

Universita Karlova v Praze

Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Botanika



Michal Daněk

Ekofyziologie rašeliništních erikoidních keřů

- mrazová odolnost a aspekty vodního provozu

Ecophysiology of peat bog ericoid subshrubs

- freezing resistance and water relations

Diplomová práce

Vedoucí práce: RNDr. Petr Sklenář, Ph.D.

Praha 2011

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval samostatně a že jsem uvedl všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 4. května 2011

Michal Daněk

Poděkování

Chci na tomto místě poděkovat především Petru Sklenářovi za vymyšlení tématu diplomové práce, velkou a kvalifikovanou podporu při jejím zpracování, ať už v teoretické nebo terénní rovině. Stejně díky patří Andree Kučerové, zejména za cenné konzultace i vydatnou pomoc v terénu. Rovněž chci poděkovat zaměstnancům Botanického ústavu AV ČR v Třeboni, s nimiž jsem v průběhu těch dvou let přišel do styku, za všemožnou podporu a trpělivost, s kterou mi velmi usnadnili práci na daném pracovišti. Mezi nimi chci zvláště zdůraznit zaměstnance oddělení funkční ekologie a dámy z laboratoří v „Kostce“, kde jsem jim často okupoval váhy.

Díky patří též Grantové agentuře University Karlovy, která nám na projekt poskytla grant (GAUK 43-259182).

Obsah

Obsah	3
Abstrakt	5
Abstract	6
1. Úvod	7
1.1. Působení mrazu na rostliny – základní pojmy	7
1.2. Vztah odolnosti k mrazu a vodního režimu rostliny	9
1.3. Vodní potenciál	10
1.4. Erikoidní keříky a mráz	12
1.4. Cíle a otázky práce	14
2. Metodika	15
2.1. Lokality a druhy	15
2.1.1. Lokality	15
2.1.2. Studované druhy	16
2.2. Sběr vzorků na lokalitách	17
2.3. Měření teplot na lokalitách	18
2.4. Laboratorní zjišťování parametrů odolnosti k nízkým teplotám	18
2.4.1. Laboratorní zjišťování exotermie	19
2.4.2. Laboratorní určování indexu poškození	19
2.5. Laboratorní stanovení parametrů vodního provozu	21
2.5.1. Princip tlakové komory a p-V křivky	21
2.5.2. Vlastní měření v tlakové komoře a konstrukce p-V křivky	24
2.6. Statistické zpracování	26
2.6.1. Odolnost k nízkým teplotám	26
2.6.2. Analýza p-V křivek	26
3. Výsledky	28
3.1. Teploty na lokalitách	28

3.2. Odolnost k nízkým teplotám -----	33
3.2.1. Potíže se zpracováním a provedené úpravy primárně získaných dat -	33
3.2.2. Změny parametrů odolnosti k nízkým teplotám v průběhu sezóny ---	36
3.3. Vodní provoz -----	40
4. Diskuse -----	49
4.1. Metodika -----	49
4.1.1. Mrazová odolnost-----	49
4.1.2. Parametry vodního provozu -----	50
4.2. Výsledky -----	51
4.2.1. Teploty na lokalitách -----	51
4.2.2. Parametry mrazové odolnosti -----	51
4.2.3. Parametry vodního provozu -----	56
5. Závěr -----	60
6. Citovaná literatura -----	62
8. Přílohy	

Abstrakt

Předkládaná práce se zabývá sezónními změnami v odolnosti k mrazu a ve vodním provozu u keřů z čeledi *Ericaceae*: brusinky – *Vaccinium vitis-idaea*, borůvky – *V. myrtillus*, vlochyně – *V. uliginosum* a klikvy – *Oxycoccus palustris* na dvou lokalitách výrazně se lišících nadmořskou výškou. Celkem bylo během vegetačního období roku 2009 učiněno 8 odběrů vzorků k vyšetření odolnosti k mrazu a 6 odběrů ke stanovení parametrů vodního provozu. Zkoumanými parametry byly pro popis mrazové odolnosti: teplota při níž dochází k nukleaci (exoterma), teplota vyvolávající 50% poškození (LT50). Pro popis vodního provozu byly sestrojeny p-V křivky, s jejichž pomocí byly nalezeny hodnoty parametrů: osmotický potenciál při maximálním turgoru, osmotický potenciál při nulovém turgoru, relativní obsah vody při ztrátě turgoru, poměr obsahu cytoplasmatické vody a celkového obsahu vody a modul elasticity při plném nasycení vodou.

Byla zjištěna výrazná sezónní proměnlivost odolnosti k mrazu. Ta dosahovala nejvyšších hodnot na jaře a na podzim, nejnižší byla v létě. Rovněž se měnily využívané mechanismy odolnosti – po většinu roku byly rostliny tolerantní, pouze v letním období vykazovaly mechanismy avoidance.

Sezónní průběh hodnot parametrů vodního provozu byl méně jednoznačný. Většina rostlin projevovala neprůkazný pokles v hodnotách osmotického potenciálu při maximálním turgoru, osmotického potenciálu při nulovém turgoru, relativního obsahu vody při ztrátě turgoru a poměru obsahu cytoplasmatické vody a celkového obsahu vody od jara do podzimu. U *V. vitis-idaea*, *V. uliginosum* a *O. palustris* docházelo směrem k podzimu ke zvyšování modulu elasticity. Projevené změny pravděpodobně souvisejí se zvyšující se odolností k mrazu.

Klíčová slova:

Mrazová odolnost, tolerance, avoidance, vodní provoz, erikoidní keřky, sezónní průběh, *Vaccinium vitis-idaea*, *V. myrtillus*, *V. uliginosum*, *Oxycoccus palustris*

Abstract

The seasonal changes in freezing resistance and water relations in four dwarf shrub species of *Ericaceae* family: *Vaccinium vitis-idaea*, *V. myrtillus*, *V. uliginosum* and *Oxycoccus palustris* in two study areas differing in altitude were studied in this work. To establish the freezing resistance, the plants were sampled eight times, to determine parameters of the water relations, the plants were sampled six times during the growing season of 2009. For the freezing resistance examination, ice nucleation temperature (exotherm) and 50 per cent lethal temperature (LT50) were found. The water relations were described using the parameters derived from the pressure-volume curves: osmotic potential at full turgor, osmotic potential at zero turgor, cytoplasmic water fraction, relative water content at turgor loss and bulk modulus of elasticity.

An important seasonal variability in the freezing resistance was found. The highest levels of the freezing resistance were reached in the spring and in the autumn, the lowest levels were found in the summer. There were also changes in the used mechanisms of the freezing resistance – for most of the year, the plants were tolerant, they showed the avoidance mechanism only in the summer.

The seasonal changes in the water relation parameter were less unambiguous. The most of the plants showed a non-significant decrease in the values of the osmotic potential at full turgor, the osmotic potential at zero turgor, the cytoplasmic water fraction and the relative water content at turgor loss from the spring to the autumn. In *V. vitis-idaea*, *V. uliginosum* and *O. palustris* the values of the bulk modulus of elasticity increased towards the autumn. These changes may interrelate to the increasing freezing tolerance.

Keywords:

Freezing resistance, tolerance, avoidance, water relations, ericoid shrubs, seasonal changes, *Vaccinium vitis-idaea*, *V. myrtillus*, *V. uliginosum*, *Oxycoccus palustris*

1. Úvod

Nízké teploty jsou na Zemi široce rozšířeným fenoménem. Na velkém měřítku jsou amplitudy a četnosti výskytu nízkých teplot určeny makroklimaticky, teploty klesají se vzrůstající zeměpisnou šířkou. Nejnížší teploty se vyskytují v centrální Antarktidě (kolem -90°C), v Grónsku a východní Sibiři (až -68°C). Na 64% povrchu pevniny je průměrná roční minimální teplota nižší než 0°C , na 48% povrchu nižší než -10°C , na 35% nižší než -20°C a na 25% nižší než -40°C . Pouze na $\frac{1}{4}$ rozlohy pevnin se teploty nižší než 0°C vůbec nevyskytují (Sakai *et* Larcher 1987). Rozdíly ve výskytu nízkých teplot na středním měřítku jsou dány zejména nadmořskou výškou, na malém měřítku pak mikroklimatem daného místa, které je ovlivněno např. místní geomorfologií, hydrologií apod. (Larcher 2003). V průběhu geologické minulosti docházelo ke globálnímu snižování teploty na Zemi (Sakai *et* Larcher 1987) a rostliny byly nuceny se na měnící se podmínky adaptovat. Předpokládá se, že adaptace na přežití mrazových teplot navázala na předchozí přizpůsobení rostlin k životu v podmínkách s (nejdříve periodickým) nedostatkem vody (Larcher 2003).

1.1. Působení mrazu na rostliny – základní pojmy

Teploty pod bodem mrazu mají na rostliny dvojí účinek. Jednak dochází k vlastnímu působení nízkých teplot na biochemické (např. Ensminger 2007) a biofyzikální (např. Smallwood *et* Bowles 2002) vlastnosti buňky.

Klíčové struktury a funkce zasažené nízkými teplotami jsou biomembrány a metabolické procesy v rostlině. Membrány se vlivem nízké teploty stávají méně fluidními, což ovlivňuje jejich permeabilitu, může docházet i ke zlomům membrán (Guy 2003, Guy *et al.* 2008). Při nízké teplotě se snižuje intenzita hydrofobních interakcí, což může mít vliv na konformaci proteinů, tedy i enzymů, které se tak mohou měnit ve své aktivitě (Guy 2003, Guy *et al.* 2008). Jako nejcitlivější na chlad je uváděna thylakoidní membrána chloroplastů a plasmalema (Smallwood *et* Bowles 2002). Nízkými teplotami je výrazně inhibován enzymatický komplex rozkládající vodu (OEC), součást fotosystému II (Ensminger 2007). Jedním z nejčasnějších dopadů

působení nízké teploty na rostliny je výrazné snížení intenzity fotosyntézy, což může vést k fotoinhibici (Peng *et al.* 2008)..

Adaptace na tento typ dopadů nízkých teplot tak spočívá zejména ve změnách ve struktuře membrán (desaturace), přizpůsobení metabolických pochodů, např. syntézou isozymů aktivních při nižších teplotách (Levitt 1980). Zvyšují se koncentrace látek potlačujících vliv fotoinhibice a oxidačního stresu (Bravo *et al.* 2007, Peng *et al.* 2008), rovněž se hromadí prekursory stavebních složek buněčné stěny (Adámková *et al.* 2006).

Druhý typ účinků souvisí s tvorbou ledu uvnitř rostlinného těla. Intracelulární nukleace (tvorba ledu uvnitř živých buněk) vede vždy k smrti buňky (Levitt 1980). Pokud se led tvoří v apoplastu (extracelulární nukleace), led nepoškozuje protoplast přímo, ale buňky jsou vedle samotných účinků působených nízkými teplotami navíc vystaveny stresu působenému právě přítomností ledu ve své blízkosti. Nad vznikající ledovou masou je totiž tenze vodní páry nižší než nad roztokem v buňce, a tak se voda (v plynné fázi) z buňky přesouvá po spádu parciálních tlaků na tvořící se led, dokud se tenze nevyrovnají (Sakai *et Larcher* 1987). Protoplast tedy vodu ztrácí a tato se transportuje směrem k ledové mase, která se tím zvětšuje. Protoplast může v důsledku ztráty vody zmenšit svůj objem až o $\frac{1}{3}$. Tak vyvolává extracelulární vymrzání jednak dehydrataci protoplastů, jednak může působit mechanicky (Guy 2003).

Mechanismy odolnosti k mrazu jsou dvojí: tolerance a avoidance (Levitt 1980). Cílem mechanismů avoidance je zabránit tvorbě ledu v rostlinném těle. Možností je snížení teploty tuhnutí roztoku v apoplastu zvýšením koncentrací osmoticky aktivních látek. Dosažené snížení této teploty je ale relativně malé, výsledná teplota tuhnutí se může pohybovat pouze mezi -1°C až -3°C (Procházka *et al.* 1998). Dalším z mechanismů je podchlazení vody v rostlině. Homogenní nukleace vody (tj. minimální teplota, při níž se za daného tlaku může voda vyskytovat ještě v kapalné fázi) nastává přibližně při -38°C (Levitt 1980). Do této hodnoty může být voda v tzv. podchlazeném stavu (supercooled). Kapalina v podchlazeném stavu je však značně nestabilní, kdykoliv může dojít k nukleaci vlivem např. otřesu nebo tvorby ledu na povrchu rostliny (Workmaster *et al.* 1999). Ve většině případů je tedy nepravděpodobné, že by nepřetržité podchlazení mohlo vytrvat po delší časový úsek (Rundel *et al.* 1994). Výjimkou jsou např. buňky dřevního parenchymu, kambia nebo květních meristémů, které jsou schopny setrvat v podchlazeném stavu po dlouhá období v zimě (Sakai *et Larcher*, 1987). Podchlazení se ale hojně vyskytuje u rostlin zažívajících pravidelné

střídání mrazu a vysokých teplot optimálních pro růst a vývoj, typicky v oblastech tropických hor (např. Beck 1994, Rada *et al.* 2001).

Tolerance spočívá ve schopnosti rostliny přežít tvorbu ledu ve svém těle a s tím spojené efekty, zejména dehydrataci (viz kapitulu 1.2.).

Nástup a prohlubování tolerance souvisí často s rytmicitou prostředí (Larcher 2003), kromě vlastních teplot prostředí je vyvolávána např. fotoperiodou (Soitamo *et al.* 2008). Toto zvyšování odolnosti – aklimace – spočívá v postupném uplatňování adaptací na různé úrovni. Hladina odolnosti k mrazu je v podmínkách temperátního klimatu v různých obdobích roku odlišná (Sakai *et Wardle* 1978). Stejně tak se v úrovni odolnosti liší rostliny z různých zeměpisných šířek (Sakai *et Weiser* 1973) a to i v rámci jednoho druhu (Zhen *et Ungerer* 2008).

Zmrznutí vody je provázeno uvolněním skupenského tepla fázového přechodu, které se projeví měřitelným zvýšením teploty v místě, kde došlo ke zmrznutí. (Levitt 1980). Tento nárůst teploty se nazývá exoterma. Pro srovnání úrovně odolnosti je využívána jednak tato hodnota, jednak veličina LT50 (Levitt 1980). Jde o teplotu, při níž dochází k 50% poškození vzorku, smrti poloviny počtu jedinců apod. Porovnáním hodnoty LT50 s teplotou, při níž dochází k nukleaci (ve stejném vzorku), lze usoudit, zda daný vzorek využívá mechanismů tolerance, nebo avoidance. Je-li LT50 nižší než teplota, při níž dochází k nukleaci, je rostlina schopna přežít i určité rozpětí teplot, kdy už je v jejím těle přítomen led, a vykazuje tedy toleranci. V opačném případě daná rostlina využívá mechanismů avoidance.

1.2. Vztah odolnosti k mrazu a vodního režimu rostliny

Při procesech spojených se změnou mrazové odolnosti nebo při samotném působení nízkých teplot se výrazně mění i vodní poměry v rostlině a v jejím bezprostředním okolí. Při holomrazech může promrznat půdní voda a ta je pak nedostupná kořenům. Při vysoké sluneční radiaci (hlavně na konci zimy) se vlivem absorpce světla zahřívá povrch rostlin a mohou se otevírat průduchy. Tím se snižuje tlak v apoplastu. Tato změna nemůže pak být vyrovnána příjmem vody kořenovým systémem. Vzrůstající podtlak může vést až ke vzniku kavitace až embolie v xylému, tedy přerušení vodního sloupce (Marchand 1996). Vy stavení rostliny suchu (zejména na začátku nebo konci vegetační sezóny) může vést ke zvýšení odolnosti k mrazu (Anisko *et Lindstrom* 1996).

Při extracelulárním promrznání tvořící se led způsobuje dehydrataci protoplastů (viz kapitolu 1.1.) V buňce proto dochází ke zvýšené syntéze látek snižujících osmotický potenciál (tím pádem protoplasty více „poutají“ vodu). Jde zejména o tzv. kompatibilní soluty – mono a oligosacharidy, některé aminokyseliny a jejich deriváty, polyalkoholy, polyaminy i některé proteiny (Kosová *et al.* 2007). Hromadění kompatibilních solutů je jedním z charakteristických projevů zvyšování tolerance (Levitt 1980, Sakai *et al.* 1987). Snížení vodního potenciálu listu rovněž vede ke snížení teploty, při níž v daném listu mrzne podchlazená voda, zvyšuje se tedy kapacita podchlazení (Rundel *et al.* 1994).

Dále jsou syntetizovány látky chránící proteiny a membrány před účinky dehydratace. Tuto funkci plní jednak opět kompatibilní soluty, zejména však různé ochranné proteiny. Jedněmi z nich jsou proteiny LEA („late embryogenesis abundant“) neboli dehydriny. (Smallwood *et al.* 2002).

Mechanismy zamezující dehydrataci působené extracelulární nukleací jsou tedy namnoze podobné dějům probíhajícím v rostlině při klasickém stresu ze sucha. Podobné jsou i molekulárně biologické a genetické cesty, které takovéto mechanismy spouštějí (Liu *et al.* 1998, Chinnusamy 2007).

1.3. Vodní potenciál

(není-li citováno jinak, byla kapitola zpracována z Procházka *et al.* 1998, Kirkham 2005, Pavlová 2005)

Vodní potenciál (Ψ_w) je veličina popisující stav vody v rostlině a jejím okolí. Je odvozen z chemického potenciálu vody. Vodní potenciál čisté vody je roven nule. Voda se v systému pohybuje z míst s větším potenciálem do oblastí o potenciálu nižším. Vodní potenciál má několik aditivních složek:

$$\Psi_w = \Psi_s + \Psi_p + \Psi_g + \Psi_m$$

Osmotický potenciál (Ψ_s) je závislý na koncentraci látek rozpuštěných v roztoku (je tím nižší). Číselně jde o zápornou hodnotu osmotického tlaku, který je přímo úměrný koncentraci (či spíše aktivitě) solutů.

$$\Psi_s = - c \cdot R \cdot T$$

(c =molární koncentrace solutů, R = universální plynová konstanta, T =termodynamická teplota)

Tlakový potenciál (Ψ_p) je rozdíl mezi tlakem vody (v buňce, apoplastu) a tlakem atmosférickým. Může nabývat kladných (tlak v apoplastu kořene při dostatečném zásobení vodou, turgor – viz dále) i záporných hodnot (podtlak v xylému při transpiraci a nedostatku vody).

Gravitační potenciál (Ψ_g) je hydrostatický tlak vody v určité výšce od referenční hladiny.

$$\Psi_g = h \cdot \rho \cdot g$$

(h =výška nad referenční hladinou, ρ =hustota vody, g =tíhové zrychlení v dané výšce a místě)

V blízkosti povrchu Země a při uvažovaném normálním tíhovém zrychlení se tedy na každý metr výšky zvyšuje o přibližně 0.01 MPa. U nízkých rostlin jej lze tedy proti ostatním složkám zanedbat.

Matriční potenciál (Ψ_m) je potenciál vody v kapilárních prostorech buněčných stěn, půdy apod. a vyjadřuje míru adsorpce molekul vody na povrchy. U hydratovaných pletiv je zanedbatelný proti ostatním složkám.

1.3.1. Parametry vodního provozu

V dalším textu bude hovořeno o následujících veličinách charakterizujících vodní poměry rostliny:

Relativní obsah vody

Poměr aktuálního obsahu vody ku obsahu maximálnímu. Hodnotu lze například zjistit zvážení čerstvé hmotnosti, hmotnosti při plném nasycení vodou a suché hmotnosti vzorku.

Turgor

Pozitivní tlakový potenciál uvnitř buněk, tlak protoplastu na buněčnou stěnu. Obvykle je menší, než absolutní hodnota osmotické složky. Pozitivní turgor je nezbytnou podmínkou růstu. Nejvyšší hodnoty dosahuje turgor při plném nasycení vodou. Při nedostatku vody hodnota turgoru klesá. Při nulové hodnotě turgoru („turgor loss point“) dochází k vadnutí rostliny. Při zanedbání gravitační a matriční složky vodního potenciálu je možno odečtem turgoru od celkového vodního potenciálu získat hodnoty osmotického potenciálu při daném obsahu vody, např. hodnoty osmotického potenciálu při plném nasycení vzorku vodou nebo při ztrátě turgoru.

Modul elasticity

Charakterizuje elasticitu/rigiditu buněčné stěny, udává, jak změna turgoru buňky ovlivní její objem.

Hodnoty osmotického potenciálu při plném nebo nulovém turgoru, hodnoty relativního obsahu vody při nulovém turgoru či hodnoty modulu elasticity při plném turgoru jsou často využívanými charakteristikami vodního provozu určité rostliny, zejména ve smyslu posuzování jejího hospodaření s vodou (rostliny adaptované na nedostatek vody apod.).

Např. některé stálezelené rostliny mají v porovnání s blízkými příbuznými opadavými druhy při ztrátě turgoru nižší hodnoty osmotického potenciálu a při stejném relativním obsahu vody si podržují vyšší turgor (Sobrado 1986). Výše jmenované parametry mohou ohrážet rozšíření zkoumaných druhů (Baltzer *et al.* 2008). Hodnoty parametrů se mění v průběhu vegetační sezóny, např. u chasmoxyt v subtropích klesaly hodnoty osmotického potenciálu při maximálním i nulovém turgoru od zimy do léta a od léta do podzimu narůstaly (Gouvra *et* Grammatikopoulos 2006). Stejně hodnoty naproti tomu od léta do zimy klesaly u stálezelených dřevin v teplém temperátu, stejně jako v uvedeném období vzrůstala hodnota modulu elasticity (Harayama *et al.* 2006).

1.4. Erikoidní keříky a mráz

Keříky z čeledi *Ericaceae* se často vyskytují na teplotně, vlhkostně i živinově extrémních stanovištích. Míra odolnosti k mrazu ohráží původní rozšíření rostlin.

Například u rodu *Vaccinium* (na Britských ostrovech) bylo zjištěno, že vlochyně - *V. uliginosum*, zasahující nejvíce na sever, má vůči mrazu odolnost nejvyšší, zatímco borůvka - *V. myrtillus*, jejíž severní hranice rozšíření se nalézá jižněji, vykazuje (v rámci rodu) nejnižší míru odolnosti. Brusinka - *V. vitis-idaea*, zasahující severněji než borůvka, nicméně do menších zeměpisných šířek než vlochyně, obráží toto své rozšíření v úrovni odolnosti, která je nižší než u vlochyně, ale vyšší než u borůvky (Polwart 1970 in Bannister *et al.* 2001).

