

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA GOZDARSTVO IN
OBNOVLJIVE GOZDNE VIRE

Eva BAJUK

**NASTANEK RANITVENIH TKIV PRI
OSTROLISTNEM JAVORJU
(*Acer platanoides* L.)
PO POVRŠINSKEM POŠKODOVANJU DEBLA**

DIPLOMSKO DELO

Univerzitetni študij

Ljubljana, 2009

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA GOZDARSTVO IN OBNOVLJIVE GOZDNE VIRE

Eva BAJUK

**NASTANEK RANITVENIH TKIV PRI OSTROLISTNEM JAVORJU
(*Acer platanoides* L.)
PO POVRŠINSKEM POŠKODOVANJU DEBLA**

DIPLOMSKO DELO
Univerzitetni študij

**FORMATION OF WOUND TISSUES IN SUPERFICIALLY INJURED
TRUNKS OF NORWAY MAPLE (*Acer platanoides* L.)**

GRADUATION THESIS
University studies

Ljubljana, 2009

Diplomsko delo je zaključek Univerzitetnega študija gozdarstva. Opravljeno je bilo na Katedri za tehnologijo lesa Oddelka za lesarstvo Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani.

Komisija za študijska in študentska vprašanja Oddelka za gozdarstvo in obnovljive gozdne vire BF je dne 25.8.2008 sprejela temo. Za mentorja diplomskega dela je bil imenovan prof. dr. Primož Oven, za somentorico dr. Lena Marion, za recenzenta pa doc. dr. Janez Pirnat.

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik:

Član:

Član:

Datum zagovora:

Diplomsko delo je rezultat lastnega raziskovalnega dela. Podpisana se strinjam z objavo svoje naloge v polnem tekstu na spletni strani Digitalne knjižnice Biotehniške fakultete. Izjavljam, da je naloga, ki sem jo oddala v elektronski obliki, identična tiskani verziji.

Eva Bajuk

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

ŠD	Dn
DK	GDK 469:176.1(<i>Acer platanoides</i>)(043.2)=163.6
KG	ostrolistni javor (<i>Acer platanoides</i> L.)/mehanske poškodbe/kalus/ preraščanje/sezona/vitalnost/ranitvena tkiva
KK	
AV	BAJUK, Eva
SA	OVEN, Primož (mentor)/MARION, Lena (somentorica)
KZ	SI-1000 Ljubljana, Večna pot 83
ZA	Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za gozdarstvo in obnovljive gozdne vire
LI	2009
IN	NASTANEK RANITVENIH TKIV PRI OSTROLISTNEM JAVORJU (<i>Acer platanoides</i> L.) PO POVRŠINSKEM POŠKODOVANJU DEBLA
TD	Diplomsko delo (univerzitetni študij)
OP	XI, 41 str., 3 pregl., 25 sl., 3 pril., 11 vir.
IJ	sl
JI	sl/en
AI	

Pri ostrolistnem javorju (*Acer platanoides* L.), kjer je bila z lesnega cilindra odstranjena skorja ali celo kambijeva cona, se je opazovalo nastanek ranitvenih tkiv. Proučevano je bilo zaporedje histoloških sprememb ter vpliv sezone poškodovanja in vitalnosti dreves na proces preraščanja poškodb. V treh obdobjih rastne sezone 2005 sta bili vsakič poškodovani po dve zdravi in po dve prizadeti drevesi. Na vsakem drevesu je bilo narejenih 8–9 poškodb. Vsake 3–4 dni, vsaj šest tednov, so bila vzorčena novo nastala ranitvena tkiva in preiskana s svetlobnim mikroskopom. Ugotovljeno je bilo, da je sam potek dogodkov odvisen od globine poškodbe, to je tkiv, ki se med poškodovanjem pretrgajo in posledično tudi tkiv, ki ostanejo na eksponirani površini. Glede na ta tkiva so bili vzorci poškodb razdeljeni v tri tipe. Preraščanje najglobljih poškodb, kjer je bila skupaj s skorjo odstranjena tudi kambijeva cona, je potekalo preko naslednjih faz. Inicialna faza je pomenila nastanek kalusnih celic, sledil je nastanek ranitvene kambijeve cone v sredini kalusa, zatem ali včasih vzporedno s prejšnjo fazo je potekal nastanek ranitvenega felogena. Ko sta oba ranitvena meristema sklenjena, se je poškodba uspešno prerasla in začel se je nastanek ranitvenih derivatov obeh meristemov; periderm, ranitveni les in skorja. Zaporedje histoloških dogodkov je neodvisno od časa poškodovanja in vitalnosti dreves, oba dejavnika pa vplivata na hitrost nastajanja ranitvenih tkiv in s tem na hitrost preraščanja poškodb.

KEY WORDS DOCUMENTATION

DN	GTh
DC	FDC 469:176.1(<i>Acer platanoides</i>)(043.2)=163.6
CX	Norway maple (<i>Acer Platanoides</i> L.)/mechanical wounds/callus/overgrow/ season/vitality/wound tissues
CC	
AU	BAJUK, Eva
AA	OVEN, Primož (supervisor)/MARION, Lena (co-supervisor)
PP	SI-1000 Ljubljana, Večna pot 83
PB	University of Ljubljana, Biotechnical faculty, Department of forestry and renewable forest resources
PY	2009
TI	DEVELOPMENT OF WOUND TISSUES AFTER DEBARKING NORWAY MAPLE (<i>Acer platanoides</i> L.)
DT	Graduation Thesis (University studies)
NO	XI, 41 p., 3 tab., 25 fig., 3 ann., 11 ref.
LA	sl
AL	sl/en
AB	

The development of wound tissue was observed on Norway maple trees (*Acer platanoides* L.) which had their bark or even cambium removed from the trunk. The sequence of wound tissue development and the impact of time of injury and tree vitality on the process of wound overgrowth was investigated. Two vital and 2 handicapped trees were wounded in each of three parts of the growing season in 2005, 8–9 injuries on each tree. Every 3 to 4 days for at least 6 weeks after the injury samples of developing tissue were taken and observed with a light microscope. It was determined that the sequence of wound tissue development depended on the depth of the wounds, in other words on what tissue was torn away, and also on the tissue that remained on the wound surface. Depending on depth of wound all samples were divided into 3 groups. The deepest wounds where the cambium was removed with the bark responded in the following stages. The initial stage was the formation of callus cells followed by the formation of wound cambium within the callus. After that or sometimes in parallel with the previous stage the formation of wound felogen began. The wound was successfully overgrown when both of the wound meristems were formed and began to produce wound derivatives; periderm, wound wood and bark. The sequence of events did not depend on wound time or vitality but both of these factors had an influence on the speed of wound-closure process.

KAZALO VSEBINE

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA.....	III
KEY WORDS DOCUMENTATION	IV
KAZALO VSEBINE	V
KAZALO PREGLEDNIC	VI
KAZALO SLIK.....	VII
SEZNAM PRILOG	X
SLOVARČEK MANJ ZNANIH IZRAZOV	XI
1 UVOD.....	1
1.1 POSTAVITEV PROBLEMA.....	1
1.2 CILJI NALOGE IN DELOVNE HIPOTEZE	1
2 PREGLED OBJAV	2
2.1 MEHANSKA POŠKODOVANOST MESTNIH DREVES	2
2.2 TEORETSKI MODEL CODIT	4
2.2.1 Dosedanje raziskave o površinskem kalusu	6
2.3 MIKROSKOPSKA ZGRADBA LESA OSTROLISTNEGA JAVORJA	9
2.4 MIKROSKOPSKA ZGRADBA SKORJE OSTROLISTNEGA JAVORJA.....	10
3 MATERIAL IN METODE.....	12
3.1 OBJEKT RAZISKOVANJA.....	12
3.2 METODE ZA ANALIZO ODZIVA DREVJA NA MEHANSKO POŠKODBO..	13
3.3 ANATOMSKE METODE IN TEHNIKE	14
3.4 SISTEMATIKA ANATOMSKIH PREISKAV	15
4 REZULTATI	16
4.1 STANJE TKIV PO POVRŠINSKEM POŠKODOVANJU DEBLA	16
4.1.1 Ranitveni odziv pri poškodbah, kjer je na deblu ostal les ali tudi del kambijeve cone.....	16
4.1.2 Razvoj površinskega kalusa na poškodbah, kjer je na deblu ostala kambijeva cona in manjši del skorje	22
4.1.3 Razvoj površinskega kalusa na poškodbah, kjer je na deblu ostala debelejša plast skorje.....	24
4.2 SEZONSKA VARIABILNOST ODZIVA	26
4.2.1 Nastanek ranitvenih tkiv po poškodbah induciranih na zdravih drevesih	26
4.2.2 Razlike v časovnem vidiku preraščanja pri prizadetih drevesih.....	30
5 RAZPRAVA.....	33
5.1 POTEK PRERAŠČANJA POŠKODB – HISTOLOŠKE SPREMEMBE.....	33
5.1.1 Potek preraščanja glede na izpostavljeno tkivo.....	34
5.2 PRERAŠČANJE POŠKODB GLEDE NA SEZONO	35
5.3 PRERAŠČANJE POŠKODB GLEDE NA VITALNOST	35
6 ZAKLJUČKI	36
7 POVZETEK	38
8 VIRI.....	41
ZAHVALA.....	42
PRILOGE	43

KAZALO PREGLEDNIC

Preglednica 1: Časovni razpored odvzema vzorcev pri ostrolistnih javorjih (<i>Acer platanoides</i> L.).....	14
Preglednica 2: Okvirno število dni po poškodovanju, ko se pojavi določena faza preraščanja glede na del sezone, ko je bilo drevo poškodovano, pri zdravih drevesih. V vsaki sezoni sta bili preiskani dve drevesi.....	28
Preglednica 3: Okvirno število dni po poškodovanju, ko se pojavi določena faza preraščanja glede na del sezone, ko je bilo drevo poškodovano, pri prizadetih drevesih. V vsaki sezoni sta bili preiskani dve drevesi.....	32

KAZALO SLIK

Slika 1: Koper, 2007. A – Javorolistna platana (<i>Platanus x hispanica</i> Münchh.). Drevo ima očitno premalo rastnega prostora. B – Trki vozil so pogosti povzročitelji poškodb na deblu. Z rdečo puščico je prikazano malomarno parkiranje z močnimi vozili.	2
Slika 2: Primeri »obglavljenih« dreves, ki so pogosta v mestnem okolju. A – Ljubljana; B, C – Izola.	3
Slika 3: Modelni prikaz vseh štirih sten v prostorskem delu modela CODIT. Stene 1, 2 in 3 so v lesu prisotne ob poškodovanju, stena 4 pa nastane po ranitvi in jo kasneje prerastejo ranitvena tkiva (Tree Decay, 1997).	4
Slika 4: Shematski prikaz sten 2 in 3, ki sta že pred poškodbo prisotni v lesu. Očitno je, da je stena 2 prekinjena na mestih, kjer jo seka stena 3, katero sestavljajo trakovne celice (Tree Decay, 1997).	5
Slika 5: Ostrolistni javor (<i>Acer platanoides</i> L.), prečni prerez. Lesno tkivo vidno skozi mikroskop. Črna puščica kaže na radialno sploščene celice, ki predstavljajo letnico. Rdeči puščici kažeta na strženove trakove, ki so prisotni v dveh velikostih: enoredni in večredni. Merilna črtica je dolga 100 µm.	9
Slika 6: Ostrolistni javor (<i>Acer platanoides</i> L.), prečni prerez. A – Skorjina tkiva; živa skorja ali ličje (ŽS), mrtva skorja ali lubje (MS). B, C, D – Detajli slike A. B – Felogen (F), iz katerega navzven nastaja pluta, navznotri pa feloderm. C – Skorjina vlakna (SV). V radialni smeri jih prečijo rahlo valoviti skorjini trakovi (ST), med njimi pa se nahajajo kolabirane sitaste cevi. D – Skorjina vlakna z dobro vidnimi kristalčki (↓). Ob lesu (levo spodaj) se nahajajo nekolabirane sitaste cevi (*). Merilne črtice so dolge A – 500 µm, B, C, D – 100 µm.	11
Slika 7: Ostrolistni javor (<i>Acer platanoides</i> L.), prečni prerez. Primerjava lesne branike pri zdravem drevesu (A) z širino lesnih branik pri prizadetem javorju (B). Merilni črtici sta dolgi 100 µm.	13
Slika 8: Ostrolistni javor (<i>Acer platanoides</i> L.), prečni prerez. Drevo poškodovano A – aprila, B – junija. Anatomiški odziv po A – 3, B – 7 dnevih. A – Na eksponirani površini je vidno rahlo rdeče obarvano nekrozno tkivo. Očitna je hipertrofija trakovnega tkiva na površini. Osne lesne celice še niso do konca diferencirane. B – Z intenzivno hipertrofijo in hiperplazijo trakovnih celic se kalus v uvodni fazi pojavi v značilnih »bradavicah«. Merilni črtici sta dolgi 100 µm.	17
Slika 9: Ostrolistni javor (<i>Acer platanoides</i> L.), prečni prerez. Drevo poškodovano A – junija, B – avgusta. Anatomiški odziv po A – 7, B – 11 dnevih. A – Pri nastanku površinskega kalusa so bile udeležene nediferencirane osne lesne celice ali celice kambijeve cone, ki so bile v trenutku ranitve brez sekundarne celične stene in radialno usmerjene trakovne celice. Tako nastali površinski kalus je lahko prekril večji ali manjši delež poškodbe. Na mestih, kjer je njegov razvoj izostal, je bilo tudi v lesu mogoče opaziti značilen ranitveni odziv, npr. tile in gumozne snovi (puščica na sliki A). Merilni črtici sta dolgi 100 µm.	17
Slika 10: Ostrolistni javor (<i>Acer platanoides</i> L.), prečni prerez. Drevo poškodovano junija. Anatomiški odziv po 17 dnevih. A – Površinski kalus, ki se je razvil na delno diferenciranem lesu. V osrednjem delu kalusa je tudi pri šibkejši povečavi možno prepoznati tkivo, ki se razlikuje od celic kalusa. B – Pri večji povečavi je mogoče razpoznati radialno sploščene, kambijeve coni podobne celice. C – Detajl ranitvene kambijeve cone. Merilne črtice so dolge A, B – 100 µm, C – 50 µm.	18

- Slika 11: Ostrolistni javor (*Acer platanoides* L.), prečni prerez. Drevo poškodovano junija. Anatomiški odziv po 31 dnevih. A – Nadaljne spremembe v kalusu. Položaj ranitvene kambijeve cone je mogoče razpoznati že pri šibkejši povečavi; položaj ranitvenega felogena pa je razviden šele pri večji povečavi (B). Merilni črtici sta dolgi 100 μm 19
- Slika 12: Ostrolistni javor (*Acer platanoides* L.), prečni prerez. Drevo poškodovano junija. Anatomiški odziv po 42 dnevih. A – Zaključek diferenciacije ranitvenih meristemov in začetek nastanka ranitvenih meristemskih derivatov. B – Razpored tkiv po zaključenem procesu preraščanja (NK – notranji kalus, RL – ranitveni les, RKC – ranitvena kambijeva cona, RS – ranitvena skorja, ZK – zunanji kalus, F – felogen). Merilni črtici sta dolgi 100 μm 20
- Slika 13: Ostrolistni javor (*Acer platanoides* L.), prečni prerez. Drevo poškodovano aprila. Anatomiški odziv po A – 53, C – 47 dnevih. A – Zgradba ranitvenega lesa. Traheje je manj kot v normalnem lesu (B). V nekaterih primerih je v ranitvenem lesu vidna ureditev libriformskih vlaken v dokaj pravilne radialne nize, ki so sicer značilni za les iglavcev. B – Les pri javorju. C – Tudi v ranitvenem lesu se prevodni elementi, to so traheje, lignificirajo prve. Na ta način lahko začnejo zelo hitro izpolnjevati prevajalno funkcijo. Merilne črtice so dolge 100 μm 21
- Slika 14: Ostrolistni javor (*Acer platanoides* L.), prečni prerez. Drevo poškodovano avgusta. Anatomiški odziv po 39. dnevih. A – Razširitev in odebelitev trakovnega tkiva. B – Detajl razširjenih trakov. Očitna je povečana rednost trakov in spremembe v obliki posameznih celic. Merilni črtici sta dolgi 100 μm 21
- Slika 15: Ostrolistni javor (*Acer platanoides* L.), prečni prerez. Drevo poškodovano avgusta. Anatomiški odziv po A – 4. dne, B – 11. dne. A – Kambijeva cona se nahaja tik ob lesu debla. Nad njo je novonastalo kalusno tkivo. Radialno usmerjen trak sega na površino kalusa. B – Na površini novonastalih ranitvenih tkiv so ostanki trakov vidni kot špičasti izrastki. Merilni črtici sta dolgi 100 μm 22
- Slika 16: Ostrolistni javor (*Acer platanoides* L.), prečni prerez. Drevo poškodovano aprila. Anatomiški odziv po 40. dnevih. A – V primeru, ko ostane kambijeva cona na lesu debla, je topografija ranitvenih tkiv nekoliko drugačna kot je opisano v poglavju 4.1.1. V tem primeru kalusa med lesom debla in ranitvenim lesom ni. B – Detajl površine ranitvenih tkiv. Špičaste strukture so ostanki trakovnega tkiva. Nastanek ligno-suberinske plasti in ranitvenega periderma je prekinil povezavo teh struktur s trakovi. Merilni črtici sta dolgi 100 μm 23
- Slika 17: Ostrolistni javor (*Acer platanoides* L.), prečni prerez. Drevo poškodovano aprila. Anatomiški odziv po 53. dnevih. A – Na lesu debla je lahko ostal tudi del žive skorje. Rdeče obarvane celice na površini predstavljajo odmrlo tkivo. Kambijeve cone pod skorjo ni videti. B – Del žive skorje z nediferenciranimi sklereidami. Merilni črtici sta dolgi 100 μm 24
- Slika 18: Ostrolistni javor (*Acer platanoides* L.), prečni prerez. Drevo poškodovano avgusta. Anatomiški odziv po: A – 8. dne, B in C – 18. dnevih. A – Na posameznih primerih smo opazili, da je več kalusa nastalo na mestu, kjer je bila odstranjena skoraj vsa skorja (*). B – Primer, ko je na deblu ostal tudi del skorjinih vlaken. Kalusno tkivo je zaščiteno z domnevno ligno-suberinsko plastjo ($\downarrow$). C – Detajl iz slike B. Merilne črtice so dolge 100 μm 25
- Slika 19: Ostrolistni javor (*Acer platanoides* L.), prečni prerez. Drevo poškodovano avgusta. Anatomiški odziv po: A – 39. dne, B – 56. dne. A – Primer poškodbe, kjer je na deblu ostal tudi del skorjinih vlaken. B – Primer, ko je na deblu ostala kambijeva cona in

