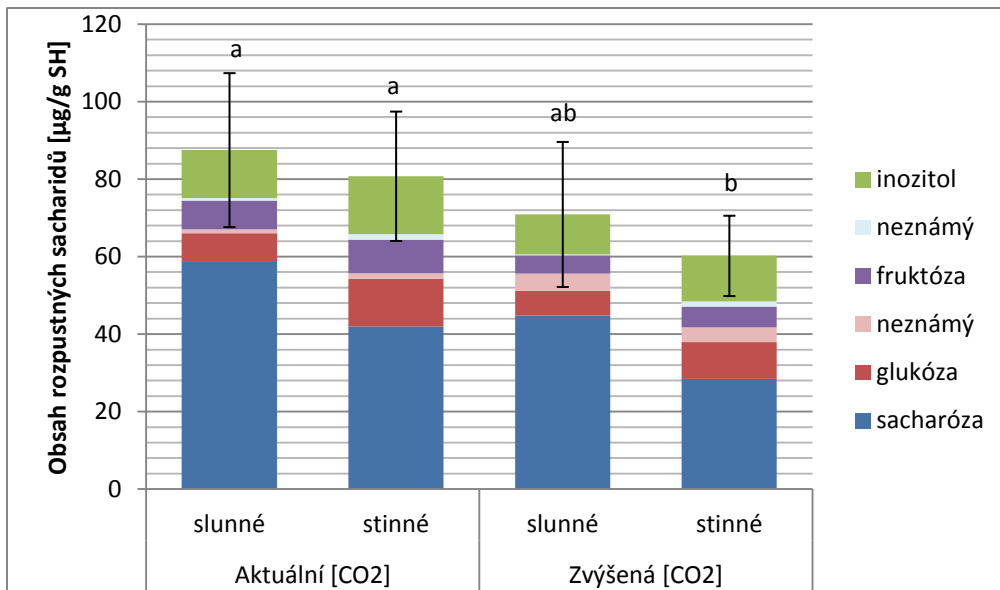
Vliv $[\text{CO}_2]$ na celkový obsah rozpustných sacharidů byl pozorován pouze na začátku růstové sezóny. Za zvýšené $[\text{CO}_2]$ byl obsah rozpustných sacharidů ve stinných listech nižší než ve stinných listech jedinců z aktuální $[\text{CO}_2]$ (Graf 4.1.1.1).

S postupem sezóny se jak ve slunných, tak i stinných listech buku rostoucích za aktuální $[\text{CO}_2]$ snížil obsah rozpustných sacharidů, za zvýšené koncentrace nebyl pokles obsahu rozpustných sacharidů s postupem sezóny statisticky průkazný (Graf 4.1.1.1, 4.1.1.2 a Tabulka 4.1).

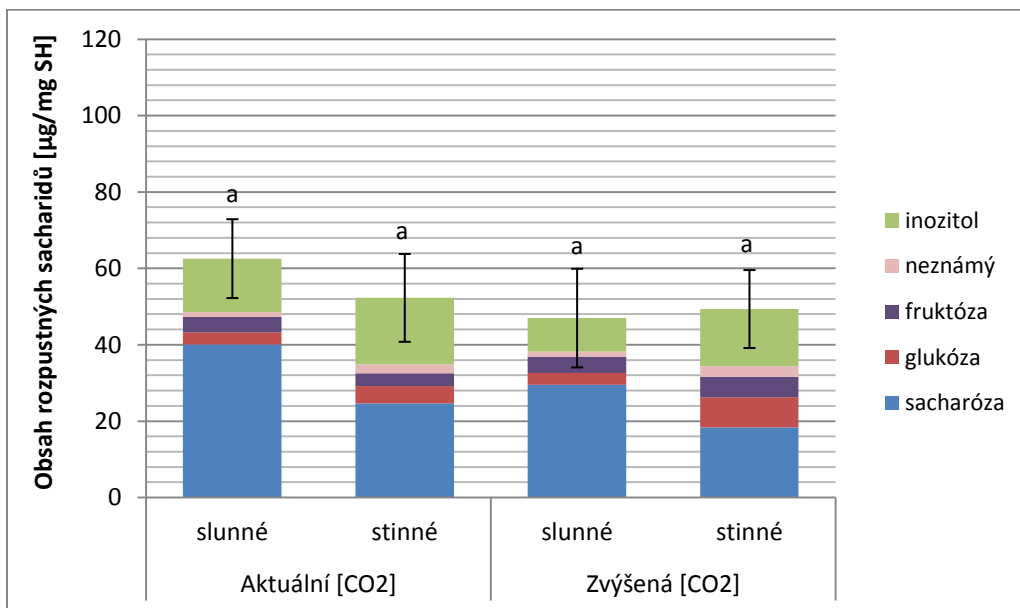
Ke konci růstové sezóny se u buku efekt $[\text{CO}_2]$ i ozáření na celkový obsah rozpustných sacharidů vytratil.

V obou $[\text{CO}_2]$ i částech růstové sezóny se vyskytovala výrazná vnitrodruhová variabilita, co se obsahu rozpustných sacharidů týče (Grafy 4.1.1.3 a 4.1.1.4). Odpověď některých jedinců se odlišovala od jiných, a to i pokud byla zjevná určitá reakce celého souboru jedinců. I v rámci jednoho jedince se vyskytovaly odlišnosti v obsahu rozpustných sacharidů ve slunných a stinných listech. U některých jedinců byl obsah rozpustných sacharidů vyšší ve slunných listech, u jiných jedinců naopak ve stinných a u některých jedinců se obsah rozpustných sacharidů mezi slunnými a stinnými listy nelišil.

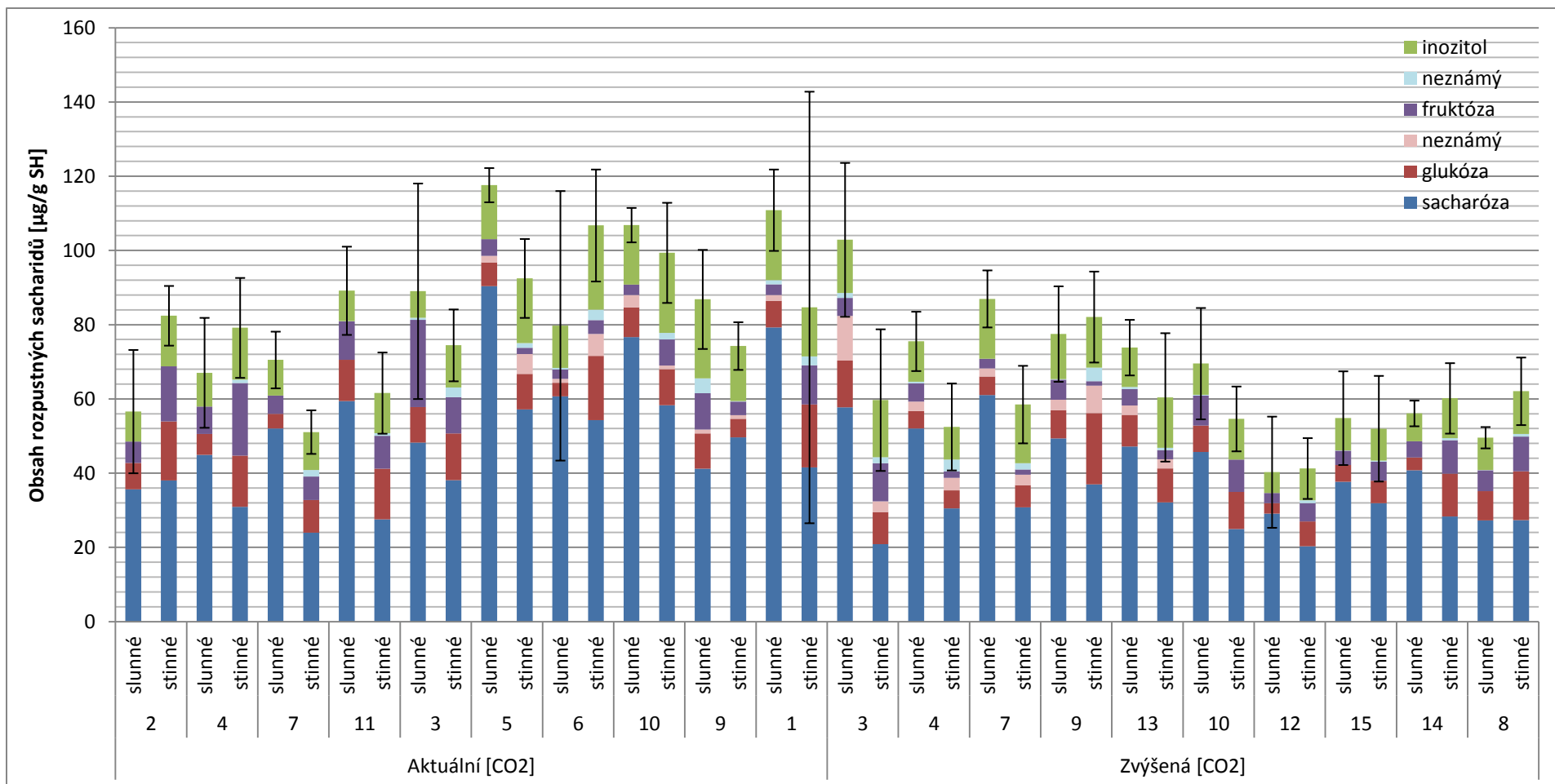
Výrazný byl především vliv ozáření na poměrné zastoupení jednotlivých sacharidů. V zastíněných listech buku byly více zastoupeny hexózy a inozitol. Poměr sacharózy vůči ostatním sacharidům se snížil (Graf 4.1.1.5). Vliv ozáření na poměrné zastoupení jednotlivých sacharidů ve spektru zůstal patrný i ke konci růstové sezóny (Graf 4.1.1.6). S postupem sezóny navíc došlo k navýšení obsahu inozitolu na úkor sacharózy.



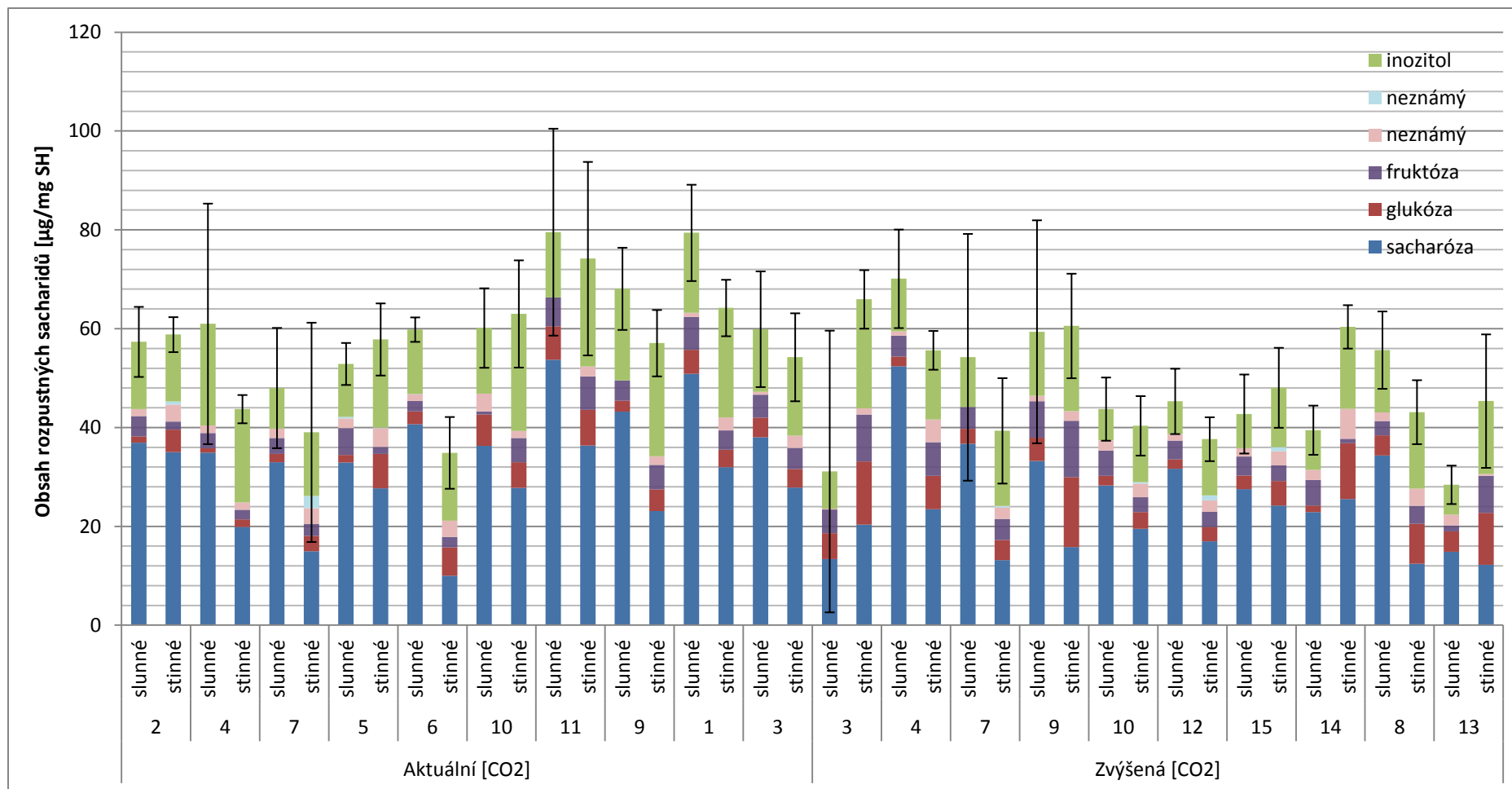
Graf 4.1.1.1: Obsah rozpustných sacharidů – buk, červen (n=60, $\alpha=0,05$). Chybové úsečky znázorňují směrodatnou odchylku. Rozdílná písmena nad sloupci označují statisticky významnou odchylku ($p<0,05$).



Graf 4.1.1.2: Obsah rozpustných sacharidů – buk, srpen (n=60, $\alpha=0,05$). Chybové úsečky znázorňují směrodatnou odchylku. Rozdílná písmena nad sloupci označují statisticky významnou odchylku ($p<0,05$).

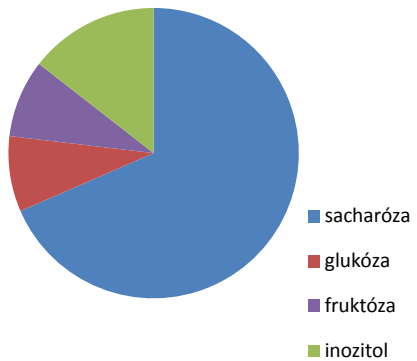


Graf 4.1.1.3: Obsah rozpustných sacharidů: vnitrodruhová variabilita – buk, červen (n=60, $\alpha=0,05$). Chybové úsečky znázorňují směrodatnou odchylku. Číslicemi u sloupců jsou označeni sledovaní jedinci.

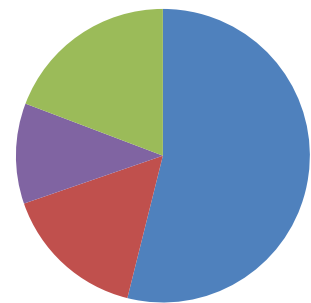


Graf 4.1.1.4: Obsah rozpustných sacharidů: vnitrodruhová variabilita – buk, srpen (n=60, $\alpha=0,05$). Chybové úsečky znázorňují směrodatnou odchylku. Číslicemi u sloupců jsou označeni sledovaní jedinci.

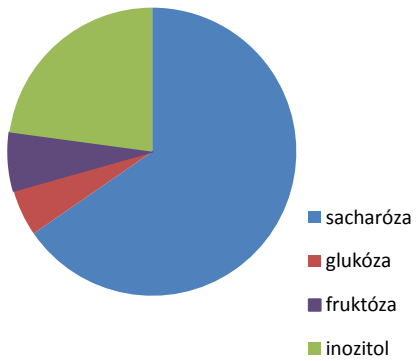
Aktuální [CO₂], slunné



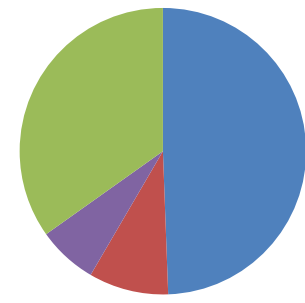
Aktuální [CO₂], stinné



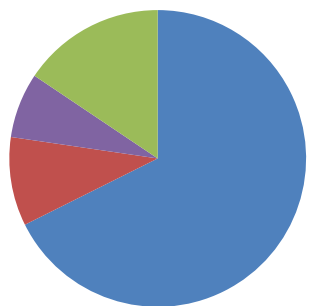
Aktuální [CO₂], slunné



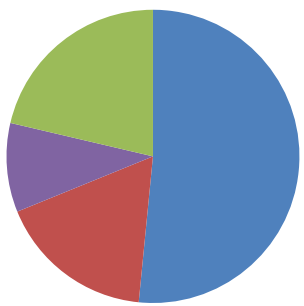
Aktuální [CO₂], stinné



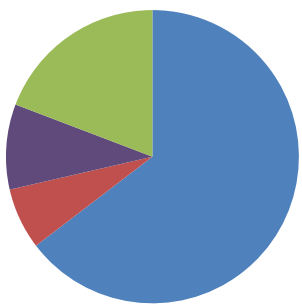
Zvýšená [CO₂], slunné



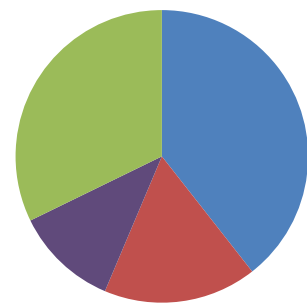
Zvýšená [CO₂], stinné



Zvýšená [CO₂], slunné



Zvýšená [CO₂], stinné



Graf 4.1.1.5: Poměrné zastoupení jednotlivých sacharidů ve spektru – buk, červen (n=60)

Graf 4.1.1.6: Poměrné zastoupení jednotlivých sacharidů ve spektru – buk, srpen (n=60)

4.1.2 Obsah rozpustných sacharidů v jehlicích smrku ztepilého

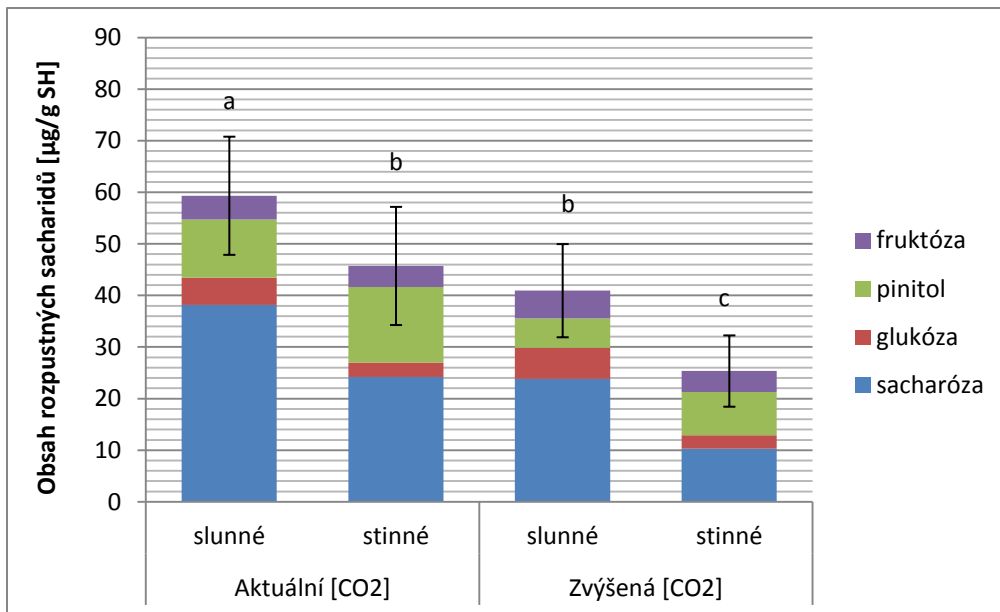
V jehlicích smrku byla v nejvyšším množství detekována sacharóza a dále fruktóza a glukóza a cukerný alkohol pinitol.

Také u smrku byl vliv $[\text{CO}_2]$ na celkový obsah rozpustných sacharidů pozorován pouze na začátku růstové sezóny. Za zvýšené $[\text{CO}_2]$ byl obsah rozpustných sacharidů nižší. Celkový obsah rozpustných sacharidů byl na začátku sezóny rovněž ovlivněn ozářeností. Zastíněné jehlice měly nižší obsah rozpustných sacharidů než slunné, nehledě na $[\text{CO}_2]$ (Graf 4.1.2.1).

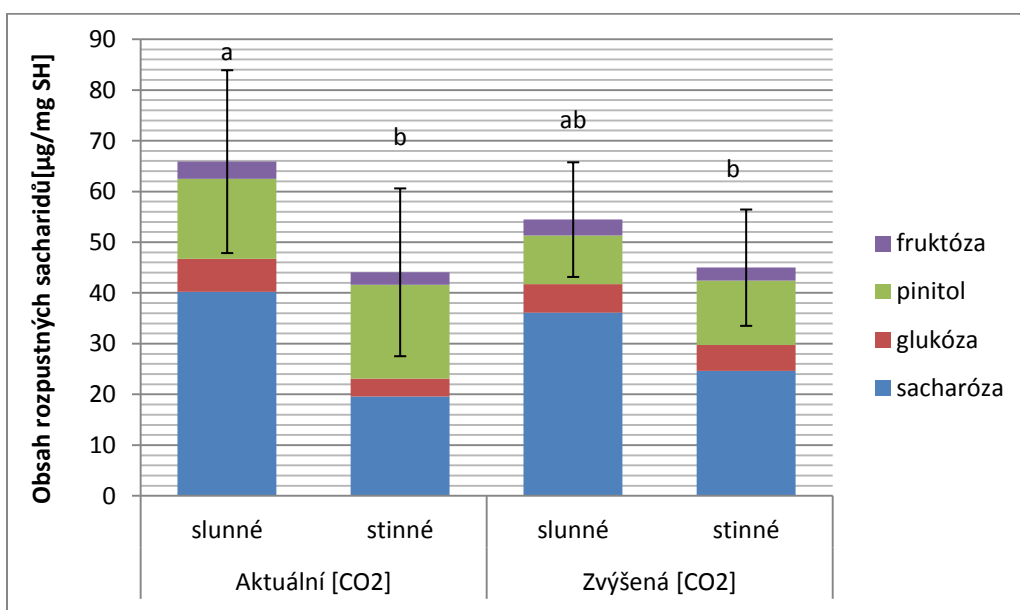
V jehlicích smrku byl vliv sezóny na obsah rozpustných sacharidů zaznamenán pouze na zvýšené $[\text{CO}_2]$ u zastíněných jehlic – v říjnu byl obsah rozpustných sacharidů vyšší, než v červenci – (Graf 4.1.2.2). Ke konci růstové sezóny nebyl efekt $[\text{CO}_2]$ patrný. Ozářenost měla vliv na obsah rozpustných sacharidů pouze za aktuální $[\text{CO}_2]$. Ve stinných jehlicích jedinců smrku rostoucích za aktuální $[\text{CO}_2]$ byl naměřen nižší obsah rozpustných sacharidů oproti stinným jehlicím (Graf 4.1.2.2).

V obou $[\text{CO}_2]$ částech růstové sezóny se vyskytovala výrazná vnitrodruhová variabilita v obsahu rozpustných sacharidů (Grafy 4.1.2.3, a 4.1.2.4). Odpověď některých jedinců se odlišovala od jiných, a to i pokud byla zjevná určitá reakce celého souboru jedinců. Při prvním odběru byl u všech sledovaných jedinců zjištěn nižší obsah rozpustných sacharidů ve stinných jehlicích než ve slunných. V materiálu z druhého, říjnového, odběru tomu tak nebylo. Někteří jedinci rostoucí za zvýšené $[\text{CO}_2]$ vykazovali stejný obsah rozpustných sacharidů ve slunných i stinných jehlicích. U ostatních jedinců ze zvýšené $[\text{CO}_2]$ byl obsah rozpustných sacharidů ve stinných jehlicích nižší než ve slunných, ale tyto rozdíly byly méně výrazné, než jaké vykazovali jedinci rostoucí za aktuální $[\text{CO}_2]$.

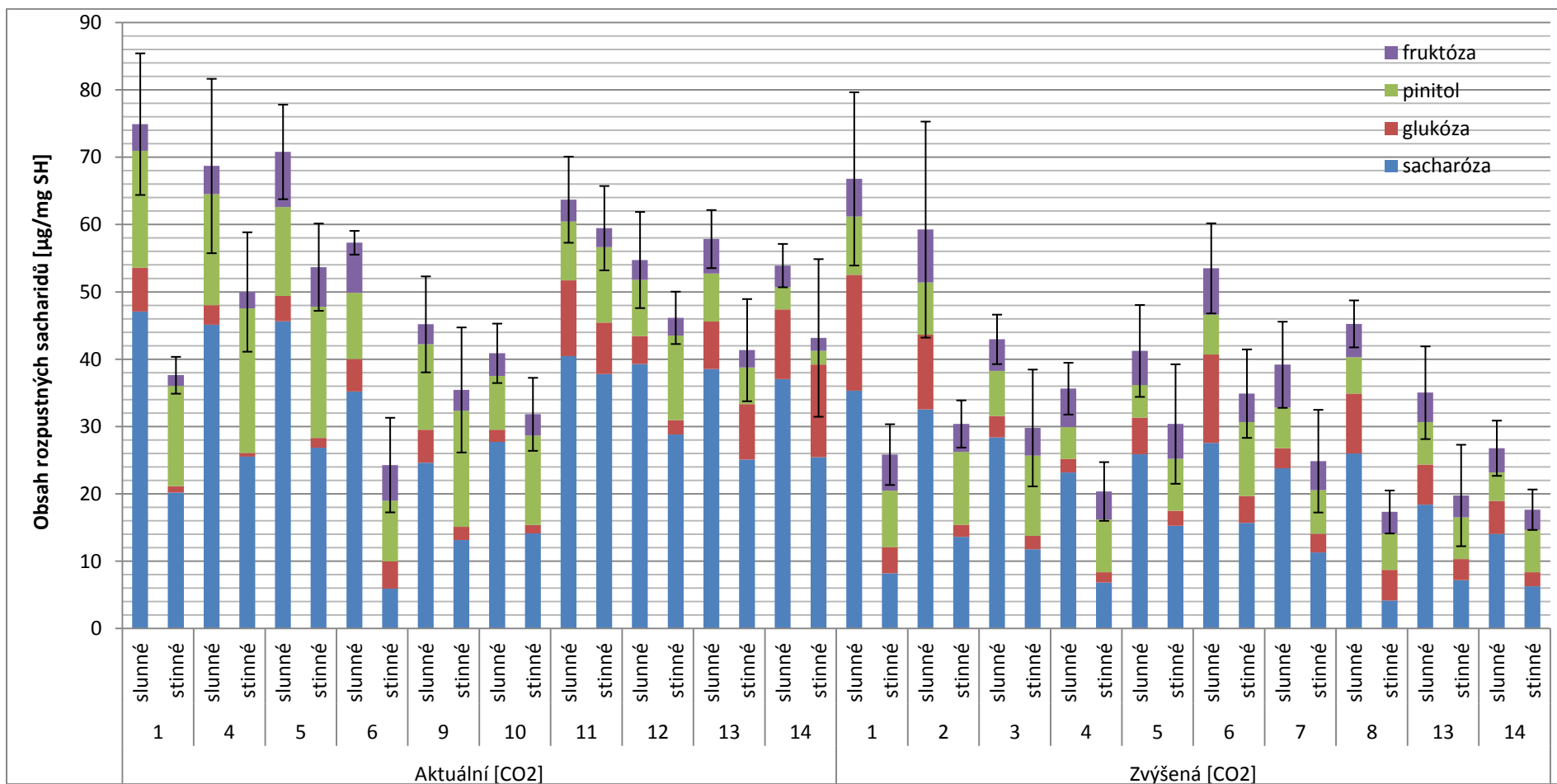
I zde byl pozorován výrazný vliv ozářenosti na poměrné zastoupení jednotlivých sacharidů. V zastíněných jehlicích smrku byly více zastoupeny hexózy a pinitol. Poměr sacharózy vůči ostatním sacharidům se snížil (Graf 4.1.2.5). Vliv ozářenosti na poměrné zastoupení jednotlivých sacharidů ve spektru zůstal patrný i ke konci růstové sezóny (Graf 4.1.2.6). S postupem sezóny navíc došlo k navýšení obsahu pinitolu na úkor sacharózy a fruktózy.



