

ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE

FAKULTA LESNICKÁ A DŘEVAŘSKÁ

Katedra pěstování lesů



Analýza stabilních izotopů vybraných prvků v letokruzích

Doktorská disertační práce

Obor: Pěstování lesa

Školitel: Doc. Ing. Miroslav Svoboda Ph.D.

Vypracovala: Lenka Kubištová

Praha 2012

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem předkládanou disertační práci vypracovala samostatně s použitím citované literatury a konzultací s odborníky.

V Praze dne 6. května 2012

.....

Poděkování

Tato práce by nemohla vzniknout bez pomoci řady dalších lidí, kterým bych chtěla poděkovat, ať už jde o vědecké a pedagogické pracovníky nebo studenty především z katedry pěstování lesa Fakulty lesnické a dřevařské ČZU v Praze, katedry fyziologie rostlin a katedry biologie ekosystémů Přírodovědecké fakulty JČU v Českých Budějovicích. Tato práce by rovněž nemohla vzniknout bez spolupráce s laboratoří geologických ústavů Přírodovědecké fakulty UK v Praze. Za trpělivost a podporu děkuji svým dětem Emě a Anně, svému manželovi a rodičům. Babičce a prababičce děkuji za hlídání svých ratolestí během sepisování této práce.

Abstrakt

Šumavské lesy byly v minulém století vystaveny nepříznivým účinkům atmosferické depozice. Možný vliv znečištění ovzduší na fyziologický stav smrku ztepilého na povodí Čertova a Plešného jezera byl studován pomocí chemických a izotopových analýz ($\Delta^{13}\text{C}$) letokruhů. Dřevo je vzhledem ke vzduchu ochuzeno o izotop ^{13}C , protože při fotosyntéze dochází k jeho diskriminaci. Pokles v hodnotách $\Delta^{13}\text{C}$ značí negativní vliv environmentálních podmínek na fyziologické pochody stromů. Nepřímé vlivy atmosferické depozice jako jsou změny půdního pH a obsahu hliníku mohou, podle všeho, mít vliv na fyziologický stav stromu.

Výsledky ukazují, že izotopový signál kolísá kolem průměrné hodnoty, ovšem mezi 50. a 80. lety minulého století dochází k výraznému klesání a od 90. let potom k nárůstu hodnot $\Delta^{13}\text{C}$. Tento průběh změn hodnot signálu $\Delta^{13}\text{C}$ je v souladu s průběhem atmosferické depozice. Výsledky dále ukazují, že na hodnoty izotopového signálu $\Delta^{13}\text{C}$ nemá vliv orientace vývrtnu, ze kterého byl materiál odebrán, ke světové straně ani rozdíl v nadmořské výšce o zhruba 300 výškových metrů. Časový průběh křivek $\Delta^{13}\text{C}$ má podobný průběh na obou povodích a naznačuje, že by $\Delta^{13}\text{C}$ mohla být využitelná ke sledování fyziologického stresu stromů. Výhodou jejího použití je to, že jde o objektivní metodu, která umožňuje získat záznam i z let minulých (nejen aktuální stav) a nevýhoda je především v tom, že pro vyhodnocení se nedá použít konkrétní číselná škála, ale je nutné sledovat a hodnotit trendy vývoje, odchylky od průměru apod.

U změn v chemickém složení letokruhů nebyly pozorovány žádné trendy, které by byly jednoduše spojitelné s vývojem atmosferické depozice a pH půdního roztoku.

Rovněž byl proveden pilotní pokus analýzy izotopového složení δD a $\delta^{18}\text{O}$ volné vody v kmeni smrku. Jeho účelem bylo zjistit, zda jsou v kmeni zóny s odlišným izotopovým signálem δD a $\delta^{18}\text{O}$. První výsledky naznačují, že v kmenech skutečně vznikají zóny, ve kterých má volná voda různé izotopové složení. Pro potvrzení existence těchto zón, stejně jako pro pochopení mechanismu vzniku zonace vody v kmenech, jsou nezbytné další pokusy.

Klíčová slova: $\Delta^{13}\text{C}$, letokruhy, znečištění ovzduší, fyziologie stromů, Šumava, pH půdy, acidifikace půd, δD , $\delta^{18}\text{O}$, volná voda v kmeni, smrk ztepilý

Abstract

The Bohemian Forest was exposed to heavy atmospheric pollution during the last century. Possible negative effect of atmospheric pollution on the tree physiology of Norway spruce on Čertovo and Plešné Lake's watersheds has been studied using chemical and isotopic composition ($\Delta^{13}\text{C}$) of the tree rings. The wood is depleted in ^{13}C relative to the air due to isotopic discrimination against ^{13}C during photosynthesis. A decrease in $\Delta^{13}\text{C}$ implies the negative effect of the environmental conditions on the tree physiology. Presumably, the changes in soil pH and aluminum content as an indirect effect of atmospheric pollution could have an impact on the tree physiology.

Results showed that the isotopic signal varied around the average, but from the 1950s to 1980s the $\Delta^{13}\text{C}$ signal was decreasing and then since the 1990s $\Delta^{13}\text{C}$ has been increasing again. This trend is in accordance with the monitored atmospheric pollution. Results have also shown that core exposition has no impact on $\Delta^{13}\text{C}$, neither the difference in altitude of about 300 m does. $\Delta^{13}\text{C}$ historical course is very similar on both watersheds and it seems to be applicable for monitoring the physiological stress of trees. Using $\Delta^{13}\text{C}$ monitoring in that case has advantages in its objectivity and long-term recording. The disadvantage is that it is not possible to make a universal evaluative numeric scale and that for the interpretation of results, long-term trends, mean deviation, etc. need to be monitored and evaluated.

There are no obvious changes in the tree rings chemical composition, which could be simply connected to air pollution and to soil solution pH changes.

Also, a pilot experiment was conducted to find out whether there are any water zones with different isotopic signal δD and $\delta^{18}\text{O}$ of stemwater in stems. First results foreshadow that these zones exist but for the confirmation and for the understanding of the mechanism of zonation, additional experiments are necessary.

Key words: $\Delta^{13}\text{C}$, tree rings, air pollution, tree physiology, Bohemian Forest, soil pH, soil acidification, δD , $\delta^{18}\text{O}$, stemwater, Norway spruce

Obsah

1	Úvod.....	1
2	Literární rešerše.....	4
2.1	Izotopy.....	4
2.1.1	Izotopový efekt.....	6
2.1.2	Kritéria výběru stabilních izotopů v biologických analýzách.....	6
2.1.3	Izotopy uhlíku.....	7
2.1.4	Izotopy vodíku a kyslíku.....	8
2.1.5	Studie izotopových analýz letokruhů.....	13
2.2	Dřevo.....	17
2.2.1	Makroskopická stavba dřeva.....	17
2.2.2	Mikroskopická stavba dřeva.....	19
2.2.3	Submikroskopická stavba dřeva.....	19
2.2.4	Chemické složení dřeva.....	19
2.2.5	Funkce xylemu.....	22
2.2.6	Dřevo jako materiál pro izotopové analýzy.....	23
2.2.7	Analýzy obsahu jednotlivých prvků ve dřevní hmotě.....	24
2.2.8	Faktory ovlivňující výběr druhu v dendrochemických studiích.....	27
2.3	Hodnocení zdravotního stavu lesa.....	30
2.3.1	Defoliace.....	30
2.3.2	Dálkový průzkum Země.....	31
2.3.3	ICP-Forests, Forest Focus, FutMon.....	31
2.3.4	Elektrodiagnostika.....	31
2.3.5	Tomografie.....	32
2.3.6	Další metody zjišťování vitality stromů.....	32
2.3.7	Srovnání jednotlivých metod.....	32
3	Metodika.....	34
3.1	Popis studijní oblasti.....	34
3.1.1	Geologie a klimatické podmínky.....	34
3.1.2	Vegetace.....	36
3.1.3	Historie lesa a antropického využívání.....	38
3.1.4	Acidifikace.....	40
3.2	Materiál a metody.....	43
3.2.1	Izotopové analýzy $\Delta^{13}\text{C}$	43
3.2.2	Chemické složení letokruhů.....	48
3.2.3	Izotopové analýzy δD a $\delta^{18}\text{O}$	48
3.2.4	Zpracování dat.....	50
4	Výsledky.....	51
4.1	Izotopový poměr $\Delta^{13}\text{C}$	51
4.1.1	Základní analýza - izotopový signál v jednotlivých letokruzích.....	51
4.1.2	Izotopový signál letokruhů vzhledem k orientaci ke světovým stranám.....	54
4.1.3	Vliv nadmořské výšky na izotopový signál $\Delta^{13}\text{C}$	57
4.1.4	Porovnání průběhu izotopového signálu $\Delta^{13}\text{C}$ na obou sledovaných povodích 62	
4.1.5	Zotavování smrků v současnosti.....	64
4.1.6	Porovnání izotopového signálu $\Delta^{13}\text{C}$ v letokruzích s dostupnými daty o průběhu pH a průměrné roční teploty.....	66
4.2	Obsah některých prvků.....	68
4.3	Izotopové analýzy δD a $\delta^{18}\text{O}$	73

5	Diskuse	78
5.1	Izotopový poměr $\Delta^{13}\text{C}$	78
5.2	Obsah jednotlivých stanovovaných prvků	80
5.3	Izotopové analýzy δD a $\delta^{18}\text{O}$	82
6	Návrh metodiky pro využití analýz $\Delta^{13}\text{C}$ v lesnické praxi	84
6.1	Navrhovaná metodika odběru vzorků	84
6.2	Předběžná částečná kalkulace nákladů	85
6.3	Vyhodnocování výsledků	85
6.4	Výhody navrhovaného využití v praxi	85
7	Závěr	85
7.1	Izotopový poměr $\Delta^{13}\text{C}$	85
7.2	Obsah vybraných prvků	86
7.3	Izotopové analýzy δD a $\delta^{18}\text{O}$	86
8	Literatura	88

Příloha I - Can ^{13}C stable isotope record of Norway spruce tree rings display the effect of environmental conditions?

Seznam obrázků

Obr. 1	Kontinentální efekt 1	9
Obr. 2	Kontinentální efekt 2.	9
Obr. 3	Výškový efekt.	10
Obr. 4	Hlavní mechanismy frakcionace δD a $\delta^{18}\text{O}$	13
Obr. 5	Orientační mapa rozmístění ploch a stromů na transektu.	45

Seznam tabulek

Tabulka 1	Fyzikální charakteristika molekul H_2^{16}O , D_2^{16}O a H_2^{18}O	4
Tabulka 2	Stochastická abundance izotopologů CO_2	5
Tabulka 3	Vývoj $\delta^{13}\text{C}$ atmosférického CO_2 a koncentrace CO_2 v atmosféře	8
Taülka 4	Přehled doporučení vhodnosti vybraných dřevin pro dendrochemické studie	29
Tabulka 5	Průměrné složení jednotlivých půdních vrstev	41
Tabulka 6	Průměrná defoliace smrku ztepilého.	42
Tabulka 7	Přehled odebíraných vzorků z vrcholových partií Jezerní hory.	44
Tabulka 8	Přehled odebíraných vzorků na transektu Jezerní horou.....	45
Tabulka 9	Přehled odebíraných vzorků v povodí Plešného jezera.....	46
Tabulka 10	Průměrná hodnota izotopového signálu $\Delta^{13}\text{C}$ v období od počátku 20.století do roku 2008 pro jednotlivé vývrty podle jejich orientace ke světovým stranám.	56
Tabulka 11	Obsah jednotlivých prvků	73
Tabulka 12	Obsah jednotlivých prvků v kůře	73

Seznam grafů

Graf 1 Rekonstruovaný vývoj průměrné roční teploty vzduchu na Čertově jezeře	34
Graf 2 Změny teploty a dostupnosti vody (poměr P/E) během vegetačního období	35
Graf 3 Průběh atmosférické depozice na území České republiky.....	41
Graf 4 Změny pH a obsahu hliníku v půdním roztoku.	42
Graf 5 Průběh izotopového signálu po jednotlivých letech u stromů CT I a CT II.	51
Graf 6 Hodnoty signálu pro jednotlivá sledovaná období.....	52
Graf 7 Roční hodnoty $\Delta^{13}\text{C}$ a vypočítané 5-leté průměry pro stromy CT 1 a CT 2.....	53
Graf 8 Průměrná hodnota $\Delta^{13}\text{C}$ ze čtyř vývrtů (sever+jih+východ+západ).....	54
Graf 9 Průběh izotopového signálu $\Delta^{13}\text{C}$ podle stanovených období u stromů CT III-CT V.	55
Graf 10 Průměrné hodnoty $\Delta^{13}\text{C}$ vývrtů pro stromy CT III, CT IV a CT V od počátku 20. století do roku 2008.....	56
Graf 11 Průměrná hodnota izotopového signálu zobrazeného jako průměr z měření vzorků stromů CT III, CT IV a CT V podle orientace vývrtů ke světovým stranám.....	56
Graf 12 Hodnoty $\Delta^{13}\text{C}$ pro jednotlivé stromy na povodí Plešného jezera.....	58
Graf 13 Celková průměrná hodnota izotopového signálu $\Delta^{13}\text{C}$ a průměrné hodnoty $\Delta^{13}\text{C}$ stromů z vrchních a spodních partií povodí Plešného jezera.	59
Graf 14 Porovnání průměrných hodnot $\Delta^{13}\text{C}$ jednotlivých období pro stromy z horní a dolní části povodí Plešného jezera.	59
Graf 15 Průběh izotopového signálu v letokruzích smrků na transektu Jezerní horou.	60
Graf 16 Průběh izotopového signálu v letokruzích u jednotlivých stromů na ploše CT 1.	61
Graf 17 Průběh izotopového signálu v letokruzích jednotlivých stromů na ploše CT 2.	61
Graf 18 Průběh izotopového signálu v letokruzích jednotlivých stromů na ploše CT 3.	61
Graf 19 Průběh izotopového signálu v letokruzích jednotlivých stromů na ploše CT 4.	61
Graf 20 Průběh izotopového signálu v letokruzích jednotlivých stromů na ploše CT 5.	61
Graf 21 Porovnání průměrných hodnot pro jednotlivé plochy za období 1972 až 2007..	61
Graf 22 Porovnání průběhu $\Delta^{13}\text{C}$ na povodí Plešného a Čertova jezera..	63
Graf 23 Porovnání průměrných hodnot $\Delta^{13}\text{C}$ pro jednotlivá období na obou povodích.	63
Graf 24 Průběh izotopového signálu na plochách CT 1 až CT 5 v letech 2003-2011.....	64
Graf 25 Porovnání průměrných hodnot $\Delta^{13}\text{C}$ za období 2003-2011	65
Graf 26 Hodnoty izotopového signálu pro jednotlivé stromy na plochách CT 1 až 5.....	65
Graf 27 Zobrazení závislosti izotopového signálu na teplotě.	66
Graf 28 Závislost hodnot $\Delta^{13}\text{C}$ na pH půdy..	67
Graf 29 Závislost hodnot $\Delta^{13}\text{C}$ na pH půdy pro povodí Plešného jezera.	67
Graf 30 Obsah manganu. Průměrné hodnoty ze dvou vývrtů pro jeden strom.....	68
Graf 31 Obsah železa. Průměrné hodnoty ze dvou vývrtů pro jeden strom.....	69
Graf 32 Obsah hořčíku. Průměrné hodnoty ze dvou vývrtů pro jeden strom.	69
Graf 33 Obsah sodíku. Průměrné hodnoty ze dvou vývrtů pro jeden strom.....	70
Graf 34 Obsah vápníku. Průměrné hodnoty ze dvou vývrtů pro jeden strom.....	70
Graf 35 Obsah draslíku. Průměrné hodnoty ze dvou vývrtů pro jeden strom.....	71
Graf 36 Obsah jednotlivých prvků v letokruzích podle období s různým zatížením atmosférickou depozicí.	71
Graf 37 Závislost obsahu manganu na pH půdy.	72
Graf 38 Závislost obsahu sodíku na pH půdy.	72
Graf 39 Závislost obsahu draslíku na pH půdy.	72
Graf 40 Závislost obsahu železa na pH půdy.	72
Graf 41 Závislost obsahu hořčíku na pH půdy.....	72
Graf 42 Závislost obsahu vápníku na pH půdy.	72

Graf 43 Průběh izotopového signálu δD (‰) ve volné vodě destilované po 5 cm.....	74
Graf 44 Průběh izotopového signálu δD (‰) ve volné vodě destilované po 1 cm.....	74
Graf 45 Průběh izotopového signálu δD (‰) ve volné vodě destilované po 0,5 cm.....	75
Graf 46 Průběh izotopového signálu $\delta^{18}O$ (‰) ve volné vodě destilované po 0,5 cm.	75
Graf 47 Průběh obsahu vody (zobrazeného v procentech hmotnosti čerstvého vzorku), ve volné vodě destilované po 0,5 cm úsecích z vývrtu kmene stromu PL VI.	76
Graf 48 Průběh obsahu vody (zobrazeného v procentech hmotnosti čerstvého vzorku), ve volné vodě destilované po 0,5 cm úsecích..	77
Graf 49 Průběh izotopového signálu δD (‰) ve volné vodě destilované po 0,5 cm úsecích..	77

1 Úvod

Dřevo je hlavní složka biomasy v lesních ekosystémech a je proto důležité zkoumat jednotlivé prvky a obsahy prvků, které ji tvoří (Whittaker et al., 1979). Kalkulace obsahu prvků, které tvoří biomasu jsou založeny na předpokladu, že chemické složení dřevní hmoty jednotlivých druhů významně nekolísá mezi jednotlivými stanovišti uvnitř ekosystémů (Arthur et al., 1999). Letokruhy stromů přitom představují střednědobé archivy zaznamenávající vliv počasí a dalších podmínek prostředí na růst a složení do jednotlivých, každoročně vznikajících kruhů (West et al., 2006). Výsledky primární produktivity stromu jsou zaznamenávány v šířce letokruhů, zatímco zastoupení stabilního izotopu ^{13}C zaznamenává vliv stresorů, jako je limitace fotosyntézy (Loader et al., 2003). Kyselá depozice, se kterou se může měnit prvkové složení letokruhů (Häsänen et Huttunen, 1989; Guyette et Cutter, 1994), byla pozorována od poloviny 20. století i na území Šumavy. Znečištěný vzduch a kyselá dešť ovlivňují zdravotní stav postižených porostů. Kyselá depozice se na Šumavě s jistým zpožděním projevuje jak změnami v chemismu půd, tak i v kvalitě jezerních vod (Kopáček et al., 2002^{a,b}). Acidifikace půd způsobuje ztráty bazických kationtů a zvýšení obsahu kyselých kationtů v kationtovém výměnném komplexu půd (Augustin et al., 2005; Séguin et al., 2004). Kombinace acidifikace půd se stále se zvyšující teplotou a měnícím se rozložením srážek během roku (častější letní sucha) zhoršují zdravotní stav zdejších stromů. Přestože se během 90. let minulého století imisní zátěž značně snížila, významně poklesly imise SO_2 i NO_x oproti imisní situaci v 70. a 80. letech, ozdravné procesy ekosystému probíhají velice pomalu a biologické zotavení zdejších porostů je otázkou budoucnosti. Zatím jsou velké plochy oslabených porostů napadány kůrovcem a celá problematika zdravotního stavu šumavských porostů se stává vděčným mediálním a politickým tématem.

Tato práce by měla vést k získání vědecky podložených dat, které by měly přispět k rozšíření našich znalostí o fyziologickém stresu stromů a jejich ozdravování po imisní zátěži z minulosti a z acidifikace půd. K tomuto účelu byly použity moderní vědecké metody analýzy izotopového signálu $\delta^{13}\text{C}$ letokruhů doplněné analýzami prvkového složení.

Cíle práce:

- 1) Ověřit zda, je možné pomocí analýzy zastoupení stabilního izotopu ^{13}C v letokruzích vybraných stromů smrku ztepilého (*Picea abies* Karst.) na povodí Čertova a Plešného jezera doložit změnu fyziologického stavu stromů.
- 2) Ověřit, zda se acidifikace šumavských ekosystémů odrazila na prvkovém složení letokruhů.
- 3) Provést pilotní pokus ve zjišťování δD a $\delta^{18}\text{O}$ ve volné vodě v kmeni stromu.

Hlavním cílem práce bylo provést analýzy izotopového signálu ^{13}C a ověřit, zda je jeho dlouhodobý průběh ovlivněn stresem, který vyvolávaly kyselé deště a acidifikace půd, a zda v posledních letech dochází k ozdravování stromů; v případě pozitivních výsledků zvážit možnosti a zabývat se přípravou metodiky pro využití izotopového signálu ^{13}C v hodnocení zdravotního stavu lesa, kde by izotopový signál mohl mít vysokou vypovídací hodnotu především z hlediska historického vývoje.

Pro zajištění hlavního cíle práce je potřeba splnit následující dílčí cíle:

- testování metodiky odběru a návrh odebírání vzorků a hodnocení výsledků
- ověření vlivu nadmořské výšky na signál ^{13}C
- zjistit rozdíly v signálu ^{13}C v povodí Čertova a Plešného jezera
- zjistit, zda v posledních letech dochází k zotavování stromů
- pokusit se najít hlavní příčiny eventuálního kolísání signálu ^{13}C

Dalším cílem bylo zjistit, zda se v minulých letech měnil chemismus letokruhů a s pomocí získaných dat sestavit časovou řadu průběhu koncentrací daných prvků, kterou bude možné porovnat s modelovanými hodnotami pH půdy, které jsou pro povodí Čertova jezera k dispozici.

Další otázkou, na kterou jsme hledali odpověď, je to, zda je izotopové složení vody (volné vody) stejné v bělovém i jádrovém dřevě, zda dochází k difuzi těžších molekul vody po koncentračním spádu proti transpiračnímu proudu a zda jsme schopni s pro nás dostupnými prostředky takový pokus realizovat. Cílem provedeného pokusu bylo zjistit, s jak velkými částmi vývrtnu se nám bude nejlépe pracovat při zvoleném způsobu zpracování, a zda námi použitá metoda poskytuje výsledky v dostatečné kvalitě, aby bylo možné provést další sérii pokusů a odpovědět na základní otázku, kterou jsme si položili – a to, zda má voda v kmeni

na celém průřezu stejný izotopový signál. Pilotní pokus jsme provedli na vývrtech smrku ztepilého (*Picea abies* Karst.).

Vzhledem k tomu, že u dřevin je cesta vody od kořenů k listům/jehlicím relativně dlouhá, zajímalo nás, jak vypadá izotopové složení vody napříč kmenem; zda je izotopové složení vody stejné v bělovém i jádrovém dřevě, zda dochází k difuzi těžších molekul vody po koncentračním spádu proti transpiračnímu proudu. Mezi bělovým a vyzrálým dřevem smrku je veliký rozdíl v procentuálním obsahu vody v čerstvé hmotě dřeva. Pokud by byl zjištěn rozdíl v izotopovém signálu bělí a jádra (vyzrálého dřeva), bylo by nutné tento rozdíl vzít v úvahu při interpretaci výsledků z analýz izotopového signálu celulózy.

Práce vznikla jako součást rozsáhlého výzkumu na povodí šumavských jezer, který byl podpořen grantem GAČR 206/07/1200.

2 Literární rešerše

2.1 Izotopy

Stanovení přirozeného výskytu stabilních izotopů ^{13}C , ^{18}O , ^2H se používá ke studiu vlivu klimatických změn v kontextu s měnící se teplotou vzduchu a relativní vlhkostí, stejně jako se srážkami (Lipp et al., 1991; Warren et al., 2001; Loader et al., 2003; Schlessner et al., 1999, Saurer et al., 2004^a; Scartazza et al., 2004; Pawelczyk et al., 2004; Nakatsuka et al., 2004). Některé studie spojují zastoupení stabilních izotopů ^{13}C , ^{18}O , ^2H a ^{15}N se znečištěním ovzduší (Martin et Sutherland, 1990; Savard et al., 2004; Dongarra et Varrica, 2002; Poulson et al., 1995, Saurer et al., 2004^b; Choi et al., 2005) nebo s hnojením (Elhani et al., 2005). Přehled o použití stabilních izotopů v celém oboru ekologie rostlin přináší Dawson et al. (2002).

Izotopy (nuklidy) daného prvku mají stejný počet elektronů a protonů, liší se však v počtu neutronů v jádře. Radioizotopy se za určitých podmínek rozpadají, emitují záření a přeměňují se. Stabilní izotopy se nerozpadají. Těžší izotopy jsou většinou vzácnější (výjimka je např. lithium nebo bor) (Hoefs, 2009). Izotopy jednoho prvku mají shodné chemické vlastnosti, ale rozdíl ve hmotnosti dovoluje fyzikálním, chemickým a biologickým procesům zvýhodňovat jeden z izotopů, čímž předávají environmentální signál (McCarrolletLoader, 2004) Lze je tedy použít jako indikátory, které jsou schopné vyjádřit vzájemnou závislost mezi fyziologickými procesy v rostlinách a podmínkami prostředí. Pro lepší příklad jsou v následující tabulce 1 některé vlastnosti vybraných izotopologů vody. Z této tabulky jasně vyplývá, že velkým zdrojem variability v izotopovém složení vody jsou fázové přechody a v přírodě se uplatňují hlavně při výparu a kondenzaci.

	H_2^{16}O	D_2^{16}O	H_2^{18}O
hustota g/cm ³	0,997	1,1051	1,1106
teplota nejvyšší hustoty (°C)	3,98	11,24	4,30
bod varu (při 101,325 Pa, ve °C)	100,00	101,42	100,14
bod tání (při 101,325 Pa, ve °C)	0,00	3,81	0,28
dynamická viskozita (při 20°C, v mPa/s)	1,002	1,247	1,056

Tabulka 1 Fyzikální charakteristika molekul H_2^{16}O , D_2^{16}O a H_2^{18}O (podle Hoefse, 2009).

Poměr těžšího izotopu k lehčímu se označuje R ($R^{13}\text{C} = ^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$). Izotopové složení vzorku se vyjadřuje jako relativní odchylka poměru těžšího a lehčího izotopu ve vzorku

vzhledem k poměru těžšího a lehčího izotopu ve standardu a označují se notací δ (Hoefs,2009).. Vzhledem k tomu, že absolutní hodnota rozdílu je velice malá, vyjadřuje se δ v promilích (‰).

$$\delta = \frac{R_{sam} - R_{std}}{R_{std}} \quad \rightarrow \quad \delta = \frac{R_{sam}}{R_{std}} - 1 \quad \delta [\text{‰}] = \left[\frac{R_{sam}}{R_{std}} - 1 \right] * 1000 \quad [1]$$

Mezinárodně dohodnutým standardem pro uhlík je Vienna PeeDee Belemnite (VPDB) a pro kyslík stejně jako pro vodík Vienna Standard Mean Ocean Water (VSMOW).

Tři hlavní složky dřeva (uhlík , kyslík a vodík) mají víc než jeden stabilní izotop. Uhlík má dva stabilní izotopy ^{12}C a ^{13}C , každý se šesti protony, ale jeden se šesti a druhý se sedmi neutrony (kromě toho má uhlík ještě dva nestabilní izotopy ^{11}C a ^{14}C). Kyslík má tři přirozeně stabilní izotopy, každý s osmi protony a 8–10 neutrony. Tradičně se v environmentálních vědách používá poměr ^{18}O k ^{16}O . Vodík má dva stabilní izotopy, těžší se nazývá deuterium (^2H nebo D) a jeden radioizotop – tritium. V tabulce 2 je přehled izotopologů CO_2 zároveň s vyjádřením četnosti výskytu. Pro vyjádření izotopových poměrů se používá již zmiňovaný zápis pomocí δ .

hmotnost	Izotopolog CO_2	relat. abundance
44	$^{12}\text{C} \ ^{16}\text{O}_2$	98,40 %
45	$^{13}\text{C} \ ^{16}\text{O}_2$	1,11 %
	$^{12}\text{C} \ ^{17}\text{O} \ ^{16}\text{O}$	748 ppm
46	$^{12}\text{C} \ ^{18}\text{O} \ ^{16}\text{O}$	0,40 ppm
	$^{13}\text{C} \ ^{17}\text{O} \ ^{16}\text{O}$	8,4 ppm
	$^{12}\text{C} \ ^{17}\text{O}_2$	0,142 ppm
47	$^{13}\text{C} \ ^{18}\text{O} \ ^{16}\text{O}$	44,4 ppm
	$^{12}\text{C} \ ^{17}\text{O} \ ^{18}\text{O}$	1,50 ppm
	$^{13}\text{C} \ ^{17}\text{O}_2$	1,60 ppb
48	$^{12}\text{C} \ ^{18}\text{O}_2$	3,96 ppm
	$^{13}\text{C} \ ^{17}\text{O} \ ^{18}\text{O}$	16,8 ppb
49	$^{13}\text{C} \ ^{18}\text{O}_2$	44,5ppb

Tabulka 2 Stochastická abundance izotopologů CO_2 podle Eilera (2007)

2.1.1 Izotopový efekt

Izotopový efekt (α) je způsoben rozdílnými fyzikálními vlastnostmi a rychlostí, které vyplývají z rozdílů v atomové hmotnosti. Jedná se o kinetický izotopový efekt a rovnovážný izotopový efekt. Kinetický izotopový efekt je spojen s nepřímými, ireverzibilními procesy jako je evaporace, difuze, disociační reakce. Je následkem různých rychlostí přesunu různých izotopomerů ($^{12}\text{CO}_2$ nebo $^{13}\text{CO}_2$). Rovnovážný (termodynamický) izotopový efekt je způsoben vlivem hmotnosti na termodynamické vlastnosti molekul, tzn. vliv hmotnosti na pevnost vazeb v chemické sloučenině. Molekuly obsahující těžký izotop jsou stabilnější než molekuly s lehkým izotopem (Hoefs, 2009).

$$\alpha = \frac{R_s}{R_p}, \text{ kde } R_s \text{ je izotopový poměr substrátu a } R_p \text{ izotopový poměr produktu} \quad [2]$$

Pro izotopové složení se v mnoha biologických pracích používá termín izotopová diskriminace. Pro lepší porovnávání vzorků mezi sebou bylo zavedeno vyjadřování izotopové diskriminace pomocí Δ . Její výhodou je, že je nezávislá na standardu a je možné ji použít při sériových pokusech.

$$\Delta = (\alpha - 1) * 1000 = \left(\frac{R_s}{R_p} - 1 \right) * 1000 \quad \text{‰} \quad [3]$$

vztaženo k malé deltě:

$$\Delta = \frac{\delta_s - \delta_p}{1 + (\delta_p / 1000)} \quad \text{‰} \quad [4]$$

2.1.2 Kritéria výběru stabilních izotopů v biologických analýzách

Použití stabilních izotopů pro biologická a ekologická měření je vhodné, pokud izotopy mají tyto vlastnosti:

- relativně nízkou atomovou hmotnost
- rozdíl mezi relativní hmotností lehkého a těžkého izotopu je velký
- chemické vazby jsou hlavně kovalentního charakteru
- jsou důležitou složkou zájmového materiálu
- výskyt těžkého izotopu je dostatečně velký, aby zaručil přesné určení izotopového poměru
- klíčová reakce je provázena frakcionací

2.1.3 Izotopy uhlíku

2.1.3.1 Izotopy uhlíku v rostlinách

Izotopové analýzy uhlíku se dají využít, kromě již zmíněných klimatických studií, studií zaměřených na znečištění ovzduší či hnojení, ke zkoumání kompetičních vztahů rostlin, parazitismu v rostlinné říši, symbióze rostlin. Napomáhají při výzkumu potravních řetězců (díky velmi odlišnému signálu $\delta^{13}\text{C}$ u C3 rostlin a C4 rostlin) a stejně tak se uplatňují i při výzkumu na úrovni ekosystémů a při zkoumání současných změn v globálních cyklech prvků (Dawson et al., 2002).

Rostliny využívají různé fotosyntetické cesty poutání uhlíku. Všechny stromy, které jsou používány v dendroklimatologii, patří mezi C3 rostliny, u kterých je akceptorem molekuly CO_2 pentozafosfát a prvním produktem fotosyntézy je šestiuhlíkatá sloučenina, rozpadající se na dvě tříuhlíkaté molekuly kyseliny fosfoglycerové, na rozdíl od C4 rostlin, kde je primární akceptor CO_2 fosfoenolpyruvát a prvním produktem fotosyntézy je oxalacetát (čtyřuhlíkatá sloučenina). C4 rostliny využívají kromě CO_2 ze vzduchu i CO_2 , který vzniká přímo v jejich těle při respiraci a je znovu zapojen do fotosyntetických procesů. C4 rostliny jsou schopné fotosyntetizovat i v době, kdy má rostlina zavřené průduchy a v této době u nich stoupá míra frakcionace (změna izotopového poměru mezi zdrojem a produktem) na rozdíl od C3 rostlin, kde je maximální frakcionace při otevření průduchů.

Poměr izotopu ^{13}C ke ^{12}C v oxidu uhličitém ve vzduchu v současné době představuje hodnotu $\delta^{13}\text{C}$ okolo -8 ‰, pro C4 rostliny se $\delta^{13}\text{C}$ pohybuje mezi -10 až -16 ‰, pro listy a dřevo stromů (C3) má nižší hodnoty (-20 ‰ až -30 ‰), což znamená, že jsou relativně ochuzenější o ^{13}C vzhledem ke vzduchu. Tato změna v izotopovém poměru mezi zdrojem a produktem je označována termínem frakcionace a stupeň frakcionace je závislý na velikosti (míře) reakce stromu na podmínky prostředí. Mechanismus diskriminace $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ je vysvětlen teoreticky (Farquhar et al., 1982) a může být vyjádřen pro C3 rostliny jako:

$$\Delta \text{‰} = a + (b - a)(c_i/c_a), \text{ kde} \quad [5]$$

a je diskriminace $^{13}\text{CO}_2$ během difuze skrz průduchy ($\sim 4,4 \text{ ‰}$), b je čistá diskriminace při karboxylaci ($\sim 27 \text{ ‰}$) a c_i a c_a je koncentrace CO_2 v intercelulárních prostorech a v atmosféře (Farquhar et al., 1982; McCarroll et Loader, 2004).

Světlo, vzdušná vlhkost, srážky a teplota jsou faktory prostředí známé svým vlivem na fotosyntézu, protože ovlivňují stomatální vodivost a fixaci CO₂ (Jäggi et al., 2002; Schweingruber, 1996). Nepřímo ovlivňují signál $\delta^{13}\text{C}$ v krátkém (cukry, škrob) nebo v dlouhém (rostlinné tkáně, letokruhy) časovém intervalu.

Ani poměr obou stabilních izotopů v atmosféře není stálý. Uhlí a nafta jsou organického původu a jsou tedy ochuzené o ¹³C, takže zvyšování koncentrace CO₂ spalováním fosilních paliv, vede ke snižování celkové hodnoty $\delta^{13}\text{C}$ atmosféry (Farquhar et al., 1989). Logickým standardem je $\delta^{13}\text{C}$ v atmosféře v době před průmyslovou revolucí, pro který se uznává hodnota -6,4 ‰. Tato hodnota je blízko k hodnotě $\delta^{13}\text{C}$ atmosféry kolem roku 1850 a také k dřívější malé době ledové (Francey et al., 1999).

rok	1850	1875	1900	1925	1950	1975	2000
$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	-6,41	-6,52	-6,63	-6,74	-6,86	-7,29	-7,99
CO ₂ (ppm)	285,2	289,4	296,7	304,9	312,0	331,0	368,5

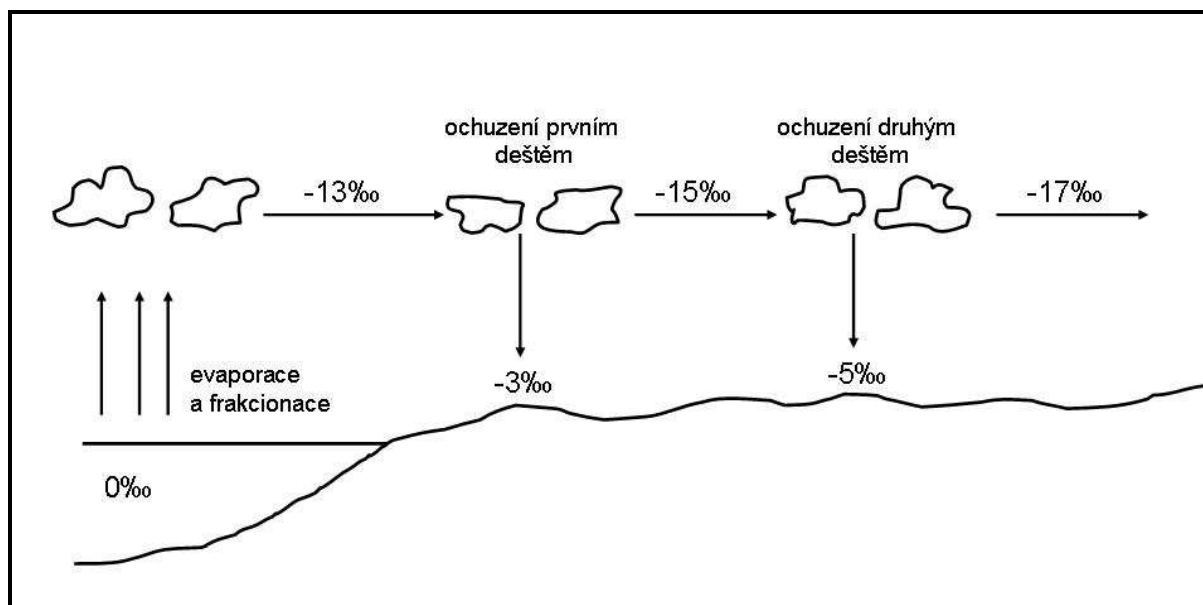
Tabulka 3 Vývoj $\delta^{13}\text{C}$ atmosférického CO₂ a koncentrace CO₂ v atmosféře podle McCarroll et Loader (2004).

Hodnoty $\Delta^{13}\text{C}$, tedy rozdíl mezi izotopovým signálem atmosférického CO₂ a biomasou, odráží podmínky, ve kterých rostliny zabudovávaly CO₂ do svých těl během fotosyntézy. Protože fotosyntéza je ovlivněna podmínkami prostředí, zkoumání $\Delta^{13}\text{C}$ by mohlo poskytnout potenciál pro zjišťování klimatických proměnných z hodnot izotopových poměrů uhlíku (Schlesser et al., 1999).

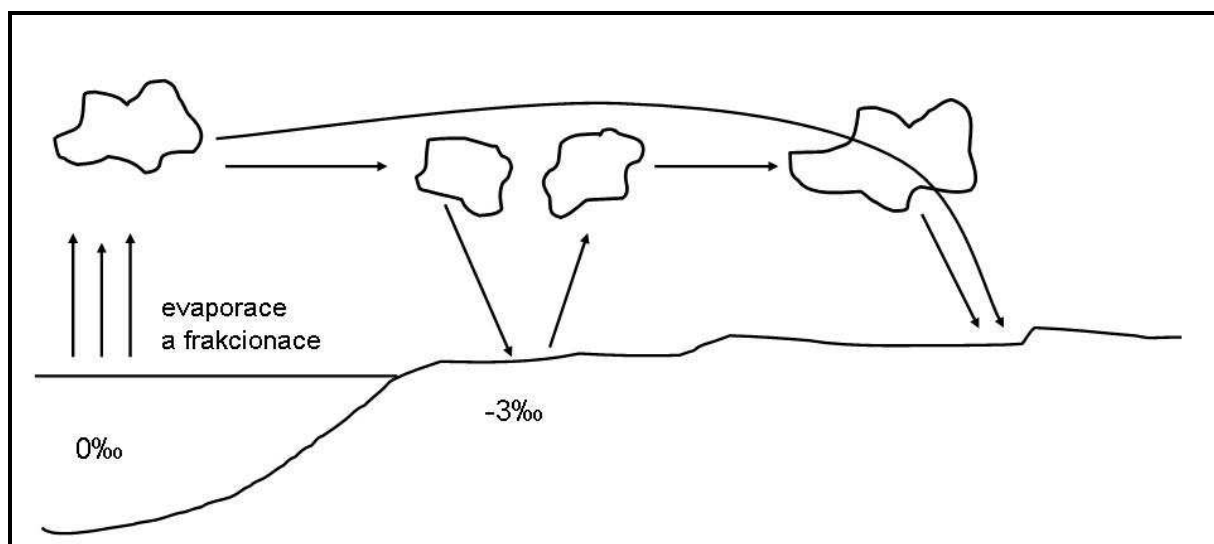
2.1.4 Izotopy vodíku a kyslíku

Kyslík i vodík mají více než jeden stabilní izotop. Z toho důvodu se nabízí více kombinací, jak bude izotopově vypadat molekula vody (¹H, ²H, ¹⁶O, ¹⁷O ¹⁸O). Pro úplnost je třeba uvést přirozený výskyt jednotlivých izotopů u vodíku jde ¹H = 99,985 %, ²H (=D) = 0,015 %; izotopy kyslíku jsou pak zastoupeny ¹⁶O = 99,759 %, ¹⁷O = 0,037 %, ¹⁸O = 0,204 %.

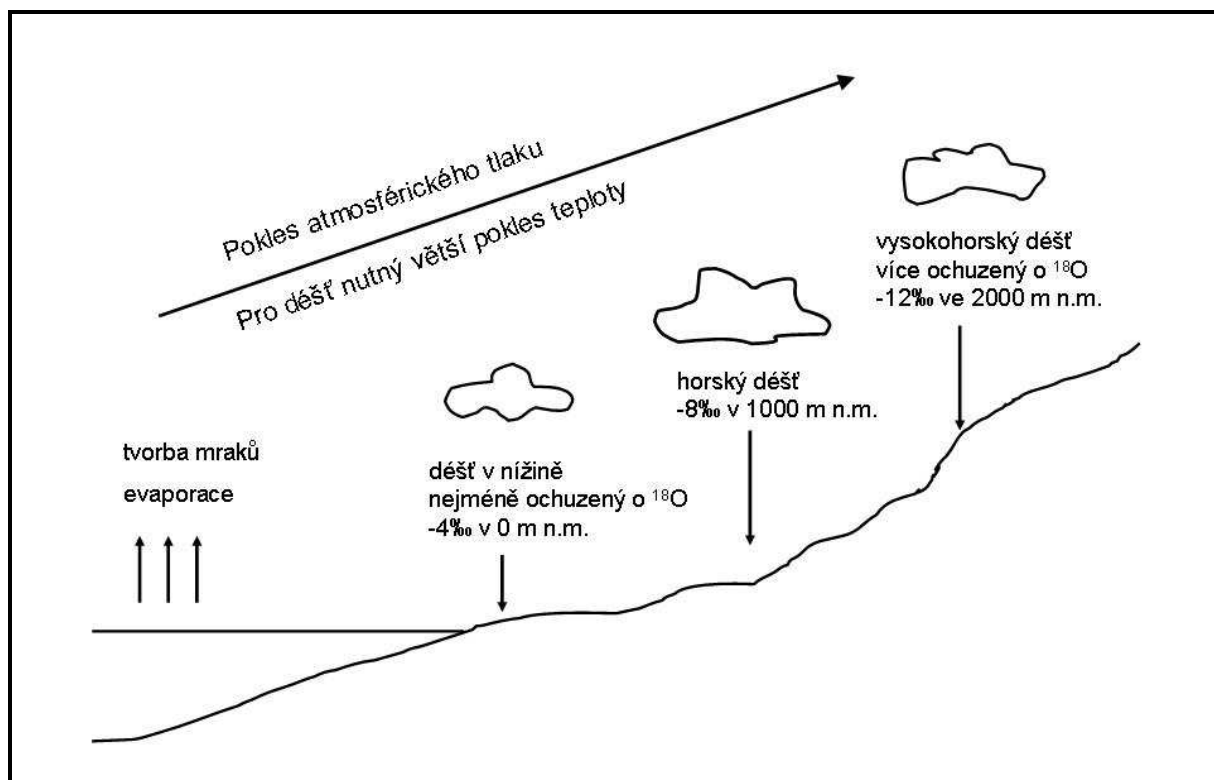
Hodnoty $\delta^{18}\text{O}$ a δD ovlivňují především střídání ročních období, kontinentalita a nadmořská výška. Následující obrázky 2, 3 a 4 schematicky znázorňují kontinentální a výškový efekt na hodnoty $\delta^{18}\text{O}$.



Obr. 1 Kontinentální efekt 1. Kondenzační proces: mraky postupující dále do vnitrozemí se stávají čím dál ochuzenější o ^{18}O (Gat, 1996). Stejný mechanismus platí samozřejmě i pro molekuly vody tvořené jedním či dvěma atomy deuteria, hodnoty jsou pro deuterium jiné, princip však zůstává stejný, což platí i pro další obrázky 3 a 4. I pro hodnoty ^{18}O uvedené zde a u dalších obrázků platí, že jde o modelový příklad, kde absolutní hodnota závisí na zemské šíři dané pevniny (rozdíl v hodnotách $\delta^{18}\text{O}$ srážkové vody v tropech a mírném pásu, potažmo v polárních oblastech je obrovský) a samozřejmě záleží i na ročním období (léto/zima).



Obr. 2 Kontinentální efekt 2. Evaporační proces: výpar z moře je méně ochuzený o ^{18}O v porovnání se SMOW než výpar ze země díky odlišným vstupům. To znamená, že pro místa, která jsou od moře vzdálenější, je velký rozdíl v izotopovém složení srážkové vody v závislosti na tom, zda voda dopadající na povrch země je první srážkou vypadávající z daného mraku (či druhou, třetí atd. viz obr. 2), který byl utvořen z par při výparu z oceánu, nebo zda jde o srážkovou vodu, která pochází z oblačnosti tvořené výparem ze zemského povrchu, který bude více ochuzen oproti vodě v oceánu a následná srážka bude ještě ochuzenější.



Obr. 3 Výškový efekt. Nemá nic společného s kontinentálním efektem. Oblak stoupá do vyšších výšek bez deště, rozdíl hodnot $\delta^{18}\text{O}$ je vyvolán změnou tlaku (upraveno podle Humluma, 2005 a Hoefse 2009).

Analýzy stabilních izotopů vodíku a kyslíku se v současné době hojně využívají ke zjišťování a zlepšování našich vědomostí o vodním provozu rostlin a příklady ukazují, jak mohou různé rostlinné druhy využívat zdroje vody v čase a prostoru. Úspěšně se používají při určení závislosti druhu na povrchové či spodní půdní vodě (Brunel et al., 1995), povrchovém odtoku / proudící vodě nebo půdní vodě (Dawson et Ehleringer, 1991), zimních srážkách nebo mlze (Dawson, 1998) či monzunových deštích (Lin et al., 1996). Stejně tak se používají analýzy δD a $\delta^{18}\text{O}$ k odlišení zdroje vody u různých druhů v rámci společenství rostlin na stanovišti (Dawson et Ehleringer, 1991; Valentini et al., 1992) nebo se využívají ke zjišťování změn zóny, ze které rostliny berou vodu během vegetačního období tam, kde půdní vlhkost v různých hloubkách během sezóny kolísá (Lin et al., 1996; Dawson, 1998). Jde o studie značného významu, protože kořeny často prokořeňují celý půdní profil, ale přítomnost kořenů v určité hloubce neznamená vždy, že tyto kořeny se aktivně podílí na příjmu vody.

Přestože uhlík v každém letokruhu pochází z CO_2 ve vzduchu a kyslík a vodík mají původ v půdní vodě a tedy ve srážkách, izotopové složení dřeva se od nich velmi liší (McCarroll et Loader, 2004). Během fotosyntetického procesu dochází ve chloroplastech k ustavení rovnováhy mezi rozpuštěným CO_2 , HCO_3^- a H_2O , které vedou k intenzivní výměně kyslíku a celý děj je urychlován enzymem karbonanhydrázou. Tento proces v chloroplastech pak má za

následek výše zmiňovaný fakt, že kyslík, tvořící rostlinnou hmotu, je kyslík z molekuly půdní vody.