morda le manjši del skorje. Puščici na slikah označujeta položaj kalusa. Merilni črtici sta dolgi 100 µm.....	25
Slika 20: Ostrolistni javor (<i>Acer platanoides</i> L.), prečni prerez. Drevo poškodovano A – aprila, B – junija, C – avgusta. Anatomiški odziv po: A in C – 11. dneh, B – 10. dneh. Aprilska poškodba najbolj zaostaja v razvoju (A). Junjska in avgustovska sta v tem obdobju v približno isti razvojni fazi, le da je pri junjski nastanek ranitvene kambijeve cone bolj očiten (puščica na sliki B) kot pri avgustovski poškodbi (puščica na sliki C). Merilne črtice so dolge 100 µm.....	26
Slika 21: Ostrolistni javor (<i>Acer platanoides</i> L.), radialni prerez. Drevo poškodovano A – aprila, B – avgusta. Anatomiški odziv po: A – 47. dneh, B – 8. dneh. Primerjava aprilske in avgustovske poškodbe. Pri avgustovski je linija ranitvene kambijeve cone mnogo bolj očitna že po 8. dneh (puščica na sliki B), kot pri aprilski po 47. dneh (puščica na sliki A). Merilni črtici sta dolgi 100 µm.....	27
Slika 22: Ostrolistni javor (<i>Acer platanoides</i> L.), prečni prerez. Drevo poškodovano A – aprila, B – junija, C – avgusta. Anatomiški odziv po: A in C – 18. dneh, B – 17. dneh. Primerjava poškodb, narejenih v različnih delih sezone, po dveh tednih in pol. Aprilsko preraščanje poteka na diferenciranem lesu najpočasneje (A). Avgustovska poškodba ima najdebelejšo domnevno ligno-suberinsko plast, kar predstavlja hitrejši razvoj ranitvenega felogena v primerjavi z junjsko poškodbo, ki pa ima že izpopolnjeno ranitveno kambijevo cono. Merilne črtice so dolge 100 µm.....	27
Slika 23: Ostrolistni javor (<i>Acer platanoides</i> L.), prečni prerez. Drevo poškodovano A – aprila, B – junija, C – avgusta. Anatomiški odziv po: A – 47. dneh, B in C – 42. dneh. Primerjava poškodb, narejenih v različnih delih sezone, po približno šestih tednih. Pri junjski poškodbi, ki je najhitreje formirala ranitveno kambijevo cono, in s tem začela najhitreje formirati ranitveni les in ranitveno skorjo, lahko opazimo da nastaja že drugi sloj skorjinih vlaken (puščici na sliki B), kar je več kot običajno. Pri vseh treh slikah vidimo funkcionalno ranitveno kambijevo cono in ranitveni felogen, kar nakazuje na to, da se je poškodba uspešno prerasla ne glede na del sezone, v katerem je bilo drevo poškodovano. Merilne črtice so dolge 100 µm.....	29
Slika 24: Ostrolistni javor (<i>Acer platanoides</i> L.), prečni prerez. Drevo poškodovano aprila. Anatomiški odziv po: A – 21. dneh, B – 40. dneh, C – 47. dneh, D in E – 494. dneh. Ranitveni odziv po aprilskih poškodbah, ko se rastna sezona še ni začela. Te poškodbe se preraščajo najpočasneje. V trenutku poškodovanja so bile na površini izpostavljene diferencirane lesne celice. Kalus se je najverjetneje razvil iz trakovnih celic. Po 21. dnevih še vedno ni prisotne ranitvene kambijeve cone (A). Slika B, ki predstavlja ranitveni odziv po 40. dneh, razvojno sovпада s sliko 25B, ki predstavlja odziv že po samo 17. dneh. Na sliki D in E je očitno, da so v manj kot dveh letih nastali vsaj trije pasovi skorjinih vlaken. Merilne črtice so dolge 100 µm.....	31
Slika 25: Ostrolistni javor (<i>Acer platanoides</i> L.), prečni prerez. Drevo poškodovano junija. Anatomiški odziv po: A – 10. dneh, B – 17. dneh, C – 22. dneh, D – 47. dneh, E – 414. dneh. Junjske poškodbe so se odzvale najhitreje. Že po 10 dneh lahko opazimo nastanek ranitvene kambijeve cone (A), ki pa je do 17. dneva že popolnoma izoblikovana (B). Po 17. dnevih se tudi vidi diferenciacija ranitvenega felogena, ki v tem primeru poteka skoraj istočasno kot diferenciacija ranitvene kambijeve cone. Na sliki C vidimo ranitvene derivate; ranitveni les ter ranitveno skorjo. Tudi periderm je že na novo izoblikovan. Sliki D in E predstavljata kasnejšo fazo, ko je proces preraščanja že zaključen. Merilne črtice so dolge: A, B 100 µm; C, D, E 200 µm.....	32

SEZNAM PRILOG

Priloga A: Tabele uporabljene pri pregledu preparatov pod mikroskopom – aprilski vzorci

Priloga B: Tabele uporabljene pri pregledu preparatov pod mikroskopom – junijski vzorci

Priloga C: Tabele uporabljene pri pregledu preparatov pod mikroskopom – avgustovski
vzorci

SLOVARČEK MANJ ZNANIH IZRAZOV

(Torelli, 1990)

Barierna cona	Specializirano tkivo, ki ga kambij tvori po poškodovanju in ki loči tkivo, nastalo pred poškodovanjem, od tkiva, ki nastaja po poškodovanju; stena 4 v modelnem konceptu CODIT.
CODIT	Akronim za angl. Compartmentalization Of Decay In Trees (kompartimentalizacija razkroja v drevesu).
Felogen	Sekundarni lateralni meristem, ki producira periderm.
Hiperplazija	Povečanje števila celic v tkivu ali organu; element kalusa.
Hipertrofija	Povečanje celic, element kalusa.
Kalus	Pri vaskularnih rastlinah, proliferacija parenhimskih celic v procesu prekrivanja ran ali regeneracije.
Kambijeva cona	a) V širšem pomenu sloj (sezonsko) spremenljive debeline, ki sestoji iz kambijevih inicialk in njihovih nediferenciranih derivatov. Cona celic med zrelim sekundarnim floemom in ksilemom. b) V ožjem pomenu aktivno deleče se ksilemske in floemske materinske celice in sloj kambijevih inicialk med njimi.
Lignin	Tridimenzionalen polimer olesenele celične stene sestavljen iz treh fenilpropanskih enot. Del celične stene ksilema.
Lignifikacija	Proces odlaganja lignina v celično steno.
Meristem	Tkivo, sposobno aktivne celične delitve, ki dodaja nove celice rastlinskemu telesu. Lokalizirana regija aktivne celične delitve. Iz njega se razvijejo vsa druga rastlinska tkiva (trajna ali permanentna).
Periderm	Sekundarno krovno tkivo, ki nadomesti primarnega t.j. epiderm. Sestoji iz felogena kot meristema, feloderma in felema.
Suberin	Ester višjih maščobnih kislin, višjih alkoholov in glicerola. Del celične stene plute.
Suberinizacija	Proces odlaganja suberina v celično steno.

1 UVOD

1.1 POSTAVITEV PROBLEMA

Odziv dreves na mehansko poškodovanje je mogoče najenostavneje pojasniti s konceptom kompartmentalizacije, ki predpostavlja, da obseg neugodnih posledic poškodovanj v lesu omejujejo fizične tkivne bariere. Pri mestnem in gozdnem drevju pa predvsem na deblih dreves pogosto nastajajo površinske poškodbe, zaradi odstranjene skorje. Odziv drevesnih tkiv na tovrstna poškodovanja je dokaj slabo raziskan. Poseben vidik odziva kambijeve cone in najmlajših kambijevih derivatov po odstranitvi skorje je nastanek površinskega kalusa. Preliminarne raziskave kažejo, da v lesu pod njim izostane diskoloracija. Njegov nastanek in zgradba ter razvoj ostalih sekundarnih tkiv so bila doslej izjemno skromno raziskovana, še zlasti slabo poznan je vpliv letnega časa, v katerem je drevo poškodovano in vpliv vitalnosti drevesa na nastanek ranitvenih tkiv.

1.2 CILJI NALOGE IN DELOVNE HIPOTEZE

Kot cilj naloge smo si zastavili pri ostrolistnem javorju (*Acer platanoides* L.) raziskati zaporedje histoloških sprememb, ki spremljajo nastanek površinskega kalusa in razvoj sekundarnih tkiv v njem. Ostrolistni javor je zelo pogosta drevesna vrsta v mestnem okolju. Poznavanje tkivnih sprememb, ki spremljajo odziv drevesa na mehanske poškodbe, bi lahko uporabili pri nadaljnjih sanacijah poškodb na tej drevesni vrsti. Namen diplomske naloge je tudi raziskati vpliv letnega časa, tj. rastne sezone, ko je drevo poškodovano in ugotoviti morebitne razlike v odzivu zdravih in prizadetih dreves.

Pri oblikovanju naloge smo si postavili naslednje delovne hipoteze:

- površinski kalus nastane s hipertrofijo in hiperplazijo parenhimskih celic trakov,
- v kalusu se najprej razvije ranitveni periderm in šele zatem tudi nova, ranitvena kambijeva cona,
- pojav ranitvene kambijeve cone je pogoj za nastanek sekundarnih tkiv, ranitvene skorje in ranitvenega lesa,
- zaporedje tkivnih sprememb je pri zdravih in prizadetih ostrolistnih javorjih enako,
- razvoj kalusa in ranitvenih tkiv je najhitrejši pri poškodbah, ki nastanejo na višku rastne sezone.

Vse fotografije vključene v diplomsko nalogo sem poslikala sama in so originalne.

2 PREGLED OBJAV

2.1 MEHANSKA POŠKODOVANOST MESTNIH DREVES

V mestnem okolju so drevesa že sama po sebi v nekoliko slabši kondiciji, saj rastejo izven svojega naravnega okolja, tj. gozda. V mestih jim sicer poskušamo nuditi čim bolj optimalne pogoje, a imajo drevesa kljub temu ponavadi premajhen rastni prostor (Slika 1A) in so običajno omejena z betonom. Drevesa dodatno slabi nepravilna nega, višja koncentracija izpuhov v zraku in tudi veliko večja koncentracija soli v tleh, do česar pride v mestih zaradi vsakoletnega zimskega posipavanja cest s solmi. Vsem že naštetim dejavnikom, ki vplivajo na zdravstveno stanje dreves v mestih, se pridružujejo še mehanske poškodbe.



Slika 1: Koper, 2007. A – Javorolistna platana (*Platanus x hispanica* Münchh.). Drevo ima očitno premalo rastnega prostora. B – Trki vozil so pogosti povzročitelji poškodb na deblu. Z rdečo puščico je prikazano malomarno parkiranje z močnimi vozili.

Mehanske poškodbe so del vsakdanjika dreves v mestnem okolju. Do njih lahko pride zaradi najrazličnejših vzrokov. Med tem, ko so v gozdu vzrok mehanskim poškodbam predvsem sečnja, spravilo ter gradnje gozdnih prometnic s težko mehanizacijo, pa imamo v mestu mnogo bolj pestro paleto vrst mehanskih poškodb. Tako se pojavljajo poškodbe v predelu koreninika zaradi malomarnosti pri košnji. Pri starejših drevesih se prav zaradi istega vzroka neredko poškodujejo tudi debelejšše korenine.

Poškodbe na deblu največkrat povzročijo trki vozil (Slika 1B), vandalizem ali najrazličnejša gradbena dela. V mestih je pogosto poškodovan koreninski sistem zaradi gradnje prometnic, pločnikov, vodovoda in parkirišč. Vzrok mehanskim poškodbam v krošnji nemalokrat predstavlja nepravilno obžagovanje ter odlomi vej v neurjih (Oven, 2001). Zaradi načina nepravilnega obžagovanja, ki mu pravimo tudi »obglavljanje dreves«, se razvije sekundarna krošnja, ki deluje mladostno. Drevo lahko odžene sicer zdrave veje, vendar je stično mesto veje in debla lahko zelo šibko. Na tem mestu je površina prereza izpostavljena oksidaciji in vdoru patogenih organizmov, kar lahko vodi do razkroja in izvotlitve debla. Pri takšnih drevesih je verjetnost odloma vej zelo velika.



Slika 2: Primeri »obglavljenih« dreves, ki so pogosta v mestnem okolju. A – Ljubljana; B, C – Izola.

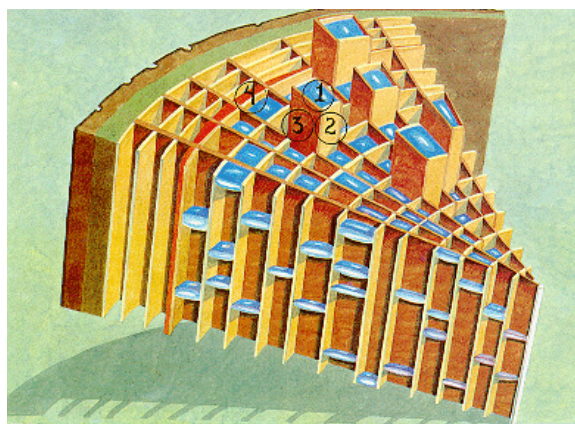
Zaradi vseh naštetih vzrokov je vitalnost dreves v mestnem okolju lahko zelo slaba, zato jim je potrebno posvetiti posebno pozornost. Pri oceni varnosti drevesa in možnosti odloma delov drevesa, ali celo porušitvi celotnega drevesa, je potrebno oceniti kateri del ima možnost odloma in tudi kakšna bo škoda, ki jo ta odlomljen del lahko povzroči (Oven, 2001). Veda, ki se ukvarja z gojenjem dreves v mestnem okolju, se imenuje arboristika (Oven, 2000). Cilji arborističnih postopkov so zdravo, varno in estetsko drevo (Oven in Zupančič, 2001). V nadaljevanju se bomo osredotočili na mehanske poškodbe in na teoretični model razkroja v drevesih, ki pojasnjuje odziv dreves na mehanske poškodbe.

2.2 TEORETSKI MODEL CODIT

Teoretski model CODIT (**C**ompartmentalization **O**f **D**ecay **I**n **T**rees) pojasnjuje odziv drevesnih tkiv na mehanske poškodbe. Model CODIT je leta 1977 razvil dr. Alex Shigo, ki je predpostavil, da je drevo visoko predeljen oz. kompartmentiran organizem, ki z obstoječimi in novonastalimi tkivi omeji neugodne posledice poškodovanj na najmanjši možni volumen. Model omejitve razkroja v drevesu ima dva dela. Prvi del predstavlja časovno zaporedje sprememb, ki se odvijajo v tkivih po poškodovanju, drugi del pa s prostorskega vidika predpostavlja ovire v lesu, ki omejujejo razvoj razkrojnih procesov.

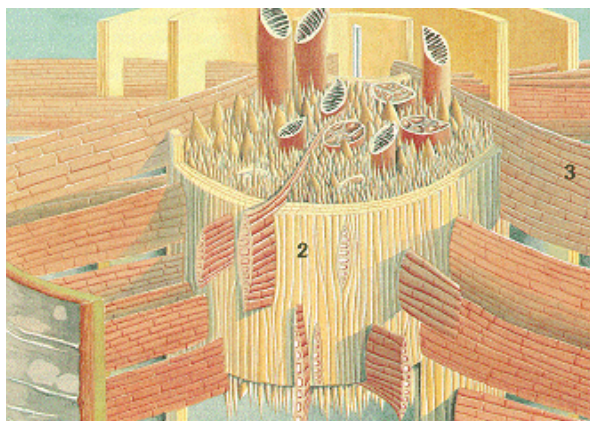
Časovni del modela CODIT predstavljajo 3 zaporedne faze, ki se v tkivih odvijajo po mehanskem poškodovanju. Prva faza vključuje spremembe, ki neposredno spremljajo poškodbo. Te so abiotske spremembe, izsuševanje oziroma dehidracija tkiv ter vdor kisika v prevodne elemente. V drugi fazi nastopi razbarvanje ter občutljiva reakcija lesnega tkiva na patogene organizme. V zadnji fazi se pojavi razkroj lesa, v kateri les izgubi tudi oporno funkcijo. Skrajna posledica ranitve pa je izvotlitev drevesa (Shigo, 1986).

Prostorski del modela CODIT predpostavlja 4 stene, ki omejijo razkroj v drevesu. Ta del lahko ponovno razdelimo na dva dela, in sicer prvi del pojasnjuje dogodke, ki se odvijajo v lesnem tkivu, ki je že obstajal v času poškodbe, to so stene 1, 2 in 3, ki mejijo na živo beljavo, drugi del pa temelji na tkivu, ki nastane po poškodovanju, to je stena 4, ki ji pravimo tudi barierna cona. Vse štiri stene so simbolično prikazane na sliki 3.



Slika 3: Modelni prikaz vseh štirih sten v prostorskem delu modela CODIT. Stene 1, 2 in 3 so v lesu prisotne ob poškodovanju, stena 4 pa nastane po ranitvi in jo kasneje prerastejo ranitvena tkiva (Tree Decay, 1997).

Po poškodbi se drevo na dinamičen način odzove z zamašitvijo vertikalnih prevodnih elementov, to so traheje pri listavcih in traheide pri iglavcih. Zamašijo se lahko na različne načine, npr. s tilami, gumoznimi depoziti, skratka z materialom, ki pride iz celic, ki obdajajo prevodne elemente. Zamašeni elementi spopolnjujejo prečno zgornjo in spodnjo steno predelkov in jim pravimo stena 1. Stena 1 je najšibkejša. Stena 2 je tangencialno usmerjena in omejuje širjenje razkroja proti strženu. Sestavlja jo zadnja nepoškodovana letnica. Ta stena je neprekinjena, razen seveda tam, kjer jo presekajo trakovne celice (Slika 4). Stena 2 je druga najšibkejša stena. Radialno, 3. steno, sestavljajo trakovne celice, ki omejujejo razkroj v lateralni smeri. Te stene so prekinjene, saj trakovi močno variirajo v dolžini, širini in višini. Stena 3 je najmočnejša v drevesu v času poškodovanja. Četrta stena loči tkiva prisotna v času poškodovanja od tistih, ki nastanejo po ranitvi. Ta stena je od vseh štirih najmočnejša (Tree Decay, 1997).



Slika 4: Shematski prikaz sten 2 in 3, ki sta že pred poškodbo prisotni v lesu. Očitno je, da je stena 2 prekinjena na mestih, kjer jo seka stena 3, katero sestavljajo trakovne celice (Tree Decay, 1997).

Če sedaj ponovno pogledamo drevo kot visoko predeljen organizem, je očitno, da je vsaka branika razdeljena v predelke, katerim trakovne celice predstavljajo radialne stene (stena 3), letnica med prejšnjo in opazovano braniko pa tangencialno steno (stena 2). Znotraj teh sten so vlakna, traheje in aksialni parenhim pri listavcih, pri iglavcih pa podolžen parenhim in traheide. Traheje in traheide ohranjajo vrh in dno predelka delno odprta, kar omogoča vertikalni tok tekočin, ki pa se ob poškodovanju zamašijo in s tem nastane stena 1 (Tree Decay, 1997). V našem delu smo se osredotočili na tkiva, ki nastanejo po poškodovanju in prekrijejo poškodbo, kar prostorsko sovпада s 4. steno v modelu CODIT oziroma z barierno cono.

