

Mendelova univerzita v Brně
Lesnická a dřevařská fakulta
Ústav nauky o dřevě

Analýza tvorby xylému ve dvou porostech odlišného věku u jedinců smrku ztepilého (*Picea abies* (L.) Karst)

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2015/2016

Petra Rolincová

Čestné prohlášení:

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci na téma **Analýza tvorby xylému ve dvou porostech odlišného věku u jedinců smrku ztepilého (*Picea abies* (L.) Karst.)** zpracovala samostatně a veškeré použité prameny a informace uvádím v seznamu použité literatury. Souhlasím, aby moje práce byla zveřejněna v souladu s § 47b Zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách ve znění pozdějších předpisů a v souladu s platnou směrnicí o zveřejňování vysokoškolských závěrečných prací.

Jsem si vědoma, že se na moji práci vztahuje zákon č. 121/2000 Sb., autorský zákon, a že Mendelova univerzita v Brně má právo na uzavření licenční smlouvy a užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona.

Dále se zavazuji, že před sepsáním licenční smlouvy o využití díla jinou osobou (subjektem) si vyžádám písemné stanovisko univerzity, že předmětná licenční smlouva není v rozporu s oprávněnými zájmy univerzity a zavazuji se uhradit případný příspěvek na úhradu nákladu spojených se vznikem díla, a to až do jejich skutečné výše.

V Brně, dne:

.....

Petra Rolincová

Poděkování

Ráda bych poděkovala svému vedoucímu práce doc. Ing. Hanuši Vavrčíkovi, Ph.D., za rady, odborné konzultace a za čas věnovaný zjišťování dat z vytvořených mikroskopických preparátů. Poděkování patří také celému Ústavu nauky o dřevě, především doc. Ing. Vladimíru Grycovi, Ph.D., Ing. Marku Fajstavrovi a Dr. Kyriaki Giagli za trpělivost, pomoc a konzultaci v praktické části. V neposlední řadě děkuji Ústavu ekologie lesa za poskytnutí výzkumné plochy a doc. RNDr. Ireně Markové, CSc., z Ústavu zakládání a pěstění lesů za poskytnutá klimatická data z výzkumné plochy.

Abstrakt

Rolincová, P.: Analýza tvorby xylému ve dvou porostech odlišného věku u jedinců smrku ztepilého (*Picea abies* (L.) Karst.)

Bakalářská práce. Mendelova univerzita v Brně. 2016

Analýza tvorby xylému v porostech odlišného věku proběhla na výzkumné ploše Dražanské vrchoviny. Hlavním úkolem bylo porovnat dynamiku růstu mezi stromy mladého a starého porostu během vegetačního období roku 2014. Vzorky byly odebírány pomocí nástroje Trephoru v týdenních intervalech. Z těchto vzorků byly vyrobeny mikrořezy použitím metody impregnace parafinem a krájením na rotačním mikrotomu. Výsledky byly srovnány se studii téhož zaměření. Kambialní aktivita starých stromů byla o 20 dnů kratší než u stromů starých a také počet kambialních buněk starých stromů byl menší. Trend diferenciací tracheid xylému byl u obou věkových kategorií stejný, ale u stromů starých byl počátek jednotlivých fází diferenciací opožděn o 11–14 dní oproti stromům mladým. Tempo produkce buněk bylo vyšší u mladých stromů. Celkový počet buněk vytvořeného letokruhu byl u mladých stromů o 42 % vyšší.

Klíčová slova: smrk ztepilý, tvorba xylému, diferenciací buněk, kambium

Abstract

Rolincová, P.: Analysis of xylem formation in two stands of different age in individuals Norway spruce (*Picea abies* (L.) Karst.)

Bachelor thesis. Mendel University in Brno. 2016

Analysis of xylem formation in the stands of different ages was realized in research area in Dražany Highlands. The main objective was to compare the growth dynamics between young and old trees during the growing season 2014. Samples were taken at weekly intervals by means of Trephor tool. For these samples were made the micro-incisions with using the method impregnation microcores paraffin and slicing on rotary microtome. The results were compared with studies with the same focus. Cambial activity of old trees was 20 days shorter than in case of young trees and the number of cambial cells of old trees was smaller than young trees. Trend of xylem cell development was the same for both age groups, but in old trees the beginning of differentiation was shifted by 11–14 days later. Production rate of cells was higher in young trees. Total number of cells of newly formed annual ring was in young trees 42 % higher.

Key words: Norway spruce, xylem formation, cell differentiation, cambium

Obsah

1	ÚVOD.....	7
2	CÍL PRÁCE.....	8
3	LITERÁRNÍ PŘEHLED	9
3.1	Obecná charakteristika smrku ztepilého (<i>Picea abies</i> (L.) Karst.)	9
3.2	Obecná charakteristika struktury dřeva a definice řezů	12
3.3	Makroskopická stavba dřeva jehličnatých dřevin	13
3.4	Mikroskopická stavba dřeva jehličnatých dřevin.....	14
3.4.1	Tracheidy	14
3.4.2	Parenchymatické buňky	16
3.5	Kambium.....	17
3.6	Diferenciace anatomických elementů dřeva	18
3.7	Vliv činitelů na tvorbu xylému	19
3.7.1	Vliv věku na tloušťkový růst dřevin	20
4	MATERIÁL A METODIKA.....	22
4.1	Lokalizace a charakteristika výzkumné plochy odběru vzorků	22
4.2	Metoda odběru vzorků	23
4.3	Metoda zpracování odebraných vzorků	24
4.3.1	Zkracování a označení příčného řezu odebraných vzorků.....	24
4.3.2	Dehydratace vzorků v ethanolové řadě a impregnace parafínem	24
4.3.3	Fixace mikrovývrtů v parafínu	25
4.3.4	Výroba mikrořezů krájením na rotačním mikrotomu	26
4.3.5	Výroba a barvení trvalých preparátů	28
4.4	Měření vyrobených mikroskopických preparátů	29
4.5	Statistické vyhodnocení naměřených dat	30
5	VÝSLEDKY	32
5.1	Činnost kambia.....	32

5.2	Diferenciace tracheid	34
5.2.1	Fáze radiálního rozšiřování buněk	36
5.2.2	Fáze dozrávání buněk	38
5.2.3	Fáze zralých buněk	39
5.3	Celkový počet tracheid.....	41
6	DISKUSE.....	44
6.1	Činnost kambia.....	44
6.2	Diferenciace tracheid	45
7	ZÁVĚR	48
8	SUMMARY.....	49
9	LITERATURA	50

1 ÚVOD

Les je jedinečný a nenahraditelný přírodní komplex poskytující člověku obrovské množství energie. Energie nejen ve formě kyslíku a nejrůznějších surovin, které z něj získáváme, ale i energie duševní získané při pohledu a obdivu těchto nádherných lesních společenstev. Důležitost existence lesa poznali už naši pradávni předkové, kteří les využívali především jako zdroj obživy, úkrytu, materiálu pro výrobu zbraní, přístřešků a také jako materiál pro udržení ohně. V dnešní době je mnoho lesů zaměřeno na produkci dřevní hmoty, nesmíme ovšem zapomínat na to, že les je domovem zvířete a rostlin, fotosyntézou vytváří velké množství kyslíku, kořeny stromů brání odnosu a erozi půdy, zadržuje velké množství srážek a tím vším ovlivňuje okolní klima.

Cílem každého hospodaření v lese by mělo být vyprodukovat co nejvíce kvalitního dřeva za minimálního vzniku škod na daném ekosystému a neustále les obnovovat. Růst stromů a tím pádem i růst dřeva je ovlivňován mnoha faktory, ať už se jedná o faktory abiotické (voda, vítr, sníh, mráz, sucho, půda) či biotické (dřevokazný hmyz a houby), tak i věk má velký vliv na primární i sekundární růst dřevin. Pozorování dynamiky růstu jednoho druhu dřeviny na určitém stanovišti v průběhu několika desetiletí by mohlo vést ke změně a načasování pěstebních opatření, které by dokázaly zkvalitnit vytvářející se dřevní hmotu a dokázaly by zvýšit stabilitu i odolnost daného porostu.

2 CÍL PRÁCE

Cílem této práce bylo zjistit rozdíly v dynamice sekundárního růstu na buněčné úrovni u jedinců smrku ztepilého (*Picea abies* (L.) Karst.) mezi dvěma porosty odlišného věku na výzkumné ploše Rájec-Němčice během vegetačního období roku 2014. Úkolem bylo zhotovit trvalé preparáty z odebraných mikrovýrtů, provést statistickou analýzu naměřených dat, která byla zaměřena především na rozdíl dynamiky růstu a celkového počtu buněk vytvořeného letokruhu, buněk kambiální zóny, buněk ve fázi radiálního rozšiřování, buněk ve fázi dozrávání a buněk již plně vyvinutých. Dalším úkolem bylo porovnat zjištěné výsledky s ostatními studiemi, které se zabývaly tímto tématem.

3 LITERÁRNÍ PŘEHLED

3.1 Obecná charakteristika smrku ztepilého (*Picea abies* (L.) Karst.)

Smrk ztepilý (*Picea abies* (L.) Karst.) je jehličnatá neodpadávající dřevina velkých rozměrů, dosahující výšky kolem 50 m a dožívající se až 650 let (Úradníček & Maděra et al., 2009). Střední výška ve sto letech věku se v ČR pohybuje mezi 16–36 m, objem středního kmene ve sto letech může na nejbohatších stanovištích dosahovat až 2 m³. Kmen je štíhlý, pravidelného až válcovitého tvaru většinou se značně vyvinutými kořenovými náběhy. Borka je v mládí červenohnědá, tenká a šupinatá, později šedá a odlupující se v plochých šupinách (Musil & Hamerník, 2007). Koruna si až do vysokého věku zachovává štíhlý, kuželovitý vrchol. Větve hlavních přeslenů mohou být štíhlé s jemným ovětvením, ale i široké se silnými větvemi. Větvení druhého řádu bývá velice variabilní, někdy je deskovitě ploché, jindy převislé s nejrůznějšími typy přechodu (Chmelař, 1981). Smrk je znám svým plochým kořenovým systémem, nedostatečně zakotveným v půdě, díky čemuž ve spolupráci s větrem dochází často k jeho vývrátům (nejnáchylnější jsou smrkové monokultury na podmáčených půdách). Rhizologické kořenové výzkumy různých autorů ovšem ukazují, že kořenový systém této dřeviny je značně variabilní (kuželovitý, válcovitý, kořenový systém s výrazně odlišenými silnými horizontálními a četnými tenčími hluboko sahajícími vertikálními kořeny) a vývoj kořenů je odlišný i podle stáří jedince. V horských oblastech jsou časté chůdovité kořeny (Musil & Hamerník, 2007).

Letorosty smrku mají červenožlutou až hnědou barvu, jsou lysé nebo řídce chlupaté. Jehlice jsou leskle zelené, na průřezu čtyřhranné, až 3 cm dlouhé (Úradníček & Maděra et al., 2009) a vytrvávají na stromě obvykle 6 až 9 let (Chmelař, 1981). Větvičky jsou po opadu jehličí drsné od vystouplých listových polštářků (Úradníček & Maděra et al., 2009). Smrk začíná plodit v porostu kolem 60. roku (Chmelař, 1981) a plodné roky s bohatší úrodou se dostávají jen jednou za 5–8 let. Samčí šištice jsou drobné červené, po rozkvětu žluté a bývají rozmístěny po celé ploše koruny v paždí jehlic na loňských větvičkách (Úradníček & Maděra et al., 2009), kvetení probíhá od dubna do června (Musil & Hamerník, 2007). Samičí šištice jsou vzpřímené, zelené nebo červené, umístěny v horní části koruny na vrcholcích loňských větviček. Šišky jsou převislé, nerozpadavé, válcovitého tvaru, dlouhé 10 až 16 cm a ze stromu opadávají až druhým rokem (Úradníček & Maděra et al., 2009). Semena jsou 2–5 mm dlouhá, tmavě hnědá s blanitým snadno oddělitelným křídlem (Musil & Hamerník, 2007).

Smrk je považován za dřevinu světlomilnou, která v mládí dobře snáší zástín, což jí umožňuje snadné vniknutí do porostů jiných dřevin, kde později zaujímá jejich místo. Díky této toleranci k zastínění často bývá v hospodářských lesích v druhé etáži. Smrkové porosty jsou tedy často semknuté a brání dopadu slunečních paprsků na půdní povrch. Kvůli mělkému kořenovému systému je smrk náročný na půdní vlhkost, proto na plochách s malou zásobou vody dojde v určitém stáří k ochromení růstu. Limitujícím faktorem růstu je tedy nedostatek vláhy (Chmelař, 1981). Za optimální úhrn srážek pro smrk ve vegetačním období se udává 490–580 mm (Musil & Hamerník, 2007). Smrk ovšem dobře snáší nadbytečnou vlhkost a přetrvává i stagující vodu. Na půdu a geologické podloží nemá smrk velké nároky, osidluje nejrozličnější půdní typy. Nejlépe se mu daří na svěžích hlinitopísčitéch půdách, těžce snáší málo provzdušněné a suché půdy. Svým opadem vytváří velkou vrstvu surového humusu, který negativně ovlivňuje koloběh živin (především vápníku) v půdě a tím může dojít až k podzolizaci (Chmelař, 1981). Smrk není náročný na klima, citlivý je na vysoké teploty, nízkou relativní vlhkost vzduchu a na znečištěné ovzduší (zejména výskyt SO₂). Problém mu kromě větru způsobují i sněh a námraza, kvůli kterým trpí vrcholovými zlomy (Úradníček & Maděra et al., 2009).

Výškový přírůst smrku se zpočátku zvětšuje pozvolně, později se zrychluje a kulminace růstu se dostavuje kolem 40 let (Musil & Hamerník, 2007).

Není pochyb o tom, že smrk je jednou z našich hlavních hospodářských dřevin. Díky svému homogennímu bezjadernému dřevu je používán ve všech odvětvích dřevařského průmyslu (truhlářství, nástrojářství, stavebnictví), ceněna je také vláknina pro papírenský průmysl, palivové dříví a výrobu řeziva. Nejcennější jsou však ty nejkvalitnější porosty s rezonančním dřívím, které je zpracováváno na výrobu hudebních nástrojů. Dříve se těžila i pryskyřice jako surovina pro výrobu bednářské smůly a kůra bývala důležitou surovinou pro výrobu třísila. Mladé letorosty smrku bohaté na vitamín C se používaly v léčitelství (Chmelař, 1981).

Bohužel, tato dřevina se širokou škálou využití má mnoho biotických škůdců, kterými bývá napadána a udolávána zejména v období oslabení. Mezi nejzávažnější škůdce patří např.: bekyně mniška (*Lymantria monacha*), pilatky rodu *Pristiphora*, lýkožrout smrkový (*Ips typographus*), lýkožrout lesklý (*Ips chalcographus*), klikoroh borový (*Hylobius abietis*) (Křístek & Urban, 2004), václavka smrková (*Armillaria ostoyae*), kořenovník vrstevnatý (*Heterobasidion annosum*), pevník krvavějící (*Stereum sanguinolentum*) a mnoho dalších (Černý, 1989).

Přirozené zastoupení smrku v našich lesích je 11,2 % (Musil & Hamerník, 2007). Zpráva o stavu lesa a lesního hospodářství České republiky (2014) udává, že smrk ztepilý v současnosti zaujímá 50,7 % rozlohy lesů. Současné zastoupení smrku je tedy 5násobně zvětšeno oproti původnímu na úkor smíšených lesů jedlobukových, bukových a dokonce dubových a to kvůli rychlému růstu a technickým vlastnostem dřeva (Musil & Hamerník, 2007). Na celém našem území je zastoupen horský smrk hercynsko-karpatské oblasti, vyskytující se téměř ve všech nižších i vyšších pohořích (300 – 1550 m n. m.). Těžištěm jeho výskytu jsou okrajová příhraniční horstva, ve vnitrozemských pohořích jako například v Českomoravské a Dražanské vrchovině, v Brdech, Slavkovském lese a Oderských vrších je autochtonní zastoupení řidší (Úradníček & Maděra et al., 2009). Karpatský smrk je rozšířen ve všech vyšších polohách karpatského systému (Vsacké vrchy, Javorníky, západními Beskydy) a také ve většině pohoří centrálních Karpat (Úradníček et al., 2014).