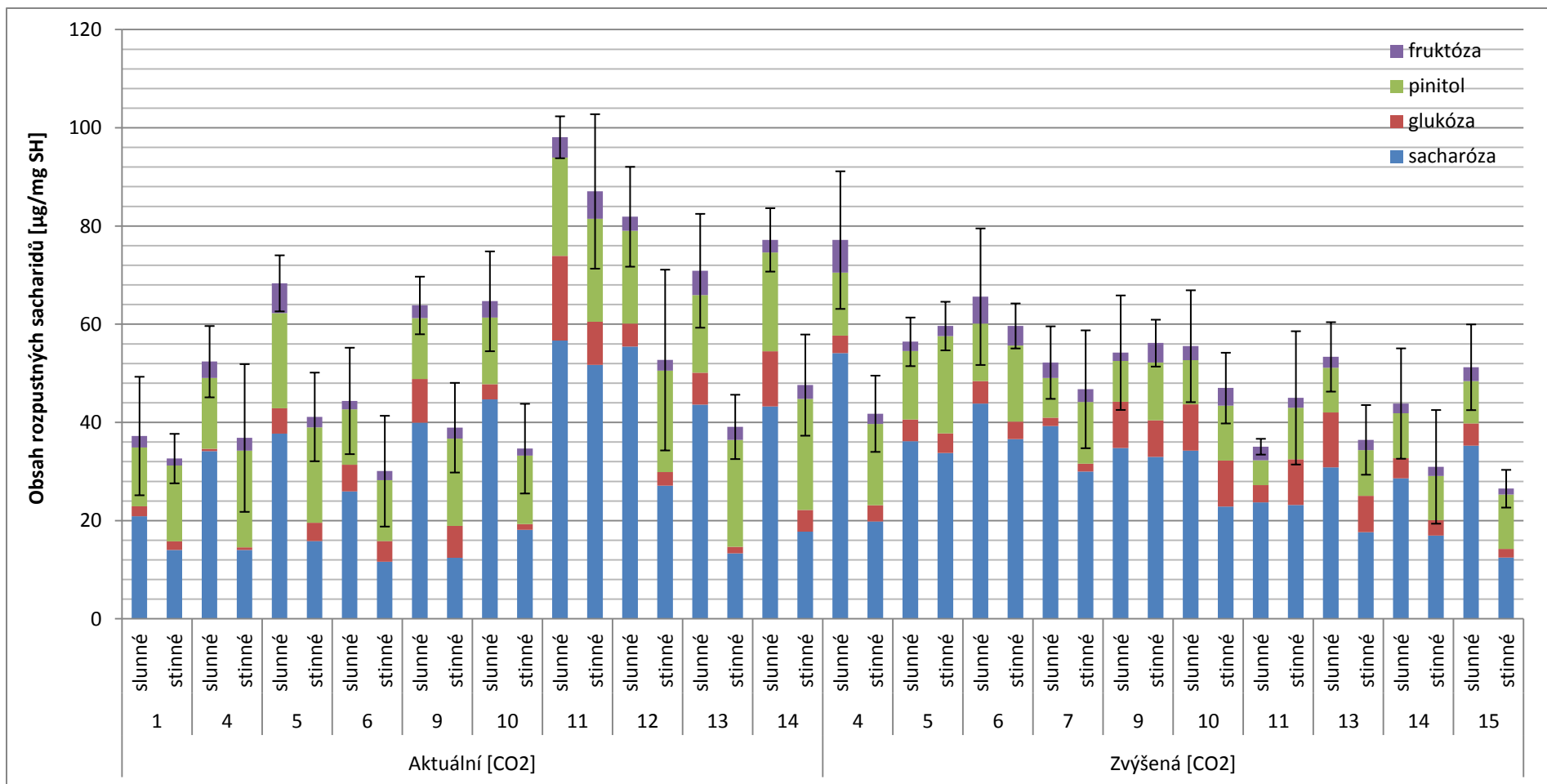
Graf 4.1.2.1: Obsah rozpustných sacharidů – smrk, červenec (n=60, $\alpha=0,05$). Chybové úsečky znázorňují směrodatnou odchylku. Rozdílná písmena nad sloupci označují statisticky významnou odchylku ($p < 0,05$).



Graf 4.1.2.2: Obsah rozpustných sacharidů – smrk, říjen (n=60, $\alpha=0,05$). Chybové úsečky znázorňují směrodatnou odchylku. Rozdílná písmena nad sloupci označují statisticky významnou odchylku ($p < 0,05$).

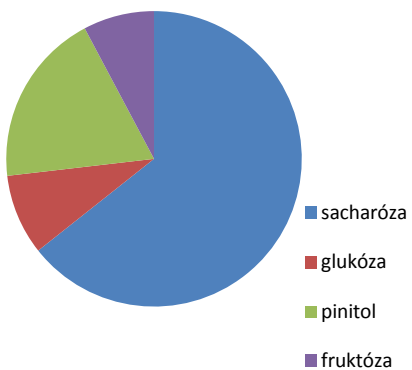


Graf 4.1.2.3: Obsah rozpustných sacharidů: vnitrodruhová variabilita – smrk, červenec (n=60, $\alpha=0,05$). Chybové úsečky znázorňují směrodatnou odchylku. Číslicemi u sloupců jsou označeni sledovaní jedinci.

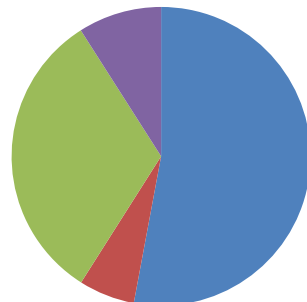


Graf 4.1.2.4: Obsah rozpustných sacharidů: vnitrodruhová variabilita – smrk, říjen (n=60, $\alpha=0,05$). Chybové úsečky znázorňují směrodatnou odchylku. Číslicemi u sloupců jsou označeni sledovaní jedinci.

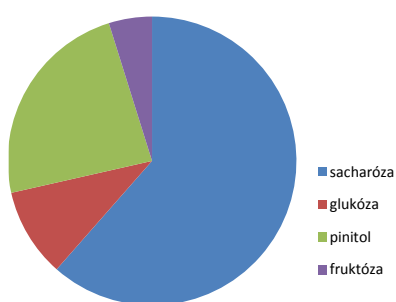
Aktuální [CO₂], slunné



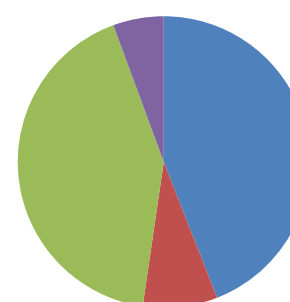
Aktuální [CO₂], stinné



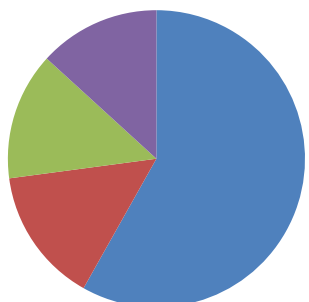
Aktuální [CO₂], slunné



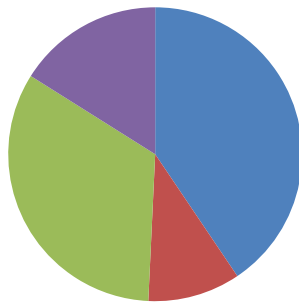
Aktuální [CO₂], stinné



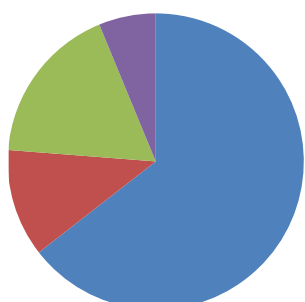
Zvýšená [CO₂], slunné



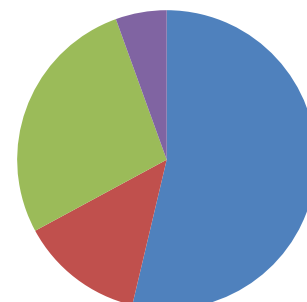
Zvýšená [CO₂], stinné



Zvýšená [CO₂], slunné



Zvýšená [CO₂], stinné



Graf 4.1.2.5: Poměrné zastoupení jednotlivých sacharidů ve spektru – smrk, červenec (n=60)

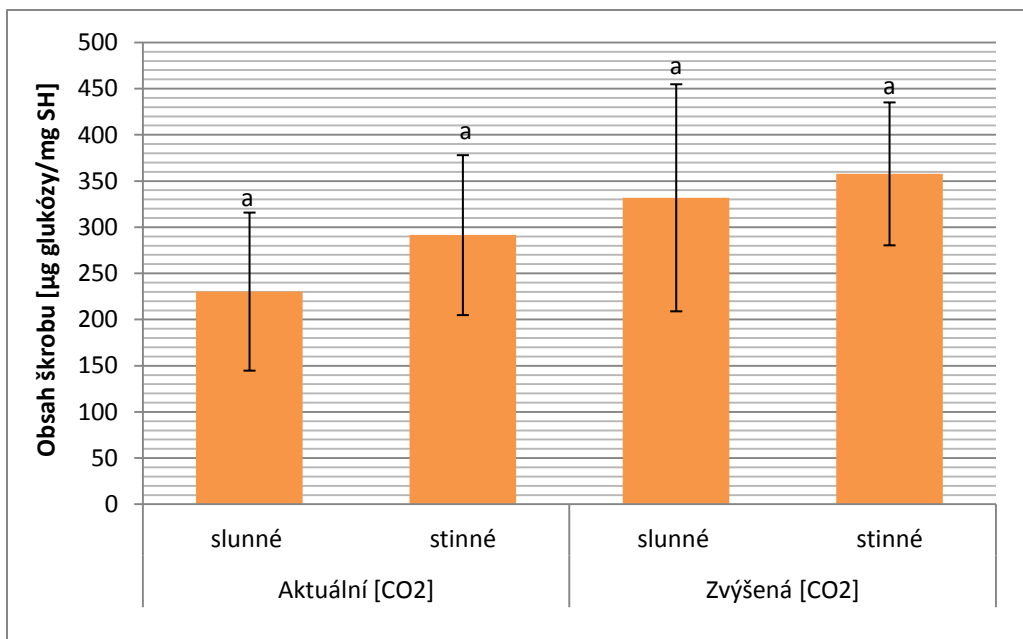
Graf 4.1.2.6: Poměrné zastoupení jednotlivých sacharidů ve spektru – smrk, říjen (n=60)

4.1.3 Obsah škrobu v listech buku lesího

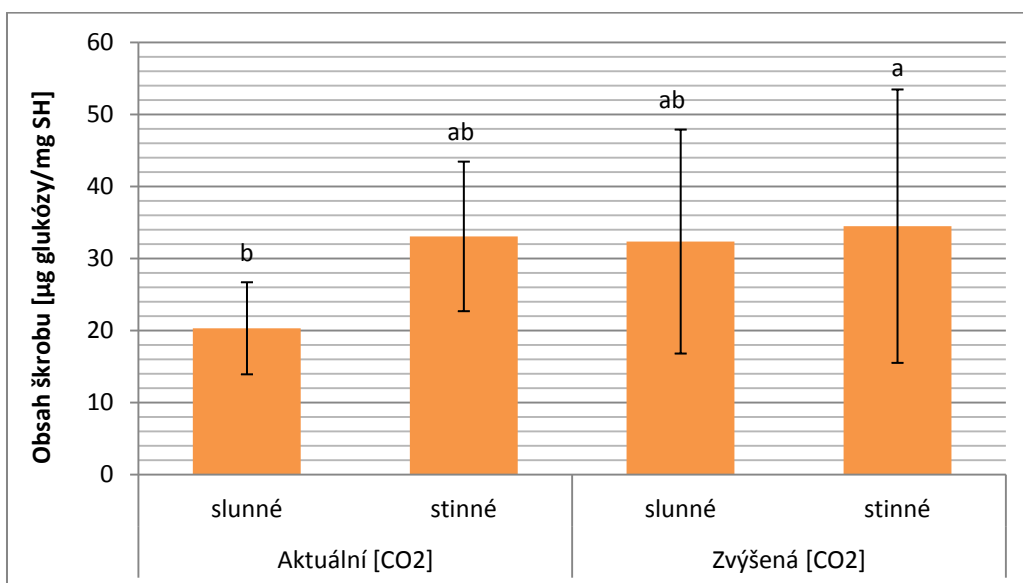
Obsah škrobu nebyl v listech buku na začátku růstové sezóny ovlivněn ani [CO₂] ani ozářeností (Graf 4.1.3.1).

Obsah škrobu v listech buku v červnu byl několikanásobně vyšší než v srpnu. Ani v srpnu však nebyl pozorován významný vliv [CO₂] ani ozářenosti na obsah škrobu (Graf 4.1.3.2)

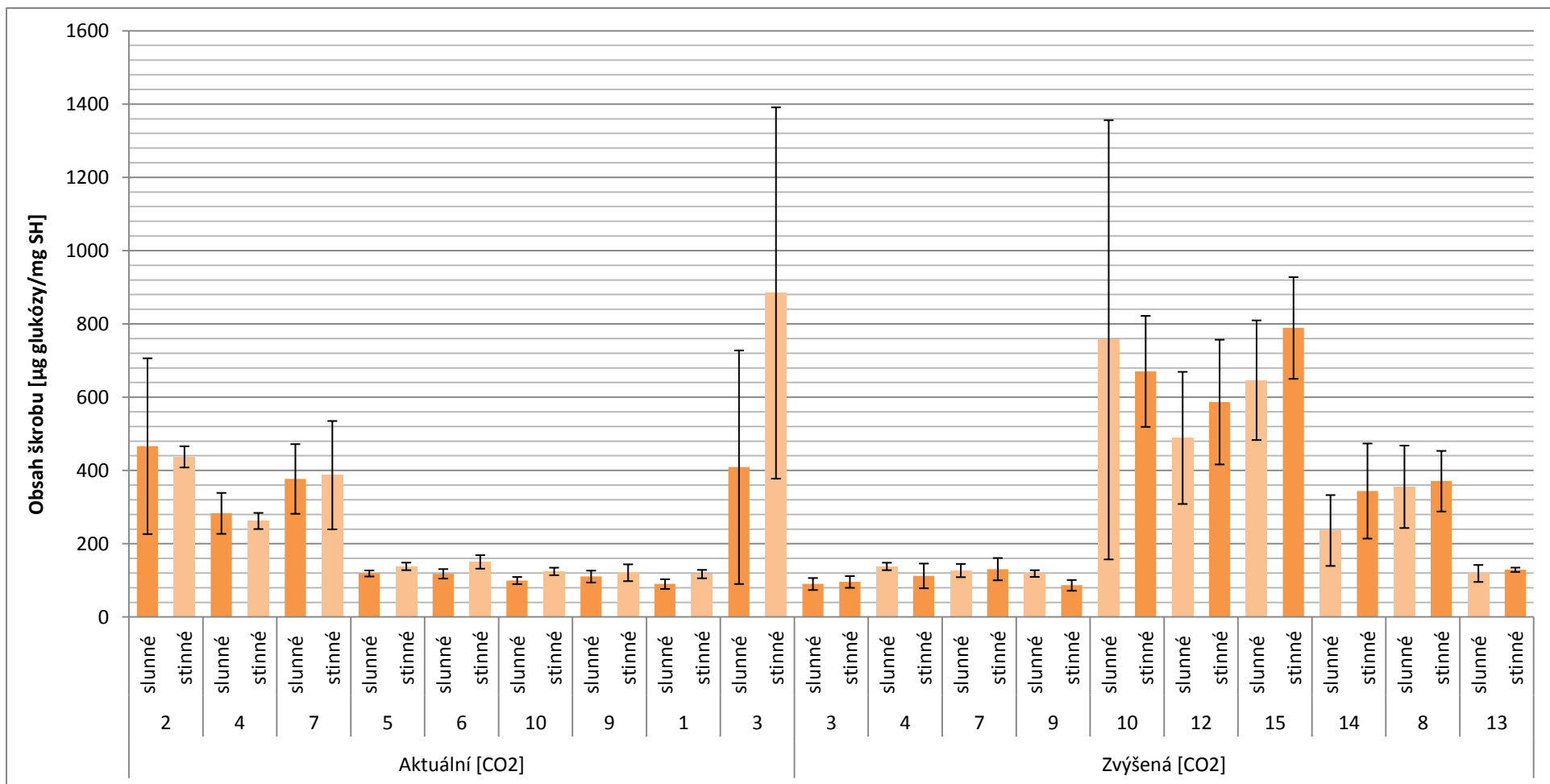
Podobně jako v případě obsahu rozpustných sacharidů byl i obsah škrobu odlišný u různých jedinců téhož druhu (Grafy 4.1.3.3 a 4.1.3.4). I v rámci jednoho jedince se vyskytovaly rozdíly v obsahu škrobu mezi slunnými a stinnými listy. Tyto rozdíly však nebyly u všech jedinců stejné. U některých jedinců byl obsah škrobu vyšší ve slunných listech, u jiných ve stinných. Výraznější rozdíly mezi jedinci byly pozorovány u materiálu z prvního ročníku. Výrazně vyšší obsah škrobu v listech odebraných v červnu oproti listům odebraných v srpnu byl způsoben hlavně příspěvkem čtyř jedinců rostoucích za aktuální [CO₂] a pěti rostoucích za zvýšené [CO₂].



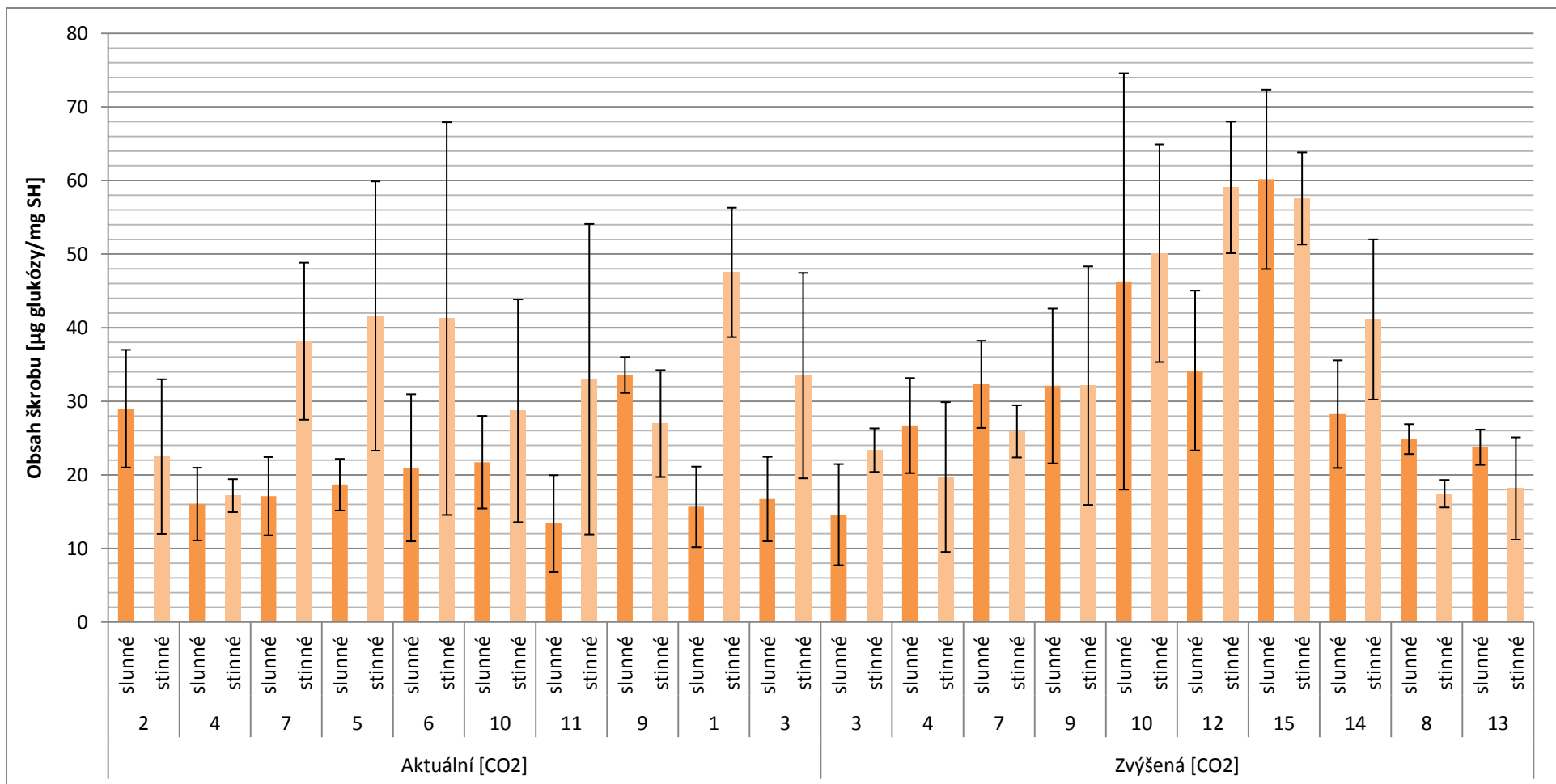
Graf 4.1.3.1: Obsah škrobu – buk, červen (n=6, $\alpha=0,05$). Chybové úsečky znázorňují směrodatnou odchylku. Rozdílná písmena nad sloupci označují statisticky významnou odchylku ($p<0,05$).



Graf 4.1.3.2: Obsah škrobu – buk, srpen (n=60, $\alpha=0,05$). Chybové úsečky znázorňují směrodatnou odchylku. Rozdílná písmena nad sloupci označují statisticky významnou odchylku ($p<0,05$).



Graf 4.1.3.3: Obsah škrobu: vnitrodruhová variabilita – buk, červen (n=6, $\alpha=0,05$). Chybové úsečky znázorňují směrodatnou odchylku. Chybové úsečky znázorňují směrodatnou odchylku. Číslicemi u sloupců jsou označeni sledovaní jedinci.



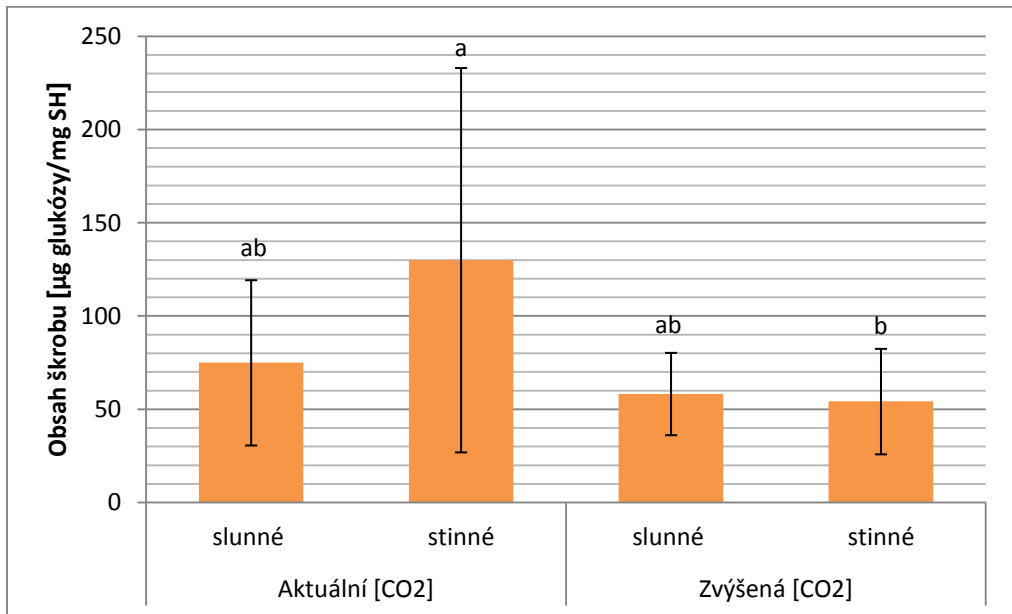
Graf 4.1.3.4: Obsah škrobu: vnitrodruhová variabilita – buk, srpen (n=60, $\alpha=0,05$). Chybové úsečky znázorňují směrodatnou odchylku. Číslicemi u sloupců jsou označeni sledování jedinci.