U některých druhů rodu *Vaccinium* byla prokázána přítomnost bariér mezi jednotlivými orgány, zejména květy nebo plody a stopkou, které zabraňují rozšíření nukleace započaté např. ve stonku do květů nebo plodů, v nichž tak zůstává voda v podchlazeném stavu při nižších teplotách než v jiných částech rostliny (Workmaster *et al.* 1999). Tento mechanismus ochrany generativních orgánů před působením mrazu se typicky vyskytuje u rostlin alpínského stupně, tedy teplotně extrémních stanovišť (Hacker *et al.* 2011).

Odolnost rostlin k mrazu v různých částech roku se výrazně liší. Listy brusinky v zimě přežijí i teploty nižší než $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$, ale v létě je nejzazší teplotou, která v nich nevyvolá žádné poškození, -5°C (Sakai *et al.* 1987). U prýtlů borůvky, brusinky a vlochyně se od léta do podzimu snižuje teplota, při níž je detekovatelná exoterma, zvyšuje se tedy kapacita avoidantního mechanismu podchlazení (Beerling *et al.* 2001). Úroveň odolnosti tedy rychle stoupá na podzim během procesu aklimace. V této fázi bylo u keřků pozorováno množství změn v metabolismu buněk, např. zvýšení koncentrace ochranných proteinů (dehydrinů) a snížení obsahu vody v buňkách (Taulavuori *et al.* 2003) nebo zvýšení koncentrace kryoprotektivního proteinu podobného chitinásám v buňkách felodermu. Tato koncentrace poté neklesá po skončení dormance a tak jsou staré části rostliny odolnější než nové letorosty (Kikuchi *et al.* 2008).

Odolnost může být rychle ztracena při vystavení rostlin v období dormance vysoké teplotě – deaklimaci. Taková událost má pak výrazně negativní dopad na další růst rostlin (Bokhorst *et al.* 2008). Taulavuori (1997) uvádí, že k úplné deaklimaci u *Vaccinium myrtillus* postačuje v zimě zvýšení teplot o jednotky $^{\circ}\text{C}$.

Při výskytu extrémních mrazů v období dormance nebo při náhlých a náhodných jarních mrazech jsou keřky schopny po masivním zničení nadzemních orgánů poměrně rychle regenerovat. Nejprve dochází k obnově vegetativního růstu a po několika letech se dostaví i návrat generativního rozmnožování (Tolvanen 1996).

Úroveň odolnosti ovlivňují i některé abiotické faktory prostředí. Při dvojnásobném obsahu CO₂ ve vzduchu (tedy 700 ppm) oproti současnému stavu a vyšším podílu UV-B došlo ke zvýšení teploty nukleace v pletivech *V. myrtillus*, *V. uliginosum* a *V. vitis-idea* (Beerling *et al.* 2001). Tento efekt se ještě prohloubí, pokud se spolu s koncentrací CO₂ zvýší i obsah dusíku v půdě. Při samotném zvýšení obsahu dusíku naopak úroveň odolnosti vzroste (Taulavuori *et al.* 1997).

Erikoidní keřky zahrnují opadavé i stálezelené druhy. Stálezelené druhy v listech i přes zimu zadržují živiny, jedná se o adaptaci na živinově chudé stanoviště. Navíc, pokud jsou v zimě chráněny dostatečnou vrstvou sněhu, mohou v relativně mírných podmínkách (teploty mírně nad bodem mrazu, vlhkost) panujících pod touto vrstvou setrvávat ve stádiu quiescence, kdy sice nerostou, ale mohou fotosyntetizovat (Taulavuori *et al.* 2002, Lundella *et al.* 2010). Schopnost provádět fotosyntézu pod sněhovou pokrývkou má i opadavá *Vaccinium myrtillus*, která k tomu využívá svých zelených větví (Marchand 1996).

1.4. Cíle a otázky práce

Předkládaná práce si klade za cíl vyšetřit sezónní průběh některých ekofyziologických charakteristik vybraných druhů erikoidních keřků s ohledem na lokalitu, na níž se tyto vyskytují. Konkrétně si autor položil následující otázky:

1. Jaký je sezónní průběh parametrů mrazové odolnosti zvolených druhů?
2. Jak se mění využívání mechanismů avoidance a tolerance u jednotlivých druhů v průběhu vegetačního období?
3. Jaký je sezónní průběh parametrů vodního provozu u jednotlivých druhů?
4. Liší se jednotlivé studované druhy v parametrech mrazové odolnosti nebo vodního provozu podle lokality?
5. Je patrná nějaká souvislost mezi sezónními průběhy mrazové odolnosti a vodního provozu?

2. Metodika

2.1. Lokality a druhy

Zvolené druhy byly odebírány na dvou lokalitách. Tyto byly vybrány tak, aby se lišily v nadmořské výšce, tedy i v četnosti výskytu mrazových teplot. Pro účel porovnání ekofysiologických vlastností různých druhů erikoidních keřů bylo podstatné, aby se tyto vyskytovaly na zvolených lokalitách ve velkých populacích, jednak proto, aby nedocházelo k ohrožení životoschopnosti daných populací, a také kvůli možnosti výběru jedinců.

Pro obě lokality a pro zvolené druhy byla získána patřičná povolení ke vstupu a provádění výzkumu ve zvláště chráněných částech přírody (§ 73 odst. 2 zákona ČNR č. 114/1992 Sb.) a výjimky ze zákazů u zvláště chráněných druhů rostlin (§ 51 odst. 1 zákona ČNR č. 114/1992 Sb.)

2.1.1. Lokality

(není-li citováno jinak, byly údaje o lokalitách převzaty z Dohnal *et al.* 1965)

Jezerní slat'

Ombrotrofní montánní vrchoviště o nadmořské výšce 1055 – 1075 m. Jde o jedno z nejchladnějších míst na území České republiky (<http://www.npsumava.cz/>).

Červené blato

Submontánní blatkové vrchoviště v nadmořské výšce 465 - 475 m (Albrecht *et al.* 2003). Na místech, kde byla v 19. století těžena rašelina, se v současnosti vyskytují otevřená druhotná sukcesní společenstva se studovanými druhy erikoidních keřů.

Klimatické podmínky lokalit nastiňuje Tabulka 2.1.

Tabulka 2.1. Klimatické poměry na lokalitách. Hodnoty pro Jezerní slat' převzaty z Dohnal *et al.* 1965. Hodnoty pro Červené blato převzaty: 1. z Rektoris 1994, 2. hodnoty v závorce převzaty z Dohnal *et al.* 1965 pro lokalitu Velké blato – nadm. výška: 456 – 479 m, která se nachází asi 4,5 km východně od lokality Červené blato (hodnoty pro samotné Červené blato publikace neuvádí)

	Jezerní slat'	Červené blato
Roční srážkový úhrn	1267 mm	600 – 700 (657)
Prům./min./max. teplota vzduchu	3,4°C / -4,7°C / 12,2°C	7°C / (-9,1°C) / (16,3°C)
První/poslední mráz	20. září / 21. května	---
Vegetační perioda	98 dnů 31. května – 6. září	(150 dnů) (6. května) – (1. října)

2.1.2. Studované druhy

Byly zvoleny celkem čtyři druhy, dva druhy opadavé a dva stálezelené. Botanické názvy druhů jsem převzal z Kubát *et al.* 2002.

Stálezelené druhy:

Oxycoccus palustris Pers.

Vaccinium vitis-idaea L.

Opadavé druhy:

Vaccinium myrtillus L.

Vaccinium uliginosum L.

Zatímco *Oxycoccus palustris* a *Vaccinium uliginosum* jsou typickými rostlinami rašelinišť a vyhovuje jim kombinace podmínek přítomných na těchto biotopech – nízké teploty, vysoká hladina podzemní vody, kyselý humolit (Jacquemart 1996, 1997), zbylé dva druhy se vyskytují spíše v degradovaných oblastech rašelinišť s nižší hladinou podzemní vody (Ritchie 1955, 1956).

Tato skutečnost byla pozorována i při našem výzkumu, zejména pak na lokalitě Červené blato. Pro obě lokality platí, že otevřené stanoviště byla osídlena druhem *Oxycoccus palustris*. Ostatní druhy rostly na Jezerní slati v blízkosti porostů dominující *Pinus x pseudopumilio* (*P. mugo* x *P. rotundata*). Na Červeném blatě se *V. uliginosum* vyskytovala na rozhraní rozvolněného porostu *Pinus rotundata* a otevřeného stanoviště

O. palustris, *V. myrtillus* a *V. vitis-idaea* rostly na mírné vyvýšenině s řídkým, prosvětleným porostem *P. rotundata* a břízy. V porovnání se stanovišti *V. uliginosum* a *O. palustris* zde byla nižší hladina podzemní vody a půda byla znatelně sušší. Stanoviště jednotlivých druhů na obou lokalitách od sebe navzájem byla vždy vzdálena méně než 20 metrů.

2.2. Sběr vzorků na lokalitách

Sběr vzorků probíhal ve dvou po sobě následujících letech: 2008 a 2009. Cílem bylo v co možná pravidelných intervalech (3-4 týdny, zejména ze začátku a ke konci vegetačního období) pokrýt celou vegetační sezónu. Jednotlivá data odběrů ukazuje Tabulka 2.2.

Tabulka 2.2. Data odběrů vzorků na lokalitách. V kategorii „Vodní provoz“ znamená hodnota „ano“ skutečnost, že na vzorcích sebraných k danému datu bylo provedeno měření charakteristik vodního provozu, hodnota „ne“ situaci opačnou. Zkratky: „OP“ = *Oxycoccus palustris*, „VM“ = *Vaccinium myrtillus*, „VU“ = *Vaccinium uliginosum*, „VV“ = *Vaccinium vitis-idaea*, „nesb.“ = k danému datu se na lokalitě vzorky nesebraly

2008								
Datum odběru	10. IV	14. IV	02. VI	20. VIII	09. IX	08. X		
Kód data	1	2	3	4	5	6		
Odebrané druhy – Červené blato	OP VM VV	OP VM VV	OP VM VU VV	OP VM VU VV	OP VM VU VV	OP VM VU VV	OP VM VV	OP VM VV
2009								
Datum odběru	14. IV	05. V	26. V	05. VIII	19. IX	09. X	23. X	17. XII
Kód data	1	2	3	4	5	6	7	8
Odebrané druhy – Červené blato	OP VV	OP VM VU VV	OP VM VU VV	OP VM VU VV	OP VM VU VV	OP VM VV	OP VV	OP VV
Odebrané druhy – Jezerní slat'	nesb.	O. pal V.vit	OP VM VU VV	OP VM VU VV	OP VM VU VV	OP VM VV	OP VV	OP VV
Vodní provoz	ano	ano	ano	ano	ano	ne	ano	ne

Na lokalitách byly vzorky vykopány a vyjmuty z půdy s kořenovým balem tak, aby byla co nejméně narušena jejich integrita i aby bylo minimalizováno poškození

okolního porostu. Odebírány byly celé keříky, popř. trsy, vždy z většího porostu druhu. Byla volena taková velikost vzorku, aby tento měl dostatek prýtlů vhodných pro následné měření, ale zároveň aby nebyl zbytečně velký s ohledem na narušení stanoviště. Při příštím odběru byly rostliny odebrané při odběru předchozím obvykle navraceny do místa předchozího odběru.

Odebrané vzorky byly následně urychleně převezeny na pracoviště BÚ AV ČR v Třeboni. Zde byly umístěny do pěstebních nádrží a zality dostatečným množstvím vody. Aby se z listů smyl prach a jiné případné nečistoty, které by mohly komplikovat následné měření, byly rostliny osprchovány vodou. Určování parametrů odolnosti k nízkým teplotám, příp. vodního provozu probíhalo nazítří (odolnost k nízkým teplotám) a v několika dalších dnech (vodní provoz).

2.3. Měření teplot na lokalitách

Po celé trvání vegetačních sezón byly na lokalitách instalovány staničky pro mikroklimatické měření teploty. Pomocí termočlánků byly měřeny teploty vzduchu při povrchu půdy, a ve výškách 40 cm a 120 cm nad povrchem půdy. Rovněž byla měřena teploty půdy – rašeliny v hloubce 10 cm a teplota mechového polštáře. Teploty byly měřeny v desetiminutových intervalech a zaznamenávány dataloggerem. Použité termočlánky a 12svodé dataloggery Minicube byly od firmy EMS Brno (<http://www.emsbrno.cz/>).

2.4. Laboratorní zjišťování parametrů odolnosti k nízkým teplotám

Pro všechny uvedené druhy byly určovány tyto dvě charakteristiky.

1. Bod na záznamu teploty podchlazovaného vzorku, v němž dochází k patrnému a jasně odlišitelnému nárůstu teploty – exotermě (dále bude pro zjednodušení a zkrácení užíváno pro tento bod jednoduše termínu „exoterma“, případně „teplota exotermy“, případně zkratky „EXT“).
2. Hodnotu LT50, tj. teplotu, která vyvolá 50% poškození vzorku.

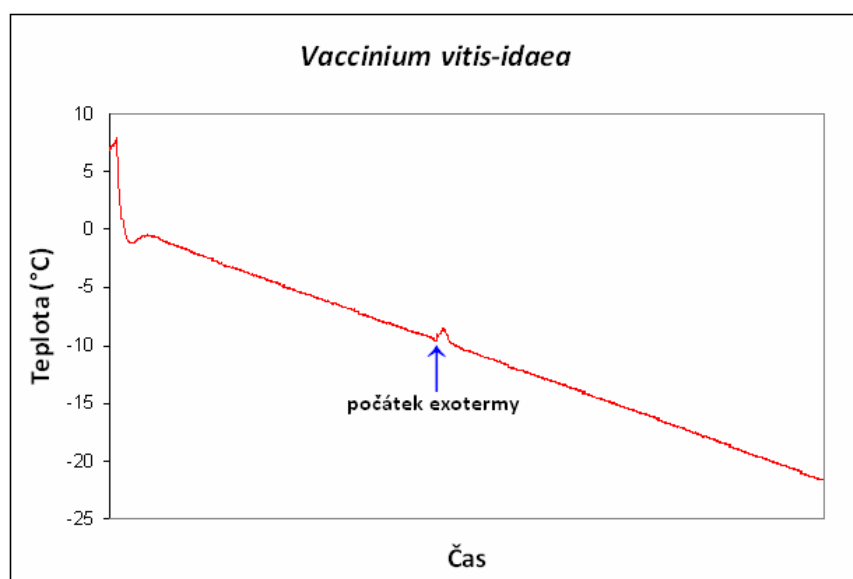
Porovnáním těchto dvou parametrů je možno určit, zda odolnost projevovaná rostlinou v daném čase má charakter avoidance, či tolerance. Použitým materiálem byly listy keříků. Vybírány byly listy zdravé, viditelně nepoškozené a plně vyvinuté.

2.4.1. Laboratorní zjišťování exotermie

Bylo použito 6 až 8 listů od každého druhu a lokality při každém měření. K jednotlivým listům byly připevněny vlasové Cu-Co termočlánky, které měřily teplotu listu každých šest sekund. Naměřené hodnoty byly zaznamenávány dataloggerem.

Nejprve byly vzorky v mrazicím boxu aklimatizovány při teplotě 0°C po dobu 10 min. Poté bylo zahájeno podchlazování vzorku, tedy snižování teploty v mrazicím boxu konstantní rychlostí 5°C za hodinu. Nejnižší dosažená teplota byla dána mrazicí kapacitou boxu, pohybovala se kolem -25°C.

Za teplotu exotermie byla uvažována nejnižší teplota, po níž následovalo výrazné a déletrvající zvýšení teploty listu na záznamu teplot (Obr.2.1.).



Obr. 2.1. Nalezení exotermie na časovém průběhu teplot listu brusinky. Exoterma se objevuje při teplotě -9,60 °C a je patrná jako výrazný nárůst teploty listu – až do hodnoty -8, 57 °C, tedy z zvýšení teploty listu o 1,03 K.

2.4.2. Laboratorní určování indexu poškození

Vzorky – neporušené, plně vyvinuté listy – byly podchlazovány za stejných podmínek jako při hledání exotermie (viz kapitulu 2.4.1.). Při zvolených teplotách –

0°C, -4°C, -8°C, -12°C, -16°C a minimum dosažitelné v použitém mrazicím boxu, resp. 0°C, -3°C, -6°C, -9°C, -12°C a minimum dosažitelné v mrazicím boxu – byly vzorky vyjmuty z mrazicího boxu a byl u nich stanovován index poškození. Bylo využito konduktometrické metody stanovení míry poškození vzorku (Prášil *et* Zámečník 1998).

Podchlazené listy byly upraveny následujícím způsobem. U *Vaccinium myrtillus*, *V. uliginosum* a *V. vitis-idaea* byly z listů korkovrtem vyříznuty kruhové segmenty (z jednoho listu jeden segment) o průměru 4 mm. Tyto segmenty byly vloženy po jednom do plastových uzavíratelných zkumavek a bylo k nim přidáno 5 ml deionizované vody. Na každý druh a lokalitu bylo provedeno 6 opakování. U *Oxycoccus palustris* bylo do zkumavek vloženo po dvou lístcích rozříznutých na poloviny skalpelem a rovněž přilito 5 ml deionizované vody. Následně byly zkumavky se vzorky ponechány jednu hodinu třepat na třepačce. Po vytřepání byly ponechány další hodinu v klidu.

Dalším krokem bylo měření vodivosti výluhu ve zkumavce – naměřená hodnota (L_T) představuje vodivost odpovídající poškození vzorku danou teplotou. Byl použit konduktometr Gryf 158. Zjištěné hodnoty byly zaznamenány.

Nakonec byla změřena maximální vodivost výluhu ve zkumavce – L_{TM} . K této hodnotě jsem dospěl tak, že zkumavky byly zahřívány ve vroucí vodní lázni po dobu 15 minut. Při této teplotě je možno předpokládat dokonalé rozrušení buněk a vylití buněčného obsahu do výluhu. Poměr vodivosti aktuální a maximální je relativní vodivost při dané teplotě – R_T .

$$R_T = \frac{L_T}{L_{TM}}$$

Výpočet indexu poškození dále používá dvě referenční hodnoty. První je R_0 – relativní vodivost při nulovém poškození, jde o průměr relativních vodivostí při teplotě 0 °C. Druhou je R_M – relativní vodivost při maximálním poškození, tedy průměrná relativní vodivost výluhu při poškození vzorku nejnižší teplotou dosaženou v mrazicím boxu. Index poškození I_T při dané teplotě T byl pak spočítán podle vzorce:

$$I_T = \frac{R_T - R_0}{R_M - R_0}$$

2.5. Laboratorní stanovení parametrů vodního provozu

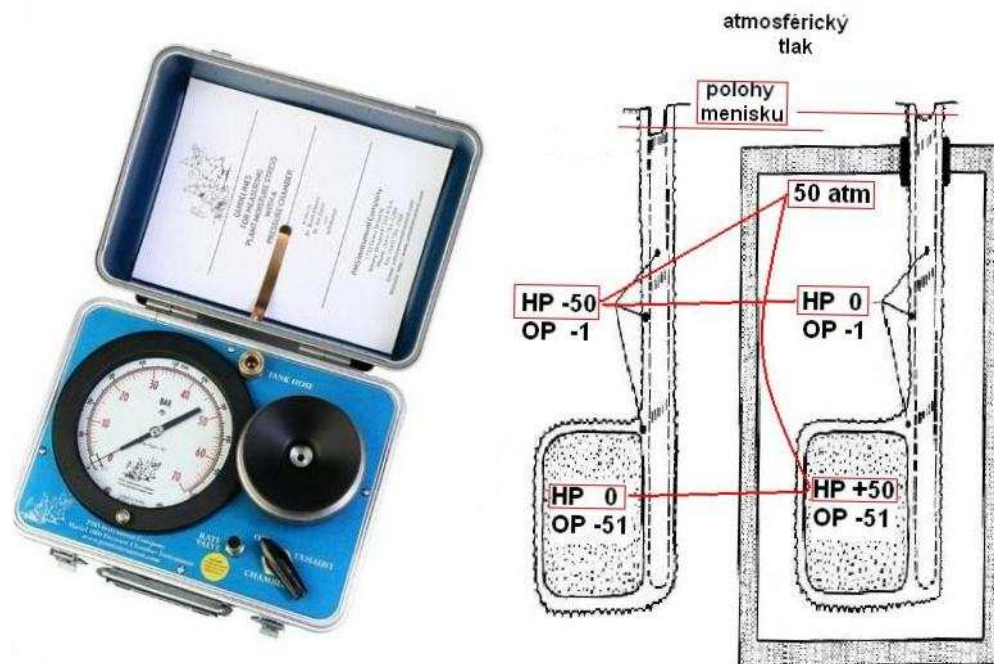
Vodní potenciál byl měřen v tlakové komoře („pressure chamber“). Pro účely hodnocení vodních poměrů v rostlině byla konstruována tzv. p-V křivka („pressure-volume curve“). Jde o vztah „vyrovnávacího“ tlaku („equilibrium pressure“ – tlak potřebný k vyrovnání hydrostatického tlaku uvnitř cévního svazku rostliny s aktuálním tlakem atmosférickým obklopujícím rostlinu) a aktuálního obsahu vody v rostlině (Kirkham 2005).

2.5.1. Princip tlakové komory a p-V křivky

Tlaková komora je zařízení, které umožňuje působením vnějšího tlaku na vzorek zjistit hodnotu tzv. „equilibrium pressure“ (Scholander *et al.* 1965). Princip komory je nastíněn na obrázku 2.2. Pokud rostlina transpiruje, je v jejím xylému podtlak oproti okolnímu atmosférickému tlaku. Při vyrovnání těchto tlaků (např. pokud uřízneme větevku nějaké dřeviny) dojde k tomu, že přerušný vodní sloupec v xylému poklesne, nedosahuje k okraji řezu. Pokud na buňky spojené s tímto elementem xylému působí vnější tlak (např. v tlakové komoře), dojde vlivem tohoto tlaku na buňky k vytlačení vody z protoplastu do xylému, tedy meniskus vodního sloupce v xylému se zvýší. Tlak potřebný ke zvýšení vodního sloupce v xylému až na úroveň řezu (tj. na úroveň, na níž se nacházel, když byl tento sloupec nepřerušný, tedy před narušením rostliny) je „equilibrium pressure“. Absolutní hodnota tohoto tlaku je stejně veliká, jako byla hodnota rozdílu hydrostatického tlaku v xylému a tlaku atmosférického (znaménko je však opačné, v jednom případě šlo o podtlak, v druhém naopak na rostlinu působíme přetlakem). „Equilibrium pressure“ odpovídá opačné hodnotě celkového vodního potenciálu vzorku. Působením dalšího přetlaku v tlakové komoře může dále docházet k vypuzování vody ze vzorku a lze tak simulovat jeho vysychání.