Z dlouhodobého hlediska se používá izotopová analýza $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ z celulózy letokruhů dřevin, kterou lze využít k rekonstrukci klimatu (Sidorova et al., 2010, Porter et al., 2009). Shu et al. (2005) doporučuje signál δD a $\delta^{18}\text{O}$ letokruhů k rekonstrukcím vlhkosti vzduchu v minulosti. Výsledky některých studií, při kterých byl ve vztahu k rekonstrukci klimatu (především teploty) měřen izotopový signál letokruhů δD či $\delta^{18}\text{O}$ společně s $\delta^{13}\text{C}$, upřednostňují $\delta^{13}\text{C}$ jako signál, který lépe vypovídá o změnách klimatu než δD resp. $\delta^{18}\text{O}$ (Lipp et al., 1991, Hilasvuouri et al., 2009).

Nejnovější studie se zaměřují na zkoumání δD a $\delta^{18}\text{O}$ z krátkodobého pohledu, a to v půdě, rostlinách a výparu, a používají se k vysvětlení úlohy rostlin v procesech na úrovni povodí či v hydrologickém cyklu samotném (Busch et al., 1992; Gat, 2004). Fyziologové měří obohacení o δD resp. $\delta^{18}\text{O}$ v listech různých rostlin pěstovaných ve vlhkých i suchých podmínkách a snaží se přispět k lepšímu pochopení celého mechanismu (Flanagan et al., 1994; Šantrůček et al., 2007; Ferrio et al., 2009).

Obsah ^{18}O v organické hmotě rostliny je relativně vyšší než ve vodě, která zásobuje rostlinu, přičemž rostlina vede vodu bez frakcionace. Tento jev je způsobený tím, že lehčí molekula vody se snáze vypařuje a také díky izotopovému efektu během difuze molekul vody přes průduchy (McCarroll et al., 2004). Obohacení o ^{18}O závisí na poměru vlhkosti vzduchu ve vnějším prostředí a vlhkosti vzduchu uvnitř listu. Molekula vody, která je tvořená atomem ^{18}O a dvěma atomy ^1H , se vypařuje hůře, stejně jako molekula vody tvořená ^{16}O , deuteriem a ^1H oproti molekule lehké vody tvořené ^{16}O a dvěma atomy ^1H (West et al., 2006; Dawson et al., 2002).

Poměr izotopového složení se uvádí jako odchylka od poměru izotopů v dohodnutém standardu, kterým je pro ^2H i ^{18}O Vinna-Standard Mean Ocean Water (V-SMOW) a vyjadřuje se jako

$$\delta^{xx}\text{E} (\text{‰}) = 1000 \times (\text{R}_{\text{sample}}/\text{R}_{\text{standard}} - 1),$$

kde E je izotop daného zájmu (v našem případě D nebo ^{18}O) a R je poměr těžšího a lehčího izotopu daného prvku (D/H nebo $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$) – tedy vzorec, který jsme zde již měli [3].

První práce, zabývající se izotopy vody v letokruzích, je popisovaly jednoduše jako paleoteploměry, zachycující izotopový poměr zdrojové vody, tedy srážek, který se mění s teplotou. Současné modely předpokládají tři hlavní mechanismy kontroly izotopového signálu δD a $\delta^{18}O$ v letokruzích a to izotopový signál zdrojové vody, evaporativní obohacení vody v listu a výměna xylemové (zdrojové) vody během syntézy celulózy a/nebo ligninu.

Míra obohacení vody v listu ze zdrojové vody na místě výparu ($\Delta^{18}O_e$) je dána vztahem

$$\Delta^{18}O_e = \varepsilon^* + \varepsilon_k + (\Delta^{18}O_v - \varepsilon_k) e_a / e_i, \text{ kde} \quad [6]$$

ε^* je rovnovážný izotopový efekt frakcionace vody a tedy je poměrem izotopových poměrů těžších a lehčích izotopů v kapalně a plynné fázi ($\varepsilon^* = R_{\text{kapal}}/R_{\text{plyn}}$),

ε_k je kinetický efekt, tedy frakcionace vody difusí přes stomata a hraniční listovou vrstvu, $\Delta^{18}O_v$ je izotopové složení vodních par v atmosféře (vyjádřeno relativně vzhledem ke zdrojové vodě; $\Delta^{18}O_v = R_{\text{atm}}/R_{\text{zdroj}} - 1$) a

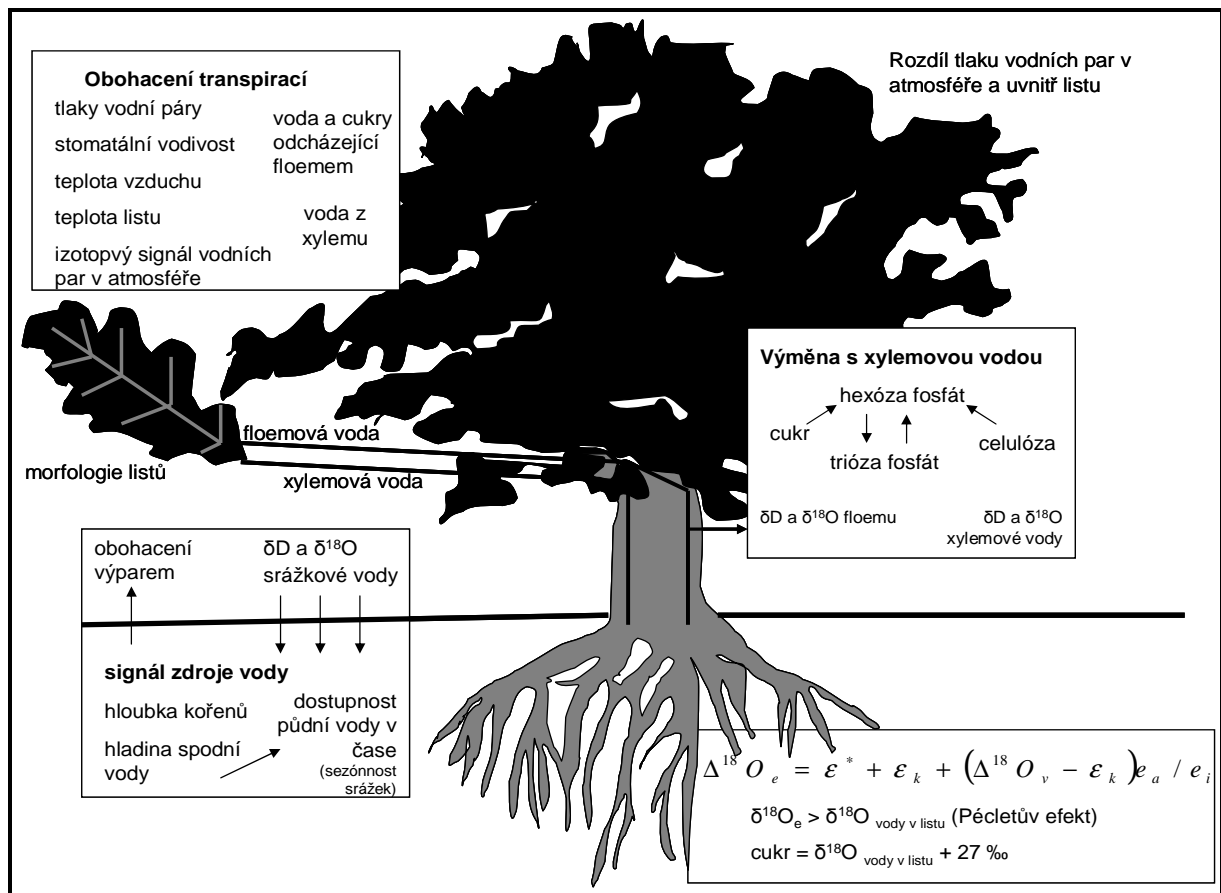
e_a a e_i jsou tlaky vodní páry v atmosféře (vně listu) a v intercelulárním prostoru uvnitř listu, přičemž platí, že $\delta^{18}O_e > \delta^{18}O$ vody v listu (Pécletův efekt).

Hlavní mechanismy frakcionace $\delta^{18}O$ a δD jsou na následujícím obr. 5.

Zdrojová voda je samozřejmě jedním z nejdůležitějších faktorů, ovlivňujících izotopový signál. Ovšem právě tento zdroj je v čase ve svém izotopovém složení velmi nestálý. Je pravda, že půdní voda je ve svém izotopovém složení méně proměnlivá než voda srážková, a je potřeba počítat s určitou směsí mezi těmito dvěma zdroji. Na jaře je půdní voda izotopově velmi podobná srážkám ze zimního období (tající sníh), časem se stává obohacenější o deuterium i ^{18}O , díky obohacení přes výpar z půdy a díky zasakování letních srážek. Toto ovlivnění samozřejmě klesá s rostoucí hloubkou; do půdy v hloubce kolem 50 cm se dostává srážková voda pouze při velkých bouřkách. Výměna staré půdní vody nově infiltrovanou pak závisí na frekvenci a intenzitě srážek ve vegetačním období (Tang et Feng, 2001).

Velmi nestálý je i izotopový signál vodní páry v atmosféře v prostoru korunové klenby během dne a noci. Lai et al. (2006) pozoroval rozdíl v hodnotách $\delta^{18}O$ vyšší než 4 ‰ v korunovém prostoru vzrostlého jehličnatého lesa. Hodnoty $\delta^{18}O$ v ranních hodinách klesaly, kolem poledne pak dosahovaly svého minima a během odpoledne se opět vyšplhaly na hodnoty odpovídajícím rannímu měření. Kolísání hodnot je výsledkem transpirace porostu, otevřenosti korunového prostoru a výparu z půdy. Pozorovaný výrazný diurnální cyklus kolísání hodnot $\delta^{18}O$ v korunovém prostoru vzrostlého porostu může mít svůj vliv na stromy

v místech, kde voda kondenzující z atmosférických par je důležitou složkou v bilanci vodního provozu rostliny.



Obr. 4 Hlavní mechanismy frakcionace δD a $\delta^{18}O$ a environmentální podmínky, které je ovlivňují. Podle McCarrollaetLoadera (2004).

2.1.5 Studie izotopových analýz letokruhů

Izotopové analýzy letokruhů se používají v mnoha studiích v souvislosti s klimatickými změnami a to zejména $\delta^{13}C$, δ^2H a $\delta^{18}O$ v kontextu s teplotou vzduchu a relativní vlhkostí, stejně jako se srážkami.

Vliv hnojení na letokruhový signál $\delta^{13}C$ a $\delta^{15}N$ zkoumal Elhani et al. (2005) v 80-letém bukovém porostu v západní Francii. Při hnojení dusíkatým hnojivem došlo k prokazatelnému nárůstu hodnot izotopového signálu, který přetrvával i 6 let po aplikaci N hnojiva. Vlivem hnojení porostu NPK ke změně $\Delta^{13}C$ z dlouhodobějšího pohledu nedošlo. Hodnoty $\Delta^{13}C$ byly obdobné, ať již bylo ke stanovení použito celulózy či celého dřeva. Autoři předpokládají, že na stanovištích dlouhodobě vystavených zvýšené depozici dusíku, se může spustit lavina

procesů zprostředkovaná půdními změnami, vedoucí v důsledku ke zvýšení $\delta^{15}\text{N}$ a snížení $\delta^{13}\text{C}$ ve dřevě stromů.

Změny v signálu $\delta^{15}\text{N}$ a $\delta^{13}\text{C}$ v letokruzích borovice (*Pinus densiflora*) ve východní Koreji a jejich vztah k environmentálním změnám popisuje výzkum Choi et al. (2005). Autoři analyzovali vzorky celého dřeva po 3-letých sekcích. Z výsledků analýz $\delta^{13}\text{C}$ předpokládají, že u stromů ve zkoumaném porostu došlo k nestomatální limitaci fotosyntézy, kterou způsobily environmentální faktory.

Bukata et Kyser (2007) prováděli analýzy letokruhového signálu $\delta^{13}\text{C}$ a $\delta^{15}\text{N}$ v Ontariu v Kanadě. Trendy v uhlíkovém i dusíkovém izotopovém složení letokruhů byly konzistentní s nárůstem antropogenního ovlivnění uhlíkového i dusíkového cyklu po roce 1945. Autoři se domnívají, že jejich výsledky ukazují, že v letokruhových signálech $\delta^{13}\text{C}$ a $\delta^{15}\text{N}$ je zaznamenána míra regionálního znečištění. Na základě tohoto a předchozího výzkumu (Bukata et Kyser, 2005) doporučují začlenit izotopové signály letokruhů a dendrogeochemické analýzy do studií efektu dlouhodobého antropogenního ovlivnění lesních ekosystémů ať už způsobených klimatickými změnami, změnami ve využití krajiny, nárůstu ozonu, či jiných atmosférických polutantů.

Lipp et al. (1991) analyzoval letní dřevo jedle (*Abies alba*) ze Schwarzwaldu. Zaměřil se na průběh hodnot $\delta^{13}\text{C}$ a $\delta^2\text{H}$, které porovnával s hodnotami relativní vlhkosti, objemem srážek a teplotou vzduchu pro měsíc srpen ve sledovaném období (1959-1980). Hodnoty $\delta^{13}\text{C}$, na rozdíl od hodnot $\delta^2\text{H}$, korelovaly s teplotou, vlhkostí a srážkami. Hodnoty $\delta^{13}\text{C}$ pak autoři využili pro rekonstrukci teplot v minulém tisíciletí a došli k závěru, že v raném středověku byly srpnové teploty zhruba o $0,5^\circ\text{C}$ vyšší než jsou dnes.

Hilasvuori et al. (2009) provedli analýzy $\delta^{13}\text{C}$ a $\delta^{18}\text{O}$ letokruhů borovice lesní. Izotopový signál $\delta^{13}\text{C}$ korespondoval s teplotou v obou oblastech Finska, zatímco závislost $\delta^{13}\text{C}$ na srážkách se projevila pouze v jedné ze zkoumaných oblastí. Citlivost izotopových poměrů kyslíku ke klimatickým proměnným byla nižší než u uhlíku.

Porter et al., (2009) analyzovali izotopový signál $\delta^{13}\text{C}$ a $\delta^{18}\text{O}$ z celulózy letokruhů smrku (*Picea glauca*). Signál $\delta^{13}\text{C}$ byl úzce spjat jak s nejvyššími letními teplotami (teplotou navozený stres ze sucha ovlivňuje stomatální vodivost), tak s průměrnou relativní vlhkostí v létě, která ovlivňuje stomatální vodivost přímo. Hodnoty $\delta^{18}\text{O}$ korelovaly s minimálními teplotami od časného jara do středního léta, v důsledku teplotní závislosti signálu $\delta^{18}\text{O}$ srážek a příjmu této srážkové vody během vegetačního období. Relativní vlhkost v létě korelovala rovněž se signálem $\delta^{18}\text{O}$ díky obohacení vody v listu výparem.

Shu et al. (2005) použili signál δD a $\delta^{18}O$ z celulózy letokruhů douglasky tisolisté a jedle plstnatoplodé rostoucí při srážkovém gradientu v Olympic Mountains a na základě svých výsledků se domnívají, že poměry δD a $\delta^{18}O$ v celulóze letokruhů jsou užitečným nástrojem pro rekonstrukce vlhkosti v minulých dobách.

Práce Warrena et al. (2001) je zaměřena na izotopovou diskriminaci uhlíku a jejím vztahem k dostupnosti vody. Analyzovaným materiálem bylo dřevo borovic (*Pinus radiata* a *Pinus pinaster*) v oblasti jihozápadní Austrálie. Poměr srážek a výparu (P/E) prokazatelně ovlivňuje hodnoty $\delta^{13}C$, avšak pouze v oblastech, kde je poměr P/E nižší než 0,8. Při vyšším poměru srážek a výparu mají pravděpodobně hlavní vliv na hodnoty $\delta^{13}C$ jiné vlivy než dostupnost vody. Autoři doporučují použití $\delta^{13}C$ jako vhodného indikátoru stresu ze sucha, avšak pouze v oblastech sezónně suchého klimatu (P/E<1) a tam, kde jsou změny ostatních environmentálních faktorů minimální.

Pawelczyk et al., (2004) analyzovali $\delta^{13}C$ v letokruzích polských borovic, jak v celém dřevě tak z izolované α -celulózy letního dřeva. Mezi šířkou letokruhu a $\delta^{13}C$ nebyla signifikantní korelace s teplotou, zatímco výsledky $\delta^{13}C$ α -celulózy letního dřeva korelovaly s červencovými a srpnovými teplotami ve zkoumané oblasti.

Martin et Sutherland (1990) zveřejnili výsledky z výzkumu, při kterém porovnávali hodnoty $\delta^{13}C$ v celulóze letokruhů douglasek (*Pseudotsuga menziesii*) z blízkosti hutí na tavení mědi a hutí neovlivněným stanovištěm v Utahu. Ve vzorcích z blízkosti hutí byla dvě období obohacenější o ^{13}C (tedy s méně negativní $\delta^{13}C$) oproti vzorkům z kontrolního stanoviště. Tato období se shodují s první a druhou světovou válkou, která znamenala, díky vyššímu výkonu hutí v této době, zvýšené emise SO_2 .

K podobným závěrům došli i Rinne et al. (2010), kteří analyzovali $\delta^{13}C$ a $\delta^{18}O$ letokruhů dubu a borovice (*Quercus robur* a *Pinus sylvestris*) z jihu Anglie. Vliv oxidu siřičitého se více projevil u dubů, ale i u letokruhů borovice v méně imisně postižené oblasti na hodnotách $\delta^{13}C$ (nárůst hodnot až o 2,5‰). Méně se imise SO_2 projevil na hodnotách $\delta^{18}O$.

Kagava et Leavitt (2010) ve své práci ukazují, jak je možné využít izotopového signálu $\delta^{13}C$ letokruhů k určování geografického původu dřeva. Autoři předkládají studii, ve které se zaměřili na dva druhy borovic (*Pinus edulis* a *Pinus monophylla*). V rámci šesti států amerického jihozápadu a nadmořských výšek kolísajících mezi 1400 a 2500 m n.m. jim zvolené metody poskytovaly výsledky s přesností 114-304 km. Jde sice o metodu, která je dražší, ale která má zároveň podstatně lepší výsledky než použití měření šířek letokruhů, což v době celosvětově narůstající ilegální těžby dřeva představuje platný vědecký nástroj ke zjištění původu dřeva.

Roden (2008) doporučuje použití $\delta^{13}\text{C}$ a $\delta^{18}\text{O}$ letokruhů pro křížové datování v dendrochronologii a to především u krátkých a problematických úseků. Plošné použití mu nepřípadá praktické, ale tato metoda dává stejně dobré a lepší výsledky než měření šířek letokruhů.

V letokruhovém signálu $\delta^{13}\text{C}$ se projeví, podle práce Simard et al. (2008), i hmyzí kalamita, jakou je přemnožení obaleče *Choristoneura fumiferana*, a to nejen v hodnotách $\delta^{13}\text{C}$, ale i $\delta^{18}\text{O}$.

2.2 Dřevo

Většinu ze zpracovávaných a analyzovaných vzorků pro tuto práci představuje dřevní hmota – odebrané vývrty nařezané po jednotlivých letokruzích či víceletých bločcích (jak pro izotopovou analýzu, tak pro analýzy chemického složení). Jedinou výjimkou byly vzorky k analýzám izotopového složení vody, kdy se jednalo o analýzu vody, která byla vydestilovaná z dřevní hmoty. Z tohoto důvodu považuji následující řádky za důležité pro celkové uvedení prováděného výzkumu do širších souvislostí. Rozhodně nemají být komplexním souhrnem, ale jen se stručně dotýkají některých otázek úzce souvisejících s vlastní prací.

Dřevo je nehomogenní a anizotropní biopolymer, a to po chemické i anatomické stránce (na úrovni submikro-, mikro- i makroskopické). Tvoří centrální část kmene, větví a kořenů dřevin a celkově zaujímá 70-93% objemu stromu. Každá z výše uvedených úrovní byla a je předmětem zkoumání v jednom či více vědních oborech, jejichž poznatky vydají na samostatné knihy a skripta (Matovič, 1988; Šlezingerová et Gandelová, 2002).

2.2.1 Makroskopická stavba dřeva

Makroskopická struktura definuje vnější vzhled dřeva – soubor znaků, tvořících kresbu na povrchu dřeva, které lze pozorovat pouhým okem (letokruhy, dřeňové paprsky, cévy, pryskyřičné kanálky, dřeňové skvrny, barva, lesk atd.)

2.2.1.1 Letokruhy

Vytváření dřeva lesních stromů je složitý proces, který je ovlivňovaný vnitřními i vnějšími faktory. Činnost buněk kambia je závislá na ostatních fyziologických pochodech stromu, na vytváření asimilačního aparátu a jeho činnosti, i na vývoji a růstu kořenů (Chalupa, 1981).

Činností kambia a felogenu zvětšuje strom každoročně svoji tloušťku. Každým rokem vzniká na stromě nová vrstva dřeva a kůry. Na poslední vrstvu dřevného pláště navazuje kambiální vrstva. Z ní se každoročně tvoří směrem dovnitř vrstva dřeva a po obvodě vrstva kůry (Šebík et Polák, 1990). Rozdílné utváření širokého na cévy bohatého jarního dřeva a úzkého pozdního dřeva způsobuje viditelnost letokruhů. Také buňky, které se vytváří na konci každého vegetačního období, jsou velmi zploštělé (Assmann, 1968). Tloušťkový přírůst není stejný v různých výškách nad zemí a zároveň ani šířka jednoho letokruhu není na průřezu všude stejná. Tloušťkový přírůst v různých výškách závisí především na věku, sociologickém

postavení stromu a bonitě porostu. Rozložení tloušťkového přírůstu po obvodu kmene je ovlivněno především dřevinou, věkem, tvarem koruny, sociologickým postavením a podmínkami na stanovišti – např. expozice, sklon terénu, převládající směr větru (Drápela et Zach, 1995; Šmelko, 1965). Variabilita tloušťkového růstu u stromů stejného stáří, rostoucích na tomtéž stanovišti, je nejvyšší v době intenzivního růstu. Odchyly vyvolané vnějšími vlivy jsou většinou menší než odchyly způsobované vnitřními faktory (Chalupa, 1981).

Rozdíly v přírůstu jsou i během dne – největší přírůst je v době před východem slunce. Zároveň dochází ke kolísání tloušťky kmene během dne v závislosti na transpiraci (Chalupa, 1981; Nadezhdina et al., 2002).

U smrku začíná kambiální činnost v době růstu pupenů, ještě před jejich vyrašením. V době rašení pupenů je již vytvořena desetina až pětina letokruhu, která se vytváří z asimilátů, vznikajících činností starých jehlic (Chalupa, 1981). U smrku začíná přírůst v květnu, někdy již na konci dubna a někdy až na konci měsíce května, a končí v září (Drápela et Zach, 1995; Chalupa, 1981).

2.2.1.2 Běl, jádro, vyztřelé dřevo

Běl je vnější část kmene přiléhající ke kambiu, která má z fyziologického hlediska především funkci vedení vody s minerálními látkami z kořenů k listům a ukládání zásobních látek. Bělové dřevo má nižší trvanlivost, vyšší obsah vody a je méně odolné biotickým činitelům. Šířka běli závisí na druhu dřeviny, stáří stromu, je závislá na asimilační ploše a velikosti transpiračního proudu. U listnáčů bývá užší než u jehličnanů (Šlezingerová et Gandelová, 2002).

Jádro je tmavěji zbarvená centrální část kmene, fyziologicky jde o mrtvé pletivo – neobsahuje živé parenchymatické buňky, cévy a cévice jsou převážně neprůchodné, což způsobují thyly, které ucpávají lumény, pryskyřice, která pravděpodobně uzavírá dvojtečky a jádrové látky (pryskyřice, alkaloidy, třísloviny, minerální látky, gumy, uhlohydráty aj.), které zvyšují odolnost a trvanlivost dřeva a zároveň způsobují zbarvení dřeva. Látky samy o sobě nebývají intenzivně zbarvené, ale tmavnou vlivem oxidace. Tzv. nepravé jádro vzniká u dřevin bělových vlivem abiotických či biotických činitelů a patří mezi vady dřeva (Matovič, 1988).

Vyztřelé dřevo, s výjimkou tmavšího zbarvení, má všechny charakteristické znaky jádra. Na čerstvě vytěžené kulatině je vidět po obvodu tmavší pás běle (vlivem vyšší vlhkosti), po vyschnutí se barevný rozdíl ztrácí (Gandelová et al., 1996).

Podle charakteru a umístění zón se dřeviny rozdělují na bělové, jádrové, bělové s vyzrálým dřevem, bělové s nepravým jádrem a na dřeviny s bělí, jádrem a vyzrálým dřevem.

Smrk je dřevinou bělovou s vyzrálým dřevem s vlhkostí bělí 130-160% a vyzrálého jádra 30-42% (Gandelová et al., 1996; Šlezingerová et Gandelová, 2002).

2.2.2 Mikroskopická stavba dřeva

Dřevo se skládá z buněk, které můžeme rozdělit podle funkce na parenchymatické buňky (funkce vyživovací, vodivá a zásobní), sklerenchymatické (– vyztužovací buňky) a cévy (tracheje – pravé cévy, tracheidy – cévice). Jehličnaté stromy mají jednodušší anatomickou stavbu než listnáče: 90-94% tvoří tracheidy, zbytek pak parenchymatické buňky (Požgaj et al., 1997).

2.2.3 Submikroskopická stavba dřeva

Lignifikované buňky dřeva jsou tvořeny buněčnou stěnou a buněčnou dutinou tzv. lumenem. Buněčná stěna je souvrstvím chemicky odlišných vrstev – střední lamely, primární buněčné stěny a sekundární buněčné stěny, která bývá dále dělena na vnitřní, střední a vnější (Šlezingerová et Gandelová, 2002).

2.2.4 Chemické složení dřeva

Dřevo tvoří organické látky - celulóza, hemicelulózy a lignin, jako základní stavební látky a minerální látky.

Celulóza představuje až 55 % dřevní hmoty. Je tvořena řetězcí molekul glukózy a ve vodě je zcela nerozpustná. Vzájemným spojováním vzniká makromolekula lineární stavby (může dojít k lineárnímu spojení až tří tisíc molekul). Celulóza má krystalické vlastnosti, což určuje uspořádání molekul v micelách, které tvoří mikrofibrily, jež se spojují v makrofibrily a vytváří celulóзовou kostru buněčné stěny (Procházka, 1998). U části celulózy jsou vodíkové vazby mezi řetězcovými makromolekulami rozloženy pravidelně, což představuje tzv. krystalický podíl celulózy (asi 70% nativní celulózy), zbytek makromolekul bez prostorového uspořádání představuje tzv. amorfní podíl celulózy, který snáze podléhá chemickým reakcím. Nárůst krystalického podílu pozitivně ovlivňuje pevnost, tvrdost a hustotu dřeva (Šlezingerová et Gandelová, 2002). Celulóza, a tedy i dřevo, je ve směru vláken velice pevné

díky znásobené řetězovité struktuře, která rovněž dává celulóze vláknitý vzhled. Výskyt čisté celulózy je v přírodě velmi vzácný (bavlníková vlákna).

Hemicelulózy představují 20-35% dřevní hmoty. Jsou vláknité struktury a jsou tvořeny molekulami různých cukrů. Jejich vlákna jsou kratší a zároveň méně odolná než celulóza. Mají nižší pevnost, štěpí se nejen v kyselinách, ale i v zásadách na jednoduché cukry glukózu, fruktózu, galaktózu, xylózu a další. Hemicelulózy ve dřevě obalují celulózu. Ve dřevě listnáčů je jejich zastoupení vyšší než ve dřevě jehličnanů.

Lignin je amorfní polyfenolická látka zastoupená ve dřevě 15-36%. Vyplňuje mezery vláken celulózy a hemicelulóz – stmeluje tyto vláknité struktury. Z fyzikálního hlediska slouží lignin ke zvýšení pevnosti buněčné stěny (Procházka, 1998), snižuje propustnost dřeva a zabraňuje průniku mikroorganismů do dřeva (Šlezingerová et Gandelová, 2002). Chová se jako termoplast a málo odolává zásadám. Ve dřevě listnáčů je jeho zastoupení vyšší než u jehličnanů.

Další látky jako třísloviny, pryskyřice a některé alkaloidy, které jsou obsažené ve dřevě a které netvoří přímo dřevní hmotu, také méně ovlivňují vlastnosti dřeva jako materiálu. Nicméně mohou zvyšovat odolnost dřeva vůči houbám, plísním a hmyzu a zároveň mohou dodávat dřevu charakteristické zbarvení.

Stručný přehled významu prvků pro rostliny (Nátr, 1998), ve kterém se objevují pouze prvky, jejichž stanovení proběhlo v rámci prováděných analýz.

Draslík patří k velmi významným osmotikům v rostlině a pomáhá udržovat iontovou rovnováhu. Dále je asociován s více než 60 enzymy.

Sodík může do určité míry nahradit draslík, aniž by se to výrazně projevilo poklesem růstu.

Hořčík je součástí chlorofylu, podílí se na aktivaci enzymu Rubisco, účastní se syntézy bílkovin.

Vápník vytváří spolu s pektiny gelovou matrix buněčných stěn a podílí se na udržení soudržnosti buněčných membrán. Hraje důležitou roli při přenosu signálů v rostlině.

Železo je nezbytné pro tvorbu chlorofylu a je obsaženo v některých enzimech.

Mangan je nutný pro utváření lamelární struktury tylakoidů v chloroplastech a je součástí komplexu štěpícího při fotosyntéze molekulu vody. Je koenzymem a aktivátorem dehydrogenáz a dalších enzymů.

U některých prvků je rozdílná koncentrace v jádrovém a bělovém dřevě. Mobilnější prvky přecházejí přes hranice letokruhů z fyziologicky „mrtvého“ jádrového dřeva do dřeva bělového, které je fyziologicky aktivní (Häsänen et Huttunen, 1989; Cutter et Guyette, 1993). Přehled o koncentracích prvků v běli a jádře vybraných druhů dřevin zveřejnil Meerts (2002). Živiny v biomase šesti stromových druhů mírného pásma (*Betula pendula* Roth., *Quercus robur* L., *Fraxinus excelsior* L., *Fagus sylvatica* L., *Tilia cordata* Mill. a *Picea abies* (L.) Karst.) zkoumala Hagen-Thorn et al. (2004) a výsledky z výzkumu obsahu stopových prvků v dendromase publikovala Hagen-Thorn et Stjernquist v roce 2005.

Zvýšenou koncentraci hliníku, draslíku a rubidia v letokruzích borovice lesní (*Pinus sylvestris* L.) z 50. let minulého století dali do souvislosti s kyselou depozicí Häsänen et Huttunen (1989). Guyette et Cutter (1994) sledovali vliv depozice síry na barium a mangan v letokruzích, Prohaska et al. (1998) zkoumal vliv továrny zpracovávající hliník na koncentrace vybraných prvků ve dřevě mladých smrků, rekonstrukci vývoje pH půdy z koncentrací manganu v jednotlivých letokruzích provedl Guyette et al. v roce 1992. Mnoho autorů zkoumá rozdíly v koncentracích prvků ve dřevě stromů v souvislosti s odlišným podložím (Arthur et al. 1999) či hnojením (Ingerslev, 1999).

Smrkové dřevo (*Picea abies*) se skládá z 26% ligninu, 46% celulózy a 28% hemicelulózy (Jankovský et al., 1999). Stejný autor pak uvádí následující elementární složení smrkového dřeva: 51,4% uhlíku, 6,1% vodíku, 41,6% kyslíku a 0,94% dusíku. Vedle základních stavebních prvků organické hmoty, které jsou zmíněny výše (pro dřevo smrku včetně svých podílů), obsahuje dřevo minerální látky nezbytné pro zdárný vývoj a růst stromu. Meerts (2002) uvádí, že v bělovém dřevě smrku je obsah dusíku 1600 mg/kg, fosforu 95 mg/kg, draslíku 900 mg/kg a vápníku 600 mg/kg, zatímco ve vyzrálém (fyziologickém jádru) je obsah dusíku 800 mg/kg, fosforu 5 mg/kg, draslíku 300 mg/kg a vápníku 700 mg/kg. Jako koncentrace prvků v celých smrkových vývrtech včetně borky se uvádí následující hodnoty dusík 0,58 mg/g, fosfor 0,04 mg/g, draslík 0,40 mg/g, vápník 1,12 mg/g, hořčík 0,12 mg/g, síra 0,06 mg/g (vše Hagen-Thorn et al., 2004) a mangan 223 µg/g a železo 63,9 µg/g (Hagen-Thorn et Stjernquist, 2005).

2.2.5 Funkce xylemu

Xylem má především mechanickou, vodivou a zásobní funkci. Tvoří spojnicí mezi kořenovým systémem a korunou a zabezpečuje transport vody a živin ze středního válce kořenů do listového mezofylu (Siau, 1984). Jeho vývoj a tvar je ovlivněn mnoha vnějšími faktory jako je klima, svažítost terénu, hydrologická bilance stanoviště, minerální výživa či působení větru.

Velice důležitá je funkce xylemu jako zásobárny vody, která může při nedostatku půdní vody pokrýt transpirační požadavky stromu pro určitý časový úsek (Waring a Running 1978). Pokud se podmínky prostředí rychle mění, může být až polovina krátkodobě vytranspirované vody stromem ze zásob v běli kmene (Waring, et al. 1979). Změny v hydrataci, které jsou spojeny s transpiračním proudem, lze sledovat na změnách v poloměru kmene, kdy denní změny v poloměru kmene vypovídají spíše o hydrataci pletiv než o vlastním radiálním přírůstu.

Růstu xylemu a jeho charakteristikám ve vztahu k vodnímu provozu dřevin se ve své disertační práci věnuje Tomáš Krejzar (2001). Mimo jiné srovnával Krejzar šířku běle u smrků a zjistil, že starší stromy obecně mají užší běl než mladší stromy o stejném poloměru. V jím zkoumaném porostu zhruba 100 letých smrků se šířka běle pohybovala mezi 20 až 50 mm oproti 20-70 mm v porostu zhruba 50ti letém. V obou případech byla šířka běle přímo úměrná poloměru xylemu. Celkové přístupné množství vody pro transpiraci, uložené v kmenech stromů bylo 7,5 mm, v mladším a 6,4 mm ve starším porostu, což je hodnota několikrát vyšší než průměrná denní transpirace. Takto vypočtené množství zásobní vody v kmenech stromů je teoreticky schopné, v případě omezení dostupnosti vody v půdě, pokrýt transpiraci porostu po dobu několika dní.

U smrku ztepilého je vysoká korelace mezi šířkou běle a štíhlostním koeficientem (poměrem výšky stromu ku výčetní tloušťce) a relativní délkou koruny (Longuetaud et al., 2006). Longuetaud tedy předpokládá, že se šířka běle dá předvídat podle hodnot získaných konvenčně provedenými inventarizačními měřeními. Počet bělových letokruhů, je podle stejného autora, závislý na stáří kambia. Proudění mízy však není stejné v různých hloubkách bělového dřeva. Nadezhdina et al. (2002) při zkoumání mízotoku u dřevin z horních i spodních porostních pater (*Pinus sylvestris* L., *Populus canescens* L., *Prunus serotina* L., *Rhododendron ponticum* L.) uvádí možnou chybu vycházející z předpokladu shodného toku mízy ve všech hloubkách bělového dřeva až na 300%.

2.2.6 Dřevo jako materiál pro izotopové analýzy

Letokruhy stromů jsou střednědobé archivy zaznamenávající vliv počasí a klimatických změn v celulóze jednotlivých, každoročně vznikajících kruhů (West et al., 2006). Zatímco výsledky primární produktivity jsou zaznamenávány v šířce letokruhů, $\delta^{13}\text{C}$ zaznamenává vliv stresorů, jako je vodní limitace fotosyntézy (Loader et al., 2003). Snížení půdní vlhkosti a zvýšení výparu během léta odpovídá značnému nárůstu $\delta^{13}\text{C}$ u rozpustných cukrů v listu a cukrů transportovaných lýkem. Nárůst $\delta^{13}\text{C}$ v ekosystémem vydechovaném CO_2 je v období sucha přímo úměrný nárůstu $\delta^{13}\text{C}$ cukrů v listech a v lýku, což naznačuje, že většina vydechovaného CO_2 pochází z nejnovějších asimilátů. Nejdříve se tedy projeví působení klimatických stresorů na cukrech a tento nestabilní jev se dlouhodobě zaznamená v okamžiku, kdy jsou cukry transportovány do kmene a uchovány v celulóze dřeva (Scartazza et al., 2004).

2.2.6.1 Analýzy celulózy letokruhů versus použití celého dřeva

Podle Schweingruber (1996) jsou nejspolehlivější hodnoty izotopového signálu získány měřeními jejich zastoupení v celulóze, protože pouze ve složkách buněčných stěn jsou obsaženy nemobilní organické prvky. K použití celulózy se přiklání také Cullen et Grierson (2006), Lipp et al. (1991) nebo Pawelczyk et al. (2004). Loader et al. (2003), ale také Elhani et al. (2005), naznačují, že klimatický signál v podobě $\Delta^{13}\text{C}$ celého dřeva může být silnější nežli signál celulózy nebo ligninu. Borella et al. (1998) je toho mínění, že dřevo je schopno zastupovat klima stejně dobře jako celulóza. Většinou se doporučuje použít pro analýzy pouze letní dřevo (Lipp et al., 1991; McCarroll, Loader, 2004). Hill et al. (1995) zaznamenal, že hodnoty $\delta^{13}\text{C}$ jarního dřeva korelují lépe s hodnotami letního dřeva z předchozího roku. Toto pak vysvětluje Switsur et al. (1995) tím, že buňky jarního dřeva jsou utvářeny částečně s využitím zásob asimilátů a menších buněk letního dřeva, které vznikly na podzim.

Jäggi et al. (2002) na základě svého výzkumu vyvozuje, že signál $\delta^{13}\text{C}$ jarního dřeva je určován více biochemickou frakcionací (např. při vzniku škrobů), než klimatickými podmínkami, které na ně mají jen podřadný vliv, ale které jsou zohledněny v izotopovém signálu letního dřeva. V mnoha oblastech je však růst a přírůstek stromů velmi pomalý a oddělení letního dřeva může být téměř neproveditelné, pokud jsou letokruhy příliš úzké. Celý letokruh může poskytnout jen izotopovou hodnotu integrovaného uhlíku, která je často považována za roční záznam environmentálních podmínek. Často to ovšem může být jen informace o velmi specifické části roku. V mnoha případech se dřevo vytváří jen během krátkého období během roku (např. většina stredoevropských stromů) a izotopový signál

primárně koresponduje s podmínkami tohoto časového intervalu (Schlesser et al., 1999). Kress et al. (2009) se zaměřila na porovnávání izotopového signálu extrahované celulózy z jarního a letního dřeva borovice lesní v Norsku a modřínů opadavých rostoucích ve Švýcarsku. Její výsledky vykazují vysokou korelaci mezi hodnotami izotopového signálu celulózy jarního a letního dřeva, která mluví jednoznačně ve prospěch použití analýz celého letokruhu. Leawitt (2008) ve své práci analyzuje směsné vzorky desetiletých intervalů ze čtyř stran každého stromu, a to pro vybrané stromové jedince zvlášť a dohromady. Malé rozdíly v naměřených hodnotách ukazují, že použití směsných vzorků k analýzám $\delta^{13}\text{C}$ může přinést „reprezentativní“ izotopové hodnoty relativně rychle a s nižšími náklady i menší časovou náročností.

2.2.7 Analýzy obsahu jednotlivých prvků ve dřevní hmotě

Letokruhy se však nezkoumají jen pro své izotopové složení, což je relativně mladá disciplína, ale již mnohem dříve byly zkoumány i z hlediska vlastního chemismu. Práce některých autorů byly zmíněny již výše. Distribuci některých prvků ve kmenech modřínu a tamaryšku popsali Myre et Camire (1994), akumulaci a interakce mezi vápníkem a těžkými kovy u smrku zkoumali Osteras et Greger (2003), poměr vápníku a manganu v letokruzích jako indikátoru acidifikace půdy popsal Martin (2002), problémem retranslokace živin se zabývali Nambiar et Fife (1991), Guyette et Cutter (1994) sledovali vliv depozice síry na barium a mangan v letokruzích.

Smith et Shortle (1996) publikovali článek, ve kterém zpochybňují obecně přijímané závěry dendrochemických studií. Opírají se především o znalost biologie stromů a současnému dendrochemickému výzkumu kladou čtyři otázky mířící přímo na tvorbu základů dendrochemických studií. Nastolené otázky zní:

- Reflektuje chemické složení dřeva přímo složení půdy?
- Mohou chemické analýzy jednotlivých letokruhů přesně označit konkrétní rok environmentální změny?
- Vážou se změny v koncentracích prvků ve dřevě k chemickým změnám v běli?
- Jsou vzorky vybrané pro analýzy prosty vlivu zranění stromu či infekce?

Často je podle autorů zdůrazňována metoda chemické analýzy bez zkoumání toho, jaká variabilita v dosaženém výsledku může vyplývat ze základní biologie stromu. Pro interpretaci chemických trendů z letokruhů je důležité, zda

1) je měřený prvek přijímán stromem preferenčně, diskriminačně nebo zda následuje koncentrační spád

2) prvek se přemísťuje v apoplastu nebo symplastu (tedy zda jde o přenos látek v mezibuněčném prostoru – apoplastu, který může být rovněž popsán jako ta část stromu, která je mimo buněčnou hmotu a je seskupením buněčných stěn a otevřených lumenů základních prvků dřeva; transport v apoplastu je pasivní, regulovaný velikostí hydraulického toku a iontové substituce a následující gradient koncentračního spádu; nebo přes živý obsah buněk – symplast, tedy seskupení buněčné hmoty či obsahu živých buněk navzájem propojených plasmodesmaty. Transport prvků symplastem je aktivní a často jde proti koncentračnímu spádu.)

3) je možnost translokace zprostředkované symplastem kolonizujícího patogenu

Podle Prenzela (1979) buk diskriminuje v příjmu hliník a sodík, zatímco prvky mangan, vápník, draslík a fosfor jsou v příjmu upřednostňovány. Mechanismus exkluze může komplikovat trvání příkrých změn v pH. Smith et Shortle (1996) považují poměr Al:Ca za užitečný ukazatel environmentálního stresu v půdním roztoku a v kořenových špičkách, méně už ve dřevě, protože podle De Vissera (1992) dochází k vyloučení hliníku z mízy ve velmi krátké vzdálenosti od špičky absorbujícího kořene (dostává se do prostředí s více než o jednotku vyšším pH a sráží se). Smith et Shortle (1996) rovněž předpokládají, že snížení obsahu olova v nedávno vzniklém dřevě ze neznečištěných oblastí, může být výsledkem kratšího vystavení dřeva mízotoku spíše, než snížením obsahu olova v půdě, jak to uvádí Robitaille (1981). Smith et Shortle (1996) rovněž zpochybňují letokruhy a jejich analýzy jako nástroj umožňující určit přesný rok environmentální změny. Kovy jsou ve dřevě přemísťovány symplastem a apoplastem všemi letokruhy v běli, ale část kmene a větví, která obsahuje symplast, vede vodu a ukládá škrob. Mnoho stromových druhů má vyvinuté vnější bělové dřevo, které obklopuje vnitřní jádrové dřevo. Bělové dřevo u jednotlivých druhů kolísá jak ve své šířce, tak v počtu letokruhů, které jsou součástí běli. Toto jsou potom důvody, proč přítomnost prvku v určitém datovaném letokruhu nemusí nutně znamenat přítomnost prvku v životním prostředí stromu stejného roku.

Značné množství fosforu a draslíku nahromaděného v bělovém dřevě je výsledkem normálního fungování protoplastu. Vysoké koncentrace P a K nejsou přebytky z procesu formování dřeva ani redukce koncentrací P a K v jádrovém dřevě, ani nejsou vyloučeny při iontové výměně míst ve dřevě. Když se letokruh bělového dřeva přeměňuje na jádrové dřevo, symplast obsahující P a K ustoupí do nověji formované běli. Koncentrace také mají tendenci klesat od vnitřní běli k vnější (nověji formované) běli (De Visser, 1992).

Chromatografická frakcionace a změny vaznosti, stejně jako pH běli určují vertikální a radiální trendy v kationtové koncentraci. Alkalické kationty jsou při svém pohybu ve kmeni frakcionovány, v pořadí klesající mobility $Mg^{2+} > Ca^{2+} > Sr^{2+} > Ba^{2+}$ tak, jak předpovídá teorie výměny iontů (Momoshima et Bondiotti, 1990). Proto musí být vzorky pro porovnání odebrány ze stejné výšky na kmeni. V podmínkách stejné kationtové koncentrace a pH běli, klesá koncentrace Ca^{2+} díky snižující se vaznosti v nověji formovaném dřevě (Momoshima et Bondiotti, 1990) na rozdíl od časté interpretace poklesu Ca^{2+} v nověji formovaném dřevě přisuzované snížené dostupnosti.

Pokud je dřevo pozměněné díky zranění či infekci, koncentrace mobilních iontů stoupá. Důležitým předpokladem je, že vzorky dřeva určené pro dendrochemické analýzy jsou vizuálně uniformní bez zřetelných barevných skvrn, hnilobné tkáně způsobené zraněním či infekcí. U některých druhů stromů, speciálně jehličnatých, nejsou změny barevnosti krátce po infekci patrné. I malé množství vysoce změněného dřeva může ovlivnit výsledek celkově mnohem většího vzorku.

Nedá se tedy říci, že by v odborných kruzích panovala názorová shoda, co se analýz obsahu jednotlivých prvků ve dřevní hmotě týče. Smith et Shortle (1996) nedoporučují používat pro analýzy jednotlivý strom či dokonce jednotlivý vývrt, protože vliv externího mikrostanoviště či vnitřních podmínek stromu je příliš veliký. Stejně tak varují před používáním příliš malé části individuálního letokruhu, která může do výsledku analýzy vnášet kolísání anatomických charakteristik jako je složení jarního a letního dřeva. Navrhují především analýzy směsných vzorků, či vzorků po dekadách či dokonce po dvacetiletých úsecích obzvláště tam, kde jsou prvky transportovány ve dříve vzniklém dřevě.

2.2.8 Faktory ovlivňující výběr druhu v dendrochemických studiích

Anatomické, chemické a ekologické faktory ovlivňující výběr druhu pro dendrochemické studie (Cutter et Guyette, 1993) mohou být rozděleny do tří skupin:

1. faktory vnějšího vzhledu (životnost, specifické nároky na stanoviště – klima, půda, svažitost atd., které jsou důležité pro design pokusu)
2. xylémové faktory (anatomické, chemické a fyzikální faktory, které kontrolují prostupnost dřeva a cesty toku tekutin ve dřevě samotném)
3. elementární faktory (zohlednění biologického chemismu a chemismu roztoků každého jednotlivého prvku včetně analytických technik pro detekci a kvantifikaci jednotlivých prvků)

Primární výhodou použití stromů ke studování změn prostředí je délka záznamu, kterou mohou poskytnout (Helle et Schlessner, 2004; Martin et Sutherland, 1990; McCarroll et Loader, 2004; Schlessner et al., 1999; Schweingruber, 1996). Může být získána linie, která předchází klimatický nebo chemický záznam, industriální aktivitu a změny ve využití krajiny ve většině regionů. Životnost daného druhu je ovlivněna destruktivními externími faktory přirozeného i antropogenního původu stejně jako stanovištními podmínkami. Přirozené faktory mimo jiné zahrnují katastrofické události jako bouře, požáry, opakovaná defoliace a onemocnění, mezi antropogenní faktory patří těžba dřeva, odstraňování vegetace pro zemědělství nebo průmyslové znečištění (Cutter et Guyette, 1993; Schweingruber, 1996).

Velká ekologická amplituda má mnoho výhod – poskytne srovnání chemismu dřeva na široké škále stanovištních podmínek a zároveň usnadňuje kalibraci, statistické analýzy a vytváření modelů.