Smrk ztepilý obývá rozlehlý evropský areál, který se člení na dvě oddělené části. První částí je Severská oblast, která navazuje na areál rozšíření smrku severského (severovýchodní Evropa), zabírá téměř celou Skandinávii, zasahuje na jih do Pobaltí a odtud k východu přes střed evropské části Ruska k Uralu. Druhou částí rozšíření smrku ztepilého je Středoevropsko-balkánská oblast, ta zaujímá horské soustavy střední a jihovýchodní Evropy. V této druhé části je areál nesouvislý a rozpadá na jednotlivá horstva, kterými jsou: Hercynsko-karpatská oblast (rozprostírající se od Černého lesa přes německé hornatiny k východu přes horské oblasti ČR a přes celé Karpaty až do Transylvánských Alp), Alpská oblast (zahrnující celý alpský systém), Dinárská oblast (ta se rozprostírá v nejvyšších partiích Dinárské horské soustavy, navazuje na Alpy a přes Srbsko zasahuje až do Albánie), Rhodopská oblast zaujímající především pohoří Bulharska (Úradníček et al., 2014).

Vertikální rozšíření smrku se výrazně mění v závislosti na zeměpisné šířce. Optimální poloha pro smrk v našich klimatických podmínkách je 600–1000 m n. m. (Úradníček et al., 2014), kde je i jeho produkční optimum (Musil & Hamerník, 2007). Smrk ovšem vystupuje až k horní hranici lesa, která se v české republice pohybuje kolem 1300 m n. m. (Úradníček et al., 2014).

3.2 Obecná charakteristika struktury dřeva a definice řezů

V kmeni rozlišujeme směrem od obvodu ke středu: kůru (včetně lýka), kambium, dřevo a dřeň. Kuželovitá vrstevnatá stavba kmene s převahou podélně orientovaných vláknitých elementů způsobuje, že řezy vedené pod různým úhlem k podélné ose kmene mají v odlišných vzdálenostech od ní různou kresbu. Makroskopická struktura jednotlivých částí kmene je odrazem jejich anatomické (mikroskopické) struktury, kterou lze sledovat na třech základních řezech, kterými jsou: příčný, radiální (podélný) a tangenciální. Příčný řez prochází rovinou kolmou na osu kmene, je to nejdůležitější řez pro makroskopické určování dřeva, protože na něm vidíme základní diagnostické znaky, kterými jsou například letokruhy, široké cévy ve formě pórů u listnatých dřevin s kruhovitě pórovitou stavbou dřeva a široké dřevní paprsky. Radiální řez je veden rovnoběžně s osou kmene a zároveň prochází jeho středem (dření), letokruhy zde pozorujeme jako rovnoběžné pásy, cévy vidíme jako rýhy a dřevové paprsky jako lesklé plochy rozmanitého tvaru, které jsou barevně odlišeny od okolního dřeva. Tangenciální řez je řez vedený rovnoběžně s osou kmene v určité vzdálenosti od dřene. Ve střední části řezu vidíme letokruhy jako různě zakřivené parabolické útvary, kdežto na okraji řezu je jejich průběh téměř rovný. S výjimkou dřevových paprsků na tomto řezu pozorujeme všechny elementy v podélných rozměrech.

Dřevo (xylém) je hmota organického původu, která se vytváří přírodními procesy v kmenech, větvích a kořenech dřevin. Dřevo představuje soubor rostlinných pletiv, jehož převážná většina buněčných elementů má zdřevnatělé (lignifikované) buněčné stěny (Gandelová & Šlezingerová, 2014; Gandelová et al., 2004). Základními stavebními prvky dřeva jsou celulóza, hemicelulózy a lignin (Šlezingerová & Gandelová, 2008).

Dřevo pozorované pouhým okem má charakteristické morfologické znaky textury, kterými jsou kresba, barva (běl, jádro, vyzrálé dřevo), tvar a výskyt jednotlivých znaků dřeva (podíl jarního a letního dřeva v letokruhu, hranice letokruhu, cévy, dřevové paprsky, pryskyřičné kanálky, dřevové skvrny), které jsou typické pro určité dřeviny (Požgaj et al., 1997).

Letokruh je tloušťkový přírůst dřeva vytvořený postupně během vegetačního období činností dělivého pletiva – kambia. Každý letokruh se skládá ze dvou vrstev, jarního a letního dřeva, které se mezi sebou liší strukturou. Jarní dřevo je vytvářeno na počátku vegetačního období, je světlejší s menší hustotou. V druhé polovině vegetačního období

se vytváří zpravidla tmavší, hustější letní dřevo (Gandelová & Šlezingerová, 2014; Gandelová et al., 2004).

3.3 Makroskopická stavba dřeva jehličnatých dřevin

Dřevo jehličnatých dřevin má výraznou vrstvu letního dřeva a nejméně výrazný přechod mezi jarním a letním dřevem. Jarní dřevo je světlejší a viditelně měkčí než letní dřevo, které je tmavší a má až třikrát větší hustotu (Požgaj et al., 1997). Zastoupení jarního dřeva v letokruhu je zpravidla vyšší. Dřevo našich jehličnanů lze podle ostroty hranice (od ostré k pozvolné) mezi jarním a letním dřevem seřadit následovně: modřín, douglaska, borovice, tis, jedle, smrk, jalovec (Gandelová & Šlezingerová, 2014; Gandelová et al., 2004).

Dřeňové paprsky jsou tvořeny seskupením parenchymatických buněk, které jsou orientovány na podélnou osu kmene. Dřeňové paprsky mají dřeva všech dřevin, neboť zastávají důležitou funkci – zabezpečují horizontální pohyb organických látek a vody. Tyto paprsky podle šířky a makroskopické viditelnosti členíme na široké (makroskopicky viditelné na všech řezech), úzké (makroskopicky méně zřetelné s výjimkou příčného řezu) a velmi úzké (makroskopicky nezřetelné). Zastoupení dřeňových paprsků ve dřevě jehličnanů je 5–10 % z celkového objemu dřeva.

Pryskyřičné kanálky jsou mezibuněčné prostory, obklopené buňkami, které shromažďují a vylučují pryskyřici. Podle jejich orientace v kmeni rozlišujeme kanálky horizontální (orientované kolmo na podélně uložené buňky xylému, makroskopicky nezřetelné) a kanálky vertikální (uloženy svisle mezi podélně orientovanými tracheidami jehličnatého dřeva). Tyto kanálky jsou vzájemně propojeny a vytváří tak systém kanálků, kterými při poranění povrchu vytéká pryskyřice. Pryskyřice má ochrannou a impregnační funkci. Vertikální kanálky můžeme makroskopicky pozorovat na příčném řezu ve formě teček nebo na podélných řezech jako svislé tenké čárky. Výskyt pryskyřičných kanálků je důležitým determinačním znakem pro určování dřev jehličnatých dřevin. Pryskyřičné kanálky mají dřeviny rodu smrk, modřín, borovice a douglaska. Podíl kanálků je malý (u smrku 0,2 %) a výrazně neovlivňuje vlastnosti dřeva.

Ojediněle se u jehličnatých dřevin mohou vyskytnout dřeňové skvrny. Dřeňové skvrny představují seskupení parenchymatických buněk, které vznikly reakcí na poškození kambia hmyzem nebo bakteriemi. Makroskopicky se na příčném řezu projevují jako tmavé pásy, na podélných řezech je vidíme jako skvrny nejrůznějšího tvaru (Gandelová & Šlezingerová, 2014; Šlezingerová & Gandelová, 2008).

Zbarvení dřeva způsobují látky, které jsou uloženy v buněčných dutinách nebo buněčných stěnách, jsou to především barviva, pryskyřice a terpeny. Barva dřeva je charakteristická pro každou dřevinu, například smrk má dřevo žlutobílé nebo světle žlutohnědé (Gandelová & Šlezingerová, 2014), nicméně je to vlastnost velmi proměnlivá a ovlivňuje ji mnoho faktorů – vlhkost, vzduch, světlo, věk i klimatické podmínky (Gandelová et al., 2004).

3.4 Mikroskopická stavba dřeva jehličnatých dřevin

Mikroskopické složení dřeva je u různých dřevin velmi variabilní, rozdělíme-li dřeviny na skupinu jehličnanů a listnáčů, můžeme pozorovat v rámci každé této skupiny určitou shodnost v jejich mikroskopické struktuře (Valin, 1955). Dřevo jehličnatých dřevin je vývojově mladší a tím pádem má i poměrně jednodušší anatomickou stavbu než dřevo listnatých dřevin (Požgaj et al., 1997). Dřevo jehličnanů je složeno pouze ze dvou druhů buněk, kterými jsou tracheidy a parenchymatické buňky. Základním a převládajícím elementem jsou tracheidy neboli cévice, které zabírají kolem 90 % celkového objemu dřeva, tracheidy plní funkci vodivou i mechanickou. Z parenchymatických buněk se skládají dřeňové paprsky, pryskyřičné kanálky a u některých druhů jehličnatých dřevin axiální (podélný) parenchym. Úkolem parenchymatických buněk dřeňových paprsků je rozvádět organické zásobní látky (Perelygin, 1965). Mikroskopická stavba dřeva je obdobně jako makroskopická popisována na třech řezech dřevem – příčném, radiálním a tangenciálním (Gandelová & Šlezingerová, 2014).

3.4.1 Tracheidy

Tracheidy mají tvar dlouhých vřetenovitých uzavřených buněk (vláken) s různým zakončením. Na příčném řezu mají čtyř až šesti úhelníkový tvar a jsou uspořádány v pravidelných radiálních řadách. Tvar, šířka, délka a tloušťka buněčné stěny tracheid se liší podle jejich funkce (Gandelová & Šlezingerová, 2014).

Začátkem vegetačního období se vytvářejí jarní tracheidy, které mají především vodivou funkci, vedou vodu s rozpuštěnými minerálními látkami vzestupným proudem z kořenů do koruny stromu. Jarní tracheidy jsou tenkostěnné (průměrná tloušťka buněčné stěny je 2–3 μm), na koncích převážně zaoblené a na průřezu mají většinou čtyřúhelníkový tvar. Délka tracheid se pohybuje mezi 2 až 6 mm, podle Wagenföhra (1966) je průměrná délka tracheidy smrku 2,9 mm. Na radiálních stěnách těchto tracheid se vyskytuje velké množství dvojteček, které jsou uspořádány převážně v jedné řadě, méně

často pak ve dvou řadách vedle sebe. Na tangenciální stěně jarních tracheid je počet i rozměr dvojteček menší (Požgaj et al., 1997). Průměr dvojteček je variabilní a liší se podle druhu dřeviny. Vnější rozměry se pohybují od 8 do 31 μm , průměr otvoru (porusu) může mít 4–8 μm (Perelygin, 1965). Dvojtečky jsou otvory v buněčných stěnách, zakryté membránou a procházejí jimi roztoky živin z buňky do buňky. Ve dvou sousedních tracheidách jsou dvojtečky položeny naproti sobě (Valin, 1955). Pro ulehčení spojení mezi tracheidami mají membrány dvojteček v okrajové části malé úplné perforace oválného nebo kruhovitého tvaru. Při vychýlení membrány torus zavírá otvor dvojtečky a voda jimi nemůže proudit (Perelygin, 1965).

V druhé polovině vegetačního období se vytvoří letní tracheidy, které zastávají především funkci mechanickou. Jsou to dlouhé, tlustostěnné (tloušťka buněčné stěny je průměrně 3–7 μm) buňky vřetenovitého tvaru s ostrým zakončením. Letní tracheidy jsou přibližně o 10 % delší než jarní. Šířka těchto tracheid je v tangenciálním směru stejná jako šířka jarních tracheid, ale ve směru radiálním je letní tracheida užší. Stěny letních tracheid obsahují mnohem méně dvojteček se štěrbinovitými porusy, které zůstávají otevřeny i po vysušení dřeva, díky čemuž umožňují průnik impregnačních prostředků (Požgaj et al., 1997).

Kromě ztenčení v podobě dvojteček se na buněčných stěnách mohou vyskytovat spirální ztluštění (u dřeva tisu a douglasky), které zvyšují pevnost tracheid (Valin, 1955). Rozměry tracheid a jejich buněčných stěn závisí na mnoho faktorech – poloha v kmeni, věk stromu, stanovištní poměry, postavení stromu v porostu. Nepříznivými podmínkami se rozměry tracheid zmenší a může dojít i ke snížení objemu buněčných stěn. Délka tracheid a tloušťka jejich stěn se v příčném směru zvětšuje od středu k obvodu kmene až do 40 let věku, dále zůstává nezměněna nebo je nepatrně zmenšuje. Ve starším dřevě se rozměry tracheid v rámci letokruhu od báze kmene směrem ke koruně postupně zvětšují (Požgaj et al., 1997). Tracheidy jsou ve dřevě orientovány převážně vertikálně, takže jsou na příčném řezu viditelné v jejich příčných rozměrech a vytváří tak pravidelné řady. Ve směru od jarního dřeva k letnímu dřevu klesá příčný rozměr tracheid a zvyšuje se tloušťka jejich buněčných stěn. Přejít mezi zónou jarních a letních tracheid a může být jak pozvolný (např. u dřeva jalovce), tak ostrý (dřevo modřínu). Kromě tracheid uložených vertikálně se ve dřevě mohou vyskytovat tracheidy orientované horizontálně, které nazýváme příčné nebo ležaté tracheidy. Ty jsou součástí dřevových paprsků, kde se většinou vyskytují na jejich okrajích, ale mohou být i uprostřed mezi parenchymatickými

buňkami. Ležaté tracheidy mají menší rozměry než vertikální a jsou vzájemně propojeny malými dvojtečkami. Ležaté tracheidy jsou propojeny i s parenchymatickými buňkami dřevových paprsků a to polovičními dvojtečkami (Gandelová & Šlezingerová, 2014).

3.4.2 Parenchymatické buňky

U dřev jehličnatých dřevin se nejčastěji setkáváme s dřevovými paprsky jednovrstevnými, které na příčném řezu vypadají jako proužky orientované kolmo na letokruh a jsou složeny z jedné vrstvy krátkých parenchymatických buněk. Na tangenciálním řezu má tento paprsek tvar vřetene a po šířce se podobá širokým čočkám, které jsou složeny z několika vrstev buněk (Valin, 1955). Dřevové paprsky ve dřevě smrku jsou složeny ze dvou typů buněk (Perelygin, 1965), nazýváme je tedy paprsky různorodými neboli heterocelulárními (Valin, 1955). Nejvyšší a nejnižší vrstva paprsku je tvořena horizontálními tracheidami s malými dvojtečkami, prostřední vrstvu paprsku tvoří vertikálně orientované parenchymatické buňky s tečkami. Ve vegetačním období dřevovými paprsky prochází v horizontálním směru voda s živinami a v období vegetačního klidu se v nich ukládají zásobní látky (Perelygin, 1965).

Ve dřevě některých jehličnanů pozorujeme pryskyřičné kanálky, ty se podle uložení ve dřevě dělí na vertikální a horizontální, oba dva druhy jsou vzájemně propojeny (Valin, 1955). Vertikální kanálky jsou orientovány rovnoběžně s podélnou osou kmene a bývají utvořeny třemi vrstvami buněk (epitelovými, parenchymatickými, mrtvými). Vnitřní vrstva kanálku je tvořena epitelovými (výstelkovými) buňkami, které u jednotlivých jehličnanů dosahují různého počtu, tvaru a tloušťky buněčné stěny. Ve dřevě smrku jsou epitelové buňky menší, tlustostěnné a ve vyšších počtech. Prostřední vrstvu kanálku tvoří buňky mrtvé, které tvoří mechanickou oporu epitelových buněk. Vnější vrstva je tvořena živými parenchymatickými buňkami tzv. doprovodného parenchymu, ve kterých jsou nahromaděny zásobní látky. Horizontální pryskyřičné kanálky jsou orientovány kolmo na podélnou osu kmene a jsou uloženy ve vícevrstevných dřevových paprscích. Jsou tvořeny pouze ze dvou vrstev buněk a těmi jsou buňky epitelové a buňky mrtvé. Počet, velikost a tloušťka buněčné stěny u jednotlivých dřevin odpovídá vertikálním pryskyřičným kanálkům (Gandelová & Šlezingerová, 2014).

Ve dřevě některých jehličnanů se můžeme setkat s výskytem podélného (axiálního) dřevního parenchymu. Ten je orientován rovnoběžně s podélnou osou kmene, je tvořen soubory tenkostěnných parenchymatických buněk. V běli jsou buňky živé, kde plní

zásobní funkci, při zjadernění dochází k jejich odumření. V jádrovém dřevě bývají tyto buňky vyplněny tmavými jádrovými buňkami (Gandelová & Šlezingerová, 2014).

3.5 Kambium

Kambium je meristém, který má dělivou schopnost buněk, skládá se z vrstvy buněk, které obepínají dřevo kmene jako tenký plášť (Valin, 1955). Sekundární růst stromů je vytvářen dvěma laterálními meristémy: vaskulárním kambiem a korkovým kambiem nazývaným felogen. Vaskulární kambium vytváří cenripetálně buňky dřeva a centrifugálně buňky lýka (Panshin & Zeeuw, 1980; Larson, 1994). Termín kambium bývá používán ve dvou pojetích. V širším pojetí bývá kambium synonymum pro kambiální zónu (skládá se z kambiálních iniciál a jejich derivátů – mateřských buněk dřeva a lýka) v užším pojetí je kambiem označována pouze vrstva kambiálních iniciál (Gandelová & Šlezingerová, 2014).