4.1.4 Obsah škrobu v jehlicích smrku ztepilého

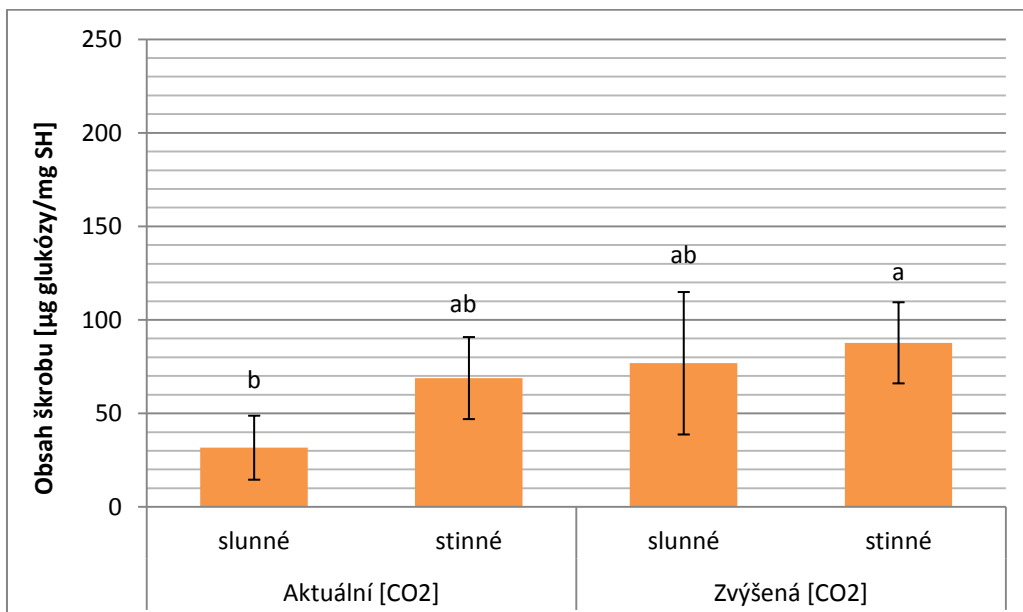
V jehlicích smrku byl efekt $[CO_2]$ na obsah škrobu pozorován pouze v červenci u jehlic ze zastíněných větví. Stinné jehlice jedinců rostoucích za aktuální $[CO_2]$ obsahovaly více škrobu než stinné jehlice jedinců rostoucích za zvýšené $[CO_2]$ (Graf 4.1.4. 1).

Vliv sezóny na obsah škrobu byl zaznamenán pouze u stinných jehlic za aktuální $[CO_2]$. V říjnu byl obsah škrobu téměř poloviční oproti červenci. V říjnu už pak nebyl pozorován vliv $[CO_2]$ ani ozáření na obsah škrobu v jehlicích (Graf 4.1.4.2).

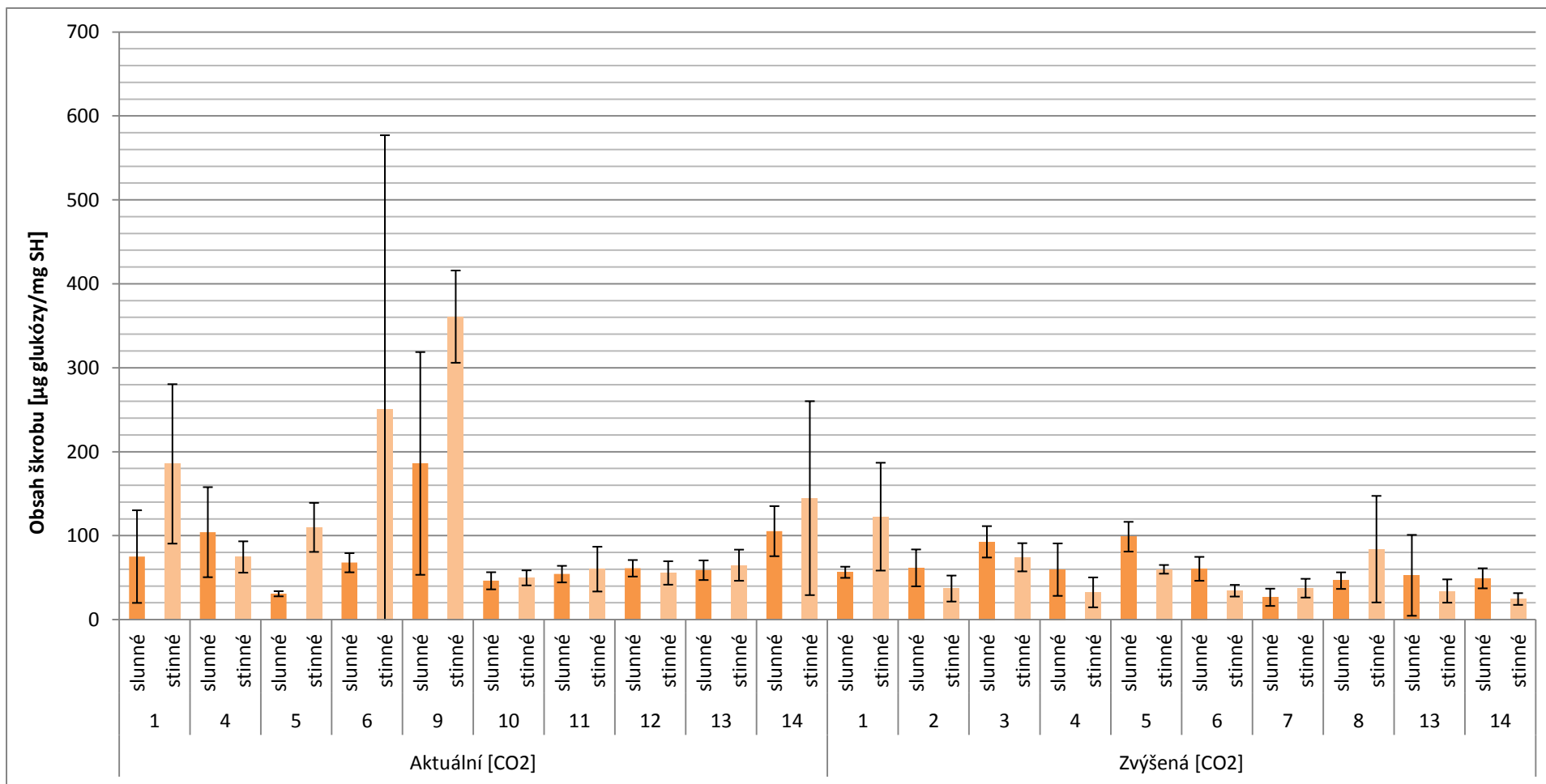
I zde byla zaznamenána výrazná vnitrodruhová variabilita v obou částech sezóny (Grafy 4.1.4.3 a 4.1.4.4). Odlišnosti v obsahu škrobu byly pozorovány i v rámci jednoho jedince v závislosti na ozáření. Avšak vliv ozáření na obsah škrobu v jehlicích nebyl vždy stejný. Při prvním odběru vykazovali výraznější vnitrodruhovou variabilitu v obsahu škrobu jedinci rostoucí za aktuální $[CO_2]$. Výrazně vyšší obsah škrobu ve stinných jehlicích z aktuální $[CO_2]$ oproti stinným jehlicím ze zvýšené $[CO_2]$ byl způsoben hlavně příspěvkem dvou jedinců (konkrétně jedinců označených čísly 6 a 9; Graf 4.1.4.3). Při druhém odběru už byla vnitrodruhová variabilita méně výrazná.



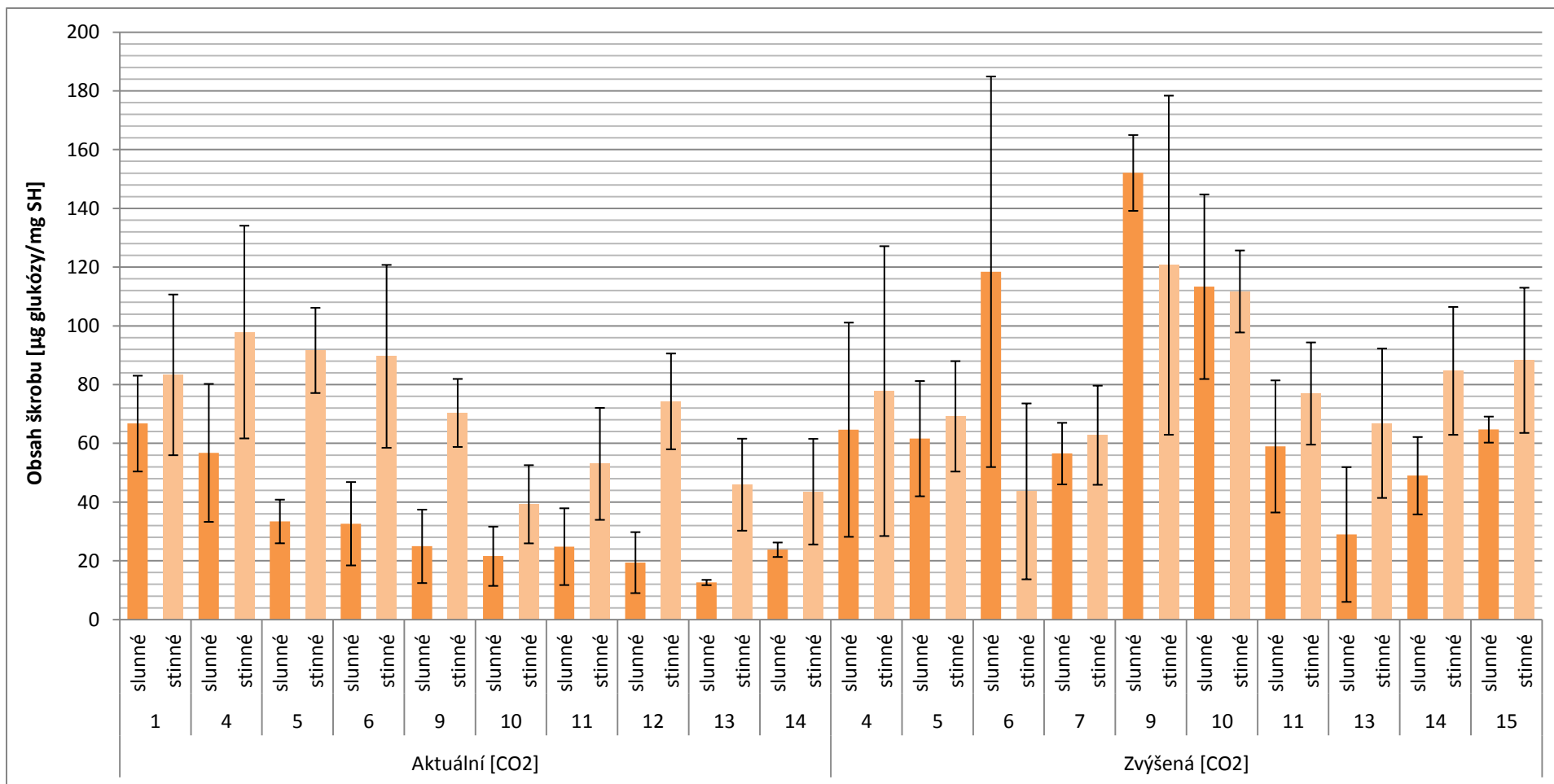
Graf 4.1.4.1: Obsah škrobu – smrk, červenec (n=60, $\alpha=0,05$). Chybové úsečky znázorňují směrodatnou odchylku. Rozdílná písmena nad sloupci označují statisticky významnou odchylku ($p<0,05$).



Graf 4.1.4.2: Obsah škrobu – smrk, říjen (n=60, $\alpha=0,05$). Chybové úsečky znázorňují směrodatnou odchylku. Rozdílná písmena nad sloupci označují statisticky významnou odchylku ($p<0,05$).



Graf 4.1.4.3: Obsah škrobu: vnitrodruhová variabilita – smrk, červenec (n=6, $\alpha=0,05$). Chybové úsečky znázorňují směrodatnou odchylku. Číslíčky u sloupců jsou označení sledování jedinci.



Graf 4.1.4.4: Obsah škrobu: vnitrodruhová variabilita – smrk, říjen (n=60, $\alpha=0,05$). Chybové úsečky znázorňují směrodatnou odchylku. Číslicemi u sloupců jsou označeni sledovaní jedinci.

Buk	Obsah rozpustných sacharidů		Obsah škrobu	
	p	Průkaznost	p	Průkaznost
[CO ₂]	0,000016	***	0,665085	n.s.
Ozářenost	0,084483	*	0,617842	n.s.
Sezóna	0,000000	***	0,000001	***
Ozářenost X [CO ₂]	0,671889	n.s.	0,661784	n.s.
Sezóna X [CO ₂]	0,089070	*	0,427736	n.s.

Tabulka 4.1: **Buk lesní:** Výsledky analýzy rozptylu Anova, Repeated measures. Hodnocení vlivu [CO₂], ozářenosti a sezóny a kombinace [CO₂] a ozářenosti a [CO₂] a sezóny na obsah rozpustných sacharidů a škrobu v listech buku lesního. Statisticky průkazný rozdíl je označen * při p<0,1; ** při p<0,05; *** při p<0,01; n.s. při nesignifikantním rozdílu.

Smrk	Obsah rozpustných sacharidů		Obsah škrobu	
	p	Průkaznost	p	Průkaznost
[CO ₂]	0,000354	***	0,334081	n.s.
Ozářenost	0,000001	***	0,016909	**
Sezóna	0,002273	***	0,088871	*
Ozářenost X [CO ₂]	0,576781	n.s.	0,039512	**
Sezóna X [CO ₂]	0,114783	n.s.	0,000352	***

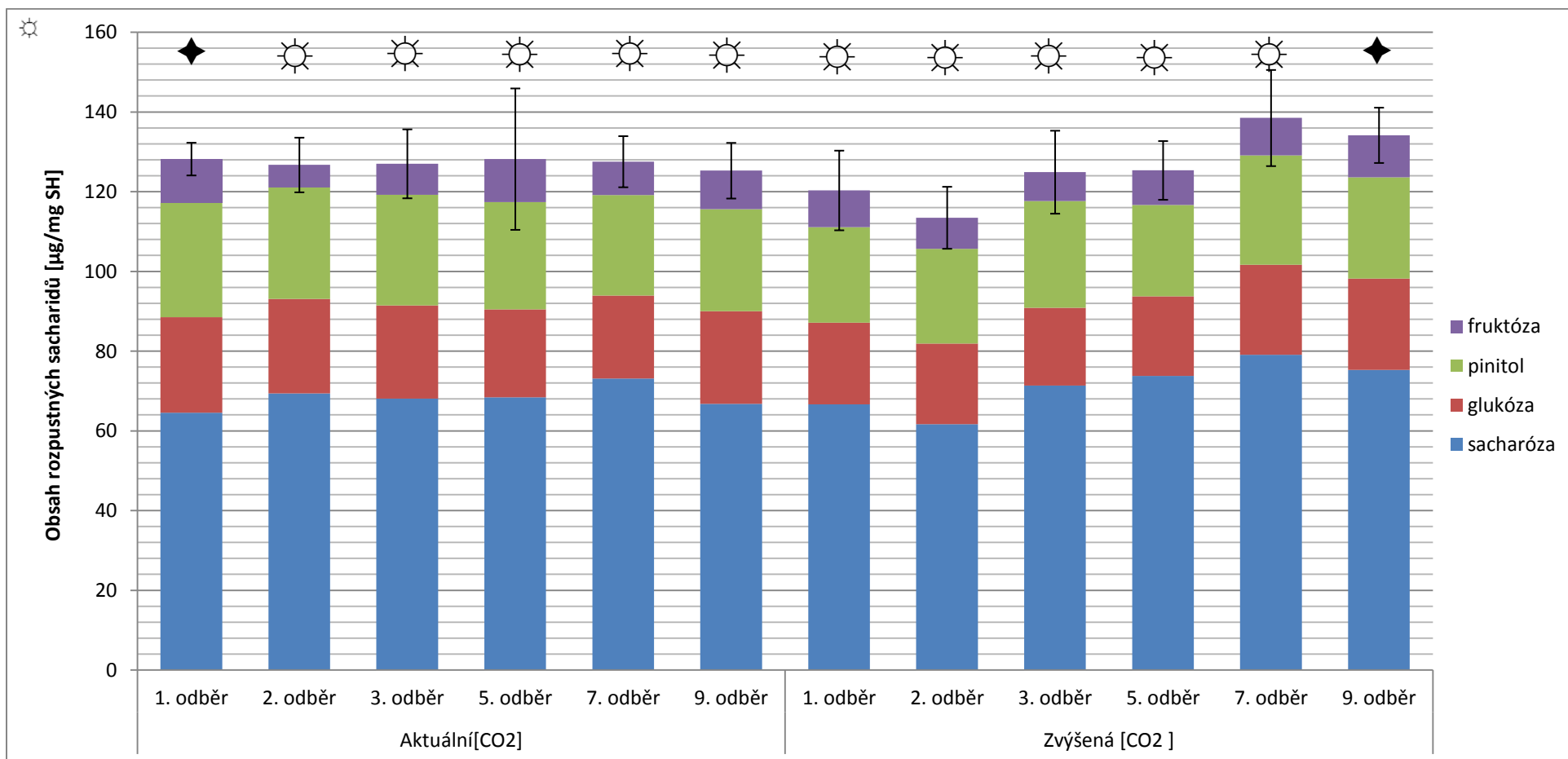
Tabulka 4.2: **Smrk ztepilý:** Výsledky analýzy rozptylu Anova, Repeated measures. Hodnocení vlivu [CO₂], ozářenosti a sezóny a kombinace [CO₂] a ozářenosti a [CO₂] a sezóny na obsah rozpustných sacharidů a škrobu v listech smrku ztepilého. Statisticky průkazný rozdíl je označen * při p<0,1; ** při p<0,05; *** při p<0,01; n.s. při nesignifikantním rozdílu.

4.2 Výsledky analýzy denní dynamiky obsahu nestrukturních sacharidů

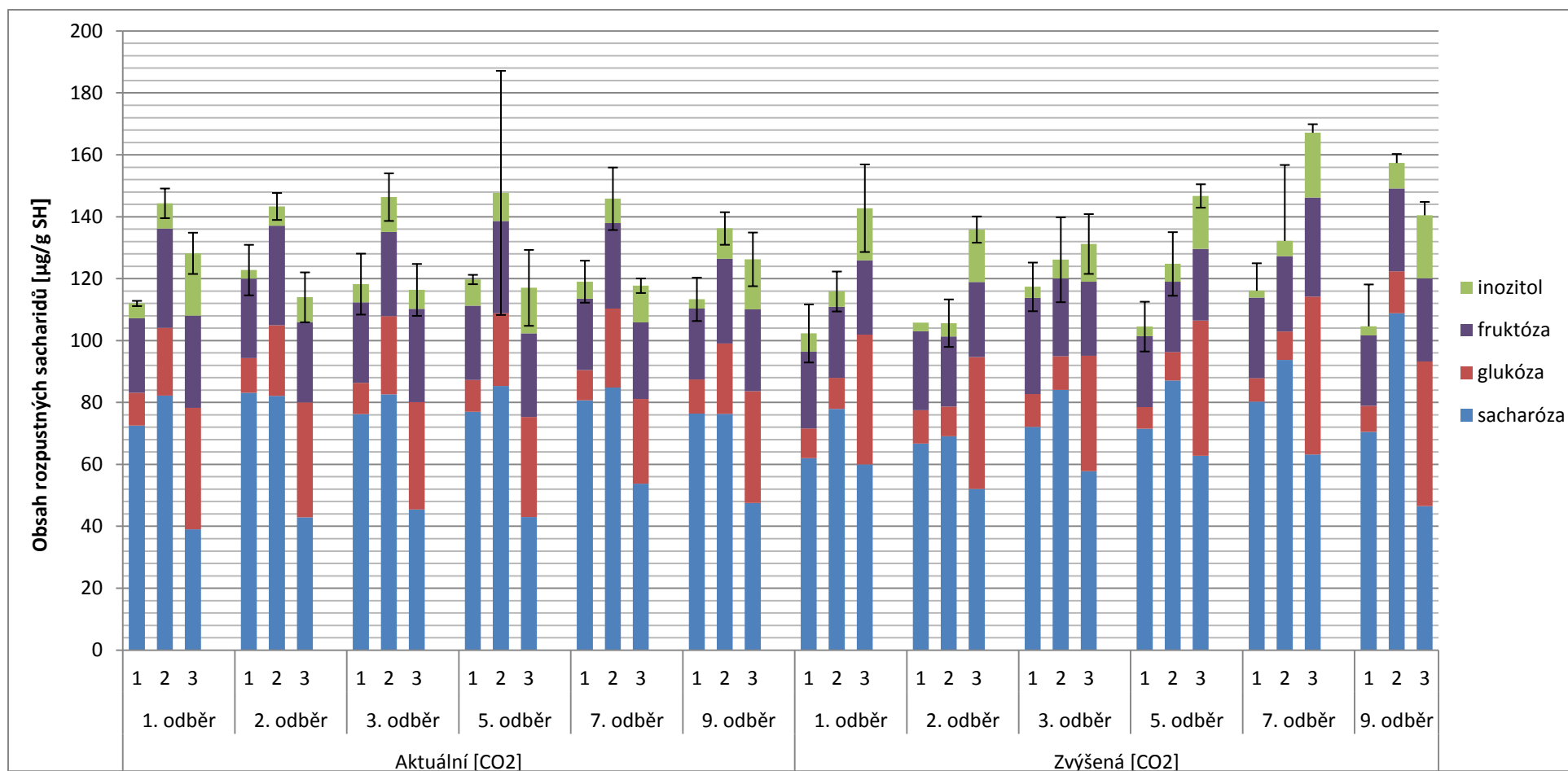
Obsah rozpustných sacharidů v jehlicích smrku nebyl ovlivněn časem odběru. Ani mezi aktuální a zvýšenou [CO₂] nebyly pozorovány statisticky průkazné rozdíly (Graf 4.2.1).

Obsah škrobu podléhal denní výrazným změnám pouze za aktuální [CO₂]. Na začátku dne byl zhruba poloviční oproti obsahu škrobu v jehlicích jedinců rostoucích za zvýšené [CO₂]. Postupně se zvyšoval a ve večerních hodinách (s výjimkou posledního odběru provedeného za tmy) dosáhl obdobných hodnot jako obsah škrobu za zvýšené [CO₂]. Za zvýšené koncentrace však ke změnám obsahu škrobu v jehlicích smrku v průběhu subjektivního dne nedocházelo (Graf 4.2.3). Mezi jednotlivými odběry nebyl zaznamenán žádný statisticky průkazný rozdíl. Statistická evaluace dat z analýzy denní dynamiky obsahu škrobu je znázorněná v Tabulce 4.2.1.

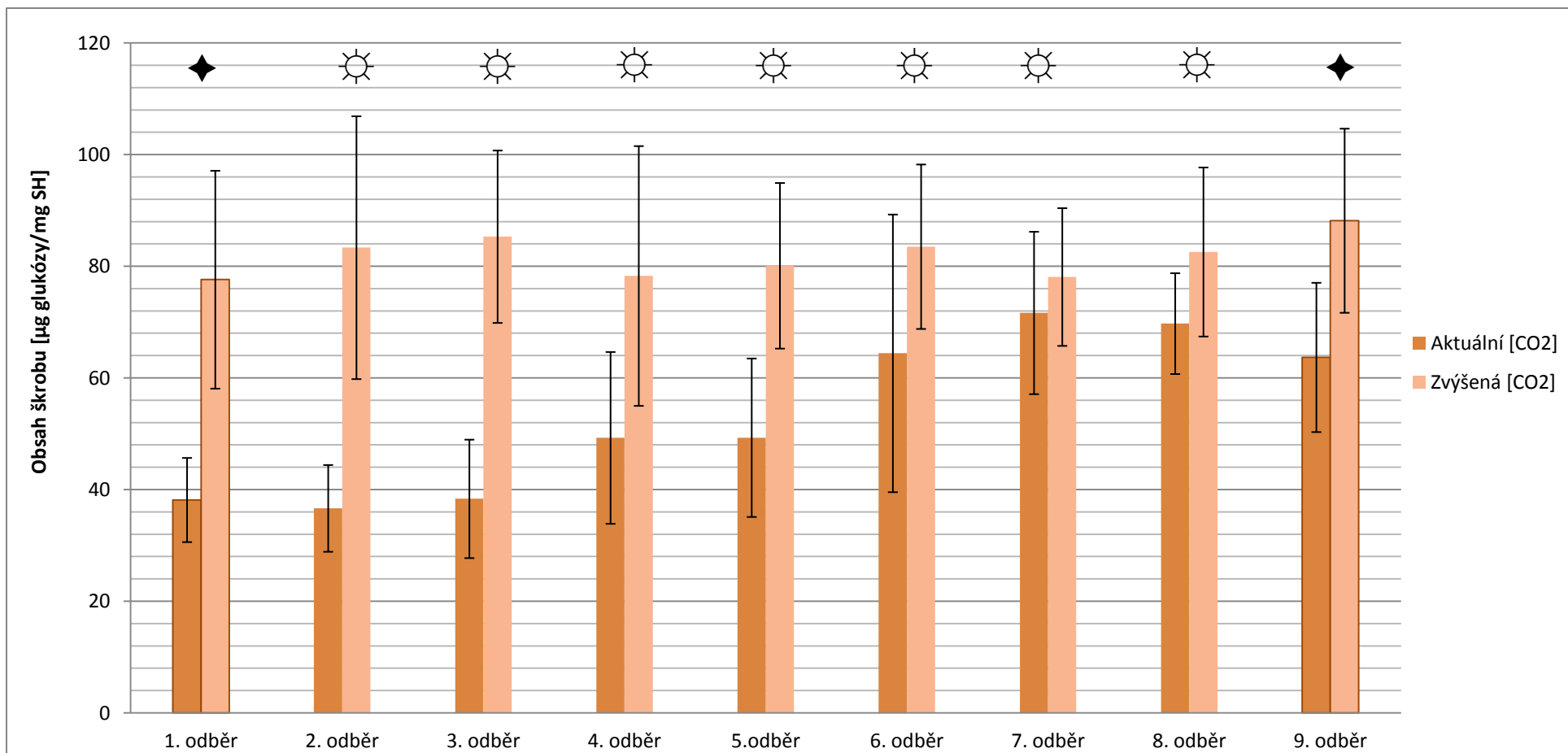
Rovněž zde byla zaznamenána určitá genotypová variabilita. Odlišnosti v obsahu rozpustných sacharidů (Graf 4.2.2) byly méně výrazné než odlišnosti v obsahu škrobu (Graf 4.2.4). Za aktuální [CO₂] byl však průběh denní dynamiky obsahu škrobu velmi podobný u všech tří stromků, přestože obsah škrobu v jehlicích jednotlivých jedinců v daném čase byl výrazně odlišný.



Graf 4.2.1: Denní dynamika obsahu rozpustných sacharidů – smrk, listopad 2014. Tmavé ohraničení vyznačuje odběry provedené během temnotní periody. Chybové úsečky znázorňují směrodatnou odchylku. Symboly nad sloupci označují světelnou (☀) a temnotní (◆) periodu.