V případě našeho měření byla používána tlaková komora „The Model 1000 Pressure Chamber Instrument“ firmy „PMS Instrument Company“ (<http://www.pmsinstrument.com/>) (Obrázek 2.2.). Tento přístroj umožňuje měření až do hodnoty 7 MPa a vyvíjení tlaku působícího na vzorek je zde dosahováno přepouštěním vzduchu ze zásobní tlakové láhve do tlakové komory. Při tomto typu měření je vzorek vložen do tlakové komory tak, že neporušená část s listy spočívá uvnitř komory, otvorem v komoře prochází část větevky. Z komory tak vyčnívá úsek s řezem. Plocha řezu je pozorována během měření lupou a hodnota vyvíjeného tlaku, při níž dojde k přiblížení

menisku vodního sloupce v xylému vzorku k řezu (projeví se zvlhnutím řezné plochy, které je patrné jako ztmavnutí barvy řezné plochy), je považována za hledanou hodnotu „equilibrium pressure“.



Obr. 2.2. Tlaková komora použitá k měření v našem výzkumu (převzato z <http://pmsinstrument.com/1000.htm>) a schematické znázornění funkce tlakové komory (převzato z Kirkham 2005, upraveno). Rostlina je zde pro jednoduchost znázorněna pouze jako soustava jedné buňky a jedné cévy. „HP“ = hydrostatický tlak, „OP“ = osmotický potenciál. V levé části schematu je uříznutá část rostliny při atmosférickém tlaku. Vodní sloupec v xylému je v důsledku vyrovnání podtlaku v xylému („HP“) s tlakem atmosférickým pokleslý, nesáhá až k řezné ploše. V pravé části schematu byl na buňku aplikován vnější tlak (equilibrium pressure), který způsobil zvýšení menisku vodního sloupce v xylému až k řezné ploše. Tento tlak má stejnou hodnotu, o jakou se lišil hydrostatický tlak v xylému a tlak atmosférický.

p-V křivka (viz Obrázek 2.3.) je grafickým vyjádřením vztahu převrácené hodnoty „equilibrium pressure“ (změřeného pomocí tlakové komory) a obsahu vody ve vzorku. Její body tedy zjistíme měřením „equilibrium pressure“ při různém nasycení vzorku vodou. Lze na ní spatřovat dva úseky. Jednak úsek (quasi)exponenciální a na něj navazující úsek lineární. První část grafu přísluší stavu, v němž si vzorek podržuje

(určitý) turgor. Následuje bod, v němž se průběh křivky mění na lineární. V tomto bodu vzorek turgor ztrácí, rostlina začíná vadnout. Lineární úsek křivky už tedy znamená stav bez turgoru. Jedním z důležitých parametrů odečitatelných z p-V křivky je tedy bod ztráty turgoru.

Proložíme-li lineárním úsekem p-V křivky přímkou, získáme dále průsečky s osami grafu, které rovněž vypovídají o vodním režimu rostliny. Analýzou p-V křivky získáme následující parametry:

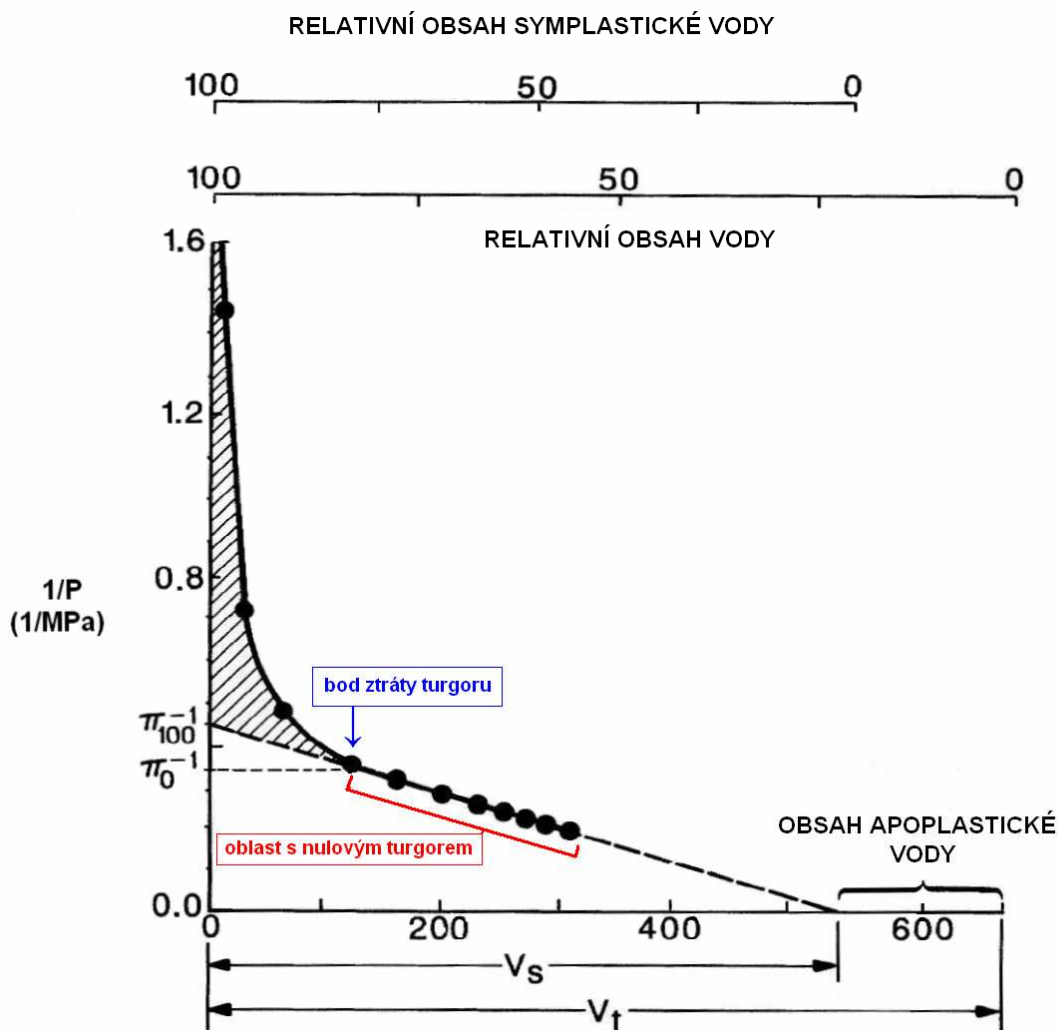
1. převrácenou hodnotu osmotického tlaku při nulovém turgoru – $1/\pi_0$
(y souřadnice bodu ztráty turgoru) a následně hodnotu osmotického potenciálu při nulovém turgoru – $\Psi_{S(0)}$
2. převrácenou hodnotu osmotického tlaku při maximálním turgoru – $1/\pi_{100}$
(průsečík přímky proložené lineárním úsekem křivky s osou y) a následně hodnotu osmotického potenciálu při maximálním turgoru – $\Psi_{S(100)}$
3. poměr obsahů symplastické a apoplastické vody ve vzorku
(průsečík přímky proložené lineárním úsekem křivky s osou x)
5. relativní obsah vody při ztrátě turgoru
4. modul elasticity při maximálním turgoru (při plném nasycení vodou) - ε
spočítán dle rovnice (Tyree *et* Jarvis 1982 *in* Burghardt *et* Riederer 2003):

$$\varepsilon = RWC_{sym} \cdot \frac{\delta\Psi_P}{\delta RWC}$$

kde: RWC_{sym} : relativní obsah symplastické vody. Při plném nasycení vodou je tato hodnota rovna jedné.

δRWC : změna relativního obsahu vody mezi dvěma body p-V křivky, v tomto případě změna z maximálního RWC (=1) na RWC odpovídající druhému bodu p-V křivky.

$\delta\Psi_p$: změna turgoru (tlakového potenciálu) mezi dvěma body p-V křivky, v tomto případě změna z maximálního turgoru – hodnota odpovídající prvnímu bodu p-V křivky – na hodnotu odpovídající druhému bodu p-V křivky. Hodnoty turgorů pro jednotlivé body p-V křivky jsou spočítány jako rozdíl vodního potenciálu (záporná hodnota změřeného „equilibrium pressure“) a potenciálu osmotického. Hodnota osmotického potenciálu v určitém bodu p-V křivky odpovídá průmětu tohoto bodu na přímkou proloženou lineárním úsekem p-V křivky.



Obr. 2.3. p-V křivka. Na ose x je možno vynést několik různých parametrů popisujících obsah vody ve vzorku – zde V_t (spodní osa x) = celkový obsah vody vytlačené při měření (tedy vlastně celkový úbytek vody ve vzorku), V_s = obsah symplastické vody ve vzorku. Další možností je vynést na osu x relativní obsah vody ve vzorku (horní osa x). Na ose y jsou zaznamenávány převrácené hodnoty naměřeného „equilibrium pressure“. Více viz text. (Převzato z Kirkham 2005, upraveno)

2.5.2. Vlastní měření v tlakové komoře a konstrukce p-V křivky

Na každý studovaný druh a lokalitu bylo při každém sběru pracováno se třemi opakováními. Seznam dat odběrů pro stanovování parametrů vodního provozu je uveden v Tabulce 2.2. v kapitole 2.2.

Pro měření byly vybírány vždy vyvinuté a nepoškozené větévky o délce cca 7 – 15 cm. Velikost se lišila podle druhu i lokality, nejmenší byly vzorky *O. palustris*, rostliny stejného druhu pocházející z Jezerní slati byly zřetelně menší než rostliny

z Červeného blata. Klíčové bylo, aby měl vzorek dostatečně dlouhý rovný a nerozvětvený úsek, který bylo nutno prostrčit otvorem v tlakové komoře. Větévka byla uříznuta ostrým nožem a vložena do kádinky s vodou, která dosahovala cca do 3 až 4 cm výšky kádinky. Ústí kádinky bylo zakryto alobalem nebo fólií, aby se v kádince udržovala 100% vzdušná vlhkost. Takto byly rostliny uchovány ve tmě přes noc. Tím bylo zajištěno jejich plné nasycení vodou.

Samotné měření probíhalo v několika krocích:

1. Před začátkem měření byl vzorek ještě jednou seříznut nad původním řezem. Vzorek byl zvážen, zjištěná hodnota zaznamenána jako čerstvá hmotnost při plném nasycení – m_f . Poté byl vzorek instalován do tlakové komory. Byla změřena první hodnota tlaku – p_f (pozorováním řezné plochy, viz předchozí kapitola 2.5.1.) Tím byly získány souřadnice nultého bodu p-V křivky (relativní obsah vody byl 1 – plné nasycení vodou).
2. Aby nedocházelo k opakovanému vyjmutí a uzavírání vzorků do komory za účelem snížení obsahu vody ve vzorku, byla zvolena metoda, kdy dalším působením přetlaku na vzorek dojde k vypuzení jistého množství vody ze vzorku. Tato voda byla nasáta do předem zváženého kousku filtračního papíru, který byl poté znovu zvážen a z rozdílu hodnot byla vypočtena hmotnost vytlačené vody – w_1 . Předem bylo ověřeno, že hmotnost zvlhčeného papíru se snižuje poměrně pomalu (cca 10^{-4} g/10s) a aplikací tohoto postupu dochází jen k zanedbatelnému zkreslení.
3. Po takto provedeném snížení obsahu vody ve vzorku byl tlak v komoře vrácen na hodnotu okolního atmosférického tlaku. V tomto stavu byl vzorek ponechán cca 5 minut, aby se ve vzorku ustavil rovnovážný stav.
4. Opět byl změřen tlak – p_1 . Tím byly získány souřadnice prvního bodu p-V křivky (relativní obsah vody byl snížen o hmotnost vody vytlačené ze vzorku v bodě 2.)
5. Pro nalezení dalších bodů křivky bylo opakováno provedení bodů 2. – 4. devětkrát nebo desetkrát.
6. Po změření poslední hodnoty tlaku byl vzorek vyňat z komory a zvážen.

7. Vzorek byl vysoušen v sušárně po dobu alespoň dvou dnů při teplotě 60 °C do konstantní hmotnosti. Poté byla určena jeho suchá hmotnost m_d .

Při aplikaci tlaku v komoře bylo dbáno na to, aby přetlak nenarůstal příliš rychle nebo skokovitě, nárůst byl cca o 1 MPa za minutu. Tento způsob by měl zabránit případným chybám v měření a poškození zkoumaného materiálu.

2.6. Statistické zpracování

Ke zpracování dat získaných měřeními byly použity programy R, Systat a Microsoft Office Excel. Klimatická data byla analyzována programem Mini32, což je softwarové vybavení dodávané výrobcem dataloggerů.

2.6.1. Odolnost k nízkým teplotám

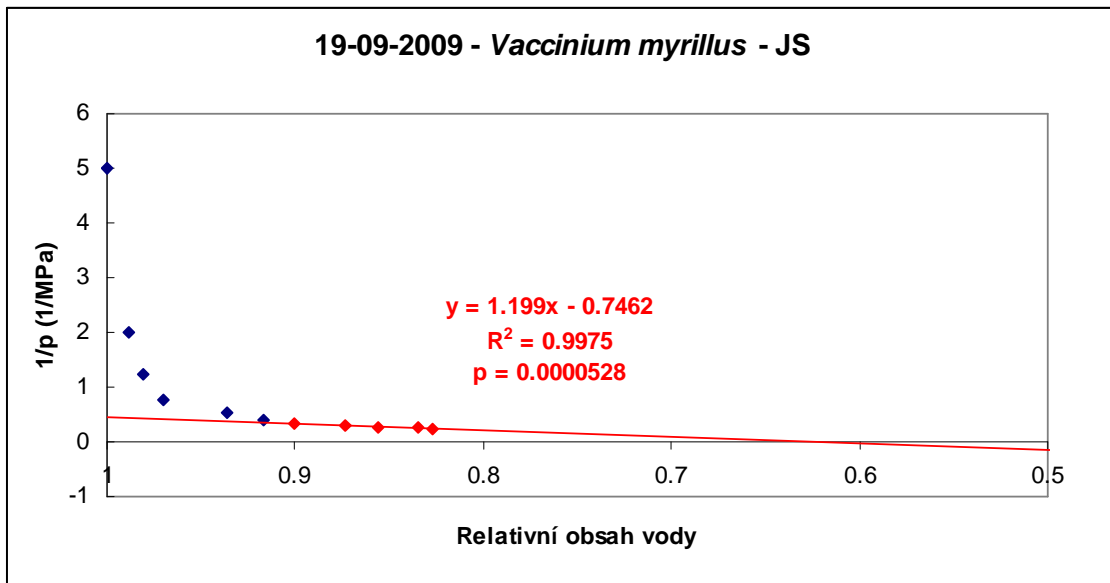
Hodnoty exoterm byly změřeny přímo. Hodnoty LT50 byly nalezeny proložením hodnot I_T v programu Systat logistickým modelem:

$$I_T = I_{\min} + \frac{I_{\max} - I_{\min}}{1 + \exp(4 \times \text{slope} \times (T - Lt50))} \quad (\text{Janáček et Prášil 1991})$$

Pro zjištění struktury odolnosti (avoidance/tolerance) byly porovnávány hodnoty LT50 a exotermem. Změny úrovně odolnosti byly testovány srovnáním jednotlivých hodnot LT50.

2.6.2. Analýza p-V křivek

Po sestavení p-V křivky byla zjišťována délka (počet bodů) jejího lineárního úseku. Byl zjišťován korelační koeficient různě dlouhého úseku křivky při předpokladu linearit. Počet bodů, který nejvíce odpovídal linearitě (R^2 byl nejbližší hodnotě 1), byl považován za hledaný lineární úsek p-V křivky. Byla sestrojena regresní přímka tohoto úseku a byly zjištěny její průsečíky s osami grafu. Nástin interpretace křivky je na Obrázku 2.4.



Obr. 2.4. Příklad sestrojené p-V křivky. Na ose y vyneseny převrácené hodnoty „equilibrium pressure“. Červeně vyznačeny body lineárního úseku křivky (= body, kdy už vzorek nemá turgor), regresní přímka tohoto úseku a její rovnice a regresní koeficient. Konkrétně z této křivky lze odečíst: ke ztrátě turgoru dochází při 90% obsahu vody (tedy obsahu, který tvoří 90 % obsahu při plném nasycení), kdy je $1/p = 0,33$ 1/MPa, tedy při stavu, kdy je v xylému oproti atmosférickému tlaku podtlak $p = 1.03$ MPa. Převrácená hodnota π_{100} (průsečík přímky s osou y) je 0.45 1/MPa, osmotický potenciál vzorku při plném turgoru je tedy 2.22 MPa. Z celkového množství vody ve vzorku je 62% (průsečík přímky s osou x) tvořeno vodou v symplastu a zbytek je voda apoplastická. (Porovnej s Obr. 2.3.)

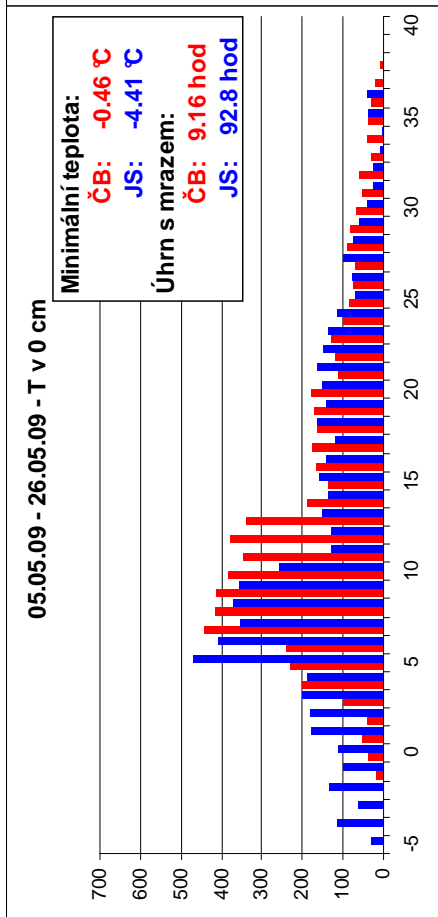
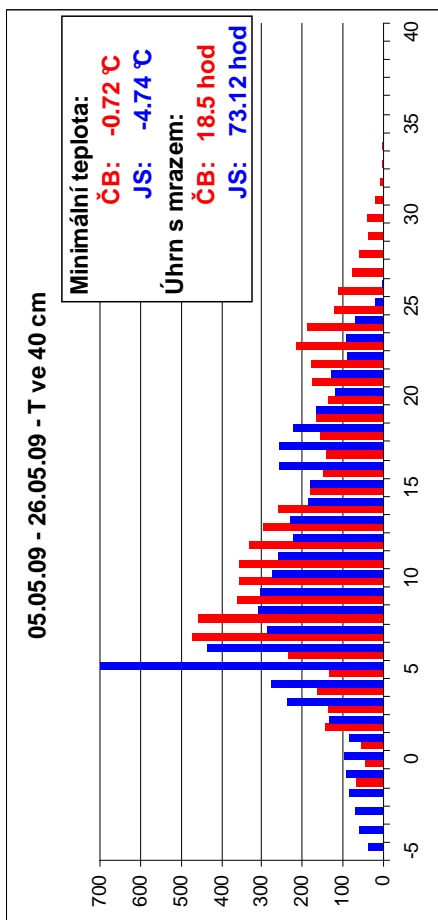
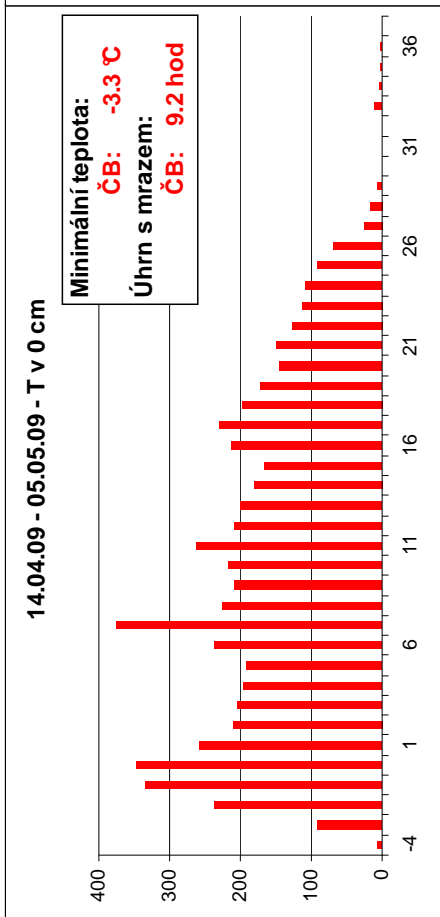
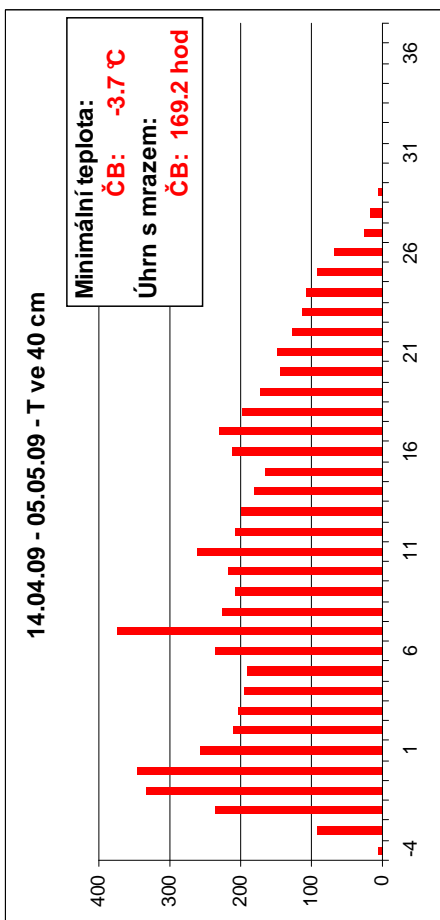
3. Výsledky