2.2.1 Dosedanje raziskave o površinskem kalusu

Nastanek površinskega kalusa, ki spremlja odziv drevesa po poškodovanju, je vzbujal zanimanje botanikov že več kot 200 let. Ta pojav je bil do sedaj opazovan že na mnogih listavcih v različnih klimatskih regijah (Stobbe in sod., 2002). Kljub dolgoletnemu zanimanju za ta pojav, pa strukturnih procesov in razvojnih faz še niso zadostno opisali.

Dosedanje tovrstne raziskave so naslednje. Leta 1953 je Trécul opisal novonastalo tkivo po odstranitvi skorje v pomladanskem času pri javorju, orehu, divjem kostanju in brestu (Stobbe in sod., 2002). Brown in Sax (1962) sta opazovala delitev celic po spomladanskih poškodbah pri topolu in boru, kjer je kalus izhajal predvsem iz trakovnih celic. Podobno sta ugotovila tudi Sharples in Gunnery (1933, cit. po Stobbe, 2002) na hibiskusu in kavčukovcu. Tudi v Aziji so različne vrste znane po tem, da s kalusnim tkivom prerastejo poškodbe, kar sta opazovala Zhengli in Keming (1988, cit. po Stobbe, 2002).

Stobbe in sodelavci pa so svojo raziskavo z odstranitvijo skorje izvedli na lipi (*Tilia* sp.). Ugotovili so naslednje procese. Če je bila skorja odstranjena med vegetacijsko dobo, potem je najverjetneje ostal na površini nediferenciran les, ki se je začel deliti ter tako prekril celotno površino poškodbe ali pa samo del z novonastalim kalusom. V primerih, ko so na površini ostale le celice, ki so že začele formirati sekundarno celično steno, so ugotovili, da se kalus sploh ni razvil. Stobbe (2002) navaja, da so bili tudi primeri, kjer se je lahko delil že popolnoma diferenciran aksialni in trakovni parenhim. Kambijeva cona je pogosto odstranjena skupaj s skorjo, ko pa je ostala na površini, so se celice kambijeve cone sesedle in ta plast je ščitila nediferenciran les, ki se je nahajal pod njo. Iz tega so zaključili, da kambijeva cona ni direktno vključena v nastanek površinskega kalusa, če se poškodba zgodi v vegetacijski dobi. Prišli so tudi do zaključka, da je rast površinskega kalusa odvisna od globine poškodbe in števila celic, ki so ostale na površini in so se sposobne deliti. Raziskave so pokazale, da se je po 2. do 3. tednih na površini formiralo večplastno tkivo iz izodiametričnih celic z mnogimi intercelularnimi prostori. Te celice so imele naslednje karakteristike: velike vakuole, tanko citoplazmatsko plast okoli sten in tanko primarno celično steno. Med 3. in 4. tednom po poškodbi so se zgodile pomembne spremembe. Stene zunanjih celic so suberinizirale in v vakuole so se odložile fenolne substance. Pod njimi ležeče kalusne celice so se spremenile v tangencialno orientiran pas

sploščenih celic, kar je predstavljalo začetek nastanka ranitvenega felogena. Po 8. tednih je bil ranitveni periderm že v polnem funkcioniranju. Navzven je formiral pluto, na notranjo stran pa feloderm. Pluta je očitno suberizirana in vsebuje fenolne substance v vakuolah (Stobbe in sod., 2002). Brown in Sax (1962) sta funkcionalni felogen zasledila pri topolih že po 2. do 3. tednih.

Nadaljne spremembe pri lipi se kažejo v nastanku kambijeve cone iz notranjega kalusa, to pomeni iz tistega kalusa, ki je bližje navadnemu lesu. Ta pojav so zasledili tudi pri topolu, boru in še dveh tropskih drevesnih vrstah. Pri nekaterih subtropskih drevesnih vrstah se je ranitveni periderm razvijal skoraj istočasno kot ranitvena kambijeva cona. Ranitvena kambijeva cona se razvije z vstavljanjem radialnih in tangencialnih sten v parenhimskih kalusnih celicah. To se običajno odvija na večjih mestih hkrati s tendenco formiranja neprekinjenega obroča ranitvene kambijeve cone. Stobbe je v svoji raziskavi med drugim ugotovil tudi, da so fuziformne inicialke v ranitveni kambijevi coni krajše od tistih v običajni kambijevi coni. Te krajše inicialke so sprva sposobne proizvajati le les in šele čez približno dva tedna se pojavijo tudi funkcionalne skorjine celice. Med lesom, ki je prisoten v času poškodovanja in ranitvenim lesom je območje, kjer le redke celice razvijejo sekundarno celično steno. To tangencialno usmerjeno tkivo, ki ostane kot nekakšna brazgotina, se nahaja na mestu, kjer so bile v času poškodovanja prisotne nediferencirane lesne celice. Po poziciji in strukturi se to tkivo ujema z t.i. barierno cono (Stobbe in sod., 2002). Barierna cona je specializirano zaščitno tkivo, ki nastaja distalno od roba rane kot odziv kambijeve cone, ki je že obstajala v trenutku poškodovanja (Oven, 1999).

Stobbe (2002) je zaključil, da sam proces preraščanja oz. nastanka površinskega kalusa nastopi v treh fazah, ki si med seboj sledijo v naslednjem zaporedju:

- 1) inicialna faza nastanka parenhimskih celic,
- 2) nastanek ranitvenega periderma v zunanjem kalusu,
- 3) nastanek ranitvene kambijeve cone v notranjem kalusu.

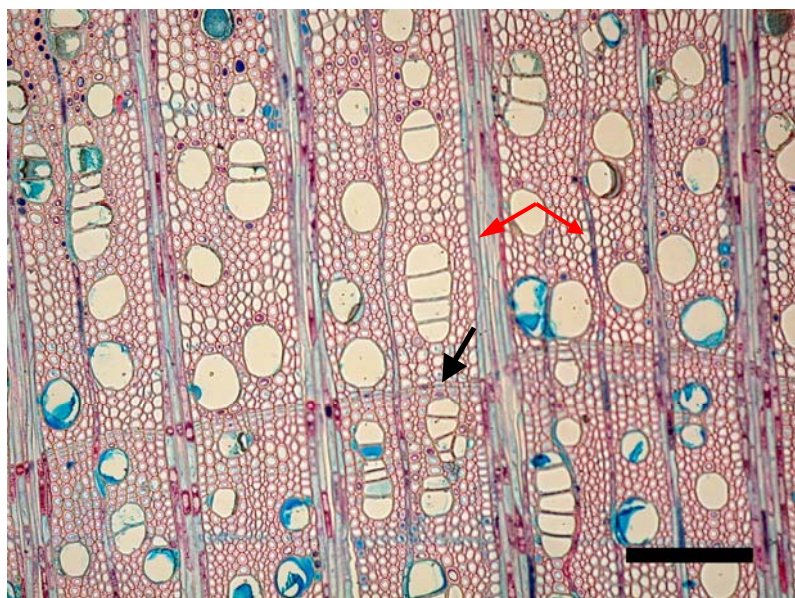
Marion (2007) je v svoji doktorski disertaciji ugotovila, da so se med poškodovanjem lahko pretrgala različna tkiva. Na površini je lahko ostala plast nediferenciranih lesnih celic ali plast nediferenciranih skorjinih celic, lahko je na površini ostala kambijeva cona ali pa je na površini ostal še del skorjine branike. Glede na tip celic, ki je ostal na površini poškodbe, je ranitveni odziv razdelila na tri tipe: A, B in C.

Pri tipu A je na površini ostal sloj kambijeve cone. Ta je nabrekli in se posušil, nadaljnega ranitvenega odziva pa niso opazili. Pri tipu B je med poškodovanjem ostala na drevesu kambijeva cona in plast skorjinih celic. Tako pri aktivni, kot tudi pri dormantni kambijevi coni je najprej odmrlo površinska plast, ki je predstavljala nekrozni sloj. Zaznali so povečane kambijeve celice in njihovo delitev. Pri tem tipu je kalus lahko nastal iz nediferenciranih lesnih in skorjinih celic ter kambijeve cone. Ranitveni odziv tipa C je bil opredeljen s poškodbami, pri katerih je bila v času poškodovanja kambijeva cona aktivna. V tem primeru je lahko kalus nastal iz parenhimskih trakovnih celic, iz nediferenciranih lesnih celic, iz kambijeve cone ali pa iz kombinacije naštetih.

Pri diplomski nalogi smo prav tako razdelili odziv na poškodbe glede na celice, ki so ostale na površini poškodbe, vendar se skupine vseeno nekoliko razlikujejo (glej poglavje 4.1).

2.3 MIKROSKOPSKA ZGRADBA LESA OSTROLISTNEGA JAVORJA

Les je glavno mehansko in za vodo prevodno tkivo debel in korenin, za katerega so značilni trahealni elementi (Torelli, 1990). Les predstavlja komunikacijski sistem med koreninami in krošnjo. Aksialna struktura lesnega tkiva omogoča transport vode in mehansko oporo, radialna pa skladiščno (Wodzicki, 2001 cit. po Marion, 2007). Les listavcev sestoji iz osnovnega tkiva (vlakna, vlaknaste traheide ali libriformska vlakna), trahej ter aksialnega in trakovnega parenhima. Traheje pri ostrolistnem javorju so difuzne, v parih in radialnih skupinah. Premer trahej znaša med 30 in 70 μm , njihov delež v lesu pa je od 4,0 do 8,4 %. Osnovno tkivo sestavljajo libriformska vlakna, porazdeljena neenakomerno do deloma radialno. Debelina sten variira, vlakna pa so mrtva in živa. Aksialni parenhim je redek, apotrahealen ter se pojavlja difuzno med osnovnim tkivom ali pa kot ozki tangencialni pasovi na letnici (apotrahealen, marginalen). Aksialni parenhim je pri ostrolistnem javorju redko marginalen in občasno paratrahealen, njegov delež pa je neznaten. Trakovi so neenakomerno porazdeljeni, homogeni, najdemo jih v dveh velikostih. Trakovi se na letnici ne razširijo, ali pa le malo. Delež trakov je med 16,2 in 18,5 %. Letnice pri ostrolistnem javorju predstavljajo posamezna radialno sploščena vlakna (Grosser 1977, Schweingruber 1990, Wagenführ 1996 cit. po Marion, 2007).



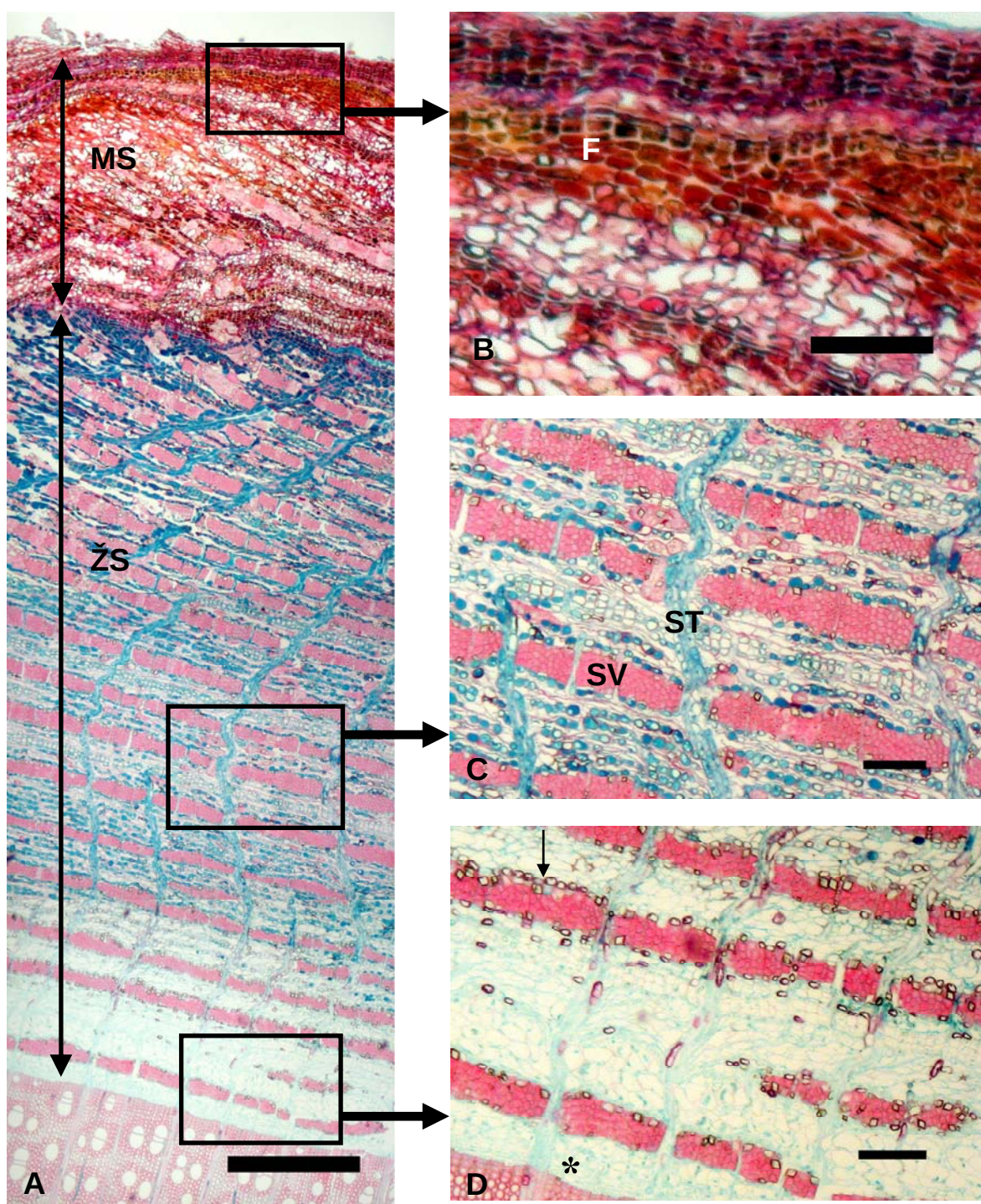
Slika 5: Ostrolistni javor (*Acer platanoides* L.), prečni prerez. Lesno tkivo vidno skozi mikroskop. Črna puščica kaže na radialno sploščene celice, ki predstavljajo letnico. Rdeči puščici kažeta na strženove trakove, ki so prisotni v dveh velikostih: enoredni in večredni. Merilna črtica je dolga 100 μm .

2.4 MIKROSKOPSKA ZGRADBA SKORJE OSTROLISTNEGA JAVORJA

V splošnem je skorja zaradi pasov skorjinih vlaken koncentrično plastovita. Pri starosti okoli 50 let je skorja debela 3,5 mm. Skorjine branike so relativno dobro vidne in razpoznavne, predvsem na osnovi tri do pet celic širokih pasov sitastih cevi rane skorje, celo takrat ko so te celice kolabirane. Sitaste cevi se običajno nahajajo v pasovih, ki jih sestavlja do največ 7 celic, ki pa od drugega leta dalje kolabirajo. Parenhimske celice se prav tako nahajajo v tangencialnih pasovih, ki so običajno široki od ene do štirih celic. Posamezne parenhimske celice se lahko nahajajo tudi med sitastimi cevmi. Skorjini trakovi so široki od ene do pet celic. Skozi skorjo lahko v radialni smeri potekajo skorajda ravno ali valovito. V območju, kjer potekajo preko skorjinih vlaken so nekoliko ožji. Skorjina vlakna so pravzaprav zelo pomemben anatomske identifikacijski znak za to drevesno vrsto. Praviloma se vedno nahajajo na mestu pasov parenhimskih celic. Sestavljajo relativno strnjene do 70 μm široke pasove, ki v ugodnih okoliščinah pri mladem drevju nastanejo vsako drugo leto, v povprečju pa vsako četrto leto.

Poleg skorjinih vlaken se pojavljajo tudi sklereide vendar v omejenem obsegu. Pojavljajo se predvsem kot posamična majhna gnezda v pasovih sitastih cevi in redkeje v območju parenhimskih celic. Felogen periderma je lahko aktiven več let, zato je sloj plutnih celic pogosto izrazito plastovit. Prvi sloj plutnih celic je običajno širok šest do sedem celic, kasneje pa ožji, širok samo dve do tri celice. Celice rane plute so skoraj kvadratne, celice kasne plute pa radialno sploščene z rjavo vsebino. Feloderm sestavlja tri do pet slojev debelostenih celic. Zaradi razporeditve in deleža skorjinih vlaken je mrtva skorja oz. ritidom vzdolžno razpokana (Oven, 2008).

Zgradba skorje ostrolistnega javorja (*Acer platanoides* L.) je prikazana na sliki 6.



Slika 6: Ostrolistni javor (*Acer platanoides* L.), prečni prerez. A – Skorjina tkiva; živa skorja ali ličje (ŽS), mrtva skorja ali lubje (MS). B, C, D – Detajli slike A. B – Felogen (F), iz katerega navzven nastaja pluta, navznotri pa feloderm. C – Skorjina vlakna (SV). V radialni smeri jih prečijo rahlo valoviti skorjini trakovi (ST), med njimi pa se nahajajo kolabirane sitaste cevi. D – Skorjina vlakna z dobro vidnimi kristalčki (↓). Ob lesu (levo spodaj) se nahajajo nekolabirane sitaste cevi (*). Merilne črtice so dolge A – 500 μ m, B, C, D – 100 μ m.

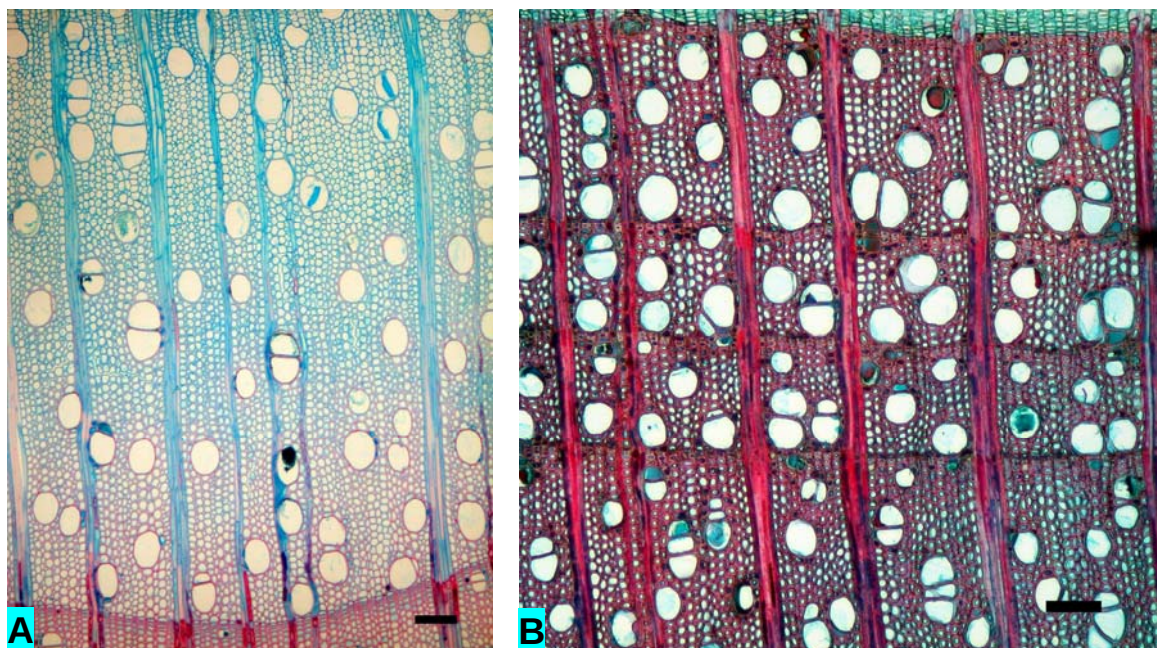
3 MATERIAL IN METODE

Preparate za analizo nastanka ranitvenih tkiv pri ostrolistnem javorju po odstranitvi skorje, ki so bili uporabljeni pri tem diplomskem delu, je pridobila dr. Lena Marion v okviru doktorske disertacije z naslovom Sezonska aktivnost kambija in njegovega odziva na mehanske poškodbe pri mestnem drevju.