Kambiální iniciály jsou dvojího typu – vřetenovité kambiální iniciály a iniciály dřevních paprsků. Vřetenovité iniciály jsou protáhlé axiálně orientované, tangenciálně zploštělé buňky, které mají většinou obdélníkový nebo mnohoúhelníkový průřez a na koncích jsou zašpičatělé (Požgaj et al., 1997). Délka těchto iniciál může u jehličnanů dosahovat až 5 mm (Perelygin, 1965). Iniciály dřevních paprsků vznikly příčným dělením nebo postranním oddělením od vřetenovitých iniciál. Mají stejnorozměrný tvar krátkých válcovitých nebo mnohoúhelníkových útvarů (Požgaj et al., 1997).

Tloušťkový přírůst (v radiálním směru) je zajišťován periklinálním dělením vřetenovitých kambiálních iniciál, iniciál dřevních paprsků a také mateřských buněk dřeva a lýka. Nově oddělené buňky tvoří radiální řady (Gandelová & Šlezingerová, 2014). Produkce buněk kambia je intenzivnější na straně xylému než na straně floému (Panshin & Zeeuw, 1980). Šířka přirostlého xylému a floému se liší podle obvodu jednotlivých stromů (Larson, 1994). V důsledku tloustnutí kmene a zvětšování obvodu kmene se musí tvořit nové kambiální iniciály. Doplnování těchto iniciál po obvodu kmene je vytvářeno jejich antiklinálním a pseudotransverzálním dělením (Gandelová & Šlezingerová, 2014).

Počet buněk kambiální zóny je závislý na několika faktorech – druh a věk dřeviny, část kmene, vitalita jedince (Larson, 1994). Obvykle je kambium v období vegetačního klidu složeno z 5–6 vrstev buněk, ve vegetačním období může počet vrstev vrůst až na 15–20 (Gandelová & Šlezingerová, 2014).

Kambium je činné po celý svůj život, ale v podmínkách mírného pásu se jeho činnost projevuje periodicky v závislosti na vegetačním období (Perelygin, 1965). Délka

kambiální činnosti se odvíjí od druhu dřeviny, stanovišti a klimatických podmínek příslušného vegetačního období (Gandelová & Šlezingerová, 2014), neboť na tloušťkový přírůst je potřeba živin z aktuální asimilace (Lysý & Jírů, 1961). Rozhodující vliv na zahájení činnosti kambia má počasí v trvání od 2–4 týdnů před začátkem jeho mitotické aktivity. Ještě před mitotickou aktivitou dochází k aktivaci kambia, to se projevuje změnou cytoplasmy ze stavu gel na sol a současným zvětšením radiálních rozměrů buněk (tzv. bobtnání kambia) a následně dochází dělení jeho buněk. Na počátku vegetačního období je dělicí aktivita buněk pomalá a může trvat až 4 týdny, než se vytvoří několik prvních vrstev buněk. Až je kambium plně aktivováno, probíhá dělení rychleji (Gandelová & Šlezingerová, 2014). Maximální aktivita v podmínkách mírného pásma byla zjištěna od poloviny června do poloviny srpna, kdy se může vytvořit až 75 % celkového ročního přírůstu (Požgaj et al., 1997). Aktivita kambia postupně ustává koncem srpna a v průběhu září (Gandelová & Šlezingerová, 2014). Činnost kambia nezačíná ve všech částech stromu stejně, nejprve začíná v nejtenčích částech větví (tzn. pod pupeny) a odtud se rozšiřuje postupně dolů po kmenech a nakonec přechází do kořenů (Valin, 1955). Rychlost aktivace kambia od pupenů k bázi kmene se liší podle druhu dřeviny. Nejrychlejší postup aktivace mají listnáče s kruhovitě pórovitou stavbou dřeva a také jehličnany. U těchto skupin dřevin pracuje kambium už před narašením pupenů. U listnáčů s roztroušeně pórovitou stavbou dřeva je kambium činné několik týdnů při bázi pupenů a teprve po vyrašení listů aktivizace postupuje k bázi větví a odtud se šíří k bázi kmene (Gandelová & Šlezingerová, 2014).

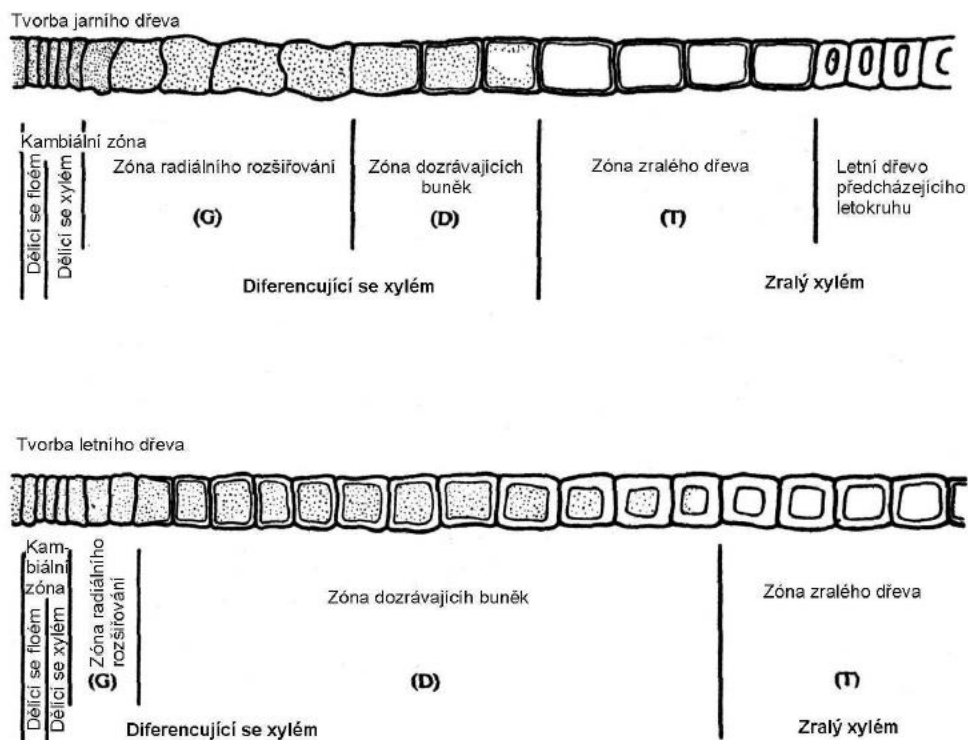
3.6 Diferenciace anatomických elementů dřeva

Diferenciace anatomických elementů je složitý proces, který je ovlivňován mnoha vnějšími i vnitřními faktory – genetické a regulační mechanismy dřeviny, stanoviště, klima (Gandelová & Šlezingerová, 2014). Průběh diferenciace rozdělujeme na tři fáze, jedná se o fázi embryonální, fázi radiálního rozšiřování a fázi dozrávání (Wodzicki, 1971). Embryonální fáze tloušťkového růstu xylému je soustředěna v kambiální zóně (Larson, 1994). V této fázi se mění pouze počet buněk, jejich velikost zůstává stejná (Šebánek et al., 1983). Když mateřské buňky dřeva (oddělené kambiálními iniciálami) začnou měnit svůj rozměr a ztratí dělivou schopnost, přestanou být součástí kambiální zóny a nastává proces jejich diferenciace v určitý anatomický element. Takže v druhé fázi (nazývané radiální rozšiřování) dochází k vytvoření tvaru a velikosti buňky, jejichž stěna je tvořena střední lamelou a primární buněčnou stěnou. V průběhu třetí fáze (zvané

dozrávání) dojde k fixaci tvaru buněk vytvořením jednotlivých vrstev sekundární buněčné stěny, poté nastává její lignifikace, vyčerpává se cytoplazma a buňky postupně odumírají (Gandelová & Šlezingerová, 2014).

Podle Wodzického (1971) můžeme nejlépe pozorovat proces diferenciaci anatomických elementů dřeva vytvářejícího letokruhu na příčném řezu a jak je patrné z Obr. 1, můžeme nově se tvořící letokruh rozčlenit na následující zóny podle charakteru diferenciaci buněk:

- zónu dělicích se mateřských buněk
- zónu radiálního rozšiřování buněk
- zónu dozrávajících buněk
- zónu zralého dřeva.



Obr. 1: Schéma diferenciaci tracheid jarního (A) a letního (B) dřeva jehličnanů (Wodzicki, 1971).

3.7 Vliv činitelů na tvorbu xylému

Kambium je pravidelně aktivní v oblastech mírného pásma, konkrétně ve vegetačním období, tj. od jara do podzimu. Průběh xylogeneze je ovlivňován mnoha vnitřními faktory (genetické vlastnosti dřeviny, jejich vitalita a věk, umístění v porostu) a vnějšími faktory – teplota, radiace, délka fotoperiody, půdní vlhkost (Panshin & Zeeuw, 1980). Wodzicki (1971) rozděluje vnější faktory do dvou skupin. První z nich zahrnuje exogenní faktory prostředí, kam patří teplota, vlhkost, obsah živin v půdě, vliv gravitace

a fotoperioda. Druhou skupinou jsou mimořádné abiotické a antropické faktory, jako je vítr, mráz, požáry, povodně, defoliace, dopad znečištění ovzduší atd. Dalším faktorem, který ovlivňuje růst dřevin je typ stanoviště, čímž se rozumí půdní poměry, trofnost půdy a dopad klimatických jevů odrážejících se na tvorbě ekosystému. Důležitým hodnotícím znakem kvality půdy je obsah živin, vzdušnost, hodnota pH a vlhkostní režim (Wodzicki, 1971).

3.7.1 Vliv věku na tloušťkový růst dřevin

Tloušťka kmene spolu s výškou mají vliv na celkový objem dřevní hmoty. Tloušťkový přírůst vrcholí později než výškový, u smrku je to přibližně v 50 letech (Lysý & Jirů, 1961).

Rossi et al. (2008) zkoumal týdenní kambiální aktivitu, buňky ve fázi radiálního rozšiřování a buňky ve fázi dozrávání u mladých (50–80 let) a starých (200–350 let) stromů modřínu opadavého (*Larix decidua* Mill.), borovice limby (*Pinus cembra* L.) a smrku ztepilém (*Picea abies* (L.) Karst.) v alpínském vegetačním stupni, kde zjistil, že trend formace xylému byl u obou dvou stáří stejný, ale s odlišným načasováním. Mladší stromy začaly kambiální aktivitu o 2–3 týdny dříve než stromy staré a také celkový počet vrstev buněk vytvořeného xylému byl u mladších stromů vyšší o 30–60 %. Tyto výsledky ukazují, že dynamika kambiální aktivity se během života stromu mění a doba na vytvoření letokruhu se zkracuje s rostoucím věkem.

Kolektiv autorů (Li et al., 2012) zjišťoval vliv věku na tvorbu xylému na jedli (*Abies georgei* var. *smithii* (Vigue & Gaussen) W. C. Cheng & L. K. Fu) v pohoří Sygera na severo-východní Tibetské plošině, přitom zjistil, že mladé stromy (43 let) začaly o měsíc dříve tvořit buňky radiálního rozšiřování než stromy staré (162 let). Významný rozdíl byl také v počtu vytvořených buněk a v tempu produkce buněk, mladé stromy tvořily o 50 % více buněk a tempo růstu bylo rychlejší o 47–54 % než u stromů starých. Dále přišli na to, že věk na ukončení xylogeneze nemá významný vliv.

Studie Vieira et al. (2009), která zjišťovala věkovou závislost na růst a tvorbu nepravých letokruhů na borovici přímořské (*Pinus Pinaster*) v klimatu středomoří, prokázala, že vegetační období začalo dříve a trvalo delší dobu u mladších stromů (65 let) než u stromů starších (115 let) a také, že mladší stromy dokážou rychleji reagovat na změny klimatických podmínek a tak se u nich objevila i vyšší frekvence výskytu nepravých letokruhů (IADF).

Hozová (2012) ve své diplomové práci, která je zaměřena na xylogenezi smrku ztepilého na Dražanské vrchovině, uvádí, že počet buněk kambia v dormanci i v jeho aktivitě byl vždy vyšší u stromů mladého porostu oproti stromům starého porostu. Na počátku vegetačního období měla kambiální aktivita i vytvoření buněk ve fázi radiálního rozšiřování časnější nástup u starých stromů. Nicméně nástup tvorby sekundární buněčné stěny byl rychlejší u stromů mladých, kde také dříve skončil. Co se týče rychlosti růstu a výsledného počtu vrstev buněk nově vytvořeného letokruhu, tak stromy mladého porostu vytvořily za den průměrně 0,29–0,88 buněk, stromy starého porostu vytvořily denně 0,14–0,65 buněk. Z toho vyplývá, že mladé stromy produkovaly buňky rychleji a tím pádem i počet tracheid v letokruhu byl vyšší než u stromů starých.

4 MATERIÁL A METODIKA

4.1 Lokalizace a charakteristika výzkumné plochy odběru vzorků

Jedinci smrku ztepilého, kteří byli předmětem výzkumu, se nachází na výzkumné ploše Rájec–Němčice vzdálené asi 1 km západně od obce Němčice v Jihomoravském kraji. Podle biogeografického členění České republiky (Culek, 1996) lokalita spadá do hercynské podprovincie, do bioregionu Dražanského (1.52), což odpovídá přírodní lesní oblasti 30 – Dražanská vrchovina (Plíva & Žlábek, 1986). Výzkumná plocha se nachází v geografické poloze se souřadnicemi 49°26'31" severní šířky a 16°41'30" východní délky v nadmořské výšce 633 m n. m. Tato výzkumná plocha byla založena roku 1968 Ústavem ekologie lesa MENDELU v rámci projektu Mezinárodního biologického programu UNESO (IBP) a mezinárodního programu UNESCO Člověk a biosféra (www.lter.cz).

Němeček (2001) uvádí, že na této lokalitě se vyskytuje půdní typ modální kambizem oligotrofní a matečnou horninou je zde kyselý granodiorit, půdní profil je tvořen různě mocnými vrstvami, vrstvy granodioritového štěrku jsou pomístně smíseny s balvaný. Dva výzkumy provedené na této výzkumné ploše ukázaly, že v porostech se smrkovými monokulturami se zásoba nadložního humusu pohybuje v rozmezí 36,8–71,8 t/ha, půdní reakce kolísá mezi hodnotami 3,3 a 4, průměrná hodnota stanovující poměr uhlíku a dusíku těchto dvou výzkumů je 25,4 (Menšík et al., 2009; Fabiánek et al., 2009).

Podle Quitta (1975) plocha spadá do mírně teplé oblasti MT3, která je charakterizována srážkovým úhrnem 600–750 mm za rok, průměrná teplota v červenci se pohybuje mezi 16–18 °C, průměrná teplota v dubnu a říjnu dosahuje 6–8 °C. Klimatické poměry výzkumné plochy během roku 2014 jsou znázorněny na Obr. 2, data pro sestavení tohoto klimadiagramu poskytla doc. RNDr. Irena Marková, CSc., (Ústav zakládání a pěstění lesů Mendelovy univerzity v Brně).



Obr. 2: Klimadiagram výzkumné plochy Rájec-Němčice z roku 2014

Mladší smrkový porost byl založen v roce 1978 (48 let) starší porost byl založen v roce 1901 (115 let). Oba dva porosty jsou zařazeny do 5. lesního vegetačního stupně – jedlo-bukového, stanovištní podmínky odpovídají lesnímu typu 5S1 – jedlová bučina šřavelová a náleží tedy do hospodářského souboru 45 – bohatá stanoviště středních poloh (uel.ldf.mendelu.cz).

Průměrná výčetní tloušťka jedinců mladého porostu byla 27 cm a jejich průměrná výška byla 19,6 m. Jedinci staršího porostu dosahovali průměrné výšky 27 m a výčetní tloušťky 37 cm.

4.2 Metoda odběru vzorků

Vzorky byly odebírány ze šesti vzorníkových stromů (3 z mladého porostu ve věku 48 let, 3 ze staršího porostu ve věku 115 let) v týdenním intervalu od 13. března do 20. listopadu roku 2014 pracovníky Ústavu nauky o dřevě (LDF, MENDELU).