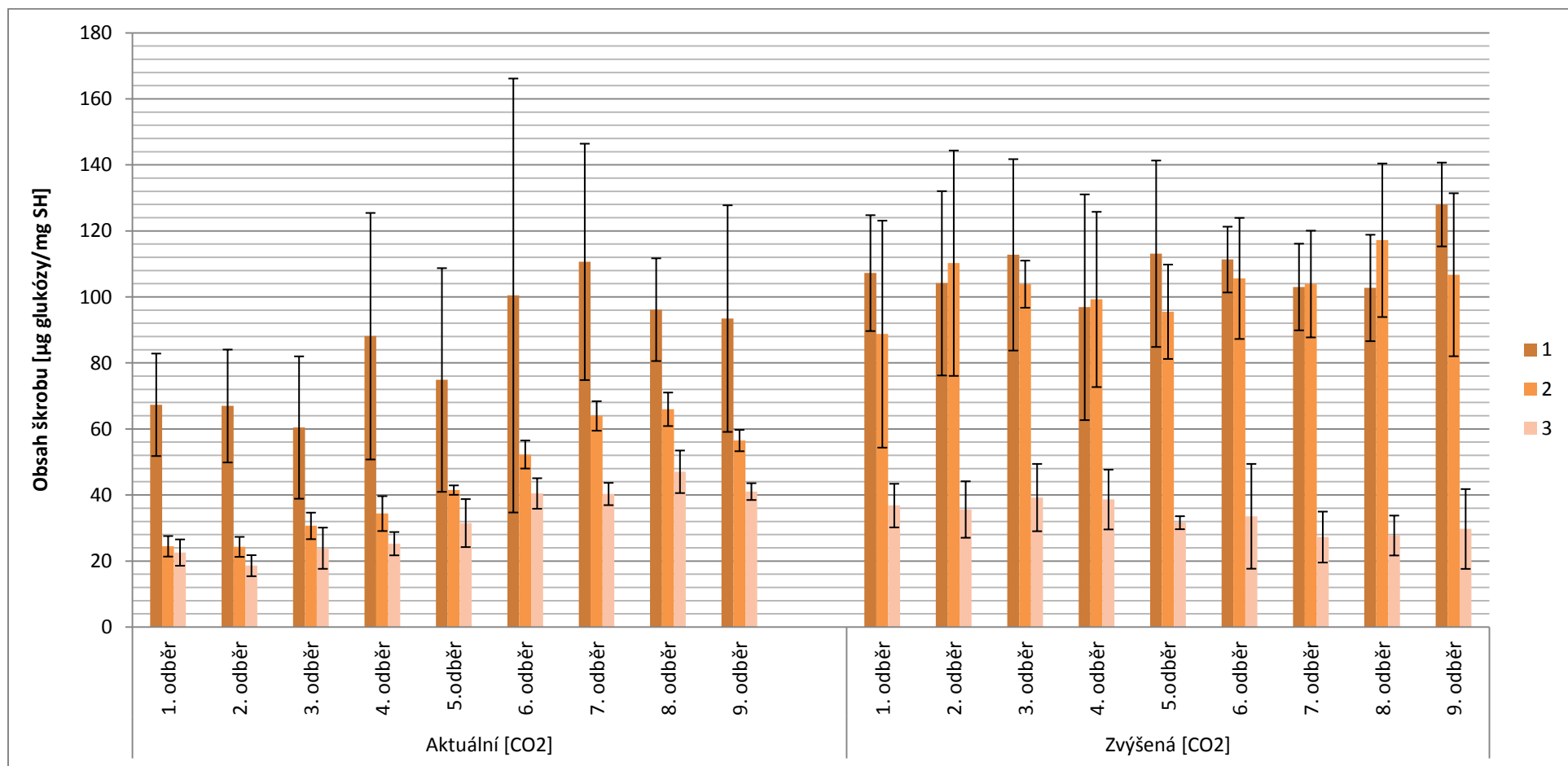
Graf 4.2.2: Denní dynamika obsahu rozpustných sacharidů: vnitrodruhová variabilita – smrk, listopad 2014. Chybové úsečky znázorňují směrodatnou odchylku. Číslicemi u sloupců (1,2,3) jsou označeni sledovaní jedinci.



Graf 4.2.3: Denní dynamika obsahu škrobu – smrk, listopad 2014. Chybové úsečky znázorňují směrodatnou odchylku. Rozdílná písmena nad sloupci označují statisticky významnou odchylku ($p < 0,05$). Symboly nad sloupci označují světelnou (☀) a temnotní (◆) periodu.

[CO ₂]	Odběr	Obsah škrobu	Liší se od
Aktuální [CO ₂]	1.	38,14	Aktuální [CO ₂] 6. - 9. odběr Zvýšená [CO ₂] 1. - 9. odběr
	2.	38,90	Aktuální [CO ₂] 6. - 9. odběr Zvýšená [CO ₂] 1. - 9. odběr
	3.	35,58	Aktuální [CO ₂] 4. a 6. - 9. odběr Zvýšená [CO ₂] 1. - 9. odběr
	4.	49,27	Aktuální [CO ₂] 3. a 6. - 9. odběr Zvýšená [CO ₂] 1. - 9. odběr
	5.	49,30	Aktuální [CO ₂] 6. - 8. odběr Zvýšená [CO ₂] 1. - 9. odběr
	6.	64,41	Aktuální [CO ₂] 1. - 5. odběr Zvýšená [CO ₂] 2., 3. a 9. odběr
	7.	71,65	Aktuální [CO ₂] 1. - 5. odběr
	8.	69,73	Aktuální [CO ₂] 1. - 5. odběr
	9.	63,68	Aktuální [CO ₂] 1. - 3. odběr Zvýšená [CO ₂] 2., 3., 6., 8. a 9. odběr
Zvýšená [CO ₂]	1.	77,60	Aktuální [CO ₂] 1. - 5. a 9. odběr
	2.	83,34	Aktuální [CO ₂] 1. - 6. a 9. odběr
	3.	85,30	Aktuální [CO ₂] 1. - 6. a 9. odběr
	4.	78,27	Aktuální [CO ₂] 1. - 5. odběr
	5.	80,10	Aktuální [CO ₂] 1. - 5. odběr
	6.	83,51	Aktuální [CO ₂] 1. - 5. a 9. odběr
	7.	78,09	Aktuální [CO ₂] 1. - 5. odběr
	8.	82,57	Aktuální [CO ₂] 1. - 5. a 9. odběr
	9.	88,17	Aktuální [CO ₂] 1. - 6. a 9. odběr

Tabulka 4.2.1: statistické vyhodnocení rozdílů v obsahu škrobu v jehlicích smrků rostoucích za aktuální a zvýšené [CO₂] v průběhu dne. Ve sloupci s názvem Obsah škrobu je uvedena průměrná hodnota ze všech tří stromků.



Graf 4.2..4: Denní dynamika obsahu škrobu: vnitrodruhová variabilita – smrk, listopad 2014. Chybové úsečky znázorňují směrodatnou odchylku. Odlišnými odstíny sloupců sloupců jsou označeni sledovaní jedinci.

5 Diskuze

Ovlivněním obsahu nestrukturních sacharidů v listech dřevin za zvýšené $[\text{CO}_2]$ se zabývá nemálo prací. Problémem však je, že mnoho z nich uvádí obsah nestrukturních sacharidů celkově bez rozlišení na jednotlivé rozpustné sacharidy a škrob (např. Bader et al. 2008), jiné se uvádí pouze obsah škrobu a další jen obsah rozpustných sacharidů (např. Wiemken a Ineichen 2000). Literatury zabývající se kombinací vlivu ozáření a $[\text{CO}_2]$ v ovzduší na obsah nestrukturních sacharidů v listech dřevin je poměrně málo. Mimo jiné proto, že velká část prací se zabývá semenáčky a velmi mladými stromky v nezapojeném porostu, kde mají všechny listy téměř stejný přístup ke světlu (např. Sallas et al. 2003, Bigras a Bertrand 2006, Eguchi et al. 2008). V našem případě šlo o zapojený porost juvenilních jedinců s diferenciací na slunné a stinné listy. Navíc se nejednalo o monokultury daných druhů, ale o smíšenou kulturu s ne zcela objasněnými kompetičními vztahy. Kromě studovaných buků a smrků ve sférách ve sférách rostl bylinný podrost. Výhodou našeho experimentálního systému je, že je velmi blízký reálné situaci. Další výhodou je, že se jedná o dlouhodobý experiment a lze tedy sledovat vývoj odpovědí na zvýšenou $[\text{CO}_2]$ v průběhu více růstových sezón, ačkoliv moje práce se zabývá pouze jednou vegetační sezonou. Stromy rostly za zvýšené $[\text{CO}_2]$ více než polovinu svého života (6 let v roce 2011) a bylo možné sledovat, jak se jejich reakce na zvýšenou $[\text{CO}_2]$ vyvíjela v průběhu let. Stromy v našem experimentu netrpěly deficiencí žádné z esenciálních minerálních živin (nepublikovaná data poskytnutá CVGZ).

Vzhledem k dostupné literatuře jsem očekávala, že za zvýšené $[\text{CO}_2]$ dojde ke zvýšení obsahu nestrukturních sacharidů v listech (hlavně škrobu) a efekt $[\text{CO}_2]$ na obsah nestrukturních sacharidů v listech bude výraznější v pozdější fázi růstové sezóny. Dále jsem předpokládala, že listy vystavené různé ozáření v rámci koruny se v obsahu nestrukturních sacharidů budou mezi sebou lišit a za zvýšené $[\text{CO}_2]$ dojde ke zmírnění těchto rozdílů v koruně. Očekávala jsem také, že efekt $[\text{CO}_2]$ bude patrný na reakci celého souboru studovaných jedinců i přes značnou genotypovou variabilitu sledovaného materiálu.

V diskuzi se budu nejprve zabývat rozpustnými sacharidy, jejich reakcí na zvýšenou $[\text{CO}_2]$ v ovzduší a rolí při aklimační depresi fotosyntézy. V další části bude diskutován obsah škrobu v listech, a jeho role jakožto krátkodobého uhlíkového sinku. V každé z těchto částí bude dále diskutován efekt ozáření, části růstové sezóny a možných dalších faktorů. Dále bude

diskutována odlišnost reakcí buku a smrku, jakožto zástupců dvou odlišných skupin – opadavých a stálezelených dřevin. V poslední části se budu zabývat denní dynamikou obsahu nestrukturních sacharidů v listech, která byla sledována na mladých jedincích smrku ztepilého krátkodobě vystavených zvýšené $[\text{CO}_2]$ v dodatečném plně kontrolovaném experimentu ve fytotronech.

V diskuzi se budu hojně odkazovat na práci Maškové et al. (v recenzním řízení), která je momentálně v recenzním řízení, zabývající se obsahem nestrukturních sacharidů v listech stromů z téhož experimentálního stanoviště, avšak o dva roky dříve a v jiné části růstové sezóny, než jsem sledovala já. Dále na konferenci v roce 2013 prezentovaly Konrádová et al. obsah nestrukturních sacharidů v listech buku v červnu z roku 2010 též ze stejného experimentu. V roce 2010 byl publikován článek Teslové et al., v němž byly prezentovány výsledky měření obsahu nestrukturních sacharidů ze vzorků stejného porostu odebraných v roce 2008. Tento článek se nezabývá vysvětlením rozdílů způsobených koncentrací CO_2 , jedná se o metodický článek prezentující možnost použití metody využívající anthronového činidla pro stanovení obsahu nestrukturních sacharidů v listech buku a jehlicích smrku. Kvůli odlišné metodice je porovnávání mých výsledků s výsledky Teslové et al. (2010) poněkud problematické, jelikož případné rozdíly ve výsledcích mohly být způsobeny odlišným způsobem odběru a zpracováním vzorků. Vzorky listů v práci Teslové et al. (2010) byly před umístěním do kapalného dusíku, v němž byly uchovávány do doby zpracování, vystaveny po 10 minut saturační ozáření $1000 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$. Dále je důležité podotknout, že v této práci byl obsah nestrukturních sacharidů vyjádřen na jednotku čerstvé hmotnosti, nikoli sušiny (Teslová et al. 2010). Vztažení obsahu sacharidů na jednotku sušiny a na jednotku čerstvé hmotnosti činí výsledky obtížně porovnatelnými, protože obsah vody v listech může být proměnlivý v závislosti na mnoha dalších faktorech. Obsah vody v listech může být ovlivněn i $[\text{CO}_2]$ (Asshoff and Hattenschwiler, 2006) Nabity et al. 2012).

5.1 Obsah rozpustných sacharidů v listech buku lesního a smrku ztepilého v dlouhodobém experimentu se zvýšenou [CO₂]

5.1.1. Změny v obsahu rozpustných sacharidů za zvýšené [CO₂] u buku lesního

V listech buku jsem za zvýšené [CO₂] očekávala navýšení obsahu rozpustných sacharidů oproti aktuální [CO₂]. Zvýšení obsahu rozpustných sacharidů v listech za zvýšené koncentrace CO₂ bylo pozorováno ve více případech, a to jak v krátkodobých tak i dlouhodobých experimentech. Například v listech buku lesního pozorovali nárůst obsahu rozpustných sacharidů Liu et al. (2005). Dále bylo pozorováno zvýšení obsahu rozpustných sacharidů v listech při růstu za zvýšené [CO₂] u dvou druhů bříz - *Betula platyphylla* var. *japonica* a *Betula pendula* (Quentin et al. 2015, Komatsu et al. 2013) a topolu *Populus deltoides* (Turnbull et al., 2004) a dvou druhů dubu *Quercus suber* (Vaz et al., 2012) a *Q. pubescens* (Stylinski et al., 2000).

Za zvýšené [CO₂] nedocházelo ke zvýšení obsahu rozpustných sacharidů v listech buku v žádné části sezóny ani ve slunných ani ve stinných listech. Na začátku růstové sezóny (červen) v roce 2011 byl obsah rozpustných sacharidů v listech buku rostoucích za zvýšené [CO₂] dokonce nižší, než u jedinců rostoucích za aktuální [CO₂].

U několika druhů topolů (*P. alba*, *P. nigra*, *P. x euramericana*) nebyly zaznamenány žádné statisticky průkazné rozdíly v obsahu rozpustných sacharidů v listech za zvýšené a aktuální [CO₂] (Davey et al. 2006). Tyto druhy patří mezi rychle rostoucí dřeviny, velké množství asimilovaného uhlíku dovedou v krátkém čase zakomponovat do dřevní biomasy. Navíc zde došlo k výraznému nárůstu obsahu škrobu v listech. Tudiž asimilovaný uhlík byl rychle uložen do sinků, díky čemuž nedošlo k aklimaci fotosyntézy. I snížení obsahu rozpustných sacharidů v listech za zvýšené [CO₂] bylo zaznamenáno, a to u *Betula platyphylla* (Eguchi et al. 2008). U tohoto druhu nedošlo ani ke zvýšení obsahu škrobu za zvýšené [CO₂]. Zároveň nebyla za zvýšené [CO₂] zvýšená asimilační rychlost, zato asimilační kapacita byla snížena. Došlo tedy k aklimační depresi fotosyntézy za zvýšené [CO₂]. Autoři přičítají aklimační depresi fotosyntézy změnám v distribuci dusíku mezi proteiny. V tomto případě došlo k výraznému poklesu obsahu enzymu Rubisco. Navíc břízy také patří mezi rychle rostoucí dřeviny, a tedy dovedou asimilovaný uhlík rychle zabudovat do dřevní biomasy (Eguchi et al. 2008). V jiné práci na semenáčcích tohoto druhu nebyl pozorován vliv [CO₂] na obsah rozpustných

sacharidů v listech. U těchto jedinců bylo pozorováno zvýšení obsahu škrobu v listech, také celková biomasa byla za zvýšené koncentrace vyšší. Aklimační deprese pozorována nebyla (Kitao et al. 2007). Zde je však potřeba dodat, že experiment Kitao et al. (2007) trval pouze dva měsíce, zatímco Eguchi et al. (2008) provedli svá měření až během druhé růstové sezóny, během níž rostly stromky za zvýšené [CO₂]. Snížení obsahu rozpustných sacharidů za zvýšené [CO₂] bylo pozorováno i v listech *Quercus ilex*, kde byla také pozorována aklimační deprese fotosyntézy (Aranda et al. 2006).

Reakce experimentálního porostu na Bílém Kříži na zvýšenou koncentraci [CO₂] byla podobná i v předchozích letech. (Teslova et al., 2010) uvádí, že v září roku 2008 (tedy po třech letech růstu za zvýšené [CO₂]) byl obsah nestruturních sacharidů ve slunných listech buku za zvýšené koncentrace [CO₂] vyšší. Avšak tento nárůst obsahu nestruturních sacharidů byl způsoben spíše nárůstem obsahu škrobu, než rozpustných sacharidů. V srpnu 2009 na stejném experimentálním stanovišti nebyla pozorována žádná reakce obsahu rozpustných sacharidů na [CO₂] v ovzduší (Mašková et al. v recenzním řízení). A rovněž (Konrádová et al., 2013) nepozorovaly za zvýšené [CO₂] změny v obsahu rozpustných sacharidů téhož experimentálního porostu v červnu roku 2010. Později v průběhu růstové sezóny 2011 (srpen) byl obsah sacharidů obecně nižší než na začátku, stále však bez zjevného vlivu [CO₂].

Podobně nebyla zaznamenána významná reakce obsahu nestruturních sacharidů (autoři bohužel nerozlišují rozpustné sacharidy a škrob) v listech tohoto druhu na zvýšení [CO₂] v ovzduší v dlouhodobém experimentu s dospělými jedinci buku a několika dalších druhů opadavých listnatých stromů mírného pásu. Obsah nestruturních sacharidů sice vykazoval určitý trend k nárůstu za zvýšené [CO₂], ale rozdíly nebyly statisticky průkazné (Bader et al. 2010, (Bignucolo and Korner, 2010). Avšak (Liu et al., 2004, Liu et al., 2005b) zaznamenali statisticky průkazné zvýšení obsahu rozpustných sacharidů v listech buku lesního. Experiment Liu et al. (2004, 2005) však byl krátkodobého charakteru a sledování jedinci buku byli pouze 3-4 roky staří.

Obsah rozpustných sacharidů v listech bývá dáván do souvislosti s aklimační depresí fotosyntézy za zvýšené [CO₂]. V našem případě aklimační deprese u buku pozorována byla u některých fotosyntetických parametrů. Došlo ke snížení asimilační kapacity (A_{sat}) (Albrechtová et al. 2014). Rychlost asimilace při růstové [CO₂] (A_{growth}) byla stimulována

zvýšenou [CO₂] pouze u slunných listů na podzim. Na jaře nebyly pozorovány výrazné rozdíly mezi A_{growth} za aktuální a zvýšené [CO₂], stejně tak i na podzim u stinných listů. I vzhledem k těmto faktům jsem očekávala za zvýšené [CO₂] navýšení obsahu rozpustných sacharidů v listech buku za zvýšené [CO₂]. Což se ale nepotvrdilo. Na celkový obsah rozpustných sacharidů neměla výrazný vliv ani ozáření, kromě jara roku 2011, kdy byl obsah rozpustných sacharidů ve stinných listech nižší.

Celkový obsah rozpustných sacharidů v průběhu růstové sezóny mírně poklesl, avšak trend nebyl statisticky průkazný. S postupem sezóny však došlo ke zvýšení zastoupení inozitolu ve spektru

V materiálu z Bílého Kříže byla zaznamenána výrazná vnitrodruhová variabilita. Obsah rozpustných sacharidů se u některých jedinců lišil i mezi slunnými a stinnými listy. Vliv ozáření na obsah rozpustných sacharidů nebyl u všech jedinců stejný.

5.1.1.1 Zastoupení sacharidů ve spektru

V listech buku nedošlo vlivem [CO₂] ke změnám v zastoupení jednotlivých sacharidů ve spektru. Literatury zabývající se posuny v sacharidovém spektru za zvýšené [CO₂] je velmi málo, přičemž žádná se nezabývala touto problematikou u buku lesního. Listnatou dřevinou se zabývali Cseke et al. (2009), kteří v listech *Populus tremuloides* pozorovali vliv [CO₂] na obsah jednotlivých sacharidů v listech, který byl navíc proměnlivý v průběhu sezóny a odlišoval se u dvou genotypů tohoto druhu, které se vyznačují odlišnou růstovou odpovědí na zvýšení [CO₂] v ovzduší. Na začátku sezóny byl za zvýšené [CO₂] pozorován nárůst obsahu glukózy u genotypu s nevýraznou reakcí růstu na zvýšení [CO₂] v ovzduší a pokles obsahu sacharózy u genotypu vykazujícího výraznou stimulaci růstu za zvýšené [CO₂]. Glukóza u rychleji rostoucího a sacharóza u nereagujícího genotypu ovlivněny nebyly. Později v průběhu sezóny došlo u obou genotypů za zvýšené [CO₂] k nárůstu jak obsahu glukózy, tak i sacharózy. Obsah fruktózy byl za zvýšené [CO₂] vyšší u obou genotypů v obou sledovaných úsecích růstové sezóny (Cseke et al. 2009). V materiálu z experimentálního porostu na Bílém Kříži jsem pozorovala výraznou variabilitu mezi jedinci. Není vyloučeno, že by určitý genotyp reagoval podobně. Protože se ale na Bílém Kříži nejedná o klonální materiál, nebylo možné tuto možnost ověřit.

Výrazný vliv měla ozářenost na poměr jednotlivých sacharidů ve spektru. V zastíněných listech byl snížen obsah sacharózy ve prospěch inozitolu a hexóz. Posuny v sacharidovém spektru danými ozářenostmi se zabývá jen velmi málo prací. Nešetkala jsem se s žádnou, která by se zabývala touto problematikou u buku lesního. V listech dřeviny rodu *Illicium* však ozářenost neměla vliv na obsah sacharózy v listech (Griffin et al. 2004). *Illicium* je spíše stínomilná dřevina. Za zvýšené [CO₂] byl trend ke snížení obsahu inozitolu, který ale nebyl statisticky průkazný.

5.1.2 Změny v obsahu rozpustných sacharidů za zvýšené [CO₂] u smrku ztepilého

Ani u smrku jsem nepozorovala žádné navýšení obsahu rozpustných sacharidů za zvýšené [CO₂] v roce 2011. Dokonce byl na jaře, obdobně jako u buku, jejich obsah v jehlicích za zvýšené [CO₂] nižší. Později v průběhu růstové sezóny už nebyl tento rozdíl tolik patrný. Podobná situace byla u studovaného porostu zaznamenána v srpnu 2009, kdy obsah rozpustných sacharidů nebyl ovlivněn [CO₂] v ovzduší (Mašková et al. v recenzním řízení).

Mé výsledky a výsledky Maškové et al. (v recenzním řízení) jsou do určité míry v souladu s prací Wiemken a Ineichen (2000) na stejném druhu, avšak u druhých ročníků jehlic, kde rovněž nebyly během produktivní části sezóny zjevně ovlivněny rozpustné sacharidy [CO₂]. Od pozdního léta byl však patrný nárůst obsahu glukózy, což dávají autoři do souvislosti s aklimací fotosyntézy (Wiemken a Ineichen 2000). Nárůst obsahu glukózy za zvýšené [CO₂] u tohoto druhu uvádí i (Barnes et al. 1995, Roberntz and Stockfors 1998) a u *Pinus sylvestris* (Jach and Ceulemans, 2000a). I v těchto případech zůstal celkový obsah rozpustných sacharidů neovlivněn [CO₂], kromě práce a Roberntz a Stockfolz 1998, kdy došlo k navýšení i celkového obsahu rozpustných sacharidů. Navýšení celkového obsahu rozpustných sacharidů bylo pozorováno i u *P. sylvestris* (Zha et al., 2001) v déle trvajícím experimentu se staršími jedinci než Jach a Ceulemans (2000a). Avšak v případě mnou sledovaných smrků k navýšení obsahu glukózy za zvýšené [CO₂] nedošlo ani na začátku ani později v průběhu růstové sezóny 2011. Rovněž v roce 2009 Mašková et al. neuvádí u téhož materiálu zvýšení obsahu glukózy za zvýšené [CO₂].

Asimilační rychlost v růstové $[CO_2]$ (A_{growth}) byla v roce 2011 u jehlic smrků rostoucích ve sférách na Bílém Kříži za zvýšené $[CO_2]$ navýšena. Asimilační kapacita (A_{sat}) však navýšena nebyla. V říjnu byla dokonce A_{sat} u slunných jehlic za zvýšené $[CO_2]$ snížena, došlo tedy k určité aklimační depresi fotosyntézy (Albrechtová et al. 2014). Avšak tato aklimační deprese fotosyntézy za zvýšené $[CO_2]$ nebyla doprovázena současným zvýšením obsahu rozpustných sacharidů v jehlicích, jak jsem zjistila analýzou obsahu nestrukturních sacharidů pomocí HPLC. Podobná situace byla pozorována i v jiném experimentu na *Pinus radiata* rostoucí čtvrtým rokem za zvýšené $[CO_2]$. Také nedošlo ke zvýšení obsahu rozpustných sacharidů v jehlicích, přesto byla pozorována aklimační deprese fotosyntézy (Turnbull et al. 1998, Griffin et al. 2000).

Je důležité upozornit na to, že se ve výše zmíněné práci Wiemken a Ineichen (2000) zabývali druhými ročníky jehlic, zatímco v této práci jsem sledovala pouze první ročníky. Teslová et al. (2010) uvádí, že v září 2008 byl obsah nestrukturních sacharidů v jehlicích druhého ročníku na stejném experimentálním místě za zvýšené $[CO_2]$ vyšší a tento nárůst byl do velké míry dán zvýšením obsahu rozpustných sacharidů. Avšak neuvádí obsah konkrétních rozpustných sacharidů. Také zde není porovnání reakce druhých a prvních ročníků jehlic (Teslová et al. 2010). V roce 2009 byl v jehlicích prvního ročníku naměřen nižší obsah škrobu než v jehlicích druhého ročníku. Za zvýšené $[CO_2]$ došlo k nárůstu obsahu škrobu u obou ročníků, přičemž tento nárůst byl u obou ročníků srovnatelný (Mašková et al. v rec. ř.)