3.1 OBJEKT RAZISKOVANJA

Raziskovalni objekt so ostrolistni javorji (*Acer platanoides* L.) na Letališki cesti v Mestni občini Ljubljana. Zaradi dokaj destruktivne metode odstranitve skorje z debla, je bilo število dreves omejeno na 12. Na severni strani Letališke ceste raste dvojni drevored, za katerega se predpostavlja, da je bil zasajen istočasno. En del drevoreda raste na ozki zelenici med cesto in pločnikom, drugi pa na zelenici ob pločniku. Prvi del drevoreda ima slabše rastne razmere kot drugi del. Drevesa, ki rastejo med cesto in pločnikom, imajo manjše, presvetljene, zaradi posipnih soli poškodovane krošnje in imajo manjši prsni premer. Ta skupina dreves je bila poimenovana prizadeta drevesa. Drugo skupino dreves smo poimenovali zdrava drevesa. Pločnik med obema vrstama dreves je rahlo nagnjen proti prizadetim drevesom, kamor se stekajo padavine in pozimi voda z raztopljenimi posipnimi solmi. Prizadeta drevesa so kazala znake poškodb listov zaradi posipnih soli že v začetku meseca junija leta 2005. Prav tako imajo ta drevesa manj rastnega prostora v predelu korenin v primerjavi z zdravimi drevesi (Marion, 2007).

Pogled pod mikroskop nam da dodatno informacijo o stanju dreves. Glede na to, da gre za isto drevesno vrsto, da drevesa rastejo na isti nadmorski višini in imajo v splošnem skupne makropogoje, je možno opaziti veliko razliko v priraščanju med zdravimi in prizadetimi drevesi. Širina branik zdravih dreves je tudi do 6 krat širša (Slika 7). Kot je dokazala Marion (2007), je pri zdravih drevesih povprečno število lesnih celic v braniki leta 2005 za 5,7 krat večje kot pri prizadeti skupini ostrolistnih javorjev (Marion, 2007).



Slika 7: Ostrolistni javor (*Acer platanoides* L.), prečni prerez. Primerjava lesne branike pri zdravem drevesu (A) z širino lesnih branik pri prizadetem javorju (B). Merilni črtici sta dolgi 100 μm .

3.2 METODE ZA ANALIZO ODZIVA DREVJA NA MEHANSKO POŠKODBO

Metode za analizo odziva drevja na mehanske poškodbe, so povzete po doktorki disertaciji Lene Marion (2007). Marion (2007) je zasnovala poškodbe debla na ostrolistnih javorjih v treh delih sezone: april, junij in avgust 2005 (Preglednica 1). V vsakem obdobju so s pomočjo ostrega noža in dleta na štirih drevesih, dveh zdravih in dveh prizadetih drevesih, zasnovali 8–9 poškodb z odstranitvijo skorje v obliki kvadrata. Površina poškodb je bila 9–25 cm^2 .

Po odvzemu intaktnih vzorcev kambijeve cone so del debla s poškodbami ovili s črno PVC folijo, katero so pritrdili z lepilnim trakom. Vzorci so bili odvzeti na tri do štiri dni vsaj 6 tednov. Takrat so odstranili folijo z drevesa, z digitalnim fotoaparatom slikali poškodbe, odvzeli enega do tri vzorce novonastalih tkiv in lesa v obliki količkov 1 x 1 x 2 cm^3 in nato deblo zopet ovili v črno PVC folijo. Količek je bil odvzet tam, kjer so okularno ocenili, da je bil odziv kambijeve cone na poškodbo najintenzivnejši. Takoj po odvzemu so vzorce fiksirali v FAA (500 ml FAA vsebuje: 25 ml 37 % formaldehida, 25 ml 100 % očetne kisline in 450 ml 50 % etanola).

Preglednica 1: Časovni raspored odvzema vzorcev pri ostrolistnih javorjih (*Acer platanoides* L.)

Odvzem in slikanje	1. Obdobje	Št. dni po poškodbi	2. Obdobje	Št. dni po poškodbi	3. Obdobje	Št. dni po poškodbi
	Datum		Datum		Datum	
1	15.04.2005	0	14.06.2005	0	19.08.2005	0
2	19.04.2005	4	17.06.2005	3	23.08.2005	4
3	22.04.2005	7	21.06.2005	7	27.08.2005	8
4	26.04.2005	11	24.06.2005	10	30.08.2005	11
5	29.04.2005	14	28.06.2005	14	02.09.2005	14
6	03.05.2005	18	01.07.2005	17	06.09.2005	18
7	06.05.2005	21	05.07.2005	21	09.09.2005	21
8	10.05.2005	25	08.07.2005	24	13.09.2005	25
9	13.05.2005	28	12.07.2005	28	16.09.2005	28
10	17.05.2005	32	15.07.2005	31	20.09.2005	32
11	20.05.2005	35	19.07.2005	35	23.09.2005	35
12	25.05.2005	40	26.07.2005	42	27.09.2005	39
13	27.05.2005	42	07.10.2005	115	30.09.2005	42
14	01.06.2005	47	14.10.2005	122	07.10.2005	49
15	03.06.2005	49			14.10.2005	56
16	07.06.2005	53				
17	10.06.2005	56				
18	14.06.2005	60				
19	11.04.2006	361	11.04.2006	301	11.04.2006	235
20	22.08.2006	494	22.08.2006	434	22.08.2006	368
št. drevesa	1, 2, 3, 4		5, 6, 7, 8		9, 10, 11, 12	

3.3 ANATOMSKE METODE IN TEHNIKE

Vsi opisani postopki so povzeti po doktorski disertaciji Lene Marion (2007). Odvzeti vzorci so bili vključeni v parafin, nato so se prepajali v tkivnem procesorju Leica TP 1020. Pravilno orientirane vzorce so položili v kalupe in jih nato toplotno obdelali tako, da so parafinske bloke z lahkoto vzeli iz kalupov (Marion, 2007). Sledilo je rezanje in barvanje preparatov. Kot navaja Marion (2007), so za rezanje uporabljali rotacijski mikrotom z nizko profilnimi jeklenimi noži za enkratno uporabo Feather N35H. Debelina rezil je bila 7–14 µm. Izdelali so prečne preparate. Vsi preparati so bili obarvani s safraninom in astra modrim. Lignificirane celične stene so se s safraninom obarvale rdeče, med tem ko so se nelignificirane celične stene, predvsem celulozni del, z astra modrim obarvale modro (Marion, 2007).

3.4 SISTEMATIKA ANATOMSKIH PREISKAV

Za potrebe diplomske naloge smo preparate analizirali s pomočjo svetlobnega mikroskopa Nikon Eclipse E800, digitalne kamere Nikon PIXELink in programske opreme za obdelavo slike Picasa Version 2.7 in Adobe Photoshop CS2 Version 9.0.

Vse preparate smo na začetku grobo pregledali. Sledilo je slikanje (vsaj pod eno povečavo) in detajlna analiza histoloških sprememb, ki je praviloma vključevala identifikacijo kalusa, kambijeve cone, felogena, ligno-suberinske plasti ter ranitvenega lesa in ranitvene skorje. Vse preparate sem fotografirala. Slike sem nato izostrila, dodala kontrast in merilne črtice. Pri opisu rezultatov najprej navajam stanje tkiv po poškodovanju in nato variabilnost odziva. Sledijo rezultati sezonske dinamike odziva in nato še odziv glede na vitalnost. Vsi opisni rezultati so pospremljeni z originalnimi fotografijami.

4 REZULTATI

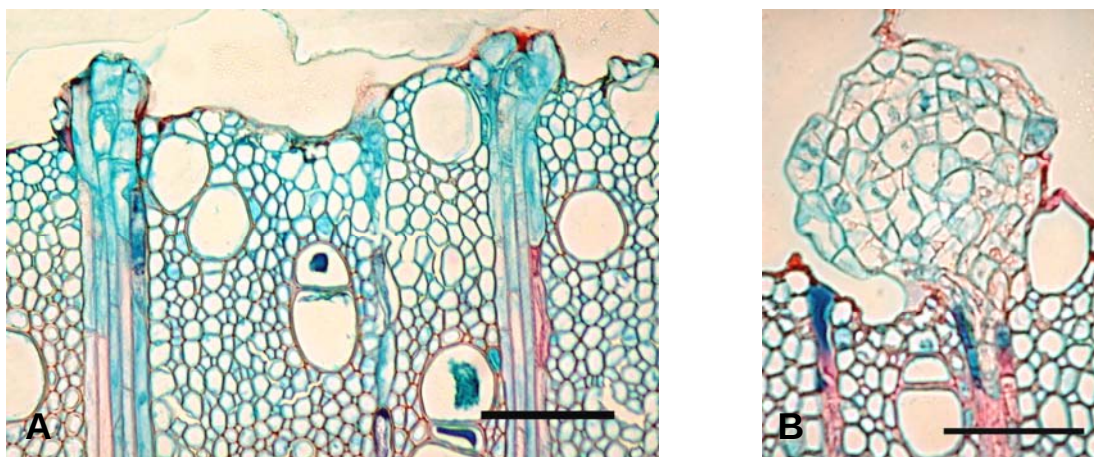
4.1 STANJE TKIV PO POVRŠINSKEM POŠKODOVANJU DEBLA

V poskusu, pri katerem so z debla odstranili skorjo, smo pri nadaljnjem pregledu vzorcev, ki jih je pridobila Marion (2007) ugotovili, da je bila anatomska sestava tkiv, ki so ostala na deblu, pravzaprav zelo različna. Na osnovi tega je bilo mogoče vzorce v splošnem razdeliti v tri skupine, kar je predlagala že Marion (2007).

Prvo skupino predstavljajo poškodbe, kjer je po poškodovanju na površini ostal les ali tudi del kambijeve cone (glej poglavje 4.1.1). Naslednjo skupino predstavljajo poškodbe, kjer je na deblu ostala kambijeva cona in manjši del skorje (glej poglavje 4.1.2). Zadnjo skupino pa predstavljajo poškodbe, kjer je na deblu ostala debelejša plast skorje (glej poglavje 4.1.3).

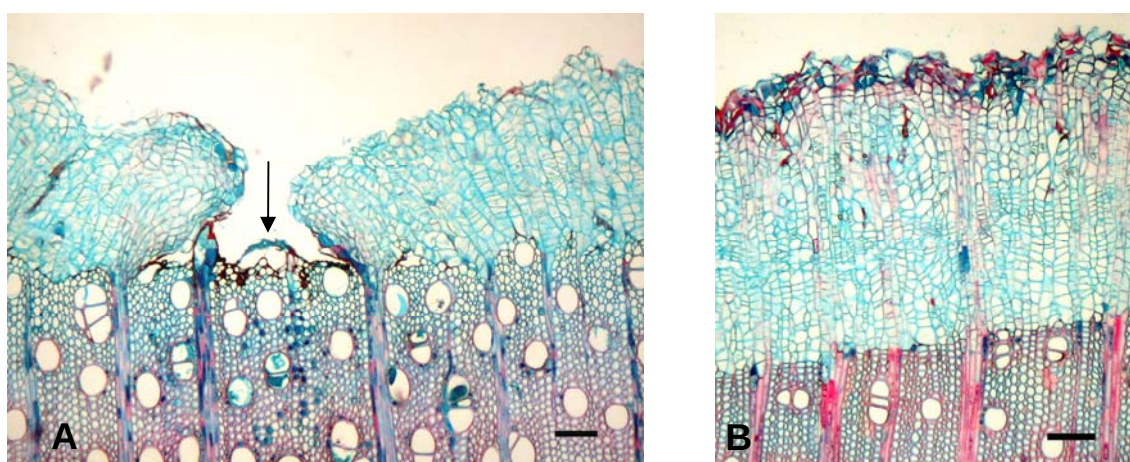
4.1.1 Ranitveni odziv pri poškodbah, kjer je na deblu ostal les ali tudi del kambijeve cone

Pri mehanskih poškodbah, kjer je bila z debla odstranjena vsa skorja skupaj z delom ali celotno kambijevo cono, se je razvoj površinskega kalusa odvijal v zaporedju dogodkov, ki so opisani v nadaljevanju. Po odstranitvi skorje skupaj s kambijevo cono smo na površini poškodbe skoraj vedno opazili odmrle celice, vendar njihove identitete ni bilo mogoče določiti. Lesne celice pod nekroznim tkivom so se ohranile v isti razvojni fazi kot so bile v trenutku poškodovanja. Njihovo stanje je bilo odvisno od sezone poškodovanja, saj so bile celice lahko že diferencirane, lahko pa se je njihova diferenciacija še odvijala. Na istih preparatih je bilo mogoče opaziti rahlo odebelitev oziroma hipertrofijo trakovnih celic na površini, kot je razvidno iz slike 8A. Povečane (hipertrofirane) celice trakovnega tkiva izkazujejo tudi intenzivno delitveno aktivnost, kar pravzaprav predstavlja začetek razvoja površinskega kalusa. Hipertrofija in hiperplazija je najbolj izrazita na mestu trakovnih celic, zaradi česar kalus pogosto nastane v obliki nekakšnih bradavic. Ta del razvoja je prikazan na sliki 8B. V primeru, ko so se na površini nahajale nediferencirane lesne celice ali celice kambijeve cone s tankimi primarnimi celičnimi stenami, menimo, da je kalus lahko nastal tudi iz teh celic.



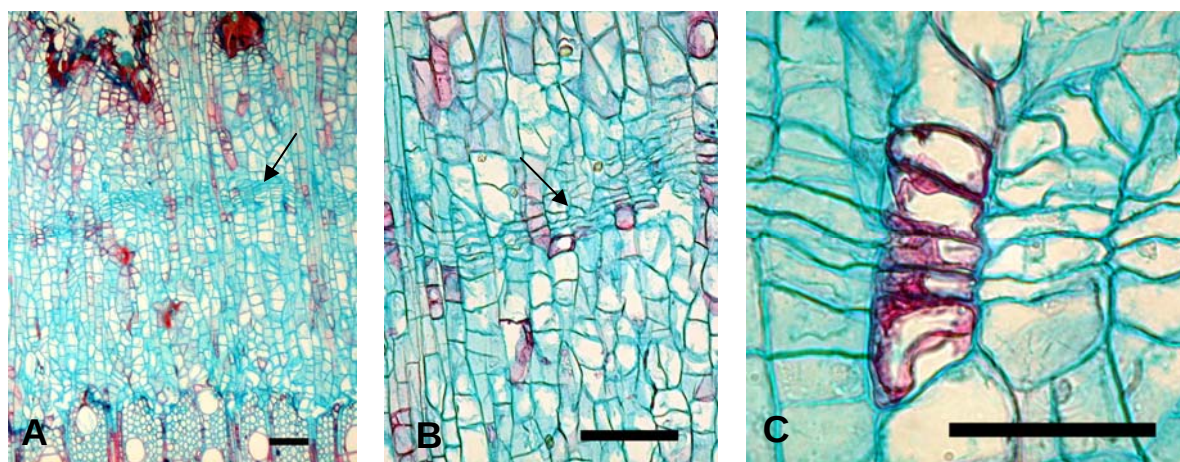
Slika 8: Ostrolistni javor (*Acer platanoides* L.), prečni prerez. Drevo poškodovano A – aprila, B – junija. Anatomiški odziv po A – 3, B – 7 dnevih. A – Na eksponirani površini je vidno rahlo rdeče obarvano nekrozno tkivo. Očitna je hipertrofija trakovnega tkiva na površini. Osne lesne celice še niso do konca diferencirane. B – Z intenzivno hipertrofijo in hiperplazijo trakovnih celic se kalus v uvodni fazi pojavi v značilnih »bradavicah«. Merilni črtici sta dolgi 100 µm.

V naslednji fazi se je kalus v skupinicah, ki je nastal iz radialno usmerjenih trakov in aksialno usmerjenih nediferenciranih lesnih celic ali kambijeve cone, združil in prekril prvotno eksponirano površino (Slika 9A). V začetni razvojni fazi so kalusne celice nepravilnih oblik, imajo tanke, nelignificirane celične stene, vsebujejo jedro in imajo v splošnem značaj parenhimskih celic.



Slika 9: Ostrolistni javor (*Acer platanoides* L.), prečni prerez. Drevo poškodovano A – junija, B – avgusta. Anatomiški odziv po A – 7, B – 11 dnevih. A – Pri nastanku površinskega kalusa so bile udeležene nediferencirane osne lesne celice ali celice kambijeve cone, ki so bile v trenutku ranitve brez sekundarne celične stene in radialno usmerjene trakovne celice. Tako nastali površinski kalus je lahko prekril večji ali manjši delež poškodbe. Na mestih, kjer je njegov razvoj izostal, je bilo tudi v lesu mogoče opaziti značilen ranitveni odziv, npr. tile in gumozne snovi (puščica na sliki A). Merilni črtici sta dolgi 100 µm.

V nekaj dneh so se pod površino nekroznih celic kalusne celice ponovno nekoliko spremenile. Celice so se rahlo povečale, v lumnih pa so bile razločne rdeče obarvane odložine. Menimo, da ta plast ščiti pod njo ležeče žive celice kalusa pred izsušitvijo in odmrtjem. Površinska celična plast bi lahko po lokaciji in zgradbi ustrezala ligno-suberinskemu sloju, ki sicer spremlja ranitveni odziv v skorji (Slika 9B). Te celice najprej zrastejo in se nato domnevno lignificirajo ali suberinizirajo. Kalusna plast se lahko v naslednji fazi še odebeli. Naslednjo anatomsko spremembo je bilo mogoče prepoznati nekje v sredini kalusa. V tem delu kalusa smo opazili od tri do šest celic debelo tangencialno plast, ki jo sestavljajo radialno sploščene celice bolj pravilnih oblik, kar ustreza zgradbi kambijeve cone. Novonastale celice pravzaprav predstavljajo novo kambijevo cono, ki se razvije v kalusu (Slika 10). S tem, ko se je pojavila nova kambijeve cona, se je tudi kalus razdelil na notranjega in zunanjega.