Z každého stromu byly vždy odebrány spirálovitě po celém obvodu kmene ve výčetní tloušťce (1,30 m) dva mikrovývrty o průměru 2 mm a délce cca 15 mm, které obsahovaly vrstvy vnější kůry, floému, kambia a xylému. Celkově bylo za celé vegetační období odebráno kolem 450 mikrovývrťů. Tyto mikrovývrty byly odebrány v horizontálním směru ve vzdálenosti alespoň 2 cm od sebe (aby nedocházelo o odběru traumatických pletiv), v dalších periodách odběru se postupovalo synchronně o řadu níže ve spirále obvodu kmene. Samotný odběr byl prováděn pomocí raznicového přírůstoměru neboli Trephoru, který se (po odstranění borky) kolmo na podélnou osu kmene zatluče do kmene gumovou paličkou a poté se otáčením jeho ramen vysune z kmene. Odebraný vzorek se z duté části Trephoru vyjme speciální odebírací jehlou a uloží se do přichystaných plastových histologických kazetek o rozměrech 40 × 28 × 7 mm,

označených typem vzorku a datem odběru. Tyto kazetky byly umístěny do plastových nádob s fixačním roztokem FAA (100 ml se skládá z 90 ml 50–70% ethanolu, 5 ml kyseliny octové a 5 ml formaldehydu), kde došlo k ukončení buněčných procesů.

4.3 Metoda zpracování odebraných vzorků

Odebrané mikrovývrty z jednotlivých vzorníkových stromů byly po jednom týdnu z fixačního roztoku FAA vyňaty, propláchnuty vodou a uskladněny v uzavíratelné plastové nádobě s 50% ethanolom na neomezenou dobu.

4.3.1 Zkracování a označení příčného řezu odebraných vzorků

Před další manipulací s mikrovývrty se ostřím žiletky zkrátila část dřeva na délku cca tří letokruhů. Pro následnou potřebu rozeznání příčného řezu mikrovývrty, který je předmětem analýzy, se příčný řez označil tuhou měkké tužky – příčný řez se poznal podle tmavší barvy dřevní části (Obr. 3). Při zacházení se vzorkem se muselo dbát na to, abychom ho jakýmkoliv neopatrným či nesoustředěným jednáním nepoškodili a nepotrhlali tak tenké buněčné stěny kambia i všech ostatních buněk dřevní části. Takhle upravený vzorek byl vložen zpět do své popsané histologické kazetky a uložen do 50% ethanolu. Druhý, náhradní mikrovývrt byl pro případné použití umístěn do označené plastové uzavíratelné zkumavky o objemu 2 ml, která byla naplněna 50% ethanolom.



Obr. 3: Označení příčného řezu na mikrovývrty

4.3.2 Dehydratace vzorků v ethanolové řadě a impregnace parafinem

Kazetky, které obsahovaly zkrácené a označené mikrovývrty, byly vloženy do perforovaného koše a umístěny do tkáňového procesoru LEICA TP 1020. V procesoru došlo k dehydrataci (vytěsnění vody) vzorků a impregnaci (nasycení buněčných stěn) parafinem, který zajistil dostatečně pevnou kompaktní strukturu buněčných pletiv, potřebnou pro viditelnost potřebných elementů během mikroskopického pozorování. Dehydratace byla provedena průchodem řadou nádob s různě koncentrovaným ethanolom po určitých časových intervalech, tak jako zobrazuje Tab. 1.

Tab. 1: Postup vzorků při dehydrataci a impregnaci parafínem v tkáňovém procesoru LEICA TP 1020

Chemická látka	Koncentrace (%)	Doba (hod)
Ethanol	70	2
Ethanol	70	1,5
Ethanol	90	1,5
Ethanol	90	1,5
Ethanol	95	1,5
Ethanol	100	1,5
Ethanol	100	1,5
Bioclear	100	1,5
Bioclear	100	1,5
Bioclear	100	1,5
Parafín	100	2
Parafín	100	2

Po dokončení dehydratace a impregnace se vzorky vytáhly z tkáňového procesoru a vložily do sušárny vyhřáté na 60 °C, ze které se jednotlivě vytahovaly a co nejrychleji zalévaly do parafínu.

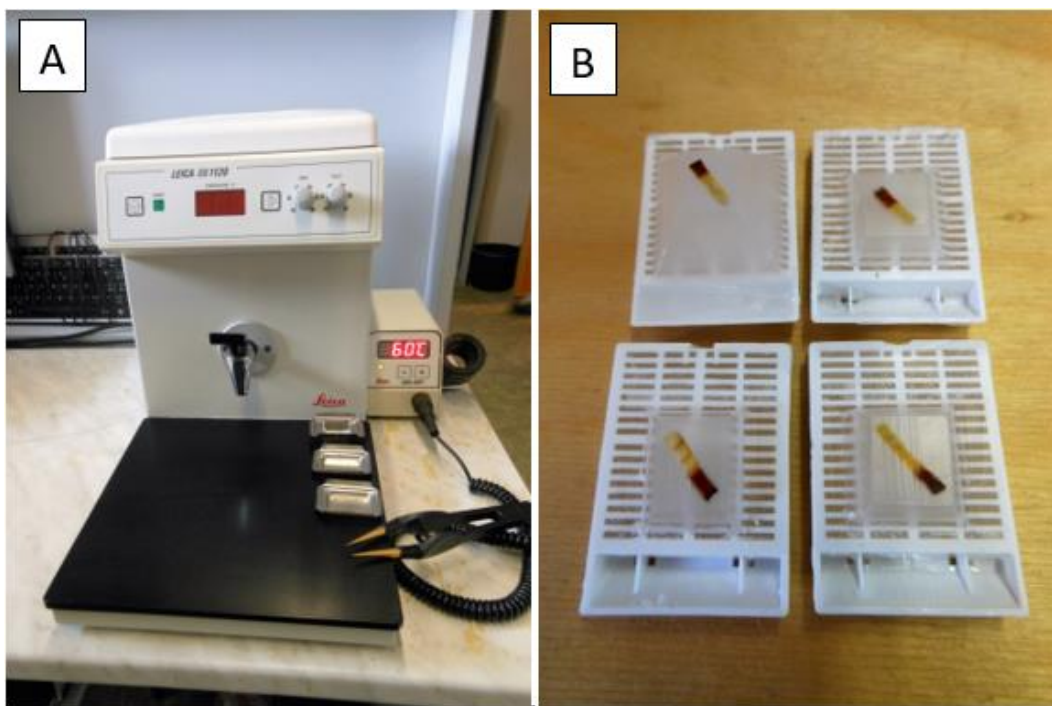
4.3.3 Fixace mikrovývrtů v parafínu

Podstatou fixace mikrovývrtů ve ztuhlém parafínu bylo usnadnit manipulaci se vzorky při jejich krájení na rotačním mikrotomu. Jedná se vlastně o tvorbu parafínových bločků a to tak, že se mikrovývrt zaleje roztaveným parafínem (o teplotě 60 °C) a vytvořené bločky se nechají ztuhnout v ledničce.

Ze sušárny byla vytažena kazetka, té se odňalo víčko, mikrovývrt byl pomocí vyhřívané pinzety Leica EG F položen na vyhřívanou sklokeramickou desku parafínového dispensoru Leica EG 1120 (Obr. 4 A). Do připravené vyhřáté nerezové formičky byla pomocí dávkovače dispensoru Leica EG 1120 nalita první vrstva parafínu, přitom byla vanička stále položena na vyhřáté desce přístroje, aby parafín nezačal tuhnut. Na připraveném mikrovývrtu byla nalezena strana s označeným příčným řezem a touto stranou směrem nahoru byl mikrovývrt diagonálně vložen doprostřed nerezové formičky s parafínem, za stálého držení mikrovývrtu vyhřívanou pinzetou byla nerezová formička položena do studené vodní lázně v Petriho misce. Když byla vrstva parafínu dostatečně schlazena pro usnadnění konečného zalití, mikrovývrt byl puštěn. Formička byla položena na převrácenou Petriho misku (aby nedocházelo k rozpouštění zchlazené vrstvy) a vložena pod dávkovač parafínu. Proud parafínu, který vytvořil další vrstvu do $\frac{3}{4}$ výšky formičky, byl směřován do rohu formičky, aby nedošlo k otočení mikrovývrtu.

Nakonec byla formička s vloženou histologickou kazetkou bez víčka zalita až po okraj. Histologická kazetka byla použita z důvodu identifikace vzorku a požadovaného pravidelného tvaru pro následné upevnění do upínacího mechanismu rotačního mikrotomu. Takto připravená formička byla odložena na prkénko a odnesena do ledničky, kde vzorek zůstal po dobu, dokud nebyl dostatečně ztuhlý (při teplotě cca 2–4 °C alespoň 3 hodiny).

Dostatečně zatuhlé vzorky byly pomocí preparační jehly vyjmuty z nerezové formičky. Poté byly tyto parafinové bločky pomocí skalpelu ze všech čtyř stran ořezány do tvaru komolého jehlanu, kdy horní strana měla plochu cca 1 × 1 cm, hrany kazetky byly začištěny taktéž skalpelem. Finálně upravený parafinový bloček je zobrazen na Obr. 3 B. Zařezání stran bločků bylo provedeno z důvodu optimální velikosti a pravidelnosti krájené plochy vzorku s mikrovývrtem při krájení rotačním mikrotomem, kdy jsou vytvářeny sériové souvislé pásy mikrořezů.



Obr. 4: A – Parafinový dispenzor Leica EG 1120 s vyhřívanou pinzetou Leica EG F a nerezovými formičkami, B - upravený parafinový bloček

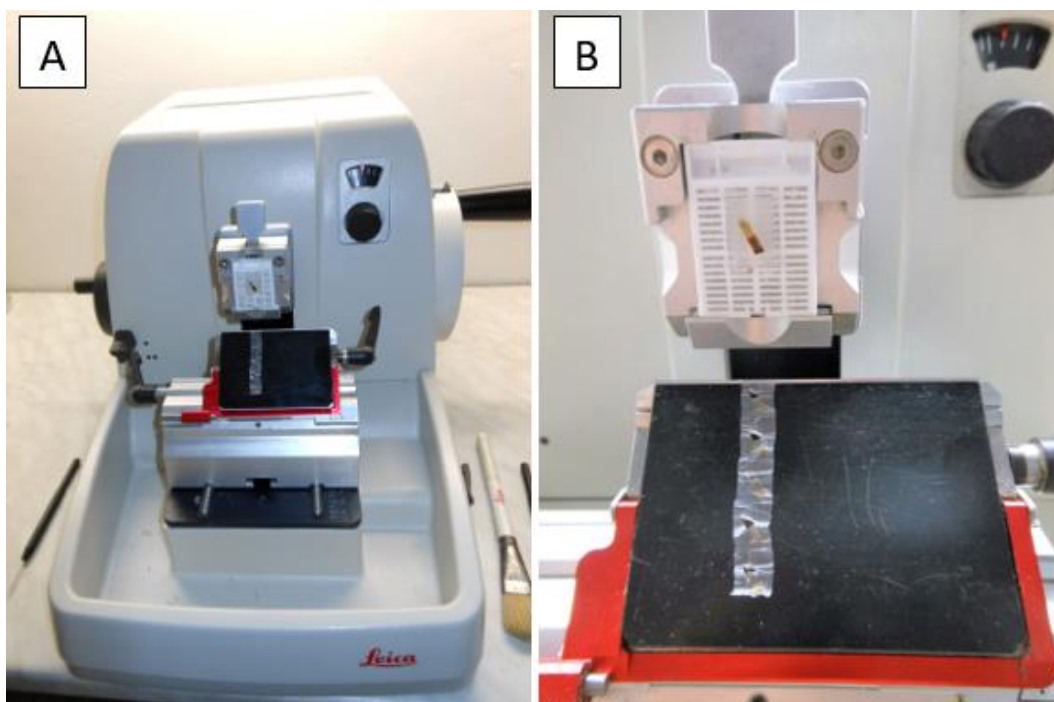
4.3.4 Výroba mikrořezů krájením na rotačním mikrotomu

Finálně zařezaný a začištěný parafinový bloček byl určen pro výrobu sériového souvislého pásu mikrořezů, které byly tvořeny čtvercovými nebo obdélníkovými plochami (Obr. 5 B). K tomuto řezání byl použit rotační mikrotom LEICA RM 2235, který je pro výrobu těchto mikrořezů dokonale uzpůsoben (Obr. 5 A). Mikrotom je vybaven svěracím stojanem pro uchycení histologických kazetek, který je rotačními

pohyby postranní kliky posouván k ostří krájecí čepelky. Krájecí čepelka opakovanými řezy vytvoří souvislý pás mikrořezů určených k dalšímu zpracování. Požadovaná tloušťka mikrořezů se dá nastavit kalibračním otočným kolečkem.

Před konkrétním vyráběním mikrořezů byl proveden tzv. proces trimování, což je odstranění povrchové vrstvy z parafinového bločku, která zakrývala plochu mikrovývrtu. Trimování bylo provedeno krájením na rotačním mikrotomu. Takto upravené vzorky byly před samotnou výrobou mikroskopických řezů ponořeny na 24 hodin do skleněné odměrné nádoby naplněné destilovanou vodou. Odstraněním povrchové vrstvy parafínu z bločků byly uvolněny póry mikrovývrtu, díky kterým do vzorku lépe pronikne voda, což zajistí hladkost a průběžnost následných řezů.

Před výrobou mikroskopických řezů byla nastavena požadovaná tloušťka 8–10 μm kalibračním kolečkem na rotačním mikrotomu. Histologická kazetka parafinového bločku byla upevněna do svěracího stojanu mikrotomu, tak aby dřevní část mikrovývrtu směřovala od krájecí čepelky nahoru a lýková část směrem dolů. Točením postranní kliky byla histologická kazetka posouvána až k ostří krájecí čepelky a na ostří žiletky se postupně (tak jak bylo točeno klikou) vytvářela řada (pás) po sobě jdoucích mikrořezů. Po každém pásu mikrořezů bylo ostří krájecí čepelky posunováno ve směru jejího otupování. Tímto bylo zamezeno deformaci buněčných stěn tupou částí ostří čepelky. Vytvořený souvislý pás mikrořezů byl pomocí preparačních jehel přemístěn do kádinky s vlažnou destilovanou vodou, kde došlo k jeho srovnání. Z kádinky byl pás vyjmut pomocným podložním sklem a následně vložen do elektricky vyhřívané nádoby Leica HI 1210 s vyhřátou destilovanou vodou na teplotu 40 °C. Zde došlo k napnutí a rozprostření vrstvy parafínu po celé ploše pásu mikrořezů na vodorovné hladině. Poté byl tento pás podebrán podložním sklem a vytažen z vody. Podložní sklo bylo (ještě před vytažením pásu řezů) označeno typem vzorku a datem odběru pomocí speciálního nesmývatelného značkovače, také byla na sklo pomocí skleněné tyčinky nanесena tenká vrstva albuminu, což je adhezivní směs tvořena vaječným bílkem a glycerinem. Takto vytvořené preparáty byly vloženy do sušárny vyhřáté na 60 °C po dobu jedné hodiny, zejména kvůli aktivaci albuminu.



Obr. 5: A – Rotační mikrotom LEICA RM 2235, B - detail držáku mikrotomu s pásem mikrořezů

4.3.5 Výroba a barvení trvalých preparátů

Výroba trvalých preparátů spočívala v dehydrataci mikroskopických řezů, odstranění parafínu z buněčných stěn, obarvení buněčných struktur mikrořezů pro lepší orientaci při měření vzorků pod mikroskopem a v poslední fázi byly vzorky přikryty krycím sklem.

Nejprve byly preparáty vloženy do drážkovaného plastového nosiče. Nosič byl postupně vkládán do řady po sobě jdoucích plastových kontejnerů s příslušnými chemickými látkami na určitou dobu (Obr. 6). Postup plastového nosiče touto ethanolovou řadou je znázorněn v Tab. 2.

Tab. 2: Schéma ethanolové řady při výrobě trvalých mikroskopických preparátů

Chemická látka	Koncentrace (%)	Doba (min)
Bioclear	100	20
Bioclear	100	20
Ethanol	100	15
Ethanol	100	15
Safranin + Astra blue	–	10
Ethanol	100	proplach
Ethanol	100	proplach

V průběhu této řady došlo v Bioclearu k rozpuštění parafínu v buněčných stěnách mikrořezu a v ethanolu k jejich dehydrataci. Součástí ethanolové řady bylo podvojně barvení buněčných struktur, které zvýrazňuje kontrast mezi jednotlivými

diferencovanými zónami mikroskopického řezu. Chemickou látkou Safraninem byly obarveny lignifikované buněčné stěny xylému na červenou barvu, barvivem Astra blue byly modře zbarveny nelignifikované buněčné stěny xylému, floému a kambia. Poslední dva kontejnery sloužily pouze k proplachu skel preparátů, které byly celé zbarvené po předchozím barvení.