Formování a datování letokruhů dřevin je velmi důležité. Přesnost v datování je v dendrochronologických studiích vždy kritická. Zranění, defoliace nebo delší období sucha může kdekoliv způsobit, že chybí jeden nebo několik letokruhů nebo se naopak vlivem počasí (většinou pokud po suchém létě následuje delší období dešťů a teplý podzim) vytvoří tzv. dvojité letokruhy (Drápela et Zach, 1995; Cutter et Guyette, 1993; Šebík et Polák, 1990).

Podle Cuttera et Guyettea (1993), ale i Schweingruber (1996), mohou být jehličnaté stromy citlivější ke změnám v atmosférickém prostředí než listnaté stromy. Rychlost zvětrávání matečné horniny je kritickým faktorem v citlivosti půdy i dřevin k atmosférickým změnám. Pokud podloží, jako je rozlámaný vápenec, rychle zvětrává, může mít dominantní vliv na chemické a fyzikální vlastnosti půdy, na rozdíl od monolitického granitu, který zvětrává pomalu, takže suchá depozice a srážky mají větší vliv na půdu a chemismus stromů. I v případě, že jsou všechny ostatní věci shodné, druhy, které rostou na mělkých půdách, jsou citlivější k atmosférickým vlivům proti druhům, které rostou na hlubokých půdách.

Xylémové faktory jsou vázány na transformaci bělového dřeva na jádrové. Tyto přeměny zahrnují anatomické, fyzikální i chemické změny. Běl je většinou považována za fyziologicky aktivní a poskytující mechanickou oporu pro strom, zatímco jádro je většinou fyziologicky a mechanicky nefunkční (Cutter et Guyette, 1993). Šířka běli se mění v závislosti na druhu, kolísá i uvnitř jednoho druhu a je ovlivněna hormonálním stresem, vodním stresem a dalšími podmínkami prostředí a genetickými faktory (Cutter et Guyette, 1993; Longuetaud et al., 2006; Nadezhdina et al., 2002). I když všechny druhy nemají výrazné, zbarvené jádro, všechny druhy mají jádro fyziologické. Přeměna běli v jádro je komplikována ještě tím, že nemusí nutně proběhnout ve stejném čase po celém obvodu kmene. Z chemických změn přeměny uvedme pokles obsahu dusíku, fosforu a zásobních látek jako jsou cukry a škroby, z fyzikálních pak zvýšení hustoty a pokles vlhkosti stejně jako snížení permeability. Hlavním problémem použití letokruhů k monitorování životního prostředí je mobilita určitých prvků přes hranice letokruhů. Pohyblivost prvků je založena na mnoha faktorech např. rozpustnost, rovnovážná koncentrace běl/jádro, pH běli (Cutter et Guyette, 1993; Elhani et al., 2003; Häsänen et Huttunen, 1989; Meerts, 2002; Prohaska et al., 1998).

Detekce a stanovení obsahu minerálních prvků ve dřevě do značné míry závisí na vybrané analytické metodě, která je v dané studii použita, např. plamenová emisní spektrofotometrie, atomová absorpční spektrofotometrie, emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem, neutronová aktivační analýza atd. (Cutter et Guyette, 1993).

Celkové doporučení Cuttera et Guyetta (1993) pro použití smrku ztepilého v dendrochemických studiích, které je založeno na hodnocení permeability jádrového dřeva a jeho vlhkosti, počtu letokruhů bělového dřeva, habitu kůry, ekologické amplitudy, životnosti, geografického rozšíření a typu asimilačních orgánů, je kladné. Vhodnost vybraných dřevin pro použití v dendrochemických studiích podle těchto autorů uvádí tabulka 4.

Druh	Permeabilita jádra	Vlhkost jádra	počet letokruhů v běli	Charakter odlupování kůry	Ekologická amplituda	Dlouhověkost	Geogr. rozšíření	Typ olistění	Doporučení
Larix spp.	+	+	+	-	+	+	+	-	D
Picea spp.	+	+	0	-	+	+	+	+	D
Pseudotsuga spp.	+	+	-	-	+	+	+	+	VD
Populus spp.	-	-	-	-	+	-	+	-	ND
Robinia pseudoacacia	+	-	+	0	+	0	0	-	D
Tilia spp.	-	-	0	-	-	-	+	-	ND
Quercus spp.									
skupina bílých dubů	+	-	0	-	+	+	+	-	D
skupina červených dubů	-	-	0	-	+	-	+	-	ND

Taulka 4 Přehled doporučení vhodnosti vybraných dřevin pro dendrochemické studie (podle Cuttera et Guyetta, 1993). Znaky +, - a 0 označují kladné, záporné a neutrální hodnocení jednotlivých vlastností uvedených v tabulce vzhledem k použití dendrochemických studií u jednotlivých druhů (např. u modřínu a listnatých dřevin se ztráta asimilačních orgánů v nepříznivém období hodnotí negativně z hlediska dendrochemických analýz, protože vylučuje možnost získat informace z poměrně dlouhého období roku, ale celkově to použití dendrochemických analýz nevylučuje, jde však o něco, co je potřeba mít na paměti při interpretaci dat z dendrochemických analýz těchto druhů). Celkové hodnocení pro jednotlivé druhy pak je uváděno následujícími zkratkami: VD velmi doporučené, D doporučené s omezením, ND nedoporučené.

2.3 Hodnocení zdravotního stavu lesa

Definovat pojmy vitalita a zdravotní stav je poněkud obtížné. Různí autoři uvádí různé definice. Slovník cizích slov (Kraus, 2008) vitalitu definuje jako životaschopnost, schopnost organismů a jejich populací žít a obnovovat život v měnících se podmínkách prostředí.

Vitalita dřevin je tedy fyziologickým ukazatelem a je dána dědičně a podmínkami prostředí. Čím větší vitalita, tím větší přizpůsobivost a odolnost vnějším škodlivým činitelům. Při posuzování zdravotního stavu stromu se vitalitou charakterizuje určitá vývojová tendence posuzovaného jedince (např. výborná vitalita, narušená vitalita, odumřelý jedinec).

Zdravotní stav stromu je souhrnná charakteristika, zahrnující viditelná poškození kořenů, kmene i větví (dutiny, deformace, mechanická poškození...), napadení dřevokaznými houbami či bakteriální infekce.

2.3.1 Defoliace

Jednou z nejdůležitějších informací ze všech pozemních šetření zdravotního stavu lesa je defoliace, doplněná o barevné změny a sociální postavení stromů. Jde o relativní ztrátu asimilačního aparátu v koruně stromu v porovnání se zdravým stromem, rostoucím ve stejných porostních a stanovištních podmínkách.

Defoliace podle Knížka (2007) je nescifický symptom poškození, které je způsobené zpravidla více škodlivými faktory, které mohou působit samostatně nebo společně a přitom navíc vstupovat do vzájemných interakcí. Určit jejich podíl na rozsahu poškození a prioritu je ve většině případech velmi obtížné. Proto nelze oddělovat vliv imisí od jiných nepříznivých faktorů působících na lesy. Defoliace se vyjadřuje procenticky v intervalech po 5 %. Hodnotí se vizuálně a je proto zatížena určitou chybou, vyplývající ze subjektivního vlivu hodnotitele. Standardně se vyhodnocuje podle četnosti hodnocených stromů v jednotlivých třídách defoliace, které jsou následující: třída 0 = defoliace 0-10 %, třída 1 = defoliace 11-25 %, třída 2 = defoliace 26-60 %, třída 3 = defoliace 61-99 %, třída 4 = defoliace 100 %. Defoliace je ukazatel, který je sledován v rámci dalších metod hodnocení zdravotního stavu, ať už jde o dálkový průzkum Země, ICP Forest/Forest Focus, či jak navrhuje Čermák (2007), sledování defoliace v kombinaci s radiálním růstem ke zjištění vitality stromů.

2.3.2 Dálkový průzkum Země

V České republice se k hodnocení zdravotního stavu lesa používá především metody dálkového průzkumu Země založené na snímcích družice Landsat. Družicové snímky pocházejí z let 1984-2007. V tomto mapovém projektu se pak dají v Ústavu pro hospodářskou úpravu lesa získat mapy poškození a mortality lesních porostů, defoliace a mortality jehličnatých porostů, vývoje poškození a mortality jehličnatých porostů, ohrožení jehličnatých porostů, trendu zhoršování zdravotního stavu jehličnatých porostů.

2.3.3 ICP-Forests, Forest Focus, FutMon

Další metodou monitorování stavu lesa, pokrývající území celé republiky, je ICP-Forests a na něj navazující Forest Focus a LIFE+ FutMon.

Podstatou hodnocení stavu lesa v tomto projektu (projektech) jsou hodnocení stavu koruny (míra defoliace, barevné změny atd.), zjišťování sociálního postavení, měření dendrometrických parametrů a fytoecologické snímkování. V nepravidelných intervalech se jako doplňující šetření provádí listové, letokruhové a půdní analýzy.

K programu ICP Forests se postupně připojily téměř všechny evropské státy Česká republika přistoupila k programu ICP- Forests v roce 1986. Monitoring probíhá na základních plochách 16x16 km, které byly v roce 1991 doplněny sítí ploch 8 x 8 km a v rámci regionálních studií na plochách v síti 1x1 km (v Brdech, v Krkonoších a na Šumavě). Více informací o těchto projektech lze najít na webových stránkách Výzkumného ústavu lesního hospodářství a myslivosti v Jílovišti Strnadlech (www.vulhm.cz), který tento program zajišťuje pro Ministerstvo životního prostředí.

2.3.4 Elektrodiagnostika

Elektrodiagnostice vitality stromů se u nás věnuje Ing. V. Rajda (1997), který rovněž provedl hodnocení vitality na monitorovacích plochách ICP Forests a metody srovnal (Rajda et Fabiánek, 1999). Mezi rostoucími stromy a jejich životním prostředím přirozeně vznikají elektrické proudy, které jsou měřitelné a které jsou znakem vitality jednotlivých stromů bez ohledu na druh a stanoviště. Ve zdravých stromech dosahují fotoelektrické proudy nejvyšších hodnot, které klesají úměrně s poškozením stromu. Každý rostlinný druh má specifické jednotné elektrické proudy, bez ohledu na stanoviště, nadmořskou výšku či kontinent.

Hodnota vzrůstá se stářím a má pravidelné cykly s maximem v létě a minimem v zimě. Elektrodiagnostika je moderní, rychlá, přesná a levná metoda.

2.3.5 Tomografie

Rentgenová počítačová tomografie (Mach, 2007) zaznamenává na tenkém průřezu kmenem koeficienty pro absorpci gama záření vydávané cesiem 137, které jsou závislé na hustotě a vlhkosti materiálu. Snížená vlhkost a zúžená běl jsou znakem snížené vitality stromu.

Vedle rentgenové tomografie se používá i akustická a ultrazvuková tomografie, které jsou založeny na sledování šíření zvukového signálu, způsobeného úderem akustického kladívka do hřebu v kmeni stromu či vysílaných ultrazvukových impulsů. Tyto metody velmi dobře odhalují hnilobu ve vnitřních částech kmene.

Přístroje pro tomografii jsou velice drahé.

2.3.6 Další metody zjišťování vitality stromů

Především pro zjištění biomechanické vitality uvádí Mach (2007) celou řadu dalších přístrojů. Od impulsních kladívek (zvuk se ve zdravém dřevě šíří rychleji než v poškozeném) přes fraktometr měřící pevnost vzorku dřeva, ke stromovému radaru, který skenuje vnitřek kmene stromu i rozložení kořenů pod zemí, či k měření změn elektrického odporu v kambialní a lýkové vrstvě. A samozřejmě nesmíme zapomínat na letokruhové analýzy, kde je možné určit pokles vitality z polygonu šířek letokruhů.

2.3.7 Srovnání jednotlivých metod

Všechny metody mají samozřejmě své výhody a nevýhody, které se ponejvíce týkají finanční náročnosti, pracnosti a kvality získaných dat.

Metody založené na kvalifikovaném odborném odhadu se potýkají s problémem přesnosti získaných dat, protože sebelépe kvalifikovaný odborník přenáší do výsledků svůj subjektivní vliv, přestože se pravidelně pořádají školení a kurzy, které mají pomoci sjednotit „oko“ hodnotících odborníků, ať už jde o míru defoliace či změny barevných odstínů asimilačních orgánů.

Dálkový průzkum Země poskytuje plošná data o vývoji porostů, která sahají do roku 1984, což z hlediska délky života stromu není dlouhá doba. Tato metoda je jen obtížně

využitelná ke zjištění zdravotního stavu konkrétního jedince (v praxi je možná pro soliterně rostoucí stromy).

Rentgenová tomografie je velice finančně náročná a její výsledek, který je omezen pouze na tři stupně (strom vitální/se sníženou vitalitou/nevitální) není pro plošné využití úměrný finančním nákladům.

Elektrodiagnostika se jeví jako velice platná metoda ke zjištění aktuální vitality stromu (levná, rychlá a přinášející výsledky v dobré kvalitě). Bohužel se z ní, stejně jako z většiny ostatních metod včetně použití akustických kladívek, stromových rentgenů apod., nedovíme nic o vývoji vitality během života stromu.

O historickém vývoji zdravotního stavu porostu nám přináší omezené informace DPZ, jak již bylo zmíněno výše, a pro zjišťování vývoje u konkrétních jednotlivců se dají získat informace z letokruhových analýz. Dosud asi nejběžnější u nás bylo měření polygonu šířek letokruhů. Jde o tradiční metodu, která je časově náročnější s tím, že kvalitní moderní přístroje vyžadují i jisté finanční prostředky. Předpokladem je, že čím horší zdravotní stav a podmínky, tím užší letokruhy (případně i jejich absence) a naopak.

Jedním z cílů našeho výzkumu je provést analýzy izotopového signálu ^{13}C a ověřit, zda je jeho dlouhodobý průběh ovlivněn stresem. V případě pozitivních výsledků bychom chtěli zvážit možnosti a zabývat se přípravou metodiky pro využití izotopového signálu ^{13}C v hodnocení zdravotního stavu lesa. Jde o metodu velmi pracnou a finančně podstatně náročnější než je měření šířek letokruhů, avšak tyto náklady by mohly být vyváženy tím, že by izotopový signál mohl mít vysokou vypovídací hodnotu především z hlediska historického vývoje.

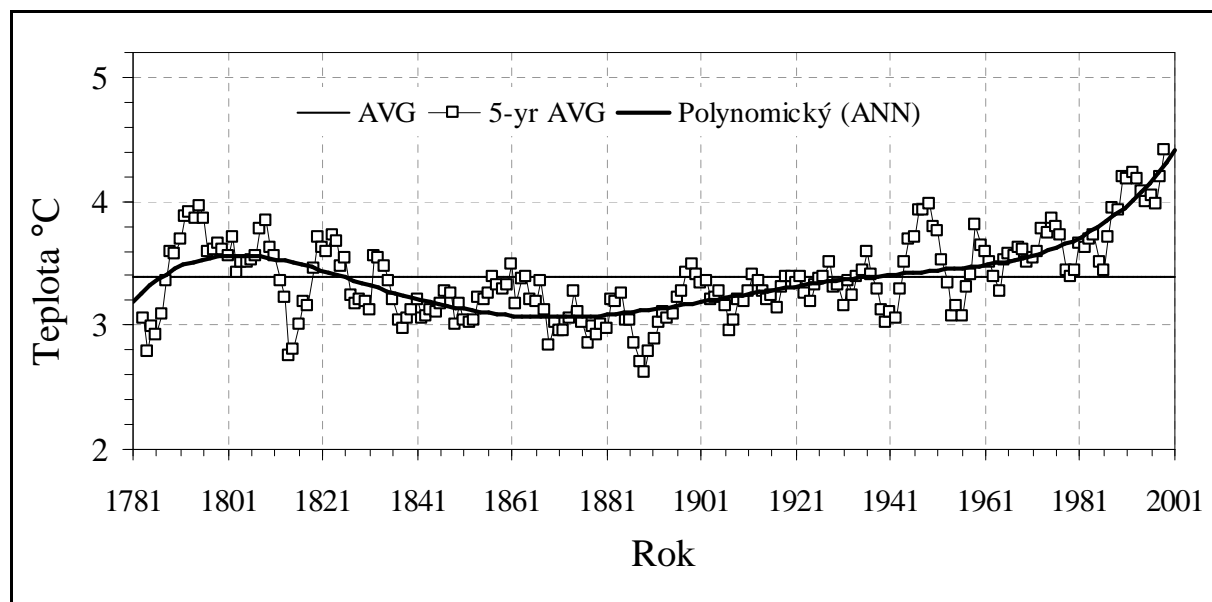
3 Metodika

3.1 Popis studijní oblasti

3.1.1 Geologie a klimatické podmínky

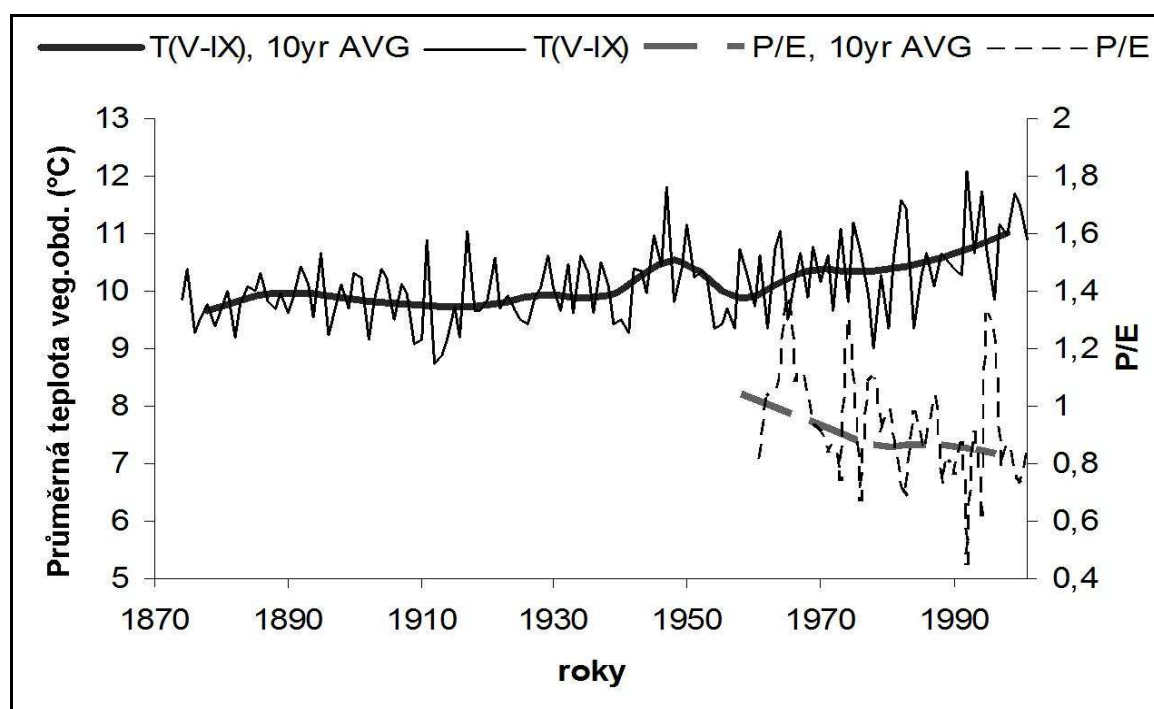
Čertovo i Plešné jezero jsou jezera ledovcového původu. Čertovo jezero je ve výšce 1030 m n. m. o rozloze 10,31 ha. Jeho hloubka dosahuje až 36 m. Nad jezerem se tyčí Jezerní hora do výše 1343 m. Čertovo jezero patří do povodí Dunaje (Tesař, 2003). Povodí Čertova jezera patří k Šumavskému moldanubiku, konkrétně k Železnorudské hornatině, a to do jednotky Královského hvozdu. Podle geomorfologického členění území České republiky jde o oblast označenou IB-1B-2. Jezerní hora je zároveň nejvyšší horou Královského hvozdu. Podloží tvoří biotiticko-muskovitické svory s mocnými vložkami kvarcitů, hlavními minerály jsou křemen, muskovit, biotit, granát a v menším množství živec (Kočárek, 2003). Povodí Čertova jezera se rozkládá na ploše 0,857 km² (Tesař, 2003).

Půdy jsou zde zastoupeny kambisoly (58 %), podzoly (21 %) a leptosoly (17 %) (Kopáček et al., 2002^b); na podmáčených stanovištích jsou gleje (zhruba 3 %) a na skalnatých částech svahů a volných suťových polích rankery, které představují asi 1 % celkové plochy povodí (Svoboda et al., 2006, Cittadella [online]).



Graf 1 Rekonstruovaný vývoj průměrné roční teploty vzduchu na Čertově jezeře (Kettle et al. 2003). AVG průměrná teplota v období 1781-2001, 5-yr AVG je klouzavý pětiletý průměr teplot a polynomický ANN je kalkulovaný trend teploty na povodí.

Jezerní hora leží na Šumavě v oblasti mírného vlhkého klimatu. Kettle et al. (2003) detekoval zvyšování teploty v této oblasti po roce 1960 (graf 1). Vývoj teploty byl v povodí Čertova jezera rekonstruován pomocí místního měření a dlouhodobých trendů pro stanice Churáňov (Šumava) a Hohenpeissenberg (Německo). Průměrná roční teplota zde dosahuje 3,4 °C a průměrný roční úhrn srážek činí 1228 mm. Důležitým faktorem pro růst rostlin je především rozdělení srážek během roku. Na grafu 2 je patrné, jak se na Šumavě v posledních letech mění dostupnost vody pro rostliny během vegetační sezóny charakterizovaná jako poměr srážek a výparu (Kettle et al., 2003; Šantrůčková et al., 2007).



Graf 2 Změny teploty a dostupnosti vody (poměr P/E) během vegetačního období (květen až září) na Šumavě (Kettle et al., 2003 a Šantrůčková et al., 2007). T (V-IX) 10-yr AVG desetiletý klouzavý průměr teplot vegetačního období, T (V-IX) teplota ve vegetačním období od května do září, P/E 10-yr AVG desetiletý klouzavý průměr poměru srážek a výparu, P/E poměr srážek a výparu.

Plešné jezero leží v nadmořské výšce 1090 m ve svahu Plechého (1378 m). Rozloha jezera je 7,63 ha a největší hloubka v jezeře jen málo přesahuje 18 m. Plocha povodí je 0,667 km². Voda z jezera odtéká do Vltavy (Tesař, 2003). Plešská hornatina, kam toto území patří, tvoří centrální část Trojmezenské hornatiny a Plechý je nejvyšším vrcholem této hornatiny na území České republiky. Podle geomorfologického členění ČR jde o oblast IB-1C. Moldanubický pluton, do kterého masiv Plechého patří, tvoří pásmo vyvřelých hornin, ve

kterém převládá středně zrnitý porfyrický biotitický granodiorit weinsbergského typu a světlá dvojslídná žula až adamellit (Kočárek, 2003).

Podloží povodí Plešného jezera je tvořeno žulou (Kopáček et al., 2001^a), která na Plechém vytváří skalní útvary. Půda zde je velice mělká a chudá na živiny. Podle Kopáčka je zde půda tvořena leptosoly (38%), podzoly (29%) a kambisoly (27%); zbytek povodí je skalnatý, zamokřené plochy představují zhruba 1% (Kopáček et al., 2002^c). Na Plechém je možné najít i do nedávna neznámé půdy pohřbené a fosilní (Kočárek, 2003), které se vyskytují jen tam, kde byla minimální eroze. Jde především o pohřbené podzoly, pod nimiž se někde zachovaly i pohřbené glejové vrstvy. Vytvořily se převážně v pleistocénu. Pod vrstvami kvartéru jsou v některých místech zachovány zbytky starého zvětrávání.

V oblasti kolem Plešného jezera panují jedny z nejvíce extrémních povětrnostních podmínek v naší republice. Průměrná roční teplota zde dosahuje 3°C, ročně spadne 1400 až 1700 mm srážek a sněhová pokrývka dosahuje až 2,5 metrů.

3.1.2 Vegetace

Samotné povodí Čertova jezera (0,857 km²) tvoří především smrkový porost pralesovitého charakteru. Porost na náhorní plošině se odhaduje zhruba jako 300 letý (klimaxová smrčina), ve stěně pak smrkové porosty různého původu mladší než 250 let. Do výše 1250 m n.m. místy převažuje buk a můžeme zde nalézt fragmenty přirozené acidofilní třtinové bučiny (*Calamagrostio villosae-Fagetum*). Zhruba do stejné výšky zde roste jedle. Vlhčí místa v karu Čertova jezera porůstají fragmenty vysokobylinných papratkových smrčín (*Athyrio alpestris-Piceetum*), chudší stanoviště v karu a svahy i plochý hřbet Jezerní hory pokrývají klimaxové třtinové smrčiny (*Calamagrostio villosae-Piceetum*) s dominantní třtinou chloupkatou (Cittadella [online]). Podle lesnické typologie patří 81 % plochy povodí do 7. (buko-smrkového) lesního vegetačního stupně a 19 % pak patří k 8. (smrkovému) LVS.

Podle Matějky (2009) jsou na povodí Čertova jezera zastoupeny tyto soubory lesních typů včetně procentuálního vyjádření jejich zastoupení na povodí:

7K – 4,36 % *Fageto-Piceetum acidophilum* - kyselá buková smrčina

7N – 8,89 % *Fageto-Piceetum lapidosum acidophilum* - kamenitá kyselá buková smrčina

7V – 9,68 % *Fageto-Piceetum acerosum humidum* - vlhká buková smrčina

7Y – 57,37 % *Fageto-Piceetum saxatilis* - skeletová buková smrčina

7Z – 1,03 % *Fageto-Piceetum humilis* - zakrslá buková smrčina

8K – 10,12 % *Piceetum acidophilum* - kyselá smrčina

8N – 0,07 % *Piceetum lapidosum acidophilum* - kamenitá kyselá smrčina

8R – 0,38 % *Piceetum turfosum (montanum)* - vrchovištní smrčina

8Y – 1,27 % *Piceetum saxatile* - skeletová smrčina

8Z – 6,83 % *Sorbeto-Piceetum (humilis)* - jeřábová smrčina (zakrslá)

Matějka (2009) rovněž vyhodnocoval letecké snímky porostu na povodí s následujícími výsledky: Smrk je doprovázen jedlí (jejíž odhad biomasy byl počítán jako biomasa smrku, protože na základě zpracovávaných leteckých snímků není odlišitelná od smrku) a bukem, střední průměr korun stromů pro smrk se pohybuje kolem 4,9 m, průměrná výška stromů je mezi 20,9 a 25,1 m, hustota stromů je okolo 200 ks/ha (všechny tyto údaje jsou pouze pro smrk); porostní biomasa byla odhadnuta ve výši 156 t/ha (smrk) a 17 t/ha (buk).

Na žulové skalní stěně spadající z vrcholu Plechého k jezeru je horská smrčina (*Piceion excelsae*) s jeřábem a javorem, místy travinná společenstva, na několika plochách také porosty kleče na sutích a podmáčené smrčiny. V nejspodnější části se ke smrku přidává také jedle a buk, které ovšem se stoupající nadmořskou výškou mizí (Cittadella [online]). Podle Svobody et al. (2006) v podrostu převažuje borůvka (*Vaccinium myrtillus*) následovaná papratkou horskou (*Athyrium distentifolium*) a třtinou chloupkatou (*Calamagrostis villosa*). Z hlediska lesnické typologie patří do 7. LVS 12 % plochy povodí a 88 % plochy patří do 8.LVS.

Uváděné zastoupení jednotlivých souborů lesních typů podle Matějky (2009):

6V – 0,02 % *Piceeto-Fagetum fraxinosum humidum* - vlhká smrková bučina

7K – 1,17 % *Fageto-Piceetum acidophilum* - kyselá buková smrčina

7N – 9,29 % *Fageto-Piceetum lapidosum acidophilum* - kamenitá kyselá buková smrčina

7V – 0,51 % *Fageto-Piceetum acerosum humidum* - vlhká buková smrčina

7Y – 0,90 % *Fageto-Piceetum saxatilis* - skeletová buková smrčina

8N – 25,26 % *Piceetum lapidosum acidophilum* - kamenitá kyselá smrčina

8V – 1,59 % *Acereto-Piceetum humidum* - podmáčená klenová smrčina

8Y – 45,03 % *Piceetum saxatile* - skeletová smrčina

8Z – 16,24 % *Sorbeto-Piceetum (humilis)* - jeřábová smrčina (zakrslá)

Matějka (2009) udává charakteristiky porostu na povodí Plešného jezera následovně: smrk je silně dominantním druhem dřeviny, zastoupení ostatních druhů ve stromovém patře je z hlediska odhadu porostní biomasy zanedbatelné, střední průměr korun stromů se pohybuje kolem 4,5 m, rozpětí průměrné výšky stromů 19,6 až 30,2 m v závislosti na nadmořské výšce, počet stromů kolem 154 na hektar a průměrná biomasa porostu 197 t/ha.

3.1.3 Historie lesa a antropického využívání

Celé území Šumavy přibližně do poloviny 18. století pokrývaly neporušené pralesy, které byly součástí pomezního hvozdů. Zásadní význam pro utváření dnešních lesních a nelesních ekosystémů Šumavy měla až novější kolonizace, spojená s rozvojem sklářství, dřevařství a pastevectví (17.–18. stol.), později i papírenský průmysl. Dřevařská výroba se stala nejdůležitějším odvětvím hospodářské činnosti na území vrcholové Šumavy (Kozák, 2003). V 18. století je výrazně zvýšena poptávka po dřevě, odhaduje se, že pro výrobu 1 l tekutého skla bylo třeba zhruba 1 m³ dřeva (Andreska, 2003). Sklářny potřebovaly jednak palivové dříví pro vytápění pecí, tak i popel pro výrobu potaše (jako nezbytné suroviny k výrobě skla). Popel se často získával pálením velkých stromů, které by bylo obtížné kácet, přímo na místě. Výrazně se zmenšily plochy pralesů, vznikaly nové dřevorubecké osady a s tím i nové typy stanovišť, do té doby neexistující. V oblasti Železnorudska probíhalo především pálení dřevěného uhlí v milířích (Landa, 2003). Polena a klády určené k transportu se dopravovaly k vodním nádržím, jako byly Roklanské a Plešné jezero, kde se nechávaly do doby, než byl dostatek vody (zpravidla do období jarního tání). Začíná se projevovat místní narušení přírodní rovnováhy (preferencie smrku v umělých výsadbách, pokračující pastva na rozsáhlých pasekách, lesní kalamity v 70. letech 19. století aj.). Veselý (1994) uvádí, že v oblastech Čertova a Černého jezera docházelo k pastvě dobytka a těžbě dřeva ještě na konci 19. století. Voda z Čertova jezera se v 19. století a na začátku 20. století využívala pro pohon hamrů v Železné Rudě. Z tohoto důvodu byla prokopána čelní moréna a bylo vybudováno výpustné zařízení, jehož rekonstrukce proběhla v 80. letech 20. století (Tesař, 2003).

V roce 1877 byla otevřena železniční trať z Plzně přes Klatovy do Železné Rudy a z oblasti Čertova a Černého jezera se stala vyhledávaná lokalita. Pro turisty se stavělo zázemí (např. u Černého jezera byl nejprve jednoduchý přístřešek zvaný Gloriet, později zde vznikla restaurace, která byla následně přebudována na ubytovnu). V roce 1922 byl plzeňským Ski klubem postaven na Jezerní hoře dřevěný srub s celoročním provozem, který poskytoval turistům ubytování a stravu a byl turisty hojně využíván zvláště při dálkových hřebenových túrách. Tento srub po deseti letech provozu vyhořel (Moser, 2003).

Již rok po otevření železniční tratě z Plzně do Železné Rudy vychází nejstarší český průvodce po Šumavě (Cimrhanzl, 1878), ve kterém je popsáno hned několik vycházek k Černému jezeru a na Jezerní horu. Mimo jiné o výletu na Jezerní Stěnu a k Černému jezeru píše: „...zde leží nahromaděné balvány skal od vrcholy hory až dolů do údolí (...) tyto

zříceniny skal mocnou vrstvou svou pokrývají prastarý pás prsti a hlíny (...) cesta teprv v době nejnovější touto divokou pustinou udělaná (...) přivádí nás u pohraniční čáry zemské na zakrsalými smrčínami a klečí porostlou planinku skalnatou, první to homoly Jezerní hory, na níž se nalézají pro turisty vystavená věž. Pohled se stěny Jezerní hory je velmi imposantní.(...) Jiná cesta vede nás od odtoku jezera na jih rovným směrem až do mýtiny (...) a odtud po strmé stráni dolů udělanou cestou k Čertovu jezeru, které opět lesem jsouc zakryto nás nemálo překvapuje.“ Ještě si dovolím kousek popisu cesty k Černému jezeru, tentokrát ze stanice Ostrohorské: „*Podél cesty lesním kvítím olemované stojí obrovské jedle a mezi nimi mladé svěží boučky, tu zase balvány skal bohaté na granáty kyprým borůvkám pokryté (...). Staleté stromy zde spráchnivějí a dávají takto mrvu budoucímu pokolení!*“ Cimrhanzlův barvitý popis nám snadno pomůže udělat si představu o této lokalitě na konci 19. století a to i co se druhového složení porostu týče, stejně jako dokládá, že turistům cesty v relativně nedotčeném pralesovitém území klestily ve druhé polovině 19. století sekery a pily.

Ochrana Čertova jezera začala v roce 1911, roku 1933 byla vyhlášena Národní přírodní rezervace Černé a Čertovo jezero, která skýtá ochranu těmto jezerům.

Oblast v okolí Plechého a Trojmezne hory si uchovala pralesovitý charakter především díky své nepřístupnosti. Ve svahu nad Plešným jezerem se nikdy nekácelo, také do ostatních částí dnešního pralesa chodili lidé pro dřevo jen výjimečně. Pomalu rostlé stromy s pevným dřevem se využívaly k výrobě lodních stožárů. Až na úzký pruh lesa na samotném hřebeni zde zřejmě nikdy nevznikla holina (Bláha, 2009).

V 90. letech 18. století, byla zbudována hráz se stavidly a jezerní voda byla využívána pro plavení dřeva Schwarzenberským kanálem. Touto úpravou se zvedla hladina jezera zhruba o 3 metry proti původnímu stavu (Tesař, 2003). Na přelomu tisíciletí došlo k opravě hráze a zčásti jí byl navrácen přírodní ráz.

I tato oblast se otevřela turistům a od r. 1911 byla u Plešného jezera chata, poskytující 14 lůžek. Protože však kapacitně nedostačovala, byla přestavěna a do války nabízela ubytování až pro 46 osob (Moser, 2003). Tato chata později sloužila Pohraniční strážní a to do r.1953 a v roce 1989 byla odstraněna (Tesař, 2003). Na významných vrcholech Šumavy se stavěly rozhledny, přičemž jednoduchá dřevěná rozhledna byla vystavěna i na Plechém (Moser, 2003). Dnes se ve svahu nad jezerem vypíná 14,5 m vysoký obelisk - pomník básníka a spisovatele Adalberta Stiftera, který zde byl vystavěn mezi rokem 1876 a 1877 a na jehož bocích jsou citáty z básníkovy díla (Tesař, 2003).

Tento unikátní komplex horského pralesa, ledovcového jezera a kamenného moře je chráněn nejprve tzv. silvestrovským výnosem z 31.12. 1933, dnes jako první zóna Národního parku Šumava (status NP Šumava je upraven zákonem č. 114/1991 Sb.) o rozloze 598,94 hektaru.

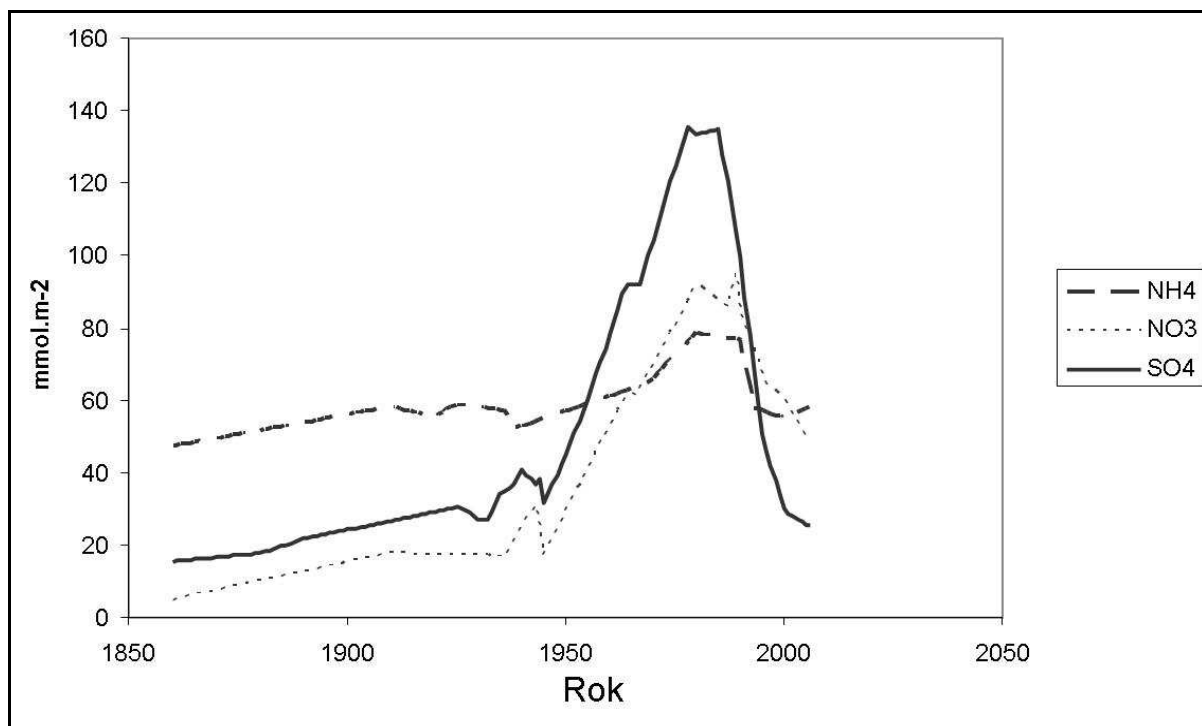
3.1.4 Acidifikace

S průmyslovou revolucí začalo stoupat znečištění ovzduší nejen na dnešním území naší republiky. Od 50. let minulého století se začalo velmi prudce zvyšovat imisní zatížení (graf 3). Nejvyšší znečištění ovzduší na území celé České republiky, tedy i na povodí obou jezer, odkud byly odebírány vzorky, bylo v době 80. a 90. let minulého století. Od 90. let se situace zlepšuje a to rychleji, než jak předpovídaly některé odhady (např. modelované hodnoty Majera et al., 2003 vs. publikovaný text Kopáček et Hrušky, 2010).

Podloží Šumavy je tvořeno kyselými horninami a spolu s kyselým humusem vzniklým opadem ze smrkových monokultur se ještě zvyšoval nepříznivý vliv imisní zátěže - stav půd viz tabulka 5.

Oblast Plešného jezera byla v minulosti zatížena nižší atmosférickou depozicí než povodí Čertova jezera, a to pravděpodobně díky své geografické poloze (Kopáček et Hruška, 2010). V oblasti Plešného jezera převládá jižní, jihozápadní a západní proudění větru (představující ročně 59 % a až 66 % v zimním období). Nejvíce emisí síry se pohybuje ve vzdušných masách pohybujících se od severu (severozápadu až k severovýchodu), a to převážně z českých a polských zdrojů znečištění, zatímco směrem od jihu a jihozápadu převažují v polutantech sloučeniny dusíku převážně z německé strany. Obě povodí se nachází v blízkosti hranic, ale poloha Plešného při hranici s Rakouskem (dále od Německa) je zřejmě vysvětlením pro nižší atmosférickou depozici na tomto povodí.

Kopáček et Hruška (2010) ve své práci uvádí, že celková depozice síry (SO_2 , SO_4^{2-}) dosáhla za období 1850-2010 na povodí Plešného jezera hodnot 2,1 t/ha, zatímco pro povodí Čertova jezera 2,5 t/ha. Pro dusík v oxidované formě ($\text{N}_{\text{ox}} = \text{NO}_x$, NO_3^-) uvádí autoři 0,80 t/ha pro povodí Čertova jezera a 0,79 t/ha pro povodí Plešného jezera a pro redukovaný dusík ($\text{N}_{\text{red}} = \text{NH}_3$, NH_4^+) 1,24 a 1,16 t/ha pro povodí Čertova resp. Plešného jezera za stejné časové období.

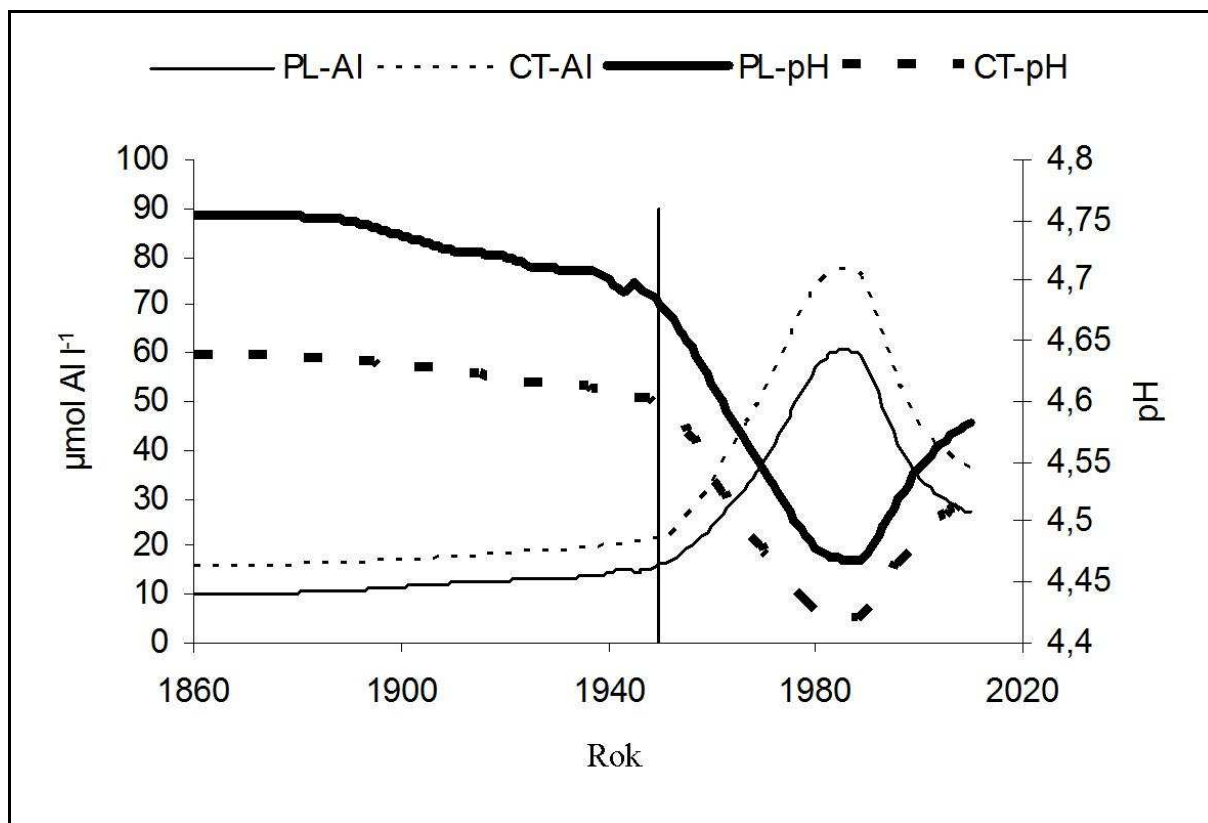


Graf 3 Průběh atmosferické depozice na území České republiky podle Kopáčka et al. 2001^b.

	Povodí Čertova jezera			Povodí Plešného jezera		
	opadanka	vrstva humusu	minerální vrstva	opadank a	vrstva humusu	minerální vrstva
pH _{H2O}	3,57	3,42	4,3	3,57	3,48	3,7
Al (mmol/kg)	300	1500	2,7	200	1200	1,8
Fe (mmol/kg)	102	241	569	49,1	86	114
Mn (mmol/kg)	3,2	3,6	4,0	2,3	2,2	2,3
Mg (mmol/kg)	28	56	146	18	27,8	41
C/N (molární poměr)	25,6	25,3	26,7	29,1	25,0	24,7
KVK (mmol _C /kg)	251	254		258	174	
Al _{exchan} (mmol _C /kg)	45	115	44	33	77	83
Mg _{exchan} (mmol _C /kg)	19	7,9	1,8	16,4	8,3	4,4

Tabulka 5 Průměrné složení jednotlivých půdních vrstev v povodí Čertova a Plešného jezera. Upraveno podle Kopáčka et al. 2002^b.

Změny pH a obsahu hliníku v půdě podle modelu MAGIC (Majer et al., 2003) zobrazuje graf 4. Podle tohoto modelu došlo po roce 1950 k prudkému poklesu hodnot pH. Nejnižších hodnot pH dosahují křivky pro obě povodí po roce 1980. Zde dochází k obratu ve vývoji a hodnoty pH opět začínají růst.



Graf 4 Změny pH a obsahu hliníku v půdním roztoku v povodí Plešného (PL) a Čertova (CT) jezera. Svislá čára označuje rok 1950. Převzato z Majera et al. (2003). PL-Al obsah hliníku v půdním roztoku v povodí Plešného jezera, CT-Al obsah hliníku v půdním roztoku v povodí Čertova jezera, PL-pH hodnoty pH pro povodí Plešného jezera, CT-pH hodnoty pH pro povodí Čertova jezera. Hodnoty byly modelovány pomocí modelu MAGIC 7.

rok	1993	1994	1999	2002	2004	2006	2007
% defoliace	44,0	42,3	40,2	40,3	44,0	47,7	66,7

Tabulka 6 Průměrná defoliace smrku ztepilého na ploše v oblasti mezi Trojmeznou a Plechým podle Matějky (2008).

Se snižováním pH půdy dochází k vyplavování živin a zároveň se zvyšuje aktivita pro rostliny toxického hliníku. Zhoršování zdravotního stavu stromů se projevilo defoliací dřevin v porostu. Průběh defoliace smrku ztepilého v oblasti Trojmezí v letech 1993-2007 je zachycen v tabulce 6. Defoliace měla po roce 2000 vzestupnou tendenci a v dnešní době stojí na Trojmezí převážně mrtvý les s hojným přirozeným zmlazením. Ztráta jehlic měla v povodí Plešného jezera pozitivní vliv ve snížení atmosferické depozice, protože se významně zmenšila korunová plocha porostu, čímž se výrazně snížila horizontální depozice (Kopáček et Hruška, 2010).

3.2 Materiál a metody

Analyzovaným materiálem byly ve všech případech letokruhy smrku ztepilého (*Picea abies* (L.) Karst). Materiál pro analýzy byl odebrán v povodí Čertova a Plešného jezera přírůstovým nebozrzem ze zdravých jedinců bez viditelného poškození (korunové zlomy, hniloba aj.) ve výšce 1,3 m nad zemí. Vzorníkové stromy byly starší 150-ti let.

Zpracování vzorků proběhlo ve spolupráci s Přírodovědeckou fakultou Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích a s Přírodovědeckou fakultou Univerzity Karlovy v Praze.