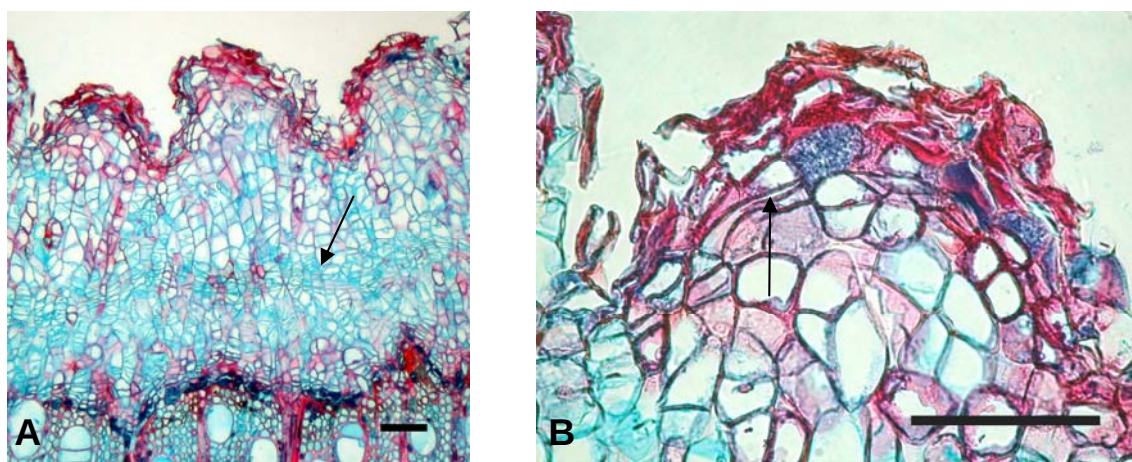


Slika 10: Ostrolistni javor (*Acer platanoides* L.), prečni prerez. Drevo poškodovano junija. Anatomiški odziv po 17 dnevih. A – Površinski kalus, ki se je razvil na delno diferenciranem lesu. V osrednjem delu kalusa je tudi pri šibkejši povečavi možno prepoznati tkivo, ki se razlikuje od celic kalusa. B – Pri večji povečavi je mogoče razpoznati radialno sploščene, kambijeve coni podobne celice. C – Detajl ranitvene kambijeve cone. Merilne črtice so dolge A, B – 100 µm, C – 50 µm.

V nekaj dneh, odvisno od vitalnosti drevesa in sezone poškodovanja (glej poglavje 4.2), se nastanku nove kambijeve cone pridruži tudi nastanek novega plutnega kambija – felogena, ki nastane pod zaščito domnevne ligno-suberinske plasti (Slika 11). Zanimivo je, da smo v našem poskusu opazili, da je nova kambijeve cona lahko nastala prej kot nov felogen, prav tako smo opazili primere, kjer sta oba meristema nastajala istočasno. Zaščita kalusa pred

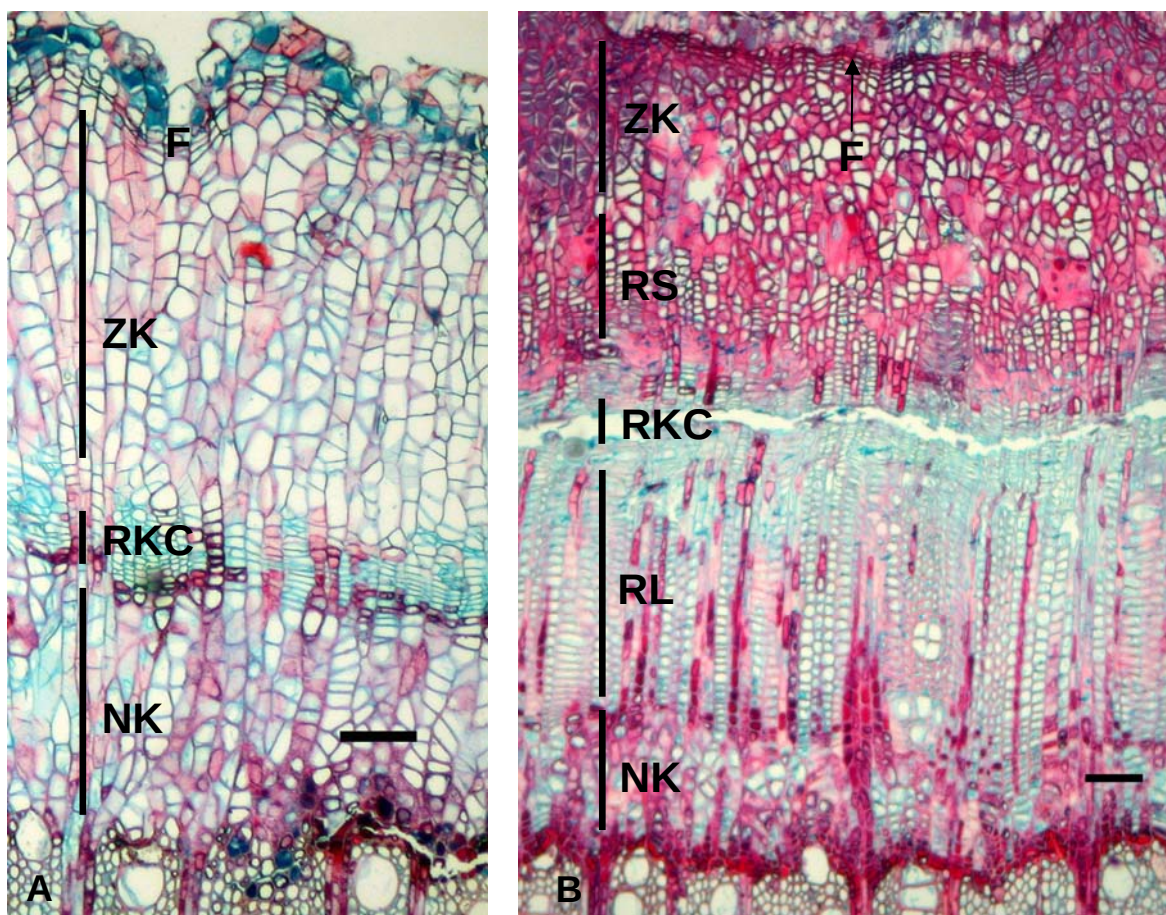
izsuševanjem, ki jo najverjetneje zagotavlja domnevna ligno-suberinska plast, je verjetno odločilnega pomena za pojav novih meristemov v kalusu. V nadaljnji razvojni fazi se lahko en meristem razvije prej kot drugi, pri čemer pa iz funkcionalnega in strukturnega vidika ni mogoče pripisati prednosti enemu ali drugemu. Oba meristema bomo v nadaljevanju označevali s pridevnikom ranitveni, ranitvena kambijeve cona in ranitveni felogen. Prav tako bomo s pridevnikom ranitveni označili tudi tkiva, ki jih prispevata oba ranitvena meristema.

Ko je ranitveni felogen diferenciran, ga lahko prepoznamo kot eno do dve celici široko plast pod domnevnim ligno-suberinskim slojem, za razliko od ranitvene kambijeve cone, ki se nahaja globlje v kalusu in je običajno širša, debela od dveh do šest plasti celic (odvisno od sezone in aktivnosti rasti).



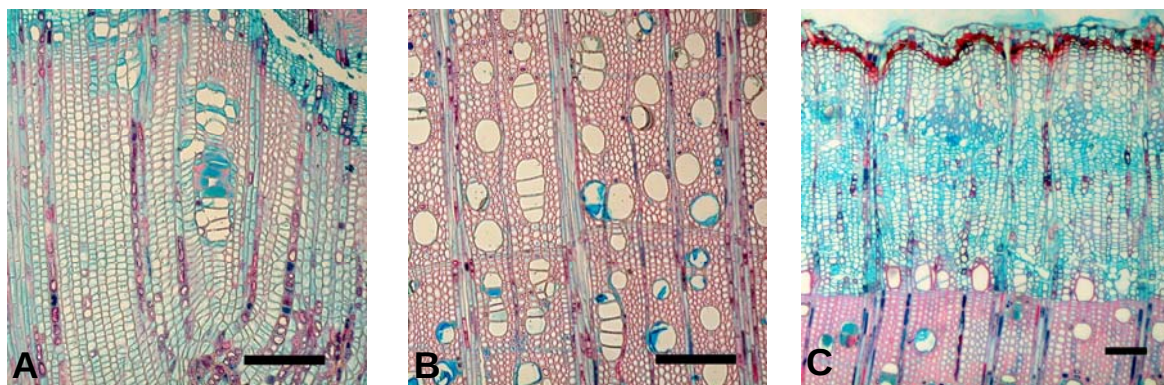
Slika 11: Ostrolistni javor (*Acer platanoides* L.), prečni prerez. Drevo poškodovano junija. Anatomiški odziv po 31 dnevih. A – Nadaljne spremembe v kalusu. Položaj ranitvene kambijeve cone je mogoče razpoznati že pri šibkejši povečavi; položaj ranitvenega felogena pa je razviden šele pri večji povečavi (B). Merilni črtici sta dolgi 100 µm.

Ko se zaključi nastanek ranitvene kambijeve cone in ranitvenega felogena se na površini tvorijo prve plutne celice, ki predstavljajo začetek nastanka ranitvenega periderma (Slika 12A). Ranitveni felogen torej tvori pluto centrifugalno in feloderm centripetalno, ranitvena kambijeve cona pa proti strženu tvori ranitveni les, proti površju pa ranitveno skorjo (Slika 12B).



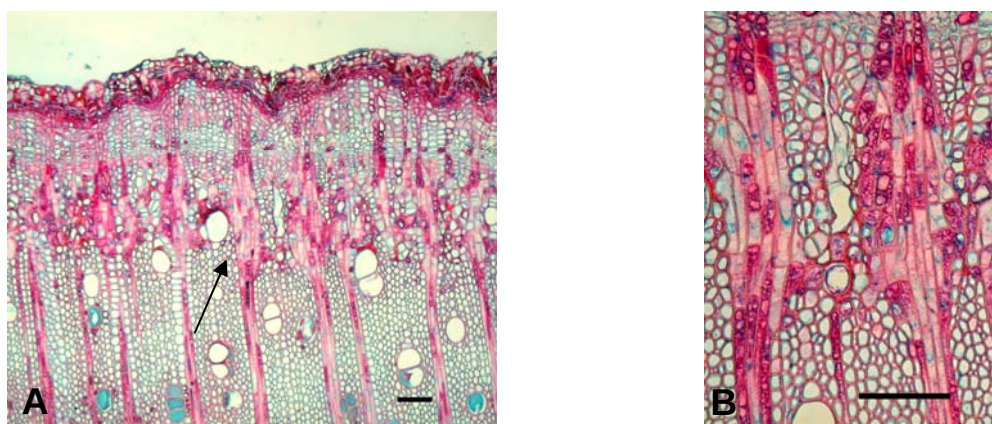
Slika 12: Ostrolistni javor (*Acer platanoides* L.), prečni prerez. Drevo poškodovano junija. Anatomiški odziv po 42 dnevih. A – Zaključek diferenciacije ranitvenih meristmov in začetek nastanka ranitvenih meristemskih derivatov. B – Razpored tkiv po zaključenem procesu preraščanja (NK – notranji kalus, RL – ranitveni les, RKC – ranitvena kambijeva cona, RS – ranitvena skorja, ZK – zunanji kalus, F – felogen). Merilni črtici sta dolgi 100 µm.

Ranitveni les ima nekoliko spremenjeno strukturo. Od navadnega lesa se razlikuje po tem, da ima manjše in manj številčne traheje (Slika 13A, B). Ponekod izgleda, da so traheje bolj pogoste ob braniki prejšnjega leta (Slika 13C). Z leti naj bi ta les postajal vse bolj podoben navadnemu (Marion, 2007). Kalusne celice so se odebelile, lignificirale in zapolnile z rdeče obarvanimi odložinami.



Slika 13: Ostrolistni javor (*Acer platanoides* L.), prečni prerez. Drevo poškodovano aprila. Anatomiški odziv po A – 53, C – 47 dnevih. A – Zgradba ranitvenega lesa. Trahej je manj kot v normalnem lesu (B). V nekaterih primerih je v ranitvenem lesu vidna ureditev libriformskih vlaken v dokaj pravilne radialne nize, ki so sicer značilni za les iglavcev. B – Les pri javorju. C – Tudi v ranitvenem lesu se prevodni elementi, to so traheje, lignificirajo prve. Na ta način lahko začnejo zelo hitro izpolnjevati prevajalno funkcijo. Merilne črtice so dolge 100 µm.

Radialno usmerjeni lesni trakovi lahko bolj ali manj očitno sodelujejo pri nastanku kalusa (glej tudi sliko 8B). V nekaterih primerih pa se na lokaciji kalusa lahko močno bočno razširijo. Pri tem se lahko poveča št. celic, tj. njihova rednost, lahko se povečajo tudi posamezne celice ali pa se pojavi kombinacija obojega (Slika 14A, B). Prav tako se lahko na mestu razširitve traku radialna dimenzija parenhimskih celic zmanjša, število pa poveča. Pri prehodu skozi kambijevo cono se trak zopet rahlo zoža, na drugi strani v kalusu pa razširi in nato se pri vsakem prehodu skozi skorjina vlakna zoža in na drugi strani zopet postane enako širok kot prej. Po prehodu skozi dva do tri pasove skorjinih vlaken trakovi zavijejo in nimajo več značilne oblike.

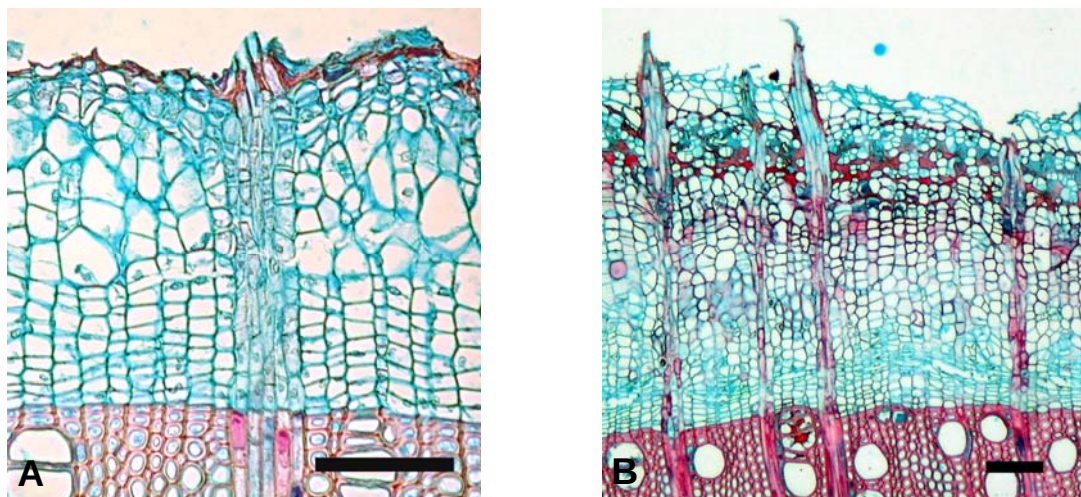


Slika 14: Ostrolistni javor (*Acer platanoides* L.), prečni prerez. Drevo poškodovano avgusta. Anatomiški odziv po 39. dnevih. A – Razširitev in odebelitev trakovnega tkiva. B – Detajl razširjenih trakov. Očitna je povečana rednost trakov in spremembe v obliki posameznih celic. Merilni črtici sta dolgi 100 µm.

4.1.2 Razvoj površinskega kalusa na poškodbah, kjer je na deblu ostala kambijeva cona in manjši del skorje

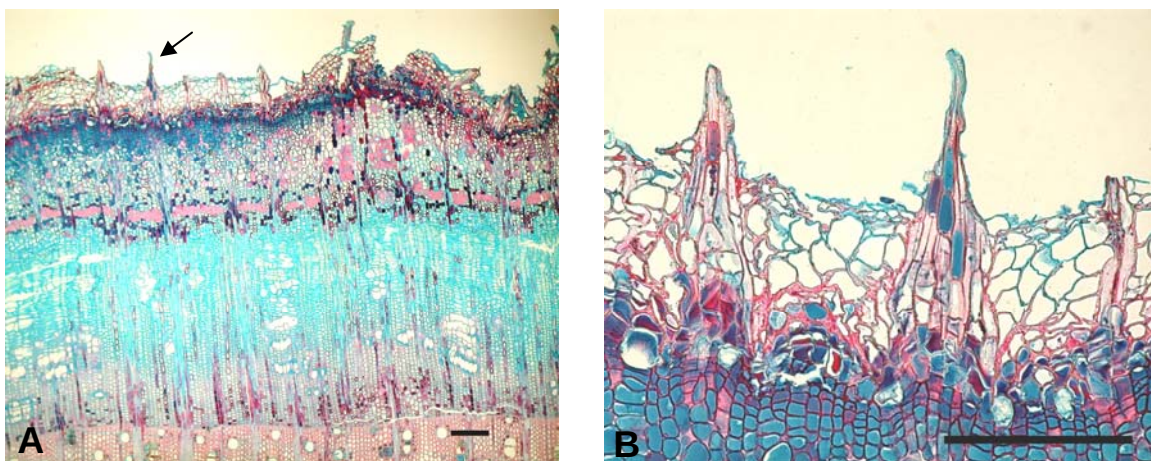
Pri mehanskih poškodbah, pri katerih je bil z debla odstranjen večji del skorje, kambijeva cona pa ne, je mogoče opaziti dve strategiji razvoja površinskega kalusa. Menimo, da so v teh primerih lahko na površini poškodb ostale posamezne plasti skorjinih celic. Prvi primer je ta, da je bila po mehanskem poškodovanju kambijeva cona aktivna le nekaj časa. Iz nje in/ali iz nediferenciranih lesnih celic, ki ležijo pod njo nastane kalus. Ranitvena kambijeva cona se razvije v sredini kalusne plasti, vse nadaljne spremembe se odvijajo kot je opisano v poglavju 4.1.1.

Drugi primer pa je ta, ko kambijeva cona tudi po poškodovanju ostane delitveno aktivna in kontinuirano opravlja svojo funkcijo. V tem primeru je razvoj nekoliko drugačen in poteka preko naslednjih faz. Na samem začetku odmre površinska plast celic, tako kot kaže slika 15A. Nato nastane parenhimatsko kalusno tkivo, ki nastane iz kambijeve cone, saj je znotraj kalusa mogoče opaziti radialno usmeritev celic, kar je sicer značilno za kambijevo cono (Slika 15B). Kalusno tkivo na površini zaščiti domnevna ligno-suberinska plast. Na površju kalusa in kasneje ranitvenih tkiv skozi celoten razvoj ostanejo nekakšni špičasti izrastki, ki so najverjetneje ostanki trakovnega tkiva (Slika 16).



Slika 15: Ostrolistni javor (*Acer platanoides* L.), prečni prerez. Drevo poškodovano avgusta. Anatomiški odziv po A – 4. dneh, B – 11. dneh. A – Kambijeva cona se nahaja tik ob lesu debla. Nad njo je novonastalo kalusno tkivo. Radialno usmerjen trak sega na površino kalusa. B – Na površini novonastalih ranitvenih tkiv so ostanki trakov vidni kot špičasti izrastki. Merilni črtici sta dolgi 100 µm.