Po dokončení ethanolové řady byly preparáty uzavřeny pomocí uzavíracího média a krycího skla. Uzavírací médium – Euparal – bylo kápnuto na podložní sklo na tři místa mezi mikrořezy. Krycí sklo bylo umístěno jednou z kratších hran na podložní sklo a druhá hrana krycího skla byla pomalu pomocí preparační jehly spouštěna na podložní sklo tak, aby se uzavírací médium rozlilo rovnoměrně po celé ploše skla a nevytvořily se bubliny. Takto přikrytý vzorek byl položen na kovovou desku a rovnoměrně zatížen dvěma magnety po dobu cca tří dnů při pokojové teplotě dokud nebylo uzavírací médium dostatečně zatuhlé.



Obr. 6: Kontejnery s příslušnými chemickými látkami a Euparal (vpravo)

4.4 Měření vyrobených mikroskopických preparátů

Analýza vyhotovených mikroskopických preparátů byla provedena pomocí světelného mikroskopu DM 2000. Mikroskop je vybaven digitální kamerou Leica DFC280, která zajišťuje přenos dat do elektronické podoby, díky čemuž byl obraz objektivu přenesen na monitor počítače. Na monitoru počítače byl snímek preparátu na větší ploše, což umožňovalo přehlednější a rychlejší orientaci v analyzované části preparátu a také mohl být snímek naskenován. Mikroskop je vybaven také polarizačním filtrem, který umožnil nastavitelným prosvícením buněčných stěn opticky rozpoznat jednotlivé fáze diferenciací buněk při radiálním růstu. Světelné zobrazení buněčných

stěn v polarizovaném světle je dáno uspořádáním celulósových mikrofibril u buněk s tvořící se (nebo již vytvořenou) sekundární stěnou, zatímco u buněk, kde probíhá teprve radiální rozšiřování, není tento jev pozorován. Důvodem je chybějící sekundární vrstva buněčné stěny.

Z každého vyrobeného mikroskopického preparátu byl (za 20 nebo 40 násobného zvětšení mikroskopem) zjištěn počet buněk vždy pro jednotlivé fáze růstu xylému a to ve třech náhodně vybraných radiálních řadách, ze kterých se stanovil průměrný počet buněk určité fáze. Konkrétně se zjišťoval počet těchto buněk: buňky kambiální zóny (CC), buňky radiálního rozšiřování (E), buňky dozrávání typické postupnou tvorbou sekundární vrstvy buněčné stěny a lignifikací buněčných stěn (SW) a buňky zralé s plně lignifikovanými stěnami, u kterých nastala programovaná smrt (MT).

Všechna data byla postupně zaznamenávána do softwarového programu Microsoft Excel 2010, kde byla dále zpracována pro tvorbu grafů a tabulek.

4.5 Statistické vyhodnocení naměřených dat

Zjištěná data pro jednotlivé fáze diferenciací buněk xylému a kambiální aktivity byla vyhodnocena pomocí softwarového programu Microsoft Excel 2010 a Dell STATISTICA 12. Celkový počet xylémových buněk vytvořeného letokruhu byl vyhodnocen pomocí programu Fityk, ve kterém byly zjištěné hodnoty proloženy pomocí Gompertzovy funkce.

Začátky jednotlivých fází byly stanoveny datem, kdy se objevila první buňka dané fáze, konce těchto fází byly stanoveny datem, kdy poslední buňka danou zónu opustila. Pro snadnější zpracování byla konkrétní data odběru převedena do jednoho číselného údaje, který odpovídal pořadí dne v roce (tzv. DOY – Day Of Year).

Začátky a konce kambiální aktivity (CC), fáze buněk radiálního rozšiřování (E), fáze buněk dozrávajících (SW), hodnota rozpětí (daná počtem dní) trvání jednotlivých fází a také počty buněk těchto fází (zastoupeny výběrem počtu buněk ve stejném dni odběru) byly pro jednotlivé stromy převedeny do přehledných tabulek v programu Microsoft Excel 2010. Tyto tabulky byly exportovány do programu STATISTICA 12, kde došlo k porovnání rozdílů mezi zaznamenanými hodnotami mladých a starých stromů pomocí dvouvýběrového t-testu pro nezávislé výběry. Pro lepší názornost výsledků byl v tomto programu vytvořen graf znázorňující intervaly trvání jednotlivých fází a v programu Microsoft Excel 2010 byly vytvořeny bodové grafy s rovnými spojnicemi, které znázorňovaly rozdíl průměrného počtu buněk mladého a starého stromu v časové linii.

Dvouvýběrový t-test pro nezávislé výběry mezi sebou porovnává střední hodnoty dvou výběrů a tyto rozdíly vyhodnotí buď jako statisticky významné nebo nevýznamné se spolehlivostí 95 % (hladina významnosti $\alpha = 0,05$). Součástí tohoto testu je f-test – test shody rozptylu, který porovnává, zda je rozptyl výběrů shodný či nikoliv.

Celkový počet xylémových buněk vytvořeného letokruhu byl vyhodnocen pomocí programu Fityk, ve kterém byly zjištěné průměrné celkové počty buněk jednotlivých odběrů, zvláště pro mladé a staré stromy, proloženy modelovou křivkou použitím Gompertzovy funkce. Gompertzova funkce je definována následující rovnicí:

$$y = A \cdot e^{-e^{B-ct}}$$

- Kde:
- y – rostoucí počet buněk během jednotlivých týdnů
 - A – horní asymptota maximálního počtu buněk
 - B – umístění parametru na ose x
 - c – míra změny parametru
 - t – den v roce

Gompertzova funkce prokázala širokou univerzálnost, dá se použít u všech druhů jehličnanů při zohlednění rychlosti růstu i přírodních podmínek, což poskytuje vhodné zobrazení růstového schématu xylému. Zvyšující se hodnota R^2 proložené křivky a snižující se hodnota směrodatné odchylky odhadovaných parametrů zvyšuje spolehlivost modelu (Rossi, 2003).

Pomocí konkrétních vypočítaných funkcí pro jednotlivé stromy byly v programu Microsoft Excel 2010 vytvořeny modelové křivky celkových přírůstků xylému, které lépe charakterizovaly postupný nárůst počtu tracheid v letokruhu během vegetačního období. Z inflexních bodů těchto křivek bylo vypočítáno datum maximální produkce buněk.

5 VÝSLEDKY

5.1 Činnost kambia

Kambium pozorované v dormantním stavu 13. března 2014 (což odpovídá v pořadí 72. dni v roce) u mladých stromů obsahovalo 5–6 buněk, u starých stromů 4–5 buněk.

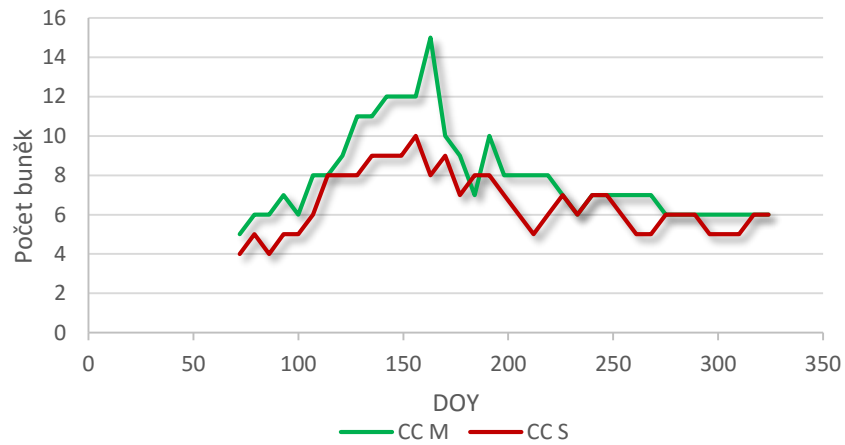
Začátek kambiální aktivity byl stanoven datem, kdy se vytvořila první buňka floému. U mladých stromů se první buňka objevila 1. dubna (91. den v roce), kdy průměrná týdenní teplota před tímto datem dosahovala 6,5 °C, přitom ale nepoklesla pod 1,3 °C a v kambiální zóně bylo zjištěno 6 buněk. U stromů starých byla první buňka spatřena 12. dubna (tj. o 11 dní později než u stromů mladých) a kambiální zóna obsahovala 8 buněk. Průměrná týdenní teplota před tímto datem vystoupala na 7,8 °C, zároveň ale nepoklesla pod 2,8 °C. Konec kambiální aktivity nastal u starých stromů 28. srpna, což je o 9 dní dříve než u stromů mladých. Délka trvání kambiální aktivity byla v průměru o 20 dní delší u stromů mladých. Časový průběh činnosti kambia pro jednotlivé stromy jsou znázorněny v Tab. 3. Rozdíl mezi zjištěnými hodnotami začátku, konce i délky trvání kambiální aktivity mezi mladými a starými stromy byl statisticky vyhodnocen jako významný.

Tab. 3: Časování kambiální aktivity u jednotlivých stromů (pomocí označení pořadí dnů v roce)

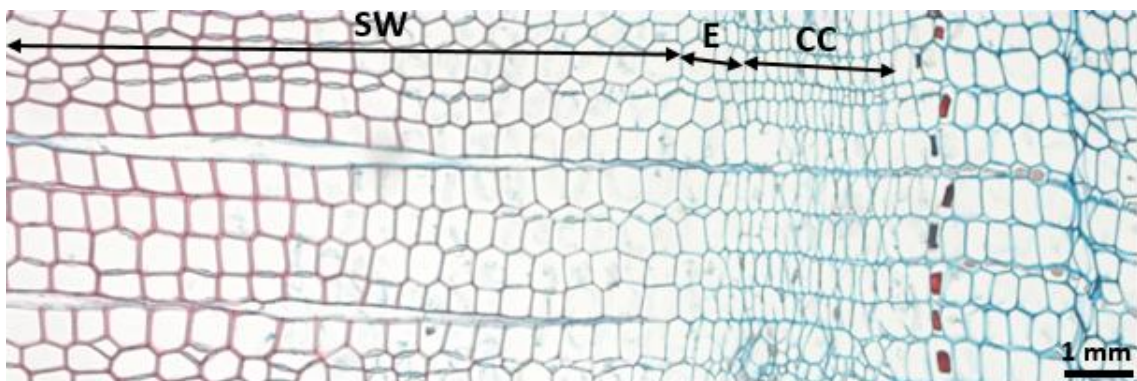
Označení stromu	Počátek kambiální aktivity				Konec kambiální aktivity				Délka trvání (dny)
	1	2	3	PRŮMĚR	1	2	3	PRŮMĚR	
M	93	93	86	91	247	247	254	249	158
S	107	100	100	102	240	240	240	240	138

Průběh dynamiky počtu buněk kambiální aktivity je znázorněn na Obr. 7, kde si můžeme všimnout, že trend vývinu je u mladých i starých stromů přibližně stejný, ale liší se počtem buněk. Rozdíl počtu buněk mezi mladými a starými stromy ve vybraných datech odběru (8. 5., 19. 5. a 12. 6.) je staticky významný. Počet kambiálních buněk během vegetační doby u mladých stromů se pohybuje mezi 6 a 15, u starých stromů mezi 5 a 10 buňkami. V době, kdy se vytvořila první buňka xylému u mladých i starých stromů, bylo v kambiu naměřeno 8 buněk. Od 10. dubna (100. den) se počet buněk u starých i mladých stromů postupně zvyšoval. Největší počet buněk byl pozorován u stromů mladých 12. 6. (163. den), kdy dosahoval 15 buněk (Obr. 8). U stromů starých nejvyšší počet dosáhl 10 buněk a byl zaznamenán 5. 6. (156. den), což je o týden dříve než u

stromů mladých. Od těchto dvou okamžiků počet buněk v obou případech pozvolně klesal a ustálil se 14. srpna (226. den) na 5–7 buňkách.



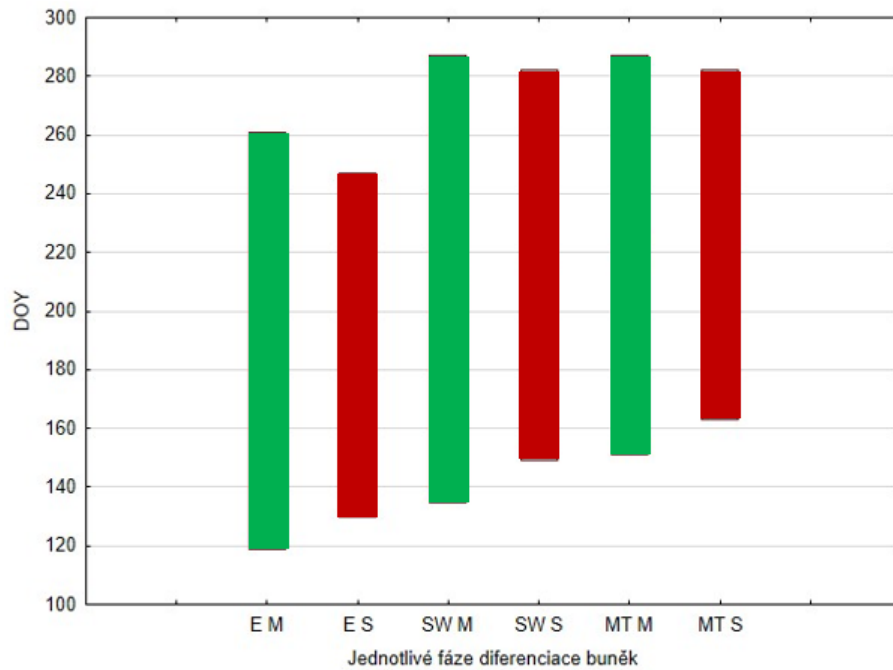
Obr. 7: Dynamika činnosti kambia, CC M – kambiální aktivita mladých stromů, CC S – kambiální aktivita starých stromů



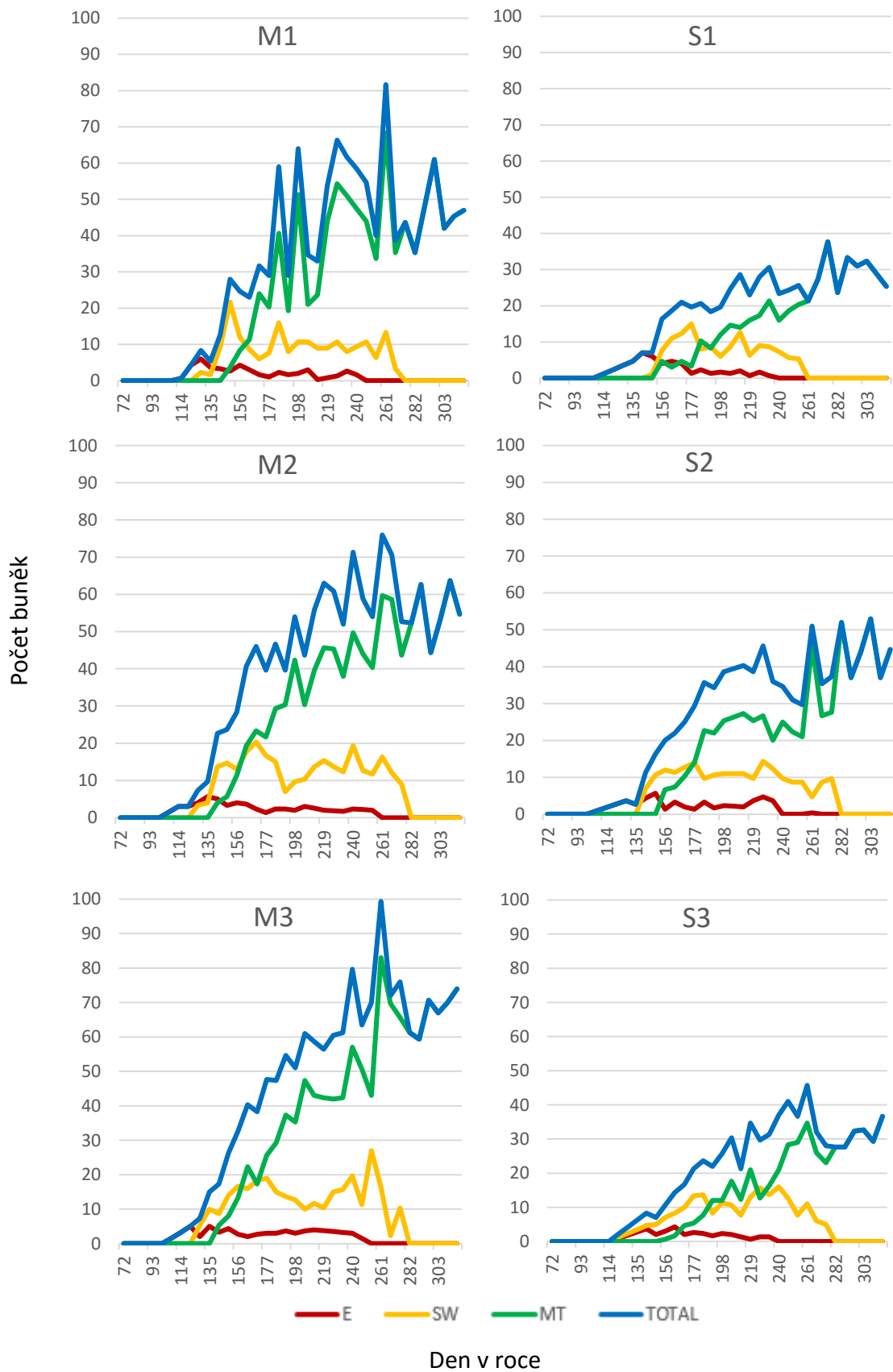
Obr. 8: Mladý strom M3 v době, kdy kambiální zóna obsahovala maximální počet buněk (12. 6.), CC – buňky kambia, E – buňky ve fázi radiálního rozšiřování, SW – buňky ve fázi dozrávání

5.2 Diferenciace tracheid

Časový sled jednotlivých fází diferenciace tracheid je znázorněn na Obr. 9, kde vidíme počátky, konce a délku trvání jednotlivých fází. Počty buněk jednotlivých fází diferenciace u konkrétních vzorníkových stromů jsou uvedeny na Obr. 10.