V dalším dlouhodobém experimentu na *Pinus taeda* rostoucí za podmínek výrazné limitace dusíkem byl v jehlicích druhého ročníku zaznamenán nárůst obsahu rozpustných sacharidů (a snížení obsahu dusíku). Tito jedinci také vykazovali známky aklimační deprese fotosyntézy, která začala být patrná po dvou letech experimentu (Rogers a Ellsworth 2002) a přetrvávala i v osmém roce experimentu (Logan et al. 2009). Autoři předpokládali, že má-li být platná hypotéza o určení aklimační deprese vztahy mezi zdroji a sinky v rostlině, bude se tato aklimační deprese projevovat u prvních ročníků na podzim, protože poblíž se nenachází rostoucí uhlíkové sinky a samy tyto jehlice už nerostou, a nebude se projevovat u druhých ročníků na začátku růstové sezóny a v průběhu léta, protože se v blízkosti nachází uhlíkové sinky – nově se vyvíjející výhony a jehlice. Avšak výsledek byl opačný, u prvních ročníků nebyla pozorována aklimační deprese fotosyntézy za zvýšené $[CO_2]$ v žádné části sezóny,

zatímco u druhých byla přítomna po celou sezónu. Tuto skutečnost autoři připisují důležitější roli vzdálenějších sinků, jakým jsou například kořeny (Rogers a Ellsworth 2002). V případě smrků na Bílém kříži byl stimulován radiální růst kmene (Albrechtová et al. 2014), lze tedy předpokládat, že tento stimulovaný radiální růst byl jedním z významných uhlíkových sinků, jejichž síla byla za zvýšené $[CO_2]$ posílena. Dalším možným uhlíkovým sinkem by mohla být zvýšená syntéza sekundárních metabolitů v jehlicích. To však částečně vyvrací práce Lhotákové et al. (2012), kde nebylo pozorováno navýšení obsahu fenolických látek ani ligninu v závislosti na zvýšené $[CO_2]$. Dalším možným odbytištěm uhlíku získaného navíc za zvýšené $[CO_2]$ oproti aktuální $[CO_2]$ může být respirace. U smrků rostoucích na Bílém Kříži ve skleníku se zvýšenou koncentrací CO_2 byla stimulována rychlost respirace kmene (Acosta et al. 2010). Pokud bychom chtěli co možná nejpřesněji popsat situaci aklimace fotosyntézy a její souvislosti se vztahy mezi zdroji a sinky v rostlině, obsahem nestrukturních sacharidů a dusíku v listech (či dalších částech rostliny), bylo by nutné prozkoumat materiál velmi komplexně – od měření výměny plynů mezi rostlinou a prostředím, přes určení chemického složení a anatomických a morfologických parametrů listů (a dalších částí rostliny) po stanovení biomasy všech částí rostliny v průběhu několika let. Takovéto komplexní měření je však z pochopitelných důvodů obtížně proveditelné.

Na rozdíl od buku byl obsah rozpustných sacharidů v jehlicích smrku ovlivněn ozářeností během celé sezóny v roce 2011. Ve stinných jehlicích byl vždy nižší, než ve slunných. V říjnu 2011 nebyl tento rozdíl za zvýšené $[CO_2]$ průkazný, ale trend byl stále pozorovatelný. U jiných druhů jehličnanů nebyl pozorován vliv pozice jehlice v koruně na obsah rozpustných sacharidů v jehlici (Tissue et al. 2001, Li et al. 2009).

V mé práci nebyl zaznamenán výrazný rozdíl v celkovém obsahu rozpustných sacharidů v jehlicích smrku na začátku a ke konci růstové sezóny. To je víceméně v souladu s prací Hoch et al. (2003), kde sice s průběhem sezóny uvádí tendenci k poklesu rozpustných sacharidů, ale trend není příliš významný a s prací Wiemken a Ineichen (2000), kde rozpustné sacharidy (s výjimkou výše zmíněné glukózy, která však zabírá poměrně malou část spektra) také nejevily výrazné rozdíly v obsahu v průběhu růstové sezóny. Obsah a zastoupení rozpustných sacharidů v listech stálezelených dřevin souvisí s aklimací k teplotám pod bodem mrazu. Obzvláště důležitá je pravděpodobně role oligosacharidů rafinózové řady (RFO), jejichž

množství v jehlicích smrku vystavených nízkým teplotám a krátkému dni významně roste (Wiemken a Inechen 2000, (Dalen et al., 2001, Dalen and Johnsen, 2004). Nebylo však pozorováno ovlivnění obsahu RFO zvýšenou [CO₂] a rovněž nebylo pozorováno ovlivnění aklimace k mrazu zvýšenou [CO₂] u semenáčků ani několik let starých jedinců smrku *P. abies* (Wiemken a Inechen 2000, Dalen et al. 2001, Dalen a Johnsen 2003). V mé práci není obsah rafinózy uveden, protože se jeho hodnoty pohybovaly na hranici detekovatelnosti měřícím systémem. Množství rafinózy ve výše zmíněných pracích (Wiemken a Inechen 2000, Dalen et al. 2001, Dalen a Johnsen 2004) vzrostlo až na úplném konci sezóny, jinak se během růstové sezóny jeho hodnoty blížily nule. Odběr mnou prezentovaného materiálu proběhl na začátku října, kdy byly dny delší než v experimentech zmíněných výše (Wiemken a Inechen 2000, Dalen et al. 2001, Dalen a Johnsen 2003) a teploty neklesaly ani v noci pod 10°C (meteodata ze stanice Bílý Kříž poskytnuta CVGZ).

V jehlicích smrku byla zaznamenána výrazná vnitrodruhová variabilita obsahu rozpustných sacharidů. Rozdíly mezi jedinci však nebyly tak různorodé jako v listech buku. Na začátku růstové sezóny byl obsah rozpustných sacharidů ve stinných jehlicích u všech jedinců rostoucí za aktuální i zvýšené [CO₂] nižší než ve slunných. Tento vliv ozáření přetrval na konci růstové sezóny pouze za aktuální [CO₂]. Za zvýšené [CO₂] nebyly u některých jedinců pozorovány rozdíly v obsahu rozpustných sacharidů mezi stinnými a slunnými jehlicemi. Proto již odpověď celého souboru jedinců nebyla statisticky průkazná, ačkoli trend ke snížení obsahu rozpustných sacharidů ve stinných jehlicích byl stále zřejmý.

5.1.2.1. Zastoupení jednotlivých sacharidů ve spektru v jehlicích smrku zteplého

Opět podobně jako u buku měla ozáření výrazný vliv na zastoupení jednotlivých sacharidů – obsah sacharózy byl ve stinných listech nižší, zatímco obsah pinitolu a hexóz vyšší. Zvýšení obsahu pinitolu za nízké ozáření bylo dále pozorováno u bylinných druhů *Dianthus charyophyllus* (Ymane et al. 2010) a *Glycine max* (Smith and Phillips, 1982). Nárůst obsahu pinitolu byl pozorován i v listech rostlin vystavených dalším stresům, například nedostatku vody, zasolení či vysokým teplotám vzduchu (Murakeozy et al., 2002, Yamane et al., 2010). Pinitol pravděpodobně plní roli osmoprotektantu a zhášedce volných radikálů (Sun et al., 1999, Yamane et al., 2010). Je tedy poněkud překvapivé, že obsah pinitolu byl vyšší u stinných listů, které jsou takovými stresy sužovány méně. Za zvýšené [CO₂] jsem pozorovala,

opět podobně jako u buku, trend ke snížení obsahu pinitolu, který ale nebyl statisticky průkazný.

5.1.3 Obsah rozpustných sacharidů v jehlicích buku lesního a smrku ztepilého - porovnání

Reakce obsahu rozpustných sacharidů na zvýšení $[CO_2]$ byla u buku i smrku podobná v obou sledovaných částech růstové sezóny. Hypotéza, že buky a smrky budou na tuto situaci reagovat odlišně, se nepotvrdila. Další hypotéza, že v listech buku dojde za zvýšené $[CO_2]$ k navýšení obsahu rozpustných sacharidů, se také nepotvrdila. Hypotéza, že v jehlicích smrku nebude obsah rozpustných sacharidů ovlivněn $[CO_2]$, potvrzena byla.

5.2 Obsah škrobu v listech buku lesního a smrku v dlouhodobém experimentu se zvýšenou $[CO_2]$

Obsah škrobu v materiálu z jarního odběru byl výrazně vyšší (několikanásobně) v listech buku než jehlicích smrku. Při druhém odběru se situace obrátila – jehlice smrku obsahovaly zhruba dvojnásobné množství škrobu oproti listům buku. Jarní situace je poněkud v rozporu s prací Hoch et al. (2003), která se zabývá sledováním obsahu nestrukturních sacharidů v průběhu roku u několika druhů listnatých a jehličnatých stromů včetně buku lesního a smrku ztepilého (avšak bez vlivu $[CO_2]$ a pouze u slunných listů), v níž byly obsahu škrobu (i nestrukturních sacharidů celkově) u všech druhů velmi podobné. Avšak situace během druhého odběru v Beskydech (buk – 2. 8., smrk – 4. 10.) je podobná jako v srpnu roku 2009 sledovaná na tomtéž materiálu (Mašková et al. v rec. ř.). Obsah nestrukturních sacharidů obvykle s postupem sezóny klesá (Hoch et al. 2003, Streit et al. 2013). Tak tomu bylo i v případě našich stromů s výjimkou smrků rostoucích za zvýšené $[CO_2]$, kde obsah škrobu v jehlicích s postupem sezóny vzrostl. Významný vliv $[CO_2]$ byl pozorován pouze na obsah škrobu v jehlicích smrku.

5.2.1 Obsah škrobu v listech buku lesního

V listech buku jsem za zvýšené [CO₂] očekávala navýšení obsahu škrobu. Obsah škrobu sice vykazoval trend zvyšování v obou datech odběrů za zvýšené [CO₂], avšak rozdíly nebyly statisticky průkazné. Podobná situace, trend k navýšení obsahu škrobu v listech, byla pozorována i v srpnu 2009 (Mašková et al. v rec. ř.). V září 2008 a červnu 2010 však byl obsah škrobu v listech buku za zvýšené [CO₂] statisticky průkazně vyšší (Teslová et al. 2010, Konrádová et al. 2013), je však důležité připomenout, že tato měření byla provedena pro větší počet stromů.

V dalších pracích je uváděno zvýšení obsahu škrobu v listech buku za zvýšené [CO₂] juvenilních jedinců *Fagus sylvatica* (Liu et al. 2005b). U starších jedinců *F. sylvatica* však nebyl pozorován vliv [CO₂] na obsah nestrukturních sacharidů – autoři bohužel nespecifikují obsah konkrétních sacharidů (Bader et al. 2010). Gundthardt-Goerg a Vollenweider (2015) pozorovali akumulaci velkých škrobových zrn v listech buku rostoucího za zvýšené [CO₂] na snímcích z transmisní elektronové mikroskopie. Avšak to nemusí znamenat zvýšení obsahu škrobu v listu celkově. Výsledky biochemické a ultrastrukturální analýzy obsahu škrobu se mohou poněkud lišit. Mašková et al. uvádějí, že počet a velikost škrobových zrn byly vyšší za zvýšené [CO₂], avšak biochemická analýza výrazný nárůst obsahu škrobu neprokázala. Obsah škrobu sice vykazoval tendenci k navyšování za zvýšené [CO₂], avšak rozdíl nebyly statisticky průkazné (Mašková et al. v rec. ř.). Podobné rozdíly ve výsledcích biochemické analýzy obsahu škrobu a analýzy plochy škrobových zrn a podílu jejich objemu vůči objemu chloroplastu byly zaznamenány i u *Picea abies* a *Pinus sylvestris*. Za zvýšené [CO₂] docházelo k akumulaci škrobových zrn v chloroplastu, zrna měla větší plochu a zaujímal větší objem chloroplastu než za aktuální [CO₂]. Biochemická analýza ale zvýšení obsahu škrobu v jehlicích za zvýšené [CO₂] nepotvrdila (Sallas et al. 2003).

Porovnání našich výsledků s dostupnou literaturou je poněkud obtížné. Většina prací zabývajících se reakcí dřevin na [CO₂] v ovzduší z hlediska obsahu nestrukturních sacharidů je bohužel provedena na dřevinách s jinou růstovou strategií – topolech a břízách, které patří spíše mezi časně sukcesní druhy s vysokou růstovou rychlostí, zatímco námi sledovaný buk je klimaxová pomalu rostoucí dřevina. Avšak i u časně sukcesních dřevin bylo zaznamenáno zvýšení obsahu škrobu za zvýšené [CO₂] v krátkodobých (Agrell et al. 2000, Wang a Curtis

2001) i dlouhodobých experimentech (Riikonen et al. 2005, Davey et al 2006, Cseke et al. 2009, Komatsu et al. 2013), případně nebyla zaznamenána žádná reakce obsahu škrobu na zvýšenou [CO₂] v ovzduší (Holton et al., 2003). U dvou druhů bříz bylo za zvýšené [CO₂] pozorováno snížení obsahu škrobu v listech (Eguchi et al. 2008). Zajímavým případem byla *Betula papyrifera*, v jejichž listech po třech letech růstu nebyla patrná žádná reakce obsahu škrobu na zvýšenou [CO₂] (Kaakinen et al. 2004), avšak po pěti letech už reakce zjevná byla – došlo ke snížení obsahu škrobu v listech jedinců rostoucích za zvýšené [CO₂] (Kostianien et al. 2006).

Pomalu rostoucí klimaxové listnaté dřeviny bývají v experimentech sledujících reakci rostliny na zvýšenou [CO₂] bohužel zastoupeny poměrně málo. Několik prací se zabývá sledováním obsahu nestrukturních sacharidů v listech různých druhů dubu. U *Quercus ilex* nebyla pozorována reakce obsahu škrobu na zvýšenou [CO₂] v ovzduší. U jiných druhů (*Q. pubescens*, *Q. suber*) došlo za zvýšené [CO₂] k nárůstu obsahu škrobu v listech (Stylinski et al. 2000, Vaz et al. 2012). Bader et al. 2010 udávají významný nárůst obsahu nestrukturních sacharidů v listech dospělých jedinců *Q. petraea* v dlouhodobém experimentu. U několika dalších druhů klimaxových dřevin bylo pozorováno mírné zvýšení obsahu nestrukturních sacharidů za zvýšené koncentrace CO₂, avšak vliv [CO₂] nebyl statisticky průkazný (Bader et al. 2010).

Zajímavé je, že obsah škrobu v listech buku na začátku růstové sezóny 2011 byl několikanásobně vyšší než ke konci růstové sezóny. Pokles obsahu škrobu v listech buku i dalších opadavých i stálezelených dřevin s postupem sezóny uvádí i další práce, avšak nikde nebyl rozdíl takto markantní (Hoch et al. 2003, Patankar et al. 2013). Cseke et al. (2009) uvádí pokles obsahu škrobu v listech s postupem sezóny pouze u jednoho genotypu *Populus tremuloides*, přičemž se jednalo o genotyp, u něhož byla pozorována výraznější růstová odpověď na [CO₂] v ovzduší (Cseke et al. 2009). Na konci růstové sezóny, před senescencí a opadem listů, obvykle dochází k výraznému snížení obsahu škrobu v listech a transportu asimilátů do zásobních pletiv (Hoch et al. 2003). Avšak nepředpokládám, že při druhém odběru vzorků listů buku již docházelo k senescenci, jelikož probíhal v červenci a tedy dlouho před opadem listů. Zde bych dodala, že tento výrazný rozdíl v obsahu škrobu na začátku a na konci růstové sezóny byl do velké míry způsoben mnohonásobně vyšším obsahem škrobu u

několika jedinců. U jiných jedinců nebyly rozdíly v obsahu škrobu na začátku a na konci růstové sezóny tak extrémní, což by mohlo poukazovat na odlišnou fenologii? Ke konci růstové sezóny sice byla vnitrodruhová variabilita stále zjevná, ale nebyla už tak extrémní, jako na začátku sezóny.

Obsah škrobu nebyl výrazně ovlivněn ani ozářeností. To je v rozporu s pozorováním Agrell et al. (2000) na *Populus tremuloides*, *Betula papyrifera* a *Acer saccharum*, kde byl obsah škrobu vyšší ve slunných listech. Vlivem zvýšené $[CO_2]$ pak ještě u *B. papyrifera* a *A. saccharum* došlo k prohloubení rozdílů v obsahu škrobu mezi slunnými a stinnými listy (Agrell et al. 2000). Konrádová et al. (2013) naopak pozorovaly v červnu 2010 vliv ozářenosti na obsah škrobu v listech buku pouze za aktuální $[CO_2]$ – ve stinných listech byl obsah škrobu nižší.

5.2.2 Obsah škrobu v jehlicích smrku ztepilého

Na začátku růstové sezóny ovlivnila $[CO_2]$ obsah škrobu v jehlicích pouze v případě stinných jehlic. Za zvýšené $[CO_2]$ byl obsah škrobu ve stinných jehlicích nižší než za aktuální $[CO_2]$. To je spíše výjimečná situace, literatura uvádí za zvýšené $[CO_2]$ spíše nárůst, a to jak u semenáčků či mladých jedinců smrku (Landolt a Pfenninger 1997, Loewe et al. 2000, Dalen et al. 2001, Sallas et al. 2003, Liu et al. 2005), tak i u dospělých (Roberbtz a Stockfors 1998, Roberbtz a Linder 1999, Liu et al. 2005), případně stagnaci (Barnes et al. 1995) obsahu škrobu v jehlicích smrku při délce experimentu od několika týdnů po čtyři růstové sezóny. Stromy použité v této práci rostly za zvýšené $[CO_2]$ již šestým rokem, je tedy možné, že se takový posun mohl projevit až po delší době růstu za zvýšené $[CO_2]$. Avšak obsah škrobu v jehlicích odebraných v říjnu 2011 je už v souladu s výsledky výše uvedených prací. Ve slunných jehlicích byl v říjnu za zvýšené $[CO_2]$ obsah škrobu vyšší než za aktuální $[CO_2]$. V srpnu roku 2009 (tedy po čtyřech letech experimentu) byl v jehlicích jedinců vystavených zvýšené $[CO_2]$ v ovzduší patrný trend navýšení obsahu škrobu v jehlicích smrku (Mašková et al. v rec. ř.), což je v souladu s výše zmíněnými pracemi zabývajícími se *Picea abies* a také u semenáčků jiného druhu smrku *P. mariana* (Bigras a Bertrand 2006). Zajímavé je, že s postupem sezóny došlo za aktuální $[CO_2]$ ke snížení obsahu škrobu téměř o polovinu, zatímco za zvýšené $[CO_2]$ se téměř zdvojnásobil. To je v rozporu například z prací Dalen et al. (2001), bohužel s poněkud jiným experimentálním designem (semenáčky rostoucí 140 dní ve fytotronu), kde s postupem dní docházelo ke snižování obsahu škrobu v jehlicích za aktuální i

zvýšené [CO₂]. Navíc zde byl obsah škrobu už od 20. dne experimentu (1. měření) vyšší za zvýšené koncentrace CO₂ a tento rozdíl byl zjevný po téměř celý experiment, pouze zcela na konci se rozdíly mezi [CO₂] setřely (Dalen et al. 2001).

Co se jiných druhů jehličnanů týče, zvýšení obsahu škrobu v jehlicích při růstu za zvýšené [CO₂] bylo pozorováno i u několika druhů borovic různého stáří a při délce experimentu 1-4 roky (Entry et al. 1998, Hattenschwiler et al. 2002) . U borovice lesní (*P. sylvestris*) byl však takový nárůst patrný až po třech letech růstu za zvýšené [CO₂] (Kailunainen et al. 1998). Také Zha et al. (2001) uvádějí vyšší obsah škrobu v jehlicích tohoto druhu za zvýšené [CO₂] a to po čtyřech letech experimentu. U *Pinus radiata* nebyla po čtyřech letech růstu za zvýšené [CO₂] zaznamenána reakce obsahu škrobu v jehlicích na [CO₂] v ovzduší (Turnbull et al. 1998). V pátém roce experimentu byl obsah škrobu v jehlicích *Pinus radiata* rostoucích za zvýšené [CO₂] vyšší než za aktuální (Tissue et al. 2001). Na tomto příkladu je vidět důležitost délky experimentu. Reakce na zvýšenou [CO₂] se může měnit v průběhu let. Turnbull et al. (1998) navíc pracovali s druhými ročníky jehlic. Griffin et al. (2000) pracující se stejným experimentálním materiálem jako Turnbull et al. (1998) uvádí u borovice vyšší obsah škrobu v jehlicích prvního než v jehlicích druhého ročníku, který však nebyl ani v jednom případě ovlivněn [CO₂] v ovzduší. Mašková et al. (v rec ř.) uvádí, že nárůst obsahu škrobu za zvýšené [CO₂] byl v prvních a druhých ročnicích jehlic *Picea abies* velmi podobný, rozdíly v obsahu škrobu mezi jednotlivými ročníky zůstaly zachovány (druhé ročníky obsahovaly méně škrobu). Zato výše zmínění Kailunainen et al. (1998) pozorovali nárůst obsahu škrobu za zvýšené [CO₂] pouze u prvního ročníku jehlic *P. sylvestris*. Ve starších jehlicích nebyl obsah škrobu ovlivněn [CO₂] (Kailunainen et al. 1998). Nelze tedy jednoznačně říct, jestli se různě staré jehlice ve své reakci na [CO₂] liší, či nikoli. Odpověď může být druhově specifická či ovlivněná dalšími podmínkami.

Ozářenost ovlivnila obsah škrobu v jehlicích smrku pouze v říjnu za aktuální [CO₂], kdy byl obsah škrobu ve stinných jehlicích vyšší než ve slunných. Za zvýšené [CO₂] jsem rozdíl v obsahu škrobu v jehlicích z různých částí koruny nepozorovala. U jiných druhů jehličnanů jsou výsledky odlišné. V jehlicích *Abies georgeri* a *Juniperus saltuaria* nebyl obsah škrobu v jehlicích ovlivněn jejich pozicí v koruně (Li et al. 2009). Stinné jehlice *Pinus radiata* obsahovaly nižší množství škrobu než slunné. Za zvýšené koncentrace CO₂ došlo k navýšení

obsahu škrobu, přičemž ve stinných jehlicích byl tento nárůst méně výrazný (Tissue et al. 2001). Tissue et al. (2010) tedy pozorovali za zvýšené $[CO_2]$ prohloubení rozdílů v obsahu škrobu mezi stinnými a slunnými jehlicemi, já jsem naopak pozorovala setření těchto rozdílů.

5.2.3 Obsah škrobu v listech buku lesního a smrku ztepilého – shrnutí

Má hypotéza, že za zvýšené $[CO_2]$ bude obsah škrobu v listech buku a jehlicích smrku vyšší, než za aktuální $[CO_2]$ se potvrdila jen částečně a situace závisela na druhu, době ve vegetační sezoně a ozáření. Obsah škrobu v listech buku nebyl ovlivněn $[CO_2]$ bez ohledu na datum odběru. V červenci $[CO_2]$ ovlivnila obsah škrobu pouze ve stinných jehlicích smrku, kdy za zvýšené $[CO_2]$ byl obsah škrobu ve stinných jehlicích smrku nižší. Naopak v říjnu došlo k nárůstu obsahu škrobu za zvýšené $[CO_2]$, avšak pouze ve slunných jehlicích.

Hypotéza, že s postupem růstové sezóny bude akumulace nestrukturních sacharidů v listech buku a jehlicích smrku rostoucích za zvýšené $[CO_2]$ se potvrdila rovněž jen u slunných jehlic smrku. V červenci nebyl obsah škrobu ve slunných jehlicích ovlivněn $[CO_2]$, ale v říjnu již byl obsah škrobu ve slunných jehlicích za zvýšené $[CO_2]$ vyšší.

5.3 Kompetice – růst ve smíšené kultuře

Je důležité připomenout, že ve sférách na Bílém Kříži rostly buky a smrky ve smíšené kultuře. Většina prací sleduje reakce na zvýšení $[CO_2]$ v monokulturách daného druhu. Situace ve smíšených kulturách může být odlišná. Například Liu et al. (2005b) uvádí odlišnosti v reakci buků a smrků pěstovaných v monokultuře a smíšené kultuře. Reakce buku byla podobná při pěstování v monokultuře i smíšené kultuře - za zvýšené $[CO_2]$ došlo v listech buku ke zvýšení obsahu rozpustných sacharidů. Obsah škrobu byl také mírně zvýšen, avšak tento rozdíl nebyl statisticky průkazný. Zato v jehlicích smrku došlo v monokultuře za zvýšené $[CO_2]$ k nárůstu obsahu škrobu a obsah rozpustných sacharidů se nezměnil, zatímco ve smíšené kultuře naopak vzrostl obsah rozpustných sacharidů a škrob zůstal neměnný (Liu et al. 2005b). Náš experiment je příkladem smíšené kultury. Avšak reakce obou druhů je v našem případě odlišná. Ani v listech buku ani v jehlicích smrku nedošlo ke zvýšení obsahu rozpustných sacharidů vlivem zvýšené $[CO_2]$. Obsah škrobu v listech buku podobně jako ve výše zmíněné práci nebyl ovlivněn $[CO_2]$, obsah škrobu byl u slunných jehlic ke konci růstové sezóny za

zvýšené [CO₂] vyšší. V práci Liu et al. (2005b) však byly použity dvou- až tříleté stromky. Další práce sledující rozdílné reakce monokultur a smíšených kultur na zvýšení [CO₂] v ovzduší se bohužel zabývají spíš růstovou rychlostí či fotosyntetickými parametry. Například Spinnler et al. (2002) pozorovali větší pozitivní dopad zvýšené [CO₂] na biomasu smrku, nežli na biomasu buku ve smíšené kultuře buku a smrku. U buku byla také za zvýšené [CO₂] pozorována výraznější aklimační deprese fotosyntézy (Spinnler et al. 2002). Tedy ve smíšených kulturách se ukázalo, že ze zvýšené [CO₂] více profituje smrk. (Smith et al., 2013) uvádí, že nadzemní dřevní biomasa buku rostoucího v monokultuře byla pozitivně ovlivněna zvýšenou [CO₂], zatímco ve smíšené kultuře (s *Alnus glutinosa* a *Betula pendula*) tento pozitivní efekt zvýšené [CO₂] pozorován nebyl. Buk tedy hůře prosperuje i v jiných smíšených kulturách.

5.4 Denní dynamika obsahu nestruturních sacharidů

Experiment, v němž jsem sledovala denní dynamiku obsahu nestruturních sacharidů v jehlicích smrku, byl zařazen, protože u stromů rostoucích ve sférách na Bílém Kříži (Spunda et al., 2005, Urban et al., 2014) i v jiných experimentech (Kets et al., 2010) byly zaznamenány odlišnosti denního chodu fotosyntetických parametrů za zvýšené [CO₂]. Zajímalo mě, zda jsou takovéto změny doprovázeny odlišnostmi obsahu nestruturních sacharidů za zvýšené a aktuální [CO₂]. Informací o denní dynamice nestruturních sacharidů v listech dřevin je poměrně málo (Patankar et al., 2013). Ještě méně je věnováno změnám denní dynamiky nestruturních sacharidů za zvýšené [CO₂] (Davey et al., 2006, Walter et al., 2005). V nastudované literatuře jsem se nesečkala s poznatkami o ovlivnění denní dynamiky nestruturních sacharidů zvýšenou [CO₂] u jehličnanů. Tento pokus by tedy měl přinést nové poznatky o denní dynamice nestruturních sacharidů v jehlicích stromů rostoucích za zvýšené [CO₂]. Zde bych připomněla, že měření fotosyntetických parametrů provedl jiný tým se 24h předstihem.