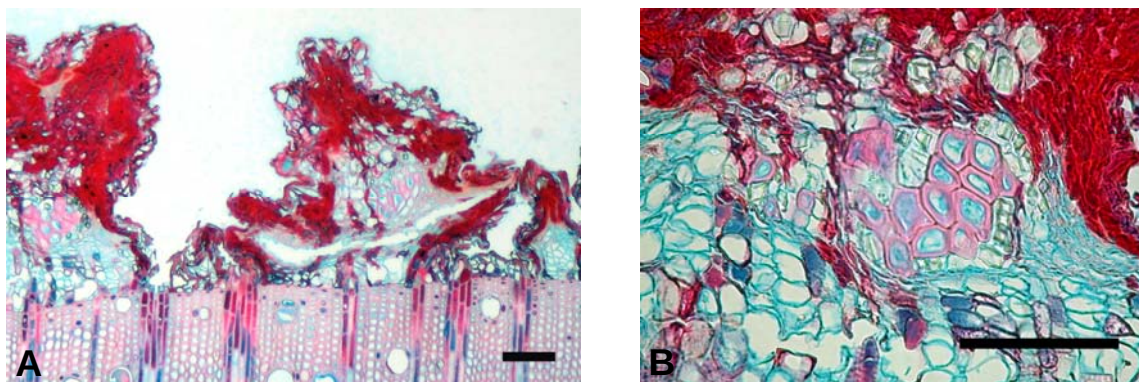
Ti špičasti izrastki očitno izhajajo iz trakov, vendar zaradi nastanka novih ranitvenih tkiv izgubijo stik z matičnim trakom, vendar se kljub vsemu ohranijo na površju (Slika 16). V naslednjem razvojnem koraku se diferencira ranitveni felogen pod zaščito domnevne ligno-suberinske plasti. Celice se radialno sploščijo in se začnejo deliti. Kambijeva cona, ki je ostala med poškodovanjem na lesu, nemoteno tvori ranitveni les centripetalno in ranitveno skorjo centrifugalno. V tem primeru imamo nekoliko drugačno topografijo ranitvenih tkiv, saj med lesom debla in ranitvenim lesom ni prisotnega kalusa, temveč se kalus nahaja le na zunanji strani kambijeve cone (Slika 15A).



Slika 16: Ostrolistni javor (*Acer platanoides* L.), prečni prerez. Drevo poškodovano aprila. Anatomiški odziv po 40. dnevih. A – V primeru, ko ostane kambijeva cona na lesu debla, je topografija ranitvenih tkiv nekoliko drugačna kot je opisano v poglavju 4.1.1. V tem primeru kalusa med lesom debla in ranitvenim lesom ni. B – Detajl površine ranitvenih tkiv. Špičaste strukture so ostanki trakovnega tkiva. Nastanek ligno-suberinske plasti in ranitvenega periderma je prekinil povezavo teh struktur s trakovi. Merilni črtici sta dolgi 100 μ m.

4.1.3 Razvoj površinskega kalusa na poškodbah, kjer je na deblu ostala debelejša plast skorje

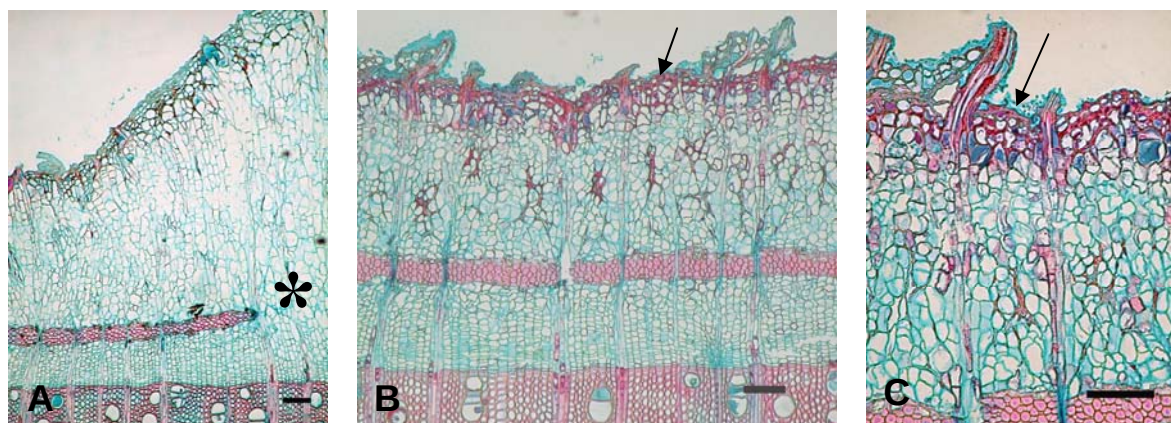
Pri nekaterih poškodbah so z debla odstranili samo del žive skorje, na deblu pa je ostala celotna kambijeva cona in pogosto najmlajši del žive skorje. Kjer je ostala na lesu kambijeva cona in delček skorje (npr. en pas sklereid), je prav tako možen razvoj površinskega kalusa po dveh različnih strategijah. Ponovno je prva ta, da je kambijeva cona po določenem času izgubila svojo funkcijo in se je prenehala deliti. Tak primer je prikazan na sliki 17. V ostanku skorje so vidni otočki še nediferenciranih sklereid, na mestu, kjer bi morala biti kambijeva cona pa meristema ni. Sklepamo, da je bila kambijeva cona v času poškodovanja prisotna, kasneje pa je odmrla. Na površini je prisotno zelo masivno nekrozno tkivo. Menimo, da je možnosti za uspešen razvoj ranitvenih tkiv v takšnih primerih zelo malo.



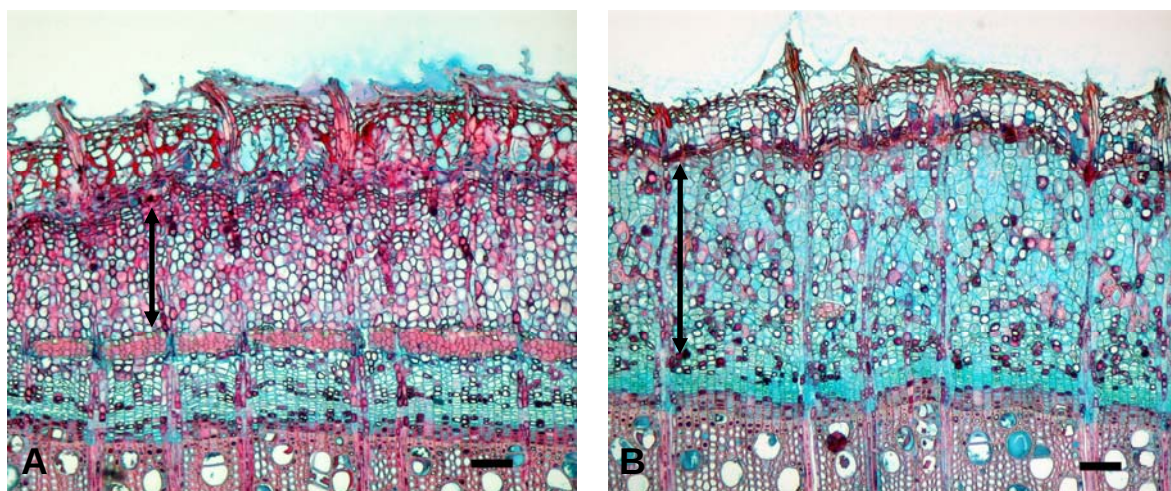
Slika 17: Ostrolistni javor (*Acer platanoides* L.), prečni prerez. Drevo poškodovano aprila. Anatomiški odziv po 53. dnevih. A – Na lesu debla je lahko ostal tudi del žive skorje. Rdeče obarvane celice na površini predstavljajo odmrlo tkivo. Kambijeve cone pod skorjo ni videt. B – Del žive skorje z nediferenciranimi sklereidami. Merilni črtici sta dolgi 100 μm .

V primeru, ko se kambijeva cona ni prenehala deliti, je nekoliko težje pojasniti izvor kalusa. Verjetno je, da so se skorjine parenhimske celice preoblikovale v kalusno tkivo, sitaste cevi pa so se predčasno sesedle. Izgubile so obliko in dobile značaj kalusnih celic. Na površini je par plasti odmrlih celic (sitaste ali kalusne), pod njimi pa se nahaja kalusno tkivo. Iz slike 18A je mogoče videti, da se je pri posameznih primerih več kalusa tvorilo na delu, kjer je bila skorja skoraj v celoti odstranjena (skrajno desni del slike), kot na delu kjer je ostal na deblu večji del skorje (levi del slike), o čemer priča tangencialno usmerjen pas skorjinih vlaken. Kalusno tkivo nastane v vsakem primeru. Če je bila poškodba narejena

tako, da je na deblu ostal tudi pas skorjinih vlaken, se je kalusno tkivo tvorilo šele po prvem traku skorjinih vlaken (Slika 19A), če pa je poškodba segala do kambijeve cone, se je kalus tvoril na zunanji strani kambijeve cone (Slika 19B). Na površini smo opazili špičaste izrastke, ostanke trakov. Pod to plastjo se je po določenem času zopet vzpostavil nov felogen, ki se je diferenciral med kolabiranimi sitastimi cevmi oz. med kalusnimi celicami (Slika 18B, C), kambijeva cona pa se je nemoteno delila.



Slika 18: Ostrolistni javor (*Acer platanoides* L.), prečni prerez. Drevo poškodovano avgusta. Anatomiški odziv po: A – 8. dneh, B in C – 18. dnevih. A – Na posameznih primerih smo opazili, da je več kalusa nastalo na mestu, kjer je bila odstranjena skoraj vsa skorja (*). B – Primer, ko je na deblu ostal tudi del skorjinih vlaken. Kalusno tkivo je zaščiteno z domnevno ligno-suberinsko plastjo (↓). C – Detalj iz slike B. Merilne črtice so dolge 100 μ m.



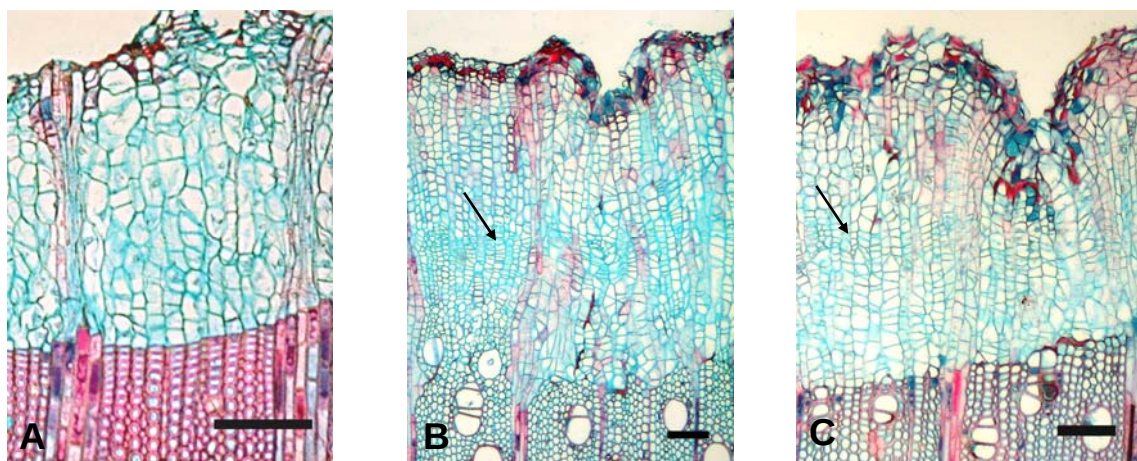
Slika 19: Ostrolistni javor (*Acer platanoides* L.), prečni prerez. Drevo poškodovano avgusta. Anatomiški odziv po: A – 39. dneh, B – 56. dneh. A – Primer poškodbe, kjer je na deblu ostal tudi del skorjinih vlaken. B – Primer, ko je na deblu ostala kambijeva cona in morda le manjši del skorje. Puščici na slikah označujeta položaj kalusa. Merilni črtici sta dolgi 100 μ m.

4.2 SEZONSKA VARIABILNOST ODZIVA

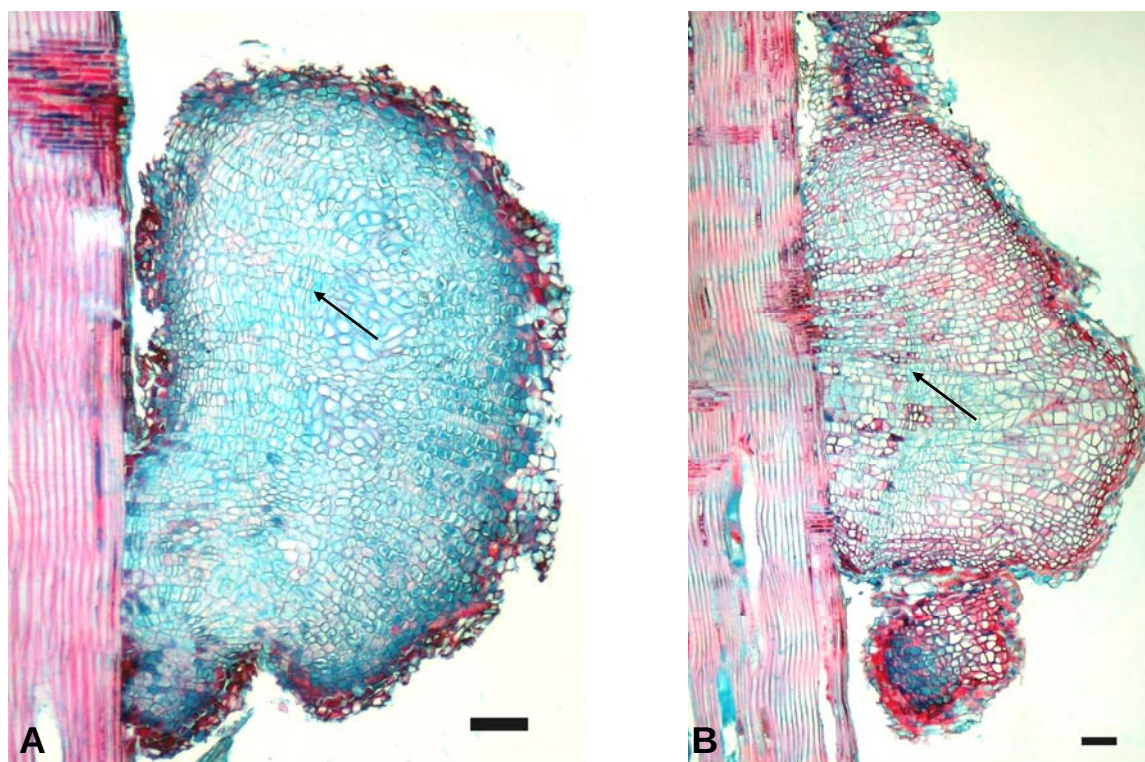
S preiskavo poškodb zasnovanih v treh rastnih obdobjih, v aprilu, juniju in avgustu 2005 (Marion, 2007), smo v nadaljevanju proučili predvsem morebitne razlike v časovnem vidiku nastajanja ranitvenih tkiv. Poskusi so bili zastavljeni na zdravih in prizadetih drevesih (Marion, 2007), zato jih obravnavamo ločeno za zdrave in nato še razlike, ki se pojavljajo pri prizadetih drevesih. Časovni potek dogodkov se nanaša na primere pri katerih so bile na površini eksponirane lesne celice in morda le del kambijeve cone. Tako so bile pri aprilskih poškodbah izpostavljene diferencirane lesne celice, saj se rastna sezona v tem času poškodb še ni začela. Pri junijskih poškodbah, ko je rast najbolj intenzivna, in tudi pri avgustovskih poškodbah so bile izpostavljene delno diferencirane lesne celice.

4.2.1 Nastanek ranitvenih tkiv po poškodbah induciranih na zdravih drevesih

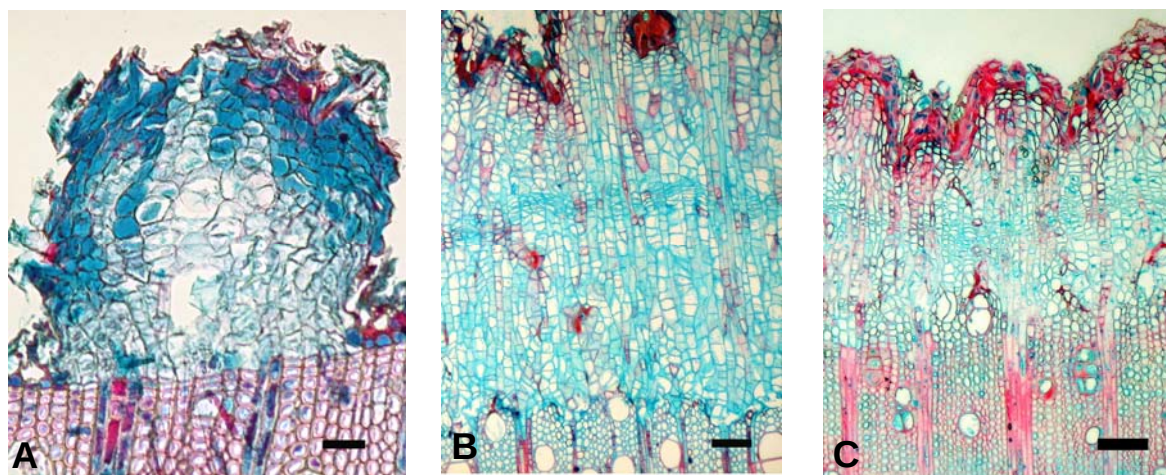
Pri zdravi skupini dreves smo zabeležili najhitrejši nastanek ranitvene kambijeve cone pri poškodbah narejenih na višku sezone, v juniju (Slika 20). Glede na preparate smo ugotovili prisotnost ranitvene kambijeve cone pri junijskih vzorcih med 10. in 14. dnem, pri avgustovskih vzorcih med 11. in 18. dnem, pri aprilskih pa najkasneje, in sicer po 32. dnevu (Preglednica 2).



Slika 20: Ostrolistni javor (*Acer platanoides* L.), prečni prerez. Drevo poškodovano A – aprila, B – junija, C – avgusta. Anatovski odziv po: A in C – 11. dneh, B – 10. dneh. Aprilska poškodba najbolj zaostaja v razvoju (A). Junijska in avgustovska sta v tem obdobju v približno isti razvojni fazi, le da je pri junijski nastanek ranitvene kambijeve cone bolj očiten (puščica na sliki B) kot pri avgustovski poškodbi (puščica na sliki C). Merilne črtice so dolge 100 μ m.



Slika 21: Ostrolistni javor (*Acer platanoides* L.), radialni prerez. Drevo poškodovano A – aprila, B – avgusta. Anatomiški odziv po: A – 47. dneh, B – 8. dneh. Primerjava aprilske in avgustovske poškodbe. Pri avgustovski je linija ranitvene kambijeve cone mnogo bolj očitna že po 8. dneh (puščica na sliki B), kot pri aprilski po 47. dneh (puščica na sliki A). Merilni črtici sta dolgi 100 µm.