Obr. 9: Časování jednotlivých fází diferenciace tracheid, E – fáze radiálního rozšiřování, SW – fáze dozrávání, MT – fáze zralých buněk, S – staré stromy (červeně), M – mladé stromy (zeleně)



Obr. 10: Fáze diferenciace tracheid jednotlivých stromů, E – fáze radiálního rozšiřování, SW – fáze dozrávání, MT – fáze zralých buněk, TOTAL – celkový počet buněk

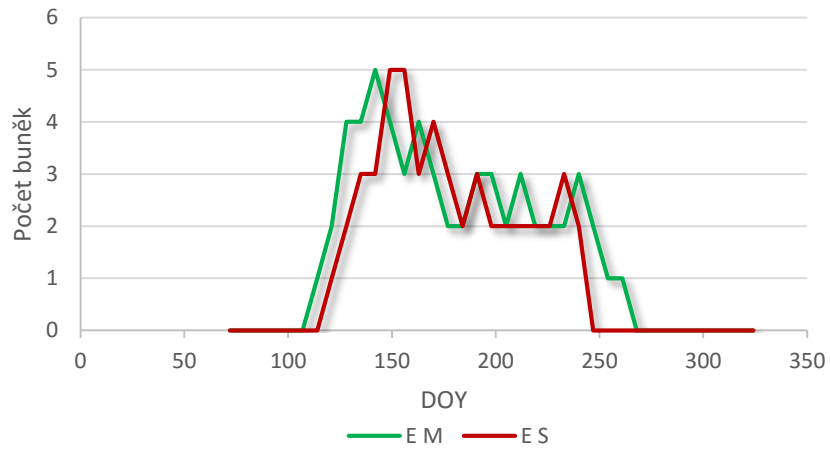
5.2.1 Fáze radiálního rozšiřování buněk

Fáze radiálního rozšiřování jednotlivých vrstev buněk započala u mladých stromů 29. dubna (119. den), kdy průměrná týdenní teplota dosahovala 11,8 °C. U starých stromů se první radiálně rozšířená buňka xylému objevila o 11 dní později, tedy 10. května (130. den), kdy průměrná týdenní teplota dosahovala 8,1 °C. Tvorba buněk v této fázi skončila u mladých stromů 18. září (261. den) a u starých stromů 4. září (247. den). Z čehož vyplývá, že délka trvání fáze radiálního rozšiřování buněk byla u mladých stromů o 25 dní delší oproti stromům starým (Tab. 4). Rozdíly mezi počátkem, koncem a délkou trvání mezi mladými a starými stromy byl vyhodnocen jako statisticky významný.

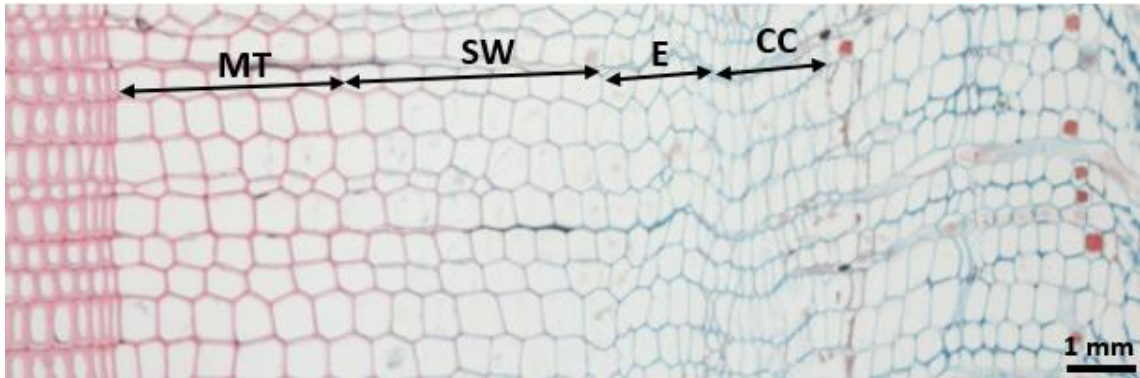
Tab. 4: Časování fáze radiálního rozšiřování buněk u jednotlivých stromů

Označení stromu	Počátek radiálního rozšiřování				Konec radiálního rozšiřování				Délka trvání (dny)
	1	2	3	PRŮMĚR	1	2	3	PRŮMĚR	
M	121	114	121	119	254	268	261	261	142
S	135	121	135	130	247	247	247	247	117

Rozdíl dynamiky počtu buněk ve fázi radiálního rozšiřování mezi mladými a starými stromy během sledovaného období je patrný z Obr. 11. Nárůst počtu buněk byl rychlejší u mladých stromů, kde se nevyšší počet buněk, tj. 5, vytvořil 22. května (142. den), u starých stromů se tento počet buněk objevil o týden později – 27. května. Radiálně rozšířené buňky jsou zobrazeny na Obr. 12. Po dosažení tohoto maxima, se počet u mladých i starých stromů do 26. června (177. den) snižoval. Po snížení, kolísal mezi 2–3 buňkami u mladých stromů do 4. září (247. den) a u starých stromů do 28. srpna (240. den).



Obr. 11: Počet buněk ve fázi radiálního rozšiřování během vegetačního období, E M – radiálně rozšířené buňky mladých stromů, E S – radiálně rozšířené buňky starých stromů



Obr. 12: Mladý strom M3 v době, kdy byl vytvořeno nejvíce radiálně rozšířených buněk (29. května), CC – buňky kambia, E – buňky ve fázi radiálního rozšiřování, SW – buňky ve fázi dozrávání, MT – zralé buňky

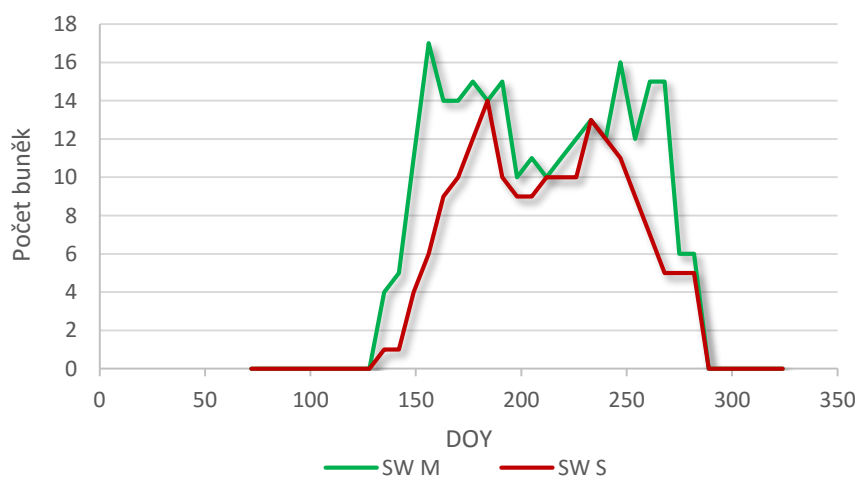
5.2.2 Fáze dozrávání buněk

Druhá fáze diferenciacie buněk – dozrávání – při které dochází k tvorbě sekundární buněčné stěny, nastala u mladých stromů 15. května (135. den) a u stromů starých 29. května (149. den), což je o 14 dnů později a tento rozdíl je statisticky významný. Ukončení této fáze proběhlo u mladých stromů 14. října (287. den) a u starých stromů o pět dnů dříve. Rozdíl ukončení fáze dozrávání buněk nemá statistický význam, rozdíl délky trvání fáze dozrávání mezi mladými a starými stromy byl taktéž vyhodnocen jako statisticky nevýznamný. Počátky a konce této fáze diferenciacie pro jednotlivé stromy jsou uvedeny v Tab. 5.

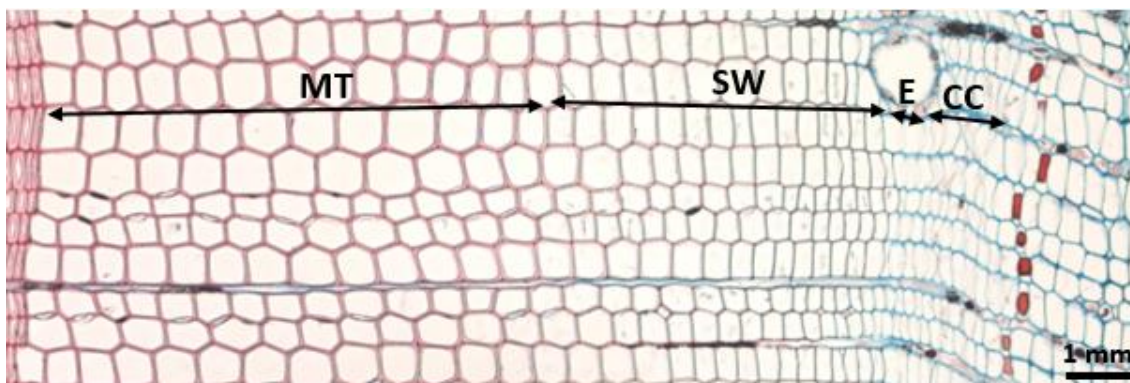
Tab. 5: Časování fáze dozrávání pro jednotlivé stromy

Označení stromu	Počátek dozrávání				Konec dozrávání				Délka trvání (dny)
	1	2	3	PRŮMĚR	1	2	3	PRŮMĚR	
M	135	135	135	135	282	289	289	287	152
S	156	149	142	149	268	289	289	282	133

Z Obr. 13 vidíme, že vývoj počtu dozrávajících buněk má stejný trend, ale mladší stromy měly rychlejší vzrůst počtu buněk na počátku a také jejich křivka na konci sledovaného období měla strmější charakter než křivka stromů starých. Největší počet naměřených dozrávajících buněk byl 17, dosáhly ho stromy mladé 5. června (156. den). Staré stromy v tomto datu odběru obsahovaly pouze 6 dozrávajících buněk. Stromy staré dosáhly maximálního počtu 14 buněk 3. července (184. den), kdy zároveň stejný počet vykazovaly i stromy mladé (Obr. 14).



Obr. 13: Počet buněk ve fázi dozrávání, SW M – dozrávající buňky mladých stromů, SW S – dozrávající buňky starých stromů



Obr. 14: Starý strom S2 v době, kdy vykazoval největší počet buněk ve fázi dozrávání (3. července), CC – buňky kambia, E – buňky ve fázi radiálního rozšiřování, SW – buňky ve fázi dozrávání, MT – zralé buňky

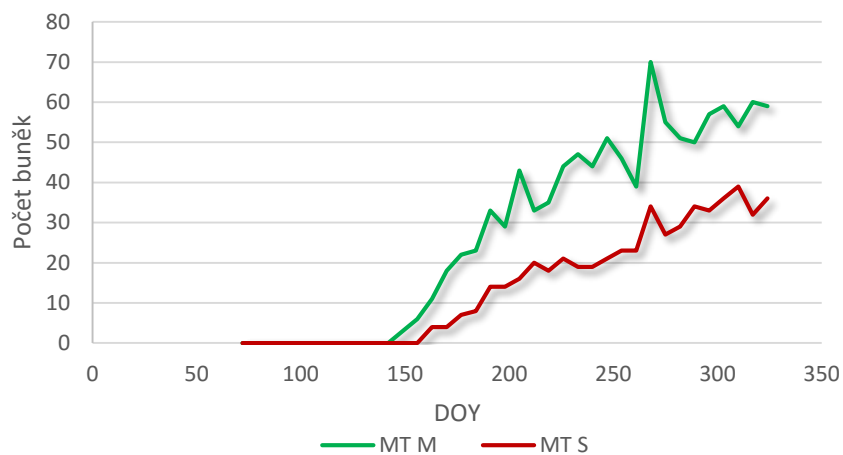
5.2.3 Fáze zralých buněk

První plně diferencované buňky byly naměřeny 31. května (151. den) u mladých stromů. U starých stromů se objevily o 12 dní později, tedy 12. června (163. den). Počátek vytvoření zralých buněk pro jednotlivé vzorníkové stromy je uveden v Tab. 6. Den, kdy byly všechny buňky v nově vytvořeném letokruhu pouze ve fázi zralých buněk, byl u mladých stromů zjištěn 14. října (287. den), u stromů starých 9. října (282. den).

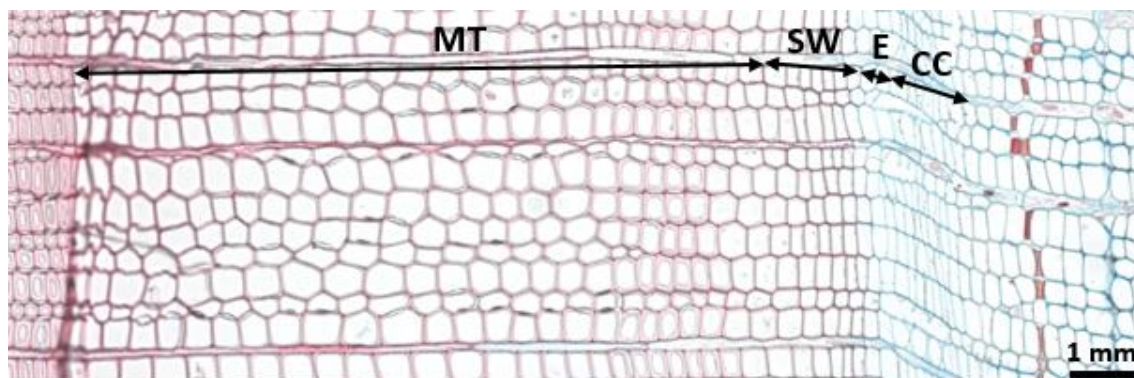
Tab. 6: Počátek tvorby zralých buněk u jednotlivých stromů

Označení stromu	Počátek tvorby zralých buněk			
	1	2	3	PRŮMĚR
M	156	149	149	151
S	163	163	163	163

Křivky mladých i starých stromů, které zobrazují počet plně diferencovaných buněk, mají rostoucí průběh (Obr. 15). U mladých stromů pozorujeme větší počet buněk s větší tendencí oscilace v průběhu vegetačního období. Oproti tomu, staré stromy obsahují méně buněk, ale za to je jejich počet během vegetační sezóny stabilnější. Největší počet zralých buněk mladých stromů dosahoval počtu 70 buněk a byl pozorován 25. září (268. den). Maximální počet zralých buněk starých stromů byl 39 buněk, měřen 6. listopadu (310. den). Na konci vegetačního období se počet buněk ustálil u mladých stromů na 50–60 buněk, u starých stromů na 30–40 buněk. Zralé buňky jsou zobrazeny na Obr. 16.