V obsahu rozpustných sacharidů v jehlicích smrku v listopadu 2014 nebyly pozorovány během dne výrazné změny ani ve fytotronu s [CO₂] 400ppm, ani ve fytotronu s [CO₂] 700 ppm. Asimilační rychlost měřená za aktuální ozářenosti byla za zvýšené [CO₂] vyšší především v poledních a časně odpoledních hodinách. Asimilační rychlost za saturační ozářenosti byla za zvýšené [CO₂] vyšší v dopoledních hodinách, v odpoledních hodinách už nebyly mezi stromky z aktuální a zvýšené [CO₂] významné rozdíly. Často pozorovaná aklimační deprese

fotosyntézy za zvýšené $[CO_2]$ bývá dávana do souvislosti s nárůstem obsahu nestrukturních, a to především rozpustných, sacharidů (Ainsworth et al. 2004, Nowak et al. 2004). V našem případě však zůstávala hladina rozpustných sacharidů neměnná po celý den nezávisle na $[CO_2]$ a nedocházelo k aklimační depresi fotosyntézy, což neodporuje poznatkům shrnutým ve výše zmíněných přehledných člancích (Ainsworth et al. 2004, Nowak et al. 2004). Zajímavé je, že za zvýšené $[CO_2]$ byl zaznamenán větší rozptyl hodnot fotosyntetických parametrů. V obsahu rozpustných sacharidů jsme obdobnou tendenci k rozptylu hodnot nezaznamenali.

Zato obsah škrobu byl ovlivněn jak denní dobou, tak i $[CO_2]$, přičemž dynamika obsahu škrobu během dne v jehlicích stromů rostoucích za zvýšené $[CO_2]$ byla výrazně odlišná od dynamiky u stromů rostoucích za aktuální $[CO_2]$. Obsah škrobu v jehlicích jedinců z fytotronu s $[CO_2]$ 400 ppm v průběhu dne výrazně stoupal. V ranních hodinách byl obsah škrobu za aktuální $[CO_2]$ zhruba poloviční ve srovnání se situací za zvýšené $[CO_2]$, ve večerních hodinách se již obsah škrobu v jehlicích smrků rostoucích za různých $[CO_2]$ nelišil. U jedinců z fytotronů s $[CO_2]$ 700 ppm nebyly pozorovány výrazné změny obsahu škrobu během dne, nebyla zjevná tendence k nárůstu obsahu během dne. Dokonce ani obsah škrobu v jehlicích těsně před začátkem dne a těsně po setmění nebyl výrazně odlišný, což naznačuje, že rychlost degradace škrobu v jehlicích během noci byla za zvýšené $[CO_2]$ mnohem pomalejší než za aktuální. Obsah škrobu v jehlicích smrku rostoucích při $[CO_2]$ 400 ppm klesl během noci téměř o polovinu.

V případech kdy dostupnost uhlíku nedostačuje požadavku rostliny na uhlík (růst rostliny je limitován zdrojem) je škrob během noci téměř vyčerpán (Arp 1991, Stitt 1991). U rostlin v našem experimentu nedošlo ani v jednom z případů k úplnému vyčerpání obsahu škrobu během noci. Pokud dostupnost uhlíku pro rostlinu výrazně převyšuje její požadavky pro růst a respiraci (limitace sinkem), není škrob během noci kompletně degradován (Stitt, 1991, Arp, 1991, Grimmer et al., 1999, Smith and Stitt, 2007) a to může vést k jeho dalšímu hromadění během následujících dní (Scialdone et al., 2013).

Bohužel výše zmíněné práce se zabývají pouze bylinnými druhy. Dřeviny mají oproti nim další možnosti kam ukládat asimilovaný uhlík, dřevní hmota tvoří zásadní uhlíkový sink (viz např. Saxe et al. 1998, Korner 2003, Ainsworth a Long 2004, Dietze et al. 2013). Práce zabývající se

denní dynamikou sacharidů u dřevin jsou spíš výjimkou, nemluvě o ovlivnění denní dynamiky sacharidů u dřevin zvýšenou [CO₂]. Jednou světlou výjimkou je práce Davey et al. (2006) zabývající se kromě jiných parametrů i denní dynamikou sacharidů u tří druhů topolů (*Populus alba*, *P. nigra* a *P. x euramericana*). Ty však vykazovaly poněkud jiné tendence, než smrky sledované v této práci. U topolů bylo za zvýšené [CO₂] zjevné navýšení obsahu škrobu oproti jedincům rostoucím za aktuální [CO₂] během dne. Tento rozdíl však do večera vymizel. Rozpustné sacharidy [CO₂] ovlivněny nebyly (Davey et al. 2006). U našich stromků byl také v poledne obsah škrobu výrazně vyšší za zvýšené [CO₂], avšak rozdíl v obsahu škrobu zůstával patrný i v pozdějších hodinách, i když už byl méně výrazný. V případě topolů byla většina získaného uhlíku dále využita ještě před soumrakem, přičemž jedinci rostoucí za zvýšené [CO₂] byli schopni rychleji využít a exportovat nově syntetizované sacharidy (Davey et al. 2006). Avšak u jiného druhu téhož rodu – *P. deltoides* – byl denní průběh obsahu sacharidů v listech poněkud odlišný, než uvádí Davey et al. (2006). Za zvýšené [CO₂] byl zaznamenán ne zcela objasněný pokles obsahu glukózy v odpoledních hodinách, který souvisel se sníženou růstovou rychlostí v tomto čase. Kromě této výjimky byl obsah rozpustných sacharidů v listech jedinců rostoucích za aktuální a zvýšené [CO₂] srovnatelný, přičemž dopoledne jejich obsah vzrůstal, odpoledne klesal a v nočních hodinách zůstával víceméně konstantní. Obsah škrobu v dopoledních hodinách postupně narůstal a byl srovnatelný u stromů z obou [CO₂]. Od odpoledne byly zjevné rozdíly mezi podmínkami. Za zvýšené [CO₂] byl obsah škrobu vyšší. Zcela jinou dynamiku vykazoval škrob v noci – zatímco za aktuální [CO₂] obsah škrobu postupně klesal, za zvýšené [CO₂] dále rostl až zhruba do půlnoci, poté nastal strmý pokles a ráno byly hodnoty mezi oběma koncentracemi opět srovnatelné (Walter et al. 2005). V další práci byl možný polední větší nárůst obsahu nestrukturních sacharidů v listech topolů jiného druhu (*P. tremuloides*) rostoucích za zvýšené koncentrace CO₂ dáváno do souvislosti s pozorovanou výraznější polední depresí fotosyntézy za zvýšené [CO₂] (Kets et al. 2010). U našich stromků to tak nevypadá. Dynamika obsahu škrobu za normální [CO₂] naznačuje hromadění zásob během dne na noc, zatímco za zvýšené [CO₂] je obsah škrobu během dne i noci neměnný. Je však důležité podotknout, že výše popisované topoly patří mezi rychle rostoucí dřeviny, zatímco námi sledované smrky patří mezi pomalu rostoucí, tudíž se značně odlišují svou schopností využití případného „nadbytečného“ uhlíku zafixovaného během dne. Dále může být problém, že denní dynamika obsahu nestrukturních sacharidů v jehlicích

smrku byla v našem případě sledována pouze jeden den. Nevíme tedy, jak vypadala ve dnech předchozích a následujících. Jelikož jsme ale nepozorovali negativní ovlivnění asimilační rychlosti, vypadá to, jako by si zkoumané smrky udržovaly nějakou únosnou hladinu nestrukturních sacharidů (rozpustných sacharidů i škrobu) v jehlicích a případný nadbytek nad touto hladinou dovedly rychle transportovat do sinku, kde tyto sacharidy neinterferovaly s fotosyntézou. Myslím, že by z tohoto hlediska mohlo být zajímavé sledovat transport asimilátů v rostlině a určit, k jakým změnám v transportu sacharidů rostlinou dochází za zvýšené $[CO_2]$. Je překvapivé, že obsah škrobu v jehlicích za zvýšené $[CO_2]$ zůstával neměnný i během noci. V literatuře jsem se s takovou situací nesešla. V noci bývá škrob v listech spotřebováván při respiraci. Odkud se berou sacharidy pro respiraci listů během noci a jak je možné udržení konstantní hladiny škrobu v jehlicích během noci mi není známo.

Absenci diurnálních změn obsahu nestrukturních sacharidů v jehlicích dalších druhů popisují i některé práce zabývající se jinou problematikou než vlivem $[CO_2]$ v ovzduší. Byla tedy, na rozdíl od námi zkoumaných smrků, pozorována jen za aktuální koncentrace CO_2 . Konkrétně u borovice *Pinus taeda*, kde byly sledovány zvláště rozpustné sacharidy a zvláště škrob, avšak pouze ve dvou časech – před úsvitem a po setmění, nebyly ani u jedné skupiny pozorovány rozdíly v obsahu v různých časech odběru (Yang et al. 2002). A dále u jedle *Abies fraseri*, kde byl uveden pouze celkový obsah nestrukturních sacharidů bez rozdělení na dílčí skupiny, přičemž obsah tohoto souhrnného souboru nestrukturních sacharidů dosahoval stejných hodnot v různých částech dne (Kulac et al., 2012) Já jsem ale právě za aktuální $[CO_2]$ pozorovala změny obsahu nestrukturních sacharidů (způsobené změnami obsahu škrobu) v jehlicích během dne. Výše prezentované práce odpovídají spíše situaci, kterou jsem pozorovala za zvýšené $[CO_2]$.

Zajímavé je, že určitá denní dynamika obsahu nestrukturních sacharidů v listech byla zaznamenána u několika druhů rostoucích v tundře i v období kontinuálního světla. Avšak u každého druhu byly diurnální změny obsahu nestrukturních sacharidů poněkud odlišné a neshodovaly se ani u zástupců s podobnou životní strategií - opadavých listnatých stromů a stálezelených keříků. Fotosyntéza a respirace však u všech vykazovala podobnou dynamiku s „poledními“ maximy a „nočními“ minimy (Patankar et al. 2013). Je tedy otázkou do jaké míry je možné srovnávat mezi sebou různé druhy.

Jedinci z experimentu sledujícího denní dynamiku mezi sebou také vykazovali určitou variabilitu v obsahu nestruturních sacharidů, dynamika však byla o všech velmi podobná. Z těchto faktů usuzuji, že rozdíly v obsahu rozpustných sacharidů mezi jednotlivými jedinci rostoucími za stejných podmínek budou dány spíše genotypovou variabilitou. Rozdíly v obsahu škrobu by sice mohly být dány částečně odlišným časem odběru, avšak interval odběru na Bílém Kříži byl asi dvě hodiny. Za takovou dobu se obsah škrobu změní jen nevýrazně. Proto i v případě odlišností obsahu škrobu u jednotlivých jedinců bych se přikláběla spíš ke genotypové variabilitě. Zároveň jsou odlišnosti v obsahu škrobu v jehlicích smrků z fytotronů s aktuální a zvýšenou [CO₂] zjištěné u mladých stromků v listopadu 2014 v souladu s výsledky juvenilního porostu z podzimního odběru 2011 na Bílém Kříži. Odběr vzorků pro analýzu nestruturních sacharidů na Bílém Kříži probíhal v dopoledních hodinách a analýza obsahu nestruturních ukázala, že u slunných jehlic došlo za zvýšené [CO₂] k navýšení obsahu škrobu. Obdobně i ve fytotronovém experimentu v Brně byl v dopoledních hodinách obsah škrobu v jehlicích jedinců rostoucích za zvýšené [CO₂] statisticky průkazně vyšší. Kdyby odběr na Bílém Kříži probíhal v odpoledních hodinách, mohli bychom se dočkat poněkud jiných výsledků.

Problémem fytotronového experimentu je fakt, že probíhal až v listopadu, tedy v odlišné fázi sezóny než podzimní odběr na Bílém Kříži. Avšak stromky nebyly v podzimních měsících před fytotronovým experimentem vystaveny nízkým teplotám (pod 5°C). Venku byly pouze v teplých dnech s denními teplotami kolem 20°C a nočními kolem 8°C. Během chladných dní byly umístěny ve skleníku. Před samotným měřením byly po čtyři týdny (od 20. 10) pěstovány ve fytotronech s chodem ozáření, teploty, vlhkosti a [CO₂] uvedených v metodické části. Na Bílém Kříži se teplota v říjnu 2011 pohybovala okolo 15 až 25°C (noční teploty neklesly pod 10°C, data poskytnutá CVGZ). Tedy předpokládáme, že ani v jednom z experimentů ještě nedocházelo k chladové aklimaci. Ta je způsobená vlivem fotoperiody a nízkých teplot (Beck et al 1995) a bývá asociována s nárůstem obsahu RFO v jehlicích (Egger a Hamp 1996, Wiemken a Ineche 2000). My jsme však RFO nedetekovali v materiálu z Bílého Kříže ani v materiálu z fytotronového experimentu. Wiemken a Ineche (2000) uvádějí koncentrace rafinózy během růstové sezóny v řádu jednotek $\mu\text{g}/\text{mg}$ SH s nárůstem zhruba od začátku listopadu a maximem v zimních měsících dosahujícím až více než 30 $\mu\text{g}/\text{mg}$ SH. Navíc sezónní dynamika obsahu rafinózy byla téměř identická u více než padesáti

sledovaných jedinců smrku (Wiemken a Ineichen 2000). Lze tedy předpokládat, že by takový trend mohl být zaznamenán i při chladové aklimaci smrků sledovaných v této práci. Jelikož však v jehlicích smrku nebyl naměřen významný obsah rafinózy, usuzuji, že k chladové aklimaci u námi zkoumaných smrků ještě nedocházelo. Chladová aklimace je samozřejmě doprovázena i jinými fyziologickými změnami (Vogg et al. 1998a, 1988b), avšak těmito parametry se ve své práci nezabývám. Jen bych na tomto místě dodala, že u smrku ztepilého (*P. abies*) nebyl pozorován vliv [CO₂] v ovzduší na tento proces (Dalen et al. 2001, Dalen a Johnsen 2004).

6 Závěr

Na následujících stránkách stručně shrnu, jak byly splněny stanovené cíle a zda byly potvrzeny či vyvráceny hypotézy s nimi spojené.

Cíl 1. V listech buku a jehlicích smrku byl stanoven obsah a spektrum nestrukturních sacharidů. Za zvýšené $[CO_2]$ nedošlo k významnému navýšení obsahu nestrukturních sacharidů. Hypotéza předpokládající zvýšení obsahu nestrukturních sacharidů v listech jedinců rostoucích za zvýšené $[CO_2]$ se nepotvrdila. V listech buku lesního nedošlo vlivem zvýšené $[CO_2]$ ke změnám rozpustných sacharidů ani škrobu. Hypotéza, že za zvýšené $[CO_2]$ dojde v listech buku k navýšení obsahu jak rozpustných sacharidů, tak i škrobu teda byla také vyvrácena. Toto zjištění je poněkud překvapivé vzhledem k tomu, že v daném roce byla v listech buku za zvýšené $[CO_2]$ zaznamenána aklimační deprese fotosyntézy (Albrechtová et al. 2014). V jehlicích smrku nebylo za zvýšené $[CO_2]$ pozorováno navýšení rozpustných sacharidů, v materiálu z prvního odběru byl obsah rozpustných sacharidů za zvýšené $[CO_2]$ průkazně nižší, což je v souladu s hypotézou, že za zvýšené $[CO_2]$ v jehlicích smrku nedojde k navýšení obsahu rozpustných sacharidů. Zároveň u smrku nedošlo za zvýšené $[CO_2]$ k aklimační depresi fotosyntézy (Albrechtová et al. 2014). Růst za zvýšené $[CO_2]$ ale nevedl ani k navýšení obsahu škrobu v jehlicích smrku, což vyvrací další hypotézu, ve které byl předpokládán nárůst obsahu škrobu za $[CO_2]$.

Cíl 2. Vnitrodruhová variabilita obsahu nestrukturních sacharidů byla v materiálu z Bílého kříže opravdu značná. Výraznější vnitrodruhová variabilita byla zaznamenána na začátku růstové sezóny, což by mohlo souviset s odlišnou fenologií jednotlivých jedinců. Reakce obsahu rozpustných sacharidů na ozáření byla u jedinců smrku konzistentní – ve slunných jehlicích byl obsah rozpustných sacharidů vyšší než ve stinných (nebo se nelišil). V listech buku taková to konzistentní reakce zaznamenána nebyla. U některých jedinců byl obsah rozpustných sacharidů vyšší ve slunných listech, u jiných ve stinných a u dalších se mezi slunnými a stinnými listy nelišil. Výrazná vnitrodruhová variabilita mohla mít výrazný vliv na pozorovanou reakci celého souboru. To poukazuje na důležitost sledování velkého množství jedinců, chceme-li určit reakci celého porostu, případně predikovat reakci druhu na zvýšenou $[CO_2]$.

Cíl 3. S postupem sezóny nedocházelo k výraznější akumulaci nestrukturních sacharidů za zvýšené [CO₂]. Hypotéza předpokládající výraznější akumulaci nestrukturních sacharidů za zvýšené [CO₂] byla vyvrácena. Přesto zvýšená [CO₂] určitý vliv změny obsahu nestrukturních sacharidů měla: v jehlicích smrku došlo za aktuální [CO₂] v průběhu sezóny k poklesu obsahu rozpustných sacharidů, za zvýšené [CO₂] nikoli.

Cíl 4. V listech buku nebyly pozorovány významné rozdíly obsahu nestrukturních sacharidů způsobené ozářeností ani za aktuální ani za zvýšené [CO₂]. V jehlicích smrku nebyl obsah škrobu ovlivněn ozářeností. Závislost na ozářenosti byla prokázána pro obsah rozpustných sacharidů v jehlicích smrku. Ve stinných jehlicích smrku byl na začátku růstové sezóny obsah rozpustných sacharidů na začátku sezóny nižší než ve slunných v obou [CO₂]. Na konci sezóny přetrval průkazný vliv ozářenosti na obsah rozpustných sacharidů pouze za aktuální [CO₂], za zvýšené [CO₂] již nebyly rozdíly mezi slunnými a stinnými jehlicemi průkazné. Hypotéza, že za zvýšené [CO₂] dojde ke zmenšení rozdílů způsobených ozářeností, se tedy potvrdila pro obsah rozpustných sacharidů v jehlicích smrku.

Cíl 5. Obsah rozpustných sacharidů v jehlicích smrku nebyl závislý na denní době ani za aktuální ani za zvýšené [CO₂]. Obsah škrobu v jehlicích jedinců rostoucích za aktuální [CO₂] se během dne zvyšoval. Obsah škrobu v jehlicích byl za zvýšené [CO₂] během fotoperiody neměnný. Na začátku fotoperiody byl obsah škrobu v jehlicích za aktuální [CO₂] nižší, než za zvýšené [CO₂]. Kolem poledne však dosáhl podobných hodnot, jaké byly zjištěny za zvýšené [CO₂], a v odpoledních hodinách již v obsahu škrobu nebyly pozorovány průkazné rozdíly obsahu škrobu v jehlicích jedinců rostoucích za zvýšené [CO₂] oproti jedincům rostoucím za aktuální [CO₂]. Hypotéza, že za zvýšené [CO₂] bude docházet ke zvýšené akumulaci nestrukturních sacharidů kolem poledne, se nepotvrdila.

Tato diplomová práce byla vypracována v rámci grantového projektu GAČR P501/10/0340 s názvem „Vliv zvýšené koncentrace CO₂ a ozářenosti na strukturu a funkci fotosyntetického aparátu dřevin na různých hierarchických úrovních“ řešeném v letech 2010-2014. Na řešení tohoto projektu se podílelo více výzkumných skupin, tato práce přispěla k vyhodnocení reakcí sacharidového metabolismu studovaných stromů ve vegetační sezóně roku 2011.

Vzhledem poznatkům o fotosyntetických parametrech, jak zjištěných na studovaných stromech tak i v dostupné literatuře je překvapivé, že reakce obsahu nestrukturních sacharidů u buku a smrku na zvýšenou $[CO_2]$ byla téměř totožná. Ve smíšených porostech bylo pozorováno znevýhodnění buku ve více experimentech a to jak ve smíšené kultuře se smrkem ztepilým (Spinnler et al. 2002, Liu et al. 2004, 2005) tak i s jinými druhy (Smith et al. 2013). Z mých poznatku o obsahu nestrukturních sacharidů toto tak jednoznačně nevyplývá. Avšak vezmeme-li v potaz i poznatky o fotosyntetických parametrec, lze vyvodit, že schopnost kompetice buku lesního v prostředí se zvýšenou atmosféricou $[CO_2]$ tedy bude snížena.

Reakce dřevin na zvýšenou $[CO_2]$ je významně ovlivněna dalšími okolnostmi. Důležitou roli hraje intenzita a charakter iradiace, průběh fotoperiody, dostupnost živin v půdě a další vnější faktory. Odpověď na $[CO_2]$ je dále závislá na stáří jedince, fázi ontogenetického vývoje listu a na genové výbavě jedince, která ho předurčuje k určitému způsobu nakládání s asimiláty. Pokud tedy chceme vyvodit reakci celého porostu na zvýšenou $[CO_2]$, je nutné sledovat dostatečně velký soubor jedinců.

Za zvýšené $[CO_2]$ dochází nejen ke změnám v procesech asimilace a růstu, ale i v dalších procesech. Při odhadování schopnosti lesů zmírňovat negativní důsledky lidské činnosti na $[CO_2]$ v ovzduší je nutné počítat s i možnými změnami v respiraci lesních společenstev. Jelikož zvýšené $[CO_2]$ může docházet ke změnám chemického složení rostlin, je pravděpodobné, že je budou následovat i změny v zastoupení herbivorů a jejich činnosti a zastoupení půdních společenstev a změny v dekompozici opadu (Kuokkanen et al. 2004, Norby et al. 2001, Kelly et al. 2013). Tím mohou být způsobeny významné změny na úrovni ekosystémů a ovlivněny i biogeochemické cykly různých prvků.

7 Seznam použité literatury

- Acosta M, Pokorny R, Janous D, Marek MV. 2010.** Stem respiration of Norway spruce trees under elevated CO₂ concentration. *Biologia Plantarum*, **54**: 773-776.
- Agrell J, McDonald EP, Lindroth RL. 2000.** Effects of CO₂ and light on tree phytochemistry and insect performance. *Oikos*, **88**: 259-272.
- Ainsworth EA, Long SP. 2005.** What have we learned from 15 years of free-air CO₂ enrichment (FACE)? A meta-analytic review of the responses of photosynthesis, canopy. *New Phytologist*, **165**: 351-371.
- Ainsworth EA, Rogers A. 2007.** The response of photosynthesis and stomatal conductance to rising CO₂: mechanisms and environmental interactions. *Plant Cell and Environment*, **30**: 258-270.
- Ainsworth EA, Rogers A, Nelson R, Long SP. 2004.** Testing the "source-sink" hypothesis of down-regulation of photosynthesis in elevated CO₂ in the field with single gene substitutions in *Glycine max*. *Agricultural and Forest Meteorology*, **122**: 85-94.
- Albrechtova J, Radochova B, Capek M, Hola D, Janacek J, Kocova M, Kubasek J, Kubinova Z, Lhotakova Z, Lipavska H, Marek M V, Maskova P, Michalek J, Rothova O, Sprtova M, Urban O, Kubinova L. 2014.** Photosynthetic apparatus of coniferous Norway spruce (*Picea abies*) and broadleaved European beech (*Fagus sylvatica*) respond differently to elevated carbon dioxide.
- Amthor JS. 2000.** Direct effect of elevated CO₂ on nocturnal in situ leaf respiration in nine temperate deciduous tree species is small. *Tree Physiology*, **20**: 139-144.
- Aranda X, Agusti C, Joffre R, Fleck I. 2006.** Photosynthesis, growth and structural characteristics of holm oak resprouts originated from plants grown under elevated CO₂. *Physiologia Plantarum*, **128**: 302-312.
- Arp WJ. 1991.** EFFECTS OF SOURCE-SINK RELATIONS ON PHOTOSYNTHETIC ACCLIMATION TO ELEVATED CO₂. *Plant Cell and Environment*, **14**: 869-875.
- Asshoff R, Hattenschwiler S. 2006.** Changes in needle quality and larch bud moth performance in response to CO₂ enrichment and defoliation of treeline larches. *Ecological Entomology*, **31**: 84-90.
- Bader MKF, Siegwolf R, Korner C. 2010.** Sustained enhancement of photosynthesis in mature deciduous forest trees after 8 years of free air CO₂ enrichment. *Planta*, **232**: 1115-1125.
- Barnes JD, Pfirrmann T, Steiner K, Lutz C, Busch U, Kuchenhoff H, Payer HD. 1995.** Effects of elevated CO₂, elevated O₃ and potassium deficiency on Norway spruce *Picea abies* (L) Karst: Seasonal changes in photosynthesis and non-structural carbohydrate content. *Plant Cell and Environment*, **18**: 1345-1357.
- Barron-Gafford G, Martens D, Grieve K, Biel K, Kudenyarov V, McLain JET, Lipson D, Murthy R. 2005.** Growth of eastern cottonwoods (*Populus deltoides*) in elevated CO₂ stimulates stand-level respiration and rhizodeposition of carbohydrates, accelerates soil nutrient depletion, yet stimulates above- and belowground biomass production. *Global Change Biology*, **11**: 1220-1233.
- Bignucolo O, Korner C. 2010.** Leaf miner activity and its effects on leaf chemistry in adult beech under elevated CO₂. *Basic and Applied Ecology*, **11**: 251-256.
- Bigras FJ, Bertrand A. 2006.** Responses of *Picea mariana* to elevated CO₂ concentration during growth, cold hardening and dehardening: phenology, cold tolerance, photosynthesis and growth. *Tree Physiology*, **26**: 875-888.
- Blaschke L, Schulte M, Raschi A, Snee N, Rennenberg H, Polle A. 2001.** Photosynthesis, soluble and structural carbon compounds in two Mediterranean oak species (*Quercus pubescens* and *Q. ilex*) after lifetime growth at naturally elevated CO₂ concentrations. *Plant Biology*, **3**: 288-297.