Slika 22: Ostrolistni javor (*Acer platanoides* L.), prečni prerez. Drevo poškodovano A – aprila, B – junija, C – avgusta. Anatomiški odziv po: A in C – 18. dneh, B – 17. dneh. Primerjava poškodb, narejenih v različnih delih sezone, po dveh tednih in pol. Aprilsko preraščanje poteka na diferenciranem lesu najpočasneje (A). Avgustovska poškodba ima najdebelejšo domnevno ligno-suberinsko plast, kar predstavlja hitrejši razvoj ranitvenega felogena v primerjavi z junijsko poškodbo, ki pa ima že izpopolnjeno ranitveno kambijevo cono. Merilne črtice so dolge 100 µm.

Prav tako, kot se je razvijala ranitvena kambijeva cona, se je v podobnem časovnem razmerju diferenciral ranitveni felogen. Pri junijskih primerkih smo njegovo prisotnost zabeležili nekje v četrtem tednu po poškodovanju (med 21. in 31. dnem), pri avgustovskih celo nekoliko prej in skoraj istočasno kot ranitveno kambijevo cono (točkovno prisotnost smo zabeležili že 11. dan, nadaljni razvoj pa med 14. in 18. dnem). Pri aprilskih poškodbah smo prisotnost ranitvenega felogena zabeležili najkasneje, in sicer po 40. dnevu (Priloge A, B, C).

Domnevno ligno-suberinsko (L-S) plast smo zabeležili v vseh delih sezone približno istočasno, in sicer okoli 11. dne. Razlika je le v tem, da smo jo pri junijskih zabeležili med 7. in 10. dnem, pri avgustovskih med 8. in 11. dnem, aprilski vzorci pa imajo okoli 11. dne prisotno L-S plast le točkovno, sklenjena L-S plast pa nastane nekoliko kasneje. V enem primeru smo jo zabeležili sklenjeno že po 14. dneh, med tem ko se je v drugem primeru sklenila šele po 47. dneh (Priloga A).

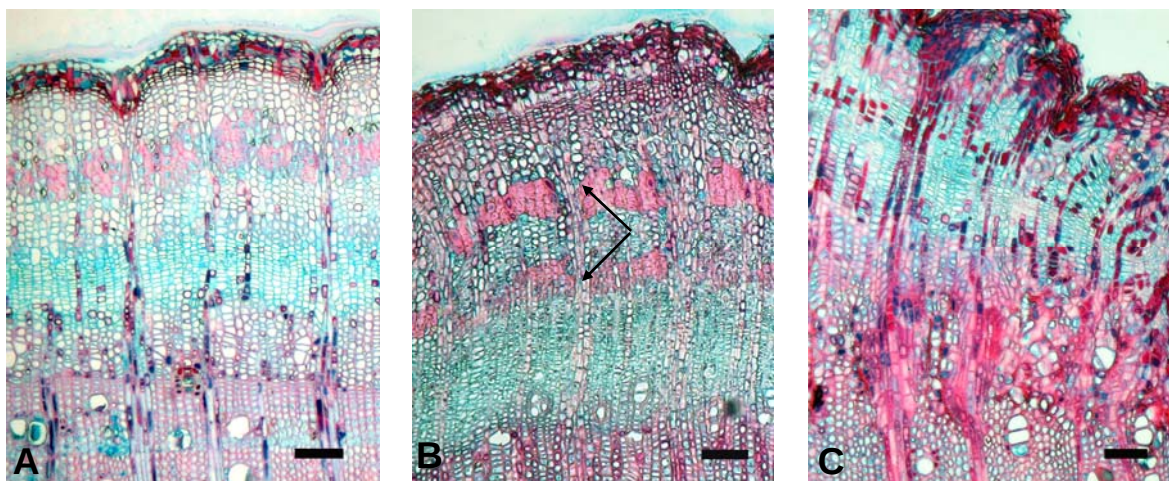
Preglednica 2: Okvirno število dni po poškodovanju, ko se pojavi določena faza preraščanja glede na del sezone, ko je bilo drevo poškodovano, pri zdravih drevesih. V vsaki sezoni sta bili preiskani dve drevesi.

faza sezona	ZDRAVI			
	kalus	L-S	RKC	RF
april	7–11	11, 40	32–40	40–47
junij	7	7–10	10–14	21–31
avgust	4	8–11	11–18	11–18

L-S – domnevna ligno-suberinska plast

RKC – ranitvena kambijeva cona

RF – ranitveni felogen

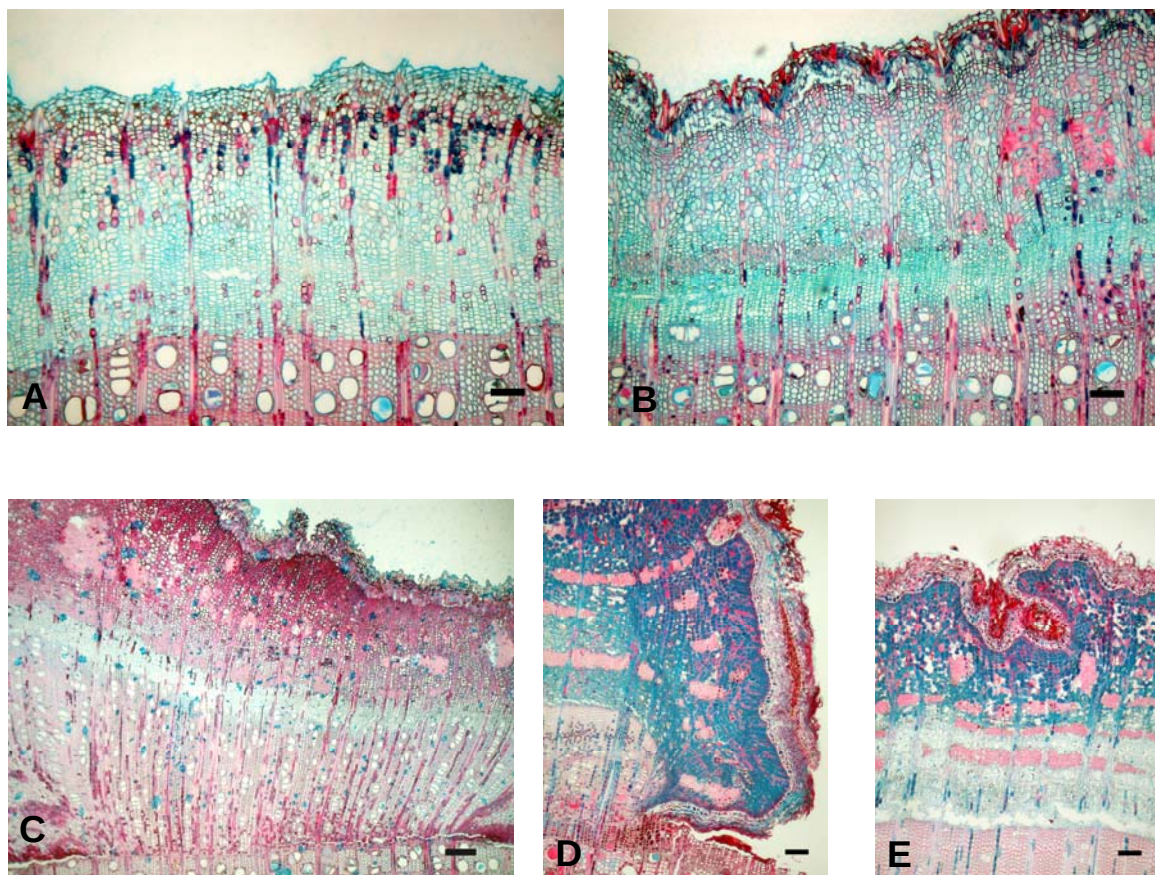


Slika 23: Ostrolistni javor (*Acer platanoides* L.), prečni prerez. Drevo poškodovano A – aprila, B – junija, C – avgusta. Anatomiški odziv po: A – 47. dneh, B in C – 42. dneh. Primerjava poškodb, narejenih v različnih delih sezone, po približno šestih tednih. Pri junijski poškodbi, ki je najhitreje formirala ranitveno kambijevo cono, in s tem začela najhitreje formirati ranitveni les in ranitveno skorjo, lahko opazimo da nastaja že drugi sloj skorjinih vlaken (puščici na sliki B), kar je več kot običajno. Pri vseh treh slikah vidimo funkcionalno ranitveno kambijevo cono in ranitveni felogen, kar nakazuje na to, da se je poškodba uspešno prerasla ne glede na del sezone, v katerem je bilo drevo poškodovano. Merilne črtice so dolge 100 μm .

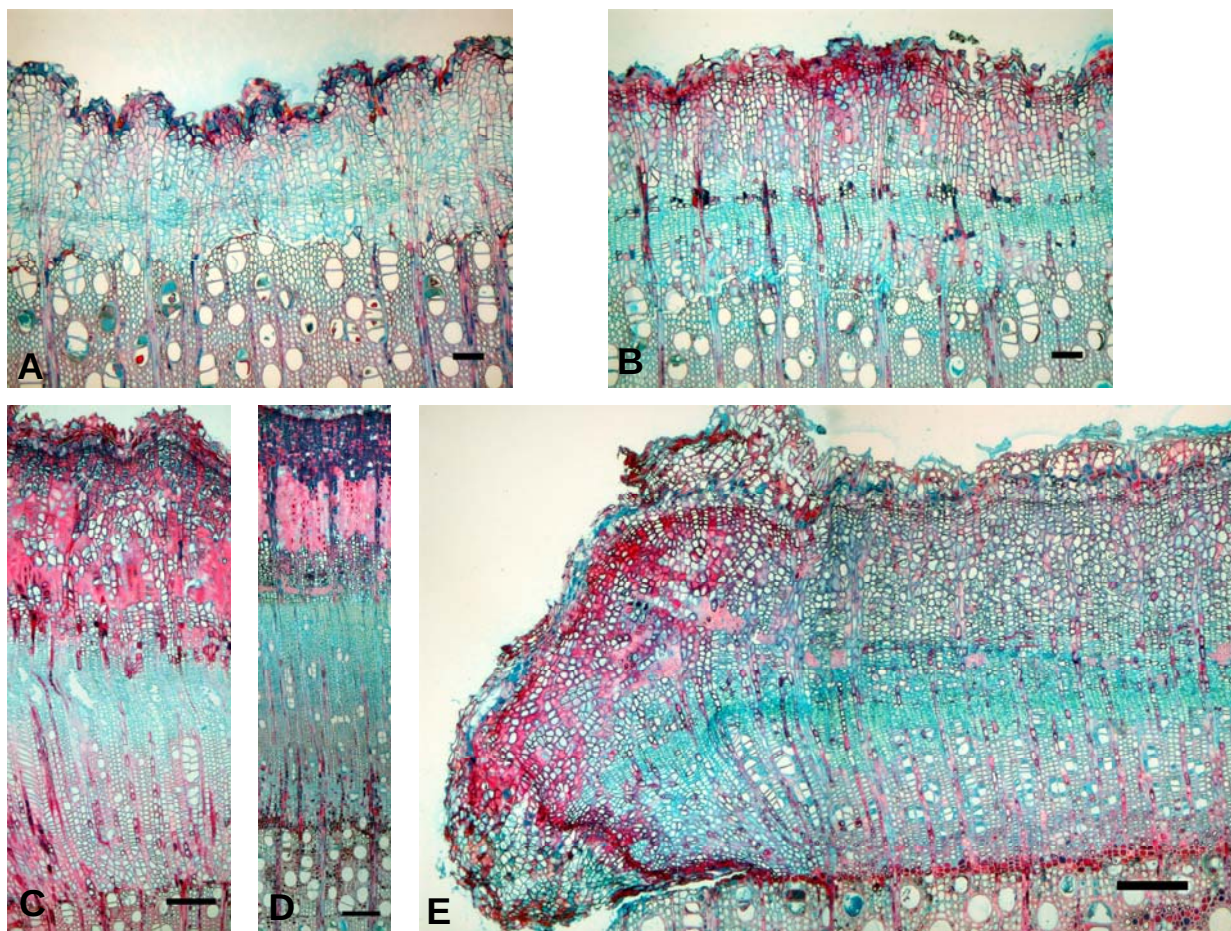
Nastanka kalusa, ki sicer nastopi najprej, časovno nismo uspeli natančno definirati, saj je bila ta informacija omejena zaradi relativno majhnega števila preparatov, ki so bili pridobljeni v prvem tednu po poškodbi. Z zagotovostjo lahko trdimo, da smo kalus pri aprilskih vzorcih opazili med 7. in 11. dnem (Priloga A), pri junijskih v manj kot sedmih dneh (Priloga B), pri avgustovskih primerkih pa v manj kot štirih dneh (Priloga C). Zanimivo je, da se pri prizadetih drevesih kalus pojavlja v istih obdobjih kot pri zdravih, iz česar lahko sklepamo, da je sam pojav kalusa bolj povezan in odvisen od sezone poškodovanja, kot pa od vitalnosti drevesa.

4.2.2 Razlike v časovnem vidiku preraščanja pri prizadetih drevesih

Pri prizadeti skupini dreves smo zabeležili nekolikošen časovni zamik procesov v primerjavi z zdravo skupino dreves. Tako smo domnevno L-S plast opazili pri aprilskih vzorcih med 14. in 21. dnem, pri junijskih vzorcih med 10. in 14. dnem, kar predstavlja do štiri dnevno zamudo za zdravo skupino dreves (Preglednica 3). Pri avgustovskih primerkih pa smo jo opazili v istem obdobju kot pri zdravi skupini, in sicer je bila osmi dan prisotna točkovno, enajsti dan pa je bila že sklenjena (Priloga C). Ranitveno kambijevo cono smo pri prizadeti skupini zabeležili približno istočasno kot pri zdravi skupini. Pri aprilskih vzorcih smo jo zabeležili med 25. in 28. dnem, pri junijskih okoli 10. dne točkovno in 14. dne povezano, za avgustovske primerke pa tega ni bilo možno določiti, saj so imeli vsi primerki na površini še staro kambijevo cono (ni bila odstranjena med poškodovanjem). Med tem ko smo pri zdravi skupini zabeležili zamik med pojavom ranitvene kambijeve cone in ranitvenega felogena približno en teden, se je pri prizadeti skupini odvijalo z manjšim zamikom, in sicer se ranitveni felogen diferencira istočasno oz. z do 4 dnevnim zamikom (Priloge A, B in C). Pri aprilskih poškodbah, kjer je na deblu med poškodovanjem ostala tudi kambijeva cona, smo ranitveni felogen zabeležili tudi do dva tedna prej, kot v primeru, kjer je bila kambijeva cona odstranjena. Na slikah 24 in 25 je prikazana primerjava preraščanja med aprilsko in junijsko poškodbo. Na obeh slikah sta kot primer prikazani prizadeti drevesi. Če si pri obeh slikah pogledamo sliko C, je očitno, da je razvojna faza skoraj identična, vendar pa je med njima 45 dni zamika v korist junijskemu vzorcu (Sliki 24 in 25).



Slika 24: Ostrolistni javor (*Acer platanoides* L.), prečni prerez. Drevo poškodovano aprila. Anatomiški odziv po: A – 21. dneh, B – 40. dneh, C – 47. dneh, D in E – 494. dneh. Ranitveni odziv po aprilskih poškodbah, ko se rastna sezona še ni začela. Te poškodbe se preraščajo najpočasneje. V trenutku poškodovanja so bile na površini izpostavljene diferencirane lesne celice. Kalus se je najverjetneje razvil iz trakovnih celic. Po 21. dnevih še vedno ni prisotne ranivene kambijeve cone (A). Slika B, ki predstavlja ranitveni odziv po 40. dneh, razvojno sovпада s sliko 25B, ki predstavlja odziv že po samo 17. dneh. Na sliki D in E je očitno, da so v manj kot dveh letih nastali vsaj trije pasovi skorjinih vlaken. Merilne črtice so dolge 100 µm.



Slika 25: Ostrolistni javor (*Acer platanoides* L.), prečni prerez. Drevo poškodovano junija. Anatomiški odziv po: A – 10. dneh, B – 17. dneh, C – 22. dneh, D – 47. dneh, E – 414. dneh. Junjske poškodbe so se odzvale najhitreje. Že po 10 dneh lahko opazimo nastanek ranitvene kambijeve cone (A), ki pa je do 17. dneva že popolnoma izoblikovana (B). Po 17. dnevih se tudi vidi diferenciacija ranitvenega felogena, ki v tem primeru poteka skoraj istočasno kot diferenciacija ranitvene kambijeve cone. Na sliki C vidimo ranitvene derivate; ranitveni les ter ranitveno skorjo. Tudi periderm je že na novo izoblikovan. Sliki D in E predstavljata kasnejšo fazo, ko je proces preraščanja že zaključen. Merilne črtice so dolge: A, B 100 μ m; C, D, E 200 μ m.

Preglednica 3: Okvirno število dni po poškodovanju, ko se pojavi določena faza preraščanja glede na del sezone, ko je bilo drevo poškodovano, pri prizadetih drevesih. V vsaki sezoni sta bili preiskani dve drevesi.

faza sezona	PRIZADETI				
	kalus	L-S	RKC	RF	RF*
april	4, 11	14–21	25–28	25–28	18
junij	7	10–14	10–14	14, 21	
avgust	4	8–11	–	–	18

L-S – domnevna ligno-suberinska plast

RKC – ranitvena kambijeva cona

RF – ranitveni felogen

RF* – nastanek ranitvenega felogena v primeru, ko je na lesu ostala tudi kambijeva cona.

5 RAZPRAVA

5.1 POTEK PRERAŠČANJA POŠKODB – HISTOLOŠKE SPREMEMBE

Po pregledu preparatov smo ugotovili, da se je kalus vedno pojavil kot reakcija na poškodbo. Za razliko od nekaterih raziskovalcev, ki trdijo, da se kalus ne pojavi v primeru, ko imamo na površini poškodbe popolnoma diferencirane lesne celice. Pojavil se je ne glede na vitalnost dreves in ne glede na sezono poškodovanja, kar pomeni, da se je pojavil v primeru, ko je bil eksponiran bodisi diferenciran ali nediferenciran les. Verjetno pa je res nastal v različnih primerih iz različnih tkiv.

Zaporedje procesov, ki smo ga opazovali, bi lahko primerjali z zaporedjem procesov kot jih je opisal Stobbe (2002). Za primerjavo moramo uporabiti vzorce, pri katerih je bila kambijeva cona med poškodovanjem odstranjena in je na površini ostal eksponiran les – diferenciran ali nediferenciran. Zaključimo lahko, da sam proces preraščanja res lahko razdelimo na tri faze, kot jih je opisal Stobbe (2002), vendar pa smo ugotovili, da sta druga in tretja faza lahko tudi zamenjani, kar se je pri naši analizi izkazalo celo kot pravilo. Tako si torej faze sledijo v naslednjem zaporedju. Najprej nastopi inicialna faza nastanka parenhimskih kalusnih celic, nato se v notranjem kalusu formira ranitvena kambijeva cona in šele nato nastopi faza formiranja ranitvenega felogena v zunanjem kalusu. Druga in tretja faza se lahko odvijata tudi istočasno. S tem smo zavrnilo našo drugo hipotezo, ki pravi, da nastane ranitveni periderm prej kot ranitvena kambijeva cona.