Obr. 15: Počet zralých buněk během vegetačního období, MT M – zralé buňky mladých stromů, MT S – zralé buňky starých stromů



Obr. 16: Mladý strom M1 (31. července), CC – buňky kambia, E – buňky ve fázi radiálního rozšiřování, SW – buňky ve fázi dozrávání, MT – zralé buňky

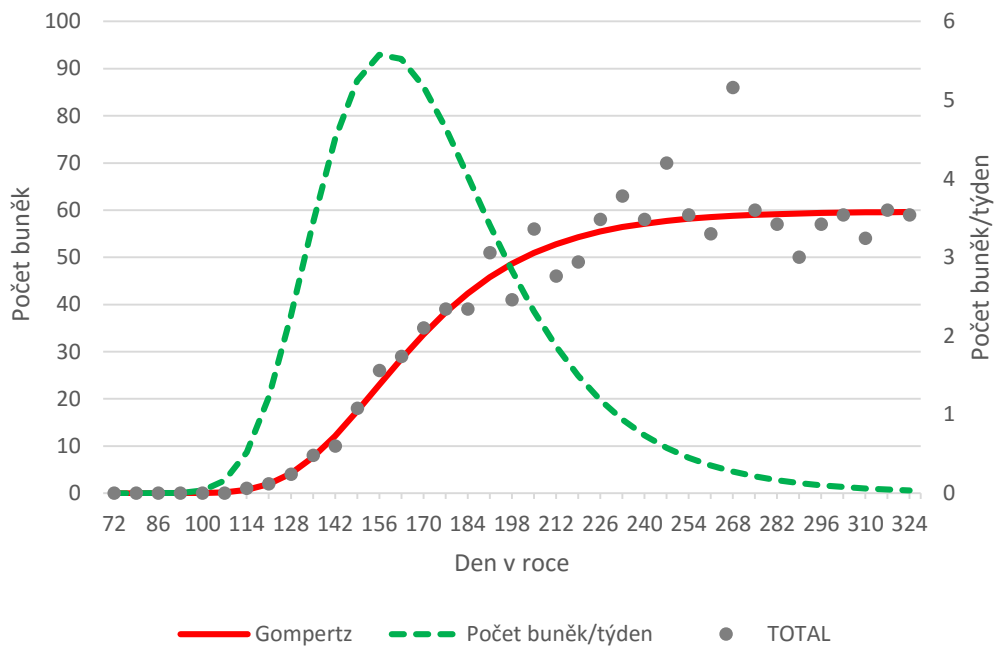
5.3 Celkový počet tracheid

Celkový počet tracheid, stanovený pomocí Gompertzovy funkce, u mladých stromů dosáhl počtu 59, kdežto u stromů starých byl počet tracheid stanoven o 25 buněk nižší (vytvořily 34 tracheid). Mladé stromy dosáhly maximální produkce buněk 3. června (154. den), kdy vytvořily za den 0,80 buňky. Staré stromy dosáhly maximální produkce buněk o 4 dny později (tj. 7. června, 158. den), kdy vytvořily 0,44 buňky, což je skoro o polovinu méně než u stromů mladých. Průběh růstu charakterizovaný pomocí Gompertzovy funkce pro mladé a staré stromy je znázorněn na Obr. 17 a Obr. 18, kde jsou také vyobrazeny počty buněk vytvořené za jeden týden.

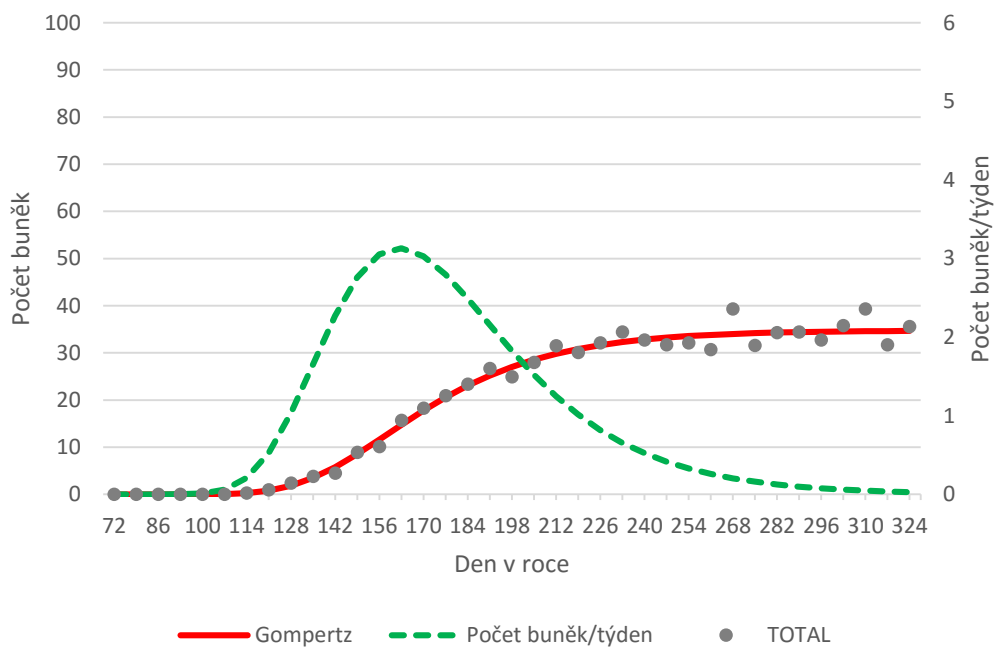
Rovnice pro jednotlivé stromy, které byly použity v Gompertzově funkci, jsou uvedeny v Tab. 7. Skutečný počet tracheid, průběh radiálního přírůstu charakterizovaného pomocí Gompertzovy funkce a počet buněk vyprodukovaných za týden jsou pro jednotlivé stromy vyobrazeny na Obr. 19.

Tab. 7: Rovnice Gompertzovy funkce pro jednotlivé stromy

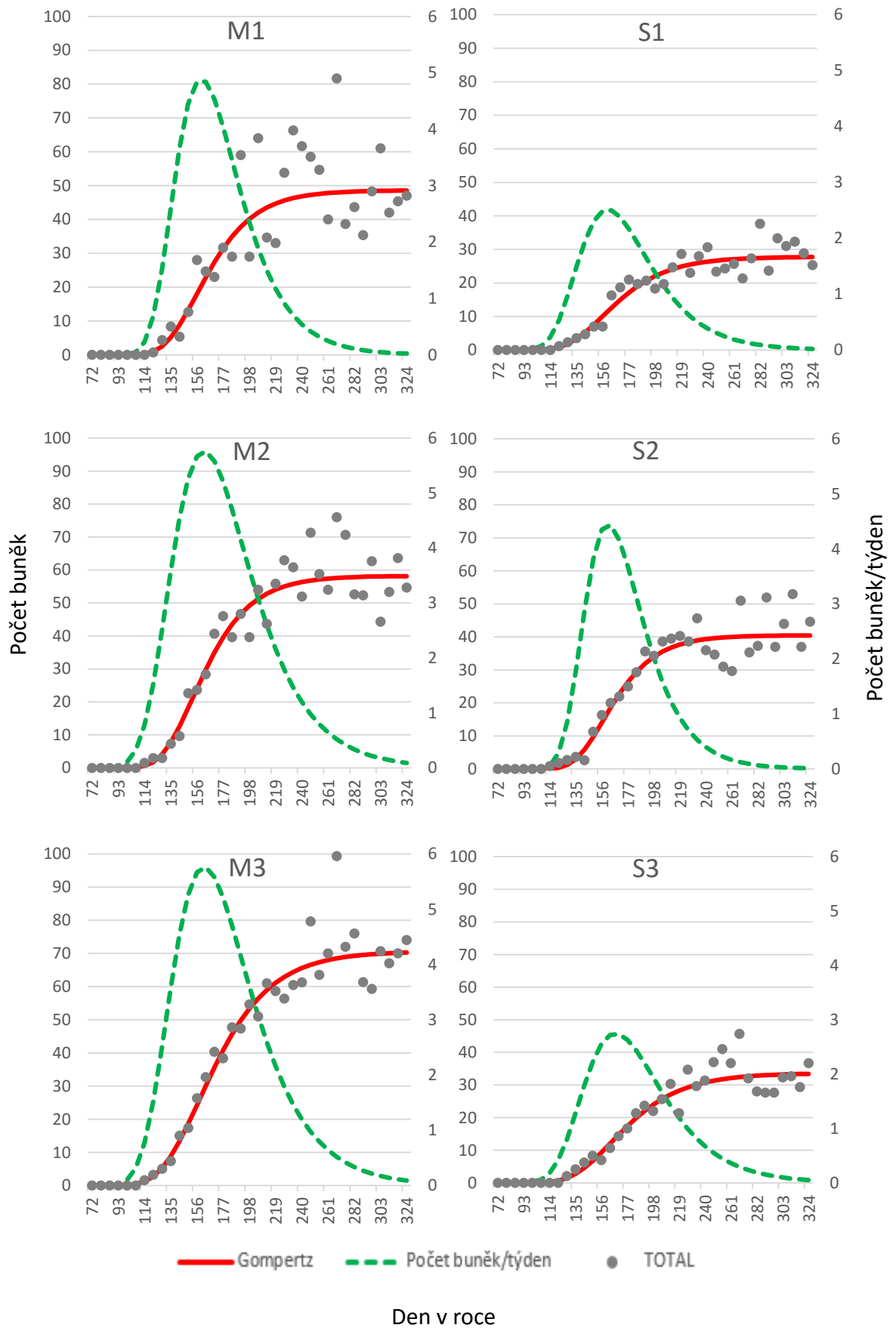
Stromy	Gompertzova funkce
M1	$y = 48,6042 \cdot e^{-e^{6,10644 - 0,0391886 \cdot t}}$
M2	$y = 58,1945 \cdot e^{-e^{6,04264 - 0,039514 \cdot t}}$
M3	$y = 70,6351 \cdot e^{-e^{5,02111 - 0,031763 \cdot t}}$
M PRŮMĚR	$y = 59,7429 \cdot e^{-e^{5,64689 - 0,036486 \cdot t}}$
S1	$y = 27,7919 \cdot e^{-e^{5,5083 - 0,035232 \cdot t}}$
S2	$y = 40,4843 \cdot e^{-e^{6,7417 - 0,042865 \cdot t}}$
S3	$y = 33,6372 \cdot e^{-e^{5,2052 - 0,031772 \cdot t}}$
S PRŮMĚR	$y = 34,7638 \cdot e^{-e^{5,56416 - 0,035066 \cdot t}}$



Obr. 17: Celkový průměrný počet buněk mladých stromů proložený křivkou Gompertzovy funkce



Obr. 18: Celkový průměrný počet buněk starých stromů proložený křivkou Gompertzovy funkce



Obr. 19: Celkový počet buněk proložený křivkou Gompertzovy funkce pro jednotlivé stromy

6 DISKUSE

6.1 Činnost kambia

Kambium pozorované v dormantním stavu na Lokalitě Rájec-Němčice v roce 2014 obsahovalo u mladých stromů 5–6 buněk, u starých stromů 4–5 buněk. Tento počet se shoduje s Gryc et al. (2011), který udává, že na stejné lokalitě v roce 2009 obsahovalo kambium smrku ztepilého 3–6 buněk a kambium mladých stromů obsahovalo průměrně 5,3 buněk (Vavrčík et al., 2013), kdežto Gričar (2007) pozorovala na lokalitě Pokljuka v roce 2003 kambium obsahující 6–7 vrstev buněk a Li et al. (2012) pozoroval na Tibetské plošině u *Abies smithi* 6–8 buněk kambia v dormanci. Rossi et al. (2008) zjistil, že na všech zkoumaných stromech (modřín, borovice a smrk ztepilý) odlišného věku kambium obsahovalo 5–6 buněk. Vzhledem k tomu, že počet buněk dormantního kambia závisí na mnoha faktorech jako je: druh dřeviny, část stromu, vitalita, růstový potenciál atd. (Larson, 1994), tak rozdíly počtu buněk uvedených autory nejsou tak velké. Z toho srovnání s literaturou lze usoudit, že věk pravděpodobně nemá vliv na počet buněk kambia mimo vegetační období.

Stanovit počátek aktivace kambia s přesností na jeden den je téměř nemožné (Philipson et al., 1971), zejména proto, že vzorky byly odebírány v týdenních intervalech a také proto, že buněčné procesy, které vedou k rozdělení buňky a dávají tak vznik prvním buňkám floému, mohou probíhat i několik dnů. Kambiální aktivita v Rájci-Němčice v roce 2014 začala u mladých stromů počátkem dubna a u starých stromů o necelé dva týdny později, kdy se vytvořila první buňka floému. Průměrná teplota se v této době pohybovala kolem 6–8 °C. První buňku xylému, ale kambium oddělilo u mladých stromů koncem dubna a u starých stromů o dva týdny později. Také v roce 2009 byly první buňky xylému na též lokalitě pozorovány v druhé polovině dubna (Gryc et al., 2011), kdy u mladých stromů se objevila první buňka xylému 16. dubna a u starých stromů 30. dubna (Vavrčík et al., 2013; Vichrová et al., 2013). Gričar (2007) také spatřila první buňky xylému koncem dubna. Devítileté pozorování sezónnosti kambia a jeho produkce buněk Giagli et al. (2016) na smrku ztepilém v ČR ukázalo, že po většinu pozorovaných let kambium začalo produkovat buňky počátkem května. Což se shoduje s tvrzením Gryce et al. (2012), kdy v roce 2010 na lokalitě Rájec-Němčice kambiální aktivita začala 7. května. Rossi et al. (2008) ve své práci udává, že kambiální aktivita u smrku ztepilého, v alpinském vegetačním stupni, nastala u mladších stromů v polovině května a u stromů starších o 2–3 týdny později – tento rozdíl oproti předchozím autorům je způsoben

mnohem vyšší nadmořskou výškou – a také délka kambiální aktivity byla o 15–30 % delší u mladších stromů. Délka kambiální aktivity na lokalitě Rájec-Němčice byla u mladých stromů přibližně 5 měsíců a u starých stromů byla o 20 dní kratší. Rozdílnost počátku tvorby xylému a délky trvání kambiální aktivity u mladých a starých stromů, kdy byl dřívější nástup u mladších stromů a také byla delší jejich kambiální aktivita, pozorovali také Li et al. (2012) a Vieira et al. (2009).

Co se týče průměrné denní teploty potřebné pro aktivaci kambia, tak Gričar (2007) udává 5 °C v 350 m n. m., Rossi et al. (2007) zase uvádí, že ve vyšších polohách se kambium jehličnatých dřevin aktivuje při 5,6–8,5 °C.

Počet kambiálních buněk byl velice variabilní a během vegetačního období se měnil. Počet buněk se od 10. dubna postupně zvyšoval a největšího počtu dosáhl u mladých stromů 12. června s počtem 15 buněk, u stromů starých o týden dříve s počtem 10 buněk. Následně se počet buněk snižoval. Tento trend vývinu se shoduje s Gryc et al. (2011). Vavrčík et al. (2013) uvádí, že mladé stromy dosáhly v roce 2009 nejvyššího počtu – 12,3 – v červnu. To potvrzuje i Giagli et al. (2016), která uvádí, že maximální produkce buněk byla od 8. června do 6. července, avšak se mezi sebou jednotlivé roky pozorování lišily až o 3 týdny. Gričar (2007) také pozorovala nejvyšší počet buněk od 9. do 20. června s počtem 14 buněk, ale Li et al. (2012) napočítala na *Abies smithi* maximálně 10 buněk, což odpovídá v našem případě starým stromům.

V našem případě bylo celkově pozorováno v době kambiální aktivity průměrně o 2 kambiální buňky víc u mladých stromů než u stromů starých, což může být způsobeno větší schopností adaptace mladších stromů a jejich menší citlivostí na změny přírodních podmínek. To potvrzuje Schweingruber (1990), který tvrdí, že mladé kambium (ať už na vrcholu starých stromů nebo na bázi mladých stromů) vykazuje méně změn a je méně citlivé než ve vyšším věku.

6.2 Diferenciace tracheid

Tak jako počátek kambiální aktivity, tak ani začátek jednotlivých fází diferenciace tracheid nejsme schopni určit s přesností na jeden den, nejen pro to, že vzorky byly odebírány v týdenních intervalech, dalším důvodem je to, že jednotlivé fáze mohou probíhat spolu současně. Navíc průběh jednotlivých fází se může lišit na stejném stanovišti a i po obvodu jednoho kmene (Larson, 1994).

První xylémová, radiálně rozšířená, buňka se objevila 30. dubna a to u mladých stromů, u starých stromů až o 2 týdny později. Dvoutýdenní rozdíl mezi nástupem fáze

radiálního rozšiřování mladými a mezi starými stromy pozoroval také Vavrčík et al. (2013), Rossi et al. (2008) pozoroval rozdíl o 7–17 dní a Li et al. (2012) až o 21 dní. Největší produkce buněk této fáze (tzn. 5 buněk) nastala u mladých stromů o týden dříve než u stromů starých a to 22. května. V roce 2009 Gryc et al. (2011) spatřil maximální počet buněk (6) koncem června a Vavrčík et al. (2013) ten samý rok pozoroval u mladých stromů maximum (6,3) uprostřed června. Konec fáze radiálního rozšiřování byl ukončen u mladých stromů 18. září, zatímco u starých stromů o dva týdny dříve. To vyvrací tvrzení Li et al. (2012), která tvrdí, že rozdíl ukončení této fáze mezi mladými a starými stromy nebyl významný.