3.2.1 Izotopové analýzy $\Delta^{13}\text{C}$

3.2.1.1 Odběr materiálu:

- **povodí Čertova jezera**
 - a) **základní analýza** – pro základní analýzu byly na Jezerní hoře odebrány vývrty ze dvou smrků označených CT I a CT II, a to po dvou vývrtech pro každý strom, kde analýza izotopového signálu proběhla po jednotlivých letokruzích. Vývrty byly odebrány ze dvou nejvhodnějších stran pro odběr (vzhledem k extrémním podmínkám, ve kterých rostou stromy ve stěně Jezerní hory) a byly vedeny do středu stromu. Pro vyloučení juvenilního efektu neprobíhaly analýzy letokruhů vzniklých v prvních 40ti letech života stromu.
 - b) **testování vlivu světové strany** – testování, zda signál ^{13}C závisí na orientaci ke světové straně, ze které je materiál odebrán. Pro tento účel byly na Jezerní hoře odebrány vzorky tří stromů CT III, CT IV a CT V, z každého stromu po čtyřech vývrtech (z každé světové strany po jednom vývrту). Přehled stromů a označení pro body a) i b) je v tabulce 7.
 - c) **vliv nadmořské výšky** byl testován odběrem vzorků na pěti plochách na transektu Jezerní horou. Jednotlivé plochy na transektu byly označeny se stoupající nadmořskou výškou jako CT 1 až CT 5. Na každé ploše byly odebrány vzorky ze 4 stromů. Jednotlivé stromy byly označeny číselným kódem. Další podrobnosti ke stromům, z nichž byly odebírány vzorky, a jejich umístění jsou v tabulce 8 a na obrázku 6. Vývrty v případě stromů na transektu nebyly vrtány až do středu kmene. Analýza probíhala ze směsného vzorku z 10 vývrťů na jeden strom a to tak, že v posledních pěti letech probíhala analýza

v jednotlivých letokruzích a u letokruhů starších 5-ti let byl směsný vzorek tvořen pětiletými bločky letokruhů.

- d) testování změn izotopového poměru ^{13}C v současnosti – z ploch** rozmístěných na transektu Jezerní horou v povodí Čertova jezera byly odebrány vzorky ze stejných stromů po dalších 4 letech, tedy na podzim 2011. Opět šlo o směsné vzorky pro každý strom, které se analyzovaly po jednotlivých letokruzích pro období 2008 až 2011.

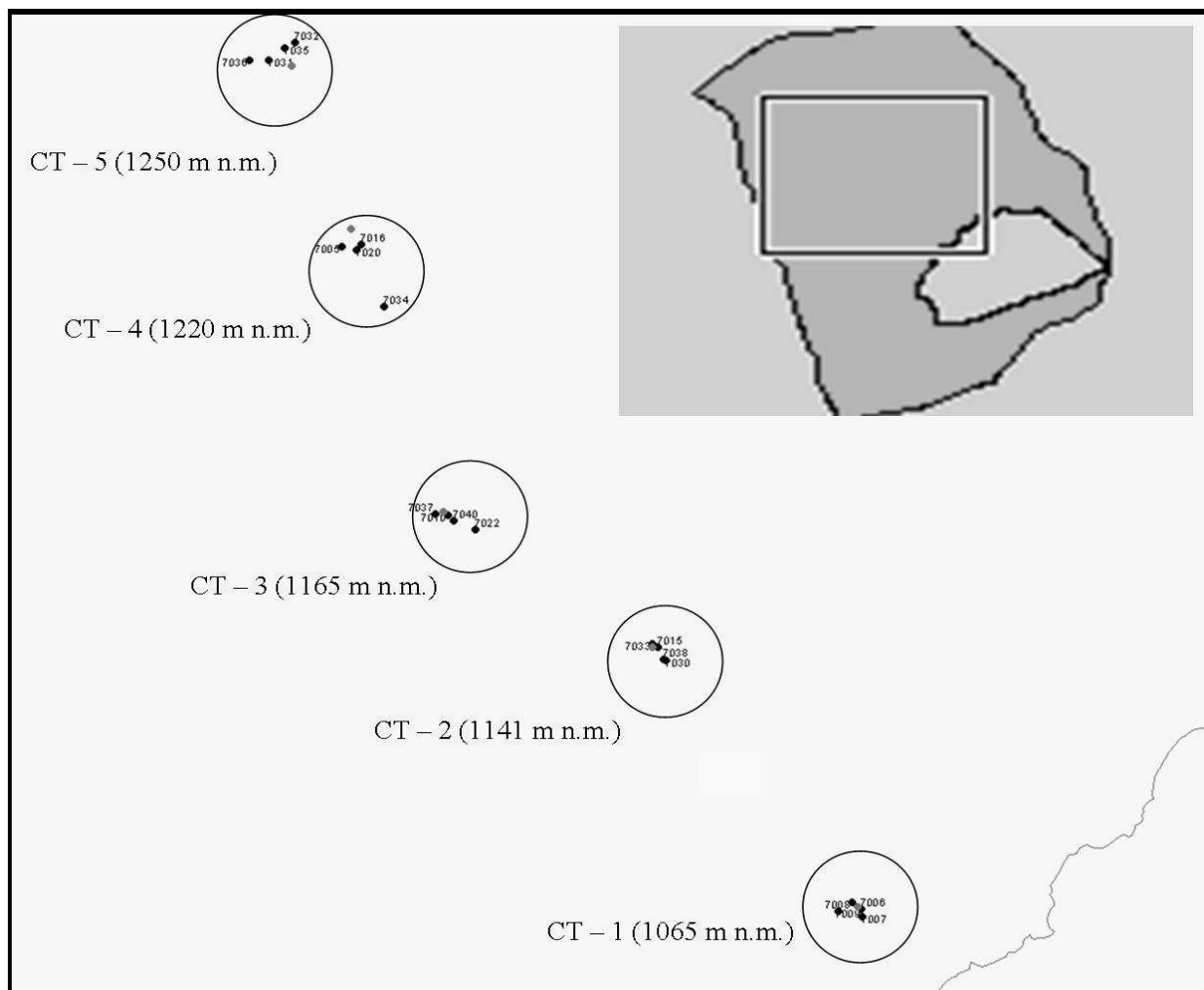
strom	pozice	stav stromu	odběr	pracovní označení vývrtu + orientace ke sv. stranám	zpracování
CT I	vrcholové partie Jezerní hory	živý, stojící	2005	JH II A – jihovýchod	po jednotlivých letokruzích
				JH II B – severozápad	po jednotlivých letokruzích
CT II	vrcholové partie Jezerní hory	živý, stojící	2005	JH I A – jihovýchod	po jednotlivých letokruzích
				JH I B – severozápad	po jednotlivých letokruzích
CT III	vrcholové partie Jezerní hory	živý, stojící	2008	JH F S – sever	v pětiletých bločcích letokruhů
				JH F J – jih	v pětiletých bločcích letokruhů
				JH F V – východ	v pětiletých bločcích letokruhů
				JH F Z – západ	v pětiletých bločcích letokruhů
CT IV	vrcholové partie Jezerní hory	živý, stojící	2008	JH G S – sever	v pětiletých bločcích letokruhů
				JH G J – jih	v pětiletých bločcích letokruhů
				JH G V – východ	v pětiletých bločcích letokruhů
				JH G Z – západ	v pětiletých bločcích letokruhů
CT V	vrcholové partie Jezerní hory	živý, stojící	2008	JH H S – sever	v pětiletých bločcích letokruhů
				JH H J – jih	v pětiletých bločcích letokruhů
				JH H V – východ	v pětiletých bločcích letokruhů
				JH H Z – západ	v pětiletých bločcích letokruhů

Tabulka 7 Přehled odebíraných vzorků z vrcholových partií Jezerní hory.

Plocha (nadm. výška)	Strom ozn.	Nadm. výška	Průměr v $d_{1,3}$ (cm)	odběr rok	Zpracování
CT 1 (1065)	7006	1062	50,4	2007	Po jednotlivých letokruzích 2007-2003, dále v 5-ti letých bločcích. Směsný vzorek z 10 vývrtů.
	7007	1078	62,8	2007	Po jednotlivých letokruzích 2007-2003, dále v 5-ti letých bločcích. Směsný vzorek z 10 vývrtů.
	7008	1072	67,0	2007	Po jednotlivých letokruzích 2007-2003, dále v 5-ti letých bločcích. Směsný vzorek z 10 vývrtů.
	7009	1077	66,2	2007	Po jednotlivých letokruzích 2007-2003, dále v 5-ti letých bločcích. Směsný vzorek z 10 vývrtů.
CT 2 (1141)	7015	1139	69,0	2007	Po jednotlivých letokruzích 2007-2003, dále v 5-ti letých bločcích. Směsný vzorek z 10 vývrtů.
	7030	1139	47,6	2007	Po jednotlivých letokruzích 2007-2003, dále v 5-ti letých bločcích. Směsný vzorek z 10 vývrtů.
	7033	1138	47,0	2007	Po jednotlivých letokruzích 2007-2003, dále v 5-ti letých bločcích. Směsný vzorek z 10 vývrtů.
	7038	1141	49,4	2007	Po jednotlivých letokruzích 2007-2003, dále v 5-ti letých bločcích. Směsný vzorek z 10 vývrtů.
CT 3	7010	1175	50,0	2007	Po jednotlivých letokruzích 2007-2003, dále v 5-ti letých bločcích. Směsný vzorek z 10 vývrtů.

(1165)	7022	1160	58,9	2007	Po jednotlivých letokruzích 2007-2003, dále v 5-ti letých bločcích. Směsný vzorek z 10 vývrťů.
	7037	1179	60,1	2007	Po jednotlivých letokruzích 2007-2003, dále v 5-ti letých bločcích. Směsný vzorek z 10 vývrťů.
	7040	1169	54,4	2007	Po jednotlivých letokruzích 2007-2003, dále v 5-ti letých bločcích. Směsný vzorek z 10 vývrťů.
CT 4	7005	1209	45,3	2007	Po jednotlivých letokruzích 2007-2003, dále v 5-ti letých bločcích. Směsný vzorek z 10 vývrťů.
(1220)	7016	1218	59,5	2007	Po jednotlivých letokruzích 2007-2003, dále v 5-ti letých bločcích. Směsný vzorek z 10 vývrťů.
	7020	1220	49,9	2007	Po jednotlivých letokruzích 2007-2003, dále v 5-ti letých bločcích. Směsný vzorek z 10 vývrťů.
	7034	1225	66,2	2007	Po jednotlivých letokruzích 2007-2003, dále v 5-ti letých bločcích. Směsný vzorek z 10 vývrťů.
CT 5	7031	1241	64,6	2007	Po jednotlivých letokruzích 2007-2003, dále v 5-ti letých bločcích. Směsný vzorek z 10 vývrťů.
(1250)	7032	1249	53,3	2007	Po jednotlivých letokruzích 2007-2003, dále v 5-ti letých bločcích. Směsný vzorek z 10 vývrťů.
	7035	1248	63,3	2007	Po jednotlivých letokruzích 2007-2003, dále v 5-ti letých bločcích. Směsný vzorek z 10 vývrťů.
	7036	1252	55,2	2007	Po jednotlivých letokruzích 2007-2003, dále v 5-ti letých bločcích. Směsný vzorek z 10 vývrťů.

Tabulka 8 Přehled odebíraných vzorků na transektu Jezerní horou.



Obr. 5 Orientační mapa rozmístění ploch a stromů na transektu. Vpravo nahoře umístění transektu v rámci povodí Čertova jezera. Označení jednotlivých ploch spolu s uvedením nadmořské výšky a vyznačení jednotlivých stromů na plochách transektu.

- **povodí Plešného jezera**

Vzorky zde byly odebírány k testování vlivu nadmořské výšky a pro srovnání signálu ¹³C na obou povodích. V povodí Plešného jezera byly odebrány vzorky ze tří smrků PL I, PL II a PL VI stojících blízko vrcholu Plechého a vzorky z dalších tří smrků PL III, PL IV a PL V, které byly pokáceny z důvodu zajištění bezpečnosti cesty na úrovni Plešného jezera (v době odběru vzorků šlo o stromy čerstvě poražené, dřevo jednotlivých vývrťů nevykazovalo barevné odchylky, které by mohly indikovat hnilobu). Analýzy v těchto případech probíhaly v dvouletém intervalu v době předpokládané nejvyšší atmosferické depozice a dále v pětiletých intervalech (2.pol.19.stol do roku 1960) - přehled v tabulce 9.

strom	pozice	stav stromu	výška (m)	průměr v d _{1,3} (cm)	odběr	pracovní označení vývrťu	zpracování
PL I	oblast vrcholu Plechého	živý, stojící	19,5	74,8	2005	PL I A	2005-1960 v 2-letých bolčcích, starší letokruhy v 5-letých bločcích
						PL I B	2005-1960 v 2-letých bolčcích, starší letokruhy v 5-letých bločcích
PL II	oblast vrcholu Plechého	živý, stojící	22	61,5	2005	PL II A	2005-1960 v 2-letých bolčcích, starší letokruhy v 5-letých bločcích
						PL II B	2005-1960 v 2-letých bolčcích, starší letokruhy v 5-letých bločcích
PL III	oblast Plešného jezera	pokácený		83	2005	PL 3 A	2005-1960 v 2-letých bolčcích, starší letokruhy v 5-letých bločcích
						PL 3 B	2005-1960 v 2-letých bolčcích, starší letokruhy v 5-letých bločcích
PL IV	oblast Plešného jezera	pokácený		98	2005	PL 4 A	2005-1960 v 2-letých bolčcích, starší letokruhy v 5-letých bločcích
						PL 4 B	2005-1960 v 2-letých bolčcích, starší letokruhy v 5-letých bločcích
PL V	oblast Plešného jezera	pokácený		76	2005	PL 5 A	2005-1960 v 2-letých bolčcích, starší letokruhy v 5-letých bločcích
						PL 5 B	2005-1960 v 2-letých bolčcích, starší letokruhy v 5-letých bločcích
PL VI	oblast vrcholu Plechého	živý, stojící	23,1	64	2006	PL X A	2006-1960 v 2-letých bolčcích, starší letokruhy v 5-letých bločcích
						PL X B	2005-1960 v 2-letých bolčcích, starší letokruhy v 5-letých bločcích

Tabulka 9 Přehled odebíraných vzorků v povodí Plešného jezera.

3.2.1.2 Zpracování materiálu

Jednotlivé letokruhy (případně 2 či 5 leté bločky letokruhů) byly oddělovány pod binolupou, sušeny při 60°C do konstantní hmotnosti a rozemlety na kulovém mlýnku (MM200 Retsch, Haan, Germany). Aby nedocházelo ke znečištění jednoho vzorku druhým, byl mezi mletím jednotlivých vzorků mlet čistý křemičitý písek. Mletí probíhalo při 30 f/s po dobu, než byl vzorek rozemlet na jemný prach (v závislosti na vzorku se doba mletí pohybovala mezi 7-30 min.), který byl navažován do cínových kapslí v množství 0,8-1,1 mg.

Samotné izotopové analýzy proběhly na hmotnostním spektrometru (IRMS) Deltaplus XL spřaženém s prvkovým analyzátozem TC/EA (obojí ThermoFinnigan, Bremen, Germany). IRMS vyžaduje pouze plynné vzorky, proto se pevné a kapalné vzorky na plyny převádějí, a to spalováním (C na CO₂, N na N₂) nebo pyrolýzou (O na CO, H na H₂).

Plyny se rozdělí na chromatografické koloně a jednotlivě analyzují. Vlastní MS-analyzátor sestává z ionizačního zdroje, urychlovací trubice s vloženým napětím 2 - 2,2 kV (vhodným pro urychlení CO₂^{o+}), obloukového permanentního magnetu a sady tří kolektorů s detektory pro snímání iontových proudů. Celý hmotnostní analyzátor je evakuován na (5 - 7).10⁻⁷ mBar. Do fokusačního prostoru vletí ionty (CO₂^{o+}). Rychlost a svou kinetickou energii získají ionty průletem trubice (pole) s vloženým napětím. Obloukový permanentní magnet vytváří magnetické pole, v němž se dráhy letu jednotlivých iontů zakřivují vlivem dostředivé síly magnetického pole. Protože všechny měřené ionty mají jednotkový náboj, závisí změna zakřivení jejich letové dráhy jen na jejich rozdílné hmotnosti. Magnetické pole má současně fokusační účinek a soustřeďuje ionty o stejném náboji a hmotnosti do jednoho místa, kde je proud měřen. Polohování (nastavení) magnetu a kolektorů je prováděno při ladění analyzátoru. Každý vzorek je porovnáván s kalibračním množstvím referenčního vzorku o vysoké čistotě. Z hodnot proudů snímaných třemi kolektory je vypočteno číslo charakterizující naměřený poměr ¹³C/¹²C.

Izotopový signál daného prvku se srovnává s příslušným standardem (IAEA – International Atomic Energy Agency) – nejčastěji pomocí pracovního standardu, který se svými vlastnostmi a izotopovým signálem blíží vlastnostem měřeného vzorku (celulóza, destilovaná voda...). Vzhledem k tomu, že analýzy poměrů stabilních izotopů jsou založeny na porovnávání izotopového poměru ve zkoumaném vzorku se známým izotopovým poměrem v mezinárodním standardu, má kalibrace těchto standardů klíčový význam. Z tohoto důvodu, byl vždy po řadě deseti vzorků, zařazen vzorek s pracovním standardem.

3.2.2 Chemické složení letokruhů

U dvou stromů z Jezerní hory (CT I a CT II) proběhlo stanovení některých živin. Analyzovány byly stejné vzorky, jako jsme použili pro izotopové analýzy ^{13}C . Pro tyto stromy bylo místo i způsob odběru a nakládání se vzorky popsáno v předcházejícím textu. Stanovení probíhalo pouze v každém 5. letokruhu a v době předpokládaného nejvyššího fyziologického stresu každý druhý rok. Důvodem bylo omezení počtu vzorků pro analýzy a tím i finančních prostředků na ně potřebných. Stanovení proběhlo metodou emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP OES). Laboratoř geologických ústavů, kde tyto analýzy proběhly, disponuje optickým emisním spektrometrem s indukčně vázanou plazmou iCAP 6500 Thermo Scientific (Winsford, UK) s radiálním pozorováním plazmy a podavačem vzorků CETAC AS 520. Spektrometr využívá principu emise a následné detekce světelného záření ionizovaných prvků přítomných ve vzorku. Zdrojem iontů je argonová plazma. Jedná se o roztokovou metodu, proto je nutné pevné vzorky převést do roztoku.

ICP OES je stopová analytická metoda umožňující stanovit téměř všechny prvky a sloužící ke stanovení obsahu stopových i významných koncentrací jednotlivých prvků s citlivostí od jednotek ppb po stovky ppm. Stanovován byl obsah prvků Na, K, Mg, Ca, Fe a Mn.

3.2.3 Izotopové analýzy δD a $\delta^{18}\text{O}$

3.2.3.1 Odběr vzorků

Vzorníkové stromy byly ve stěnách Jezerní hory a Plechého z míst, kde stromy nemají možnost dosáhnout podzemní vody a veškerá voda pro transpiraci pochází ze srážek (díky skalnatému podloží a příkrému terénu). Ze stromů pro odběr materiálu na analýzy δD a $\delta^{18}\text{O}$ byl zároveň odebírán i materiál pro analýzy $\Delta^{13}\text{C}$ a to u stromů PL I, PL II, PL VI a CT V. Jejich charakteristiky jsou uvedeny v předcházejícím textu (více podrobností viz. tabulky 7 a 9).

Odběr vzorků a jejich zpracování byl proveden s maximální snahou zamezit výparu ze vzorků. Odběr byl proveden v dopoledních hodinách podzimního oblačného dne. Vývrty byly okamžitě po odvrtání umístěny do plastového tubusu a poté z nich byly řezány vzorky o délce 5 a 1 cm. Ihned po odříznutí byl vzorek uzavřen v plynotěsné vialce se septem, pro

případnou netěsnost víčka byl uzávěr zajištěn parafilmem. Vzorky byly před dalším zpracováním uskladněny při -18°C .

a) pilotní pokus pro stanovení vhodné délky vývrtní ke zpracování

Cílem prvního provedeného pokusu bylo zjistit, s jak velkými částmi vývrtní se nám bude nejlépe pracovat při zvoleném způsobu zpracování.

Ze smrků označených PL I a PL II bylo v roce 2005 odebráno po jednom vývrtní vedeném do středu stromu, který byl rozřezán po 5 cm úsecích. Dále byl ze stromu PL I odebrán jeden vývrtní, který byl následně rozřezán po 1 cm úsecích.

b) rozšíření pilotního pokusu

Po vyhodnocení výsledků z tohoto prvního odběru, proběhly další dva odběry v následujících letech. Jednocentimetrové kousky vývrtní působily při zvolené metodě technické komplikace při stanovení, zatímco pětcentimetrové úseky přinášely příliš hrubé výsledky. Z tohoto důvodu byl odebrán další materiál, kde byly vývrtní rozřezány a analyzovány po 0,5 cm oddílech.

19.10.2006 byl odebrán jeden vývrtní ze smrku ve vrcholových partiích Plechého ze stromu s označením PL VI, počasí bylo polojasné až slunečné. Odběr proveden v poledních hodinách.

23.10.2008 byl proveden odběr v severovýchodním úbočí pod vrcholem Jezerní hory ze stromu s označením CT V, na místě ležela tenká sněhová pokrývka, mlha, teploty mírně nad nulou, odběr proběhl rovněž v době kolem poledního.

3.2.3.2 Zpracování vzorků

Voda ze vzorků byla destilována za použití topného hnízda, které ohřívalo plynotěsné vialky spojené kovovými bločky s vialkami (resp. vialkami se 100 μl inserty), které byly chlazené tekutým dusíkem. Vialky byly těsně v kovovém bločku dvojitým O-kroužkem, stejně jako insert ve vialce, pokud byl použit. Voda z ohřívaného vzorku v plynotěsných vialkách se odpařovala a namrzala na stěnách protilehlé chlazené vialky připojené přes kovový bloček, kde tvořila krystalky. Po určitém čase bylo nutné krystalky rozmrazit a vzniklou vodu opět zmrazit, aby se vydestilovaná voda do vialky vešla. Do plynotěsných vialek byly přidány smotky skelné vaty, které bránily propadu vzorku do z něj již vydestilované vody ve vialce v době rozmrazení. Po vydestilování vody ze vzorku byly vialky uzavřeny krimpovacími víčky se septy. U vzorků o délce 5 a 1 cm byla stanovována pouze δD (‰), u vzorků délky 0,5 cm byla stanovována δD (‰) a $\delta^{18}\text{O}$ (‰).

Samotné izotopové analýzy proběhly na hmotnostním spektrometru (IRMS) Deltaplus XL (ThermoFinnigan, Bremen, Germany). Podrobněji byl proces vlastní analýzy již popsán.

3.2.4 Zpracování dat

Analýzami vzorků získáme data o izotopovém signálu ^{13}C ve formě $\delta^{13}\text{C}$. Tato data budou přepočítána na $\Delta^{13}\text{C}$, aby bylo zohledněno měnící se prostředí (změny $\delta^{13}\text{C}$ atmosféry). Přepočet proběhne podle vzorce č. 4.

Pro porovnání historického vývoje budou získané křivky rozděleny na časové úseky podle výsledků testování metodiky a jednotlivé časové úseky budou porovnány na základě vypočítaných průměrů a směrodatných odchylek.

Celkové průměrné hodnoty izotopového signálu $\Delta^{13}\text{C}$ u stromů v povodí Plešného jezera bude počítán jako vážený průměr, který vyrovnává disproporce analýz dvouletých bločků (do r.1960) a analýz pětiletých bločků, které představují vzorky z let 1959-1855. V ostatních případech bude použit průměr aritmetický.

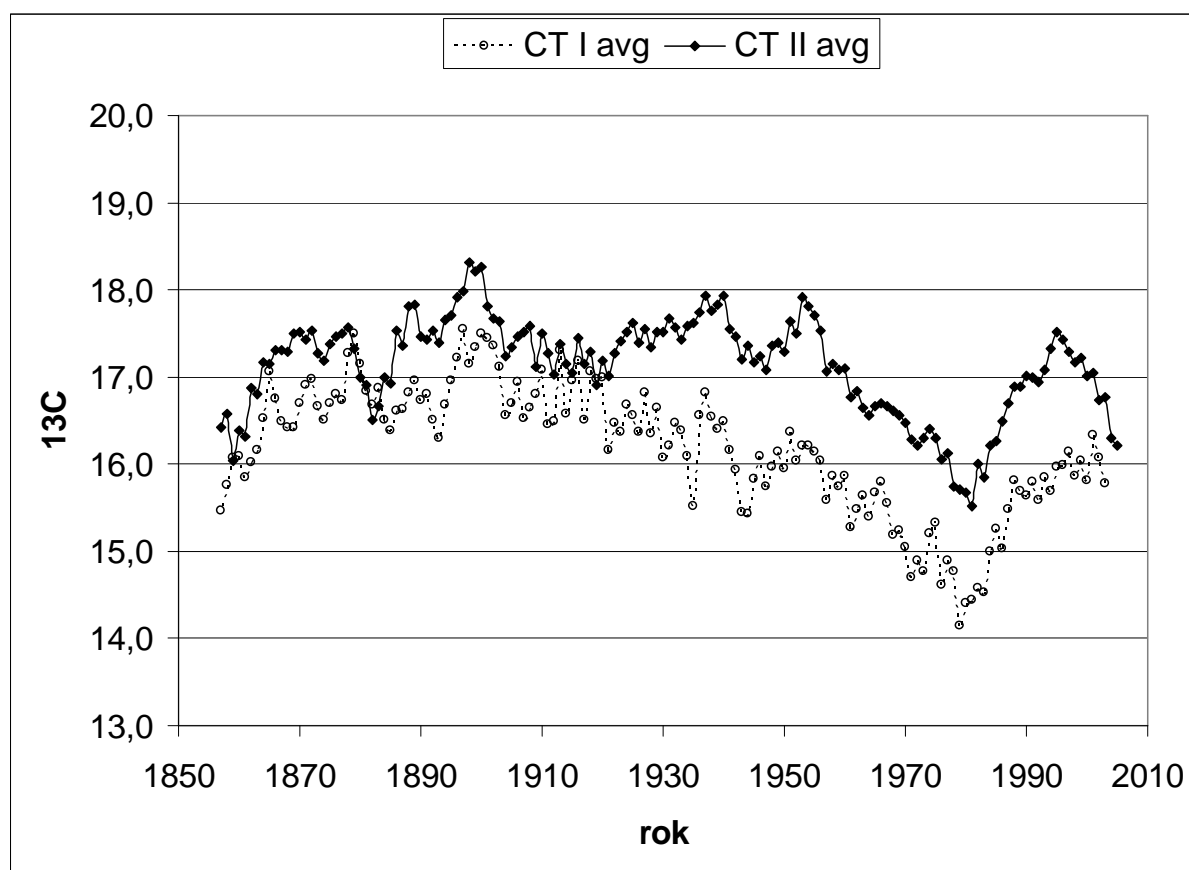
Závislost $\Delta^{13}\text{C}$ na teplotě a pH půdy stejně jako závislost chemického složení letokruhů na pH půdy bude hodnocena na základě lineární regresní analýzy a hodnoty spolehlivosti. Jako vstupní data pro porovnání izotopového signálu $\Delta^{13}\text{C}$ s průměrnou roční teplotou budou sloužit data z bavorské stanice Hohenpeissenberg, jako vstupní data pro pH půdy budou použity hodnoty modelované Majerem za použití programu MAGIC 7 (Majer et al., 2003).

4 Výsledky

4.1 Izotopový poměr $\Delta^{13}\text{C}$

4.1.1 Základní analýza - izotopový signál v jednotlivých letokruzích

Cílem základní analýzy bylo zjistit průběh izotopového signálu v jednotlivých letokruzích a eventuální kolísání signálu během sledovaného období. Na Jezerní hoře byly odebrány vývrty ze stromů CT I a CT II, které byly analyzovány po jednotlivých letokruzích. Minimální zjištěná hodnota $\Delta^{13}\text{C}$ byla u stromu CT II 14,1‰ pro rok 1979 u stromu CT I 15,5‰ pro rok 1981; maximální hodnoty pak 18,3‰ u stromu CT I v roce 1898 a 17,6‰ v roce 1897 pro strom CT II. Průměrná hodnota izotopového signálu v analyzované části stromu pak měla hodnotu 16,2 ‰ ($\square=0,22$) u stromu CT I a 17,1‰ ($\square=0,32$) u stromu CT II.



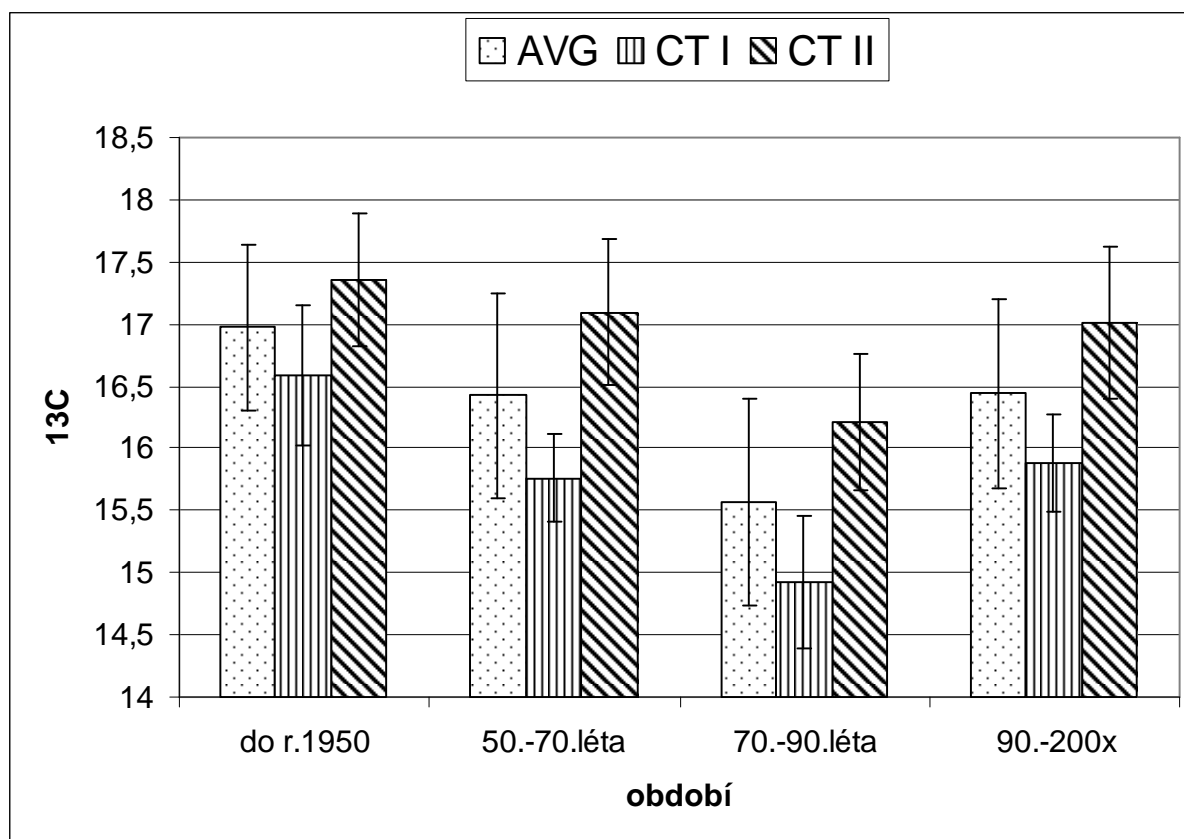
Graf 5 Průběh izotopového signálu po jednotlivých letech u stromů CT I a CT II z Jezerní hory zobrazený jako průměrná hodnota ze dvou vzorků pro jeden letokruh každého stromu.

Křivky izotopového signálu jsou sice vůči sobě posunuté, ale hlavní trendy vývoje křivek jsou totožné, jak je patrné z grafu 5. Izotopový signál mírně stoupá v období konce 19. stol. , kdy na přelomu 19. a 20. století nabývá maximálních hodnot, následuje pokles hodnot a jejich

oscilace v mírně sestupném (CT I) až vyrovnaném (CT II) trendu, od 50. let obě křivky hodnot prudce klesají a od počátku 80.let mají vzestupnou tendenci. U stromu CT II dochází k dalšímu poklesu hodnot po roce 1995.

Na základě zjištěného průběhu křivky izotopového signálu $\Delta^{13}\text{C}$ a za účelem porovnání hodnot $\Delta^{13}\text{C}$ z hlediska historického vývoje (viz. metodika, zpracování dat) je navržené rozdělení jednotlivých období následující:

- od konce 19. stol. do r. 1950 - období relativně málo narušené atmosferickou depozicí
- 50.-70. léta 20.stol. – období zvyšující se atmosferické depozice
- 70.-90.léta 20. stol. – období nejvyššího zatížení atm.depozicí
- od 90.let 20. stol. do roku odběru (200x) – období, ve kterém dochází ke snižování atmosferické depozice; toto období je ohraničeno rokem odběru, který se pro různé části práce liší – podrobnosti viz. tab. 7, 8 a 9.

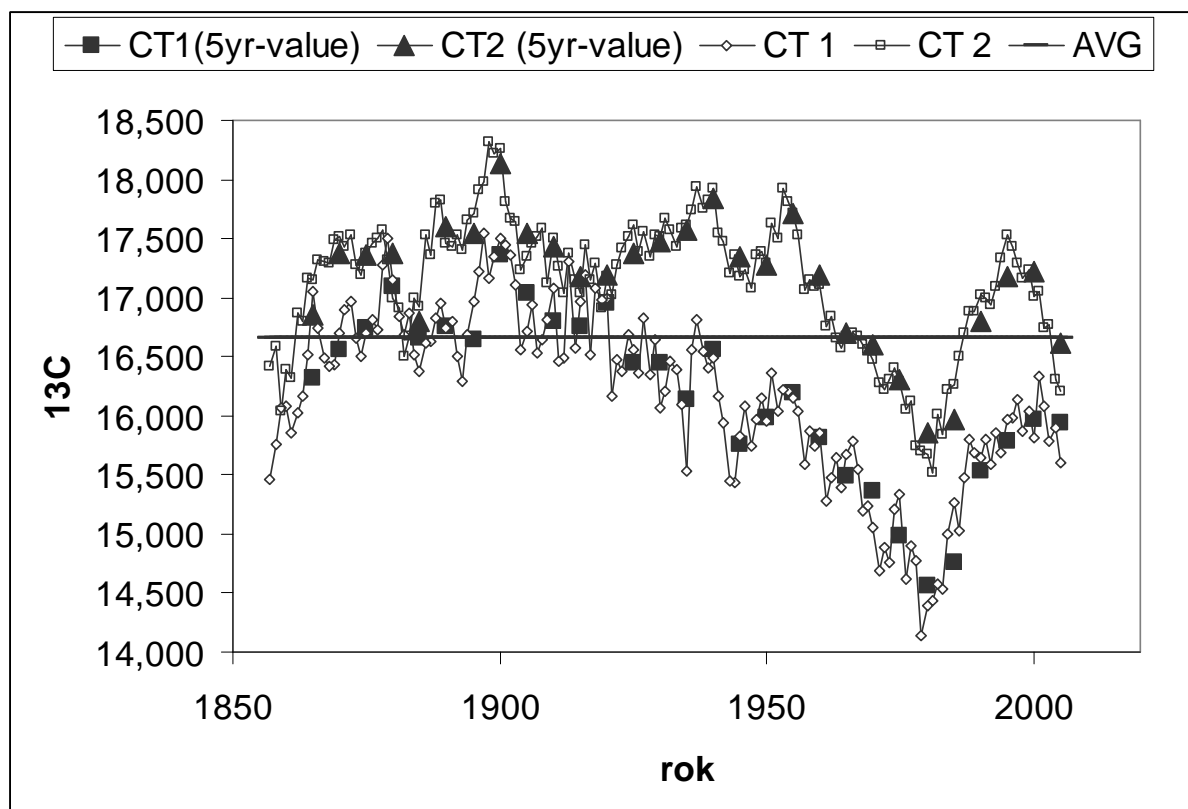


Graf 6 Hodnoty signálu pro jednotlivá sledovaná období. Zobrazena průměrná hodnota (AVG) pro oba stromy a hodnoty pro stromy CT 1 a CT 2 vždy včetně směrodatné odchylky pro každé období.

Z uvedeného grafu 6 je vidět významný rozdíl v hodnotách $\Delta^{13}\text{C}$ pro období do r.1950 a 70.-90. lety 20. stol. Pro strom CT 1 je průměrná hodnota $\Delta^{13}\text{C}$ do r.1950 16,59‰ ($\sigma=0,56$), pro období 70.-90. let 14,93‰ ($\sigma=0,53$) u stromu CT 2 jde o hodnoty 17,36‰ ($\sigma=0,53$) a

16,21‰ ($\sigma=0,55$). Přechodná období zvyšující se a snižující se atmosferické depozice mezi lety 1950-70 a 1990-2005 se významně neodlišují ani od období minimální ani maximální depozice a to ani u jednoho z analyzovaných stromů. Hodnoty pro období 1950-70 15,76‰ ($\sigma=0,36$) a 1990-2005 15,88‰ ($\sigma=0,39$) pro strom CT 1 a 17,09‰ ($\sigma=0,59$) a 17,01‰ ($\sigma=0,61$) u stromu CT 2.

Pro omezení finančních nákladů je potřeba omezit množství vzorků. Z tohoto důvodu předpokládáme použití víceletých bločků místo jednotlivých bločků. Předpokladem je, že hodnota $\Delta^{13}\text{C}$ za víceleté období se příliš neliší od průměru z jednotlivých letokruhů za stejné období. Důležité je, aby délka zvoleného období byla zvolena tak, aby nedošlo k významné ztrátě informací. Na následujícím grafu č.7 je zobrazen průběh $\Delta^{13}\text{C}$ po jednotlivých letech a jako vypočítané 5-leté průměry a dlouhodobý průměr období 1857-2005, který je 16,65‰ ($\sigma=0,6$). Linan et al. (2011) ve svém článku uvádí, že víceleté chronologie jsou vysoce synchronní s průměrem získaným z individuálních letokruhů stejného období. Potvrzuje tedy to, co jsme v době odběru (r. 2005) předpokládali.



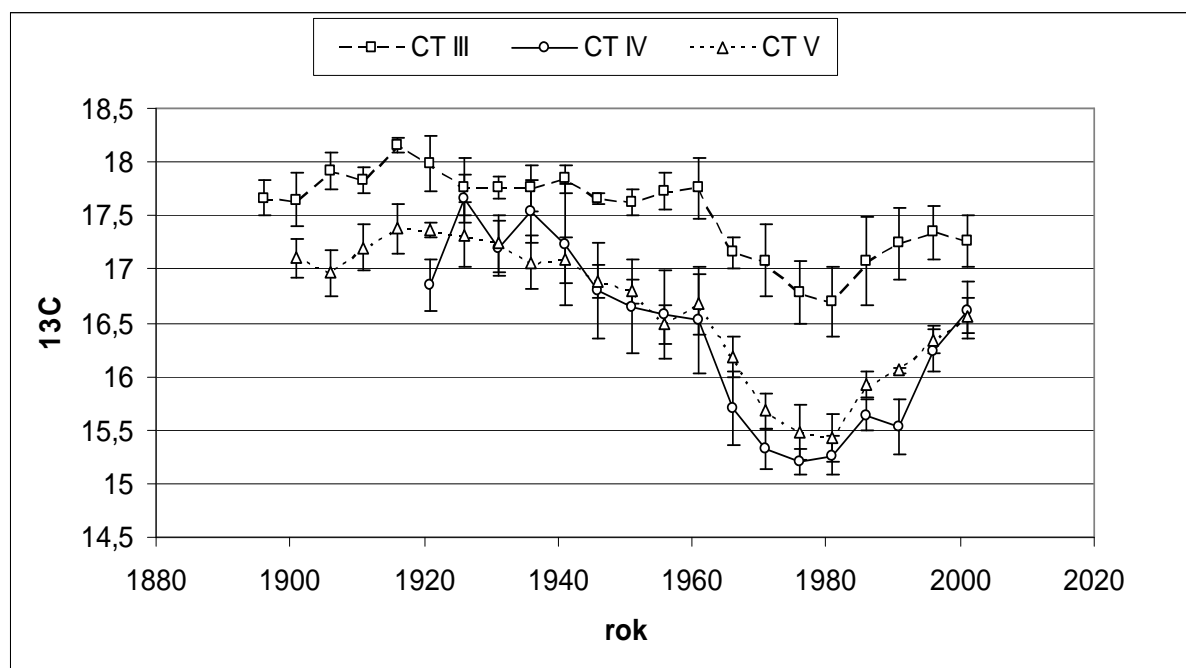
Graf 7 Roční hodnoty $\Delta^{13}\text{C}$ a vypočítané 5-leté průměry pro stromy CT 1 a CT 2. Zobrazen dlouhodobý průměr (AVG) vypočítaný z hodnot za období 1857-2005.

Subjektivním vizuálním hodnocením křivek jednoletých a pětiletých průběhů hodnot $\Delta^{13}\text{C}$ jsme došli k závěru, že použití pětiletých bločků k analýzám představuje únosnou míru ztráty informací vzhledem k pětinovým nákladům na analýzy.

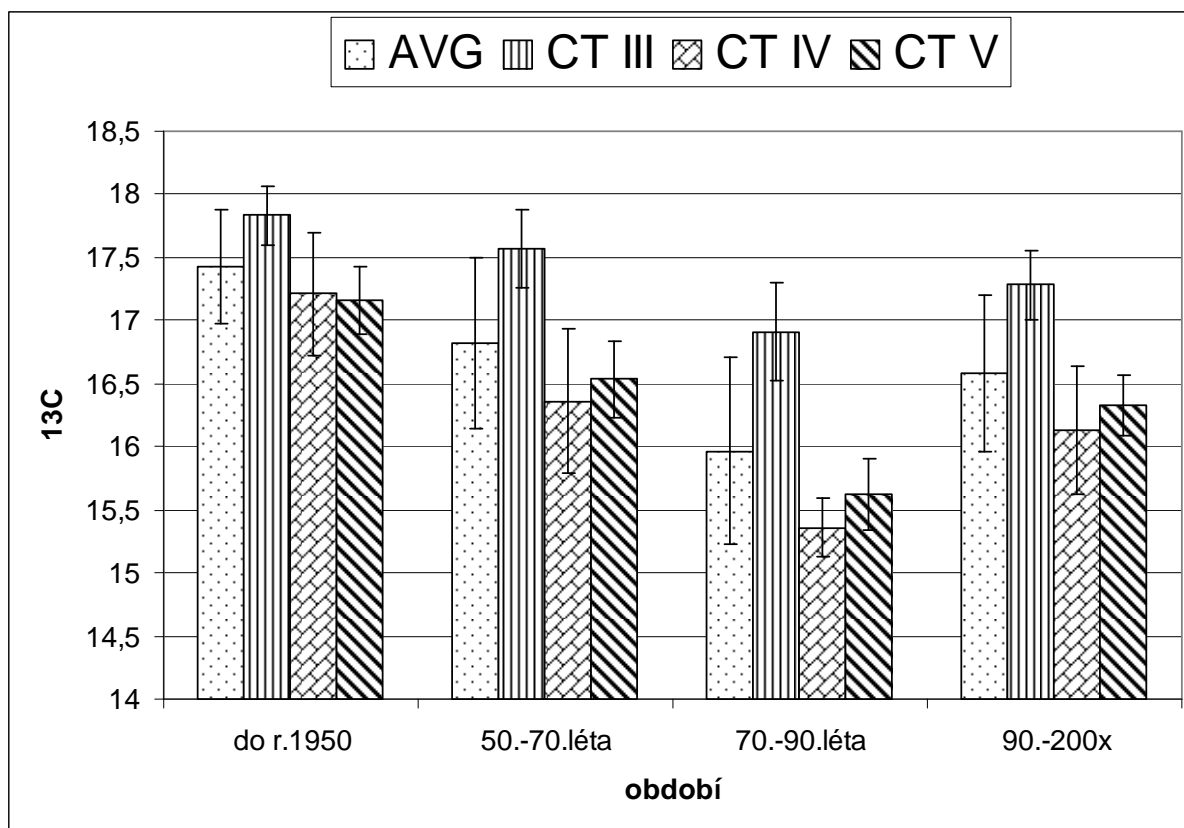
4.1.2 Izotopový signál letokruhů vzhledem k orientaci ke světovým stranám

Cílem této části práce bylo zjistit, zda jsou hodnoty izotopového signálu z odebraných vývrtů ovlivněny pozicí na obvodu kmene, odkud je vývrt odebrán. Na Jezerní hoře byly ze tří stromů (CT III, CT IV a CT V) odebrány vývrty podle orientace ke světovým stranám. Tedy z každého stromu čtyři vývrty, které byly analyzovány v pětiletých bločcích. Křivky na grafu 8 dosahují maximálních hodnot okolo roku 1920. Vzhledem k charakteru vyrovnanosti průběhu křivek v tomto období, však nejsou maxima podstatná. Minimálních hodnot pak nabývají na přelomu 70. a 80. let minulého století. Období od 60. do počátku 80. let je obdobím prudkého poklesu, který střídá relativně prudký nárůst od druhé poloviny 80.let, a který u stromů CT IV a V přetrvává i v prvních letech 21. století, ovšem u stromu CT III mají nejmladší roky mírně sestupnou tendenci. Celkově se od sebe hodnoty na křivkách izotopového signálu pro stromy CT IV a V významně neliší (překrývající se intervaly dané směrodatnými odchylkami), zatímco hodnoty $\Delta^{13}\text{C}$ pro strom CT III jsou odlišné – významně vyšší, avšak s obdobnými trendy.

Průměry izotopového signálu ze všech čtyř světových stran a celých vývrtů (dlouhodobé průměry od konce 19.stol. do r. 2008) dosáhly následujících hodnot: 17,5; 16,4 a 16,6‰ pro jednotlivé stromy CT III, CT IV a CT V.



Graf 8 Průměrná hodnota $\Delta^{13}\text{C}$ ze čtyř vývrtů (sever+jih+východ+západ) pro každý strom (CT III, CT IV a CT V) a její směrodatná odchylka.



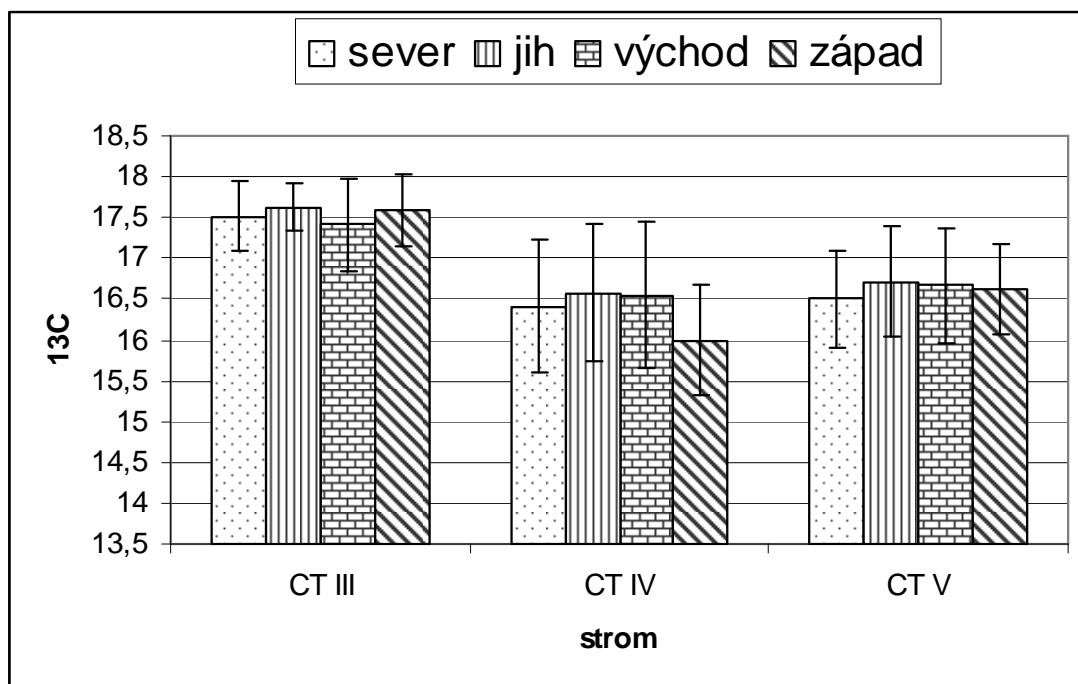
Graf 9 Průběh izotopového signálu $\Delta^{13}\text{C}$ podle stanovených období u stromů CT III, CT IV a CT V. Zobrazena je též průměrná hodnota ze tří sledovaných stromů (AVG) a směrodatné odchylky za daná období. Průměrná hodnota pro jednotlivé období pro každý strom byla počítána z jednotlivých bloků letokruhů spadajících do sledovaného období a všech čtyř stran, ze kterých byly vzorky odebrány.