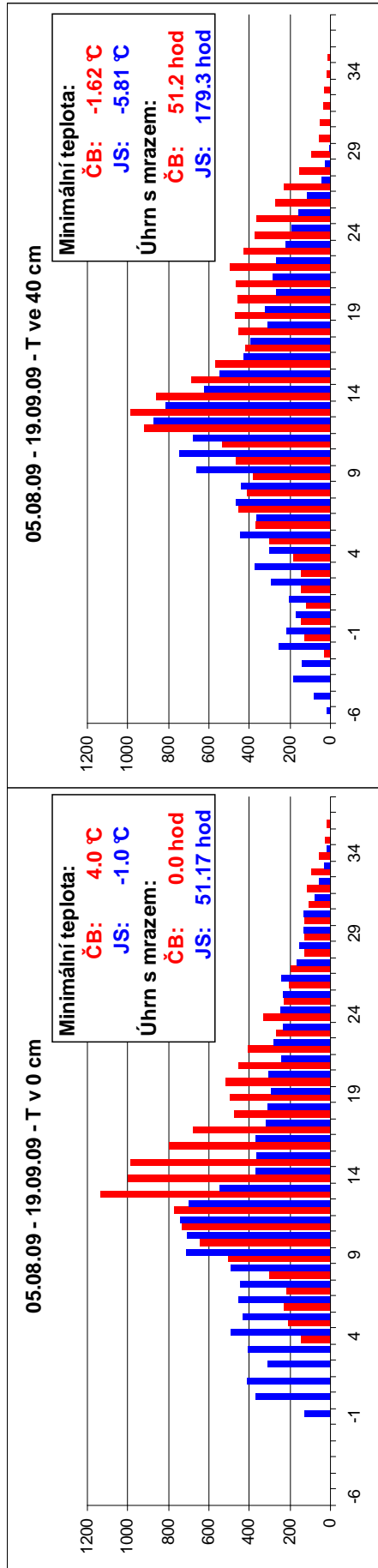
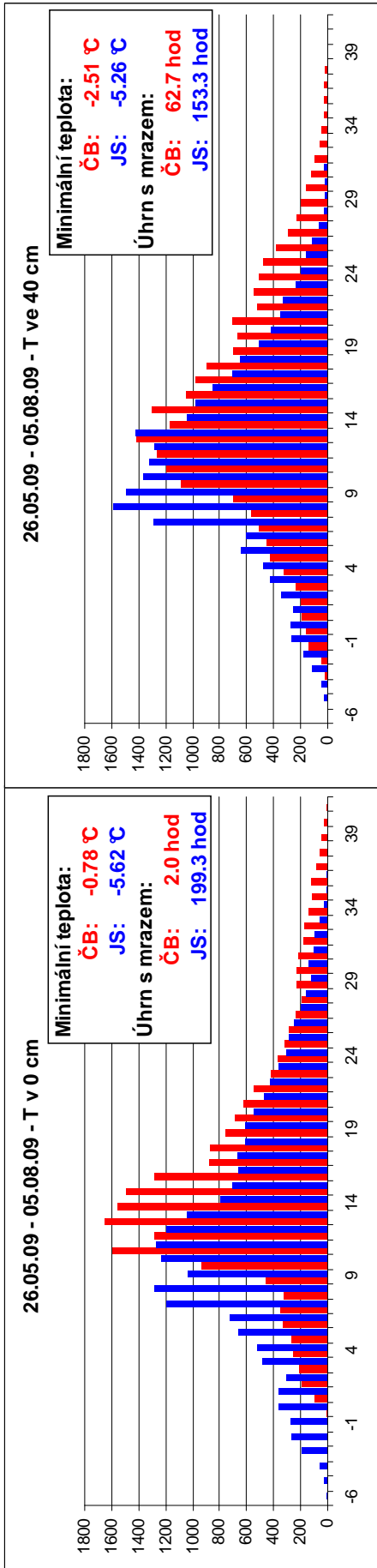
V roce 2008 byly studované druhy na lokalitě Červené blato odebrány celkem šestkrát v průběhu vegetační sezóny. V následujícím roce se uskutečnily odběry na obou lokalitách, a to na lokalitě Červené blato osmkrát a na lokalitě Jezerní slat' sedmkrát. V obou letech byly zjišťovány parametry týkající se odolnosti k nízkým teplotám, v roce 2009 probíhalo i stanovení parametrů vodního provozu, a to při šesti odběrech. Získané výsledky týkající se odolnosti k nízkým teplotám byly do jisté míry primárně neanalyzovatelné. V mnoha případech jimi nebylo možno proložit logistickou křivku nutnou pro zjištění hodnot LT50. Pro tento účel bylo nutné získané hodnoty upravit (viz dále). I přes tyto úpravy ale nebylo možno prakticky získat hodnoty LT50 pro sezónu 2008. Budou tedy prezentovány a následně diskutovány pouze výsledky ze sezóny 2009.

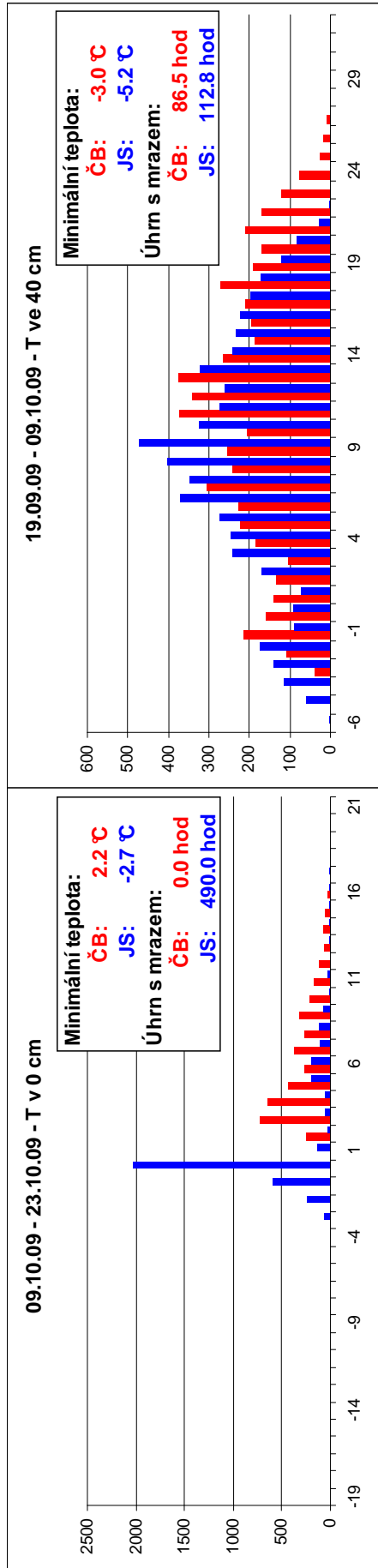
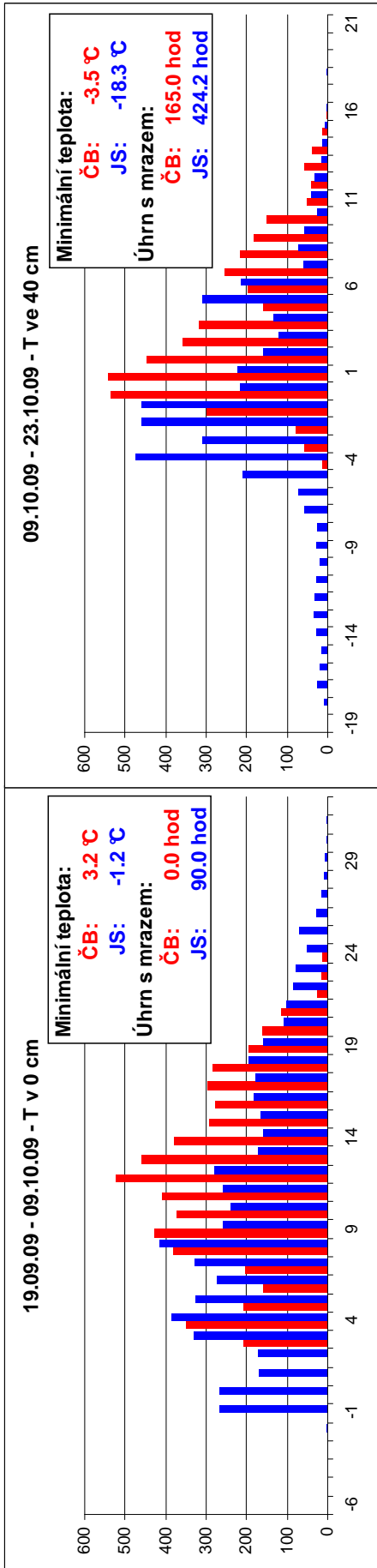
3.1. Teploty na lokalitách

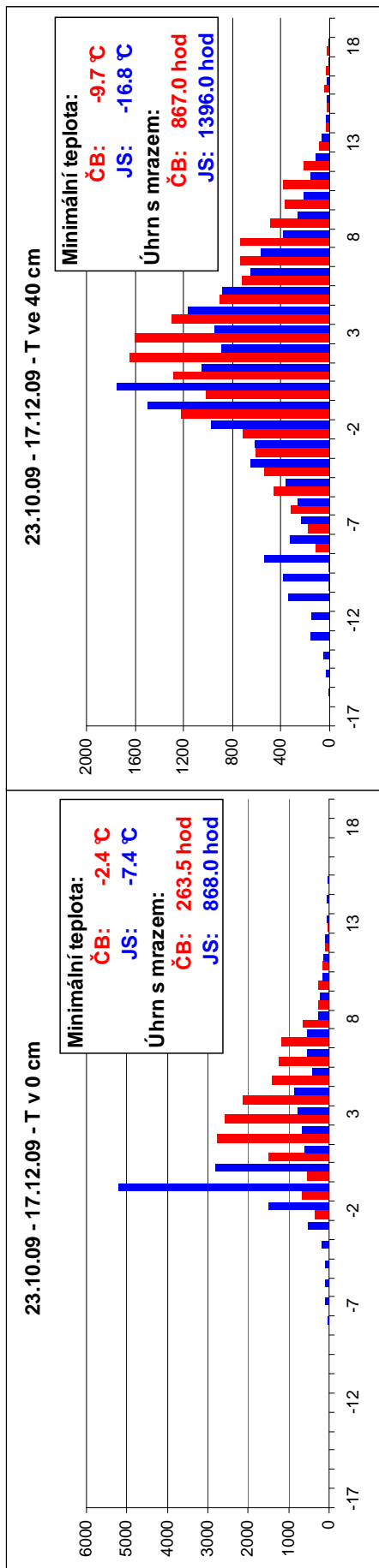
Z naměřených teplot jsou prezentovány hodnoty zjištěné při povrchu půdy a ve 40cm výšce nad povrchem. Studované druhy svým vzrůstem ve většině případů odpovídaly tomuto rozpětí. Presentované časové úseky nejsou stejně dlouhé, vždy jsou obdobím mezi dvěma po sobě následujícími odběry, hranicí je vždy cca 9 hodin ráno. Tak je do měření za dané období vždy zachycena ještě předpokládaná nejchladnější část dne (před úsvitem) předcházející odběru rostlin pro následné měření ekofysiologických parametrů.

Ve všech případech byla zjištěna vyšší frekvence výskytu nízkých teplot na Jezerní slati než na Červeném blatě, kde se naopak častěji vyskytovaly teploty vyšší. Na Jezerní slati rovněž v každém měřeném období mrzlo, a součet dob, kdy mrzlo, byl na Jezerní slati vyšší než na Červeném blatě. Na Červeném blatě při povrchu půdy se v období od 5. srpna do 23. října nepřetržitě vyskytovaly pouze kladné teploty. Ve všech případech byly teploty při povrchu vyšší než teploty ve výšce 40 cm nad povrchem (Obrázek 3.1.). Výskyt mrazových dnů v každém měsíci byl rovněž vždy vyšší na Jezerní slati (Tabulka 3.1.)









Obr.3.1. Histogram četností teplot naměřených na lokalitách. Zachycuje počet měření (osa y), kdy změněná teplota nabývala hodnoty z intervalu na ose x. Rozsah intervalu je 1 °C. Perioda mezi dvěma měřeními byla 10 min. Úhrn dob, po které se určitá teplota na lokalitě vyskytovala lze tedy zjistit vynásobením počtu měření časem = 10 min. V každém grafu zaznamenány hodnoty pro obě lokality: Levé, červené sloupce: Červené blato, pravé, modré sloupce: Jezerní slat'. V rámečku v pravém horním rohu každého grafu zaznamenána minimální teplota dosažená v daném období, a součet délek časových úseků, kdy byla naměřena teplota ≤ 0 °C. Zkratky: „ČB“: Červené blato, „JS“: Jezerní slat'.

Tabulka 3.1. Počet mrazových dnů v každém měsíci na studovaných lokalitách ve výšce 0 cm a 40 cm nad povrchem půdy. Hodnoty pro Jezerní slat' za měsíc duben nebyly změřeny, neboť mikroklimatická stanice zde byla instalována až 5. května. Hodnoty pro měsíc květen na Jezerní slat' jsou tedy uvedeny pouze pro období od 5. do 31. května.

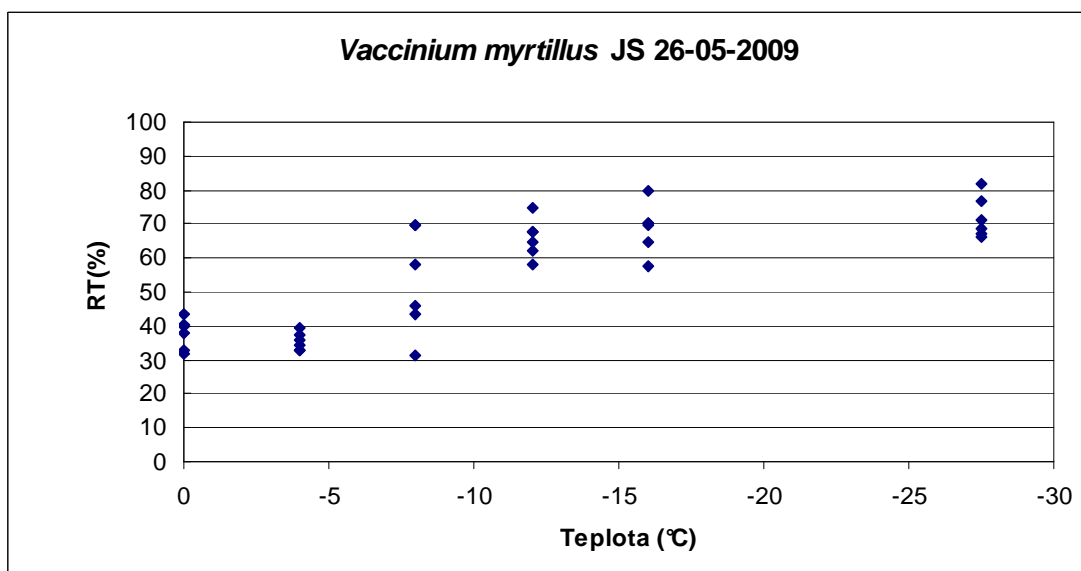
	Červené blato		Jezerní slat'	
	0 cm	40 cm	0 cm	40cm
duben (od 14.)	10	10		
květen	4	7	9	9
červen	0	6	10	9
červenec	0	0	4	4
srpen	0	2	0	3
září	0	7	8	11
říjen	0	13	11	18
listopad	2	16	18	23
prosinec (do 17.)	4	12	13	16

3.2. Odolnost k nízkým teplotám

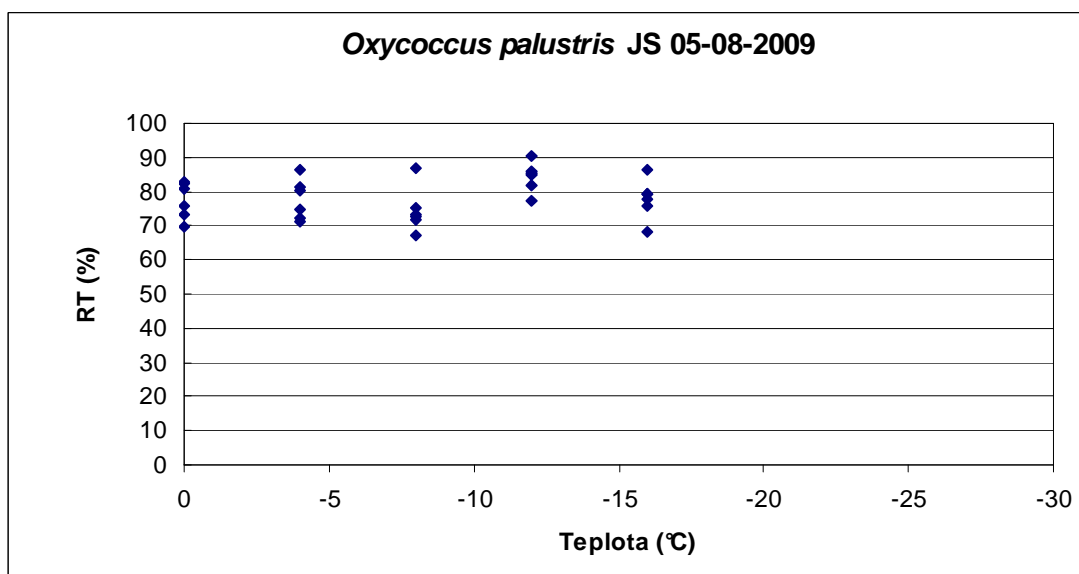
3.2.1. Potíže se zpracováním a provedené úpravy primárně získaných dat

U získaných dat nastávaly někdy následující problémy s vyhodnocením při hledání hodnot LT50:

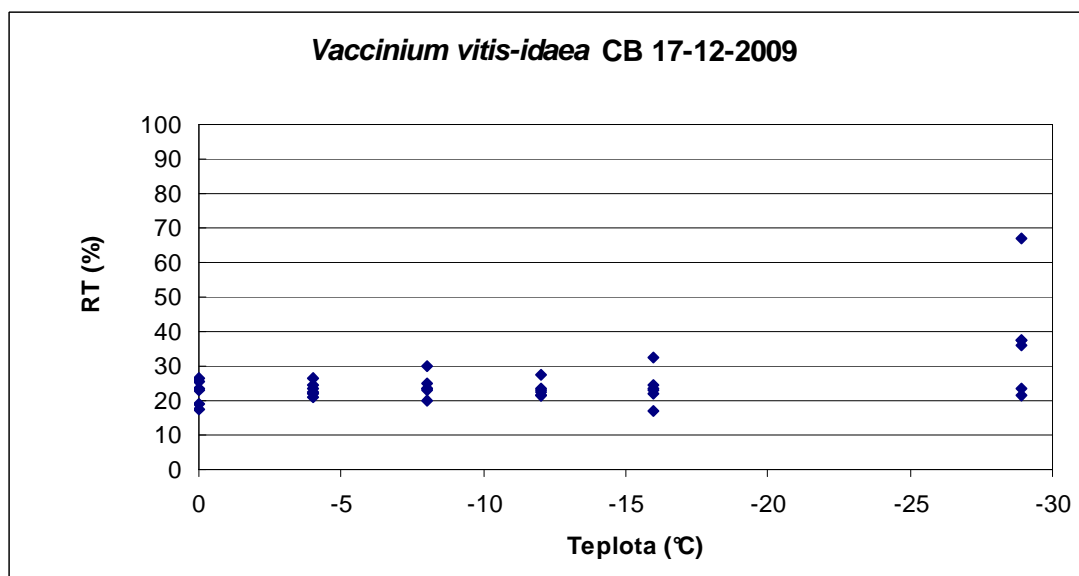
1. vysoký index poškození při nízkých teplotách: zejména v letních měsících (Obr. 3.3.)
2. nízký index poškození při dosahovaných nejnižších teplotách: zejména v pozdním podzimu, dáno malou podchlazovací kapacitou mrazicího boxu oproti venkovním podmínkám (Obr. 3.4.)
3. rozložení indexu poškození podle teplot, které není v souladu se základním předpokladem, že se snižující se teplotou poškození stoupá. Nejspíše důsledek chyby (Obr. 3.5.)



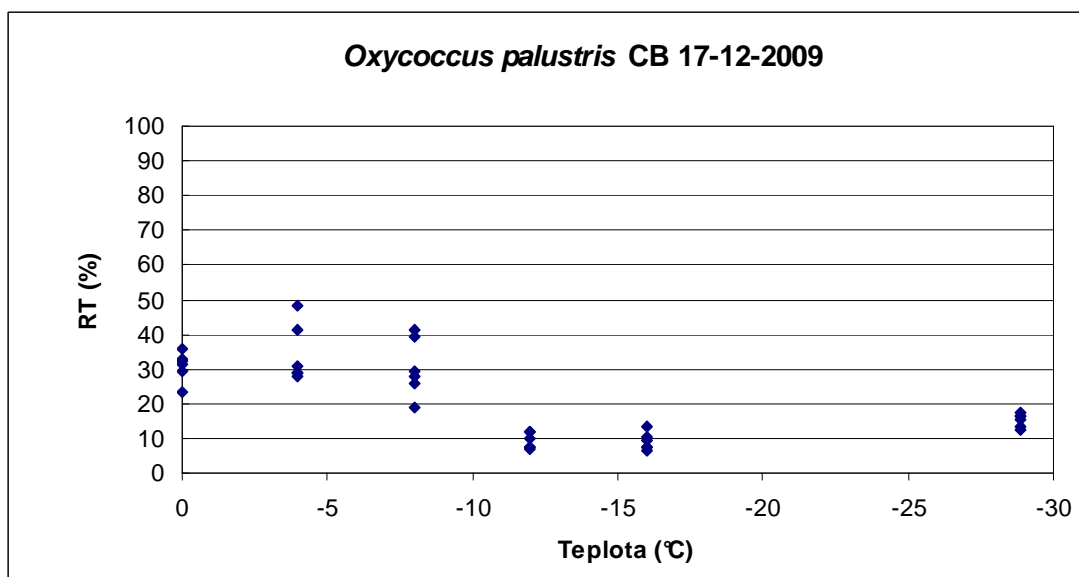
Obr. 3.2. Průběh relativních vodivostí (→ indexu poškození) podle snižující se teploty. Pro každou teplotu vyneseno 6 hodnot odpovídajících šesti měření (viz kapitolu 2.4.2.). Příklad, kdy toto rozložení hodnot R_T dobře odpovídá teoretickým předpokladům: první dvě šestice měření dosahují podobných hodnot, vzorky jsou schopny snášet rozsah teplot bez nárůstu poškození. Třetí a čtvrtá šestice odpovídá oblasti, kde pokles teploty prohlubuje poškození, toto poškození dosahuje maximální míry a dále s klesající teplotou nevzrůstá (porovnání předposlední a poslední šestice).



Obr. 3.3. Průběh relativních vodivostí, kdy již při nízkých teplotách dochází k téměř maximálnímu poškození vzorků. Tímto rozložením relativních vodivostí není možno proložit logistický model, a tedy ani nalézt hodnotu LT50.



Obr. 3.4. Průběh relativních vodivostí, kdy ani minimální teplota dosažená v mrazicím boxu nevyvolá dostatečně vysoké poškození. Hodnoty relativních vodivostí při této minimální teplotě naznačují oblast, kdy (konečně) dochází k nárůstu poškození s klesající teplotou. Není však k dispozici část křivky, kde už by toto poškození kulminovalo a s dalším poklesem teploty nenarůstalo. Není tedy možno nalézt hodnoty LT50.



Obr. 3.5. Nesnadno interpretovatelný průběh relativních vodivostí. Podle grafu by vyšší teploty způsobovaly vyšší úroveň poškození než teploty nízké. Opět není možno proložit změřenými hodnotami logistický model a nalézt hodnotu LT50.