Sekundární buněčná stěna se začala tvořit 2 týdny po objevení prvních xylémových buněk v daném věku, jak u mladých, tak starých stromů. Gryc et al. (2011) i Vavrčík et al. (2013) spatřili tvořící se sekundární buněčnou stěnu v roce 2009 po 3 týdnech od počátku tvorby xylémových buněk. Tento týdenní rozdíl může být způsoben rozdílnými teplotami a půdní vlhkostí v daných letech. Li et al. (2012) potvrzuje, že fáze dozrávání se objevila u mladých stromů o 1–2 týdny dříve než u stromů starých a konec dozrávání byl stanoven na přelom září a října bez rozdílu věku. Což koresponduje s našimi výsledky, kdy konec této fáze nastal u mladých i starých stromů přibližně ve stejnou dobu a to v polovině října.

První plně lignifikovaná buňka byla spatřena u mladých stromů na konci května a u stromů starých v polovině května. Gryc et al. (2011) pozoroval první vyzrálou buňku xylému až 11. června, což ale vzhledem k opoždění nástupu všech fází oproti našemu pozorování, není tak velký rozdíl. Mladé stromy měly všechny buňky lignifikovány 14. října a staré o pět dní dříve. To souhlasí se zjištěním Rossiho et al. (2008), který pozoroval konec xylogeneze v říjnu a dříve u starších stromů.

Počet buněk nově vytvořeného letokruhu během vegetačního období hodně osciloval, kvůli odběrům uskutečňovaným z jiných částí kmene, proto musel být modelově vyrovnán pomocí Gompertzovy funkce. Z inflexního bodu křivky se dalo vypočítat datum maximální produkce buněk. U mladých stromů byla maximální produkce buněk 3. června, kdy byl denní přírůst 0,8 buňky, u starých stromů o 4 dny později s přírůstem 0,44 buňky za den. Vavrčík et al. (2013) uvádí, že mladé stromy dosáhly produkce v červenci s denním přírůstem 0,79 buňky. Průměrný celkový počet buněk byl po vyrovnání pomocí Gompertzovy funkce u mladých stromů 59, u stromů starých 35, tj. o 42 % méně. Rozdíl v počtu buněk mezi mladými a starými stromy

zaznamenala také Li et al. (2012), kde mladé stromy tvořily o 50 % více buněk, Rossi et al. (2008) o 30–60 %, dále také Hozová (2012) a Vichrová et al. (2013), které ovšem neudávají míru rozdílu. Autoři se také shodují na tom, že vývin probíhal ve stejném trendu, ale lišil se v načasování jednotlivých fází a také tempo produkce buněk bylo vyšší u stromů mladých (Li et al., 2012; Rossi et al., 2008; Vieira et al., 2009; Vichrová et al., 2013; Hozová, 2012). Důvodů, proč mladé stromy tvoří více buněk, může být hned několik. Prvním z nich je podle Lysého & Jírů (1961) fakt, že kulminace tloušťkového růstu u smrku ztepilého se dostavuje v 50 letech a mladé stromy, které byly předmětem analýzy, se nachází v 48 letém porostu. Dalším důvodem může být to, že starší stromy mají, oproti mladým, větší obvod kmene, tím pádem musí mít i větší počet buněk po jeho obvodu a nemohou tak vytvořit stejný počet vrstev nových buněk jako stromy mladé, i když celkový objem nově vytvořeného xylému může být stejný u mladých i starých stromů. Rozdíl může být dán také odlišným mikroklimatem porostů, protože mají odlišnou prostorovou strukturu. Mladší porost je mnohem více zapojen a udrží si tak vyšší vlhkost vzduchu a i teplota zde může být o několik stupňů nižší, ale na druhou stranu se při příchodu srážek může větší podíl zachytit intercepací a jen málo vody se infiltruje do půdy. Další důvod může být ten, že mladé stromy jsou více adaptabilní na podmínky prostředí a klimatu, takže např. v červnu, kdy se průměrná denní teplota pohybovala kolem 18 °C a zároveň bylo nedostatek srážek (kolem 30 mm), staré stromy nedokázaly vyprodukovat větší množství buněk. Značné rozdíly v celkovém počtu buněk byly pozorovány i mezi jedinci stejného věku. Tyto rozdíly mohly být způsobeny odlišnou vitalitou jedinců, zdravotním stavem, genovým fondem, postavením v porostu (plocha osvětlené koruny), konkurencí okolních dřevin atd.

7 ZÁVĚR

Cílem této práce bylo porovnat dynamiku radiálního růstu xylému mezi dvěma porosty odlišného věku.

Kambium v dormantním stavu obsahovalo 4–6 buněk bez významného rozdílu mezi mladými a starými stromy. Kambium začalo být aktivní u mladých stromů počátkem dubna, u starých stromů o 11 dní později. Kambiální aktivita trvala cca 5 měsíců a u stromů starých byla o 20 dní kratší. Počet kambiálních buněk byl během vegetačního období velice variabilní, avšak mladé stromy obsahovaly v průměru více buněk než stromy staré. Tyto údaje se víceméně shodují s jinými studii zaměřenými na tohle téma.

Trend diferenciací tracheid xylému byl u obou věkových kategorií stejný, ale u stromů starých byl počátek jednotlivých fází diferenciací opožděn o 11–14 dní oproti stromům mladým a také tempo produkce bylo vyšší u mladých stromů. První xylémová buňka ve fázi radiálního rozšiřování byla spatřena na konci dubna, o 16 dní později se prvně objevily buňky ve fázi dozrávání a koncem měsíce května jsme pozorovali první plně zralé buňky xylému. Po vyrovnání hodnot pomocí Gompertzovy funkce byl průměrný celkový přírůst u mladých stromů 59 buněk a u stromů starých to bylo o 42 % méně (tedy pouze 34 buněk).

Tento výzkum je prozatím stále ve vývoji, protože nemůžeme vyvodit závěry a hned navrhnout praktické opatření pouze z jednoletého pozorování, kvůli každoročně se měnícím vnějším faktorům ovlivňujících růst. V budoucnu by mohlo pozorování dynamiky radiálního růstu jednoho druhu dřeviny na určitém stanovišti v průběhu několika desetiletí vést ke změně a načasování pěstebních opatření, které by dokázaly zkvalitnit vytvářející se dřevní hmotu a dokázaly by zvýšit stabilitu i odolnost daného porostu. Poznatky zjištěné z pozorování radiálního růstu těchto jedinců v rámci vegetačního období by mohly vést k úpravě načasování konkrétních pěstebních i hospodářských opatření a úpravě těžebních technologií. Pozorování sekundárního růstu různých ekotypů jednoho druhu dřeviny na určitých stanovištích by mohlo pozměnit hranice oblastí proveniencí pro přenos reprodukčního materiálu.

8 SUMMARY

Analysis of xylem formation in the stands of different ages was realized in research area in Rájec-Němčice in Drahany Highlands. The main objective was to compare the growth dynamics between young and old trees during the growing season 2014. Samples were taken at weekly intervals by means of Trephor tool. For these samples (microcores) were made the micro-incisions with using the method impregnation microcores paraffin and slicing on rotary microtome. The micro-incisions were stained using double staining method and they were covered with glass cover using Euparal. On these microscopic preparations, we counted cambial cells and cells each phase of development always in three radial lines. The data of total number of cells were fit with Gompertz function. The results were compared with studies with the same focus.

As the results showed variations were observed between young and old trees. Cambial activity of young trees started in early April, in the case of old trees it was about 11 days later. Cambial activity of old trees was 20 days shorter than in case of young trees and the number of cambial cells of old trees was smaller than young trees.

Trend of xylem cell development was the same for both age groups, but in old trees the beginning of differentiation was shifted by 11–14 days later. First xylem cell in phase radial expansion was seen in the end of April. Production rate of cells was higher in young trees. Total number of cells of newly formed annual ring was in young trees 59 cells and in old trees 34 cells.

9 LITERATURA

- CULEK, M.**, 1996: *Biogeografické členění České republiky*. Praha: Enigma. 347 s. ISBN 80-85368-80-3
- ČERNÝ, A.**, 1989: *Parazitické dřevokazné houby*. 1.vyd. Praha: SZN. ISBN 80-209-0090-X
- FABIÁNEK, T., MENŠÍK, L., TOMÁŠKOVÁ, I., KULHAVÝ, J.**, 2009: Effects of spruce, beech and mixed commercial stand on humus conditions of forest soils. *JOURNAL OF FOREST SCIENCE*, 55, 2009 (3): 119–126 s.
- GANDELOVÁ, L., HORÁČEK, P., ŠLEZINGEROVÁ, J.**, 2004: *Nauka o dřevě*. 2. vyd. MZLU v Brně. 184 s. IBSN 80-7157-577-1
- GANDELOVÁ, L., ŠLEZINGEROVÁ, J.**, 2008: *Stavba dřeva (cvičení)*. 2. vyd., MZLU v Brně. 129 s. IBSN 978-80-7375-168-5
- GANDELOVÁ, L., ŠLEZINGEROVÁ, J.**, 2014: *Stavba dřeva*. 2. vyd. Mendelova univerzita v Brně. 185 s. IBSN 978-80-7375-966-7
- GIAGLI, K., GRIŘAR, J., VAVRČÍK, H., GRYC, V.**, 2016: Nine-year monitoring of cambial seasonality and cell production in Norway spruce. *IForest* (early view). Doi: 10.3832/ifor1771-008
- GRIČAR, J.**, 2007: Xylo- and Phoemogenesis in Silver Fir (*Abies alba*, Mill.) and Norway Spruce (*Picea abies* (L.) Karst.). *Slovenian Forestry Institute, professional and Scintific Works*, Ljubljana. ISBN 978-961-6425-33-9.
- GRYC, V., HACURA, J., VAVRČÍK, H., URBAN, J., GEBAUER, R.**, 2012: Monitoring of xylem formtion in *Picea abies* under drought stress influence. *Dendrobiology*, vol. 67, s. 14–24.
- GRYC, V., VAVRČÍK, H., VICHROVÁ, G.**, 2011: Monitoring of xylem formation in Norway Spruce in the Czech republic 2009. *Wood research* 56 (4): 2011, s. 467–478.
- HOZOVÁ, J.**, 2012: Analýza xylogeneze smrku ztepilého (*Picea abies* (L.) Karst.) během vegetačního období na Drahanské vrchovině. Diplomová práce. MENDELU. Ústav nauky o dřevě. 67 s.
- CHMELARĚ, J.**, 1990: *Dendrologie s ekologií lesních dřevin, 1. část – Jehličnany*. 2/1 vyd. Vysoká škola zemědělská v Brně. 133 s.
- KŘÍSTEK, J., URBAN, J.**, 2004: *Lesnická entomologie*. 1. vyd. Praha: Academia. ISBN 80-200-1052-1.

- LARSON, P., R.**, 1994: *The vascular cambium: Development and Structure*. Berlin: Springer-Verlag. 725 s. ISBN 3-540-57165-5.
- LI, X., LIANG, E., GRIČAR, J., PRISLAN, P., ROSSI, S., ČUFAR, K.**, 2012: Age dependence of xylogenesis and its climatic sensitivity in Smith fir on the south-eastern Tibetan Plateau. *Tree Physiology* Volume OO. s. 1–9.
- LYSÝ, F., JÍRŮ, P.**, 1961: *Nauka o dřevě*. 2. vyd. Praha: Státní nakladatelství technické literatury. 638 s.
- MENŠÍK, L., FABIÁNEK, T., TESAŘ, V., KULHAVÝ, J.**, 2009: Humus conditions and stand characteristics of artificially established young stands in the process of the transformation of spruce monocultures. *JOURNAL OF FOREST SCIENCE*, 55, 2009 (5): 215–223 s.
- MUSIL, I., HAMERNÍK, J.**, 2007: *Jehličnaté dřeviny, lesnická dendrologie 1*. Praha: Academia. 352 s. ISBN 978-80-200-1567-9.
- NĚMEČEK, J., MACKŮ, J., VOKOUN, J., VAVŘÍČEK, D., NOVÁK, P.**, 2001: *Taxonomický klasifikační systém půd České republiky*. Praha, ČZU: 79
- PANSHIN, A., ZEEUW DE C., J.**, 1980: *Textbook of Wood Technology: Structure, Identification, Properties, and Use of the Commercial Woods of the United States and Canada*. 4. vyd. New York: McGraw-Hill. 722 s. ISBN 0-07-048441-4.
- PERELYGIN, L., M.**, 1965: *Nauka o dreve*. 2. vyd. Bratislava: Slovenské nakladateľstvo technickej literatúry. 448 s. ISBN 63-552-65.
- PHILIPSON W., R., WARD, J. M., BUTTERFIELD B. G.**, 1971: *The Vascular Cambium. Its development and activity*. London: Chapman and Hall Ltd.
- PLÍVA, K., ŽLÁBEK, I.**, 1986: *Přírodní lesní oblasti ČSR*. Státní zemědělské nakladatelství. 316 s.
- POŽGAJ, A., CHOVANEC, D., KURJATKO, S., BABIAK, M.**, 1997: *Štruktúra a vlastnosti dreva*. 2. vyd. Bratislava: Príroda a.s. 485 s. ISBN 80-07-00960-4.
- QUITT, E.**, 1971: *Klimatické oblasti ČSR*. ČSAV, GU Brno, Studia geographica č. 16. 74 s.
- ROSSI, S.**, 2003: Application of the Gompertz equation for the study of xylem cell development. *Dendrochronologia*. 2003. sv. 21, č. 1, s. 33–39. ISSN 1125-7865.

- ROSSI S., DESLURIES, A., ANFODILLO T., CARRARO, V.,** 2007: Evidence of threshold temperatures for xylogenesis in conifers at high altitudes. *Oecologia*, 152: 1–12.
- ROSSI, S., DESLAURIERS, A., ANFODILLO, T., CARRER, M.,** 2008: Age-dependent xylogenesis in timberline conifers. *New Phytologist* 177: s. 199–208
- SCHWEIGRUBER, F. H.,** 1990: *Anatomie europäischer Holzer. Anatomy of European Woods.* Bern, Stuttgart, Verlag Paul Haupt: 800.
- ŠEBÁNEK, J. ET AL.,** 1983: *Fyziologie rostlin.* Praha: SZN. 558 s.
- ÚRADNÍČEK, L. ET AL.,** 2014: *Dendrologie (Společenstva a významné dřeviny ČR).* Brno: Mendelova univerzita v Brně. 144 s. IBSN 978-807509-181-9.
- ÚRADNÍČEK, L., MADĚRA, P. ET AL,** 2009: *Dřeviny České republiky.* Písek: Matice lesnická. 367s. IBSN 978-80-87-154-62-5.
- VALIN, S., I.,** 1955: *Nauka o dřevě.* 1. vyd. Praha: Státní nakladatelství technické literatury. 428 s.
- VAVRČÍK, H., GRYC, V., VICHROVÁ, G.,** 2013: Xylem formation in young Norway spruce trees in Drahany highland, Czech republic. *IAWA Journal* 34 (3), 2013: s. 231–244.
- VIEIRA, J., CAMPELO, F., NABAIS, C.,** 2009: Age-dependent responses of tree-ring growth and intra-annual density fluctuations of *Pinus pinaster* to Mediterranean climate. *Trees* 23: s. 257–265
- VICHROVÁ, G., VAVRČÍK, H., GRYC, V.,** 2013: The analysis of radial growth in stem of Norway spruce by means of different methods and assessment of effect of climatic conditions in relation to the growth. *Wood research*, 58 (2): 2013, s. 217–230.
- WAGENFÜHR, R.,** (1966): *Anatomie des Holzes, Leipzig.* VEB Fachbuchverlag. 377 s.
- WODZICKI, T. J.,** 1971: Mechanism of xylem differentiation in *Pinus sylvestris*. L. J. *Exp. Botany.* 22 (72), pp. 670–687 s.

Elektronické zdroje:

CZ – LTER: Long-Term Ekological Research Network [online] citováno 15. 3. 2016.

Dostupné na

<http://www.lter.cz/index.php?option=com_content&view=category&id=13&Itemid=19&lang=cs>

LESNICKÁ A DŘEVAŘSKÁ FAKULTA: Ústav ekologie lesa, vědeckovýzkumné aktivity [online] citováno 20. 3. 2016. Dostupné na

<http://uel.ldf.mendelu.cz/en/vyzkum/vedeckovyzkumne_aktivity>

ZPRÁVA O STAVU LESA A LESNÍHO HOSPODÁŘSTVÍ ČR [online] citováno 25.

3. 2016. Dostupné na < <http://www.uhul.cz/ke-stazeni/informace-o-lese/zelene-zpravy-mze>>