- Bonham VA, Barnett JR. 2001.** Fibre length and microfibril angle in silver birch (*Betula pendula* Roth). *Holzforschung*, **55**: 159-162.
- Burton AJ, Pregitzer KS. 2002.** Measurement carbon dioxide concentration does not affect root respiration of nine tree species in the field. *Tree Physiology*, **22**: 67-72.
- Calfapietra C, De Angelis P, Gielen B, Lukac M, Moscatelli MC, Avino G, Lagomarsino A, Polle A, Ceulemans R, Mugnozza GS, Hoosbeek MR, Cotrufo MF. 2007.** Increased nitrogen-use efficiency of a short-rotation poplar plantation in elevated CO₂ concentration. *Tree Physiology*, **27**: 1153-1163.
- Campbell CD, Sage RF. 2006.** Interactions between the effects of atmospheric CO₂ content and P nutrition on photosynthesis in white lupin (*Lupinus albus* L.). *Plant Cell and Environment*, **29**: 844-853.
- Carey EV, DeLucia EH, Ball JT. 1996.** Stem maintenance and construction respiration in *Pinus ponderosa* grown in different concentrations of atmospheric CO₂. *Tree Physiology*, **16**: 125-130.
- Carnicer J, Brbeta A, Sperlich D, Coll M, Penuelas J. 2013.** Contrasting trait syndromes in angiosperms and conifers are associated with different responses of tree growth to temperature on a large scale. *Frontiers in Plant Science*, **4**.
- Chapin FS, Schulze ED, Mooney HA. 1990.** THE ECOLOGY AND ECONOMICS OF STORAGE IN PLANTS. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **21**: 423-447.
- Coley PD, Massa M, Lovelock CE, Winter K. 2002.** Effects of elevated CO₂ on foliar chemistry of saplings of nine species of tropical tree. *Oecologia*, **133**: 62-69.
- Crookshanks M, Taylor G, Broadmeadow M. 1998.** Elevated CO₂ and tree root growth: contrasting responses in *Fraxinus excelsior*, *Quercus petraea* and *Pinus sylvestris*. *New Phytologist*, **138**: 241-250.
- Crous KY, Walters MB, Ellsworth DS. 2008.** Elevated CO₂ concentration affects leaf photosynthesis-nitrogen relationships in *Pinus taeda* over nine years in FACE. *Tree Physiology*, **28**.
- Cseke LJ, Tsai CJ, Rogers A, Nelsen MP, White HL, Karnosky DF, Podila GK. 2009.** Transcriptomic comparison in the leaves of two aspen genotypes having similar carbon assimilation rates but different partitioning patterns under elevated CO₂. *New Phytologist*, **182**: 891-911.
- Curtis PS, Vogel CS, Pregitzer KS, Zak DR, Teeri JA. 1995.** INTERACTING EFFECTS OF SOIL FERTILITY AND ATMOSPHERIC CO₂ ON LEAF-AREA GROWTH AND CARBON GAIN PHYSIOLOGY IN *POPULUS X EURAMERICANA* (DODE) GUINIER. *New Phytologist*, **129**: 253-263.
- Curtis PS, Vogel CS, Wang XZ, Pregitzer KS, Zak DR, Lussenhop J, Kubiske M, Teeri JA. 2000.** Gas exchange, leaf nitrogen, and growth efficiency of *Populus tremuloides* in a CO₂-enriched atmosphere. *Ecological Applications*, **10**: 3-17.
- Dalen LS, Johnsen O. 2004.** CO₂ enrichment, nitrogen fertilization and development of freezing tolerance in Norway spruce. *Trees-Structure and Function*, **18**: 10-18.
- Dalen LS, Johnsen O, Ogner G. 2001.** CO₂ enrichment and development of freezing tolerance in Norway spruce. *Physiologia Plantarum*, **113**: 533-540.
- Davey PA, Olcer H, Zakhleniuk O, Bernacchi CJ, Calfapietra C, Long SP, Raines CA. 2006.** Can fast-growing plantation trees escape biochemical down-regulation of photosynthesis when grown throughout their complete production cycle in the open air under elevated carbon dioxide? *Plant Cell and Environment*, **29**: 1235-1244.
- Dawes MA, Hagedorn F, Handa IT, Streit K, Ekblad A, Rixen C, Korner C, Hattenschwiler S. 2013.** An alpine treeline in a carbon dioxide-rich world: synthesis of a nine-year free-air carbon dioxide enrichment study. *Oecologia*, **171**: 623-637.
- Dietze MC, Sala A, Carbone MS, Czimczik CI, Mantooth JA, Richardson AD, Vargas R. 2014.** Nonstructural Carbon in Woody Plants. *Annual Review of Plant Biology*, Vol 65, **65**: 667-687.

- Drake BG, Gonzalez-Meler MA, Long SP. 1997.** More efficient plants: A consequence of rising atmospheric CO₂? *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, **48**: 609-639.
- Drake JE, Stoy PC, Jackson RB, DeLucia EH. 2008.** Fine-root respiration in a loblolly pine (*Pinus taeda* L.) forest exposed to elevated CO₂ and N fertilization. *Plant Cell and Environment*, **31**: 1663-1672.
- Duan BL, Zhang XL, Li YP, Li L, Korpelainen H, Li CY. 2013.** Plastic responses of *Populus yunnanensis* and *Abies faxoniana* to elevated atmospheric CO₂ and warming. *Forest Ecology and Management*, **296**: 33-40.
- Edwards NT, Norby RJ. 1999.** Below-ground respiratory responses of sugar maple and red maple saplings to atmospheric CO₂ enrichment and elevated air temperature. *Plant and Soil*, **206**: 85-97.
- Edwards NT, Tschaplinski TJ, Norby RJ. 2002.** Stem respiration increases in CO₂-enriched sweetgum trees. *New Phytologist*, **155**: 239-248.
- Eguchi N, Karatsu K, Ueda T, Funada R, Takagi K, Hiura T, Sasa K, Koike T. 2008.** Photosynthetic responses of birch and alder saplings grown in a free air CO₂ enrichment system in northern Japan. *Trees-Structure and Function*, **22**: 437-447.
- Ellsworth DS, Thomas R, Crous KY, Palmroth S, Ward E, Maier C, Delucia E, Oren R. 2012.** Elevated CO₂ affects photosynthetic responses in canopy pine and subcanopy deciduous trees over 10 years: a synthesis from Duke FACE. *Global Change Biology*, **18**: 223-242.
- Entry JA, Runion GB, Prior SA, Mitchell RJ, Rogers HH. 1998.** Influence of CO₂ enrichment and nitrogen fertilization on tissue chemistry and carbon allocation in longleaf pine seedlings. *Plant and Soil*, **200**: 3-11.
- Equiza MA, Day ME, Jagels R, Li XC. 2006.** Photosynthetic downregulation in the conifer *Metasequoia glyptostroboides* growing under continuous light: the significance of carbohydrate sinks and paleoecophysiological implications. *Canadian Journal of Botany-Revue Canadienne De Botanique*, **84**: 1453-1461.
- Fajardo A, Piper FI, Hoch G. 2013.** Similar variation in carbon storage between deciduous and evergreen treeline species across elevational gradients. *Annals of Botany*, **112**: 623-631.
- Gahrooe FR. 1998.** Impacts of elevated atmospheric CO₂ on litter quality, litter decomposability and nitrogen turnover rate of two oak species in a Mediterranean forest ecosystem. *Global Change Biology*, **4**: 667-677.
- George K, Norby RJ, Hamilton JG, DeLucia EH. 2003.** Fine-root respiration in a loblolly pine and sweetgum forest growing in elevated CO₂. *New Phytologist*, **160**: 511-522.
- Gibson K, Park JS, Nagai Y, Hwang SK, Cho YC, Roh KH, Lee SM, Kim DH, Choi SB, Ito H, Edwards GE, Okita TW. 2011.** Exploiting leaf starch synthesis as a transient sink to elevate photosynthesis, plant productivity and yields. *Plant Science*, **181**: 275-281.
- Gonzalez-Meler MA, Siedow JN. 1999.** Direct inhibition of mitochondrial respiratory enzymes by elevated CO₂: does it matter at the tissue or whole-plant level? *Tree Physiology*, **19**: 253-259.
- Grams TEE, Kozovits AR, Reiter IM, Winkler JB, Sommerkorn M, Blaschke H, Haberle KH, Matyssek R. 2002.** Quantifying competitiveness in woody plants. *Plant Biology*, **4**: 153-158.
- Griffin KL, Anderson OR, Tissue DT, Turnbull MH, Whitehead D. 2004.** Variations in dark respiration and mitochondrial numbers within needles of *Pinus radiata* grown in ambient or elevated CO₂ partial pressure. *Tree Physiology*, **24**: 347-353.
- Griffin KL, Tissue DT, Turnbull MH, Whitehead D. 2000.** The onset of photosynthetic acclimation to elevated CO₂ partial pressure in field-grown *Pinus radiata* D. Don. after 4 years. *Plant Cell and Environment*, **23**: 1089-1098.
- Grimmer C, Bachfischer T, Komor E. 1999.** Carbohydrate partitioning into starch in leaves of *Ricinus communis* L-grown under elevated CO₂ is controlled by sucrose. *Plant Cell and Environment*, **22**: 1275-1280.

- Guenthardt-Goerg MS, Vollenweider P. 2015.** Responses of beech and spruce foliage to elevated carbon dioxide, increased nitrogen deposition and soil type. *Aob Plants*, **7**.
- Gupta P, Duplessis S, White H, Karnosky DF, Martin F, Podila GK. 2005.** Gene expression patterns of trembling aspen trees following long-term exposure to interacting elevated CO₂ and tropospheric O₃. *New Phytologist*, **167**: 129-142.
- Haigler CH, Ivanova-Datcheva M, Hogan PS, Salnikov VV, Hwang S, Martin K, Delmer DP. 2001.** Carbon partitioning to cellulose synthesis. *Plant Molecular Biology*, **47**: 29-51.
- Hall MC, Stiling P, Moon DC, Drake BG, Hunter MD. 2006.** Elevated CO₂ increases the long-term decomposition rate of *Quercus myrtifolia* leaf litter. *Global Change Biology*, **12**: 568-577.
- Hattenschwiler S, Handa IT, Egli L, Asshoff R, Ammann W, Korner C. 2002.** Atmospheric CO₂ enrichment of alpine treeline conifers. *New Phytologist*, **156**: 363-375.
- Hattenschwiler S, Korner C. 2000.** Tree seedling responses to in situ CO₂-enrichment differ among species and depend on understorey light availability. *Global Change Biology*, **6**: 213-226.
- Hattenschwiler S, Schafellner C. 1999.** Opposing effects of elevated CO₂ and N deposition on *Lymantria monacha* larvae feeding on spruce trees. *Oecologia*, **118**: 210-217.
- Herrick JD, Thomas RB. 2001.** No photosynthetic down-regulation in sweetgum trees (*Liquidambar styraciflua* L.) after three years of CO₂ enrichment at the Duke Forest FACE experiment. *Plant Cell and Environment*, **24**: 53-64.
- Hoch G, Richter A, Korner C. 2003.** Non-structural carbon compounds in temperate forest trees. *Plant Cell and Environment* **26**: 1067-1081.
- Hoch G. 2007.** Cell wall hemicelluloses as mobile carbon stores in non-reproductive plant tissues. *Functional Ecology*, **21**: 823-834.
- Holisova P, Zitova M, Klem K, Urban O. 2012.** Effect of Elevated Carbon Dioxide Concentration on Carbon Assimilation under Fluctuating Light. *Journal of Environmental Quality* **41**: 1931-1938.
- Holton MK, Lindroth RL, Nordheim EV. 2003.** Foliar quality influences tree-herbivore-parasitoid interactions: effects of elevated CO₂, O₃, and plant genotype. *Oecologia*, **137**: 233-244.
- Hrstka M, Urban O, Marek MV. 2005.** Long-term effect of elevated CO₂ on spatial differentiation of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase activity in Norway spruce canopy. *Photosynthetica*, **43**: 211-216.
- Isebrands JG, McDonald EP, Kruger E, Hendrey G, Percy K, Pregitzer K, Sober J, Karnosky DF. 2001.** Growth responses of *Populus tremuloides* clones to interacting elevated carbon dioxide and tropospheric ozone. *Environmental Pollution*, **115**: 359-371.
- Jach ME, Ceulemans R. 2000a.** Effects of season, needle age and elevated atmospheric CO₂ on photosynthesis in Scots pine (*Pinus sylvestris*). *Tree Physiology*, **20**: 145-157.
- Jach ME, Ceulemans R. 2000b.** Short- versus long-term effects of elevated CO₂ on night-time respiration of needles of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.). *Photosynthetica*, **38**: 57-67.
- Janous D, Pokorný R, Brossaud J, Marek MV. 2000.** Long-term effects of elevated CO₂ on woody tissues respiration of Norway spruce studied in open-top chambers. *Biologia Plantarum*, **43**: 41-46.
- Janssens IA, Crookshanks M, Taylor G, Ceulemans R. 1998.** Elevated atmospheric CO₂ increases fine root production, respiration, rhizosphere respiration and soil CO₂ efflux in Scots pine seedlings. *Global Change Biology*, **4**: 871-878.
- Kaakinen S, Kostianen K, Ek F, Saranpää P, Kubiske ME, Sober J, Karnosky DF, Vapaavuori E. 2004.** Stem wood properties of *Populus tremuloides*, *Betula papyrifera* and *Acer saccharum* saplings after 3 years of treatments to elevated carbon dioxide and ozone. *Global Change Biology*, **10**: 1513-1525.
- Kainulainen P, Holopainen JK, Holopainen T. 1998.** The influence of elevated CO₂ and O₃ concentrations on Scots pine needles: changes in starch and secondary metabolites over three exposure years. *Oecologia*, **114**: 455-460.

- Karl TR. 2009.** Global Climate Change Impact in the United States. In: Melillo JM, ed. New York: Cambridge University Press.
- Karonen M, Ossipov V, Ossipova S, Kapari L, Lojonen J, Matsumura H, Kohno Y, Mikami C, Sakai Y, Izuta T, Pihlaja K. 2006.** Effects of elevated carbon dioxide and ozone on foliar proanthocyanidins in *Betula platyphylla*, *Betula ermanii*, and *Fagus crenata* seedlings. *Journal of Chemical Ecology*, **32**: 1445-1458.
- Kasurinen A, Riikonen J, Oksanen E, Vapaavuori E, Holopainen T. 2006.** Chemical composition and decomposition of silver birch leaf litter produced under elevated CO₂ and O₃. *Plant and Soil*, **282**: 261-280.
- Keel SG, Campbell CD, Hogberg MN, Richter A, Wild B, Zhou XH, Hurry V, Linder S, Nasholm T, Hogberg P. 2012.** Allocation of carbon to fine root compounds and their residence times in a boreal forest depend on root size class and season. *New Phytologist*, **194**: 972-981.
- Kellomaki S, Wang KY. 1997.** Effects of long-term CO₂ and temperature elevation on crown nitrogen distribution and daily photosynthetic performance of Scots pine. *Forest Ecology and Management*, **99**: 309-326.
- Kelly JJ, Peterson E, Winkelman J, Walter TJ, Rier ST, Tuchman NC. 2013.** Elevated Atmospheric CO₂ Impacts Abundance and Diversity of Nitrogen Cycling Functional Genes in Soil. *Microbial Ecology*, **65**: 394-404.
- Kets K, Darbah JNT, Sober A, Riikonen J, Sober J, Karnosky DF. 2010.** Diurnal changes in photosynthetic parameters of *Populus tremuloides*, modulated by elevated concentrations of CO₂ and/or O₃ and daily climatic variation. *Environmental Pollution*, **158**: 1000-1007.
- Kilpelainen A, Peltola H, Ryyppo A, Kellomaki S. 2005.** Scots pine responses to elevated temperature and carbon dioxide concentration: growth and wood properties. *Tree Physiology*, **25**: 75-83.
- Kitao M, Lei TT, Koike T, Kayama M, Tobita H, Maruyama Y. 2007.** Interaction of drought and elevated CO₂ concentration on photosynthetic down-regulation and susceptibility to photoinhibition in Japanese white birch seedlings grown with limited N availability. *Tree Physiology*, **27**: 727-735.
- Klepzig KD, Kruger EL, Smalley EB, Raffa KF. 1995.** EFFECTS OF BIOTIC AND ABIOTIC STRESS ON INDUCED ACCUMULATION OF TERPENES AND PHENOLICS IN RED PINES INOCULATED WITH BARK BEETLE-VECTORED FUNGUS. *Journal of Chemical Ecology*, **21**: 601-626.
- Koch K. 2004.** Sucrose metabolism: regulatory mechanisms and pivotal roles in sugar sensing and plant development. *Current Opinion in Plant Biology*, **7**: 235-246.
- Koerner C. 2006.** Plant CO₂ responses: an issue of definition, time and resource supply. *New Phytologist*, **172**: 393-411.
- Komatsu M, Tobita H, Watanabe M, Yazaki K, Koike T, Kitao M. 2013.** Photosynthetic downregulation in leaves of the Japanese white birch grown under elevated CO₂ concentration does not change their temperature-dependent susceptibility to photoinhibition. *Physiologia Plantarum*, **147**: 159-168.
- Konrádová H, Bardoňová R, Mašková P, Ševčíková H, Lipavská H. 2013.** Sacharidová bilance smrku a buku ve vztahu k zvýšené koncentraci CO₂: akumulace nestrukturních sacharidů v několika vegetačních sezónách.
- Kontunen-Soppela S, Riikonen J, Ruhanen H, Brosche M, Somervuo P, Peltonen P, Kangasjarvi J, Auvinen P, Paulin L, Keinanen M, Oksanen E, Vapaavuori E. 2010.** Differential gene expression in senescing leaves of two silver birch genotypes in response to elevated CO₂ and tropospheric ozone. *Plant Cell and Environment*, **33**: 1016-1028.
- Korner C. 2003.** Carbon limitation in trees. *Journal of Ecology*, **91**: 4-17.
- Kostiainen K, Kaakinen S, Warsta E, Kubiske ME, Nelson ND, Sober J, Karnosky DF, Saranpaa P, Vapaavuori E. 2008.** Wood properties of trembling aspen and paper birch after 5 years of exposure to elevated concentrations of CO₂ and O₃. *Tree Physiology*, **28**: 805-813.

- Kosvancova M, Urban O, Sprtova M, Hrstka M, Kalina J, Tomaskova I, Spunda V, Marek MV. 2009.** Photosynthetic induction in broadleaved *Fagus sylvatica* and coniferous *Picea abies* cultivated under ambient and elevated CO₂ concentrations. *Plant Science*, **177**: 123-130.
- Kozlowski TT. 1992.** CARBOHYDRATE SOURCES AND SINKS IN WOODY-PLANTS. *Botanical Review*, **58**: 107-222.
- Kubiske ME, Quinn VS, Marquardt PE, Karnosky DF. 2007.** Effects of elevated atmospheric CO₂ and/or O₃ on intra- and interspecific competitive ability of aspen. *Plant Biology*, **9**.
- Kubiske ME, Zak DR, Pregitzer KS, Takeuchi Y. 2002.** Photosynthetic acclimation of overstory *Populus tremuloides* and understory *Acer saccharum* to elevated atmospheric CO₂ concentration: interactions with shade and soil nitrogen. *Tree Physiology*, **22**: 321-329.
- Kuehne C, Nosko P, Horwath T, Bauhus J. 2014.** A comparative study of physiological and morphological seedling traits associated with shade tolerance in introduced red oak (*Quercus rubra*) and native hardwood tree species in southwestern Germany. *Tree Physiology*, **34**: 184-193.
- Kulac S, Nzokou P, Guney D, Cregg BM, Turna I. 2012.** Growth and Physiological Response of Fraser Fir *Abies fraseri* (Pursh) Poke Seedlings to Water Stress: Seasonal and Diurnal Variations in Photosynthetic Pigments and Carbohydrate Concentration. *Hortscience*, **47**: 1512-1519.
- Kull O. 2002.** Acclimation of photosynthesis in canopies: models and limitations. *Oecologia*, **133**: 267-279.
- Kuokkanen K, Niemela P, Matala J, Julkunen-Tiitto R, Heinonen J, Rousi M, Henttonen H, Tahvanainen J, Kellomaki S. 2004.** The effects of elevated CO₂ and temperature on the resistance of winter-dormant birch seedlings (*Betula pendula*) to hares and voles. *Global Change Biology*, **10**: 1504-1512.
- Laitinen K, Luomala EM, Kellomaki S, Vapaavuori E. 2000.** Carbon assimilation and nitrogen in needles of fertilized and unfertilized field-grown Scots pine at natural and elevated concentrations of CO₂. *Tree Physiology*, **20**: 881-892.
- Landhausser SM, Lieffers VJ. 2001.** Photosynthesis and carbon allocation of six boreal tree species grown in understory and open conditions. *Tree Physiology*, **21**: 243-250.
- Lavola A, Julkunen-Tiitto R, de la Rosa TM, Lehto T, Aphalo PJ. 2000.** Allocation of carbon to growth and secondary metabolites in birch seedlings under UV-B radiation and CO₂ exposure. *Physiologia Plantarum*, **109**: 260-267.
- Leakey ADB, Ainsworth EA, Bernacchi CJ, Rogers A, Long SP, Ort DR. 2009a.** Elevated CO₂ effects on plant carbon, nitrogen, and water relations: six important lessons from FACE. *Journal of Experimental Botany*, **60**: 2859-2876.
- Leakey ADB, Xu F, Gillespie KM, McGrath JM, Ainsworth EA, Ort DR. 2009b.** Genomic basis for stimulated respiration by plants growing under elevated carbon dioxide. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **106**: 3597-3602.
- Legner N, Fleck S, Leuschner C. 2014.** Within-canopy variation in photosynthetic capacity, SLA and foliar N in temperate broad-leaved trees with contrasting shade tolerance. *Trees-Structure and Function*, **28**: 263-280.
- Lemoine R, La Camera S, Atanassova R, Deedaldechamp F, Allario T, Pourtau N, Bonnemain JL, Laloi M, Coutos-Theevenot P, Maurousset L, Faucher M, Girousse C, Lemonnier P, Parrilla J, Durand M. 2013.** Source-to-sink transport of sugar and regulation by environmental factors. *Frontiers in Plant Science*, **4**.
- Lhotakova Z, Urban O, Dubankova M, Cvikrova M, Tomaskova I, Kubinova L, Zvara K, Marek MV, Albrechtova J. 2012.** The impact of long-term CO₂ enrichment on sun and shade needles of Norway spruce (*Picea abies*): Photosynthetic performance, needle anatomy and phenolics accumulation. *Plant Science*, **188**: 60-70.

- Li MH, Xiao WF, Wang SG, Cheng GW, Cherubini P, Cai XH, Liu XL, Wang XD, Zhu WZ. 2008.** Mobile carbohydrates in Himalayan treeline trees I. Evidence for carbon gain limitation but not for growth limitation. *Tree Physiology*, **28**: 1287-1296.
- Li XM, Zhang LH, Li YY, Ma LJ, Chen QA, Wang LL, He XY. 2011.** Effects of elevated carbon dioxide and/or ozone on endogenous plant hormones in the leaves of Ginkgo biloba. *Acta Physiologiae Plantarum*, **33**: 129-136.
- Li Y, Dong T, Duan B, Zhang Y. 2015.** Physiological responses of Abies faxoniana populations from different elevations to increased CO₂ and N application. *Acta Physiologiae Plantarum*, **37**.
- Liberloo M, Calfapietra C, Lukac M, Godbold D, Luos ZB, Polle A, Hoosbeek MR, Kull O, Marek M, Raines C, Rubino M, Taylor G, Scarascia-Mugnozza G, Ceulemans R. 2006.** Woody biomass production during the second rotation of a bio-energy Populus plantation increases in a future high CO₂ world. *Global Change Biology*, **12**.
- Liberloo M, De Angelis P, Ceulemans R. 2008.** Stem CO₂ efflux of a Populus nigra stand: effects of elevated CO₂, fertilization, and shoot size. *Biologia Plantarum*, **52**: 299-306.
- Liberloo M, Tulva I, Raim O, Kull O, Ceulemans R. 2007.** Photosynthetic stimulation under long-term CO₂ enrichment and fertilization is sustained across a closed Populus canopy profile (EUROFACE). *New Phytologist*, **173**: 537-549.
- Lichtenthaler HK, Ac A, Marek MV, 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**: 577-588.
- Lindroth RL. 2010.** Impacts of Elevated Atmospheric CO₂ and O₃ on Forests: Phytochemistry, Trophic Interactions, and Ecosystem Dynamics. *Journal of Chemical Ecology*, **36**: 2-21.
- Lindroth RL, Arteel GE, Kinney KK. 1995.** RESPONSES OF 3 SATURNIID SPECIES TO PAPER BIRCH GROWN UNDER ENRICHED CO₂ ATMOSPHERES. *Functional Ecology*, **9**: 306-311.
- Lindroth RL, Kopper BJ, Parsons WFJ, Bockheim JG, Karnosky DF, Hendrey GR, Pregitzer KS, Isebrands JG, Sober J. 2001.** Consequences of elevated carbon dioxide and ozone for foliar chemical composition and dynamics in trembling aspen (Populus tremuloides) and paper birch (Betula papyrifera). *Environmental Pollution*, **115**: 395-404.
- Liozon R, Badeck FW, Genty B, Meyer S, Saugier B. 2000.** Leaf photosynthetic characteristics of beech (Fagus sylvatica) saplings during three years of exposure to elevated CO₂ concentration. *Tree Physiology*, **20**: 239-247.
- Liu LL, King JS, Giardina CP. 2005a.** Effects of elevated concentrations of atmospheric CO₂ and tropospheric O₃ on leaf litter production and chemistry in trembling aspen and paper birch communities. *Tree Physiology*, **25**: 1511-1522.
- Liu WP, Kozovits AR, Grams TEE, Blaschke H, Rennenberg H, Matyssek R. 2004.** Competition modifies effects of enhanced ozone/carbon dioxide concentrations on carbohydrate and biomass accumulation in juvenile Norway spruce and European beech. *Tree Physiology*, **24**: 1045-1055.
- Liu XP, Grams TEE, Matyssek R, Rennenberg H. 2005b.** Effects of elevated pCO₂ and/or pO₃ on C-, N-, and S-metabolites in the leaves of juvenile beech and spruce differ between trees grown in monoculture and mixed culture. *Plant Physiology and Biochemistry*, **43**: 147-154.
- Loewe A, Einig W, Shi L, Dizengremel P, Hampp R. 2000.** Mycorrhiza formation and elevated CO₂ both increase the capacity for sucrose synthesis in source leaves of spruce and aspen. *New Phytologist*, **145**: 565-574.
- Logan BA, Combs A, Myers K, Kent R, Stanley L, Tissue DT. 2009.** Seasonal response of photosynthetic electron transport and energy dissipation in the eighth year of exposure to elevated atmospheric CO₂ (FACE) in Pinus taeda (loblolly pine). *Tree Physiology*, **29**: 789-797.
- Long SP, Ainsworth EA, Rogers A, Ort DR. 2004.** Rising atmospheric carbon dioxide: Plants face the future. *Annual Review of Plant Biology*, **55**: 591-628.