Tato data neumožňující následné úspěšné zpracování byla upravena (seznam všech úprav primárně získaných dat: viz Přílohy). Tyto úpravy spočívaly v:

1. odstranění výrazně odlehlých hodnot (v rámci jednotlivých šestic)
2. odstranění celé šestice v případě, že tato jako jediná odporuje trendu naznačenému ostatními šesticemi
3. přidání další šestice hodnot totožné s šesticí poslední k teplotě -20°C u sběrů z 5.8.2009 a 19.9.2009, kdy vinou snížené podchlazovací kapacity mrazicího boxu nedosáhla teplota uvnitř boxu dostatečně nízkých hodnot. Touto úpravou byla navozena situace simulující kulminaci poškození při nízkých teplotách.

I přes použití úprav se nepodařilo nalézt hodnoty LT50 ve všech případech. Více Tabulka 3.2.

Tabulka 3.2. Případy úspěšného nalezení hodnot LT50 (normální písmo) a případy, kdy nebylo možno tuto hodnotu zjistit (*tučně, kurzívou*). Celkem 8 neúspěšných případů, pouze stálezelené druhy, jednak v létě (vysoké hodnoty poškození již při nízkých teplotách), jednak v pozdním podzimu a v zimě (vysoká úroveň odolnosti vs. nedostatečně nízké teploty dosažitelné mrazicím boxem). Zkratky: „OP“ = *Oxycoccus palustris*, „VM“ = *Vaccinium myrtillus*, „VU“ = *Vaccinium uliginosum*, „VV“ = *Vaccinium vitis-idaea*, „nesb.“ = k danému datu se na lokalitě vzorky nesebraly

2009								
Datum odběru	14. IV	05. V	26. V	05.VIII	19. IX	09. X	23. X	17. XII
Kód data	1	2	3	4	5	6	7	8
Odebrané druhy – Červené blato	OP VV	OP VM VU VV	OP VM VU VV	OP VMV U VV	OP VM VU VV	OP VM VV	OP VV	OP VV
Odebrané druhy – Jezerní slat'	nesb.	OP VV	OP VM VU VV	OP VM VU VV	OP VM VU VV	OP VM VV	OP VV	OP VV

3.2.2. Změny parametrů odolnosti k nízkým teplotám v průběhu sezóny

Hodnoty LT50 a teplot, při nichž dochází k nukleaci (EXT), zjištěných u jednotlivých druhů v průběhu sezóny 2009 ukazuje Obrázek 3.6. Porovnáním těchto hodnot bylo zjištěno, zda rostlina k danému datu vykazuje mechanismy avoidance, nebo tolerance.

Změny v úrovni odolnosti v průběhu vegetační sezóny

Hodnota LT50 stoupá od jara směrem k létu, je nejvyšší na konci května až v září a poté opět klesá. Odolnost je tedy nejvyšší na začátku, resp. konci vegetačního období a nejnižší v létě. U druhu *Oxycoccus palustris* z lokality Jezerní slat' došlo k poklesu odolnosti ještě v říjnu, poté však odolnost opět vzrostla.

Z tohoto trendu se významně vymyká *Vaccinium myrtillus* z lokality Jezerní slat', u něhož byla nejvyšší odolnost zjištěna v srpnu a v září.

Hodnoty LT50 a exotermem pro všechny odběry jsou uvedeny v Přílohách.

Změny ve struktuře odolnosti v průběhu vegetační sezóny

Obecně lze říci, že všechny druhy z obou lokalit po většinu roku vykazují mechanismy tolerance. Avoidantní jsou obvykle pouze v pozdním jaře nebo v létě. Po celou vegetační sezónu vykazovaly toleranci listy *V. uliginosum* na lokalitě Jezerní slat'.

U stejného druhu na druhé lokalitě, stejně jako u *V. vitis-idaea* na obou lokalitách a u *V. myrtillus* na lokalitě Červené blato byla avoidance zjištěna pouze v pozdním květnu. *O. palustris* z obou lokalit projevoval tento typ mechanismu i v časném květnu.

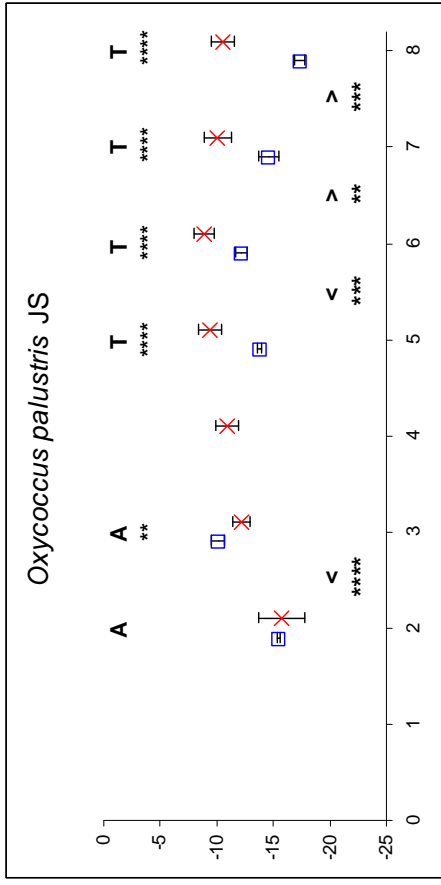
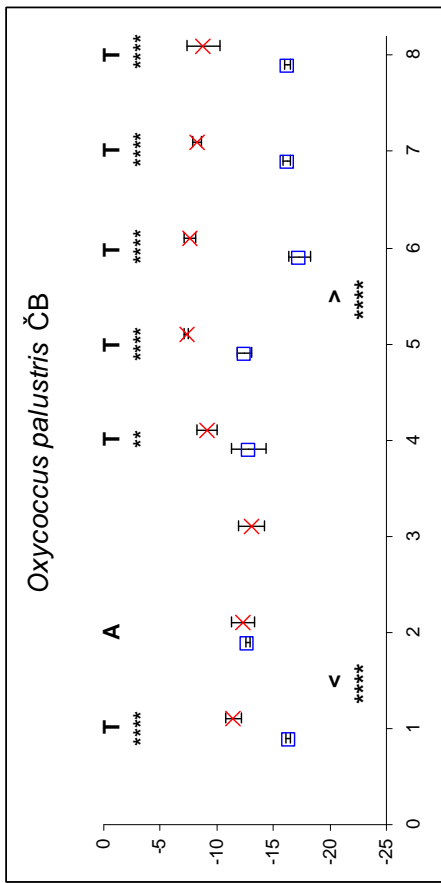
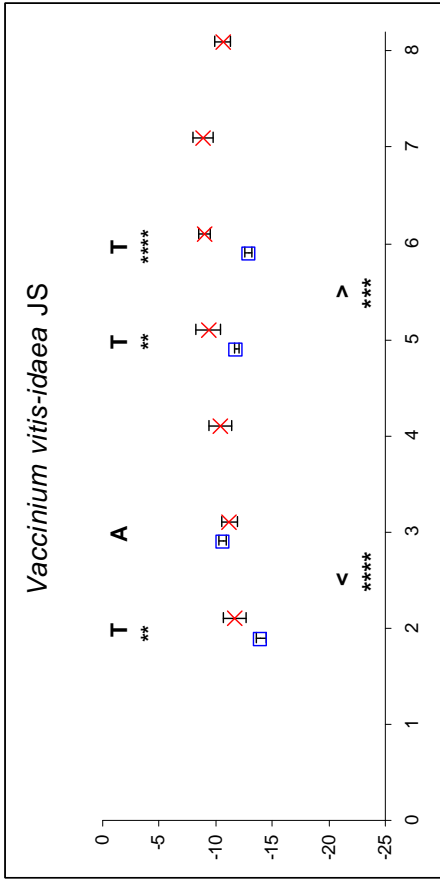
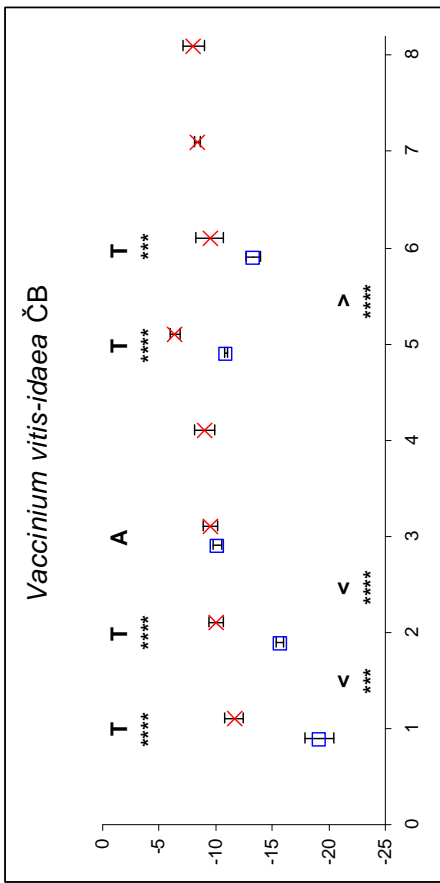
V. myrtillus z lokality Jezerní slať odporuje pozorování učiněnému u ostatních druhů a po většinu vegetačního období využívá mechanismů avoidance. Tolerance byla zjištěna pouze v zářijovém sběru.

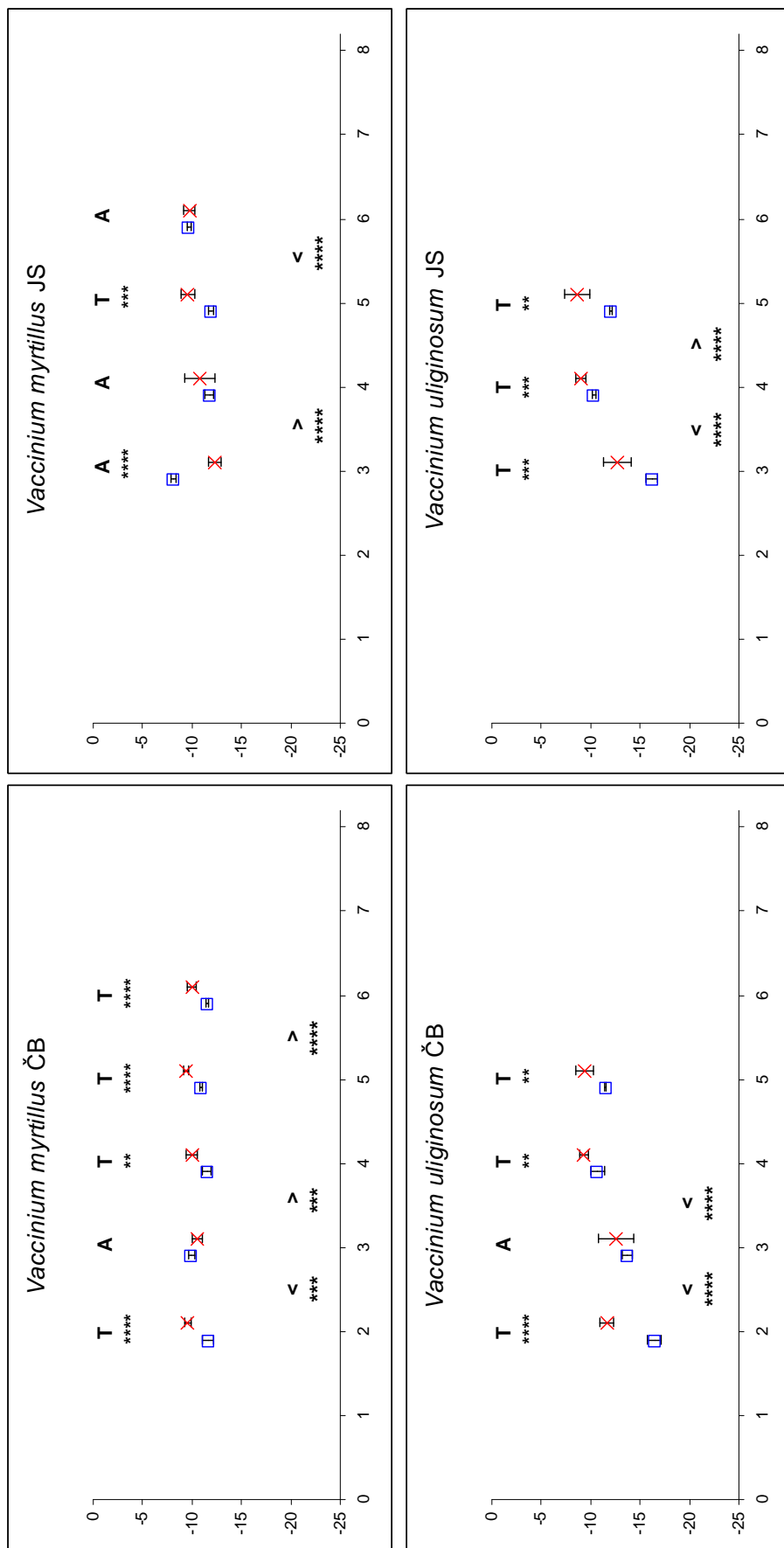
Rozdíl v úrovni odolnosti mezi lokalitami

Ve většině případů se rostliny mezi lokalitami lišily (Tabulka 3.3.), rozložení těchto rozdílů však nevykazuje žádný jasně zřetelný trend. Všechny druhy byly odolnější na lokalitě Jezerní slať v září. Vyšší míru odolnosti u rostlin z lokality Jezerní slať vykazovaly rovněž *O. palustris* v květnu a prosinci a *V. uliginosum* v květnu. Ostatní průkazné rozdíly odpovídaly vyšší míře odolnosti na lokalitě Červené blato.

Tabulka 3.3. Rozdíly LT50 pro jednotlivé druhy a sběry mezi lokalitami (od hodnoty LT50 zjištěné u určitého druhu na lokalitě Jezerní slať je odečtena hodnota LT50 zjištěná u stejného druhu při stejném odběru na lokalitě Červené blato). Průkazné rozdíly označeny tučně. Kladné hodnoty označují páry, u nichž byla odolnost průkazně vyšší na lokalitě Červené blato (označeno „ČB“), záporné hodnoty znamenají průkazně vyšší odolnost rostlin na Jezerní slati (označeno „JS“). Neprůkazné rozdíly nejsou označeny tučně. „n.o.“ = jedna nebo obě hodnoty pro porovnání chybí, jelikož se je nepodařilo získat analýzou primárních dat, „x“ = jedna nebo obě hodnoty po porovnání chybí, jelikož daný druh nebyl olistěn. Počet hvězdiček značí dosaženou hodnotu dvouvýběrového t-testu: p<0.0001 ****, p<0.001 ***, p<0.01 **, p<0.05 *

Kód data	<i>V. vitis-idaea</i>	<i>O. palustris</i>	<i>V. myrtillus</i>	<i>V. uliginosum</i>
1	x	x	x	x
2	1,75 (ČB) ***	-2,75 (JS) ****	x	x
3	0,06	n.o.	1,84 (ČB) ****	-2,46 (JS) ****
4	n.o.	n.o.	-0,27	0,40
5	-0,91 (JS) ****	-1,30 (JS) **	-1,00 (JS) ****	-0,57 (JS) ****
6	-0.39	5,05 (ČB) ****	1,87 (ČB) ****	x
7	n.o.	1,60 (ČB) **	x	x
8	n.o.	-1,01 (JS) **	x	x





Obr.3.6. LT50 (modré čtverečky) a EXT (červené křížky) s 95% intervaly spolehlivosti u zkoumaných druhů v průběhu sezóny 2009. ČB – červené blato, JS – Jezerní slat'. Osa y: teplota (°C). Osa x: kódy dat odběrů (viz Tabulku 2.1.). Osa y: hodnota LT50 (°C). Chybí-li hodnota LT50 při datu, kdy je uvedena EXT, pak se tuto hodnotu nepodařilo určit. Pokud je hodnota LT50 průkazně nižší než hodnota EXT, vykazuje v tomto bodě daná rostlina mechanismy tolerance (rostlina je poškozena nižší teplotou, než při které v ní začíná nukleace). V opačném případě nebo pokud se hodnoty průkazně neliší, využívá rostlina pouze mechanismů avoidance. Mechanismus odolnosti označen symboly A (= avoidance) a T (= tolerance) v horních částech jednotlivých grafů. V dolních částech jednotlivých grafů vyznačen rozdíl v LT50 mezi dvěma po sobě jdoucími daty odběrů. Symboly <, resp. > označují, že LT50 vzorků sebraných při předchozím datu byla nižší resp. vyšší (míra odolnosti tedy větší, resp. menší) než u vzorků sebraných při následujícím datu. Pokud symbol <, nebo > chybí, nebyl rozdíl mezi LT50 po sobě následujících sběrů průkazný. p<0.0001 *****, p<0.001 ***, p<0.01 **, p<0.05 *

3.3. Vodní provoz

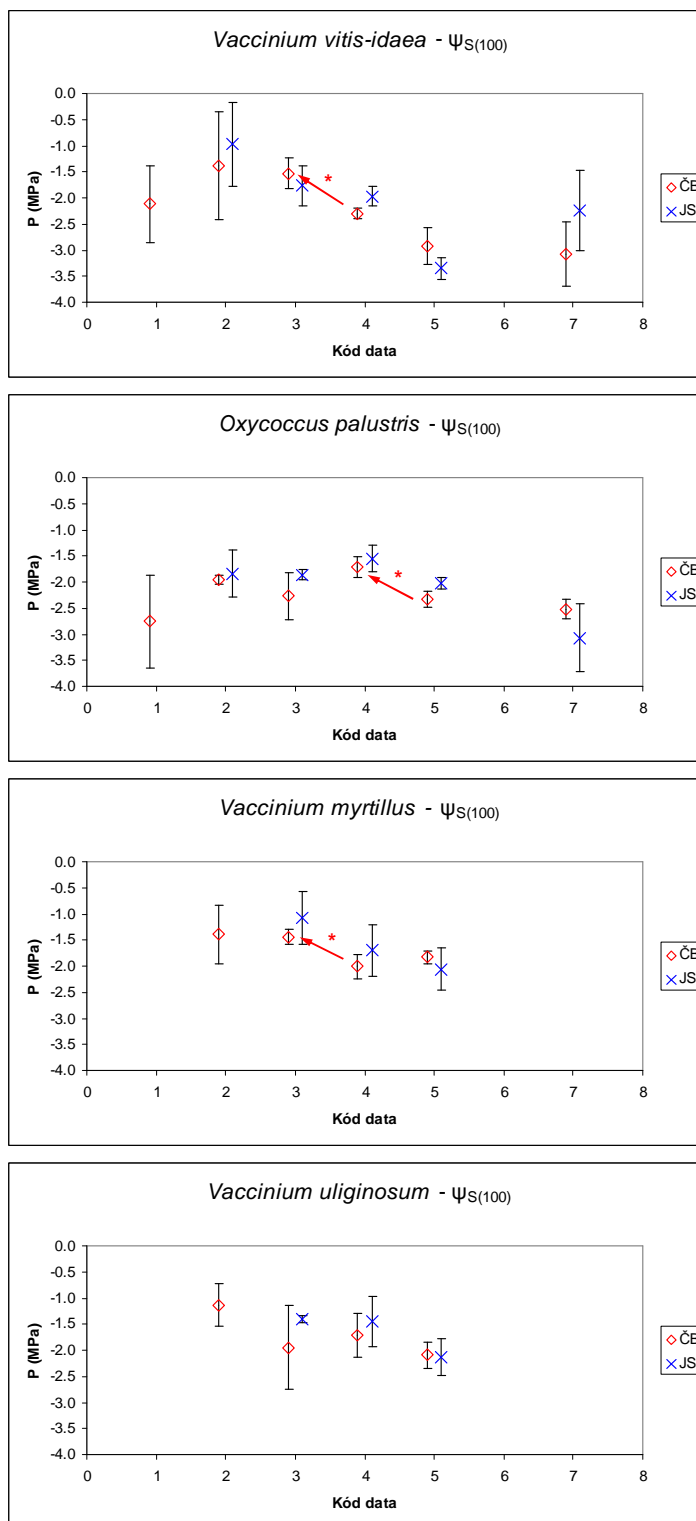
Osmotický potenciál při plném turgoru - $\Psi_{S(100)}$

V průběhu vegetační sezóny se hodnoty výrazněji měnily na lokalitě Jezerní slat'. Zde se mezi sebou lišily u všech druhů s výjimkou *Vaccinium uliginosum*. Naproti tomu na lokalitě Červené blato byly hodnoty průkazně odlišné jen u *V. vitis-idaea*. Více Tabulka 3.4.

Tabulka 3.4. ANOVA hodnot $\Psi_{S(100)}$ zjištěných analýzou p-V křivek, pro obě lokality a jednotlivé druhy. Tučně vyznačeny p-hodnoty, kdy se zjištěné hodnoty v průběhu sezóny vzájemně průkazně liší.

	Červené blato			Jezerní slat'		
	df	F	p	df	F	p
<i>Vaccinium vitis-idaea</i>	1, 15	7,3947	0,02	1, 12	7,8096	0,02
<i>Oxycoccus palustris</i>	1, 16	0,0579	0,81	1, 13	7,2954	0,02
<i>Vaccinium myrtillus</i>	1, 10	4,3246	0,06	1, 7	6,2894	0,04
<i>Vaccinium uliginosum</i>	1, 10	3,5267	0,09	1, 7	5,1462	0,06

Nebyl zjištěn žádný rozdíl v hodnotách $\Psi_{S(100)}$ mezi lokalitami při jednotlivých odběrech. Ani rozdíl mezi dvěma po sobě následujícími odběry se často nevyskytoval. Hodnota se měnila u *V. vitis-idaea* na Červeném blatě, kdy se hodnota osmotického potenciálu snižovala od konce dubna do srpna. Ve stejném období klesal osmotický potenciál i u *O. palustris* na lokalitě Červené blato. *V. myrtillus* na této lokalitě vykazoval pokles v daném parametru od konce května do srpna. Souhrnně lze tedy říci, že pokud vůbec nějaká změna v tomto parametru během sezóny nastala, jednalo se o pokles potenciálu z pozdního jara do léta nebo z léta do pozdního léta. Hodnoty parametru v průběhu sezóny je zachycen na Obrázku 3.7.



Obr.3.7. Hodnoty $\Psi_{S(0)}$ s 95% intervaly spolehlivosti v průběhu vegetačního období. Šipky označují průkaznou změnu parametru mezi dvěma po sobě následujícími odběry. Směr šipky vyznačuje nárůst hodnoty parametru. Znak < nebo > v rámečku v horní části grafu označuje průkazný rozdíl v hodnotě parametru mezi lokalitami při daném sběru. Červené čtverečky a červené křížky: lokalita Červené blato, modré křížky a modré šipky: lokalita Jezerní slať. Hvězdičky u šipek odpovídají hladině významnosti dvouvýběrového t-testu $p < 0.001$ ***, $p < 0.01$ **, $p < 0.05$ *. Chybějící hodnoty znamenají, že rostlina druh nebyl v příslušném datu sbírán (nebyl olistěn). Žádný druh nebyl sbírán v časném říjnu (kód 6) a při posledním odběru (kód 8).