Z hlediska celkového průběhu $\Delta^{13}\text{C}$ je opět dobře patrný propad hodnot $\Delta^{13}\text{C}$ v období 70.-90.let 20.stol. (graf 9). Hodnoty v tomto období jsou významně nižší než hodnoty prvního období, které končí rokem 1950; stejně tak se toto období významně odlišuje pro stromy CT IV a CT V od obou přechodných období, ve kterých docházelo ke zvyšování resp. snižování atm.depozice. Pro celkový průměr a strom CT III nejsou přechodná období významně oddělena od období 70.-90. let a období do r. 1950.

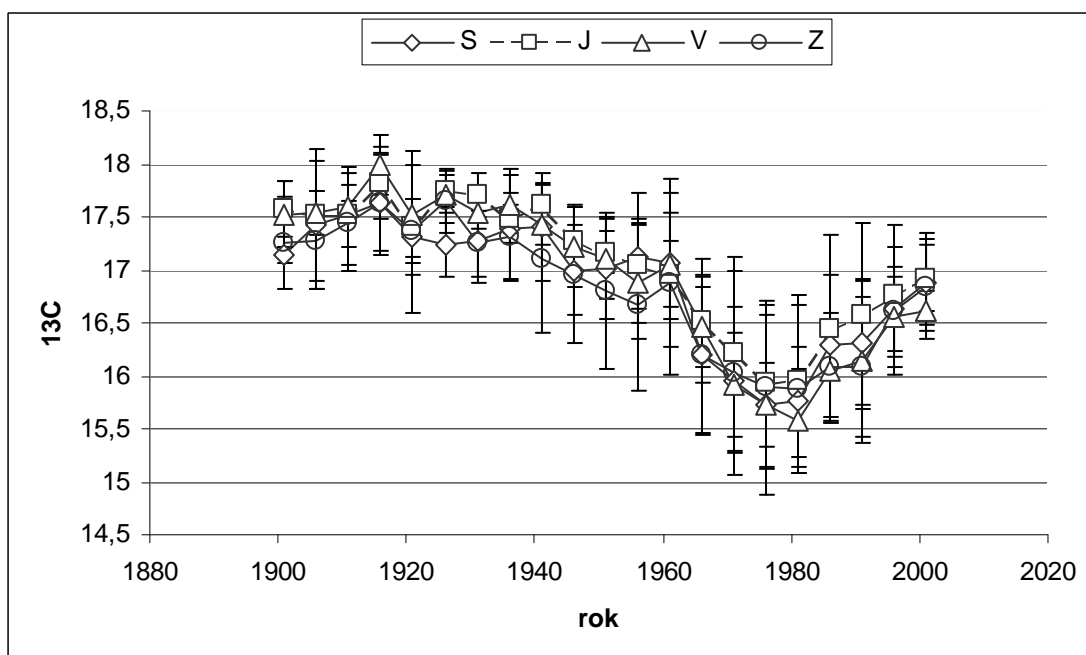
Podle orientace byly průměrné dlouhodobé hodnoty pro jednotlivé světové strany vypočítány jako průměry ze všech tří analyzovaných stromů následovně: ze severní strany 16,9‰ z jižní strany 17,1‰ ,od východu 16,9‰ a ze západu 16,8‰. Průměrná hodnota $\Delta^{13}\text{C}$ pro jednotlivý vývrt a strom podle orientace ke světové straně je v následující tabulce 10 a pro lepší přehlednost jsou tato data zobrazena na grafu 10.

strom	sever $\Delta^{13}\text{C}$ (‰)	□	jih $\Delta^{13}\text{C}$ (‰)	□	východ $\Delta^{13}\text{C}$ (‰)	□	západ $\Delta^{13}\text{C}$ (‰)	□
CT III	17,51	0,43	17,62	0,29	17,41	0,56	17,59	0,43
CT IV	16,41	0,81	16,57	0,84	16,55	0,90	16,00	0,69
CT V	16,50	0,60	16,71	0,68	16,67	0,71	16,63	0,55

Tabulka 10 Průměrná hodnota izotopového signálu $\Delta^{13}\text{C}$ v období od počátku 20.století do roku 2008 pro jednotlivé vývrty podle jejich orientace ke světovým stranám.



Graf 10 Průměrné hodnoty $\Delta^{13}\text{C}$ vývrťů pro stromy CT III, CT IV a CT V od počátku 20. století do roku 2008 podle světových stran se zobrazením směrodatných odchylek.



Graf 11 Průměrná hodnota izotopového signálu zobrazeného jako průměr z měření vzorků stromů CT III, CT IV a CT V podle orientace vývrťů ke světovým stranám v pětiletých blocích včetně zobrazených směrodatných odchylek.

Křivky průběhu izotopového signálu na grafu 11 dosahují svého minima v období mezi lety 1974 a 1983.

Bereme-li v úvahu průběh křivek a průměrné hodnoty pro jednotlivé vývrty v rámci jednoho stromu s ohledem na velikost směrodatné odchylky, je z uvedených grafů a tabulky patrné, že na izotopový signál nemá orientace vývrtní vzhledem ke světovým stranám vliv. Toto zjištění je důležité především pro odběry vzorků na exponovaných místech, v náročném terénu, kterými svahy Jezerní hory i Plechého určitě jsou a kde je třeba dbát zvýšené opatrnosti. Stejně tak tato místa nemusí umožnit bezpečný odběr vývrtní podle konkrétní požadované orientace. Zjištění nezávislosti $\Delta^{13}\text{C}$ na světové straně má pro tyto letokruhové analýzy velmi příznivý dopad.

4.1.3 Vliv nadmořské výšky na izotopový signál $\Delta^{13}\text{C}$

Cílem této části práce bylo ověřit vliv nadmořské výšky na izotopový signál v povodí obou jezer.

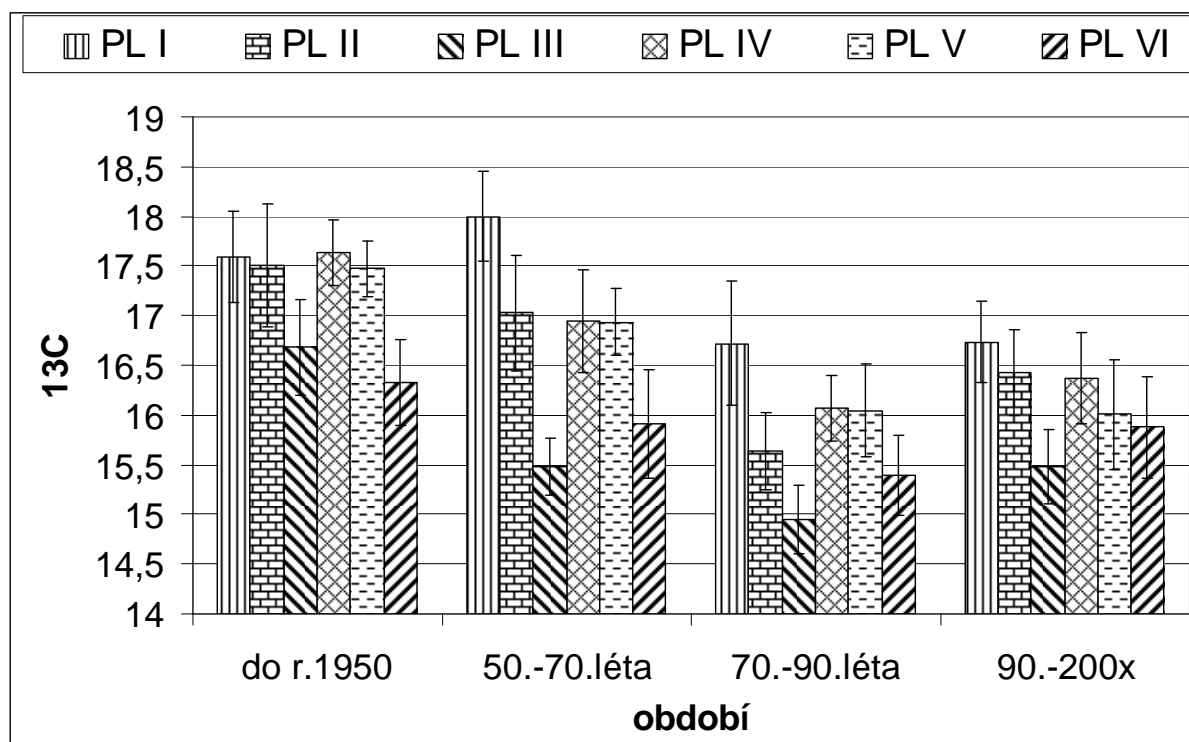
- **Povodí Plešného jezera**

Měření izotopového signálu proběhlo ze dřeva letokruhů stromů PL I, PL II a PL VI v horní partii a stromů PL III, PL IV a PL V ve spodní partii povodí Plešného jezera. Analyzovány byly dvou a pětileté bločky letokruhů, vždy ze dvou vývrtní pro jeden strom.

U stromů z horních partií byly průměrné hodnoty $\Delta^{13}\text{C}$ 17,5; 17,1 a 16,1‰ pro jednotlivé stromy v pořadí PL I, PL II a PL VI; u stromů ve spodní části povodí pak 16,8; 17,2 a 17,1‰ pro stromy PL III, PL IV a PL V.

Celková průměrná hodnota izotopového signálu $\Delta^{13}\text{C}$ stromů z vyšší nadmořské výšky byla 16,9‰ ($\sigma = 0,60$); u níže položených stromů 16,8‰ ($\sigma = 0,48$). Maximální naměřená hodnota $\Delta^{13}\text{C}$ byla 18,3‰ u stromu označeného jako PL I (v horní části) pro období mezi lety 1940-1945 a zároveň jde o nejmladší naměřené maximum pro jednotlivý strom - u všech ostatních stromů bylo dosaženo maximální hodnoty izotopového signálu v období mezi lety 1875-1905; minimální hodnota 14,7‰ byla zjištěna u stromu označeného PL III (v dolní části) pro roky 1983-1984. Mezi roky 1980 až 1990 leží nejnižší naměřené hodnoty izotopového signálu pro pět stromů; u stromu PL VI bylo dosaženo minimální hodnoty $\Delta^{13}\text{C}$ mezi lety 1973-74.

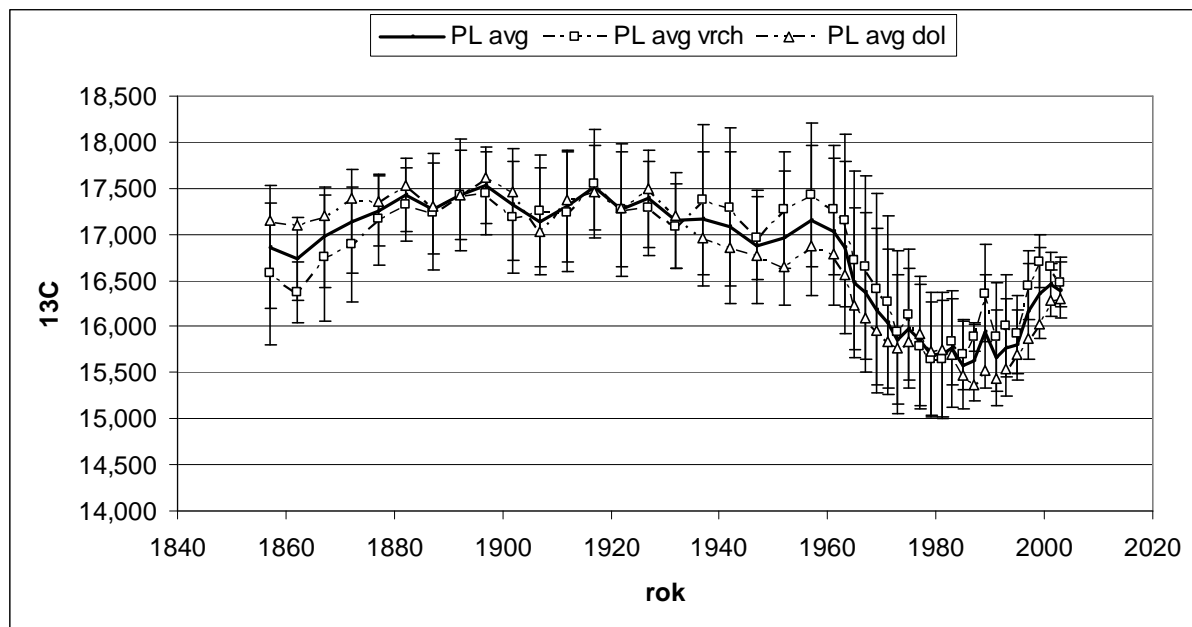
Průběhy křivek pro jednotlivé stromy jsou individuální, vykazují však shodné trendy. Jde o nárůst hodnot $\Delta^{13}\text{C}$ zhruba do 90. let 19. století, který střídá mírná oscilace hodnot $\Delta^{13}\text{C}$ do 60.let minulého století následovaná prudkým poklesem kulminujícím mezi 80. a 90. lety 20.století. Vzestup hodnot $\Delta^{13}\text{C}$ v následujícím období byl zpočátku prudký, později se tempo růstu $\Delta^{13}\text{C}$ zpomalovalo. Průběhy izotopového signálu u jednotlivých stromů (graf 12) podle použitého časového rozlišení v závislosti na atmosferické depozici ukazují významné rozdíly mezi obdobími s nízkou (do r. 1950) a vysokou depozicí (70.-90.léta) s výjimkou stromu PL I, stejně jako u většiny stromů v povodí Plešného jezera je významný rozdíl mezi přechodným obdobími 50.-70.let a doby nejvyšší depozice. Významný rozdíl naopak není mezi hodnotami izotopového signálu z období 70.-90.let a období snižování atmosferické depozice po 90. roce.



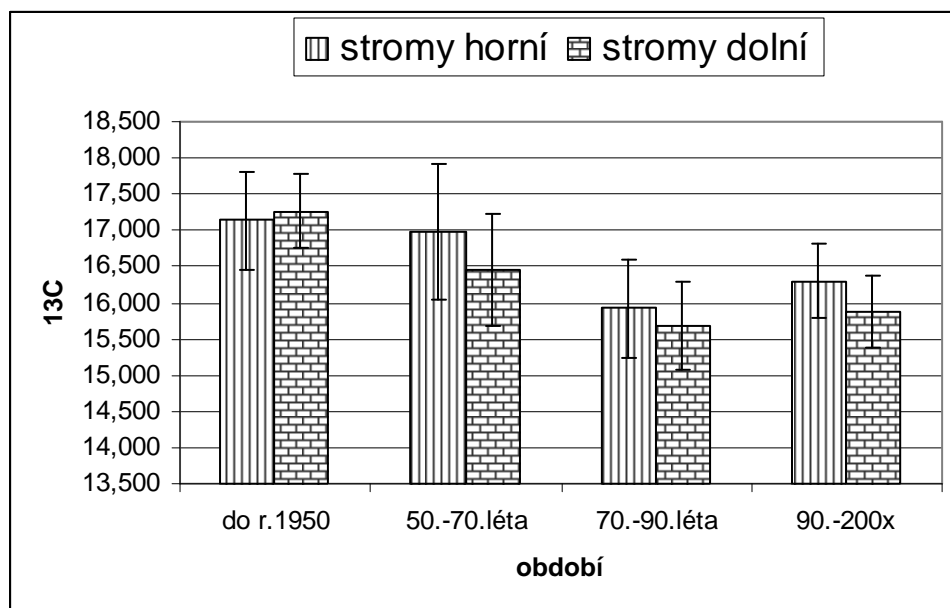
Graf 12 Hodnoty $\Delta^{13}\text{C}$ pro jednotlivé stromy na povodí Plešného jezera podle sledovaných období se zobrazením směrodatných odchylek.

Průměrné hodnoty $\Delta^{13}\text{C}$ horních a dolních partií povodí Plešného jezera, ať již jako dříve zmiňovaný celkový průměr (16,9 a 16,8‰), tak průměrné hodnoty pro jednotlivé analyzované dvou a pětileté časové úseky, od sebe nejsou na základě směrodatných odchylek odlišitelné stejně, jako nejsou odlišitelné ve sledovaných obdobích, což je patrné ze zobrazení na grafech č.13 a 14. Rozdíl nadmořských výšek, který je v tomto případě téměř 300 m, se na hodnotách $\Delta^{13}\text{C}$ významně neprojevil. Převédeme-li tuto úvahu na průměrnou roční teplotu,

kteřá klesá zhruba o $0,56^{\circ}\text{C}$ na 101 výškových metrů, nemá v tomto případě na hodnoty $\Delta^{13}\text{C}$ významný vliv rozdíl průměrné roční teploty a to zhruba $1,6^{\circ}\text{C}$, který je mezi horní a dolní částí povodí.



Graf 13 Celková průměrná hodnota izotopového signálu $\Delta^{13}\text{C}$ a průměrné hodnoty $\Delta^{13}\text{C}$ stromů z vrchních a spodních partií povodí Plešného jezera. Zobrazeny směrodatné odchylky. PL avg je průměrná hodnota ze všech měření pro všechny stromy v daném období, PL avg vrch je průměrná hodnota ze všech měření pro stromy v horní části - PL I, PL II a PL VI za dané období, jsou zobrazeny směrodatné odchylky a PL avg dol průměrná hodnota ze všech měření pro stromy v dolní části (PL III, PL IV a PL V) v daném období se zobrazením směrodatných odchylek.

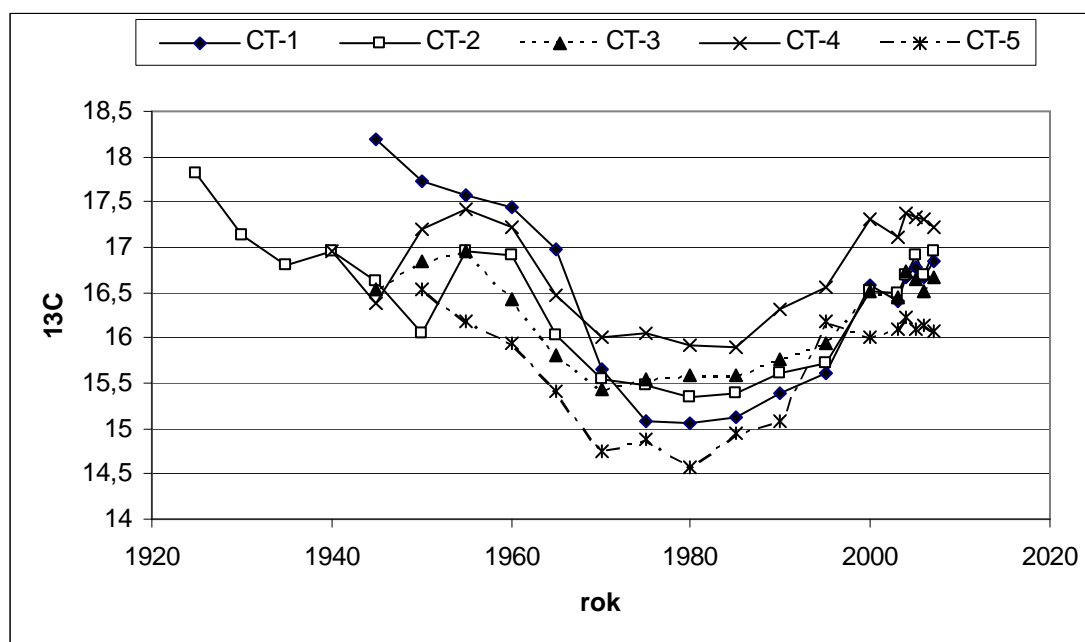


Graf 14 Porovnání průměrných hodnot $\Delta^{13}\text{C}$ jednotlivých období pro stromy z horní a dolní části povodí Plešného jezera.

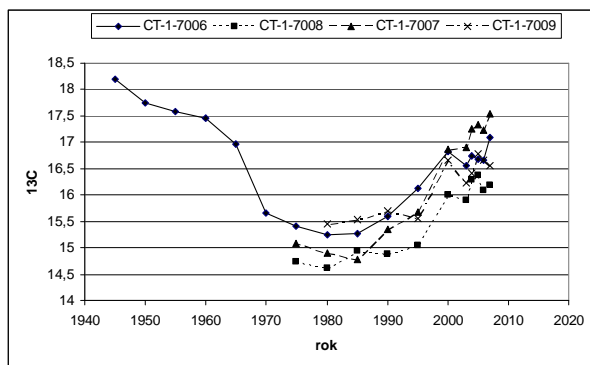
- **Povodí Čertova jezera**

Následující grafy izotopového signálu z letokruhů smrků na jednotlivých plochách transektu napříč Jezerní horou zachycují $\Delta^{13}\text{C}$ pro roky 2003 až 2011 po jednotlivých letokruzích, tak v pětiletých bločcích letokruhů pro období před rokem 2003.

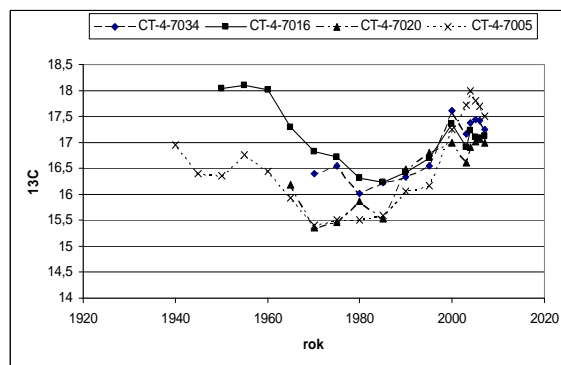
Na grafu č. 15 jsou zobrazeny hodnoty $\Delta^{13}\text{C}$ jako průměrné hodnoty, vypočítané ze čtyř stromů pro jednotlivé plochy. Jak je z uvedeného grafu patrné, ani zde není hlavním faktorem, který ovlivňuje posunutí jednotlivých křivek ve vertikální rovině, nadmořská výška. V 60. letech minulého století sice byly nejvyšší hodnoty $\Delta^{13}\text{C}$ na ploše CT 1 s nejnižší nadmořskou výškou, ovšem již druhá plocha v pořadí je CT 4, která je druhá nejvyšší; podle hodnot $\Delta^{13}\text{C}$ v tomto období následují plochy CT 2, CT 3 a CT 5. V období kolem roku 1980 jsou pak křivky srovnané od nejvyšších hodnot $\Delta^{13}\text{C}$ takto: CT 4, CT 3, CT 2, CT 1 a CT 5 a po roce 2005 jsou v podstatě odděleny jen nejvyšší hodnoty na ploše CT 4 a nejnižší na CT 5, křivky hodnot $\Delta^{13}\text{C}$ pro plochy CT 1, CT 2 a CT 3 po tomto roce téměř splývají. Na grafech 16 až 20 je zobrazen průběh izotopového signálu pro jednotlivé stromy na plochách.



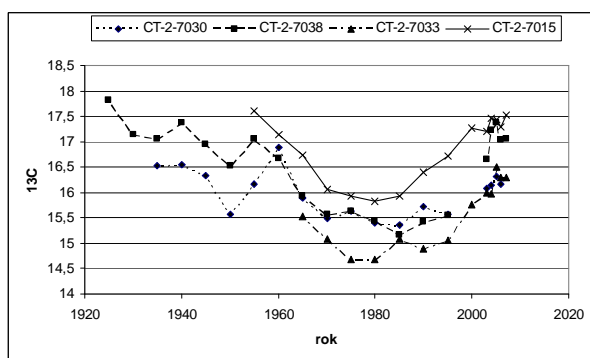
Graf 15 Průběh izotopového signálu v letokruzích smrků na transektu Jezerní horou. Zobrazení průměrných hodnot pro každou plochu CT 1 až CT 5. Křivky zde nemají stejně dlouhé průběhy v čase, což je dáno tím, že šlo o stromy na výzkumných plochách, ze kterých byl materiál odebírán opakovaně a analýza izotopového signálu byla zaměřená na zotavování stromů v posledních letech. Vzhledem k tomu, že se z jednoho stromu odebíralo 10 vývrtů, ze kterých byl připraven směsný vzorek, byl odběr vývrtů prováděn co možná nejšetrněji a vývrty nebyly vedeny až do středu stromu. Hodnoty u každé plochy byly vypočítány jako aritmetický průměr z analýz daného časového úseku pro čtyři stromy. Plochy jsou seřazeny podle nadmořské výšky – CT 1 nejnižší až CT 5 nejvyšší nadmořská výška.



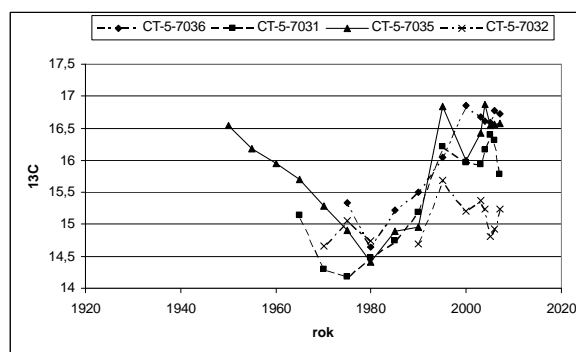
Graf 16 Průběh izotopového signálu v letokruzích u jednotlivých stromů na ploše CT 1.



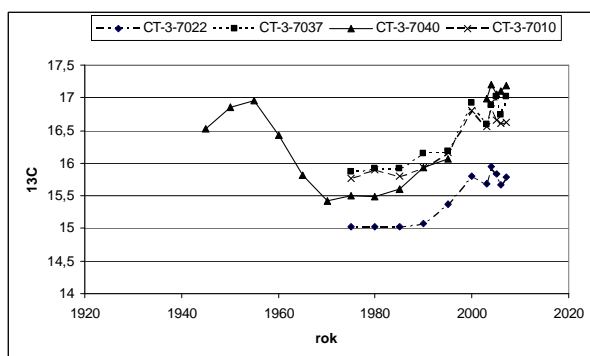
Graf 19 Průběh izotopového signálu v letokruzích jednotlivých stromů na ploše CT 4.



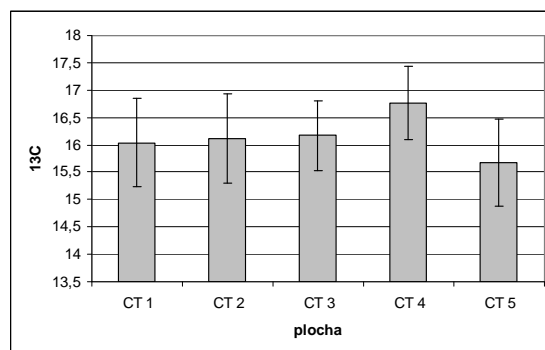
Graf 17 Průběh izotopového signálu v letokruzích jednotlivých stromů na ploše CT 2.



Graf 20 Průběh izotopového signálu v letokruzích jednotlivých stromů na ploše CT 5.



Graf 18 Průběh izotopového signálu v letokruzích jednotlivých stromů na ploše CT 3.



Graf 21 Porovnání průměrných hodnot pro jednotlivé plochy za období 1972 až 2007. Zobrazena směrodatná odchylka.

Na všech výše uvedených grafech je patrný propad hodnot izotopového signálu $\Delta^{13}\text{C}$ v 80. letech minulého století, následovaný relativně rychlým nárůstem hodnot $\Delta^{13}\text{C}$ v 90. letech. Tento nárůst se ovšem kolem roku 2000 výrazně zpomaluje až ustává.

Mezi jednotlivými plochami není statisticky významný rozdíl, jak je patrné z grafu č. 21, kde jsou zobrazeny průměrné hodnoty signálu $\Delta^{13}\text{C}$ za období 1972-2007. Tyto výsledky potvrzují, že rozdíl v nadmořské výšce kolem 300 m, nemá významný vliv na hodnoty $\Delta^{13}\text{C}$.

4.1.4 Porovnání průběhu izotopového signálu $\Delta^{13}\text{C}$ na obou sledovaných povodích

Cílem této kapitoly je porovnání průběhu izotopového signálu $\Delta^{13}\text{C}$ v letokruzích smrků na obou povodích.

Pro účely porovnání průběhu hodnot $\Delta^{13}\text{C}$ na obou povodích, byly přepočítány roční hodnoty $\Delta^{13}\text{C}$ stromů CT I a CT II na pětileté průměry. Získané hodnoty byly zahrnuty spolu s pětiletými hodnotami $\Delta^{13}\text{C}$ stromů CT III, CT IV a CT V do společného výpočtu celkové průměrné křivky průběhu $\Delta^{13}\text{C}$ na povodí Čertova jezera. Stromy na transektu nebyly do tohoto výpočtu zahrnuty pro svoji nestejnou časovou délku.

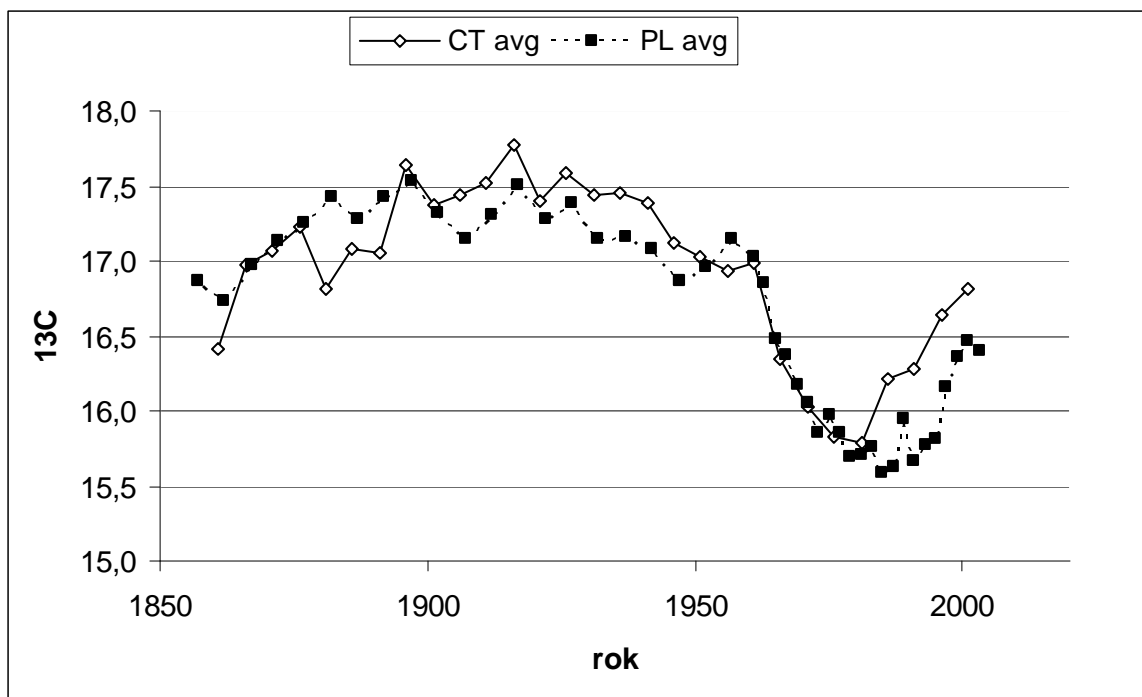
Na povodí Plešného jezera byly do výpočtu zahrnuty všechny stromy, tedy PL I až PL VI. V tomto případě nebyly přepočítávány dvouleté úseky měření (od roku 1960) na pětileté úseky (1857-1960), protože analyzované úseky byly u všech stromů, analyzovaných na tomto povodí, stejné.

Do celkového srovnání tedy vstupuje pět stromů z povodí Čertova jezera a šest stromů z povodí Plešného jezera.

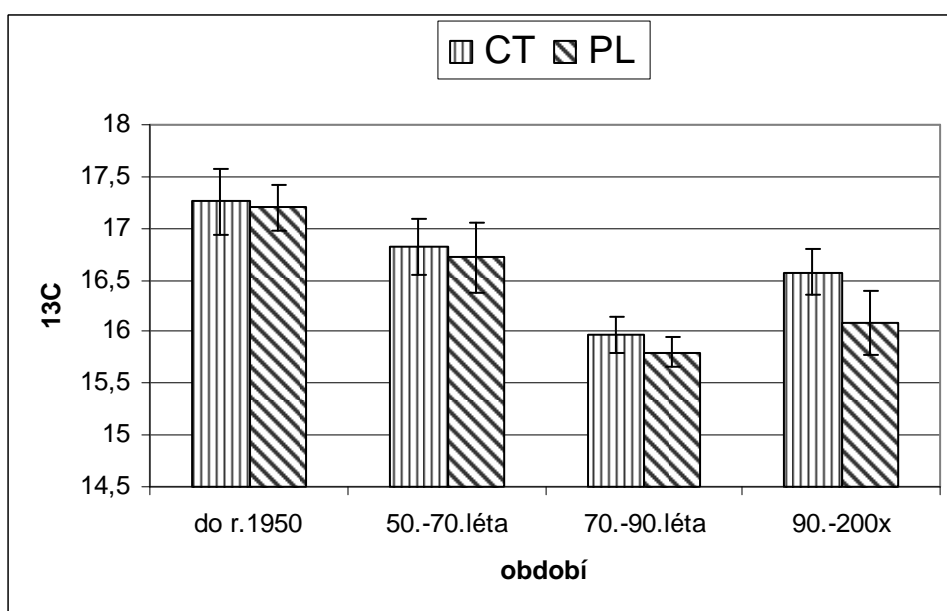
Výsledkem výše uvedeného je graf č. 22, kde hodnoty $\Delta^{13}\text{C}$ z povodí Čertova jezera reprezentují pětileté průměry z analýz pěti různých stromů a celkové průměrné hodnoty z povodí Plešného jezera představují dvou a pětileté průměry z celkem šesti stromů na povodí. Průběh obou křivek má zpočátku poněkud odlišný charakter, po roce 1900 je však jejich průběh s určitým vertikálním posunutím totožný. Od 60. let obě křivky prakticky splývají do křivky jedné, aby se od sebe vzájemně oddělily po roce 1980 a dále obě sledovaly vzestupný trend s určitými odchylkami a vzájemným posunutím.

Při porovnání průměrů pro jednotlivá stanovená období (graf č.23), nebyl v žádném období zjištěn významný rozdíl mezi hodnotami $\Delta^{13}\text{C}$ z povodí Plešného a Čertova jezera. Pro povodí čertova jezera platí, že hodnoty ze 70.-90.let jsou významně nižší než ve všech dalších sledovaných obdobích. U stromů z povodí Plešného jezera se hodnota $\Delta^{13}\text{C}$ období 70.-90. let významně liší od období do r.1950 a od hodnot pro 50.-70. léta.

Výsledkem tohoto porovnání je zjištění, že na obou sledovaných povodích, která jsou srovnatelná svojí nadmořskou výškou a která jsou si blízká svojí rozlohou, avšak liší se z geologicko-pedologického hlediska (povodí Čertova jezera je bohatší na živiny), tak i v zatížení atmosférickou depozicí (povodí Plešného jezera bylo zatíženo méně), nejsou hodnoty a průběh křivek $\Delta^{13}\text{C}$ významně odlišné.



Graf 22 Porovnání průběhu $\Delta^{13}\text{C}$ na povodí Plešného a Čertova jezera. CT avg je průměrná hodnota $\Delta^{13}\text{C}$ pro pětileté úseky stromů CT I až V, kdy u stromů CT I a II proběhl přepočet ročních hodnot na pětileté; PL avg je průměrná hodnota $\Delta^{13}\text{C}$ vypočítaná z měření stromů PL I až VI, přičemž jsou zobrazeny hodnoty pro pětileté úseky do r.1960 a po roce 1960 jsou zobrazeny hodnoty $\Delta^{13}\text{C}$ dvouletých úseků.

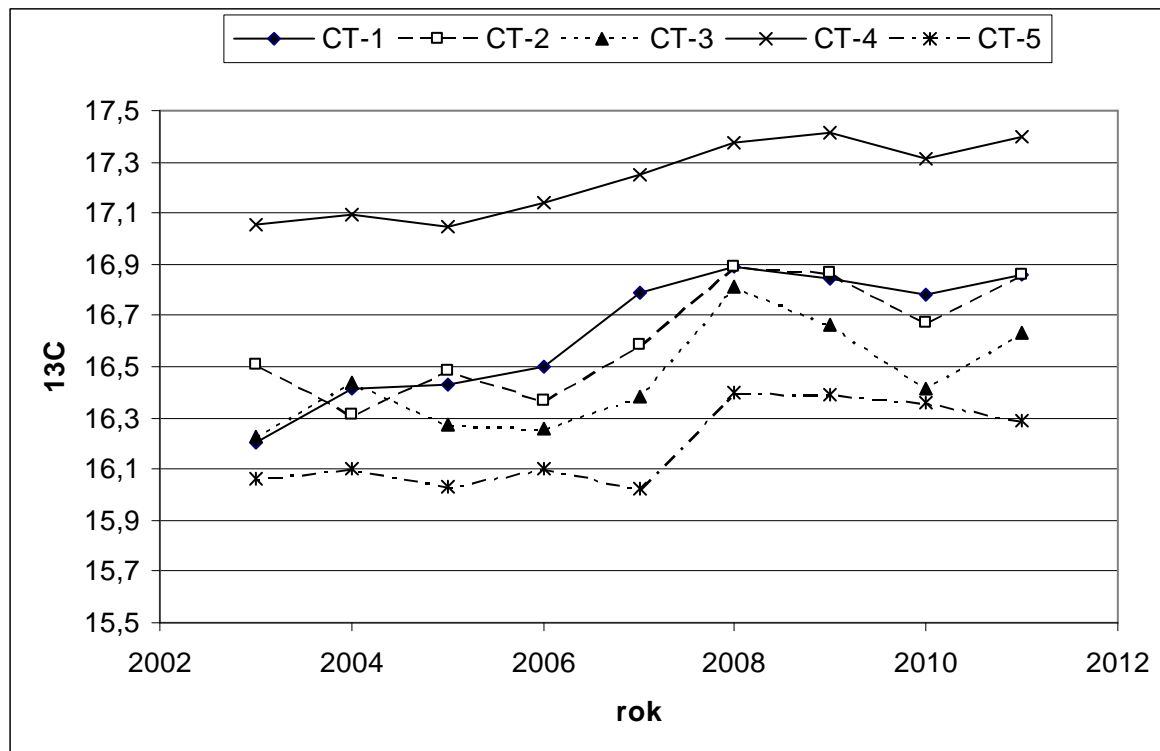


Graf 23 Porovnání průměrných hodnot $\Delta^{13}\text{C}$ pro jednotlivá období na obou povodích. CT jsou průměrné hodnoty vypočítané z 5 stromů (CT I až CT V) na povodí Čertova jezera, PL představuje hodnoty vypočítané ze stromů PL I až PL VI v povodí Plešného jezera pro dané časové období.

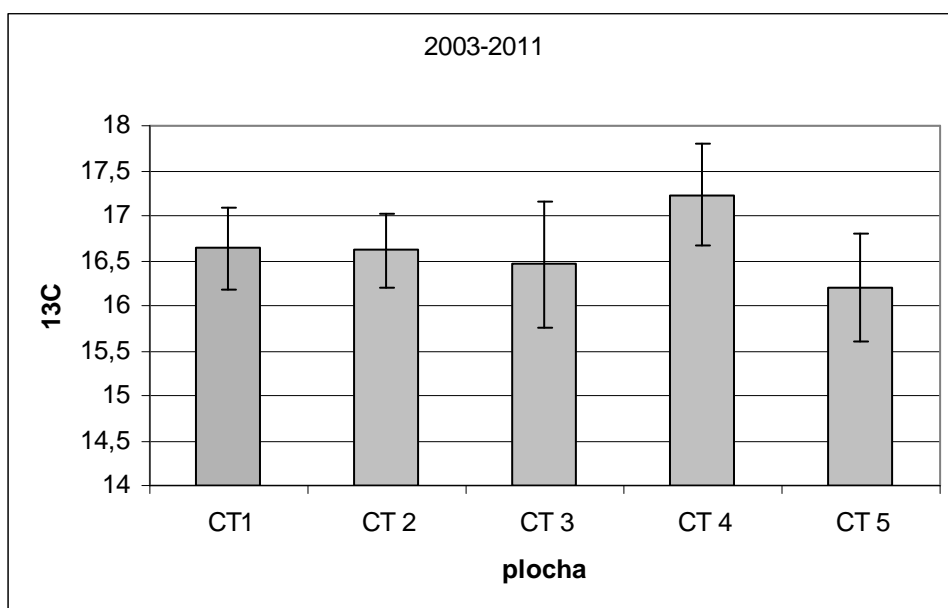
4.1.5 Zotavování smrků v současnosti

Cílem této části práce bylo získat data o průběhu izotopového signálu v posledních letech. Za tímto účelem byly odebrány vývrty ze stromů na transektu a analyzovány jednotlivé letokruhy z let 2003 až 2011.

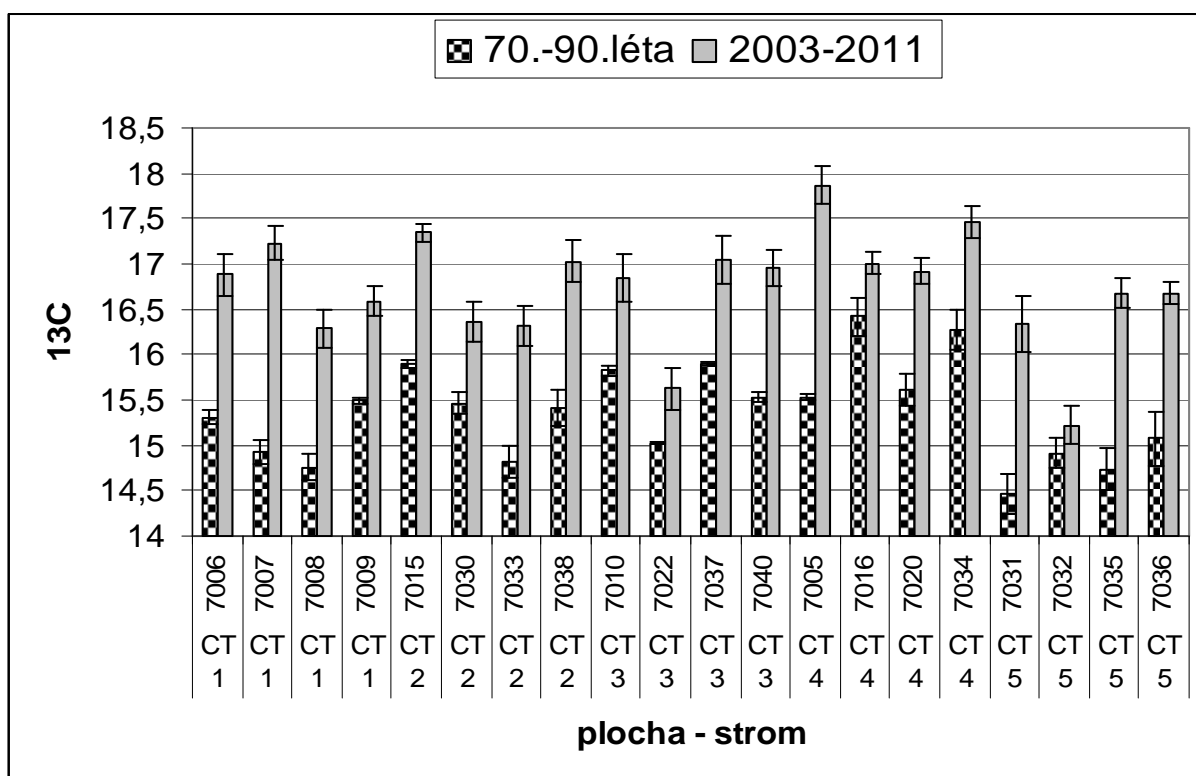
Na grafu č. 24 je vidět stagnace signálu $\Delta^{13}\text{C}$ mezi roky 2003 a 2006 na všech sledovaných plochách, dále mírný nárůst k roku 2008 až 2009. Mírný pokles můžeme pozorovat na všech plochách v roce 2010 a opět mírný nárůst pro rok 2011 s výjimkou plochy CT 5. Hodnoty průměrného izotopového signálu posledních let se od sebe na jednotlivých plochách významně neodlišují (graf č.25). I přes skutečnost, že proces ozdravování stromů a nárůst hodnot $\Delta^{13}\text{C}$ nepokračují tempem nastartovaným ve druhé polovině 80. let, je i z grafu č. 26 patrné, že se situace značně zlepšila. Pro všechny stromy platí, že průměrné hodnoty signálu $\Delta^{13}\text{C}$ v období 70.-90. let jsou významně nižší než průměrné hodnoty z let 2003-2011. Celková průměrná hodnota $\Delta^{13}\text{C}$ vypočítaná ze všech stromů a ploch za období 70.-90.let je 15,37‰ ($\square = 0,13$), zatímco pro období 2003-2011 vystoupala tato hodnota na 16,74‰ ($\square = 0,2$).



Graf 24 Průběh izotopového signálu na plochách CT 1až CT 5 v letech 2003-2011.



Graf 25 Porovnání průměrných hodnot $\Delta^{13}\text{C}$ za období 2003-2011 na plochách CT 1 až CT 5.



Graf 26 Hodnoty izotopového signálu pro jednotlivé stromy na plochách. Zobrazeny průměrné hodnoty pro období 2003-2011 a průměrné hodnoty pro období 70.-90.let pro jednotlivé stromy na plochách CT 1 až 5.

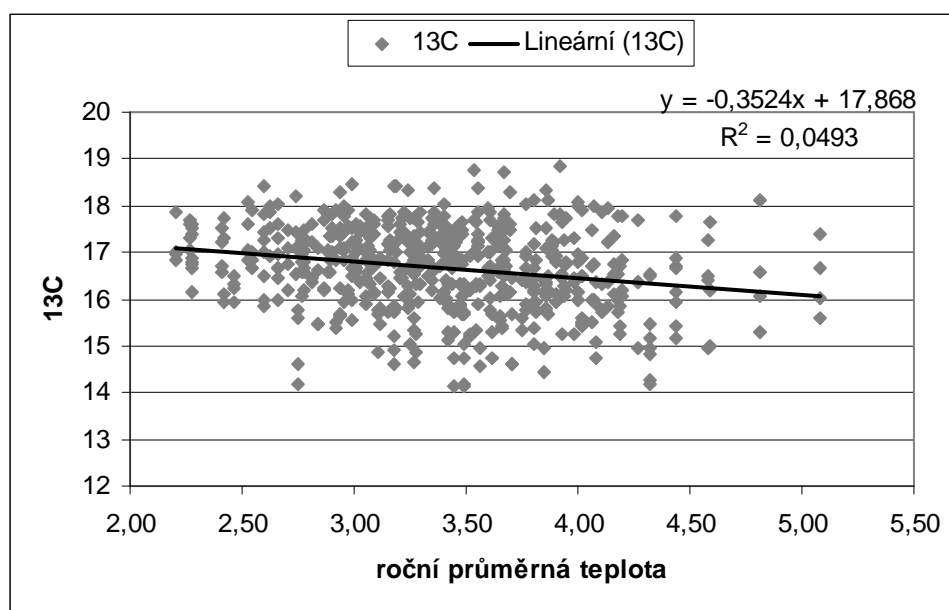
4.1.6 Porovnání izotopového signálu $\Delta^{13}\text{C}$ v letokruzích s dostupnými daty o průběhu pH a průměrné roční teploty

Cílem této části práce bylo porovnat naměřené hodnoty $\Delta^{13}\text{C}$ v letokruzích s dostupnými daty o průměrných ročních teplotách a pH půdy.

- **souvislost mezi $\Delta^{13}\text{C}$ a průměrnou roční teplotou**

Vzhledem k předcházejícím výsledkům analýz izotopového signálu a vlivu nadmořské výšky a s tím související změnou teploty, kde pro analyzovaná data nebyla zjištěna závislost, jsem se rozhodla pracovat pouze s jednotlivými (ročními) letokruhy ze stromů CT I a CT II z toho důvodu, že pro pětileté bločky letokruhů by bylo nutné převést roční průměrné teploty na pětileté, čímž by se informace o teplotě do značné míry znehodnotila.