- Luo Z-B, Calfapietra C, Scarascia-Mugnozza G, Liberloo M, Polle A. 2008.** Carbon-based secondary metabolites and internal nitrogen pools in *Populus nigra* under Free Air CO₂ Enrichment (FACE) and nitrogen fertilisation. *Plant and Soil*, **304**.
- Luomala EM, Laitinen K, Kellomaki S, Vapaavuori E. 2003.** Variable photosynthetic acclimation in consecutive cohorts of Scots pine needles during 3 years of growth at elevated CO₂ and elevated temperature. *Plant Cell and Environment*, **26**: 645-660.
- Makino A. 1994.** BIOCHEMISTRY OF C₃-PHOTOSYNTHESIS IN HIGH CO₂. *Journal of Plant Research*, **107**: 79-84.
- Marek MV, Urban O, Sprtova M, Pokorny R, Rosova Z, Kulhavy J. 2002.** Photosynthetic assimilation of sun versus shade Norway spruce *Picea abies* (L.) Karst needles under the long-term impact of elevated CO₂ concentration. *Photosynthetica*, **40**: 259-267.
- Marek MV. 2011.** Uhlík v ekosystémech České republiky v měnícím se klimatu.
- Maroco JP, Breia E, Faria T, Pereira JS, Chaves MM. 2002.** Effects of long-term exposure to elevated CO₂ and N fertilization on the development of photosynthetic capacity and biomass accumulation in *Quercus suber* L. *Plant Cell and Environment*, **25**: 105-113.
- Mattson WJ, Julkunen-Tiitto R, Herms DA. 2005.** CO₂ enrichment and carbon partitioning to phenolics: do plant responses accord better with the protein competition or the growth differentiation balance models? *Oikos*, **111**: 337-347.
- Michopoulos P. 2011.** Effects of increasing CO₂ on trees and intensively monitored plots: research needs in view of future ecosystem studies. *Iforest-Biogeosciences and Forestry*, **4**: 172-175.
- Mildner M, Bader MKF, Leuzinger S, Siegwolf RTW, Korner C. 2014.** Long-term C-13 labeling provides evidence for temporal and spatial carbon allocation patterns in mature *Picea abies*. *Oecologia*, **175**: 747-762.
- Moore BD, Cheng SH, Sims D, Seemann JR. 1999.** The biochemical and molecular basis for photosynthetic acclimation to elevated atmospheric CO₂. *Plant Cell and Environment*, **22**: 567-582.
- Moore BD, Sheen J. 1999.** Plant sugar sensing and signaling - a complex reality. *Trends in Plant Science*, **4**: 250-250.
- Moore DJP, Gonzalez-Meler MA, Taneva L, Phippen JS, Kim HS, DeLucia EH. 2008.** The effect of carbon dioxide enrichment on apparent stem respiration from *Pinus taeda* L. is confounded by high levels of soil carbon dioxide. *Oecologia*, **158**: 1-10.
- Murakeozy EP, Smirnoff N, Nagy Z, Tuba Z. 2002.** Seasonal accumulation pattern of pinitol and other carbohydrates in *Limonium gmelini* subsp. *hungarica*. *Journal of Plant Physiology*, **159**: 485-490.
- Murray MB, Smith RI, Friend A, Jarvis PG. 2000.** Effect of elevated CO₂ and varying nutrient application rates on physiology and biomass accumulation of Sitka spruce (*Picea sitchensis*). *Tree Physiology*, **20**: 421-434.
- Nabity PD, Hillstrom ML, Lindroth RL, DeLucia EH. 2012.** Elevated CO₂ interacts with herbivory to alter chlorophyll fluorescence and leaf temperature in *Betula papyrifera* and *Populus tremuloides*. *Oecologia*, **169**: 905-913.
- Niinemets U, Flexas J, Penuelas J. 2011.** Evergreens favored by higher responsiveness to increased CO₂. *Trends in Ecology & Evolution*, **26**: 136-142.
- Norby RJ, Cotrufo MF, Ineson P, O'Neill EG, Canadell JG. 2001.** Elevated CO₂, litter chemistry, and decomposition: a synthesis. *Oecologia*, **127**: 153-165.
- Norby RJ, De Kauwe MG, Domingues TF, Duursma RA, Ellsworth DS, Goll DS, Lapola DM, Luus KA, MacKenzie AR, Medlyn BE, Pavlick R, Rammig A, Smith B, Thomas R, Thonicke K, Walker AP, Yang X, Zaehle S. 2016.** Model-data synthesis for the next generation of forest free-air CO₂ enrichment (FACE) experiments. *New Phytologist*, **209**: 17-28.
- Norby RJ, DeLucia EH, Gielen B, Calfapietra C, Giardina CP, King JS, Ledford J, McCarthy HR, Moore DJP, Ceulemans R, De Angelis P, Finzi AC, Karnosky DF, Kubiske ME, Lukac M, Pregitzer KS,**

- Scarascia-Mugnozza GE, Schlesinger WH, Oren R. 2005.** Forest response to elevated CO₂ is conserved across a broad range of productivity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **102**: 18052-18056.
- Norby RJ, Wullschleger SD, Gunderson CA, Johnson DW, Ceulemans R. 1999.** Tree responses to rising CO₂ in field experiments: implications for the future forest. *Plant Cell and Environment*, **22**: 683-714.
- Nowak RS, Ellsworth DS, Smith SD. 2004.** Functional responses of plants to elevated atmospheric CO₂ - do photosynthetic and productivity data from FACE experiments support early predictions? *New Phytologist*, **162**: 253-280.
- Oksanen E, Riikonen J, Kaakinen S, Holopainen T, Vapaavuori E. 2005.** Structural characteristics and chemical composition of birch (*Betula pendula*) leaves are modified by increasing CO₂ and ozone. *Global Change Biology*, **11**: 732-748.
- Osborne CP, Beerling DJ. 2003.** The penalty of a long, hot summer. Photosynthetic acclimation to high CO₂ and continuous light in "living fossil" conifers. *Plant Physiology*, **133**: 803-812.
- Osorio ML, Goncalves S, Osorio J, Romano A. 2005.** Effects of CO₂ concentration on acclimatization and physiological responses of two cultivars of carob tree. *Biologia Plantarum*, **49**: 161-167.
- Overdieck D, Fenselau K. 2009.** Elevated CO₂ concentration and temperature effects on the partitioning of chemical components along juvenile Scots pine stems (*Pinus sylvestris* L.). *Trees-Structure and Function*, **23**: 771-786.
- Patankar R, Mortazavi B, Oberbauer SF, Starr G. 2013.** Diurnal patterns of gas-exchange and metabolic pools in tundra plants during three phases of the arctic growing season. *Ecology and Evolution*, **3**: 375-388.
- Pego JV, Kortstee AJ, Huijser G, Smeekens SGM. 2000.** Photosynthesis, sugars and the regulation of gene expression. *Journal of Experimental Botany*, **51**: 407-416.
- Penning de Vries FWT. 1975.** The cost of maintenance processes in plant cells. *Annals of botany*.
- Polle A, McKee I, Blaschke L. 2001.** Altered physiological and growth responses to elevated CO₂ in offspring from holm oak (*Quercus ilex* L.) mother trees with lifetime exposure to naturally elevated CO₂. *Plant Cell and Environment*, **24**: 1075-1083.
- Poorter H, Navas ML. 2003.** Plant growth and competition at elevated CO₂: on winners, losers and functional groups. *New Phytologist*, **157**: 175-198.
- Poorter H, VanBerkel Y, Baxter R, DenHertog J, Dijkstra P, Gifford RM, Griffin KL, Roumet C, Roy J, Wong SC. 1997.** The effect of elevated CO₂ on the chemical composition and construction costs of leaves of 27 C-3 species. *Plant Cell and Environment*, **20**: 472-482.
- Pushnik JC, Garcia-Ibancieta D, Bauer S, Anderson PD, Bell J, Houpius JLJ. 1999.** Biochemical responses and altered genetic expression patterns in ponderosa pine (*Pinus ponderosa* Dougl ex P. Laws) grown under elevated CO₂. *Water Air and Soil Pollution*, **116**: 413-422.
- Quentin AG, Pinkard EA, Ryan MG, Tissue DT, Baggett LS, Adams HD, Maillard P, Marchand J, Landhauesser SM, Lacoite A, Gibon Y, Anderegg WRL, Asao S, Atkin OK, Bonhomme M, Claye C, Chow PS, Clement-Vidal A, Davies NW, Dickman LT, Dumbur R, Ellsworth DS, Falk K, Galiano L, Grunzweig JM, Hartmann H, Hoch G, Hood S, Jones JE, Koike T, Kuhlmann I, Lloret F, Maestro M, Mansfield SD, Martinez-Vilalta J, Maucourt M, McDowell NG, Moing A, Muller B, Nebauer SG, Niinemets U, Palacio S, Piper F, Raveh E, Richter A, Rolland G, Rosas T, St Joanis B, Sala A, Smith RA, Sterck F, Stinziano JR, Tobias M, Unda F, Watanabe M, Way DA, Weerasinghe LK, Wild B, Wiley E, Woodruff DR. 2015.** Non-structural carbohydrates in woody plants compared among laboratories. *Tree Physiology*, **35**: 1146-1165.
- Rae AM, Ferris R, Tallis MJ, Taylor G. 2006.** Elucidating genomic regions determining enhanced leaf growth and delayed senescence in elevated CO₂. *Plant Cell and Environment*, **29**: 1730-1741.

- Raisanen T, Ryyppo A, Julkunen-Tiitto R, Kellomaki S. 2008.** Effects of elevated CO₂ and temperature on secondary compounds in the needles of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.). *Trees-Structure and Function*, **22**: 121-135.
- Rasineni GK, Guha A, Reddy AR. 2011.** Responses of *Gmelina arborea*, a tropical deciduous tree species, to elevated atmospheric CO₂: Growth, biomass productivity and carbon sequestration efficacy. *Plant Science*, **181**: 428-438.
- Reich PB, Hobbie SE, Lee T, Ellsworth DS, West JB, Tilman D, Knops JMH, Naem S, Trost J. 2006.** Nitrogen limitation constrains sustainability of ecosystem response to CO₂. *Nature*, **440**: 922-925.
- Reiter IM, Haberle KH, Nunn AJ, Heerdt C, Reitmayer H, Grote R, Matyssek R. 2005.** Competitive strategies in adult beech and spruce: space-related foliar carbon investment versus carbon gain. *Oecologia*, **146**: 337-349.
- Riikonen J, Kets K, Darbah J, Oksanen E, Sober A, Vapaavuori E, Kubiske ME, Nelson N, Karnosky DF. 2008.** Carbon gain and bud physiology in *Populus tremuloides* and *Betula papyrifera* grown under long-term exposure to elevated concentrations of CO₂ and O₃. *Tree Physiology*, **28**: 243-254.
- Roberntz P, Stockfors J. 1998.** Effects of elevated CO₂ concentration and nutrition on net photosynthesis, stomatal conductance and needle respiration of field-grown Norway spruce trees. *Tree Physiology*, **18**: 233-241.
- Rogers A, Ellsworth DS. 2002.** Photosynthetic acclimation of *Pinus taeda* (loblolly pine) to long-term growth in elevated pCO₂ (FACE). *Plant Cell and Environment*, **25**: 851-858.
- Sala A, Woodruff DR, Meinzer FC. 2012.** Carbon dynamics in trees: feast or famine? *Tree Physiology*, **32**: 764-775.
- Sallas L, Luomala EM, Utriainen J, Kainulainen P, Holopainen JK. 2003.** Contrasting effects of elevated carbon dioxide concentration and temperature on Rubisco activity, chlorophyll fluorescence, needle ultrastructure and secondary metabolites in conifer seedlings. *Tree Physiology*, **23**: 97-108.
- Saxe H, Ellsworth DS, Heath J. 1998.** Tree and forest functioning in an enriched CO₂ atmosphere. *New Phytologist*, **139**: 395-436.
- Schulte M, Von Ballmoos P, Rennenberg H, Herschbach C. 2002.** Life-long growth of *Quercus ilex* L. at natural CO₂ springs acclimates sulphur, nitrogen and carbohydrate metabolism of the progeny to elevated pCO₂. *Plant Cell and Environment*, **25**: 1715-1727.
- Scialdone A, Mugford ST, Feike D, Skeffington A, Borrill P, Graf A, Smith AM, Howard M. 2013.** Arabidopsis plants perform arithmetic division to prevent starvation at night. *Elife*, **2**.
- Senser M, Schotz F, Beck E. 1975.** SEASONAL-CHANGES IN STRUCTURE AND FUNCTION OF SPRUCE CHLOROPLASTS. *Planta*, **126**: 1-10.
- Sholtis JD, Gunderson CA, Norby RJ, Tissue DT. 2004.** Persistent stimulation of photosynthesis by elevated CO₂ in a sweetgum (*Liquidambar styraciflua*) forest stand. *New Phytologist*, **162**: 343-354.
- Smeekens S, Ma JK, Hanson J, Rolland F. 2010.** Sugar signals and molecular networks controlling plant growth. *Current Opinion in Plant Biology*, **13**: 274-279.
- Smith AE, Phillips DV. 1982.** INFLUENCE OF SEQUENTIAL PROLONGED PERIODS OF DARK AND LIGHT ON PINITOL CONCENTRATION IN CLOVER AND SOYBEAN TISSUE. *Physiologia Plantarum*, **54**: 31-33.
- Smith AM, Stitt M. 2007.** Coordination of carbon supply and plant growth. *Plant Cell and Environment*, **30**: 1126-1149.
- Smith AR, Lukac M, Bambrick M, Miglietta F, Godbold DL. 2013.** Tree species diversity interacts with elevated CO₂ to induce a greater root system response. *Global Change Biology*, **19**: 217-228.

- Spinnler D, Egh P, Korner C. 2002.** Four-year growth dynamics of beech-spruce model ecosystems under CO₂ enrichment on two different forest soils. *Trees-Structure and Function*, **16**: 423-436.
- Springer CJ, DeLucia EH, Thomas RB. 2005.** Relationships between net photosynthesis and foliar nitrogen concentrations in a loblolly pine forest ecosystem grown in elevated atmospheric carbon dioxide. *Tree Physiology*, **25**: 385-394.
- Spunda V, Kalina J, Urban O, Luis VC, Sibisse I, Puertolas J, Sptova M, Marek MV. 2005.** Diurnal dynamics of photosynthetic parameters of Norway spruce trees cultivated under ambient and elevated CO₂: the reasons of midday depression in CO₂ assimilation. *Plant Science*, **168**: 1371-1381.
- Stitt M. 1991.** RISING CO₂ LEVELS AND THEIR POTENTIAL SIGNIFICANCE FOR CARBON FLOW IN PHOTOSYNTHETIC CELLS. *Plant Cell and Environment*, **14**: 741-762.
- Streit K, Rinne KT, Hagedorn F, Dawes MA, Saurer M, Hoch G, Werner RA, Buchmann N, Siegwolf RTW. 2013.** Tracing fresh assimilates through *Larix decidua* exposed to elevated CO₂ and soil warming at the alpine treeline using compound-specific stable isotope analysis. *New Phytologist*, **197**: 838-849.
- Stylinski CD, Oechel WC, Gamon JA, Tissue DT, Miglietta F, Raschi A. 2000.** Effects of lifelong CO₂ enrichment on carboxylation and light utilization of *Quercus pubescens* Willd. examined with gas exchange, biochemistry and optical techniques. *Plant Cell and Environment*, **23**: 1353-1362.
- Sun WQ, Li XP, Ong BL. 1999.** Preferential accumulation of D-pinitol in *Acrostichum aureum* gametophytes in response to salt stress. *Physiologia Plantarum*, **105**: 51-57.
- Tallis MJ, Lin Y, Rogers A, Zhang J, Street NR, Miglietta F, Karnosky DF, De Angelis P, Calfapietra C, Taylor G. 2010.** The transcriptome of *Populus* in elevated CO₂ reveals increased anthocyanin biosynthesis during delayed autumnal senescence. *New Phytologist*, **186**: 415-428.
- Taylor G, Street NR, Tricker PJ, Sjodin A, Graham L, Skogstrom O, Calfapietra C, Scarascia-Mugnozza G, Jansson S. 2005.** The transcriptome of *Populus* in elevated CO₂. *New Phytologist*, **167**: 143-154.
- Taylor G, Tallis MJ, Giardina CP, Percy KE, Miglietta F, Gupta PS, Gioli B, Calfapietra C, Gielen B, Kubiske ME, Scarascia-Mugnozza GE, Kets K, Long SP, Karnosky DF. 2008.** Future atmospheric CO₂ leads to delayed autumnal senescence. *Global Change Biology*, **14**: 264-275.
- Teiz L. 2010.** Plant physiology. In: Zeiger E, ed. *Fifth edition*. Sunderland, Massachusetts U.S.A.: Sinauer associates.
- Terashima I, Hanba YT, Tazoe Y, Vyas P, Yano S. 2006.** Irradiance and phenotype: comparative eco-development of sun and shade leaves in relation to photosynthetic CO₂ diffusion. *Journal of Experimental Botany*, **57**: 343-354.
- Teslova P, Kalina J, Urban O. 2010.** Simultaneous Determination of Non-Structural Saccharides and Starch in Leaves of Higher Plants Using Anthrone Reagent. *Chemické Listy*, **104**: 867-870.
- Tissue DT, Griffin KL, Turnbull MH, Whitehead D. 2001.** Canopy position and needle age affect photosynthetic response in field-grown *Pinus radiata* after five years of exposure to elevated carbon dioxide partial pressure. *Tree Physiology*, **21**: 915-923.
- Tissue DT, Lewis JD. 2010.** Photosynthetic responses of cottonwood seedlings grown in glacial through future atmospheric CO₂ vary with phosphorus supply. *Tree Physiology*, **30**: 1361-1372.
- Tjoelker MG, Reich PB, Oleksyn J. 1999.** Changes in leaf nitrogen and carbohydrates underlie temperature and CO₂ acclimation of dark respiration in five boreal tree species. *Plant Cell and Environment*, **22**: 767-778.

- Turnbull MH, Tissue DT, Griffin KL, Rogers GND, Whitehead D. 1998.** Photosynthetic acclimation to long-term exposure to elevated CO₂ concentration in *Pinus radiata* D. Don. is related to age of needles. *Plant Cell and Environment*, **21**: 1019-1028.
- Turnbull MH, Tissue DT, Murthy R, Wang XZ, Sparrow AD, Griffin KL. 2004.** Nocturnal warming increases photosynthesis at elevated CO₂ partial pressure in *Populus deltoides*. *New Phytologist*, **161**: 819-826.
- Uddling J, Wallin G. 2012.** Interacting effects of elevated CO₂ and weather variability on photosynthesis of mature boreal Norway spruce agree with biochemical model predictions. *Tree Physiology*, **32**: 1509-1521.
- Urban O, Hrstka M, Zitova M, Holisova P, Sprtova M, Klem K, Calfapietra C, De Angelis P, Marek MV. 2012a.** Effect of season, needle age and elevated CO₂ concentration on photosynthesis and Rubisco acclimation in *Picea abies*. *Plant Physiology and Biochemistry*, **58**: 135-141.
- Urban O, Janous D, Pokorny R, Markova I, Pavelka M, Fojtik Z, Sprtova M, Kalina J, Marek MV. 2001.** Glass domes with adjustable windows: A novel technique for exposing juvenile forest stands to elevated CO₂ concentration. *Photosynthetica*, **39**: 395-401.
- Urban O, Klem K, Ac A, Havrankova K, Holisova P, Navratil M, Zitova M, Kozlova K, Pokorny R, Sprtova M, Tomaskova I, Spunda V, Grace J. 2012b.** Impact of clear and cloudy sky conditions on the vertical distribution of photosynthetic CO₂ uptake within a spruce canopy. *Functional Ecology*, **26**: 46-55.
- Urban O, Klem K, Holisova P, Sigut L, Sprtova M, Teslova-Navratilova P, Zitova M, Spunda V, Marek MV, Grace J. 2014.** Impact of elevated CO₂ concentration on dynamics of leaf photosynthesis in *Fagus sylvatica* is modulated by sky conditions. *Environmental Pollution*, **185**: 271-280.
- Valladares F, Chico JM, Aranda I, Balaguer L, Dizengremel P, Manrique E, Dreyer E. 2002.** The greater seedling high-light tolerance of *Quercus robur* over *Fagus sylvatica* is linked to a greater physiological plasticity. *Trees-Structure and Function*, **16**: 395-403.
- Van Oosten JJ. 1994.** Sugar feeding mimics effect of acclimation to high-CO₂-rapid down-regulation of Rubisco small-subunit transcripts but not of the large subunit transcripts. In: T. BR, ed.: Journal of plant physiology.
- Vaz M, Cochard H, Gazarini L, Graca J, Chaves MM, Pereira JS. 2012.** Cork oak (*Quercus suber* L.) seedlings acclimate to elevated CO₂ and water stress: photosynthesis, growth, wood anatomy and hydraulic conductivity. *Trees-Structure and Function*, **26**: 1145-1157.
- Veteli TO, Kuokkanen K, Julkunen-Tiitto R, Roininen H, Tahvanainen J. 2002.** Effects of elevated CO₂ and temperature on plant growth and herbivore defensive chemistry. *Global Change Biology*, **8**: 1240-1252.
- Vu JCV, Newman YC, Allen LH, Gallo-Meagher M, Zhang MQ. 2002.** Photosynthetic acclimation of young sweet orange trees to elevated growth CO₂ and temperature. *Journal of Plant Physiology*, **159**: 147-157.
- Walter A, Christ MM, Barron-gafford GA, Grieve KA, Murthy R, Rascher U. 2005.** The effect of elevated CO₂ on diel leaf growth cycle, leaf carbohydrate content and canopy growth performance of *Populus deltoides*. *Global Change Biology*, **11**: 1207-1219.
- Wang XZ, Curtis PS. 2001.** Gender-specific responses of *Populus tremuloides* to atmospheric CO₂ enrichment. *New Phytologist*, **150**: 675-684.
- Warren CR, Adams MA. 2006.** Internal conductance does not scale with photosynthetic capacity: implications for carbon isotope discrimination and the economics of water and nitrogen use in photosynthesis. *Plant Cell and Environment*, **29**: 192-201.
- Warren JM, Jensen AM, Medlyn BE, Norby RJ, Tissue DT. 2015.** Carbon dioxide stimulation of photosynthesis in *Liquidambar styraciflua* is not sustained during a 12-year field experiment. *Aob Plants*, **7**.

- Watanabe M, Umemoto-Yamaguchi M, Koike T, Izuta T. 2010.** Growth and photosynthetic response of *Fagus crenata* seedlings to ozone and/or elevated carbon dioxide. *Landscape and Ecological Engineering*, **6**: 181-190.
- Watanabe M, Watanabe Y, Kitaoka S, Utsugi H, Kita K, Koike T. 2011.** Growth and photosynthetic traits of hybrid larch F-1 (*Larix gmelinii* var. *japonica* x *L. kaempferi*) under elevated CO₂ concentration with low nutrient availability. *Tree Physiology*, **31**: 965-975.
- Wei H, Gou J, Yordanov Y, Zhang H, Thakur R, Jones W, Burton A. 2013.** Global transcriptomic profiling of aspen trees under elevated CO₂ to identify potential molecular mechanisms responsible for enhanced radial growth. *Journal of Plant Research*, **126**: 305-320.
- Wiemken V, Ineichen K. 2000.** Seasonal fluctuations of the levels of soluble carbohydrates in spruce needles exposed to elevated CO₂ and nitrogen fertilization and glucose as a potential mediator of acclimation to elevated CO₂. *Journal of Plant Physiology*, **156**: 746-750.
- Wustman BA, Oksanen E, Karnosky DF, Noormets A, Isebrands JG, Pregitzer KS, Hendrey GR, Sober J, Podila GK. 2001.** Effects of elevated CO₂ and O₃ on aspen clones varying in O₃ sensitivity: can CO₂ ameliorate the harmful effects of O₃? *Environmental Pollution*, **115**: 473-481.
- Wyka TP, Oleksyn J, Zytkowski R, Karolewski P, Jagodzinski AM, Reich PB. 2012.** Responses of leaf structure and photosynthetic properties to intra-canopy light gradients: a common garden test with four broadleaf deciduous angiosperm and seven evergreen conifer tree species. *Oecologia*, **170**: 11-24.
- Wyka TP, Robakowski P, Zytkowski R. 2007.** Acclimation of current-year and previous-year needles of common yew (*Taxus baccata* L.) to irradiance conditions. *Acta Physiologiae Plantarum*, **29**: S123-S123.
- Yamane K, Inotsume A, Nakajima Y, Wada Y, Yamaki Y, Hayashi M, Shimizu A. 2010.** Effects of Light Intensity, Number of Florets, and Water Stress on Quality and Soluble Carbohydrate Contents of Potted Carnation. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*, **79**: 301-307.
- Yang WQ, Murthy R, King P, Topa MA. 2002.** Diurnal changes in gas exchange and carbon partitioning in needles of fast- and slow-growing families of loblolly pine (*Pinus taeda*). *Tree Physiology* **22**: 489-498.
- Zeeman SC, Kossmann J, Smith AM. 2010.** Starch: Its Metabolism, Evolution, and Biotechnological Modification in Plants. *Annual Review of Plant Biology*, Vol 61, **61**: 209-234.
- Zha TS, Kellomaki S, Wang KY, Ryyppo A. 2005.** Respiratory responses of Scots pine stems to 5 years of exposure to elevated CO₂ concentration and temperature. *Tree Physiology*, **25**: 49-56.
- Zha TS, Ryyppo A, Wang KY, Kellomaki S. 2001.** Effects of elevated carbon dioxide concentration and temperature on needle growth, respiration and carbohydrate status in field-grown Scots pines during the needle expansion period. *Tree Physiology*, **21**: 1279-1287.
- Zhang YB, Duan BL, Qiao YZ, Wang KY, Korpelainen H, Li CY. 2008.** Leaf photosynthesis of *Betula albosinensis* seedlings as affected by elevated CO₂ and planting density. *Forest Ecology and Management*, **255**: 1937-1944.
- Zhao HX, Li YP, Zhang XL, Korpelainen H, Li CY. 2012.** Sex-related and stage-dependent source-to-sink transition in *Populus cathayana* grown at elevated CO₂ and elevated temperature. *Tree Physiology*, **32**: 1325-1338.
- Zhou YM, Han SJ, Zhang HS, Xin LH, Zheng JQ. 2007.** Response of needle dark respiration of *Pinus koraiensis* and *Pinus sylvestris* to elevated CO₂ concentrations for four growing seasons' exposure. *Science in China Series D-Earth Sciences*, **50**: 613-619.