Osmotický potenciál při nulovém turgoru (při ztrátě turgoru) - $\Psi_{S(0)}$

Průkazně odlišné hodnoty mezi jednotlivými sběry byly naměřeny u *V. myrtillus* na lokalitě Červené blato, u *V. vitis-idaea* a *V. uliginosum* na lokalitě Jezerní slat'. U *O. palustris* na této lokalitě se variabilita mezi jednotlivými odběry v rámci vegetační sezóny pohybovala na hranici průkaznosti (Tabulka 3.5.).

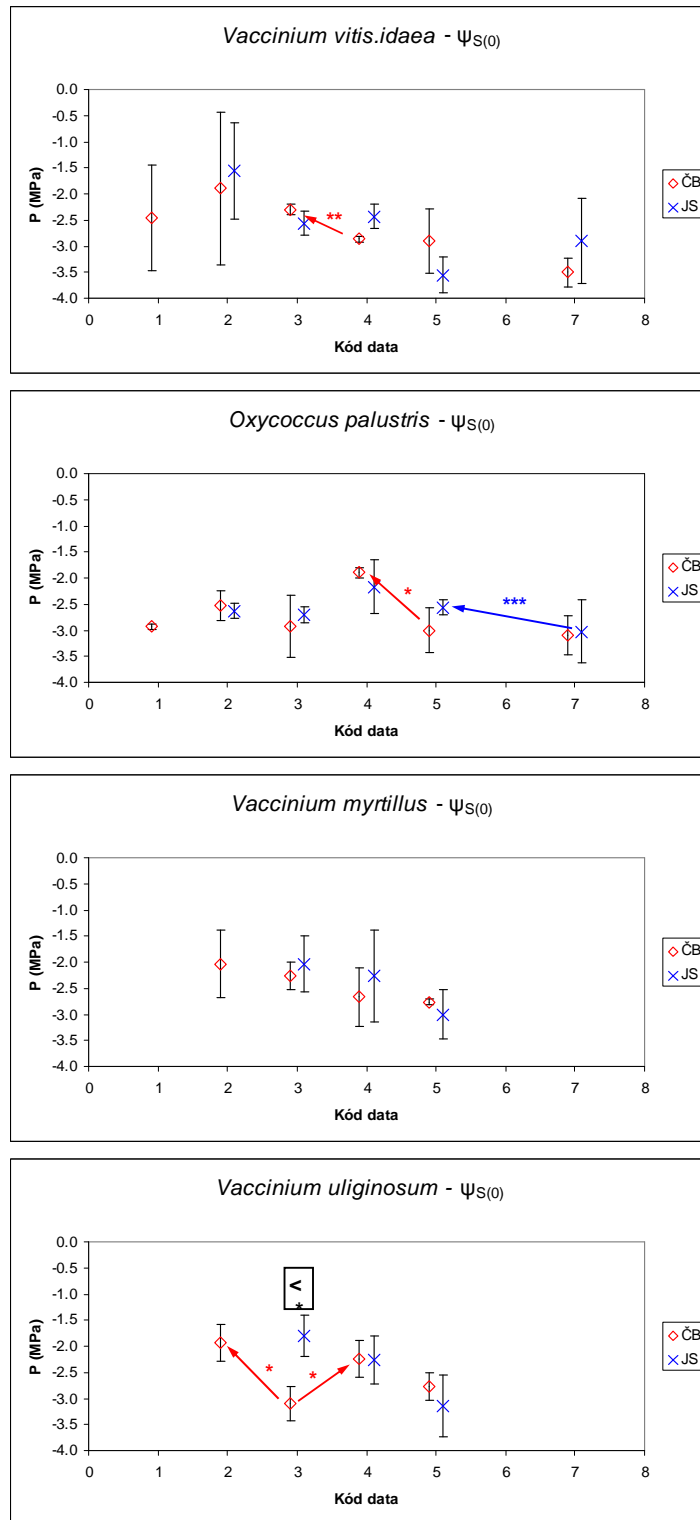
Tabulka 3.5. ANOVA hodnot $\Psi_{S(0)}$ zjištěných analýzou p-V křivek, pro obě lokality a jednotlivé druhy. Tučně vyznačeny p-hodnoty, kdy se zjištěné hodnoty v průběhu sezóny vzájemně průkazně liší.

	Červené blato			Jezerní slat'		
	df	F	p	df	F	p
<i>Vaccinium vitis-idaea</i>	1, 15	4,004	0,06	1, 12	6,6657	0,02
<i>Oxycoccus palustris</i>	1, 16	0,2066	0,66	1, 13	4,5829	0,05
<i>Vaccinium myrtillus</i>	1, 10	5,1929	0,05	1, 7	3,1464	0,12
<i>Vaccinium uliginosum</i>	1, 10	1,3039	0,28	1, 7	10,526	0,01

Sezónní změny v hodnotě parametru ukazuje Obrázek 3.8. Jediný rozdíl mezi lokalitami byl zjištěn u *V. uliginosum* na konci května. Při tomto odběru byla hodnota potenciálu vyšší na lokalitě Jezerní slat'. Při tomto odběru je však hodnota změřená u vzorků z lokality Červené blato neobvykle nízká. Důsledkem takto nízké hodnoty jsou i průkazné rozdíly mezi touto hodnotou a hodnotami s ní sousedící. K dalším změnám hodnoty parametru mezi jednotlivými daty došlo od pozdního května do srpna u *V. vitis-idaea* z lokality Červené blato, kdy hodnota klesala. U *O. palustris* docházelo k poklesu od srpna do září na lokalitě Červené blato a mezi zářím a pozdním říjnem na lokalitě Jezerní slat'.

Hranice obsahu symplastické a apoplastické vody

Zjištěné hodnoty jsou uváděny jako poměr obsahu symplastické vody ku celkovému obsahu vody = relativní obsah symplastické vody (obsah apoplastické vody je pak zbytek do 1). Rozdíly mezi jednotlivými odběry byly zjištěny u *O. palustris* z obou lokalit, dále pak u *V. vitis-idaea* a *V. myrtillus* z lokality Červené blato (Tabulka 3.6.)



Obr.3.8. Hodnoty $\Psi_{S(0)}$ s 95% intervaly spolehlivosti v průběhu vegetačního období. Šipky označují průkaznou změnu parametru mezi dvěma po sobě následujícími odběry. Směr šipky vyznačuje nárůst hodnoty parametru. Znak < nebo > v rámečku v horní části grafu označuje průkazný rozdíl v hodnotě parametru mezi lokalitami při daném sběru. Červené čtverečky a červené křížky: lokalita Červené blato, modré křížky a modré šipky: lokalita Jezerní slat'. Hvězdičky u šipek odpovídají hladině významnosti dvouvýběrového t-testu. $p < 0.001$ ***, $p < 0.01$ **, $p < 0.05$ *. Chybějící hodnoty znamenají, že rostlina druh nebyl v příslušném datu sbírán (nebyl olistěn). Žádný druh nebyl sbírán v časném říjnu (kód 6) a při posledním odběru (kód 8).

Tabulka 3.6. ANOVA hodnot hranice obsahů symplastické a apoplastické vody, zjištěných analýzou p-V křivek, pro obě lokality a jednotlivé druhy. Tučně vyznačeny p-hodnoty, kdy se zjištěné hodnoty v průběhu sezóny vzájemně průkazně liší.

	Červené blato			Jezerní slat'		
	df	F	p	df	F	p
<i>Vaccinium vitis-idaea</i>	1, 15	14,601	0,001	1, 12	4,0133	0,07
<i>Oxycoccus palustris</i>	1, 16	10,771	0,004	1, 13	11,327	0,005
<i>Vaccinium myrtillus</i>	1, 10	9,0581	0,01	1, 7	0,1792	0,68
<i>Vaccinium uliginosum</i>	1, 10	0,8294	0,38	1, 7	0,4907	0,51

U *V. vitis-idaea* z lokality Červené blato klesal relativní obsah symplastické vody od pozdního května do srpna a dále do září. Stejně se tento druh projevoval i na druhé lokalitě, kde ale poté následoval vzrůst hodnoty od září do pozdního října. U *O. palustris* z lokality Červené blato klesala hodnota parametru od časného do pozdního května. *V. uliginosum* při srpnovém odběru vykazovalo průkazný rozdíl mezi lokalitami (vyšší hodnota na Červeném blatě). Hodnota u rostliny z Jezerní slati v tomto odběru byla navíc průkazně nižší než při odběru předešlém. Více na Obrázku 3.9.

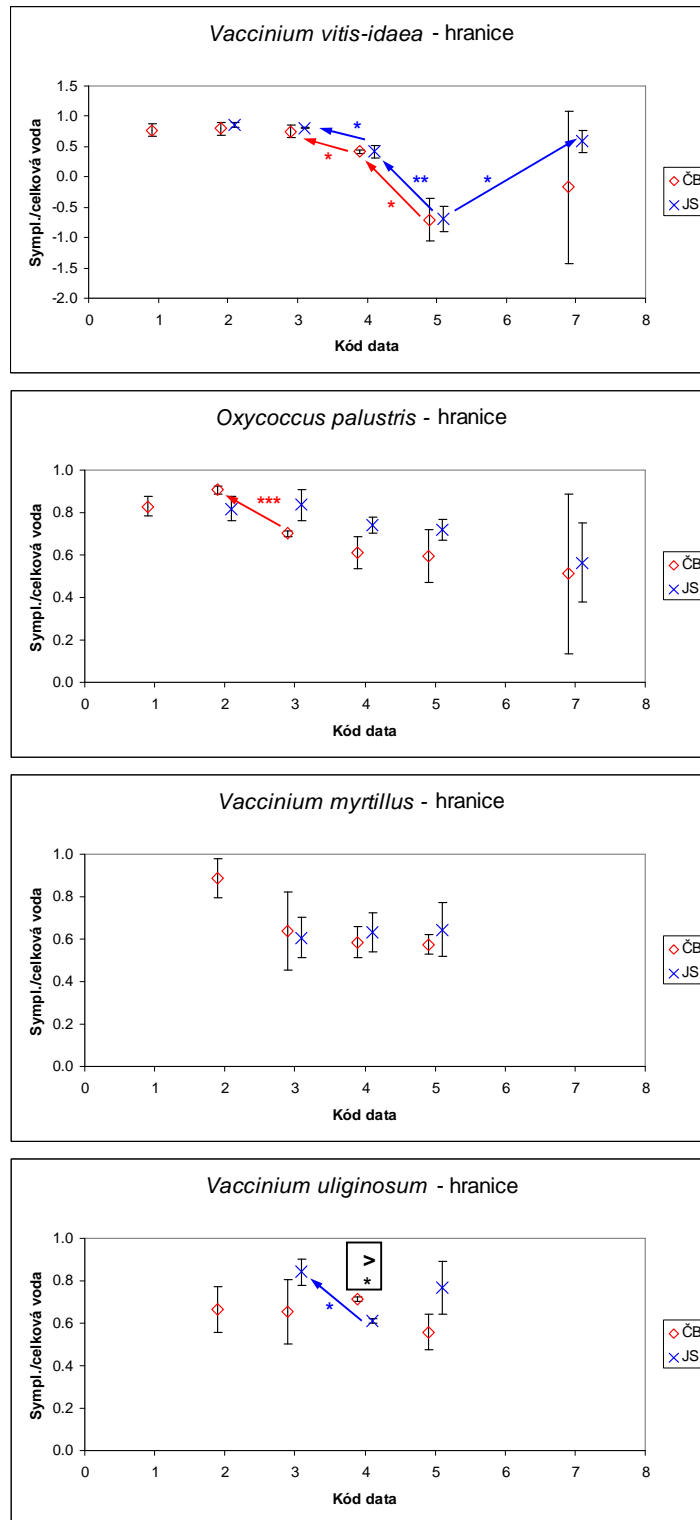
Relativní obsah vody (RWC) při ztrátě turgoru

Hodnoty tohoto ukazatele se mezi jednotlivými odběry lišily u obou populací *O. palustris* a u *V. vitis-idaea* z lokality Jezerní slat' (Tabulka 3.7.).

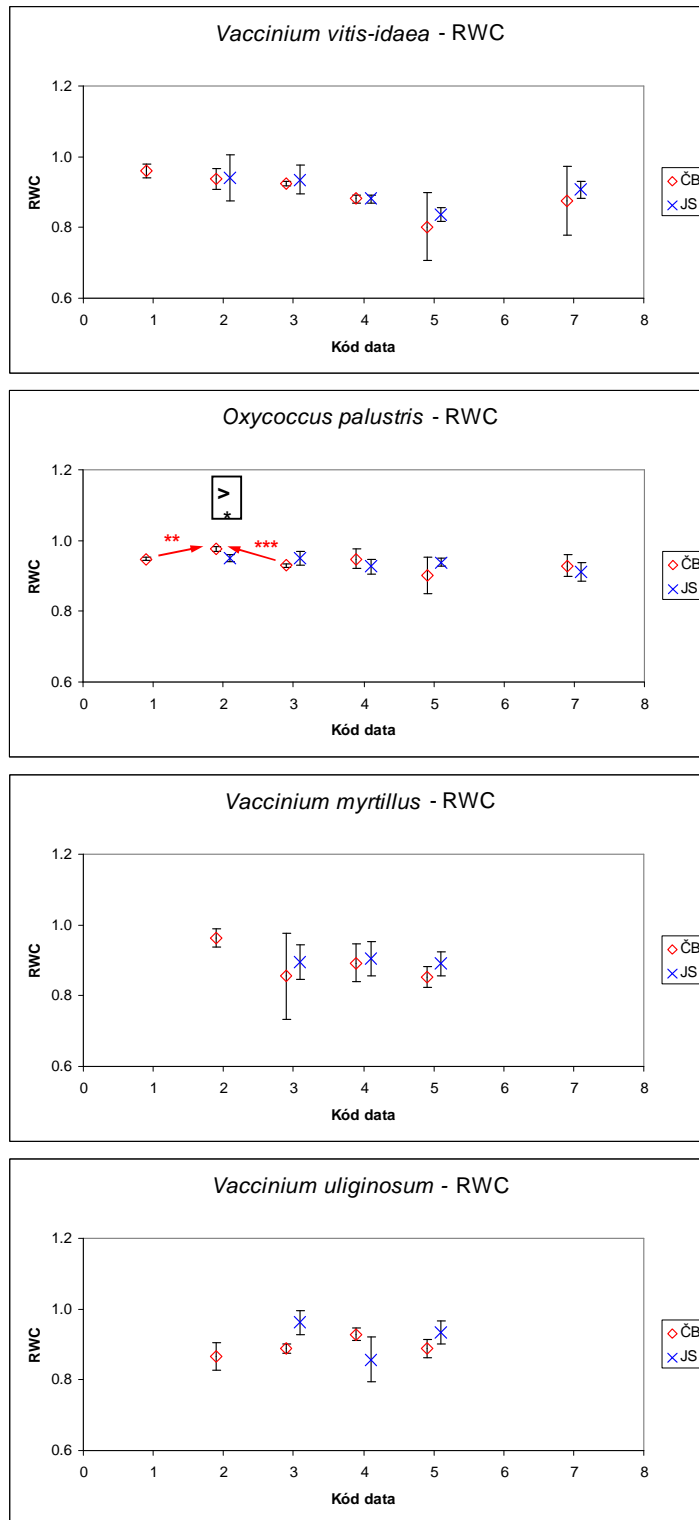
Tabulka 3.7. ANOVA hodnot relativního obsahu vody při ztrátě turgoru, zjištěných analýzou p-V křivek, pro obě lokality a jednotlivé druhy. Tučně vyznačeny p-hodnoty, kdy se zjištěné hodnoty v průběhu sezóny vzájemně průkazně liší.

	Červené blato			Jezerní slat'		
	df	F	p	df	F	p
<i>Vaccinium vitis-idaea</i>	1, 15	10,826	0,005	1, 12	2,4327	0,14
<i>Oxycoccus palustris</i>	1, 16	16,064	0,001	1, 13	6,1528	0,03
<i>Vaccinium myrtillus</i>	1, 10	2,3109	0,16	1, 7	0,0081	0,93
<i>Vaccinium uliginosum</i>	1, 10	1,5725	0,24	1, 7	0,2803	0,61

Jediným druhem, u něhož se měnila hodnota obsahu vody mezi jednotlivými odběry, byla *O. palustris* z lokality Červené blato. U ní docházelo nejprve k nárůstu obsahu vody z dubna do května, následně však tato hodnota klesla, a na konci května byla tedy průkazně nižší než na jeho počátku. Relativní obsah vody byl u tohoto druhu při tomto odběru průkazně nižší na Jezerní slati než na Červeném blatě. Sezónní průběh na Obrázku 3.10.



Obr. 3.9. Hodnoty hranice obsahů symplastické a apoplastické vody s 95% intervaly spolehlivosti v průběhu vegetačního období. Šipky označují průkaznou změnu parametru mezi dvěma po sobě následujícími odběry. Směr šipky vyznačuje nárůst hodnoty parametru. Znak < nebo > v rámečku v horní části grafu označuje průkazný rozdíl v hodnotě parametru mezi lokalitami při daném sběru. Červené čtverečky a červené křížky: lokalita Červené blato, modré křížky a modré šipky: lokalita Jezerní slat'. Hvězdičky u šipek odpovídají hladině významnosti dvouvýběrového t-testu. $p < 0.001$ ***, $p < 0.01$ **, $p < 0.05$ *. Chybějící hodnoty znamenají, že rostlina druh nebyl v příslušném datu sbírán (nebyl olistěn). Žádný druh nebyl sbírán v časném říjnu (kód 6) a při posledním odběru (kód 8).



Obr. 3.10. Hodnoty relativního obsahu vody (RWC) při ztrátě turgoru s 95% intervaly spolehlivosti v průběhu vegetačního období. Šipky označují průkaznou změnu parametru mezi dvěma po sobě následujícími odběry. Směr šipky vyznačuje nárůst hodnoty parametru. Znak < nebo > v rámečku v horní části grafu označuje průkazný rozdíl v hodnotě parametru mezi lokalitami při daném sběru. Červené čtverečky a červené křížky: lokalita Červené blato, modré křížky a modré šipky: lokalita Jezerní slat'. Hvězdičky u šipek odpovídají hladině významnosti dvouvýběrového t-testu. $p < 0.001$ ***, $p < 0.01$ **, $p < 0.05$ *. Chybějící hodnoty znamenají, že rostlina druh nebyl v příslušném datu sbírán (nebyl olistěn). Žádný druh nebyl sbírán v časném říjnu (kód 6) a při posledním odběru (kód 8).

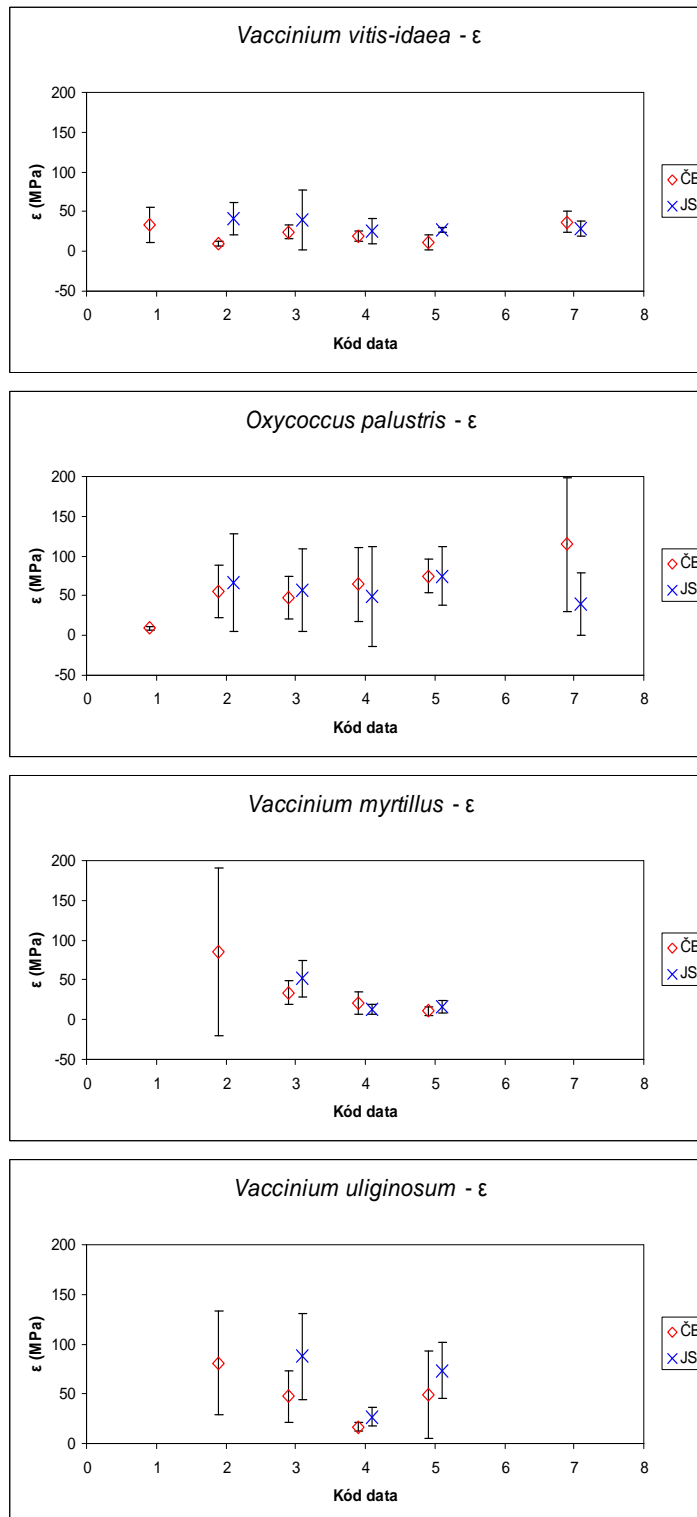
Modul elasticity při plném nasycení vodou

Variabilita mezi odběry byla prokázána v případě *O. palustris* na lokalitě Červené blato a *V. myrtillus* na lokalitě Jezerní slat' (Tabulka 3.8.).

Tabulka 3.8. ANOVA hodnot modulu elasticity při plném nasycení vodou, zjištěných analýzou p-V křivek, pro obě lokality a jednotlivé druhy. Tučně vyznačeny p-hodnoty, kdy se zjištěné hodnoty v průběhu sezóny vzájemně průkazně liší.

	Červené blato			Jezerní slat'		
	df	F	p	df	F	p
<i>Vaccinium vitis-idaea</i>	1, 15	0,5851	0,46	1, 12	0,6749	0,43
<i>Oxycoccus palustris</i>	1,16	9,0488	0,01	1, 13	0,2259	0,64
<i>Vaccinium myrtillus</i>	1, 10	2,917	0,12	1, 7	5,6742	0,049
<i>Vaccinium uliginosum</i>	1, 10	1,457	0,26	1, 7	0,1747	0,69

U žádného druhu nebyly zjištěny rozdíly v hodnotě modulu plasticity mezi dvěma následujícími odběry, ani průkazný rozdíl mezi lokalitami. Sezónní průběh popisuje Obrázek 3.11.