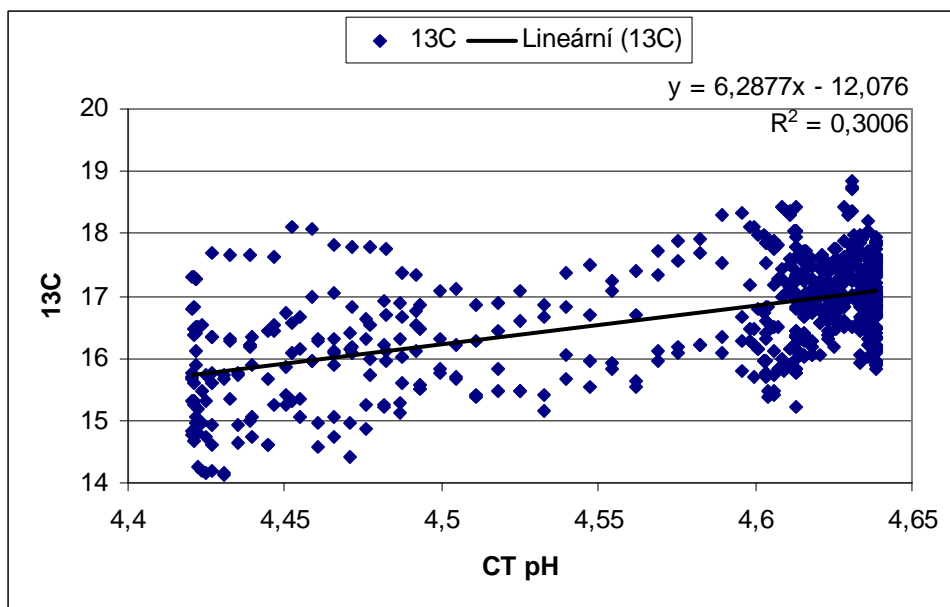
Na grafu 27 je zobrazena závislost hodnot $\Delta^{13}\text{C}$ na průměrné roční teplotě a jak je z grafu patrné, teplota není hlavním faktorem, který by ovlivňoval izotopový signál.



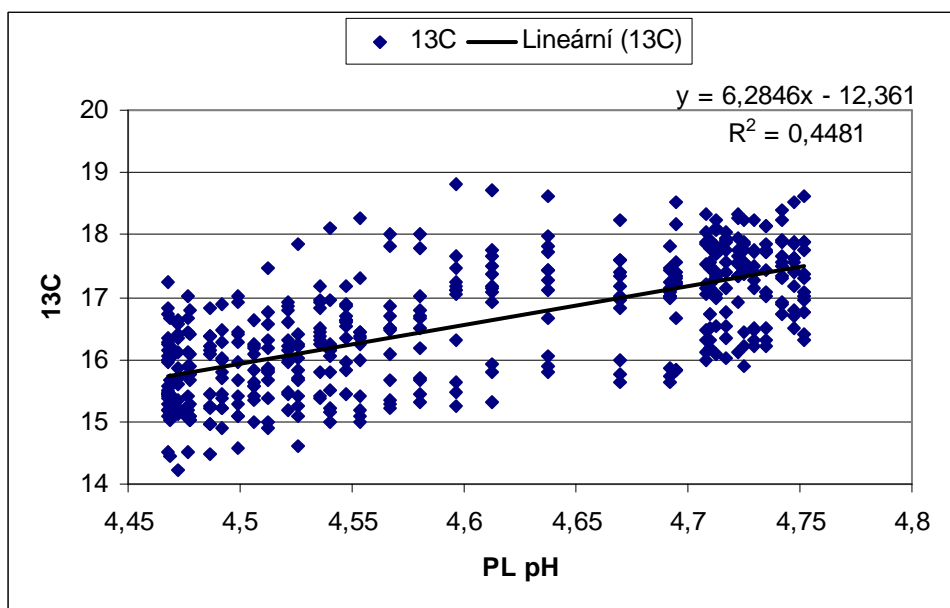
Graf 27 Zobrazení závislosti izotopového signálu na teplotě.

- **závislost $\Delta^{13}\text{C}$ na pH půdy**

Vliv pH půdy na hodnoty $\Delta^{13}\text{C}$ byl zjišťován zvlášť pro každé povodí. Pro povodí Čertova jezera byly použity roční hodnoty $\Delta^{13}\text{C}$ ze stromů CT I a CT II a modelované roční hodnoty pH půdy (Majer et al., 2003). Pro povodí Plešného jezera byly použity všechny měřené hodnoty $\Delta^{13}\text{C}$ u stromů PL I až PL VI a modelované hodnoty půdního pH pro toto povodí byly přepočítány na příslušné dvou a pětileté průměry. Pro obě povodí vychází velice podobná rovnice lineární regrese (graf 28 a 29).



Graf 28 Závislost hodnot $\Delta^{13}\text{C}$ na pH půdy. Roční modelované hodnoty pH pro půdu v povodí Čertova jezera (podle Majera et al., 2003) vs. jednotlivé letokruhy stromů CT I a CT II. Zobrazena rovnice lineární regrese a hodnota spolehlivosti R.



Graf 29 Závislost hodnot $\Delta^{13}\text{C}$ na pH půdy pro povodí Plešného jezera. Pro graf byly použity hodnoty $\Delta^{13}\text{C}$ dvou a pětiletých bloků letokruhů a modelované hodnoty půdního pH pro toto povodí přepočítané na příslušná časová období. Zobrazena rovnice lineární regrese a hodnota spolehlivosti R.

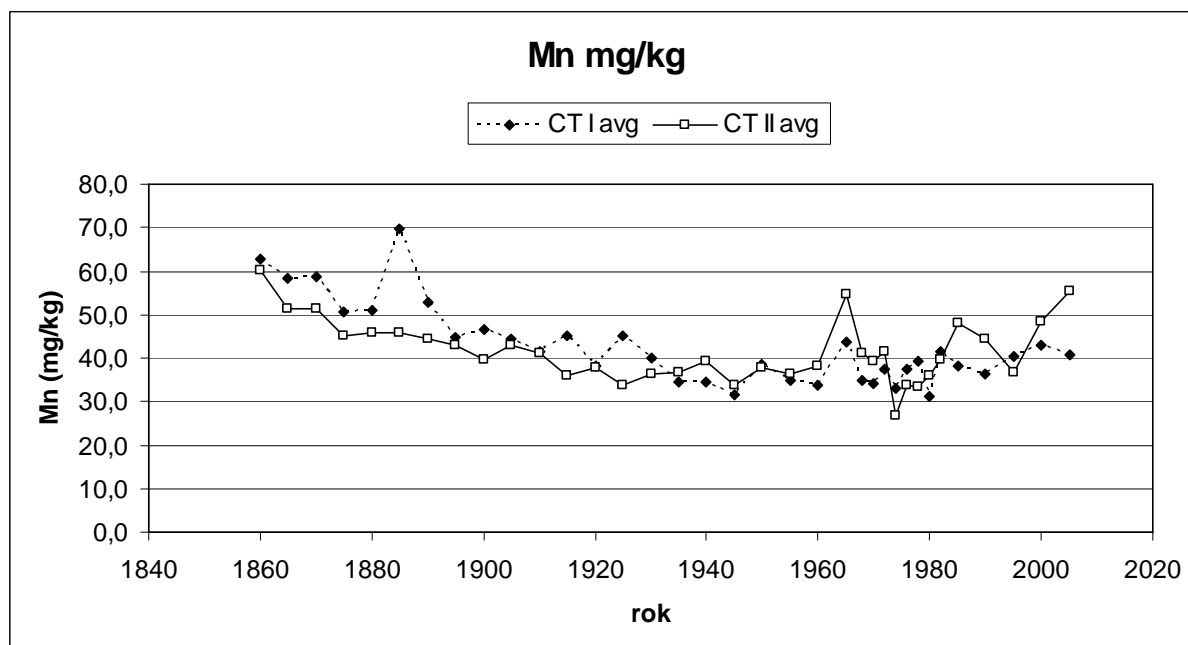
Z obou výše uvedených grafů je patrný vliv pH půdy na hodnoty $\Delta^{13}\text{C}$, který je shodný pro obě povodí i přes to, že v případě povodí Plešného jezera vstupovaly do výpočtů průměrné pětileté hodnoty. S ohledem na hodnoty spolehlivosti, však nelze půdní pH považovat za jediný či hlavní zdroj variability signálu $\Delta^{13}\text{C}$.

4.2 Obsah některých prvků

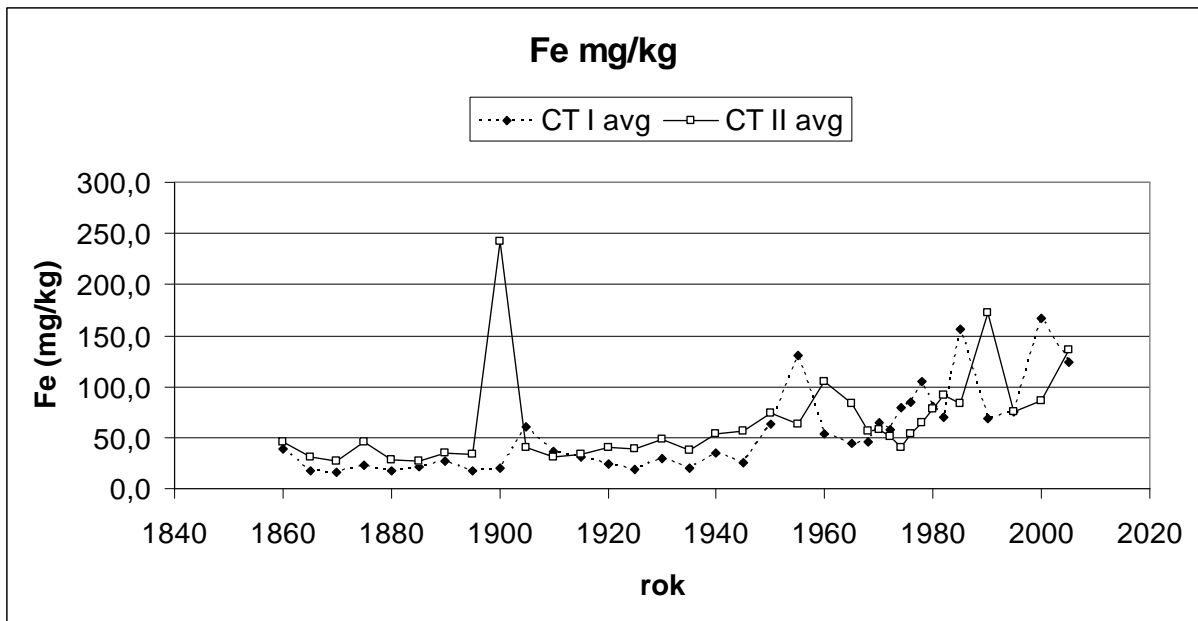
Cílem chemických analýz letokruhů bylo zjistit, zda se acidifikace odrazila v prvkovém složení letokruhů. Stanovované prvky byly Mn, Fe, Mg, Na, Ca, a K.

Obsah manganu (graf 30 v obou stromech má klesající tendenci od začátku sledovaného období zhruba do 50. let minulého století, dále je značně rozkolísaný s mírným nárůstem v posledních letech. Železo (graf 31) ve zkoumaných vzorcích kolísá se vzestupnou tendencí od 40. až 50. let minulého století do dnešní doby. Obsah hořčíku (graf 32) je značně nevyrovnaný v celém sledovaném období a není možné zde posuzovat trendy. Podobně se vyvíjí i obsahy sodíku (graf 33) ve vzorcích. Největší kolísání obsahu sodíku ve vzorcích je od 50. do 90. let. Obsah vápníku (graf 34) je víceméně vyrovnaný po celé sledované období. Ve zkoumaných vzorcích je obsah draslíku (graf 35) relativně stabilní do 50. let, mírné zvýšení v 60. letech, následuje propad a dále rozkolísané obsahy s mírně stoupající tendencí.

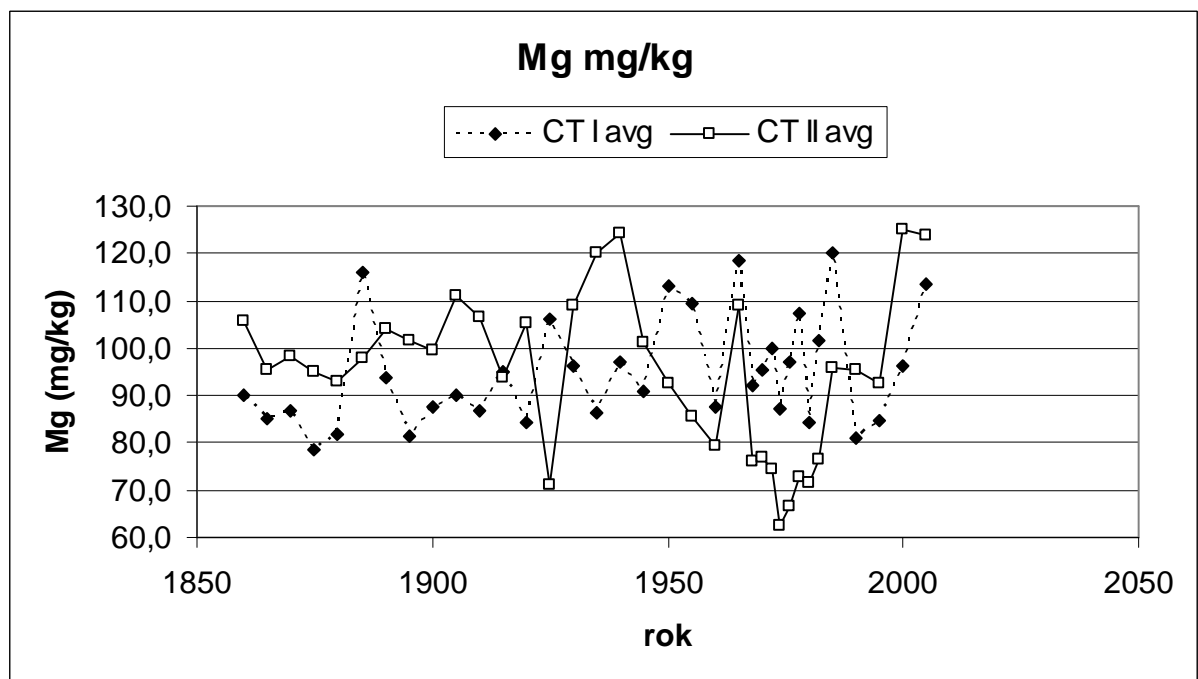
Průběhy koncentrací jednotlivých prvků byly rozděleny na čtyři období podle atmosférické depozice stejně, jako v případě hodnocení signálu $\Delta^{13}\text{C}$. Pro žádný ze stanovovaných prvků nejsou na základě zjištěných koncentrací (a směrodatných odchylek) odlišitelná jednotlivá období (graf 36).



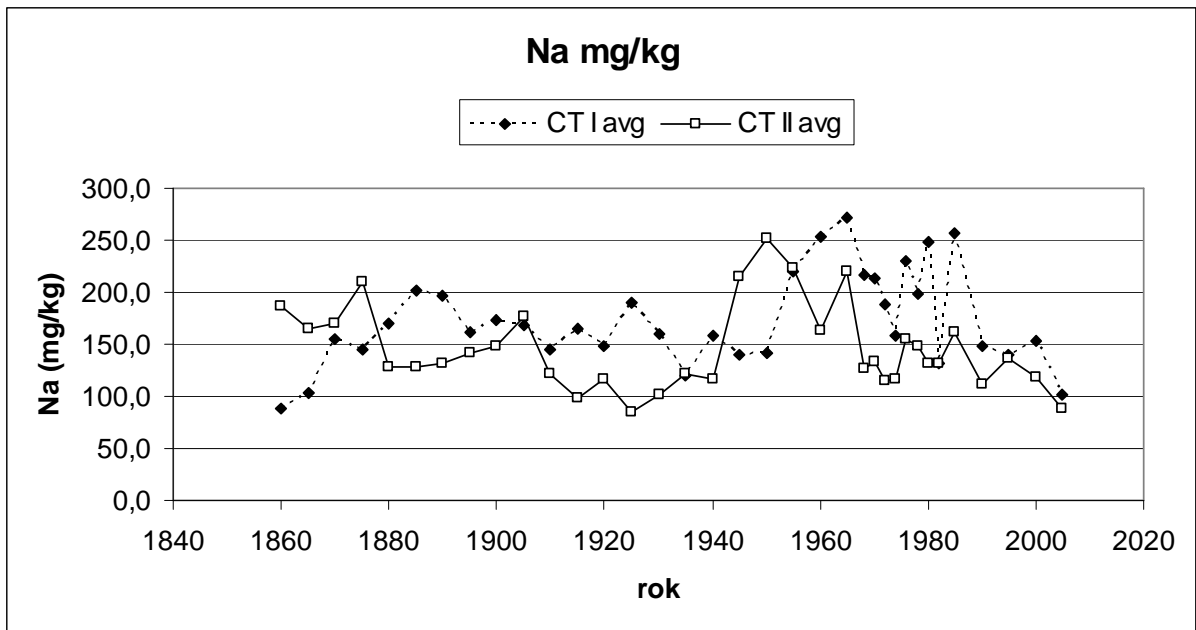
Graf 30 Obsah manganu. Průměrné hodnoty ze dvou vývrtů pro jeden strom.



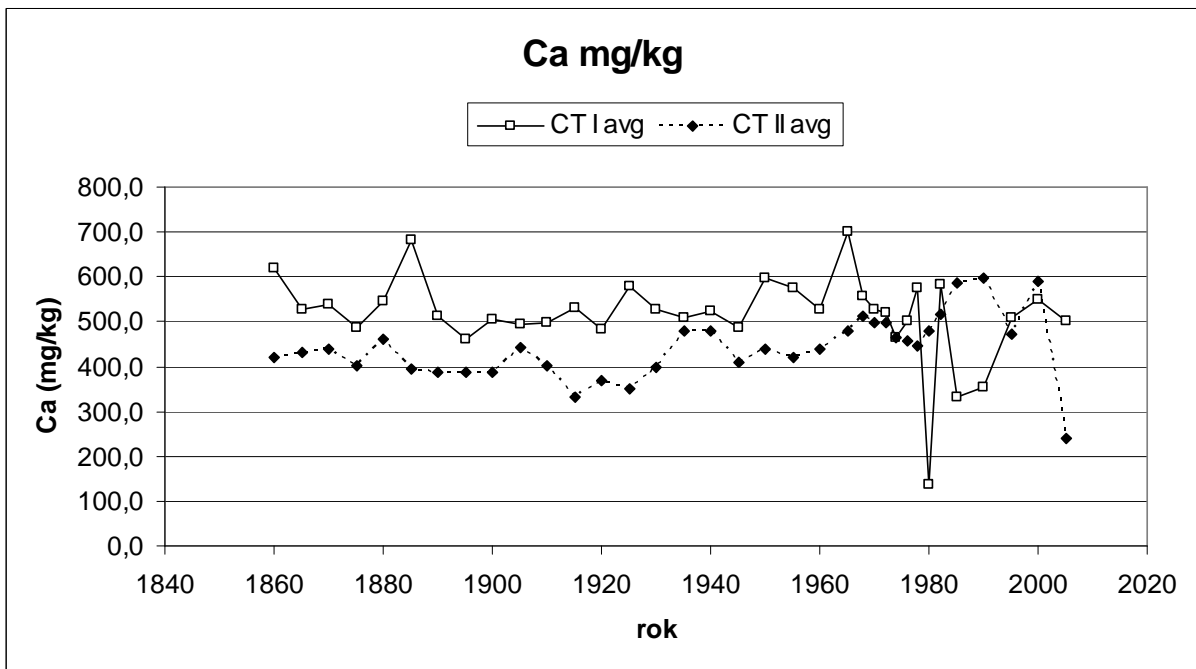
Graf 31 Obsah železa. Průměrné hodnoty ze dvou výtřtů pro jeden strom.



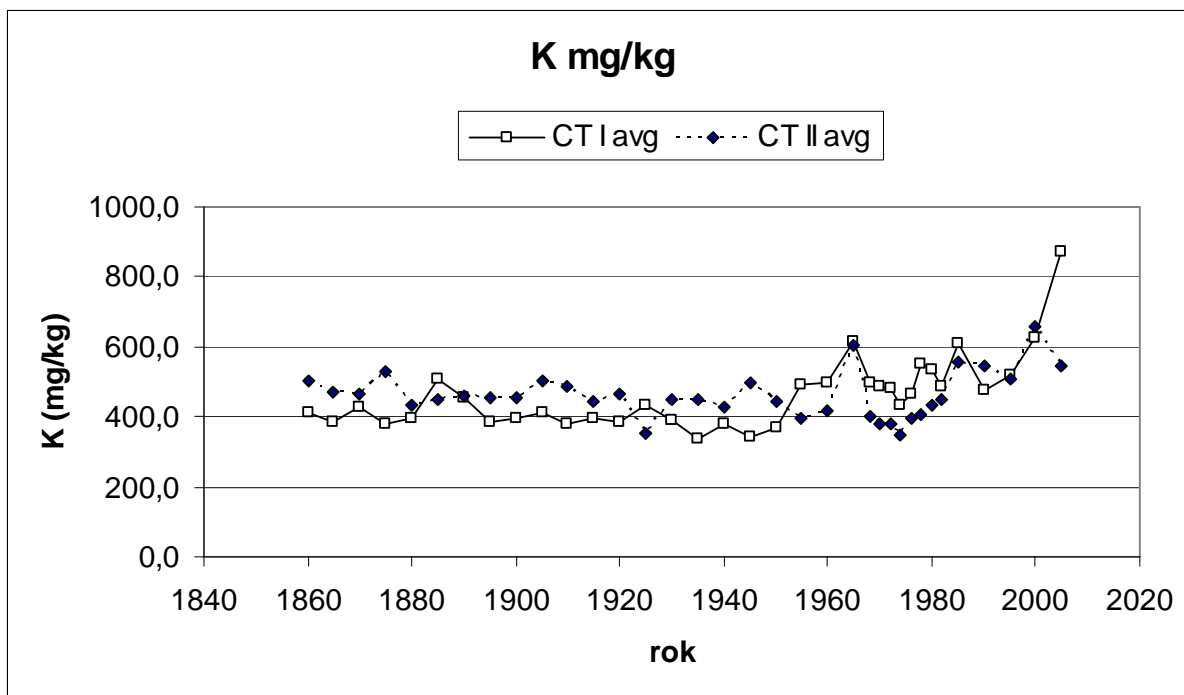
Graf 32 Obsah hořčíku. Průměrné hodnoty ze dvou výtřtů pro jeden strom.



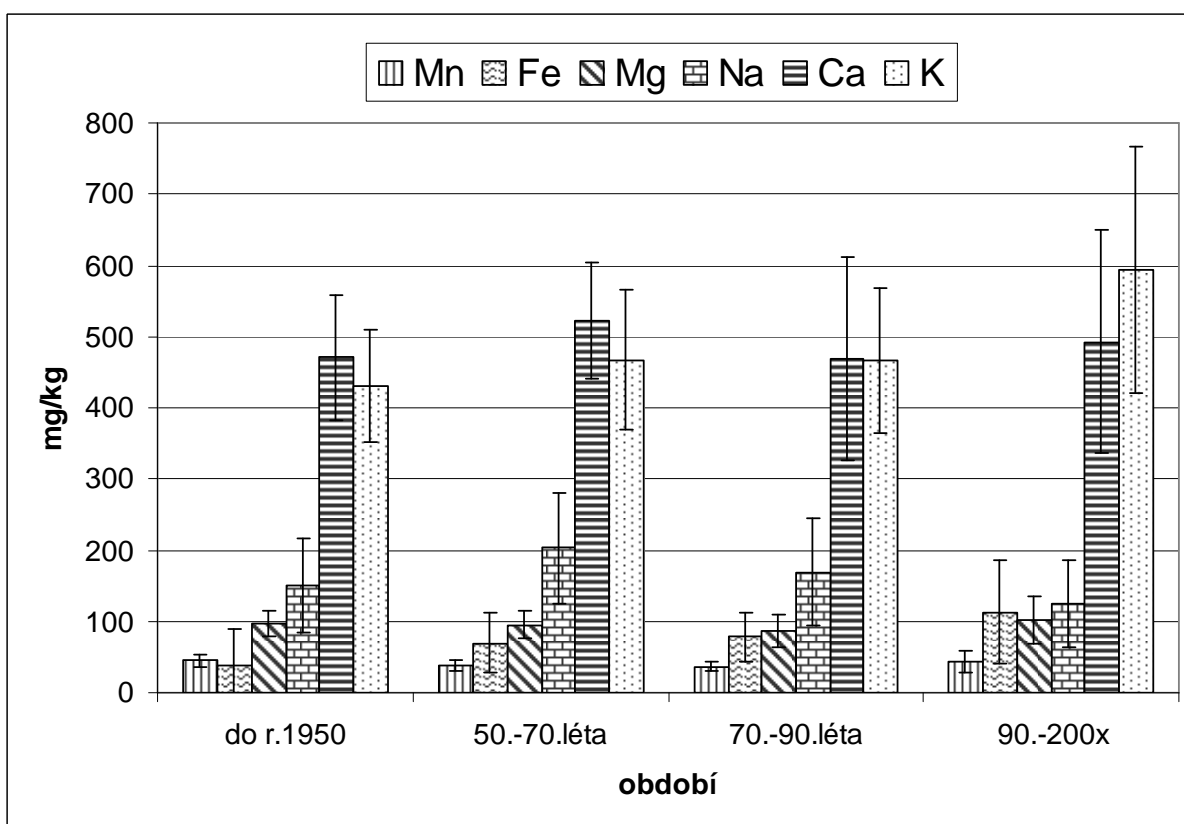
Graf 33 Obsah sodíku. Průměrné hodnoty ze dvou výtvtů pro jeden strom.



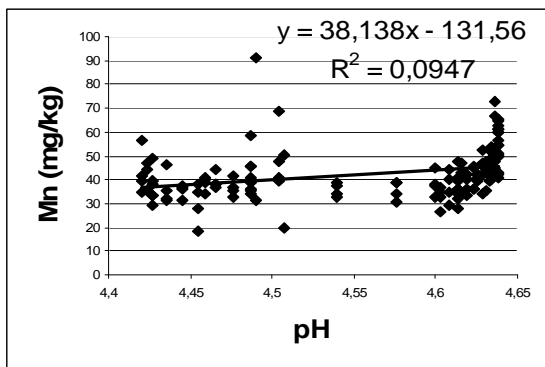
Graf 34 Obsah vápníku. Průměrné hodnoty ze dvou výtvtů pro jeden strom.



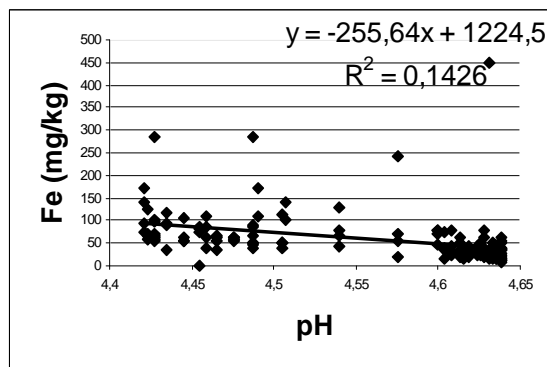
Graf 35 Obsah draslíku. Průměrné hodnoty ze dvou vývrtů pro jeden strom.



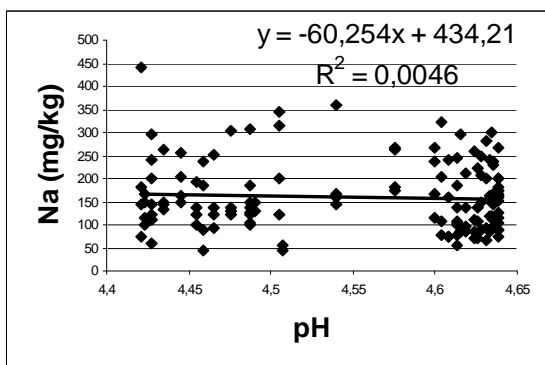
Graf 36 Obsah jednotlivých prvků v letokruzích podle období s různým zatížením atmosférickou depozicí.



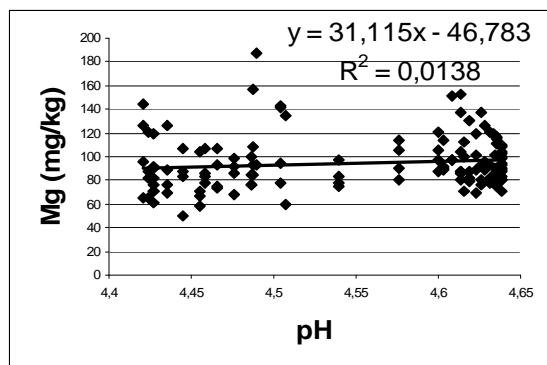
Graf 37 Závislost obsahu manganu na pH půdy.



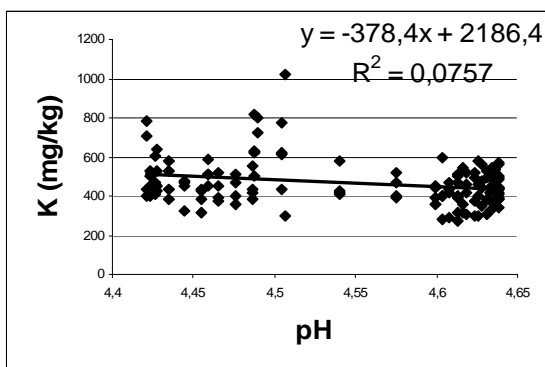
Graf 40 Závislost obsahu železa na pH půdy.



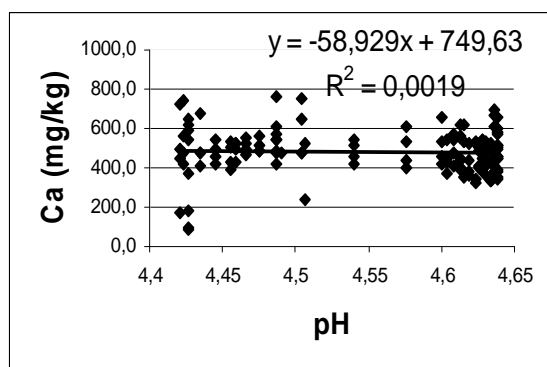
Graf 38 Závislost obsahu sodíku na pH půdy.



Graf 41 Závislost obsahu hořčíku na pH půdy.



Graf 39 Závislost obsahu draslíku na pH půdy.



Graf 42 Závislost obsahu vápníku na pH půdy.

Na grafech číslo 37 až 42 je vyjádření závislosti obsahu jednotlivých prvků v letokruzích na pH půdy. Hodnoty půdního pH byly převzaty z modelování programem MAGIC (Majer et al., 2003). Z grafů je patrné, že se obsahy vybraných prvků v letokruzích v závislosti na půdním pH příliš nemění.

Průměrný obsah jednotlivých prvků ve dřevě a v kůře uvádějí následující tabulky 11 a 12. Velikost směrodatné odchylky je značně ovlivněna především u prvků, které mají výrazně rozdílný obsah ve vyzrálém (jádrovém) dřevě a v běli.

Dřevo	K	Na	Ca	Mg	Mn	Fe
Průměrný zjištěný obsah (mg/kg)	463,3	159,8	493,8	94,9	42,1	60,8
Směrodatná odchylka (mg/kg)	114,0	73,6	184,4	22,0	10,3	56,1

Tabulka 11 Obsah jednotlivých prvků vypočítaný jako aritmetický průměr ze všech měřených vzorků dřevní hmoty a jeho směrodatná odchylka.

Kůra	K	Na	Ca	Mg	Mn	Fe
Průměrný zjištěný obsah (mg/kg)	1273,5	31,6	10547,2	429,6	265,6	100,7
Směrodatná odchylka (mg/kg)	281,3	8,7	1388,8	108,4	41,5	25,6

Tabulka 12 Obsah jednotlivých prvků v kůře vypočítaný jako aritmetický průměr ze čtyř vzorků a jeho směrodatná odchylka.

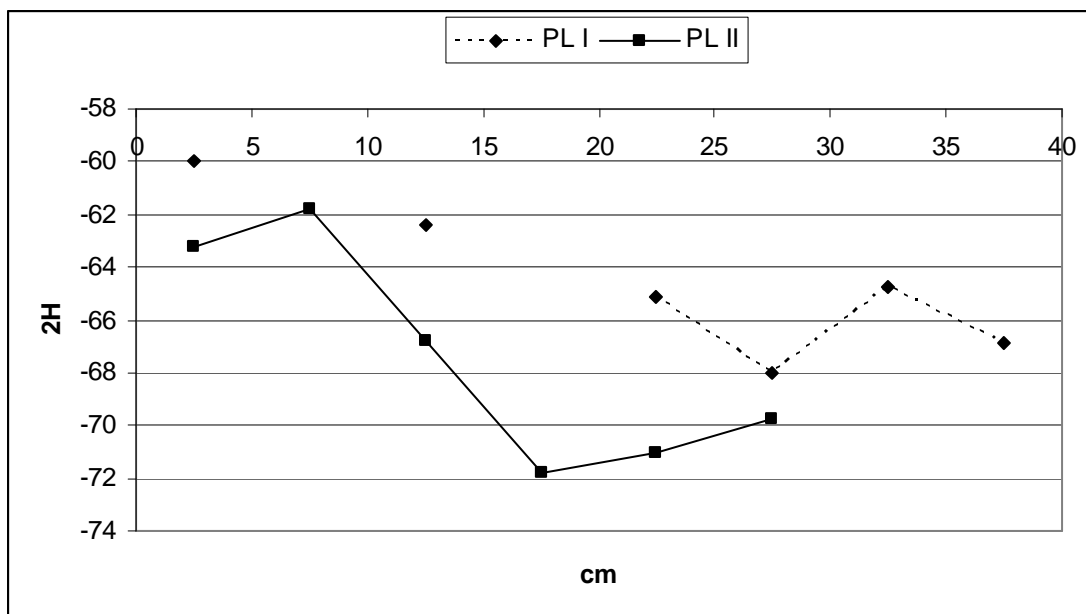
Z uvedených výsledků vyplývá, že se na obsahu jednotlivých prvků u zkoumaných stromů neprojevil vliv období s různou atmosférickou depozicí, stejně jako se výrazněji neprojevil změny v půdním pH.

4.3 Izotopové analýzy δD a $\delta^{18}O$

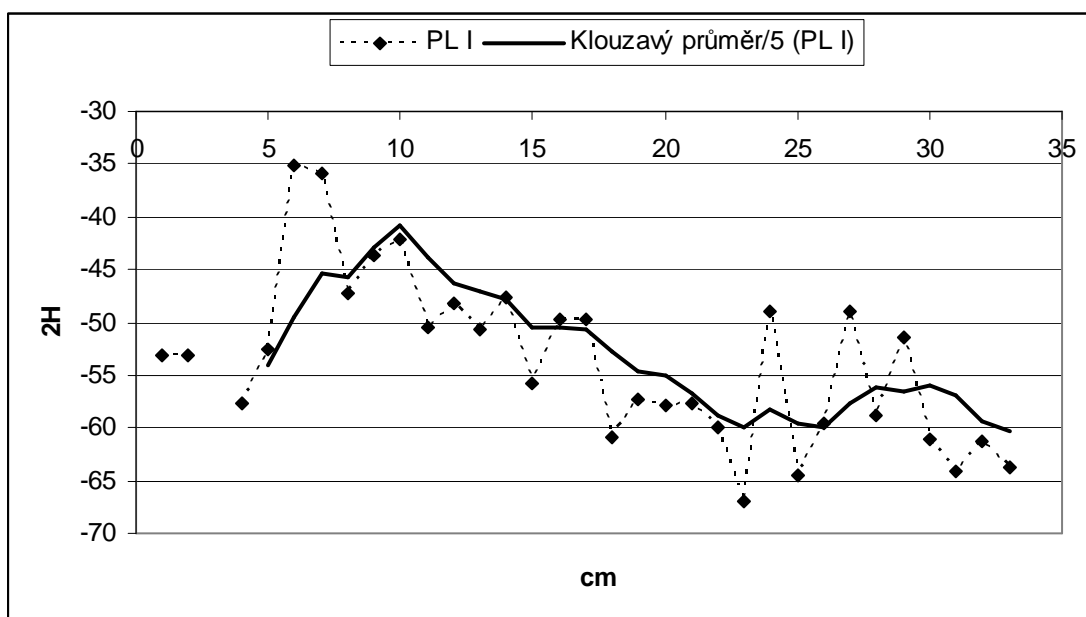
Cílem této kapitoly bylo zjistit, zda je izotopový signál volné vody stejný na průřezu kmenem smrku. Pro provedení pilotního pokusu byly odebrány vzorky ze stromů PL I, PL II, PL VI a CT V.

Přehled dosažených výsledků přináší následující grafy (vzdálenost na ose x označuje vzdálenost od borky). Naměřené hodnoty pro δD v relativně méně ochuzených částech se pohybují okolo -65‰ a v relativně více ochuzené části okolo hodnot -70‰ u 5 a 0,5 cm vzorků. Vzorky o délce 1 cm působily problémy během kryodestilace, kdy množství vody destilované z těchto vzorků bylo z části příliš velké na to, aby bylo pojmuto do 100 μ l insertu a přitom příliš malé, aby mohlo být nataženo jehlou z 2,5 ml vialky. Pro tyto technické problémy se zpracováním je pro tento vývrt uveden pouze výsledkový graf, kde naměřené hodnoty nebudou dále komentovány. Hodnoty pro $\delta^{18}O$, které byly měřeny pouze na 0,5 cm vzorcích, se v relativně méně ochuzených částech kmene pohybovaly kolem -10‰ , v relativně ochuzenější části se pohybovaly povětšinou pod -11‰ .

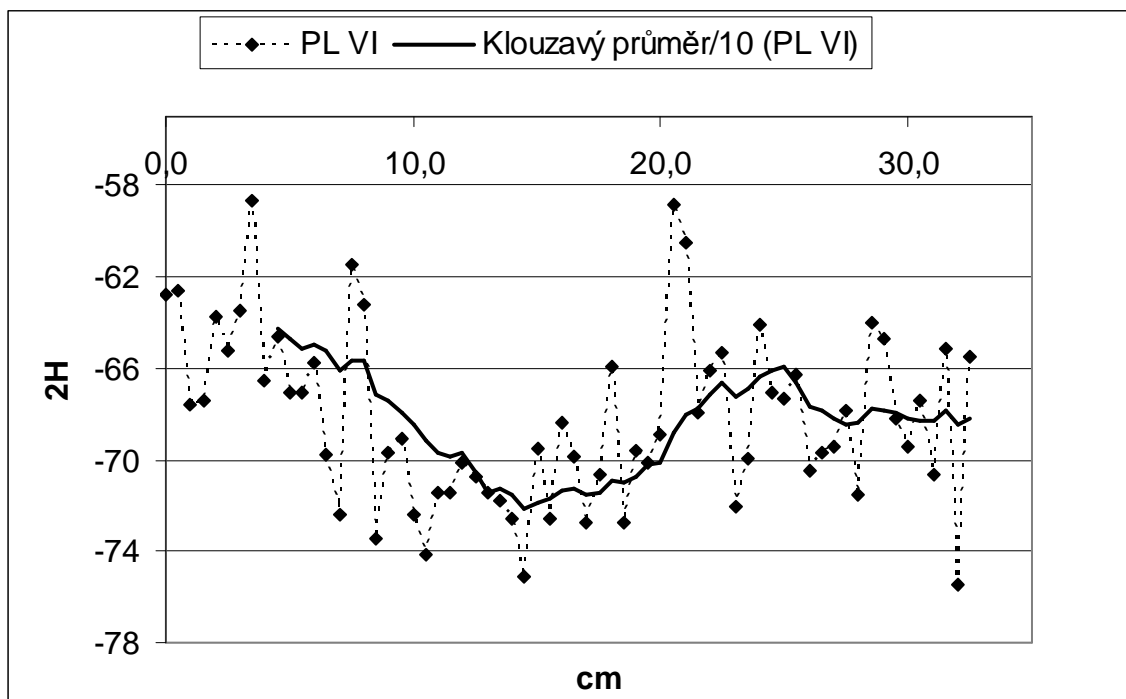
Naměřené hodnoty δD a $\delta^{18}O$ dávají v kmeni během dne (a transpirace) tušit rozdělení na zóny, a to na dvě oblasti obohacené vody pod kůrou a v centrální části kmene oddělené zónou s nižším obohacením vody. U vzorků, kde byla stanovována δD (‰) a $\delta^{18}O$ (‰), spolu obě hodnoty velmi dobře korelují.



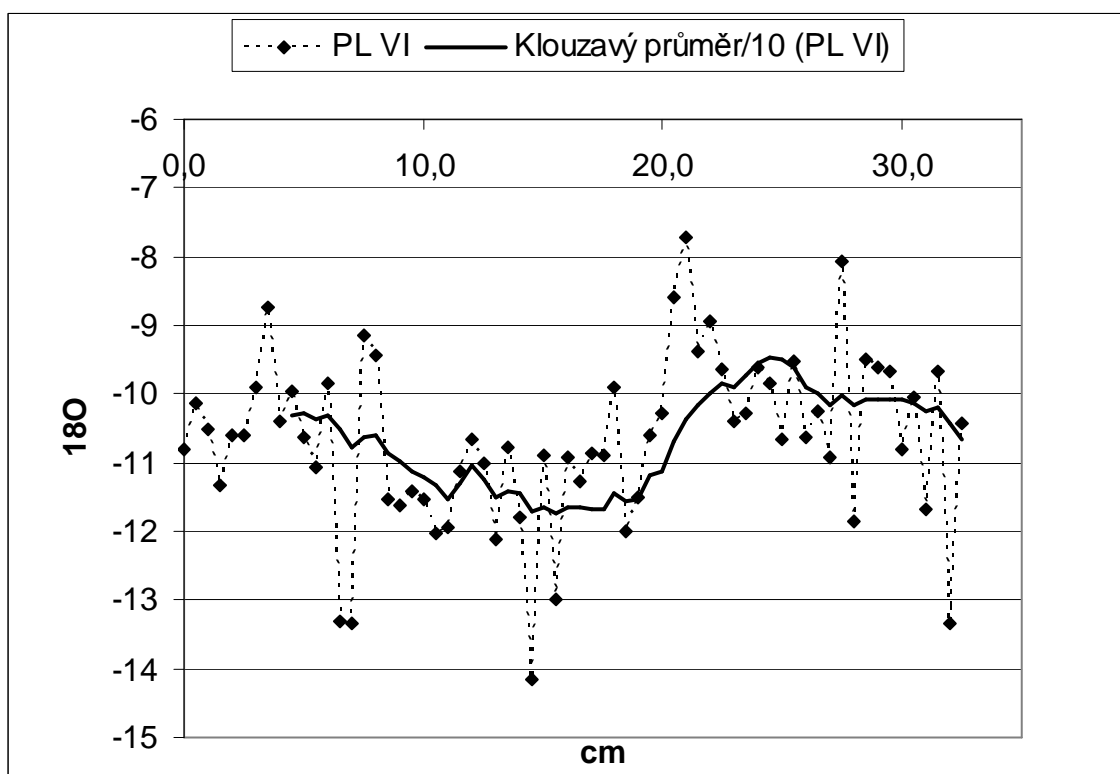
Graf 43 Průběh izotopového signálu δD (‰) ve volné vodě destilované po 5 cm úsecích z vývrtů stromů PL I a PL II (materiál odebrán v roce 2005). Hodnoty zobrazeny od kůry (=0 cm) směrem do středu kmene. Chybějící data v grafu jsou způsobeny rozbitím vialek během destilace.



Graf 44 Průběh izotopového signálu δD (‰) ve volné vodě destilované po 1 cm úsecích z vývrtů kmene stromu PL I. Hodnoty zobrazeny od kůry (=0 cm) směrem do středu kmene. Zobrazen klouzavý průměr z 5 vzorků (představující 5 cm úsek). Chybějící data v grafu jsou způsobeny rozbitím vialek během destilace.



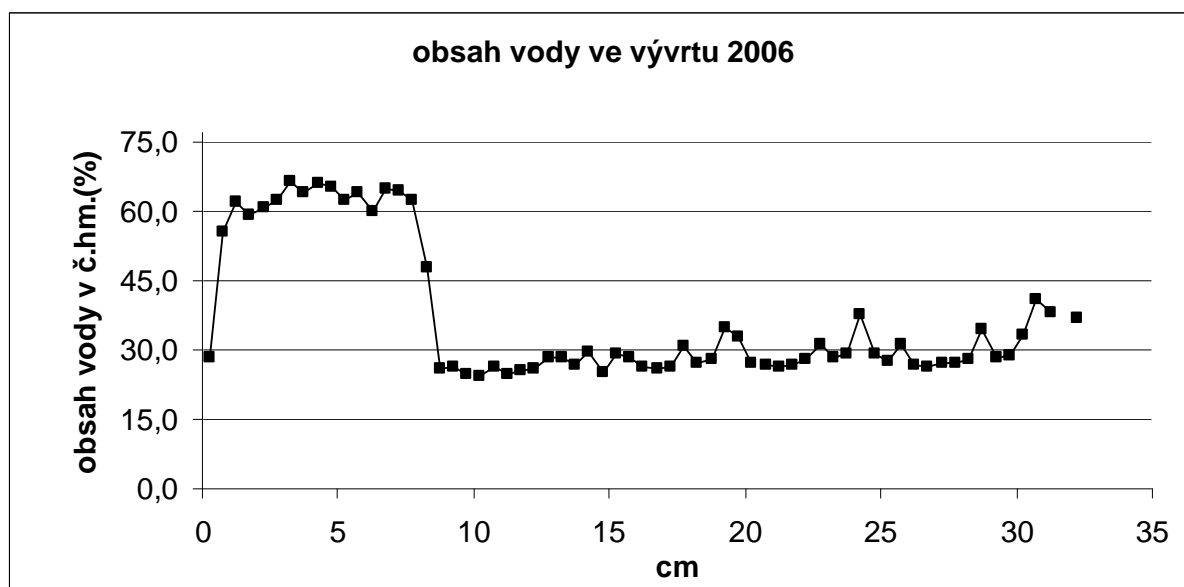
Graf 45 Průběh izotopového signálu δD (‰) ve volné vodě destilované po 0,5 cm úsecích z vývrtnu kmene stromu PL VI. Hodnoty zobrazeny od kůry (=0 cm) směrem do středu kmene. Zobrazen klouzavý průměr průměr z 10 vzorků (představující 5 cm úsek).



Graf 46 Průběh izotopového signálu $\delta^{18}O$ (‰) ve volné vodě destilované po 0,5 cm úsecích z vývrtnu kmene stromu PL VI. Hodnoty zobrazeny od kůry (=0 cm) směrem do středu kmene. Zobrazen klouzavý průměr průměr z 10 vzorků (představující 5 cm úsek).

Na všech výše uvedených grafech č.31-34 je průběh křivek izotopového signálu velmi podobný. Více či méně zřetelně se objevují dvě oblasti relativně méně ochuzené, které od sebe odděluje oblast s vyšším ochuzením vody o těžké izotopy.

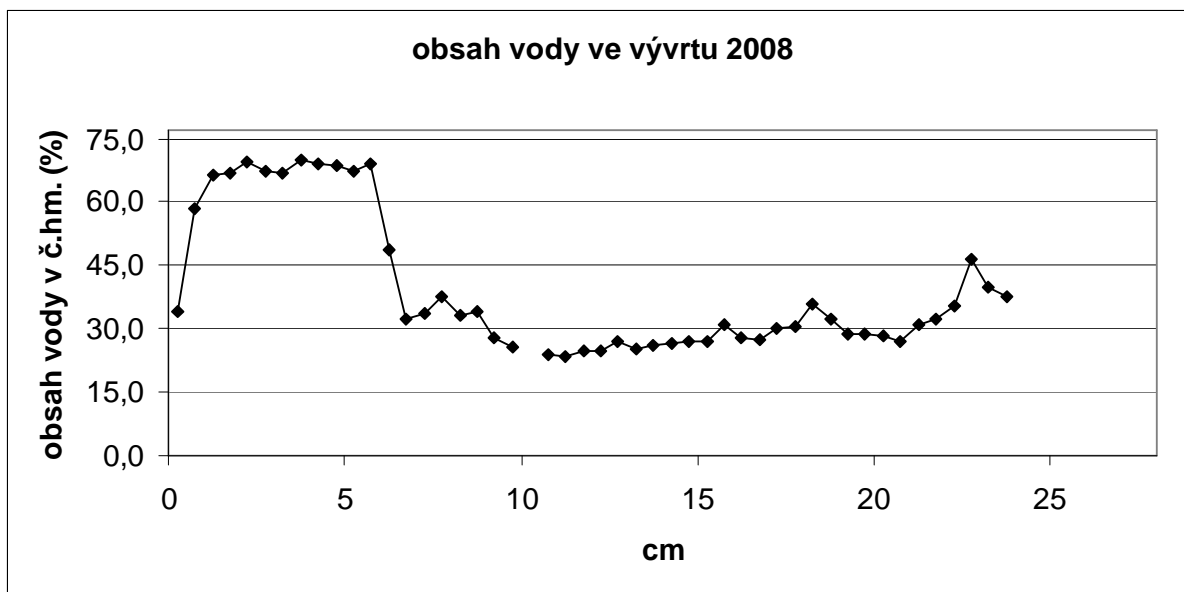
Následující graf 35 je zobrazením vlhkosti dřeva napříč kmenem u stromu PL VI. Kromě očekávané vysoké vlhkosti v oblasti fyziologicky aktivní běle, která vede vodu k asimilačním orgánům, je na grafu vidět i mírné zvýšení vlhkosti v oblasti středu kmene. Oblasti zvýšené vlhkosti a vyšších hodnot izotopového signálu v centrální části kmene u toho stromu se však zcela nepřekrývají. Zatímco mírně zvýšená vlhkost se dá pozorovat v jádru na délce vývrtnu zhruba po 30 cm, oblast vyšších hodnot izotopového signálu se objevuje již při délce 20 cm.



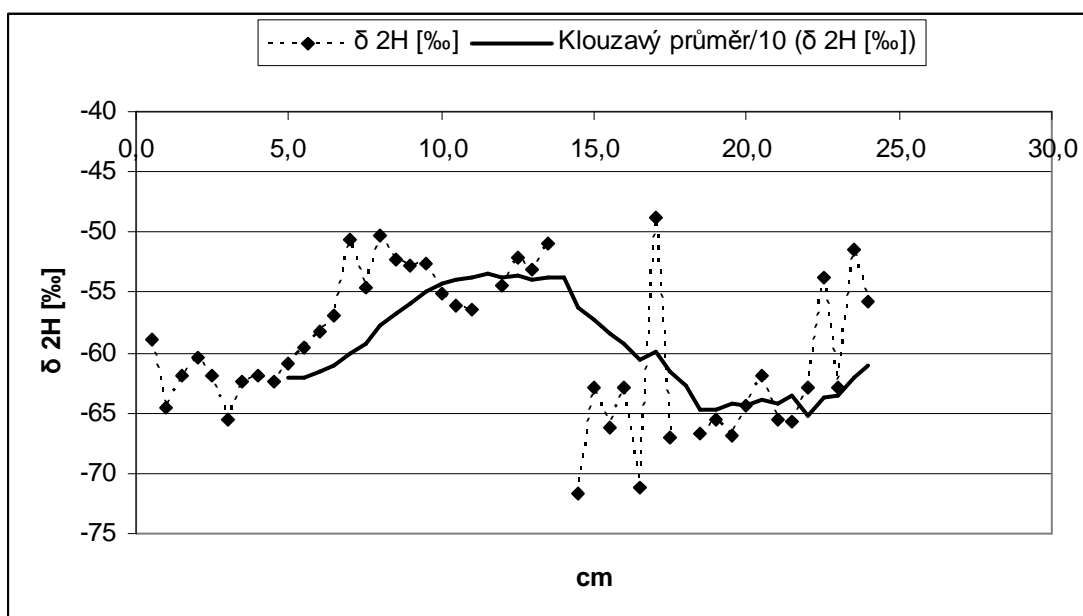
Graf 47 Průběh obsahu vody (zobrazeno v procentech hmotnosti čerstvého vzorku), ve volné vodě destilované po 0,5 cm úsecích z vývrtnu kmene stromu PL VI. Hodnoty jsou zobrazeny od kůry (=0 cm) směrem do středu kmene.

V roce 2008 byl odebrán vývrt ze stromu CT V na Jezerní hoře. Analyzován byl po 0,5 cm úsecích. V době odběru ležela v této lokalitě nízká sněhová pokrývka a teplota vzduchu se v době odběru pohybovala nad nulou.

Při zhruba stejném vlhkostním průběhu křivek (následující graf 36) jako byl pozorován v roce 2006, tedy vysoká vlhkost v oblasti bělového dřeva a mírně zvýšené vlhkosti v jádru, v tomto případě mezi 21 a 24 cm délky vývrtnu, byl průběh křivky pro deuterium (graf 37) opačný proti stromu PL VI z roku 2006.



Graf 48 Průběh obsahu vody (zobrazeného v procentech hmotnosti čerstvého vzorku), ve volné vodě destilované po 0,5 cm úsecích. Hodnoty zobrazeny od kůry (=0 cm) směrem do středu kmene.



Graf 49 Průběh izotopového signálu δD (‰) ve volné vodě destilované po 0,5 cm úsecích. Hodnoty zobrazeny od kůry (=0 cm) směrem do středu kmene. Zobrazen klouzavý průměr průměr z 10 vzorků (představující 5 cm úsek). Chybějící data v grafu jsou způsobeny rozbitím vialek během destilace.

Výsledky z provedení pilotního pokusu ukazují, že při zvoleném způsobu zpracování a použitém vybavení pro odběr a zpracování vzorků jsou nejlepší 0,5 cm úseky vývrtů. Zároveň průběh hodnot δD a $\delta^{18}O$ ukazuje rozdělení kmene na tři části, ve kterých jsou ve volné vodě odlišné poměry těžších a lehčích izotopů jak u kyslíku, tak i vodíku.

5 Diskuse

5.1 Izotopový poměr $\Delta^{13}\text{C}$

Obdobný průběh všech křivek, znázorňující izotopové složení vzorků dřeva, nám ukazuje, že všechny stromy podléhaly stejnému efektu, který byl vyvolán podmínkami prostředí. Z tohoto pohledu je shoda hlavních trendů důležitější, než naměřené absolutní hodnoty.

Kolísání a mírný nárůst hodnot $\Delta^{13}\text{C}$ u některých stromů na konci 19. století může být způsoben ukončením dlouhodobé pastvy hospodářských zvířat v tehdejším porostu a těžbou dřeva (Veselý, 1994).

Rapidní pokles izotopového signálu mezi lety 1950 a 1980 přichází ve stejné době, kdy prudce stoupá imisní zátěž, která odstartovala acidifikaci půd, následovanou a propojenou se sníženou dostupností bazických kationů a zvýšenou aktivitou toxického hliníku (Kopáček et al. 2002^a; Séguin et al. 2004). Podle Šantrůčkové et al. (2004) se největší změny v chemismu při acidifikaci půd odehrávají v horní humusové vrstvě, kde má mělce kořenící smrk většinu svých kořenů (Puhe 2003; Ostonen et al. 2005). Vyšší koncentrace hliníku v půdě způsobuje, že kořeny rostlin neprorůstají do spodnějších půdních vrstev, neboť hliník zastavuje kořenový růst již při mikromolárních koncentracích (Ma 2005).

Pokles $\Delta^{13}\text{C}$ pod průměrné hodnoty v 60. letech minulého století svědčí o poklesu dostupnosti CO_2 v chloroplastech. $\Delta^{13}\text{C}$ se snižuje se zvyšujícími se emisemi síry a stoupající koncentrací hliníku v půdě a snižujícím se poklesem pH, který je známkou nepříznivého vlivu atmosférického znečištění a půdního chemismu na fotosyntetickou fixaci CO_2 .

Hlavní důsledek narušení průběhu fotosyntézy je pomalý růst stromů a pokles produkce dřevní hmoty, který by měl následovat změny v izotopovém signálu (Martin et Sutherland, 1990). Při výzkumu nebyly sledovány žádné růstové a produkční parametry, ale snížení přírůstu smrků v Bavorském lese popsal Wilson et Elling (2004) a v severní části České republiky (Kroupová, 2002) na místech s kyselým podložím a podobným průběhem atmosférického znečištění ve stejném časovém období.

Kyselé deště v 70. a 80. letech mohly mít rovněž vliv na izotopový signál. Spad síry může způsobovat především poškození jehlic a listů stromů (Suttinen et al. 1998). Poškození asimilačního aparátu se projeví ve fixaci uhlíku rostlinou. Změny ve stomatální vodivosti měly za následek jasný pokles izotopového signálu ^{13}C letokruhů v oblastech blízko hutí, jak

popisují Martin et Sutherland (1990) a Savard et al. (2004). Relativně rychlý obrat v hodnotách izotopového signálu konce 80. a 90. let, pak může být způsoben právě rychlou regenerací asimilačního aparátu. Nicméně Schulze et al. (1989) nenašel žádné rozdíly v izotopovém signálu smrkových jehlic z porostů zdravých a silně ovlivněných znečištěním.

Rozdíly v $\Delta^{13}\text{C}$ u jednotlivých stromů pravděpodobně reflektují jejich odlišné genetické vybavy či sociální a ekologické postavení v porostu (McCarroll et Loader, 2004). Nebyly zjištěny statisticky významné rozdíly v závislosti na světové straně, ze které byl odebrán vývrt, a rovněž analýzy vzorků v několikaletých intervalech dávají dobré výsledky. Ke stejnému výsledku dospěl i Leawitt (2008) ve své práci, kde analyzuje směsné vzorky desetiletých intervalů ze čtyř stran každého stromu a to pro vybrané stromové jedince zvlášť a dohromady. Rovněž použití nestejně dlouhých intervalů (jednoletých, dvouletých a pětiletých bločků) pro analýzy, by mělo přinášet ve výpočtech jen zanedbatelnou chybu a nemělo by ovlivnit možnost porovnávat jednotlivé hodnoty, protože víceleté chronologie jsou vysoce synchronní s průměrem získaným z individuálních letokruhů stejného období (Linan et al., 2011). Použití směsných vzorků má své opodstatnění z časového i finančního hlediska a získané hodnoty neztácejí svoji reprezentativnost.

Při použití analýz izotopového signálu uhlíku v letokruzích pro klimatické a jiné rekonstrukce není třeba tato data detrendovat s ohledem na růst/stáří stromu na rozdíl od dendrochronologických studií, protože nevykazují žádné signifikantní trendy stárnutí (Young et al., 2011).

Samozřejmě je nutné počítat s efektem dlouhodobého působení smrkové monokultury, která má sama o sobě přirozeně okyselující vliv na půdy (Herbauts et De Buyl, 1981). Stejně jako s ovlivněním rostoucí teplotou a případně i nedostatkem srážek. Oblast je sice charakterizovaná jako oblast mírného vlhkého klimatu s poměrem mezi srážkami a výparem přes 0,8, kde je malá pravděpodobnost stresu ze sucha, přesto však svrchní půdní horizonty mohou vysychat, zejména během teplých letních dnů. Ostatně i poloha stromů ve svahu Jezerní hory či na vrcholu Plechého, kde jsou půdy velmi mělké se skalnatým podložím, nepředstavuje pro stromy mnoho dalších možností v získávání vody. Všechny tyto vlivy, jakkoliv protichůdně působí na růst stromu (acidifikace, stres ze sucha vs. nárůst teploty) jsou integrovány v hodnotách $\Delta^{13}\text{C}$. Vypovídací hodnota signálu $\Delta^{13}\text{C}$ může být do značné míry ovlivněna způsobem zpracování vzorků. Domnívám se, že použití celých letokruhů nejen letního dřeva a to bez extrakce celulózy jsou vhodnou volbou pro získání výsledků, a to především s ohledem na použití $\Delta^{13}\text{C}$ pro získání podkladů k hodnocení zdravotního stavu

stromů. Rozdíl hodnot izotopového signálu letokruhu celého dřeva a celulózy u stejného stromu není v čase konstantní, přičemž hodnoty izotopového signálu celulózy jsou citlivější ke klimatickým proměnným (Szmyczak et al. 2011), ale extrakce celulózy modifikovaná pro malé vzorky přenáší do měření chybu, a to až 0,4 ppt pro hodnoty ^{13}C (English et al., 2011), a zároveň podstatným způsobem zvyšuje pracnost a náklady na zpracování vzorků.

Z hlediska lesnické praxe a využití tohoto výzkumu je podstatný průběh signálu ^{13}C , který byl obdobný na obou povodích i přes jejich geologicko-pedologickou odlišnost a rozdíl v imisním zatížení. Předkládané výsledky rozšiřují a navazují na dříve publikovaný výzkum (Šantrůčková et al., 2007) na čtyřech stromech v oblasti povodí Plešného jezera.

5.2 Obsah jednotlivých stanovovaných prvků

Koncentrace prvků uvnitř kmene se může měnit jak v horizontálním, tak i ve vertikálním směru v závislosti na prvku a dřevině. Obsahy prvků v kůře jsou obvykle vyšší než ve zbytku kmene, zatímco rozdíl v bělovém a jádrovém dřevě závisí více na dřevině a konkrétním prvku (Meerts, 2002).

Vzestupný trend obsahu železa v posledních letech je v souladu s předpokladem, že se v chemismu letokruhů projeví acidifikace půd, při které se vyplavují bazické kationty (Ca, Mg a K) a na kationtovém výměnném komplexu půd stoupá koncentrace kyselých kationtů Mn, Al a Fe (Augustin et al., 2005; Séguin et al., 2004). Kationty jsou pak vedeny transpiračním proudem a následně ve vyšší koncentraci zabudovány do tkání rostlin (letokruhů).

U manganu v našich vzorcích nedošlo v posledních letech k výraznému zvýšení koncentrace, kterou by bylo možné dávat do souvislosti s acidifikací půd. Model MAGIC (Majer et al., 2003) v této lokalitě předpokládá od začátku sledovaného období do 50. let minulého století mírné snižování pH, které po roce 1950 klesá velmi prudce. Časová řada koncentrace manganu však navzdory očekávání v tomto období nestoupá, nýbrž klesá. To může být způsobeno tím, že pH půdy v této době sice klesalo, ale nedosáhlo ještě kritické hranice (Augustin et al., 2005), což znamená, že zůstala zachována určitá pufrací schopnost půdy.

Draslík ve zdravých stromech je v jádrovém dřevě relativně málo zastoupen a směrem k mladším letokruhům v běli jeho obsah stoupá. Meerts (2002) uvádí, že v bělovém dřevě smrku je jeho koncentrace asi třikrát vyšší než v jádrovém (konkrétně uvádí hodnoty 900 a 300 mg/kg). Ve srovnání s tímto, jsou hodnoty, které jsme naměřili v bělovém dřevě

podstatně nižší. Může jít o deficit prvku vyvolaný vysokou atmosférickou depozicí, což ale vzhledem k počtu vzorníkových stromů nelze tvrdit s určitostí. Je možné, že díky vysoké depozici bylo narušeno fungování protoplastu, protože při přeměňování běli na jádro symplast obsahující fosfor a draslík ustoupí do nověji formované běli (Smith et Shortle, 1996).

Koncentrace draslíku a hořčíku zhruba odpovídá hodnotám, které zjistila Hagen-Thornová et al. (2004) ve své studii o makroprvcích, koncentrace vápníku v našich vzorcích je zhruba o 1/3 nižší, tedy asi 200 mg/kg nižší než uvádí Meerts (2002). Koncentrace železa v našich vzorcích pak odpovídá výsledkům ze studie stejné autorky o mikroprvcích (Hagen-Thorn et Stjernquist, 2005) a koncentrace manganu je v našich vzorcích zhruba 4,5 krát nižší.

Kladná korelace vyššího obsahu hořčíku s vyšším pH je v souladu s acidifikací půd, kdy při nižších hodnotách pH se z půdy vyplavuje. Vyšší koncentrace sodíku při nižších hodnotách pH může být způsobena tím, že draslík, který se podle Barreleta et al. (2006) akumuluje především v letním dřevě, byl sodíkem nahrazen v souladu s částečnou vzájemnou zastupitelností, jak ji popisuje Nátr (1998).

Koncentrace prvků ve smrkové kůře u zdravých a odumírajících stromů zveřejnil Hauck et al. (2001). Pro smrky ze zdravých stanovišť je podle něj příznačná vyšší koncentrace následujících prvků: S, K, Fe, Mn, Pb a nižší koncentrace prvků N, Ca, Mg a Zn v kůře oproti stromům z odumírajících porostů. Všechny námi měřené koncentrace prvků v kůře jsou násobně vyšší, s výjimkou železa, než hodnoty zjištěné tímto autorem. Nicméně koncentrace vápníku v kůře odpovídá zjištění Österåse et al. (2005), avšak zjištěná koncentrace vápníku ve dřevě je oproti stejnému autorovi poloviční, což může být dáno i tím, že Österås et al. (2005) pracoval s osmiletými smrkami, kde mohou být zjištěné hodnoty výrazně ovlivněny juvenilním efektem. Na časové řadě sestavené z koncentrací vápníku v letokruzích není jednoznačně patrný pokles obsahu vápníku v důsledku snižující se vaznosti v nověji formovaných letokruzích, jak jej předpokládá Momoshima et Bondietti (1990).

Podle některých studií zaměřených především na sledování obsahu těžkých kovů v letokruzích (Nabais, Freitas et Hagemeyer 1999) se ukazuje, že obsah jednotlivých prvků závisí i na rychlosti růstu stromu, kdy v období pomalejšího růstu jsou ve dřevě vyšší koncentrace prvků.

Smith et Shortle (1996) zpochybňují letokruhy a jejich analýzy jako nástroj umožňující určit přesný rok environmentální změny. Rozhraní bělového a jádrového dřeva hraje velmi důležitou roli v redistribuci některých prvků. Některé prvky vykazují známky radiální mobility v kmenech stromů a přítomnost určitého prvku ve vysoké koncentraci nemusí být spolehlivým znakem pro datování znečišťující události v životním prostředí daného stromu

(Nabais, Freitas et Hagemeyer 1999). Bělové dřevo u jednotlivých stromů kolísá jak ve své šířce, tak v počtu letokruhů, které jsou součástí bělí, v závislosti na stáří stromu a dalších faktorech. Dendrochemické analýzy by měly být k retrospektivnímu biomonitoringu znečištění prostředí používány jen s velkou obezřetností (Smith et Shortle 1996, Nabais, Freitas et Hagemeyer 1999) a naopak mohou být vhodným doplněním jiných měření, kde společně s dalšími hodnotami, ať už izotopového signálu ^{13}C případně ^{18}O , nebo růstových či jiných charakteristik (výškový, tloušťkový přírůst aj.), vytvoří ucelenější obraz a pomohou tato další data zasadit a interpretovat v širším kontextu.

5.3 Izotopové analýzy δD a $\delta^{18}\text{O}$

V praxi se nejlépe osvědčila práce s 0,5 cm vzorky, kdy byla voda ze vzorků destilována do vialek s inserty, kdy nevznikaly problémy se zpracováním vzorků a nejlépe odpovídalo množství získaného materiálu potřebám pro analýzy. Zároveň je vysoká hustota získaných dat o izotopovém složení vody v kmeni, která je ovšem vyvážena vysokými finančními náklady na provedení analýz.

Při délce vzorků 5 cm a destilaci do vialek bez insertů rovněž nevznikaly žádné problémy a zároveň jde o variantu finančně nejúspornější, ale získaná data mají příliš hrubý charakter a nezachycují jemné změny v izotopovém složení. Nejhuře se pracovalo se vzorky o délce 1 cm, neboť část vzorků bylo třeba destilovat do vialek, zatímco druhou část do vialek s inserty a bylo velice obtížné odhadnout množství vody, které bude ze kterého vzorku vydestilováno (především v oblasti přechodné zóny mezi bělí a vyzrálým dřevem). Příliš malý objem ve vialce není možné natáhnout vzorkovací jehlou a objem použitých insertů byl maximálně 100 μl .

Obohacení vody v oblasti fyziologicky aktivní běle pozorované při odběrech v roce 2005 a 2006 je možné vysvětlit výparem vody přes kůru. Laboratoř ekologické fyziologie rostlin na svých stránkách (LEFR [online]) uvádí možný výpar stromů přes kůru v množství do 10% z celkového množství transpirované vody.

K obdobným závěrům dospěli i Dawson a Ehleringer (1993), kteří pozorovali obohacení vody v dřevnatých tkáních rostlin. Podle jejich studie dochází k většímu obohacení volné vody u listnatých stromů a u rychle rostoucích částí stromů (v nejmladších tkáních), které ještě nejsou dostatečně suberizovány, aby zabránily obohacení výparem. Již u tkání starších než 30 dní však nepozorovali obohacení vody v kmenech výparem z kůry. Difuze obohacené

vody z listu proti směru transpiračního proudu je, podle těchto autorů, nízká a klesá se vzdáleností listů od dřevnatých částí. Jejich studie je ovšem zaměřená pouze na hodnoty δD v tkáních jako celku a nesleduje vývoj hodnot δD na průřezu kmenem. Rovněž kryogenní vakuová destilace vzorků, jak uvádějí autoři, trvala jen jednu hodinu (versus 12 až 24 i více hodin, které trvaly destilace vzorků uváděných v této práci). Nedodestilováním vzorků může dojít ke zkreslení výsledků analýz ve prospěch lehčího izotopu, který se odpařuje snáz.

Ochuzení vody v oblasti běle pozorované v roce 2008 mohlo být způsobeno tím, že v době odběru ležela na povrchu sněhová pokrývka (voda pocházející z tání sněhu a vsakující se do půdy je v kontinentálních podmínkách výrazně ochuzenější proti srážkovým vodám letního období na stejném stanovišti), přitom teploty byly nad nulou. Stromy mohly být fotosynteticky aktivní a zatímco se těsně pod kůrou pohybovala výrazně ochuzená voda z tajícího sněhu, voda v jádrovém dřevě byla ještě z předchozího teplejšího období s vyšším obsahem těžších izotopů. Vzhledem k zimnímu charakteru počasí s vysokou vlhkostí vzduchu se výpar z půdy event. přes borku pravděpodobně blížil k nule.

Pro hodnoty izotopového signálu naměřené v okolí středu stromu nemáme zatím žádné vysvětlení. Celkově je poctivé říci, že vzhledem k malému počtu vzorníkových stromů, je potřeba výsledky prověřit ještě dalším měřením.

Pokud by se potvrdila existence relativně obohacenějších a ochuzenějších zón ve volné vodě v kmenu, bude důležité poznat mechanismy, které k tomuto rozvrstvení vedou. Pakliže by ale uvnitř kmene docházelo k jisté izotopové zonaci volné vody mohlo by docházet i k výměně již vázaných atomů kyslíku a vodíku. Tyto výměny by pak mohly ovlivnit celkový izotopový signál δD a $\delta^{18}O$ celulózy letokruhů a bylo by potřebné vzít je v úvahu při interpretaci dat ve studiích zabývajících se dlouhodobými klimatickými trendy apod.

Existenci výměny vázaných atomů kyslíku v holocelulóze diskutuje Wright (2008), který zopakoval analýzy materiálu z jedné studie po šesti letech skladování. Zhruba polovina vzorků vykazovala obohacení v hodnotách $\delta^{18}O$. Jako vysvětlení autor nepřipouští problémy s nehomogenitou vzorků ani analytickou chybu. Posledně jmenovaná by mohla být vysvětlením pouze pro část z vysoké variance souboru. Na odlišnosti výsledků se pak podle něj podílí z jisté části právě izotopová výměna (ovšem ta by vedla ve většině případů k nahrazení s ^{16}O a dále by ochuzovala hodnoty $\delta^{18}O$), za další důležitý zdroj variance považuje Wright rehydrataci vzorků spojenou s procesem extrakce a analýzy holocelulózy. Autor sice dokazuje změny v izotopovém složení po šesti letech skladování, nicméně důkazy k potvrzení či vyvrácení výměny kyslíku před dokončením extrakce celulózy jsou neprůkazné.

6 Návrh metodiky pro využití analýz $\Delta^{13}\text{C}$ v lesnické praxi

Z provedených analýz průběhu izotopového signálu se analýza $\Delta^{13}\text{C}$ v letokruzích stromů jeví jako vhodná metoda, kterou by bylo možné použít jako doplňkový nástroj, který by umožnil objektivní hodnocení zdravotního stavu/míry stresu porostu. Dosud získaná data jsou zatím omezena pouze na oblast Šumavy, kde je patrná zvýšená míra stresu stromů v období vysoké atmosferické depozice, a proto by nejprve bylo potřeba ověřit průběhy signálu $\Delta^{13}\text{C}$ v oblastech s podobným vývojem (jako jsou Krušné nebo Jizerské hory). Podle dosavadních poznatků o $\Delta^{13}\text{C}$ by použití tohoto signálu mohlo přinést výsledky integrující vliv teploty, atmosferické depozice, eventuálně v nižších polohách stres ze sucha. V případě pozitivních výsledků, by bylo možné zvažovat použití $\Delta^{13}\text{C}$ k doplnění analýz defoliace či sledování $\Delta^{13}\text{C}$ jako samostatného parametru.

6.1 Navrhovaná metodika odběru vzorků

Podstata tohoto návrhu spočívá v zařazení sledování $\Delta^{13}\text{C}$ do parametrů sledovaných při hodnocení stavu lesa v rámci projektu ICP Forest, kde probíhá monitoring mnoha parametrů. Na plochách, které byly dříve vystaveny vysoké atmosferické depozici, kde porosty tvoří převážně smrkové monokultury, navrhuji provést analýzu $\Delta^{13}\text{C}$ jako doplňkovou objektivní metodu hodnocení míry stresu stromu a to podle následujícího schématu:

odebrání vývrtů z 5 stromů – z každého stromu po jednom vývrtu, vývrty nesmí vykazovat známky hniloby;

rozřezání jednotlivých vývrtů po pětiletých bločcích a příprava směsného vzorku, který bude maximálně využívat stáří stromů na dané ploše;

analýza směsných vzorků na hmotnostním spektrometru, zjištění průběhu signálu $\Delta^{13}\text{C}$ v průběhu minulých let po současnost;

opakované odebírání materiálu v pětiletých intervalech na jednotlivých plochách v souladu s metodikou ICP Forest, kde by následně byly analyzovány jen nejmladší pětileté úseky letokruhů.

6.2 Předběžná částečná kalkulace nákladů

Předběžná částečná kalkulace nákladů na provedení analýz vychází z toho, že na plochách ICP Forest jsou letokruhy pro analýzy běžně odebrány a odebrání pěti vývrtů na jedné ploše „navíc“ nepředstavuje navýšení stávajících nákladů.

Analýza jednoho směsného vzorku na poměr obsahu izotopů $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ představuje cca 1.000 Kč, ve stoletém porostu při použití pětiletých úseků letokruhů představuje potom základní analýza směsných vzorků 20.000 Kč na jednu plochu, protože však není dobré používat letokruhy z prvních let života stromu kvůli již zmiňovanému juvenilnímu efektu, je vhodné prvních 40 let života stromů vynechat. Pak vychází náklady na základní analýzu na jednu plochu na 12.000 Kč a každá opakovaná analýza po pěti letech představuje jeden směsný pětiletý vzorek (tedy 1.000 Kč) na každou plochu.

6.3 Vyhodnocování výsledků

Bohužel do hodnot signálu $\Delta^{13}\text{C}$ vstupuje mnoho faktorů zahrnující genetické dispozice, sociální a ekologické postavení stromu, které znemožňují vyhodnocování výsledků na základě univerzálního vyhodnocení s pomocí konkrétních čísel či intervalů dosažených hodnot. Naměřené hodnoty $\Delta^{13}\text{C}$ je nutné vyhodnocovat na základě zjištěných trendů v dlouhodobém kontextu, odchylkou od dlouhodobého průměru apod.

6.4 Výhody navrhovaného využití v praxi

Hlavní výhodou navrhované metody pro použití v praxi je to, že přináší možnost objektivně hodnotit zdravotní kondici či míru stresu stromů a to nejen v aktuálním časovém období, ale je zde možnost získat data za delší období.

7 Závěr

7.1 Izotopový poměr $\Delta^{13}\text{C}$

Výsledky z našeho výzkumu ukazují, že na obou lokalitách s odlišným podložím i s rozdílnou mírou ovlivnění imisemi došlo k významnému poklesu hodnot $\Delta^{13}\text{C}$ mezi 70. a 90. lety minulého století. Tento pokles se projevil u všech studovaných stromů bez ohledu na

způsob odběru a délku analyzovaného segmentu letokruhů. Hlavní faktor ovlivňující průběh hodnot $\Delta^{13}\text{C}$ v temperátních podmínkách, se během vegetační sezóny může měnit a reflektuje tak aktuální limity v růstových podmínkách stromu. Vlivy těchto jednotlivých faktorů ovlivňující životní pochody stromů na sledovaných stanovištích pak od sebe nelze v hodnotách $\Delta^{13}\text{C}$ oddělit.

V námi sledované oblasti se dá říci, že $\Delta^{13}\text{C}$ je komplexním ukazatelem integrujícím vliv několika vnějších činitelů (teplota, srážky, znečištění ovzduší, změny pH půdy), které působí na celkový zdravotní stav stromů. Z tohoto důvodu bych doporučovala sledování hodnot $\Delta^{13}\text{C}$ u dalších porostů, které byly vystaveny imisní zátěži a využití signálu $\Delta^{13}\text{C}$ k objektivnímu hodnocení zdravotního stavu stromu.

Vlastní analýzy ukázaly, že hodnoty $\Delta^{13}\text{C}$ u smrků ze zkoumaných povodí jezer na Šumavě neovlivňuje světová strana odběru vývrtu, stejně jako na ně nemá vliv změna nadmožské výšky o zhruba 300 m. Toto zjištění je velmi pozitivní pro eventuální budoucí využití analýz $\Delta^{13}\text{C}$ pro hodnocení stresu v porostech vystavených dlouhodobým účinkům atmosferické depozice a acidifikace půd.

7.2 Obsah vybraných prvků

Chemismus letokruhů a interpretace jeho změn zahrnuje mnoho problémů. Naším hlavním problémem byl příliš malý počet vzorníkových stromů, přesto ale výsledky analýz odpovídají poznatkům Smithe et Shortla (1996) a ukazují na určitou nezávislost obsahu prvků v jednotlivých letokruzích na změnách prostředí. Výsledky jsou využitelné především v širším kontextu pro dotvoření celkového obrazu stavu porostu na povodí a do budoucna mohou sloužit k porovnání s výsledky budoucích výzkumů a k následnému stanovení trendů vývoje.

7.3 Izotopové analýzy δD a $\delta^{18}\text{O}$

Problematika $\delta^{18}\text{O}$ a δD ve volné vodě v rostlinách i v celulóze letokruhů je velmi aktuální téma. Pilotní pokus, který měl zajistit odběr volné vody v kmeni a následné zjištění hodnot $\delta^{18}\text{O}$ a δD , byl proveden úspěšně. Od dalších odběrů jsme upustili pro vysokou finanční zátěž, která by s pokračováním analýz byla spojena. Doporučovaný vyzkoušený postup analýz segmentů letokruhů o velikosti 0,5 cm může posloužit jako metodika pro další práce, věnující se této tématice.

Většina studií předpokládá, že izotopové složení zdrojové vody stromu je hlavním faktorem ovlivňujícím izotopové složení letokruhu, kde absolutní hodnoty izotopového složení ovlivňují především střídání ročních období, kontinentalita a nadmořská výška. Vzhledem k tomu, že cesta vody od kořenů k listům (jehlicím) je u stromů mimořádně dlouhá a již cestou dochází k postupnému obohacování zdrojové vody výparem vody kůrou, je potřeba přehodnotit data a výsledky uváděné v některých studiích. A to především proto, že voda, která vstupuje do listu jako „zdrojová“, je po dlouhé cestě k asimilačním orgánům již značně obohacena oproti tzv. „zdrojové“ vodě, která je přijímána kořeny z půdy, a to bez ohledu na to, zda je hlavním zdrojem vody pro transpiraci rostlin voda podpovrchová nebo srážková. Tento fakt je nutné vzít v úvahu při interpretaci dat ve studiích zabývajících se dlouhodobými klimatickými trendy, ať již z recentních či fosilních vzorků dřeva.

Následný výzkum v této oblasti, který by pomohl osvětlit část chemicko-fyzikálních pochodů a pohyby vody se zaměřením na sledování izotopového složení vody uvnitř kmene stromů, by byl velmi žádoucí. Celá problematika si zasluhuje více pozornosti, aby bylo zjištěno, jak ovlivňuje obohacení vody v kmeni hodnoty izotopového složení uhlohydrátů během transportu a na místech syntézy celulózy.

8 Literatura

- Andreska J. 2003. Lesnictví na Šumavě. In: Šumava. Kolektiv autorů, redaktor Dudák V., nakladatelství Baset, první vydání, pp. 567-572. ISBN 80-7340-021-9
- Arthur M.A., Siccama T.G., Yanai R.D. 1999. Calcium and magnesium in wood of northern hardwood forest species: relation to site characteristics. *Canadian Journal of Forest Research*. 29: 339–346.
- Assmann E. 1968. Náuka o výnose lesa. Organická produkci, zloženie, prírastok a výnos lesných počastiv. *Príroda bratislava*. 488s.
- Augustin S., Stephanowitz H., Wolff B., Schröder J., Hoffmann E. 2005. Manganese in tree rings of Norway spruce as an indicator for soil chemical changes in the past. *European Journal of Forest Research* 124: 313–318.
- Barrelet T., Ulrich A., Rennenberg H., Krauenbuhl U. 2006. Seasonal profile of sulphur, phosphorus, and potassium in Norway spruce wood. *Plant Biology* 8 (4): 462-469.
- Bláha J. 2009. Trojmezenský prales. Hnutí duha. 6.str. [online] [cit. 2010-12-10]. Dostupné z: www.hnutiduha.cz/publikace/trojmezna_infolist_www.pdf.
- Borella S., Leuenberger M., Saurer M., Siegwolf R. 1998. Reducing uncertainties in delta C-13 analysis of tree rings: Pooling, milling, and cellulose extraction. *Journal of Geophysical Research-Atmospheres* 103 (D16): 19519-19526.
- Brunel J.P., Walker G.R., Kenneth-Smith A.K. 1995. Field validation of isotopic procedures for determining sources of water used by plants in a semi-arid environment. *Journal of Hydrology* 167: 351-368.
- Bukata A. R., Kyser T.K. 2007. Carbon and nitrogen isotope variations in tree-rings as records of perturbations in regional carbon and nitrogen cycles. *Environmental Science and Technology* 41 (4): 1331-1338.
- Bukata A. R., Kyser T.K. 2005. Response of the nitrogen isotopic composition of tree-rings following tree-clearing and land-use changes. *Environmental Science and Technology* 39 (20): 7777-7783.
- Busch D.E., Ingraham N.L., Smith S.D. 1992. Water-uptake in woody riparian phreatophytes of the southwestern United-States – a stable isotope study. *Ecological Applications* 2 (4):450-459.

- Cimrhanzl T. 1878. Šumava. Průvodce po Šumavě. In: Šumava. Kolektiv autorů, redaktor Dudák V., nakladatelství Baset, první vydání, 2003, pp. 775-779. ISBN 80-7340-021-9.
- Cullen L.E., Grierson P.F. 2006. Is cellulose extraction necessary for developing stable carbon and oxygen isotopes chronologies from *Callitris glaucophylla*? *Palaeogeography Palaeoclimatology Palaeoecology* 236 (3-4): 206-216.
- Cutter B.E., Guyette R.P. 1993. Anatomical, chemical, and ecological factors affecting tree species choice in dendrochemistry studies. *Journal of Environmental Quality*. 22: 611-619.
- Čermák P. 2007. Defoliace a radiální růst – ukazatelé vitality smrku ztepilého. *Lesnická práce* 86 (11): [online] [cit. 2009-12-01]. Dostupné z: <http://lesprace.silvarium.cz/content/view/2005/166/>.
- Dawson T.E., Mambelli S., Plamboeck A.H., Templer P.H., Tu K.P. 2002. Stable isotopes in plant ecology. *Annual Review of Ecology Systematics* 33: 507-59.
- Dawson T.E. 1998. Fog in the California redwood forest: ecosystem inputs and use by plants. *Oecologia* 117: 476-485.
- Dawson T.E., Ehleringer J.R. 1993. Isotopic enrichment of water in the “woody” tissues of plant: Implications for plant water source, water uptake, and other studies which use the stable isotopic composition of cellulose. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 57: 3487-3492.
- Dawson T.E., Ehleringer J.R. 1991. Streamside trees that do not use stream water. *Nature* 350: 335-337.
- De Visser, P.B.H. 1992. The relations between chemical composition of oak tree rings, leaf, bark, and soil solution in a partly mixed stand. *Canadian Journal of Forest Research* 22: 1824-1831.
- Dongarrá G., Varrica D. 2002. $\delta^{13}\text{C}$ variations in tree rings as an indicator of severe changes in the urban air quality. *Atmospheric Environment* 36: 5887-5896.
- Drápela K., Zach J. 1995. *Dendrometrie (Dendrochronologie)*. MZLU Brno. 152 pp. ISBN 80-7157-178-4.
- Eiler J.M. 2007 The study of naturally-occurring multiply-substituted isotopologues. In: Hoefs J. 2009. *Stable Isotope Geochemistry*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. 285 pp. ISBN: 978-3-540-70703-5.
- Elhani S., Guehl J.M., Nys C., Picard J.F., Dupouey J.L. 2005. Impact of fertilization on tree-ring $\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$ in beech stands: a retrospective analysis. *Tree Physiology* 25, 1437-1446.

- Elhani S., Lema B.F., Zeller B., Bréchet C., Guehl J.M., Dupouey J.L. 2003. Inter-annual mobility of nitrogen between beech rings: a labelling experiment. *Annales of Forest Science* 60: 503-508.
- English N.B., McDowell N.G., Allen C.D., Mora C. 2011. The effects of alpha-cellulose extraction and blue-stain fungus on retrospective studies of carbon and oxygen isotope variation in live and dead trees. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* 25 (20): 3083-3090.
- Farquhar G.D., Ehleringer J.R., Hubick K.T. 1989. Carbon isotope discrimination and photosynthesis. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 40: 503-37.
- Farquhar G. D., O'Leary M. H., Berry J.A. 1982. On the relationship between carbon isotope discrimination and intercellular carbon dioxide concentration in leaves. *Australian Journal of Plant Physiology* 9: 121-37.
- Ferrio J.P., Cuntz M., Offermann C., Siegwolf R., Saurer M., Gessler A. 2009. Effect of water availability on leaf water isotopic enrichment in beech seedlings shows limitations of current fractionation models. *Plant, Cell and Environment* 32 (10): 1285-1296.
- Flanagan L.B., Phillips S.L., Ehleringer J.R., Lloyd J., Farquhar G.D. 1994. Effect of changes in leaf water oxygen isotopic composition on discrimination against (COO)-O-18-O-16 during photosynthetic gas-exchange. *Australian Journal of Plant Physiology* 21 (2): 221-234.
- Francey R.J., Allison C.E., Etheridge D.M., Trudinger C.M., Enting I.G., Leuenberger M., Langenfelds R.L., Michel E., Steele L.P. 1999. A 1000-year high precision record of $\delta^{13}\text{C}$ in atmospheric CO_2 . In: McCarroll, D., Loader, N.J. 2004. Stable isotopes in tree rings. *Quaternary Science Reviews* 23: 771-801.
- Gandelová L., Horáček P., Šlezingerová J. 1996. *Nauka o dřevě*. MZLU Brno. 184 s. ISBN 80-7157-194-6.
- Gat J.R. 2004. The use of environmental isotopes of water in catchment studies. In: Xi R.Z., Gu W.Z., Seiler K.P. 2004. *Research Basins and hydrological planning*. A Balkema Publishers. pp. 3-10.
- Gat J.R. 1996. Oxygen and hydrogen isotopes in the hydrologic cycle. *Annual Review of Earth and Planetary Sciences* 24: 225-262.
- Guyette R.P., Cutter B.E. 1994. Barium and manganese trends in tree-rings as monitors of sulfur deposition. *Water, Air, and Soil Pollution* 73: 213-223.

- Guyette R.P., Henderson G.S., Cutter B.E. 1992. Reconstructing Soil pH from Manganese Concentration in Tree-Rings. *Forest Science* 38 (4): 727-737.
- Hagen-Thorn A., Stjernquist I. 2005. Micronutrient levels in some temperate European tree species: a comparative field study. *Trees* 19: 572–579.
- Hagen-Thorn A., Armolaitis K., Callesen I., Stjernquist I. 2004. Macronutrients in tree stems and foliage: a comparative study of six temperate forest species planted at the same sites. *Annales of Forest Science* 61: 489–498.
- Häsänen E., Huttunen S. 1989. Acid deposition and the element composition of pine tree rings. *Chemosphere* 18: 1913–1920.
- Hauck M., Jung R., Runge M. 2001. Relevance of element content of bark for the distribution of epiphytic lichens in a montane spruce forest affected by forest dieback. *Environmental Pollution* 112: 221-227.
- Helle, G., Schlessner, G.H. 2004. Interpreting climate proxies from tree-rings. In: Fischer, H., Floeser, G., Kumke, T., Lohmann, G., Miller, H., Negendank, J.F.W., von Storch, H. (eds.): *The KIHZ project: Towards a synthesis of Holocene proxy data and climate models*, pp.129-148.
- Herbauts J., De Buyl E., 1981. The relation between spruce monoculture and incipient podzolisation in ochreous brown earths of the Belgian Ardennes. *Plant and Soil* 59 (1): 33-49.
- Hilasvuori E., Berninger F., Sonninen E., Tuomenvirta H., Jungner H. 2009. Stability of climate signal in carbon and oxygen isotope records and ring width from Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) in Finland. *Journal of Quaternary Science* 24 (5): 469-480.
- Hill S.A., Waterhouse J.S., Field E.M., Switsur V.R., Apreses T. 1995. Rapid recycling of triose phosphate in oak stem tissue. *Plant, Cell and Environment* 18 (8): 931-936.
- Hoefs J. 2009. *Stable Isotope Geochemistry*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. 285 pp. ISBN: 978-3-540-70703-5.
- Humlum O. 2005. *Isotopic Composition of Modern Precipitation in Longyearbyen, Svalbard. A project funded by the University Courses on Svalbard (UNIS) 2000-2005.* [online] © 2005 [cit. 2011-01-11]. Dostupné z: http://www.unis.no/35_staff/staff_webpages/geology/ole_humlum/PrecipitationAndIsotopes.htm.

- Chalupa V. 1981. Reprodukce lesních dřevin in vivo a in vitro: Doktorská disertace. Příl. 4, Reprodukce lesních dřevin in vivo a in vitro: Publikované práce doktorské disertace Praha: [s.n.],(přeruš. str.)
- Choi W.J., Lee S.M., Chang S.X., Ro H.M. 2005. Variations of $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ in *Pinus densiflora* tree-rings and their relationship to environmental changes in eastern Korea. *Water, Air, and Soil Pollution* 164: 173-187.
- Ingerslev M. 1999. Above ground biomass and nutrient distribution in a limed and fertilized Norway spruce (*Picea abies*) plantation. Part I. Nutrient concentrations. *Forest Ecology and Management* 119: 13-20.
- Jäggi M., Saurer m., Fuhrer J., Siegwolf R. 2002. The relationship between the stable carbon isotope composition of needle bulk material, starch, and tree rings in *Picea abies*. *Oecologia* 131: 325-332.
- Jankovský M., Lachman J., Staszková L. 1999. Chemie dřeva. ČZU Praha. 212 s. ISBN 80-213-0559-2.
- Kagawa A., Leavitt S.W. 2010. Stable carbon isotopes of tree rings as a tool to pinpoint the geographic origin of timber. *Journal of Wood Science* 56 (3): 175-183.
- Kettle, H., Kopáček, J., and Hejzlar, J. 2003. Modelling Air Temperature at Čertovo Lake back to 1781. *Silva Gabreta*, 9: 15-32.
- Knížek M. (ed.). 2007. Zpravodaj ochrany lesa. Supplementum. Výskyt lesních škodlivých činitelů v roce 2006 a jejich očekávaný stav v roce 2007. Výzkumný ústav lesního hospodářství a myslivosti, v.v.i. v rámci činnosti Lesní ochranné služby (útvary ochrany lesa). 78 s. ISBN 978-80-86461-79-3.
- Kočárek E. 2003. Geomorfologie Šumavy. Geologie a petrologie Šumavy. Nerostné suroviny, minerály a půdy. In: Šumava. Kolektiv autorů, redaktor Dudák V., nakladatelství Baset, první vydání, 2003, pp. 117-144. ISBN 80-7340-021-9
- Kopáček J., Hruška J. 2010. Reconstruction of acidic deposition in the catchments of Plešné and Čertovo lakes (the Bohemian Forest). *Silva Gabreta* 16 (3): 149-163.
- Kopáček J., Stuchlík E., Veselý J., Schaumburg J., Anderson I. C., Fott, J., Hejzlar J., Vrba J., 2002^a. Hysteresis in reversal of Central European mountain lakes from atmospheric acidification. *Water Air and Soil Pollution* 2: 91-114.
- Kopáček J., Kaňa J., Šantrůčková H., Porcal P., Hejzlar J., Pícek T., Šimek M., Veselý J., 2002^b. Physical, chemical, and biochemical characteristics of soils in watersheds of the Bohemian Forest lakes: II Čertovo and Černé Lakes. *Silva Gabreta* 8: 67-94.

- Kopáček J., Kaňa J., Šantrůčková H., Porcal P., Hejzlar J., Pícek T., Šimek M., Veselý J., 2002^c. Physical, chemical, and biochemical characteristics of soils in watersheds of the Bohemian Forest lakes: I Plešné Lake. *Silva Gabreta* 8: 43-66.
- Kopáček J., Hejzlar J., Kaňa J., Porcal P. 2001^a. Faktory ovlivňující chemismus šumavských jezer. *Aktuality šumavského výzkumu 2001*. Sborník z konference. NP a CHKO Šumava: 63-66.
- Kopáček J., Veselý J., Stuchlík E., 2001^b. Sulphur and nitrogen fluxes and budgets in the Bohemian Forest and Tatra Mountains during the Industrial Revolution (1850-2000). *Hydrology and Earth System Sciences* 5: 391-406.
- Kozák P. 2003. Zemědělství na Šumavě. In: *Šumava*. Kolektiv autorů, redaktor Dudák V., nakladatelství Baset, první vydání, 2003, pp. 561-566. ISBN 80-7340-021-9
- Kraus J. (ed.) 2008. *Nový akademický slovník cizích slov*. Academia Praha. 879 s. ISBN 978-80-200-1415-3.
- Krejzar T. 2001. Růst xylemu a jeho strukturální a funkční charakteristiky ve vztahu k vodnímu provozu lesních dřevin. *Doktorská disertační práce*. MZLU Brno.
- Kress A., Young G.H.F., Saurer M., Loader N., Siegwolf R.T.W., McCarroll D. 2009. Stable isotope coherence in the earlywood and latewood of tree-line conifers *Chemical Geology* 268 (1-2): 52-57.
- Kroupova, M. 2002. Dendroecological study of spruce growth in regions under long-term air pollution load. *Journal of Forest Science* 48, 536-548.
- Lai C.-T., Ehleringer J.R., Bond B. J., Paw U. K.T. 2006. Contributions of evaporation, isotopic non-steady state transpiration and atmospheric mixing on the $\delta^{18}\text{O}$ of water vapour in Pacific Northwest coniferous forests. *Plant, Cell et Environment*, 29: 77-94.
- Landa M. 2003. Těžba a zpracování dřeva. In: *Šumava*. Kolektiv autorů, redaktor Dudák V., nakladatelství Baset, první vydání, 2003, pp. 573-582. ISBN 80-7340-021-9
- Leawitt S.W. 2008. Tree-ring isotopic pooling without regard to mass: no difference from averaging $\delta^{13}\text{C}$ values of each tree. *Chemical Geology* 252: 52-55.
- Lin G., Phillips S.L., Ehleringer J.R.: 1996. Monsoonal precipitation responses of shrubs in a cold desert community on the Colorado Plateau. *Oecologia* 106: 8-17.
- Linan I.D., Gutierrez E., Helle G., Heinrich I., Andreu-Hayles L., Planells O., Leuenberger M., Burger C., Schleser G. 2011. Pooled versus separate measurements of tree-ring stable isotopes. *Science of the Total Environment* 409 (11): 2244-2251.
- Lipp J., Trimborn P., Fritz P., Moser H., Becker B., Frenzel B. 1991. Stable isotopes in tree ring cellulose and climatic change. *Tellus* 43 B, 322-330.