Obr. 3.11. Hodnoty modulu elasticity (ϵ) při plném nasycení vodou s 95% intervaly spolehlivosti v průběhu vegetačního období. Červené čtverečky a červené křížky: lokalita Červené blato, modré křížky a modré šipky: lokalita Jezerní slať. Chybějící hodnoty znamenají, že rostlina druh nebyl v příslušném datu sbírán (nebyl olistěn). Žádný druh nebyl sbírán v časném říjnu (kód 6) a při posledním odběru (kód 8).

4. Diskuse

Cílem provedené práce bylo vyšetřit a popsat vývoj některých parametrů mrazové odolnosti a vodního režimu vybraných druhů z čeledi *Ericaceae* v průběhu vegetačního období 2009. Dalším záměrem bylo odhalit možný vliv lokality (resp. nadmořské výšky coby faktoru určujícího sumy nízkých teplot).

4.1. Metodika

Metody použité při mojí práci byly zvoleny s ohledem na metodiku využívanou ke stanovení příslušných parametrů ve vědeckých pracích zabývajících se studovanými druhy. Hodnoty získané shodným nebo podobným postupem je tak jistě s větší jistotou možno srovnávat.

4.1.1. Mrazová odolnost

Využitá metoda detekce exotermie – sledování teploty listu termočlánkem – je způsob dlouho a nejspíše výhradně používaný. Autor práce při studiu literatury nenarazil na jakoukoliv metodu jinou. Rychlost poklesu teploty při simulovaném podchlazování byla 5°C/hod. U použitého materiálu (listy studovaných druhů) jsou uváděny rychlosti podchlazování od 2°C/hod (Taschler *et* Neuner 2004) do 6°C/hod (Taulavuori *et al.* 2000). Rychlost aplikovaná v této práci tedy spadá do rozpětí rychlostí používaných jinde.

Použití samostatných listů (vs např. celých částí větví) je rovněž v souladu s praxí uváděnou v literatuře (např. Taulavuori *et al.* 2000, Martin *et al.* 2010). Autor při prvním odběru testoval rozdíly hodnoty teploty nukleace neopadavých druhů při použití oddělených listů a listů s větévkou. Rozdíly byly průkazné: *Vaccinium vitis-idaea*: $2,87 \pm 1,12$ K, $p = 0,0003$, *Oxycoccus palustris*: $2,06 \pm 1,11$ K, $p = 0,0016$ Hodnoty příslušné samostatným listům byly vždy nižší než hodnoty pro listy na větévce. Tento rozdíl je pravděpodobně způsoben rozšířením nukleace započaté při vyšší teplotě ve xylému stonku do listu (Sakai *et* Larcher 1987).

Rovněž konduktometrické stanovení indexu poškození a následný dopočet hodnoty LT50 je při práci s danými druhy často využíván.

Kritickým momentem měření mrazové odolnosti byl mrazicí box, u něhož došlo v srpnu ke snížení podchlazovací kapacity, od srpnového sběru byla minimální teplota dosahovaná v mrazicím boxu pouze cca -16°C . Toto se projevilo zejména při určování LT50. Při druhém říjnovém odběru, kdy vlivem nedostatečně nízké teploty při pokusu nedošlo ke zjištění LT50 u brusinky z obou lokalit. Při prosincovém odběru byl již sice k dispozici mrazicí box nový, dosahující minima cca -35°C , nicméně ani tato hodnota nebyla pro brusinku dostačující, což ale bylo lze předpokládat, neboť např. Sakai *et* Larcher (1987) uvádějí pro brusinku zimní hodnotu LT0 (nejnižší teplota, kdy ještě není pozorováno žádné poškození) -70°C . Rovněž se u neopadavých druhů, kromě klikvy z Červeného blata, nepodařilo určit LT50 v srpnu. To je možno přičíst pravděpodobně tomu, že již relativně vysoké záporné teploty mohou vyvolávat vysoké poškození (viz obrázek 3.3. v kapitole 3.2.1.). Řešením by nejspíše bylo podchlazovat nižší rychlostí a to už od kladných teplot.

4.1.2. Parametry vodního provozu

Ke zjištění vodního potenciálu lze použít několika metod. V našich podmínkách byly k dispozici přístroje využívající měření psychrometrické a měření v tlakové komoře. Psychrometricky lze měřit i samostatné listy, v tlakové komoře v případě erikoidních keříků pouze celé větévky. Psychrometrické měření by ale při našem počtu vzorků trvalo neúnosně dlouho (aby došlo k ustanovení rovnovážného stavu nutného pro měření, je třeba ponechat měřený vzorek v přístroji poměrně dlouhou dobu – i několik desítek hodin), proto bylo použito měření v tlakové komoře.

Ačkoli Kubiske *et* Abrams (1990) varují, že rehydratace (nasyčení vodou) materiálu před měřením může ovlivnit vodní poměry v rostlině tak, že hodnoty osmotického potenciálu při plném i nulovém turgoru, stejně jako poměr symplastické vody získané analýzou p-V křivky, jsou po rehydrataci nižší než při konstrukci p-V křivky bez rehydratace, je nasyčení vodou běžně užívanou procedurou při konstrukci p-V křivek. Ve veškeré literatuře týkající se určování parametrů vodního provozu pomocí tlakové komory citované v této práci byla rehydratace před měřením prováděna.

V této práci byl počet opakování pro každý druh a lokalitu roven 3. Literatura uvádí počet opakování od 10 (Burghardt *et* Riederer 2003), 6 (Gouvra *et* Grammatikopoulos 2007, Sánchez-Blanco *et al.* 2009) do 3 (Harayama *et al.* 2006, Lenz *et al.* 2006). Posledně citovaní uvádějí počet opakování roven 3 za standardní. Při pohledu na

rozptyly naměřených hodnot však autor doznává, že vyšší počet opakování by byl rozhodně ku prospěchu, bylo by např. možné snadno určit a vyřadit odlehlé hodnoty. Na druhou stranu je měření vedoucí ke konstrukci p-V křivek dosti časově náročné (6, maximálně 8 vzorků za den) a při vyšším počtu opakování by mohlo hrozit, že doba potřebná ke změření všech vzorků by byla nezanedbatelně dlouhá v poměru k délce období mezi dvěma měřeními, tedy vzorky změřené jako poslední by mohly být významně dlouho vystaveny jiným podmínkám, než při kterých byly sebrány a při kterých byla změřena mrazová odolnost.

4.2. Výsledky

Získané výsledky týkající se mrazové odolnosti naznačují průkazný trend. Naproti tomu výsledky stran vodního provozu jsou méně snadno a jednoznačně interpretovatelné.

4.2.1. Teploty na lokalitách

Teploty zjištěné mikroklimatickým měřením v 0 cm a 40 cm nad povrchem půdy se poněkud liší od klimatických dat pro dané lokality uváděné Dohnalem *et al.* (1965), zejména nesouhlasí s uváděným tvrzením, že na lokalitě Jezerní slat' se poslední mráz vyskytuje na konci května a opětně začíná mrznout až na konci září. Na uvedené lokalitě se mráz dle našeho měření nevyskytoval pouze v srpnu, a to ještě jen při povrchu půdy. I přes jistě rozdílné teploty změřitelné standardní meteorologickou budkou ve výšce 2 m nad povrchem je tento nesoulad zarážející.

Rozdíly mezi teplotami naměřenými při povrchu a 40 cm nad ním je důsledkem teplotně-pufrační schopnosti půdy (rašelinného substrátu), která přes den teplo akumuluje a v noci je vyzařuje (Larcher 2003). Vzhledem ke vzrůstu jednotlivých druhů, by tak teoreticky měla klikva setrvávat v teplotně komfortnějším prostředí než druhy vyšší.

4.2.2. Parametry mrazové odolnosti

Komplikací při interpretaci výsledků měření je skutečnost, že se nepodařilo získat letní hodnoty LT50 u stálezelených druhů, u brusinky navíc ani hodnoty

z pozdního října a prosince. Nicméně i bez těchto hodnot je u všech druhů na obou lokalitách – s výjimkou borůvky z Jezerní slati – patrný trend snižování odolnosti od jara do léta a naopak narůstání odolnosti od konce léta (sběr 19. září) do podzimu a zimy. Podobný průběh měla i struktura odolnosti, tedy změny ve využívání mechanismů tolerance a avoidance. Rostliny byly po většinu roku tolerantní, avoidance projevovaly pouze v letním období. Tomuto trendu se opět vymykala borůvka na lokalitě Jezerní slat'.

Vaccinium vitis-idaea

Letní hodnoty LT50, budeme-li za ně považovat hodnoty z 26. května a 19. září, tedy -10,2±0,4°C a -11,0±0,2°C pro Červené blato a -10,6±0,4°C a -11,9±0,3°C pro Jezerní slat', jsou nižší, než srpnové hodnoty rostlin ze značně vyšších nadmořských výšek uváděné v literatuře (viz Tabulku 4.1.). Srpnové hodnoty sice nebyly v této práci zjištěny, lze ovšem předpokládat, že by byly vyšší než hodnoty z předcházejícího a následného odběru. Rovněž je třeba poznamenat, že Taschler *et* Neuner (2004) používali značně pomalejší rychlost podchlazování (2K/hod) a pokus prováděli *in situ*, tedy ne na jednotlivých listech. Ke stanovení LT50 využívaly metodu odhadu poškození listové plochy. Tyto rozdíly rovněž mohly přispět k odlišným hodnotám. Záříjové i říjnové hodnoty LT50 pro brusinku (z Červeného blata: -13,3±0,6°C, z Jezerní slati: -12,9±0,3°C) jsou vyšší než hodnoty pro stejné měsíce určené v severním Finsku, kde už jsou tou dobou rostliny plně aklimatizované na nízké teploty a v říjnu jsou již dormantní. Toto srovnání potvrzuje, že rostliny stejného druhu vyskytující se ve vyšších zeměpisných šířkách projevují vyšší míru odolnosti, než jedinci stejného druhu rostoucí v latitudách nižších.

Rozdíly v LT50 mezi lokalitami byly průkazné pouze na konci května, kdy byla zjištěna vyšší odolnost na Červeném blatu (o 1,75°C), a v září, kdy byly odolnější rostliny z Jezerní slati. V obou případech se však na Jezerní slati vyskytovaly celkově nižší teploty vzduchu (viz Tabulku 3.1., Obrázek 3.1.)

Rostliny z obou lokalit vykazovaly mechanismy avoidance pouze na konci května, při odběru, kdy úroveň odolnosti dosahovala nejnižších hodnot.

Tabulka 4.1. Hodnoty LT0, LT50 a LT100 pro brusinku v různých částech roku uváděné v literatuře. Římské číslice za lomítkem u konkrétní hodnoty označují kalendářní měsíc, kdy byla tato hodnota změřena.

LT0	LT50	LT100	Lokalizace	Zdroj
-5°C/léto -70°C/zima			Hokaido, 2000 m	Sakai <i>et</i> Larcher 1987
	-8°C/VIII -12°C/IX -25°C/X		S. Finsko	Taulavuori <i>et al.</i> 2001
-3,5°C/VIII	-5,5°C/VIII	-7,5/VIII	Alpy, 1950 m	Taschler <i>et</i> Neuner 2004

Oxycoccus palustris

Tento druh vykazuje podobný průběh odolnosti jako brusinka. Odolnost nejprve od začátku sezóny klesá do začátku května – Červené blato: $-12,7^{\circ}\pm 0,2^{\circ}\text{C}$ – nebo konce května – Jezerní slat' $-10,1\pm 0,5^{\circ}\text{C}$, kdy byly rostliny avoidantní. Od konce léta pak víceméně odolnost vzrůstá, i když u obou lokalit došlo jedenkrát k narušení tohoto trendu a odolnost se mírně snížila: na Červeném blatu od začátku do konce října, na druhé lokalitě od září do začátku října. Nejvyšší odolnosti dosáhly rostliny v prosinci. Při všech odběrech, kromě již zmíněných květnových, vykazovaly rostliny mechanismy tolerance. Podle lokality se rostliny lišily na začátku května, v září a v prosinci, kdy byly odolnější rostliny na Jezerní slati, zatímco při obou říjnových odběrech vykazovaly vyšší úroveň odolnosti rostliny z Červeného blata.

Vaccinium myrtillus

Nejvyšších hodnot LT50 dosahovala borůvka na Červeném blatu ($-10,0\pm 0,3^{\circ}\text{C}$) i Jezerní slati ($-8,1\pm 0,2^{\circ}\text{C}$) na konci dubna. Zároveň byla na obou lokalitách v těchto obdobích avoidantní. U borůvky z Jezerní slati šlo o první odběr v sezóně, neboť před tím nebyla olistěna. Nové listy byly tedy avoidantní. Toto by mohlo odpovídat skutečnosti, že meristémy bývají avoidantní, jsou schopny vytrvat v hlubokém a dlouhodobém podchlazení (Sakai *et* Larcher 1987), a tedy by si tuto schopnost v nějaké míře mohly podržet i čerstvě diferencované orgány. Na druhou stranu, listy borůvky z druhé lokality byly při svém prvním odběru tolerantní, míra odolnosti byla dokonce nejvyšší ($-11,6\pm 0,6^{\circ}\text{C}$) ze všech odběrů vykonaných za sezónu. Rostliny z Červeného blata poté prohlubovaly odolnost do srpna i dále do září a října, byť rozdíly mezi hodnotami nebyly příliš vysoké (ale byly průkazné, viz Obrázek 3.6.). Rozdíl mezi nejvyšší a nejnižší hodnotou LT50 tedy není ani 2°C a borůvka z Červeného blata tak vykazovala vůbec nejnižší variabilitu mezi těmito hodnotami v průběhu sezóny.

Borůvka z lokality Jezerní slat' se ovšem chovala dost odlišně. Nejvyšší míry odolnosti dosáhly listy v srpnu a v září ($-11,8 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ a $-12,0 \pm 0,3^{\circ}\text{C}$), přičemž v srpnu vykazovala avoidanci, v září již toleranci. Poté se odolnost snížila na říjnovou hodnotu $-9,7 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$ a rostliny se projevovaly avoidantně. Jde o jediný případ v této studii, kdy je odolnost vyšší v létě, než na jaře a na podzim. Bylo by snad možno to interpretovat tím způsobem, že rostliny žijící na stanovišti s dosti krátkým vegetačním obdobím, si snaží podržet nejvyšší míru odolnosti listů právě v období plného růstu, aby bylo minimalizováno riziko poškození metabolického aparátu, který může být využíván pouze po nejpříznivější část roku, kdy se ovšem, byť v malé míře, vyskytují mrazy (viz Obrázek 3.1. a Tabulku 3.1.).

Při porovnání míry odolnosti s literaturou (Tabulka 4.2.) je možno opět konstatovat, že hodnoty naměřené v rámci této práce jsou ve všech případech nižší, než hodnoty zjištěné pro cca 2000m nadmořské výšky v temperátu. Rozdíly v metodice u Taschler *et* Neuner (2004) již byly zmíněny. Martin *et al.* (2010) použili pro stanovení poškození jak vizuální zhodnocení, tak konduktometrickou metodu. Autoři v citované práci prezentují i vývoj minimálních teplot na stanovišti cca 30 dnů před odběrem, ne němž je za toto období zaznamenán jediný pokles slabě pod 0°C ($>-1^{\circ}\text{C}$). Naproti tomu na Jezerní slati mrzlo v červenci celkem čtyřikrát srpnu ve 40 cm třikrát, rozdíly tak mohou být dány i rozdílnými teplotními podmínkami jednotlivých stanovišť.

Tabulka 4.2. Hodnoty LT0, LT50 a LT100 pro borůvku v různých částech roku uváděné v literatuře. Římské číslice za lomítkem u konkrétní hodnoty označují kalendářní měsíc, kdy byla tato hodnota změřena.

LT0	LT50	LT100	Lokalizace	Zdroj
$-4^{\circ}\text{C}/\text{léto}$			Hokaido, 2000 m	Sakai <i>et</i> Larcher 1987
$-2,5^{\circ}\text{C}/\text{VIII}$	$-4,25^{\circ}\text{C}/\text{VIII}$	$-6^{\circ}\text{C}/\text{VIII}$	Alpy, 1950 m	Taschler <i>et</i> Neuner 2004
	$-7,5^{\circ}\text{C}/\text{VII}$		Alpy, 2180 m	Martin <i>et al.</i> 2010

Vaccinium uliginosum

Nejvyšších hodnot LT50 dosáhly rostliny na obou lokalitách v srpnu: Červené blato: $-10,7 \pm 0,9^{\circ}\text{C}$, Jezerní slat': $-10,3 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$, a v obou případech byly v tomto odběru tolerantní. Rostliny z Jezerní slati byly tolerantní při všech třech odběrech, rostliny z Červeného blata vykazovaly pouze na konci května mechanismus avoidance. Nejvyšší míra odolnosti byla zjištěna vždy při prvním odběru, tedy na Červeném blatu na začátku května ($-16,4 \pm 0,7^{\circ}\text{C}$) a na Jezerní slati na konci května ($-12,2 \pm 0,6^{\circ}\text{C}$). V období od srpna do září se na Červeném blatě hodnota LT50 nesnížila signifikantně, na druhé

lokalitě poklesla na $-12,08 \pm 0,1^\circ\text{C}$. Sakai *et* Larcher (1987) uvádějí pro rostliny z 2000m nad mořem na ostrově Hokaido letní hodnoty LT0 -4°C , ty však nelze příliš jednoznačně porovnávat s hodnotami LT50.

Zmíněné hodnoty LT50 při prvních odběrech na každé lokalitě a rovněž hodnota z konce dubna na Červeném blatu ($-13,7 \pm 0,5^\circ\text{C}$) byly nejnižší ze všech hodnot zjištěných při odpovídajícím odběru. Vlochně tak tedy byla při těchto odběrech vůbec nejodolnějším druhem. To je v souladu s pozorováním na Britských ostrovech, kde vlochně rovněž vykazuje nejvyšší míru odolnosti v porovnání s klikvou a borůvkou (Polwart 1970 *in* Bannister *et* Polwart 2001). Zároveň byla druhem s nejkratším vegetačním obdobím – na lokalitě Jezerní slat' byla nalezena v olistěném stavu pouze při třech odběrech, na druhé lokalitě při čtyřech. Na konci května a v září byly rostliny z Jezerní slati odolnější než rostliny z Červeného blata. Srpnový rozdíl mezi lokalitami nebyl průkazný. To odpovídá rozdílnosti teplotních podmínek, na Jezerní slati se obecně vyskytují nižší teploty.

Porovnání druhů v rámci strategie přežívání zimy

Zdá se, že stálezelené druhy – brusinka a klikva – se ve smyslu odolnosti k mrazu chovají v průběhu sezóny dosti podobně: avoidantní jsou pouze v létě, kdy také vykazují nejnižší úroveň odolnosti. Ta je naopak nejvyšší časně na jaře¹ (brusinka) nebo na podzim či v zimě (klikva). Hodnoty LT50 se mění v poměrně velkém rozpětí – rozdíl nejvyšší a nejnižší hodnoty je u brusinky cca 10K, u klikvy pak cca 8K.

Opadavé druhy naproti tomu v tomto smyslu nevykazují vzájemnou podobnost. Dalo by se konstatovat, že vlochně se chová podobně jako druhy stálezelené. V protikladu k tomu stojí vývoj odolnosti u borůvky. Na Jezerní slati byl rozdíl mezi nejvyšší a nejnižší hodnotou LT50 u borůvky cca 4K, na Červeném blatu pouze cca 2K. Struktura odolnosti u rostlin z Jezerní slati byla již komentována.

Odolnost rostlin a teploty na lokalitách

Ačkoliv z mikroklimatických dat jednoznačně vyplývá, že Jezerní slat' byla v sezóně 2009 vždy chladnější než Červené blato, jediným druhem, který tomuto zjištění hodnotami odolnosti odpovídá, je vlochně. U ostatních druhů byly v některých

¹ Zde je nutno poznamenat, že toto konstatování vychází u brusinky z toho, že hodnoty pro konec října ani prosinec se nepodařilo stanovit. Dá se předpokládat, že prosincové hodnoty LT50 (při plné dormanci) by byly nižší než hodnoty z jara.

odběrech odolnější rostliny z Jezerní slati, v jiných z Červeného blata. Pouze v září byly všechny druhy odolnější na Jezerní slati.

4.2.3. Parametry vodního provozu

Na rozdíl od poměrně jasného vývoje mrazové odolnosti v sezóně 2009 nebylo v hodnotách charakteristik vodního provozu nalezeno mnoho průkazných rozdílů. Nalezené konfidenční intervaly jsou příliš široké. Nicméně při pohledu na vývoj průměrů (příp. mediánů – viz Přílohy) naměřených hodnot jsou přece jen patrné jisté trendy. Převážně většina hodnot jednotlivých parametrů u všech druhů obvykle klesá směrem k podzimu, a to spíše už od jara než až od léta. Možnou interpretací je, že od jara do léta, kdy stoupá teplota prostředí se rostliny adaptují na vyšší výdej vody (osmotické přizpůsobení). Od léta s poklesem teploty může docházet ke snižování vodního potenciálu, případně dalších parametrů v souvislosti se zvyšováním odolnosti k nízkým teplotám, kde hraje značnou roli právě úprava vodních poměrů v rostlině.

Osmotický potenciál při maximálním turgoru

Hodnoty tohoto parametru se měnily průkazně pouze na Červeném blatě, a to u borůvky a brusinky z konce května do srpna, a u klikvy ze srpna do září. Pokud bych hodnotil průběh parametru pouze podle mediánů hodnot, pak lze konstatovat, že od jara do podzimu hodnoty klesaly u borůvky a brusinky na obou lokalitách. U brusinky z Červeného blata ovšem ze začátku sezóny – z dubna na začátek května se hodnota zvýšila. U klikvy hodnoty rostou od jara až do srpna, poté klesají směrem k podzimu. Nejvyšší hodnoty byly tedy u klikvy naměřeny v srpnu. Podobný průběh vykazovala i vlohyně, která dosáhla nejvyšších hodnot rovněž v srpnu, rostlina z Červeného blata ovšem ještě vyšší hodnoty nabyla při prvním odběru, tedy na konci května.