- Loader N.J., Robertson, I., McCarroll D. 2003. Comparison of stable isotope ratios in the whole wood, cellulose and lignin of oak tree-rings. *Palaeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 196: 395-407.
- Longuetaud F., Mothe F., Leban J.M., Makela A. 2006. *Picea abies* sapwood width: Variations within and between trees. *Scandinavian Journal of Forest research* 21 (1): 41-53.
- Ma J.V., 2005. Plant root responses to three abundant soil minerals: silicon, aluminium and iron. *Critical Reviews in Plant Sciences* 24: 267-281.
- Mach K. 2007. Přístrojové zjišťování vitality doprovodné zeleně. Konference JUNIORSTAV 2007 [online] [cit. 2010-03-25]. Dostupné z: [www.fce.vutbr.cz/veda/JUNIORSTAV2007/Sekce_2.5/Mach_Karel_CL_\(1\).pdf](http://www.fce.vutbr.cz/veda/JUNIORSTAV2007/Sekce_2.5/Mach_Karel_CL_(1).pdf).
- Majer V., Cosby B.J., Kopáček J., Veselý J., 2003. Modelling reversibility of Central European mountain lakes from acidification: Part I – the Bohemian Forest. *Hydrol. Earth System Sci.* 7: 494–509.
- Martin R.R. 2002. Ca/Mn ratios in tree rings as an indicator of soil acidification. *Canadian Journal of Analytical Sciences and Spectroscopy* 47 (5): 125-126.
- Martin B., Sutherland E.K. 1990. Air pollution in the past recorded in with and stable carbon isotope composition of annual growth rings of Douglas-fir. *Plant, Cell and Environment* 13, 839-844.
- Matějka K. 2009. Assessment of tree layer biomass and structure using aerial photos in lake catchments of the Šumava Mts. *Journal of Forest Science* 55 (2): 63–74.
- Matějka K. 2008. Vývoj lesního ekosystému v oblasti Trojmezí (Šumava) – IDS, Praha. 6s. [online], [cit. 2012-02-22]. Dostupné z: www.infodatasys.cz/sumava/trojmezi.pdf.
- Matovič, A. 1988. *Nauka o dřevě*. VŠZ Brno. 159 s.
- McCarroll, D., Loader, N.J. 2004. Stable isotopes in tree rings. *Quaternary Science Reviews* 23: 771-801.
- Meerts P.: Mineral nutrient concentration in sapwood and heartwood: a literature review. *Annales of Forest Science* 59, 2002, p. 713–722.
- Momoshima N., Bondietti E.A. 1990 Cation binding in wood: applications to understanding historical changes in divalent cation availability to red spruce. *Canadian Journal of Forest Research* 20: 1840-1849.
- Moser F. 2003. Turistika na Šumavě. In: Šumava. Kolektiv autorů, redaktor Dudák V., nakladatelství Baset, první vydání, 2003, pp. 727-732. ISBN 80-7340-021-9

- Myre R., Camire C. 1994. Distribution of P, K Ca, Mg, Mn and Zn in the stem of European larch and tamarack. *Annales des sciences forestieres* 51 (2): 121-134.
- Nabais C., Freitas H., Hagemeyer J. 1999. Dendroanalysis: a tool for biomonitoring environmental pollution? *Science of the Total Environment* 232 (1-2): 33-37.
- Nadezhdina N., Čermák J., Ceulemans R. 2002. Radial pattern of sap flow in woody stems of dominant and understory species: scaling errors associated with positioning sensors. *Tree Physiology* 22 (13): 907-918.
- Nakatsuka T., Ohnishi K., Hara T., Sumida A., Mitsuishi D., Kurita N., Uemura S. 2004. Oxygen and carbon isotopic ratios of tree-ring cellulose in a conifer-hardwood mixed forest in northern Japan. *Geochemical journal* 38 (1): 77-88.
- Nambiar E.K.S., Fife D.N. 1991. Nutrient retranslocation in temperate conifers. *Tree physiology* 9 (1-2): 185-207.
- Nátr J. 1998. Minerální výživa. In: Procházka S., Macháčková I., Krekule J., Šebánek J. et al. *Fyziologie rostlin*. Academia Praha. p. 89-122. ISBN 80-200-0586-2.
- Osteras A.H., Greger M. 2003. Accumulation of, and interaction between, calcium and heavy metals in wood and bark of *Picea abies*. *Journal of plant nutrition and soil science-Zeitschrift fur Pflanzenernahrung und bodenkunde* 166(2): 246-253.
- Österås A. H. Sunnerdahl I., Greger M. 2005. The impact of wood ash and green liquor dres application on Ca, Cu, Zn and Cd contents in bark and wood of Norway spruce. *Water, Air, and Soil Pollution* 166:17-29.
- Ostonen I., Lohmus K., Pajuste K., 2005. Fine root biomass, production and its proportion of NPP in a fertile middle-aged Norway spruce forest: Comparison of soil core and ingrowth core methods. *Forest Ecology and Management* 212: 264-277.
- Pawelczyk S., Pazdur A., Halas S. 2004. Stable carbon isotopic composition of tree rings from a pine tree from Augustów wilderness, Poland, as a temperature and local environmental conditions indicator. *Isotopes in Environmental and Health Studies* 40 (2): 145-154.
- Porter T.J., Pisaric M.F.J., Kokelj S.V., Edwards T.W.D. 2009. Climatic signals in delta C-13 and delta O-18 of Tree-rings from White Spruce in the Mackenzie Delta Region, Northern Canada. *Artic, Antarctic and Alpine Research* 41 (4): 497-505.
- Poulson S.R., Chamberlain C.P., Friedland A.J. 1995. Nitrogen isotope variation of tree rings as a potential indicator of environmental change. *Chemical Geology (Isotope Geoscience Section)* 125: 307-315.

- Požgaj A., Chovanec D., Kurjatko S., Babiak M. 1997. Štruktúra a vlastnosti dreva. Príroda Bratislava 475 s. ISBN 80-0700960-4.
- Prenzel J. 1979. Mass flow to the root system and mineral uptake of a beech stand calculated from 3-year field data. In: Smith K.T., Shortle W.C. Tree biology and dendrochemistry. In: J.S. Dean, D.M. Meko, T.W. Swetnam (eds.) 1996: Tree rings, environment and humanity. Radiocarbon (Tucson, Arizona): 629-635.
- Prohaska T., Stadlbauer C., Wimmer R., Stinger G., Latkoczy Ch., Hoffmann E., Stephanowitz H. 1998. Investigation of element variability in tree rings of young Norway spruce by laser-ablation-ICPMS. The Science of the Total Environment 219: 29-39.
- Procházka S. 1998. Základní struktura a funkce rostlinné buňky. In: Procházka S., Macháčková I., Krekule J., Šebánek J. et al. Fyziologie rostlin. Academia Praha. p. 28-49. ISBN 80-200-0586-2.
- Puhe J., 2003. Growth and development of the root system of Norway spruce (*Picea abies*) in forest stands – a review. Forest Ecology and Management 175: 253-273.
- Rajda V. 1997. Elektrodiagnostika – výkonná metoda hodnocení zdravotního stavu stromů a lesů. Lesnická práce 76 (1) [online] © 2002 [cit. 2010-04-16]. Dostupné z: www.baraka.cz/Baraka/b_9/b_9_zjis_ovani_vitality_stromu.html.
- Rajda V., Fabiánek P. 1999. Hodnocení vitality lesů elektrodiagnostickou metodou na monitoračních plochách ICP Forests v ČR. Lesnická práce 78 (7) [online] [cit. 2010-03-21]. Dostupné z: <http://lesprace.silvarium.cz/content/view/1818/158/>.
- Rinne, K. T., Loader, N. J., Switsur, V. R., Treydte, K. S., Waterhouse, J. S. 2010. Investigating the influence of sulphur dioxide (SO₂) on the stable isotope ratios (delta C-13 and delta O-18) of tree rings. Geochimica et Cosmochimica Acta 74 (8): 2327-2339.
- Robitaille G. 1981. Heavy-metal accumulation in the annual rings of balsam fir. Smith K.T., Shortle W.C. Tree biology and dendrochemistry. In: J.S. Dean, D.M. Meko, T.W. Swetnam (eds.) 1996: Tree rings, environment and humanity. Radiocarbon (Tucson, Arizona): 629-635.
- Roden J. 2008. Cross-dating of tree ring $\delta^{18}\text{O}$ and $\delta^{13}\text{C}$ time series. Chemical Geology 252: 72-79.
- Saurer M., Siegwolf R.T.W., Schweingruber F.H. 2004^a. Carbon isotope discrimination indicates improving water-use efficiency of trees in northern Eurasia over the last 100 years. Global Change Biology 10: 2109-2120.

- Saurer M., Cherubini P., Ammann M., DeCinti B., Siegwolf R. 2004^b. First detection of nitrogen from NO_x in tree rings: a ¹⁵N/¹⁴N study near a motorway. *Atmospheric Environment* 38: 2779-2787.
- Savard M.M., Bégin Ch., Parent M., Smirnoff A., Marion J. 2004. Effect of Smelter Sulphur Dioxide Emissions: A Spatiotemporal Perspective Using Carbon Isotopes in Tree Rings. *Journal of Environmental Quality* 33 (1): 13-26.
- Scartazza A., Mata C., Matteucci G., Yakir D., Moscatello S., Brugnoli E. 2004. Comparisons of $\delta^{13}\text{C}$ of photosynthetic products and ecosystem respiratory CO₂ and their response to seasonal climate variability. *Oecologia* 140: 340-351.
- Séguin V., Gagnon Ch., Courchesne F., 2004. Changes in water extractable metals, pH and organic carbon concentrations at the soil-root interface of forested soils. *Plant and soil* 260: 1–17.
- Shu Y. Feng X.H., Gazis C. Anderson D., Faiia A.M. Tang K.L. Etti G.J. 2005. Relative humidity recorded in tree rings: A study along a precipitation gradient in the Olympic Mountains, Washington, USA. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 69 (4): 791-799.
- Schlesser G.H., Helle G., Lücke A., Vos H. 1999. Isotopes signals as climate proxies: the role of transfer functions in the study of terrestrial archives. *Quaternary Science Reviews* 18: 927-943.
- Schulze E.-D., Lange O. L., Oren R. 1989. *Forest Decline and Air Pollution: a study of spruce (Picea abies) on acid soils*. Springer-Verlag: Berlin., 475 pp. ISBN 3540507930.
- Schweingruber F.H. 1996. *Tree rings and environment. Dendroecology*. Birmensdorf, Swiss Federal Institute for Forest, Snow and Landscape Research. Berne, Stuttgart, Vienna, Haupt. 609 pp. ISBN 3-258-05458-4.
- Siau J.F. 1984. Transport processes in wood. In: Krejzar T. 2001. *Růst xylemu a jeho strukturální a funkční charakteristiky ve vztahu k vodnímu provozu lesních dřevin*. Doktorská disertační práce. MZLU Brno.
- Sidorova O.V., Siegwolf R.T.W., Saurer M., Naurzbaev M.M., Shashkin A.V., Vaganov E.A. 2010. Spatial patterns of climatic changes in the Eurasian north reflected in Siberian larch tree-ring parameters and stable isotopes. *Global Change Biology* 16 (3): 1003-1018.
- Simard S., Elhani S., Morin H., Krause C., Cherubini P. 2008. Carbon and oxygen stable isotopes from tree-rings to identify spruce budworm outbreaks in the boreal forest of Québec. *Chemical Geology* 252: 80-87.

- Smith K.T., Shortle W.C. 1996. Tree biology and dendrochemistry. In: J.S. Dean, D.M. Meko, T.W. Swetnam (eds.) 1996: Tree rings, environment and humanity. Radiocarbon (Tucson, Arizona): 629-635.
- Sutinen S., Lumme I., Mäenpää M., Arkhipov V., 1998. Light microscopic structure of needles of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) in relation to air pollution and needle element concentrations in S.E. Finland and the Karelian Isthmus, N.W. Russia. *Trees* 12: 281-288.
- Svoboda M., Matějka K., Kopáček J., 2006. Biomass and element pools of understory vegetation in the catchments of Čertovo Lake and Plešné Lake in the Bohemian Forest. *Biologia, Bratislava*, 61(20): S509—S521.
- Switsur V.R., Waterhouse J.S., Field E.M., Carter A.H.C., Loader N.J. 1995. Stable isotopes studies in tree rings from oak-techniques and some preliminary results. *Paläoklimaforschung* 15: 129-140.
- Szymczak S., Joachimski M.M., Brauning A., Hetzer T., Kuhlemann J. 2011. Comparison of whole wood and cellulose carbon and oxygen isotope series from *Pinus nigra* ssp *laricio* (Corsica/France). *Dendrochronologia* 29 (4): 219-226.
- Šantrůček J., Květoň J., Šetlík J., Bulíčková L. 2007. Spatial variation of deuterium enrichment in bulk water of snowgum leaves. *Plant Physiology* 143 (1): 88-97.
- Šantrůčková H., Šantrůček J., Šetlík J., Svoboda M., Kopáček J., 2007. Carbon Isotopes in tree ring of Norway spruce exposed to atmospheric pollution. *Environmental Science et Technology*.
- Šantrůčková H., Vrba J., Pícek T., Kopáček J., 2004. Soil biochemical activity and P transformations and losses from acidified forest soils. *Soil Biology et Biochemistry* 36: 1569-1576.
- Šebík L., Polák L. 1990. *Náuka o produkci dřeva*. Příroda Bratislava. 322 s. ISBN 80-07-00268-5.
- Šlezingerová J., Gandelová L. 2002. *Stavba dřeva*. MZLU Brno. 187 s. ISBN 80-7157-636-0.
- Šmelko Š. 1965. *Základy určovania hrúbkového prírastku stromov a porastov*. Vydavateľstvo Slovenskej akadémie vied v Bratislave. 176 s.
- Tang K.L., Feng X.L. 2001. The effect of soil hydrology on the oxygen and hydrogen isotopic composition of plants' source water. *Earth and Planetary Science Letters* 185 (3-4): 355-367.
- Tesař M. 2003. *Hydrologie Šumavy*. In: *Šumava*. Kolektiv autorů, redaktor Dudák V., nakladatelství Baset, první vydání, 2003, pp. 145-160. ISBN 80-7340-021-9

- Valentini R., Mugnozza G.E.S., Ehleringer J.R. 1992. Hydrogen and carbon isotope ratios of selected species of mediterranean macchia ecosystem. *Functional Ecology* 6 (6): 627-631.
- Veselý J., 1994. Investigation of the nature of the Šumava lakes: a review. – *Časopis Národního Muzea, Řada přírodovědná* 163 (1-4): 103-120.
- Waring R.H., Running S.W. 1978. Sapwood water storage: its contribution to transpiration and effect upon water conductance through the stems of old-growth Douglas-fir. *Plant, Cell and Environment* 1: 131-140.
- Waring R.H., Whitehead D., Jarvis P.G. 1979. The contribution of stored water to transpiration in Scots pine. In: Krejzar T. 2001. Růst xylemu a jeho strukturální a funkční charakteristiky ve vztahu k vodnímu provozu lesních dřevin. *Doktorská disertační práce*. MZLU Brno.
- Warren Ch., McGrath J.F. Adams M.A. 2001. Water availability and carbon isotope discrimination in conifers. *Oecologia* 127:476-486.
- West, J.B., Bowen, G.J., Cerling, T.E., Ehleringer, J.R. 2006. Stable isotopes as one of nature's ecological recorders. *Trends in Ecology and Evolution* 21 (7): 408-414.
- Whittaker R.H., Likens G.E., Bormann F.H., Eaton J.S. and Siccama T.G.: The Hubbard Brook Ecosystem Study: forest nutrient cycling and element behaviour. *Ecology* 60, 1979, p. 203–220. In: Arthur M.A., Siccama T.G., Yanai R.D.: Calcium and magnesium in wood of northern hardwood forest species: relation to site characteristics. *Canadian Journal of Forest Research* Vol. 29, 1999, p. 339–346.
- Wilson, R. J. S., Elling, W. 2004. Temporal instability in tree-growth/climate response in the Lower Bavarian Forest region: Implications for dendroclimatic reconstruction. *Trees* 18, 19-28.
- Wright W.E. 2008. Statistical evidence for exchange of oxygen isotopes in holocellulose during long-term storage. *Chemical Geology* 252: 102-108.
- Young G.H.F., Demmler J.C., Gunnarson B.E., Kirchhefer A.J., Loader N.J., McCarroll D. 2011. Age trends in tree ring growth and isotopic archives: A case study of *Pinus sylvestris* L. from northwestern Norway. *Global Biogeochemical Cycles* 25.

NPR Černé a Čertovo jezero. Cittadella [online] © 2011 [cit. 2012-02-22]. Dostupné z:
http://www.cittadella.cz/europarc/index.php?p=indexetsite=NPR_cerne_a_certovo_jezero_cz

Ústav systémové ekologie a biologie rostlin AV ČR, v.v.i., Laboratoř ekologické
fyziologie rostlin. Skupina vodní režim. LEFR [online] © 2004 [cit. 2011-12-07]. Dostupné
z: http://www.usbe.cas.cz/lefr/vodni_rezim.htm

PŘÍLOHA I

Can ^{13}C stable isotope record of Norway spruce tree rings display the effect of environmental conditions?

L. PÍŠOVÁ¹, M. SVOBODA¹, J. ŠANTRŮČEK², H. ŠANTRŮČKOVÁ²

¹*Faculty of Forestry and Wood Science, Czech University of Life Sciences Prague, Prague, Czech Republic*

²*Faculty of Science, University of South Bohemia in České Budějovice, České Budějovice, Czech Republic*

ABSTRACT: The Bohemian Forest Mts. (Šumava) were exposed to heavy atmospheric pollution in the last century. A possible negative effect of atmospheric pollution on tree physiology has been studied using the isotopic composition, $\Delta^{13}\text{C}$, of tree rings. The wood is depleted of ^{13}C relative to the air due to isotopic discrimination against ^{13}C during photosynthesis. A decrease in $\Delta^{13}\text{C}$ implies a negative effect of environmental conditions on tree physiology. Presumably, changes in soil pH and aluminium content as an indirect effect of atmospheric pollution could have an impact on tree physiology. Our results showed that the isotopic signal varied around the average, but the $\Delta^{13}\text{C}$ signal was decreasing from the 1950s to 1980s and then increasing again starting in the 1990s. This trend is in accordance with the monitored atmospheric pollution and soil solution pH changes.

Keywords: $\Delta^{13}\text{C}$; air pollution; tree physiology; Bohemian Forest Mts.; soil pH; aluminium; soil acidification

In the past, the nutrient balance and development of trees in many areas of Central Europe were affected by acidification that occurred in this region (MATZNER, MURACH 1995). The acidification of soils caused the loss of base cations and an increase in the content of acid cations in the cation exchange complex of the soils (SÉGUIN et al. 2004). Global climate changes connected with increasing temperature and decreasing precipitation can also constitute another interference of spruces which are rooting in the upper soil layers (PUHE 2003). However, there is still an uncertainty to what degree and how long the trees have been affected.

A parameter is needed to assess the effect of environmental conditions on spruce tree development in the past and to improve a decision-making of forest management in the future. The ^{13}C stable isotope record in tree rings has been shown to provide a valuable insight into the history of environmental effects (moisture, temperature, atmospheric and soil

pollution) on the tree physiological activity (WEST et al. 2006). The carbon stable isotope ratio ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) of plant biomass is a widely used indicator because of the integrative response of the isotopic ratio to multiple eco-physiological constraints during the time of biomass development (DAWSON et al. 2002). Carbon dioxide in the atmosphere is composed of molecules with a light atom of C (^{12}C , 98.89%) and molecules with a heavy atom of C (^{13}C , 1.11%). There is an isotope discrimination against carbon dioxide with ^{13}C during carbon dioxide fixation in photosynthesis, resulting in depletion of ^{13}C in plant biomass. The rate of discrimination is affected by environmental conditions such as temperature, water availability, atmospheric pollution, nutrient availability etc., which affect stomatal conductance and photosynthesis rate (FARQUHAR et al. 1982; MARTIN, SUTHERLAND 1990; MCCARROLL, LOADER 2004; HELLE, SCHLESER chybí 2004;). For trees, the

Supported by the Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic, Project No. MSM 600 766 5801, the Ministry of Agriculture of the Czech Republic, Project No. 206/07/1200, and VGA FLE vypsát, prosím, doplnit číslo grantu.

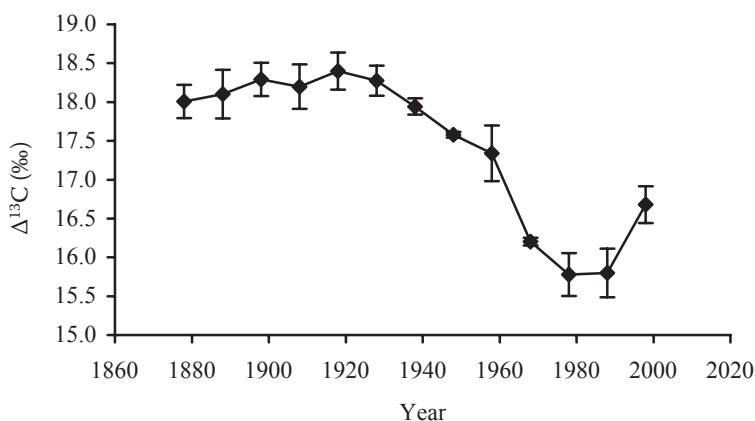


Fig. 1. Long-term trends of $\Delta^{13}\text{C}$ average values of tree rings from research conducted by ŠANTRŮČKOVÁ et al. (2007)

effects of environmental changes on the tree physiological activity in the past can be recorded from the fluctuation of the carbon stable isotope ratio in tree rings and assigned to the exact year or time period (GUYETTE, CUTTER 1994).

Norway spruce (*Picea abies* [L.] Karst.) is a dominant tree species in commercial forests in the Czech Republic. The forests have been affected very much by increasing sulphur and nitrogen deposition and subsequent soil acidification over more than one century (PSENNER, CATALAN 1994). Spruce forests in acid sensitive areas, usually those with the crystalline bedrock and naturally low base saturation of soils, have remained exposed to the effect of soil acidification after the decline of atmospheric deposition, which can result in the growth depression of trees. Growth depression of Norway spruce was detected in the Bavarian Forest (WILSON, ELLING 2004) and the northern part of the Czech Republic (KROUPOVÁ 2002). In the Bohemian Forest Mts., the negative effects of atmospheric depositions and soil acidification on isotopic composition and chemistry of tree rings and, therefore, on the tree physiological activity have been indicated (ŠANTRŮČKOVÁ et al. 2007; Fig. 1). However, the preliminary study by

ŠANTRŮČKOVÁ et al. (2007) was performed using the ^{13}C stable isotope record from three trees only. The main objective of our study was to enlarge the data set and to validate the finding that the tree physiological activity was negatively affected by atmospheric depositions and soil acidification in this area.

The research was carried out in a forest stand located in the catchment of the Čertovo Lake in the Bohemian Forest Protected Landscape Area. This area was exposed to heavy atmospheric pollution in the last century (VESELÝ 1994; Fig. 2), which was followed by significant soil acidification (KOPÁČEK et al. 2002a). The MAGIC7 model suggested that soil pH did not vary significantly until the late 1950s, then it began to decrease at the same time with increasing Al concentration. Acid deposition and also Al content in the soil solution decreased in the 1980s (MAJER et al. 2003; Fig. 3).

MATERIAL AND METHODS

Site description

The area has a humid climate with wet cold winters and wet mild summers. A trend of increasing temperatures has been detected in this area since the 1960s

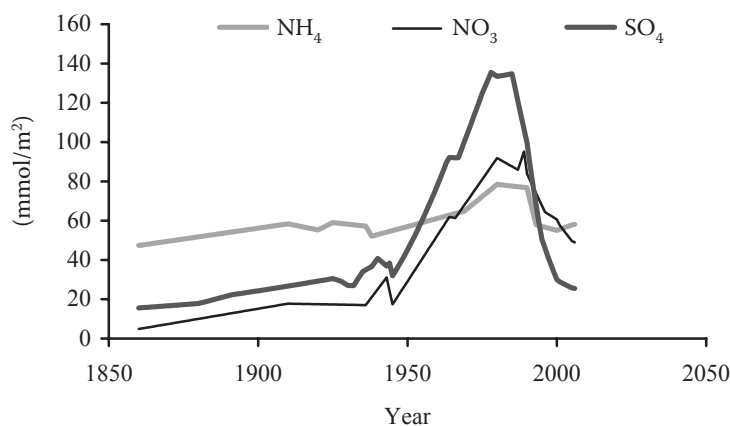


Fig. 2. Long-term trends of atmospheric deposition. Data were derived from KOPÁČEK et al. (2001)

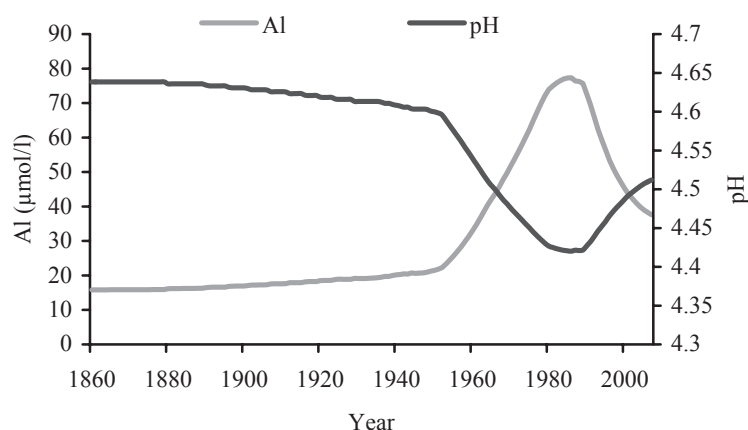


Fig. 3. Long-term trends of pH and Al concentration of soil solution (adapted according to MAJER et al. 2003)

(KETTLE et al. 2003). The mean annual temperature is 3.4°C and the mean annual precipitation is 1,228 mm. The bedrock of the catchment is composed of mica-schist (muscovitic gneiss), quartzite, and small amounts of pegmatite (VESELÝ 1994). Soil types mostly belong to Cambisols, Podzols and Lithosols on steep slopes in the watersheds. Some information about soil properties is in Table 1; for a more detailed description see KOPÁČEK et al. (2002b).

The Čertovo Lake catchment is covered with 90 to 150 years-old Norway spruce (*Picea abies* [L.] Karst.) forest of at least secondary origin, with scarce European beech (*Fagus sylvatica* L.). The land use history of the catchment suggests important timber harvesting and charcoal and potash production from the Middle Ages to the late 19th century (VESELÝ 1994).

Sampling and analyses

We randomly selected three Norway spruce trees older than 150 years in the Čertovo Lake catchment

in the area of Jezerní hora Mt. The selected trees were without apparent defects such as putrefaction or crown damage. Trees were sampled from near breast height (cores from two opposite exposures). Rings were sectioned by decades and analyzed for the isotopic composition. Only those rings were evaluated that were formed after the juvenile effect (LEAVITT, LONG 1985; LIU et al. 2004) ceased (40 years). Samples were dried and homogenized in a ball mill (MM200 Retsch, Haan, Germany). Isotopic analyses were carried on an elemental analyzer (EA1110, ThermoQuest Italia s.p.a.) linked to DeltaXLplus (ThermoFinnigan, Bremen, Germany). The ratio of ¹³C to ¹²C was expressed in delta (δ) notation with reference to standard material ($\delta^{13}\text{C} = R_{\text{sample}}/R_{\text{standard}} - 1$), which was fossil belemnite in this case (Vienna-PDB, VPDB, MCCARROLL, LOADER 2004).

There is a discrimination against ¹³C in C3 plants by the carboxylating enzyme Rubisco (~ 27‰) and during diffusion through the stomata (~ 4.4‰), which is linked to photosynthesis through the ratio of inter-

Table 1. Average composition of individual soil horizons in the Čertovo Lake watershed adapted according to KOPÁČEK et al. (2002b)

Soil properties	C _O	C _A	C _{Ae}	C _E	C _B	C _C
Depth	5	10	24	17	20	22
Soil (kg/m ²)	4	24	159	81	80	184
pH _{H₂O}	3.6	3.6	4.3	4.1	4.2	4.7
C (mol/kg)	41	26	12	3.3	3.6	3.1
N (mmol/kg)	1,603	1,028	450	143	151	54
P (mmol/kg)	34	34	31	13	28	16
Ca (mmol/kg)	50	30	33	32	22	18
Mg (mmol/kg)	28	56	146	67	108	172
K (mmol/kg)	61	242	386	542	474	477
Al (mmol/kg)	0.3	1.5	2.7	2.7	2.6	2.6
Fe (mmol/kg)	102	241	596	206	595	637
Mn (mmol/kg)	3.2	3.6	4.0	5.5	4.4	5.1

cellular to atmospheric CO₂ concentrations (c_i/c_a). Discrimination in C3 plant can be expressed as:

$$\Delta (\text{‰}) = a + (b-a)(c_i/c_a)$$

where:

- a – discrimination against ¹³C during diffusion through the stomata,
- b – net discrimination due to carboxylation,
- c_i, c_a – intercellular and ambient CO₂ concentrations (FARQUHAR et al. 1982; MCCARROLL, LOADER 2004).

The highest $\Delta^{13}\text{C}$ values show plants at optimum environmental conditions (optimum growth and mostly largest isotope discrimination). The sensitivity of $\Delta^{13}\text{C}$ is weak around the optimum of plant growth. The sensitivity of $\Delta^{13}\text{C}$ to environmental changes increases progressively below and above the optimum (MARTIN, SUTHERLAND 1990; HELLE, SCHLESER 2004).

In this study, isotope ratios were expressed in terms of discrimination against ¹³C in the atmosphere ($\Delta^{13}\text{C} = (\delta^{13}\text{C}_{\text{ATM}} - \delta^{13}\text{C}_{\text{PLANT}}) / (1 + \delta^{13}\text{C}_{\text{PLANT}}) \approx (\delta^{13}\text{C}_{\text{ATM}} - \delta^{13}\text{C}_{\text{PLANT}})$; FARQUHAR et al. 1989) to remove the effect of atmospheric $\delta^{13}\text{C}$ decline. The atmospheric $\delta^{13}\text{C}$ signal was corrected using estimates based on the Antarctic ice core record (MCCARROLL, LOADER 2004).

RESULTS

The pattern of changes in an isotopic signal displayed the same trend for all trees (Fig. 4), though average $\Delta^{13}\text{C}$ was shifted approximately by one ‰ (17.5‰, 17.2‰ and 16.2‰, respectively). The $\Delta^{13}\text{C}$ increased from the late 1850s till the end of the 19th century. Then it slowly decreased until the 1980s and the decrease becomes faster from 1950s till 1980s. The past decrease corresponds to the period of heavy atmospheric and soil pollution of the area

(Figs. 2 and 3). $\Delta^{13}\text{C}$ has been increasing since the early 1990s, indicating biological recovery.

DISCUSSION

Variation in the ¹³C isotopic signal at the end of the 19th century and at the beginning of the 20th century might be a reaction to the closure of pasturing and timber harvesting (VESELÝ 1994) in conjunction with the long-term effect of spruce monocultures, with their natural acidifying influences (HERBAUTS, DE BUYL 1981). The rapid decrease in $\Delta^{13}\text{C}$ in tree I began in 1920, for the other two trees (tree II and III) in 1940. The rapid decrease between the 1950s and 1980s is in accordance with the period of heavy atmospheric pollution which accelerated soil acidification followed by decreased base cation availability and increased aluminium toxicity (KOPÁČEK et al. 2002a; SÉGUIN et al. 2004). ŠANTRŮČKOVÁ et al. (2004) noted that the greatest changes in soil chemistry and biochemistry took place in the litter and humus horizons where spruces had most of their roots (PUHE 2003; OSTONEN et al. 2005). Higher aluminium concentrations induce a shift of roots into the upper soil layers, because aluminium of even less than micromolar concentrations inhibits root elongation (MA 2005). The results indicate tree abionosis, i.e. the harmful effect of soil acidification on the trees.

Also the acid rain which fell in the 1970s and 1980s could have impacted the isotopic signal. Sulphur emissions may have caused especially foliage damage (SUTINEN et al. 1998), thereby affecting carbon fixation. The relatively quick recovery can be due to the assimilatory apparatus regeneration. An increase in temperature of about 1.5°C (KETTLE et al. 2003) has not probably yet had any impact on the biological recovery that started in the 1980s.

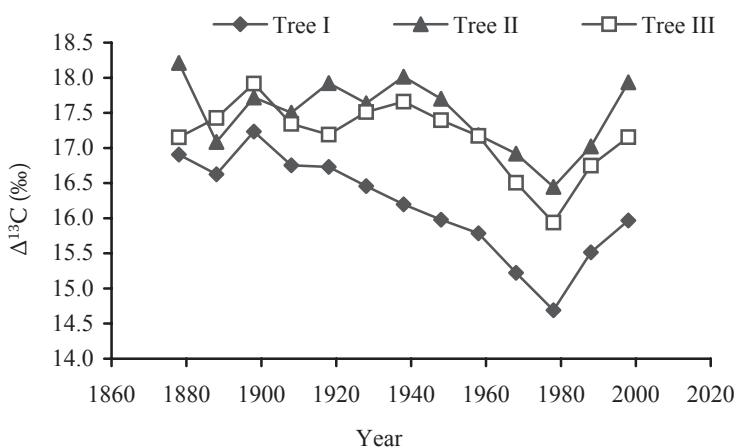


Fig. 4. Long-term trends of $\Delta^{13}\text{C}$ signal in 10-year tree samples from Jezerní Mt.

The differences in $\Delta^{13}\text{C}$ between the trees may reflect their different genetic dispositions or social and ecological positions. The same trend in the time change of $\Delta^{13}\text{C}$, however, shows that all three trees were exposed to the same effect of environmental conditions; this is more important than the absolute values. The isotopic signal changes appreciated relative to the average of the whole trees. The presented results correspond to the analyses previously performed on other four trees (ŠANTRŮČKOVÁ et al. 2007) from a nearby area.

There is no consensus in terms of what type of material to use for isotopic analyses. SCHWEINGRUBER (1996) reported that the most reliable values of $\Delta^{13}\text{C}$ were given by measuring isotopes in cellulose because only the cell-wall component contains non-mobile organic elements. But LOADER et al. (2003) and ELHANI et al. (2005) suggested that the climate signal in the $\Delta^{13}\text{C}$ values of whole wood may be stronger than the one in cellulose or lignin. HARLOW et al. (2006) stated that holocellulose extraction was unnecessary for most analyses of tree-ring $\Delta^{13}\text{C}$. BORELLA et al. (1998) argued that wood is as good a climate proxy as cellulose. It is also recommended to use only late wood (MCCARROLL, LOADER 2004). However, the tree growth is extremely slow in many areas and separation of latewood has proved to be almost impossible when the rings are really narrow. HILL et al. (1995) noted that the $\delta^{13}\text{C}$ value of early wood correlates best with the late wood formed in the previous year because early wood cells are manufactured partly using stored photosynthates and smaller cells of latewood formed during the summer (SWITSUR et al. 1995). The whole ring can only give an integrated carbon isotope value which is frequently taken as an annual record of environmental conditions. Often, it may merely be information about a very specific part of the year. In many cases, wood is laid down during a short period of the year (frequently in Central European trees) and the isotopic signal primarily corresponds to the conditions of this time interval (SCHLESSER et al. 1999). Whole rings (late wood and early wood) were used for isotope analyses in this study. 10-year averages are used for $\Delta^{13}\text{C}$ interpretation, thus the $\Delta^{13}\text{C}$ interference of early wood performed in the previous year is extrinsic. Cellulose extraction was not made.

As compared to needle analyses, the analysis of $\Delta^{13}\text{C}$ of tree rings provides a long term record of the effect of environmental conditions. Needle analyses might provide information only about the effect of environmental conditions in the current year (SOLBERG, TORSETH 1997; SUTINEN et

al. 1998). This would also be true of analyses of soil changes induced by air pollution and interpreting these changes in connection with tree physiology (MATZNER, MURACH 1995; SOLBERG et al. 2004).

CONCLUSIONS

Stable isotope dendroecology is a relatively young field with advances in sample preparation technique, clear physiological background and understanding how environmental factors influence the isotope fractionation. Stable isotope methods have recently emerged as one of the most powerful tools for understanding the relationship between plants and their environment. The applied method seems to be good and is worth testing in other regions. Our results confirm the negative effect of atmospheric and soil pollution on tree physiology.

Acknowledgement

Special thanks to JIŘÍ KVĚTOŇ and MARTINA VAŠKOVÁ for their work with the mass-spec, and KEITH EDWARDS for language corrections.

References

- BORELLA S., LEUENBERGER M., SAURER M., SIEGWOLF R., 1998. Reducing uncertainties in delta C-13 analysis of tree rings: Pooling, milling, and cellulose extraction. *Journal of Geophysical Research – Atmospheres*, 103 (D16): 19519–19526.
- DAWSON T.E., MAMBELLI S., PLAMBOECK A.H., TEMPLER P.H., TU K.P., 2002. Stable isotopes in plant ecology. *Annual Review of Ecol. Syst.*, 33: 507–59.
- ELHANI S., GUEHL J.M., NYS C., PICARD J.F., DUPOUEY J.L., 2005. Impact of fertilization on tree-ring $\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$ in beech stands: a retrospective analysis. *Tree Physiology*, 25: 1437–1446.
- FARQUHAR G.D., O'LEARY M.H., BERRY J.A., 1982. On the relationship between carbon isotope discrimination and intercellular carbon dioxide concentration in leaves. *Australian Journal of Plant Physiology*, 9: 121–137.
- FARQUHAR G.D., EHLERINGER J.R., HUBICK K.T., 1989. Carbon isotope discrimination and photosynthesis. *Annual Reviews of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 40: 503–537.
- GUYETTE R.P., CUTTER B.E., 1994. Barium and manganese trends in tree-rings as monitors of sulfur deposition. *Water, Air, and Soil Pollution*, 73: 213–223.
- HARLOW B.A., MARSHALL J.D., ROBINSON A.P., 2006. A multi-species comparison of delta C-13 from whole wood, extractive-free wood and holocellulose. *Tree Physiology*, 26: 767–774.

- HERBAUTS J., DE BUYL E., 1981. The relation between spruce monoculture and incipient podzolisation in ochreous brown earths of the Belgian Ardennes. *Plant and Soil*, 59: 33–49.
- HILL S.A., WATERHOUSE J.S., FIELD E.M., SWITSUR V.R., APREES T., 1995. Rapid recycling of triose phosphate in oak stem tissue. *Plant, Cell and Environment*, 18: 931–936.
- KETTLE H., KOPÁČEK J., HEJZLAR J., 2003. Modelling air temperature at Čertovo lake back to 1781. *Silva Gabreta*, 9: 15–32.
- KOPÁČEK J., VESELÝ J., STUHLÍK E., 2001. Sulphur and nitrogen fluxes and budgets in the Bohemian Forest and Tatra Mountains during the Industrial Revolution (1850–2000). *Hydrology and Earth System Sciences*, 5: 391–406. **(citovat v textu)**
- KOPÁČEK J., STUHLÍK E., VESELÝ J., SCHAUMBURG J., ANDERSON I.C., FOTT J., HEJZLAR J., VRBA J., 2002a. Hysteresis in reversal of Central European mountain lakes from atmospheric acidification. *Water, Air, and Soil Pollution*, 2: 91–114.
- KOPÁČEK J., KAŇA J., ŠANTRŮČKOVÁ H., PORCAL P., HEJZLAR J., PICEK T., ŠIMEK M., VESELÝ J., 2002b. Physical, chemical, and biochemical characteristics of soils in watersheds of the Bohemian Forest lakes: II Čertovo and Černé lakes. *Silva Gabreta*, 8: 63–93.
- KROUPOVÁ M., 2002. Dendroecological study of spruce growth in regions under long-term air pollution load. *Journal of Forest Science*, 48: 536–548.
- LEAVITT S.W., LONG A., 1985. Stable-carbon isotopic composition of maple sap and foliage. *Plant Physiology*, 78: 427–429.
- LIU Y., MA L., LEAVITT S.W., CAI Q., LIU W., 2004. A preliminary seasonal precipitation reconstruction from tree-ring stable carbon isotopes at Mt. Helan, China since AD 1804. *Global Planet Change*, 41: 229–239.
- LOADER N.J., ROBERTSON I., MCCARROLL D., 2003. Comparison of stable isotope ratios in the whole wood, cellulose and lignin of oak tree-rings. *Palaeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 196: 395–407.
- MA J.V., 2005. Plant root responses to three abundant soil minerals: silicon, aluminium and iron. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 24: 267–281.
- MAJER V., COSBY B.J., KOPÁČEK J., VESELÝ J., 2003. Modelling reversibility of Central European mountain lakes from acidification: Part I – the Bohemian Forest. *Hydrology and Earth System Sciences*, 7: 494–509.
- MARTIN B., SUTHERLAND E.K., 1990. Air pollution in the past recorded in with and stable carbon isotope composition of annual growth rings of Douglas-fir. *Plant, Cell and Environment*, 13: 839–844.
- MATZNER E., MURACH D., 1995. Soil changes induced by air pollutant deposition and their implication for forests in Central Europe. *Water, Air and Soil Pollution*, 85: 63–76.
- MCCARROLL D., LOADER N.J., 2004. Stable isotopes in tree rings. *Quaternary Science Reviews*, 23: 771–801.
- OSTONEN I., LOHMUS K., PAJUSTE K., 2005. Fine root biomass, production and its proportion of NPP in a fertile middle-aged Norway spruce forest: Comparison of soil core and ingrowth core methods. *Forest Ecology and Management*, 212: 264–277.
- PSENNER R., CATALAN J., 1994. Chemical composition of lakes in crystalline basins: A combination of atmospheric deposition, geological background, biological activity, and human action. In: MARGALEF R. (ed.), *Limnology Now: A Paradigm of Planetary Problems*. New York, Elsevier: 255–314.
- PUHE J., 2003. Growth and development of the root system of Norway spruce (*Picea abies*) in forest stands – a review. *Forest Ecology and Management*, 175: 253–273.
- SÉGUIN V., GAGNON CH., COURCHESNE F., 2004. Changes in water extractable metals, pH and organic carbon concentrations at the soil-root interface of forested soils. *Plant and Soil*, 260: 1–17.
- SCHLESSER G.H., HELLE G., LÜCKE A., VOS H., 1999. Isotopes signals as climate proxies: the role of transfer functions in the study of terrestrial archives. *Quaternary Science Reviews*, 18: 927–943.
- SCHWEINGRUBER F.H., 1996. *Tree Rings and Environment. Dendroecology*. Birmensdorf, Swiss Federal Institute for Forest, Snow and Landscape Research. Berne, Stuttgart, Vienna, Haupt: 609.
- SOLBERG S., TORSETH K., 1997. Crown condition of Norway spruce in relation to sulphur and nitrogen deposition and soil properties in southeast Norway. *Environmental Pollution*, 96: 19–27.
- SOLBERG S., ANDREASSEN K., CLARKE N., TORSETH K., TVEITO O.E., STRAND G.H., TOMTER S., 2004. The possible influence of nitrogen and acid deposition on forest growth in Norway. *Forest Ecology and Management*, 192: 241–249.
- SUTINEN S., LUMME I., MÄENPÄÄ M., ARKHIPOV V., 1998. Light microscopic structure of needles of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) in relation to air pollution and needle element concentrations in S.E. Finland and the Karelian Isthmus, N.W. Russia. *Trees*, 12: 281–288.
- SWITSUR V.R., WATERHOUSE J.S., FIELD E.M., CARTER A.H.C., LOADER N.J., 1995. Stable isotopes studies in tree rings from oak-techniques and some preliminary results. *Paläoklimaforschung*, 15: 129–140.
- ŠANTRŮČKOVÁ H., VRBA J., PICEK T., KOPÁČEK J., 2004. Soil biochemical activity and P transformations and losses from acidified forest soils. *Soil Biology & Biochemistry*, 36: 1569–1576.
- ŠANTRŮČKOVÁ H., ŠANTRŮČEK J., ŠETLÍK J., SVOBODA M., KOPÁČEK J., 2007. Carbon isotopes in tree ring of Norway spruce exposed to atmospheric pollution. *Environmental Science & Technology*, 41: 5778–5782.

VESELÝ J., 1994. Investigation of the nature of the Šumava lakes: a review. *Časopis Národního Muzea, Řada přírodovědná*, 163: 103–120.

WEST J.B., BOWEN G.J., CERLING T.E., EHLERINGER J.R., 2006. Stable isotopes as one of nature's ecological recorders. *Trends in Ecology and Evolution*, 21: 408–414.

WILSON R.J.S., ELLING W., 2004. Temporal instability in tree growth/climate response in the Lower Bavarian Forest region: Implications for dendroclimatic reconstruction. *Trees*, 18: 19–28.

Received for publication November 7, 2007

Accepted after corrections March 21, 2008

Mohou stabilní izotopy uhlíku ^{13}C v letokruzích smrku ztepilého indikovat změny v podmínkách prostředí?

ABSTRAKT: V minulém století byly lesy v oblasti Šumavy vystaveny silnému znečištění ovzduší. Možný negativní efekt znečištění ovzduší na fyziologii smrku ztepilého byl studován pomocí stabilních izotopů $\Delta^{13}\text{C}$ v letokruzích stromů. Rostliny během fotosyntetické fixace uhlíku preferují ^{12}C před ^{13}C , a proto dřevo stromů obsahuje méně ^{13}C v porovnání se vzduchem. Pokles v $\Delta^{13}\text{C}$ v rostlině indikuje negativní efekt podmínek prostředí na fyziologii stromu. Podle předpokladu, že změny pH půdy a obsahu hliníku jako nepřímého efektu znečištění ovzduší mohou ovlivňovat fyziologii smrku, by se tyto změny mohly studovat pomocí skladby izotopů v letokruzích smrku. Izotopový signál v letokruzích stromů se během analyzovaného období pohyboval kolem průměrné hodnoty, zatímco signál $\Delta^{13}\text{C}$ klesal mezi roky 1950 až 1980 a opět stoupal po roce 1990. Tento trend je v souladu se zaznamenanými změnami v pH půdy a v atmosférické depozici.

Klíčová slova: $\Delta^{13}\text{C}$; znečištění ovzduší; fyziologie stromu; Šumava; pH půdy; hliník; acidifikace půdy

Corresponding author:

Ing. MIROSLAV SVOBODA, Česká zemědělská univerzita v Praze, Fakulta lesnická a dřevařská,
165 21 Praha 6-Suchbát, Česká republika
tel.: + 420 224 383 405, fax: + 420 234 381 860, e-mail: svobodam@fld.czu.cz