Osmotický potenciál při nulovém turgoru

Parametr měl hodně podobný průběh hodnot jako parametr předchozí. Průkazné rozdíly byly u brusinky z Červeného blata mezi květnem a srpnem (pokles) a u klikvy, kde na Červeném blatu hodnoty klesly ze srpna do září, na Jezerní slati byl zaznamenán pokles hodnot ze září do října. U vlohyně z Červeného blata nejprve došlo ke snížení hodnoty ze začátku na konec května, poté k opětovnému nárůstu do srpna. Při pohledu na mediány hodnot, lze opět konstatovat velmi podobný průběh jako u předchozího

parametru. Rozdílem proti němu je vlochyň z Jezerní slati, u níž medián osmotického potenciálu při minimálním turgoru výrazně klesá od začátku do konce vegetačního období.

Harayuma *et al.* (2006) konstatují postupný pokles hodnot osmotického potenciálu při plném i nulovém turgoru od léta do zimy u listů stálezelených stromů. Rovněž zjistili nárůst hodnoty osmotického potenciálu při maximálním turgoru s nárůstem průměrných denních teplot. V této práci byl podobný průběh zaznamenán u borůvky a brusinky a rovněž vlochyň z Jezerní slati, naopak u klikvy v časném jaře hodnoty vzrůstaly. Nárůst osmotického potenciálu ke konci vegetačního období pravděpodobně souvisí s postupnou aklimací a zvyšováním odolnosti k nízkým teplotám (akumulace kompatibilních solutů). Tato tendence by byla očekávatelná zejména u druhů se stálezelenými listy, které budou muset mrazy přežít, než u druhů opadavých. Srovnáme-li tak např. hodnoty pro osmotický potenciál při plném turgoru ze září na Červeném blatu brusinky a klikvy: $-2,9 \pm 0,4$ MPa a $-2,3 \pm 0,1$ MPa, s hodnotami zjištěnými u borůvky a vlochyň: $-1,8 \pm 0,2$ MPa a $-2,1 \pm 0,3$ MPa, v případě Jezerní slati (ve stejném pořadí): $-3,4 \pm 0,2$ MPa, $-2,0 \pm 0,1$ MPa a $-2,1 \pm 0,4$ MPa, $-2,1 \pm 0,3$ MPa, je patrné, že nejnižších hodnot dosahuje brusinka, nejvyšších naopak borůvka. Hodnoty v létě se přitom liší jen málo. Klikva je v tomto směru srovnatelná spíše s opadavými druhy. Důvodem by mohlo být, že klikva velmi špatně snáší sucho (Jacquemart 1994), v příjmu vody je do značné míry odkázána na nasáklé polštáře rašeliníků, v nichž roste (Malmer *et al.* 1994). Lze se tedy domnívat, že není příliš s to regulovat obsah vody v pletivech, a tedy ani výrazně snižovat osmotický potenciál, lhostejno zda za účelem zvýšení odolnosti k suchu nebo dehydrataci působené mrazem.

Hranice symplastické a apoplastické vody

Zarážející je vývoj tohoto parametru u brusinky z obou lokalit. Záříjové hodnoty jsou totiž záporné. To samozřejmě nedává smysl, je to způsobeno tím, že lineární úsek p-V křivky neklesá dostatečně rychle a tedy protne osu x až v její záporné části. P-V křivka je totiž významně ovlivněna svým posledním bodem, který byl získán tak, že vzorek byl po vyjmutí z komory ponechán asi dvě hodiny k vysychání na vzduchu, poté byl zvážen a znovu byl změřen jeho potenciál. Cílem tohoto uspořádání bylo získat hodnotu potenciálu, která by odpovídala nízkému obsahu vody (bylo tak dosaženo hodnot RWC od cca 0,1 do cca 0,3), změřený potenciál ale nejspíše neodpovídal realitě, ve

skutečnosti by měl být výrazně nižší. Tento pokus byl proveden se všemi druhy, ale pouze u brusinky se potenciál podařilo po dvouhodinovém vysychání změřit. Takto samozřejmě není ovlivněna pouze hodnota relativního obsahu vody při daném odběru, ale i ostatní parametry odečtené z p-V křivky. Hodnoty pro brusinku z obou lokalit při zářijovém odběru je tak třeba posuzovat se zřetelem na uvedenou skutečnost. Pokud tedy vyloučíme zářijové hodnoty, měnil se u brusinky prokazatelně obsah symplastické vody opět z konce května na srpen – na obou lokalitách klesal. Ve stejném období se stejně chovala i vlochyně na lokalitě Jezerní slat'. Další změny byly pozorovány u klikvy z Červeného blata – pokles hodnoty ze začátku na konec května. Žádné výrazné změny nejsou patrné ani na posuzování průběhu mediánů tohoto parametru.

Podle průběhů mediánů docházelo obecně u všech druhů k poklesu poměru symplastické vody k vodě celkové od jara do podzimu. Nejvyšší hodnoty se pohybovaly kolem 90%, nejnižší, dosažené zpravidla v září až 50%. Pokles poměru symplastické vody ku celkovému obsahu vody směrem k zimnímu období byl zaznamenán i Harayuma *et al.* (2006).

Snížení tohoto poměru může být způsobeno buď zvýšením obsahu vody v apoplastu za zachování obsahu symplastické vody, nebo relací opačnou, tedy skutečným snížením obsahu vody v symplastu. První možnost by ovšem znamenala i zvýšení celkového množství vody v rostlině nebo v orgánech, což by v období s vyšší pravděpodobností mrazu nebylo příliš výhodné. Druhá možnost je naproti tomu v souladu se snižováním obsahu vody v rostlinách při aklimaci (Sakai *et al.* 1987). Pro borůvku uvádějí Taulavuori *et al.* (2003) během aklimace pokles celkového obsahu vody ze 70-80% na 60-50%. Rovněž mají senescentní listy borůvky menší obsah vody než listy nové (Taulavuori *et al.* 2010).

Relativní obsah vody při nulovém turgoru

Hodnoty tohoto parametru se prokazatelně měnily pouze u klikvy na Červeném blatu. Tady hodnota nejprve stoupla z dubna na začátek května, poté však do konce května poklesla. Při pohledu na průběhy mediánů hodnot, je patrný pozvolný pokles od začátku sezóny směrem k jejímu konci u borůvky a brusinky, částečně i klikvy.

Pokles těchto hodnot zřejmě souvisí se snižováním obsahu symplastické vody zmíněným v předchozím oddílu.

Modul elasticity

Průkazné rozdíly nebyly u žádného druhu ani lokality zjištěny. Při sledování mediánů se jeví spíše stabilní pokles v průběhu sezóny u borůvky na obou lokalitách, od jara do léta pokles, ale od léta do podzimu nárůst u brusinky a vlohyně. U klikvy hodnoty v průběhu celé sezóny spíše mírně narůstají (s výjimkou říjnového odběru na Jezerní slati). Zvyšování hodnoty modulu elasticity směrem k zimě ukazuje na nárůst rigidity buněčných stěn. Změny ve struktuře a pevnosti buněčné stěny jsou jedněmi z přízpůsobení, k nimž dochází během aklimace (Adámková *et al.* 2006, Solecka *et al.* 2008).

Porovnání druhů v rámci strategie přežívání zimy

Osmotický potenciál při maximálním i nulovém turgoru, stejně jako hranice symplastické a apoplastické klesala víceméně u všech druhů od jara do podzimu. Modul elasticity však spíše klesal u borůvky, zatímco u ostatních druhů s nástupem pozdního léta a podzimu stoupal. Zdá se tedy, že všechny rostliny jsou schopny reagovat na změny teploty prostředí úpravou osmotických poměrů. Zvýšení pevnosti buněčných stěn však nastalo pouze u druhů neopadavých a vlohyně. Neopadavé druhy tak chrání své listy, které budou v zimě vystaveny mrazu. Vlohyně sice opadává, ale je možné, že investice do ochrany proti mrazu ve smyslu zvýšení pevnosti buněčné stěny souvisejí s její vysokou mrazuvzdorností (srovnej se. stejně nazvaným oddílem v kapitole 4.2.2.).

Stejně jako u mrazové odolnosti lze tedy zkoumané druhy rozdělit spíše než na opadavé a stálezelené na stálezelené + vlohyni, a borůvku.

5. Závěr

1. Teploty vzduchu při povrchu půdy a ve výšce 40 cm nad povrchem dosahovaly ve všech obdobích mezi jednotlivými odběry nižších hodnot na Jezerní slati než na Červeném blatě. Na Jezerní slati se rovněž v každém měsíci vyskytovalo více mrazových dnů.
2. Byla zjištěny průkazné rozdíly v úrovni odolnosti (hodnoty LT50) k mrazu u všech zkoumaných druhů na obou studovaných lokalitách. Nejvyšší úroveň odolnosti (tedy nejnižší hodnoty LT50) byly nalezeny na začátku vegetačního období, či v zimě. Nejnižší odolnost byla zjištěna v letních měsících. Výjimkou byla jen *Vaccinium myrtillus* z lokality Jezerní slat', která byla nejodolnější v srpnu a v září, v předcházejícím a následném odběru vykazovala nižší odolnost.
3. Bylo prokázáno odlišné využívání mechanismů avoidance a tolerance při jednotlivých odběrech. Většina druhů na obou lokalitách při většině odběrů vykazovala mechanismy tolerance. Avoidantní mechanismus byl těmito rostlinami využíván pouze v pozdním květnu nebo v srpnu, tedy v období vysoké růstové a vývojové aktivity. Z tohoto převládajícího trendu se vymykala pouze *Vaccinium myrtillus* z lokality Jezerní slat', u níž mechanismy avoidance převládaly, tolerantní byla pouze v září.
4. Nebyl zjištěn jednoznačný a stálý rozdíl v úrovni odolnosti rostlin stejného druhu z různých lokalit.
5. Bylo zjištěno jen málo signifikantních změn parametrů vodního provozu v průběhu vegetačního období 2009.
6. Převládajícím trendem u parametrů osmotický potenciál při maximálním turgoru, osmotický potenciál při nulovém turgoru a hranice symplastické a apoplastické vody pozorovaným u většiny druhů byl pokles od jara do podzimu. Tento pokles může být způsoben zvýšenou syntézou a akumulací (kompatibilních) solutů v protoplastech – v případě osmotických potenciálů – a snižováním obsahu vody v protoplastech – v případě hranice symplastické a apoplastické vody. Obé je považováno za mechanismy vedoucí ke zvýšení odolnosti k mrazu.

7. U druhů *Vaccinium vitis-idaea*, *V. uliginosum* a *Oxycoccus palustris* bylo možno pozorovat trend zvyšování modulu elasticity od léta do podzimu. Zvyšování pevnosti buněčných stěn může souviset se zvyšováním odolnosti k mrazu.

6. Citovaná literatura

KNIHY

Albrecht J. *et al.* (2003): *Chráněná území ČR – Českobudějovicko*. Agentura ochrany přírody a krajiny ČR, Praha

Dohnal Z., Kunst M., Mejstřík M., Raučina Š. *et* Vydra V.(1965): *Československá rašeliniště a slatiniště*. Nakladatelství Československé akademie věd, Praha

Kirkham M.B. (2005): *Principles of Soil and Plant Water Relations*. Elsevier Academic Press, USA

Kubát K., Hrouda L., Chrtek J. jun., Kaplan Z., Kirschner J. *et* Štěpánek J. (2002): *Klíč ke květeně České republiky.*, Academia, Praha

Larcher W. (2003) *Physiological plant ecology.*, Springer, Berlin

Levitt J. (1980): *Responses of Plants to Environmental Stresses (Vol. 1: Chilling, Freezing and High Temperature Stresses)*. Academic Press, New York

Marchand P. J. (1996): *Life in the Cold: An Introduction to Winter Ecology*. University Press of New England

Pavlová L. (2005): *Fyziologie rostlin*. Karolinum, Praha

Procházka S., Macháčková I., Krekule J., Šebánek S. *et al.* (1998): *Fyziologie rostlin*. Academia, Praha

Rundel P.W., Smith A.P. *et* Meinzer F.C. (1994): *Tropical Alpine Environments. Plant Form and Function*. Cambridge University Press, Cambridge

Sakai A. *et* Larcher W. (1987): *Frost Survival of Plants: Responses and Adaptations to Freezing Stress*. Springer, Berlin, 1987

ČLÁNKY

Adámková Š., Luhová L., Petřivalský M. *et* Peč P.(2006): Role L-fenylalaninamoniumlyasy při obranné reakci rostlin. *Chemické Listy* **100**: 486-494

Anisko T. *et* Lindstrom O.M. (1996): Cold hardiness and water relations parameters in *Rhododendron* cv. Catawbiense Boursault subjected to drought episodes. *Physiologia Plantarum* **98**: 147-155

Arora R., Rolland L.J., Ogden E.L., Dhanaraj A.L., Marian C.O., Ehlenfeld M.K. et Vinyard B. (2004): Dehardening kinetics, bud development and dehydrin metabolism in blueberry cultivars during deacclimation at constant, warm temperatures. *Journal of the American Society for Horticultural Science* **129**: 667-674

Baltzer L. J., Davies S. J., Buneyavejchewin S. et Noor N. S. (2008) The role of desiccation tolerance in determining tree species distribution along the Malay- Thai Peninsula. *Functional Ecology* **22**: 221-231

Bannister P. et Polwart A. (2001): The frost resistance of Ericoid Heath plants in the British Isles in relation to their biogeography. *Journal of Biogeography* **28**: 589-596

Beerling D.J., Terry A.C., Mitchell P.L., Callaghan T.V., Gwynn-Jones D. et Lee J.E.. (2001) Time to chill: Effects of simulated global change on leaf ice nucleation temperatures of subarctic vegetation. *American Journal of Botany*, **88**: 628-633

Bokhorst S., Bjerke J.W., Bowle F.W., Melillo J., Callaghan T.V. et Phoenix G.K.: Impacts of extreme winter warming in the sub-Arctic: growing season responses of dwarf shrub heathland. *Global Change Biology* **14**: 2603-2612

Bravo L. A., Saavedra-Mella F. A., Vera F., Guerra A., Cavieres L. A., Ivanov A. G., Hunter N. P. A. et Corcuera L. J. (2007): Effects of cold acclimation on the photosynthetic performance of two ecotypes of *Colobanthus quitensis* (Kunth) Bartl. *Journal of Experimental Botany* **58**: 3581-3590

Burghardt M. et Riederer M. (2003) Ecophysiological relevance of cuticular transpiration of deciduous and evergreen plants in relation to stomatal closure and leaf water potential. *Journal of Experimental botany*, **54**, 1941-1949

Ensminger I., Schmidt L. et Lloyd J. (2008): Soil temperature and intermittent frost modulate the rate of recovery of photosynthesis in Scots pine under simulated spring conditions. *New Phytologists* **177**: 428-442

Gouvra E. et Grammatikopoulos G. (2007): Drought and seasonal trend of water relations in five co-occurring chasmophytic species. *Flora* **202**: 237-248

Guy Ch. L. (2003): Freezing tolerance in plants: current understanding and selected emerging concepts. *Canadian Journal of Botany* **81**: 1216-1223

Guy Ch., Kaplan F., Kopka J., Selbig J. et Hinch D. K. (2008): Metabolomics of temperature stress - *Physiologia Plantarum* **132**: 220-235

Hacker J., Ladini U., Wagner J. et Neuner G. (2011): Inflorescences of alpine cushion plants freeze autonomously and may survive subzero temperatures by supercooling. *Plant Science* **180**: 140-156

Harayama H., Ikeda T., Ishida A. et Yamamoto S.-I. (2006): Seasonal variation in water relations in current-year leaves of evergreen trees with delayed greening. *Tree Physiology* **26**: 1025-1033

- Chinnusamy V., Zhu J. et Zhu J.-K. (2007): Cold stress regulation of gene expression in plants. *TRENDS in Plant Science* **12**: 444-451, 2007
- Jacquemart A.E. (1996) *Vaccinium uliginosum* L. *Journal of Ecology*, **84**: 771-785
- Jacquemart A.E. (1997) *Vaccinium oxycoccos* L. (*Oxycoccus palustris* Pers.) and *Vaccinium microcarpum* (Turcz. ex Rupr.) Schmalh. (*Oxycoccus microcarpus* Turcz. et Rupr.) *Journal of Ecology*, **85**: 381-396
- Janáček J. et Prášil I. (1991) Quantification of plant frost injury by nonlinear fitting of an S-shaped function. *CryoLetters*, **12**: 47–52
- Kikuchi T. et Masuda K. (2009): Class II chitinase accumulated in the bark tissue involves with the cold hardiness of shoot stems in highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.). *Scientia Horticulturae* **120**: 230-236
- Kosová K., Vítámvás P. et Prášil I. T. (2007): The role of dehydrins in plant response to cold. *Biologia Plantarum* **51**: 601-617
- Kubiske M. E. et Abrams M. D. (1990): Pressure-volume relationships in non rehydrated tissue at various water deficits. *Plant, Cell and Environment* **13**: 665-1000
- Lenz T.I., Wright I.J. et Westoby M. (2006): Interrelations among pressure-volume curve traits across species and water availability gradients. *Physiologia Plantarum* **127**: 423-433
- Liu Q., Kasuba M., Sakuma Y., Abe H., Miura S., Yamaguchi-Shinozaki K., and Shinozaki K. (1998) Two transcription factors, DREB1 and DREB2, with an EREBP/AP2 DNA binding domain, separate two cellular signal transduction pathways in drought- and low temperature-responsive gene expression, respectively, in *Arabidopsis*. *Plant Cell* **10**: 1391–1406
- Lundella L., Saarinen T., Hänninen H. (2010): Effects of snowmelt in the springtime photosynthesis of the evergreen dwarf shrub *Vaccinium vitis-idaea*. *Plant Ecology and Diversity* **3**: 121-130
- Malmer N., Svensson B.M. et Wallén B. (1994): Interactions between *Sphagnum* mosses and field layer vascular plants in the development of peat-forming systems. *Folia Geobotanica* **24**: 483-496
- Peng Y., Lin W., Krebs S. L. et Arora R. (2008): Phylogenetic analysis and seasonal cold acclimation-associated expression of early light-induced protein genes of *Rhododendron catawbiense*. *Physiologia Plantarum* **132**: 44-52
- Prášil I. et Zámečník J. (1998) The use of a conductivity measurement method for assessing freezing injury. I. Influence of leakage time, segment number, size and shape in a sample on evaluation of the degree of injury. *Environmental and Experimental Botany*, **40**: 1–10

- Prášil I. *et* Zámečník J. (1990): The course of electrolyte leakage from various samples killed by frost, liquid nitrogen or boiling. *Biologia Plantarum* **32**: 77-80
- Rada F., García-Núñez C., Boero C., Gallardo M., Hilal M., Gonzáles J., Prado F., Liberman-Cruz M. *et* Azócar A. (2001): Low temperature resistance in *Polylepis tarapacana*, a tree growing at the highest altitudes in the world. *Plant, Cell and Environment* **24**: 377-381
- Rektoris L. (1994): Struktura tajgy Červeného blata. Diplomová práce. Deponováno v knihovně Katedry botaniky
- Ritchie J.C. (1955) *Vaccinium vitis-idaea* L. *Journal of Ecology*, **43**, 701-708
- Ritchie J.C. (1956) *Vaccinium myrtillus* L. *Journal of Ecology*, **44**, 291-299
- Sakai A. *et* Wardle P. (1978): Freezing resistance of New Zealand trees and shrubs – *New Zealand Journal of Ecology* **1**: 51-61
- Sakai A. *et* Weiser C. J. (1973): Freezing resistance of trees in North America with reference to tree regions. *Ecology* **54**: 118-126
- Sánchez-Blanco M. S., Álvarez S., Navarro A. *et* Bañón S. (2009): Changes in leaf water relations, gas exchange, growth and flowering quality in potted geranium plants irrigated with different water regimes. *Journal of Plant Physiology* **166**: 467-476
- Scholander P. F., Hammel H.T., Bradstreet E. D. *et* Hemmingsen E. A. (1965) Sap pressure in vascular plants. *Science* **148**: 339-346
- Smallwood M. *et* Bowles D. J. (2002): Plants in a cold climate. *Philosophical Transactions of the Royal Society B* **375**: 831-847
- Sobrado M. A. (1986): Aspects of tissue water relations and seasonal changes of leaf water potential components of evergreen and deciduous species coexisting in tropical dry forests. *Oecologia* **68**: 413-416
- Soitamo A. J., Piippo M., Allahverdiyeva Y., Battchikova N. *et* Aro E.-M. (2008): Light has a specific role in modulating Arabidopsis gene expression at low temperature. *BMC Plant Biology* **8**:13
- Solecka D., Zebrowski J. *et* Kacperska A. (2008): Are pectins involved in cold acclimation and deacclimation of winter oil-seed rape plants? *Annals of Botany* **101**: 521-530
- Strimbeck G. R., Kjellsen T. D. Scharberg P. G. *et* Murakami P. F. (2007): Cold in the common garden: comparative low-temperature tolerance of boreal and temperate conifer foliage. *Trees* **21**: 557-567
- Taschler D. *et* Neuner G. (2004): Summer frost resistance and freezing patterns measured *in situ* in leaves of major alpine plant growth forms in relation to their upper distribution boundary. *Plant, Cell and Environment* **27**: 737-746

Taulavuori E., Tahkokorpi M., Laine K. *et* Taulavuori K. (2010): Drought tolerance of juvenile and mature leaves of a deciduous dwarf shrub *Vaccinium myrtillus* L. in a boreal environment. *Protoplasma* **241**: 19-27

Taulavuori E., Tahkokorpi M., Taulavuori K. *et* Laine K. (2003): Anthocyanins and glutathione S-transferase activities in response to low temperature and frost hardening in *Vaccinium myrtillus* L. *Journal of Plant Physiology* **161**: 903-911

Taulavuori E., Taulavuori K., Laine K., Pakonen T. *et* Saari E. (1997): Winter hardening and glutathione status in the bilberry (*Vaccinium myrtillus*) in response to trace Gases (CO₂, O₃) and nitrogen fertilization. *Physiologia Plantarum* **101**: 192-198

Taulavuori K., Laine K. *et* Taulavuori E. (2002): Artificial deacclimation response of *Vaccinium myrtillus* in mid-winter. *Annales Botanici Fennici* **39**: 143-147

Tolvanen A. (1997) Recovery of the bilberry (*Vaccinium Myrtillus* L.) from artificial spring and summer frost, *Plant Ecology* **130**: 35–39

Workmaster B. A. A., Palta J. P. *et* Wisniewski M. (1999): Ice nucleation and propagation in cranberry uprights and fruit using infrared video thermography. *Journal of the American Society for Horticultural Science* **124**: 619-625

Zhen Y. *et* Ungerer M. C. (2008): Clinal variation in freezing tolerance among natural accessions of *Arabidopsis thaliana*. *New Phytologists* **177**: 419-427

WEB

<http://www.npsumava.cz/en/3129/4003/clanek/jezerni-slat-lake-moor/>

http://www.nature.cz/natura2000-design3/web_lokality.php?cast=1805&akce=karta&id=1000040793

<http://www.emsbrno.cz/>

<http://pmsinstrument.com/1000.htm/>