Te tri faze pa lahko detajlno opišemo. Prva reakcija po poškodovanju je odmrtnje površinske celične plasti. Nekrozno tkivo na površini že predstavlja delno zaščito živih celic pod njim. Nato se izpostavljeno tkivo odzove s spremembami, ki se kažejo v nastanku kalusa. Ta se lahko na novo formira predvsem z hipertrofijo in hiperplazijo parenhimskih trakovnih celic, lahko pa se tudi nediferencirane lesne ali skorjine celice s tankimi celičnimi stenami preformirajo v kalusne celice. Nato poteka debelitev kalusne plasti. Prav kmalu se na površju pojavijo rdeče obarvane celice, ki predstavljajo domnevno ligno-suberinsko plast, ki ščiti celice kalusa pod njim. Nadaljne spremembe se kažejo v nastanku tangencialno orientiranega pasu celic približno v sredini kalusnega tkiva. Ta pas predstavlja novonastalo ranitveno kambijevo cono. Vzporedno z nastankom ranitvene kambijeve cone lahko nasataja že ranitveni felogen. Ko sta oba meristema razvita, se

prične nastanek njunih ranitvenih derivatov. Tako smo potrdili našo tretjo hipotezo, ki pravi, da je pojav ranitvene kambijeve cone pogoj za nastanek sekundanih tkiv, saj ni bilo nikoli mogoče opaziti ranitvenega lesa in ranitvene skorje, če še ni bilo prisotne ranitvene kambijeve cone. Ko je ponovno sklenjen cilinder kambijeve cone in felogena, lahko rečemo, da se je poškodba uspešno prerasla s površinskim kalusom.

Ranitvena tkiva, ki jih prispeva ranitvena kambijeva cona, imajo vsaj na začetku razvoja nekoliko drugačne karakteristike od normalnih/navadnih derivatov kambijeve cone. Ranitveni les se kar precej razlikuje od navadnega, kar so pokazale tudi že predhodne raziskave (Marion 2007, Stobbe 2002). Ranitveni les ima manjše in redkejša traheje, ki pa se prav tako kot pri normalnem lesu lignificirajo najhitreje in s tem nudijo prevajalno funkcijo. Pri ranitveni skorji je mogoče opaziti hitrejši razvoj oziroma nastanek skorjinih vlaken. Pri normalnem razvoju nastanejo skorjina vlakna v povprečju vsako tretje leto, pri poškodbah pa je bilo mogoče opaziti, da sta v enem letu nastala tudi dva ali celo trije sloji skorjinih vlaken. Ta pojav je bilo najlažje opaziti pri aprilskih poškodbah, saj so bile te poškodbe odprte najdaljše obdobje v vegetacijski dobi in so lahko formirale največ ranitvenih derivatov.

5.1.1 Potek preraščanja glede na izpostavljeno tkivo

Mesto nastanka kalusa je odvisno od mesta poškodbe oziroma globine poškodbe, ki določa tkiva, ki ostanejo na površini po poškodovanju. Izpostavljeno tkivo lahko bolj ali manj očitno prispeva k nastanku kalusnega tkiva. V primeru, ko je bila kambijeva cona odstranjena, je lahko kalus nastal iz nediferenciranih lesnih celic ter iz trakovnih celic. Pri poškodbah, kjer je kambijeva cona ostala na površini, je kalus lahko nastal iz trakovnih celic in iz kambijevih inicialk. Kadar pa se je med poškodovanjem pretrgal del skorjine branike, je kalus lahko nastal tudi iz tankostenih celic v skorji (sitaste cevi).

Ugotovili smo, da je tudi količina ali širina kalusnega tkiva odvisna od globine poškodbe. Tako je več kalusa nastalo na mestu, kjer je bila odstranjena celotna skorja kot tam, kjer je delno ostala gor (glej sliko 18A).

V primeru, ko je ostala kambijeva cona ali pa tudi del skorje na drevesu, se kambijeva cona ni ponovno formirala, razen v primeru, kadar se je bila kasneje sesedla. Kadar je kambijeva cona ostala funkcionalna, je preraščanje potekalo le po dveh fazah, kot jih je opisal Stobbe (2002). Tako najprej nastopi inicialna faza nastanka parenhimskega kalusa, nato pa faza formiranja ranitvenega felogena v kalusu. Poškodba je v takem primeru lahko preraščena tudi do dva tedna hitreje kot poškodba pri kateri je bila kambijeva cona odstranjena.

5.2 PRERAŠČANJE POŠKODB GLEDE NA SEZONO

Ugotovili smo, da ima čas poškodovanja značilen vpliv na preraščanje poškodb. Pri poškodbah zasnovanih v obdobjih april, junij in avgust 2005 smo opazili naslednje značilnosti. Kalus in domnevni ligno-suberinski sloj, ki sprva prekrije poškodbo, se je pojavil pri vseh sezonah sicer približno istočasno, kar pa ne drži za novonastalo ranitveno kambijevo cono. Ta se je najhitreje razvila pri junijskih primerkih in najpočasneje pri aprilskih. Med njima je približno 20 dni zamika v razvoju, kar lahko pojasnimo s tem, da se vegetacijska doba v času aprilskih poškodovanj še ni dobro začela in drevo ni moglo takoj odreagirati na poškodbo, kot je bilo to v primeru junijskih poškodb, ki so bile narejene na višku rastne sezone. Ranitveni felogen, ki nastane v naslednjem koraku, se je prav tako najkasneje formiral pri aprilskih vzorcih, najhitreje pa pri avgustovskih, kjer je njegov nastanek sovpadal z nastankom ranitvene kambijeve cone, kar bi bilo mogoče pojasniti s tem, da se drevo že pripravlja na založno oziroma depozicijsko fazo in nekoliko pospeši zaključek razvoja površinskega kalusa.

5.3 PRERAŠČANJE POŠKODB GLEDE NA VITALNOST

Pri aprilskih vzorcih smo ugotovili, da se je proces preraščanja začel približno istočasno pri zdravih in prizadetih drevesih, vendar pa so si kasnejše faze preraščanja hitreje sledile pri prizadeti skupini, kot pri zdravi skupini javorjev. Pri junijskih poškodbah smo opazili, da se je domnevna ligno-suberinska plast pri prizadetih drevesih pojavila kasneje, kot je bilo mogoče pričakovati, da se bodo oslabiljena drevesa počasneje odzvala. Kasnejše faze so si ponovno hitreje sledile pri prizadeti skupini. Pri poškodbah narejenih avgusta, je domnevna ligno-suberinska plast nastala istočasno pri zdravi in prizadeti skupini dreves. Sam potek dogodkov pa je sicer enak pri zdravi in prizadeti skupini, kot smo tudi predvideli z našo četrto hipotezo (glej preglednici 2 in 3).

6 ZAKLJUČKI

Po pregledu preparatov, smo ugotovili, da so na deblu ostala zelo različna tkiva. Na podlagi tkiv, ki so ostala na eksponirani površini, smo vzorce razdelili v tri skupine. V prvi skupini so bili vzorci pri katerih je na poškodovani površini ostal les in morda del kambijeve cone, v drugi skupini vzorcev je kambijeva cona ostala na deblu in morda le del skorje, v tretji skupini pa so bili vzorci pri katerih je med poškodovanjem na deblu ostala debelejša plast skorje.

Pri prvi skupini vzorcev je razvoj novih tkiv potekal po naslednjem zaporedju. Najprej se je na eksponirani površini začel razvijati kalus. Ta je lahko nastal s hipertrofijo in hiperplazijo trakovnih celic, ali pa so se nediferencirane lesne celice, s tankimi celičnimi stenami, preoblikovale kar v kalusno tkivo. Ko je kalus prekril vso površino, je bilo na površju mogoče opaziti nastanek domnevne ligno-suberinske plasti, ki ščiti celice kalusa pred izsuševanjem. Kmalu zatem se nekje v sredini kalusa pojavijo celice, ki nakazujejo tangencialne delitve, in s tem nastanek ranitvene kambijeve cone. Ta novonastali tangencialno orientiran pas razdeli kalusno tkivo na notranji in zunanji kalus. V zunanjem kalusu, pod domnevno ligno-suberinsko plastjo, se lahko že istočasno kot ranitvena kambijeva cona, razvije ranitveni felogen. Ko je ranitveni felogen dokončno izoblikovan, tvori pluto centrifugalno in feloderm centripetalno, ki skupaj sestavljajo ranitveni periderm. Ranitvena kambijeva cona tvori navznoter ranitveni les, navzven pa ranitveno skorjo. Zdi se, da ranitvena derivata ranitvene kambijeve cone sprva nastajata nekoliko pospešeno, saj je bilo ponekod mogoče opaziti, da je v prvem letu po poškodovanju v skorji nastalo več pasov skorjinih vlaken (2–3), ki sicer nastajajo na vsake dve do štiri leta.

Pri drugi skupini vzorcev, kjer je na deblu ostala kambijeva cona in morda del skorje, se je lahko kambijeva cona kasneje sesedla in preraščanje je potekalo po že opisanem zgornjem zaporedju. V primeru, ko je ostala kambijeva cona funkcionalna, se je nad njo pojavil kalus, ki je lahko ponovno nastal delno iz trakovnih celic, delno pa so se kambijeve inicialke preoblikovale v kalusne celice. Na površini kalusne celice zaščiti domnevna ligno-suberinska plast, pod njo pa se začne diferencirati ranitveni felogen. Te poškodbe se tudi hitreje prerastejo, kot poškodbe v prvi skupini, kjer je bila vsaj delno odstranjena tudi kambijeva cona.

V tretji skupini, kjer je na površini ostala skorja, se je lahko po določenem času kambijeva cona sesedla, na površini pa je ostalo masivno nekrozno tkivo. V takem primeru menimo, da je možnosti za uspešen razvoj tkiv zelo malo. Ko pa je kambijeva cona ohranila svojo funkcijo, se je kalus razvil v skorji, na mestu poškodbe. Verjetno je, da so se skorjine parenhimske celice preoblikvale v kalusno tkivo, ali pa so se sitaste cevi predčasno sesedle. Pod zaščitno površinsko plastjo se razvije nov ranitveni felogen in preraščanje je zaključeno.

Poškodbe so bile zasnovane v treh delih rastne sezone, aprila, junija in avgusta 2005. Aprilske poškodbe so se odzvale na poškodbo najkasneje, saj se v času poškodovanja rastna sezona še ni začela. Pri zdravih aprilskih primerkih sta bila oba meristema sklenjena nekje v 40. dneh. Junijske poškodbe so se odzvale najhitreje. Po dveh tednih so imele že sklenjeno ranitveno kambijevo cono, nekje do 31. dneva, pa se je pri skupini zdravih dreves sklenil tudi ranitveni felogen. Avgustovska poškodba se sicer odzove nekoliko počasneje, kot junijska, ki je bila narejena na višku sezone, vendar pa si kasnejše faze sledijo bolj strnjeno in oba meristema sta bila sklenjena že po 18. dneh.

Kalus se je pojavil pri vseh drevesih, ne glede na del sezone v katerem je bilo drevo poškodovano tako pri zdravih, kot tudi pri prizadetih. Zaporedje nastanka tkiv v procesu preraščanja je enako pri zdravih in prizadetih drevesih. Kljub temu, da je med vzorci velika variabilnost, se zdi, da si faze preraščanja pri prizadeti skupini sledijo hitreje kot pri zdravi skupini.

7 POVZETEK

Mehanske poškodbe, ki so pogoste tako pri mestnem, kot pri gozdnem drevju, običajno spremlja odziv tkiv, ki ga najenostavneje pojasnimo s konceptom kompartmentalizacije. Ta predpostavlja, da obseg neugodnih posledic poškodovanj v drevesu omejujejo fizične tkivne bariere. Ta pojav je bil do sedaj relativno skromno raziskan, zato smo si za cilj zastavili pri ostrolistnem javorju raziskati zaporedje histoloških sprememb, ki spremljajo nastanek površinskega kalusa in razvoj sekundarnih tkiv v njem.

Raziskovalni objekt so bili ostrolistni javorji (*Acer platanoides* L.) na Letališki cesti v Mestni občini Ljubljana, kjer je zasajen dvojni drevored. Zaradi rastnih razmer je stanje dreves različno in zaradi različnega stanja dreves, smo drevesa razdelili v dve skupini. En del drevoreda ima slabše rastne razmere in smo ga poimenovali skupina prizadetih dreves. Na drugi strani pločnika so bila drevesa v boljšem stanju zaradi boljših rastnih razmer, zato smo ta del poimenovali skupina zdravih dreves. Od vsake skupine sta bili v vsakem delu sezone (april, junij, avgust 2005) poškodovani po dve drevesi. Skupno število dreves je bilo 12, številka pa je bila omejena zaradi dokaj destruktivne metode odstranitve delov skorje z debla. V vsakem obdobju je bilo na štirih drevesih narejenih 8–9 poškodb, velikosti 9–25 cm². Del debla, kjer je bila skorja odstranjena, je bil ovit v črno folijo, novi vzorci pa so bili odvzeti vsakih 3–4 dni, vsaj šest tednov po poškodbi. Vzorci so bili po dolgotrajnem postopku prepajanja v različnih vrstah reagentov narezani z rotacijskim mikrotomom, obarvani s safraninom in nato še z astra modrim. Lignificirane celične stene so se s safraninom obarvale rdeče, med tem ko so se nelignificirane celične stene, predvsem celulozni del, z astra modrim obarvale modro. Preparate smo nato analizirali s pomočjo svetlobnega mikroskopa, digitalne kamere in računalniške programske opreme.

Po pregledu preparatov smo ugotovili, da so na deblu ostala zelo različna tkiva. Na podlagi tkiv, ki so ostala na eksponirani površini, smo vzorce razdelili v tri skupine. V prvi skupini so bili vzorci pri katerih je na poškodovani površini ostal les in morda del kambijeve cone, v drugi skupini vzorcev je kambijeva cona ostala na deblu in morda del skorje, v tretji skupini pa so bili vzorci pri katerih je med poškodovanjem na deblu ostala debelejša plast skorje.

Pri prvi skupini vzorcev je razvoj novih tkiv potekal po naslednjem zaporedju. Najprej se je na eksponirani površini začel razvijati kalus. Ta je lahko nastal s hipertrofijo in hiperplazijo trakovnih celic, ali pa so se nediferencirane lesne celice, s tankimi celičnimi stenami, preoblikovale kar v kalusno tkivo. Ko je kalus prekril vso površino, je bilo na površju mogoče opaziti nastanek domnevne ligno-suberinske plasti, ki ščiti celice kalusa pred izsuševanjem. Kmalu zatem se nekje v sredini kalusa pojavijo celice, ki nakazujejo tangencialne delitve, in s tem nastanek ranitvene kambijeve cone. Ta novonastali tangencialno orientiran pas razdeli kalusno tkivo na notranji in zunanji kalus. V zunanjem kalusu, pod domnevno ligno-suberinsko plastjo, se lahko že istočasno kot ranitvena kambijeva cona, razvije ranitveni felogen. Ko je ranitveni felogen dokončno izoblikovan, tvori pluto centrifugalno in feloderm centripetalno, ki skupaj sestavljajo ranitveni periderm. Ranitvena kambijeva cona tvori navznoter ranitveni les, navzven pa ranitveno skorjo. Zdi se, da ranitvena derivata ranitvene kambijeve cone sprva nastajata nekoliko pospešeno, saj je bilo ponekod mogoče opaziti, da je v prvem letu po poškodovanju v skorji nastalo več pasov skorjinih vlaken (2–3), ki sicer nastajajo na vsake dve do štiri leta.

Pri drugi skupini vzorcev, kjer je na deblu ostala kambijeva cona in morda del skorje, se je lahko kambijeva cona kasneje sesedla in preraščanje je potekalo po že opisanem zgornjem zaporedju. V primeru, ko je ostala kambijeva cona funkcionalna, se je nad njo pojavil kalus, ki je lahko ponovno nastal delno iz trakovnih celic, delno pa so se kambijeve inicialke preoblikovale v kalusne celice. Na površini kalusne celice zaščitni domnevna ligno-suberinska plast, pod njo pa se začne diferencirati ranitveni felogen. Te poškodbe se tudi hitreje prerastejo, kot poškodbe v prvi skupini, kjer je bila vsaj delno odstranjena tudi kambijeva cona.

V tretji skupini, kjer je na površini ostala skorja, se je lahko po določenem času kambijeva cona sesedla, na površini pa je ostalo masivno nekrozno tkivo. V takem primeru menimo, da je možnosti za uspešen razvoj tkiv zelo malo. Ko pa je kambijeva cona ohranila svojo funkcijo, se je kalus razvil v skorji, na mestu poškodbe. Verjetno je, da so se skorjine parenhimske celice preoblikovale v kalusno tkivo, ali pa so se sitaste cevi predčasno sesedle. Pod zaščitno površinsko plastjo se razvije nov ranitveni felogen in preraščanje je zaključeno.

Poškodbe so bile zasnovane v treh delih sezone, aprila, junija in avgusta 2005. Aprilske poškodbe so se odzvale na poškodbo najkasneje, saj se v času poškodovanja rastna sezona še ni začela. Pri zdravih aprilskih primerkih sta bila oba meristema sklenjena nekje v 40. dneh. Junijske poškodbe so se odzvale najhitreje. Po dveh tednih so imele že sklenjeno ranitveno kambijevo cono, nekje do 31. dneva, pa se je pri skupini zdravih dreves sklenil tudi ranitveni felogen. Avgustovska poškodba se sicer odzove nekoliko počasneje, kot junijska, ki je bila narejena na višku sezone, vendar pa si kasnejše faze sledijo bolj strnjeno in oba meristema sta bila sklenjena že po 18. dneh.

Kalus se je pojavil pri vseh drevesih, ne glede na del sezone v katerem je bilo drevo poškodovano tako pri zdravih, kot tudi pri prizadetih. Zaporedje nastanka tkiv v procesu preraščanja je enako pri zdravih in prizadetih drevesih. Kljub temu, da je med vzorci velika variabilnost, se zdi, da si faze preraščanja pri prizadeti skupini sledijo hitreje kot pri zdravi skupini.

8 VIRI

- Brown C., Sax K. 1962. The influence of pressure on the differentiation of secondary tissues. *American journal of botany*, 49: 683–691.
- Marion L. 2007. Sezonska aktivnost kambija in njegov odziv na mehanske poškodbe pri mestnem drevju: doktorska disertacija. (Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za gozdarstvo in obnovljive gozdne vire). Ljubljana, samozaložba: 182 str. + pril.
- Oven P. 1999. Odziv drevesnih tkiv na poškodbe in infekcijo 2. kambijeva cona = Response of tree tissues to wounding and infection 2. the cambial zone. *Zbornik gozdarstva in lesarstva*, 58: 189–217.
- Oven P. 2000. Kaj je pravzaprav arboristika. *Proteus*, 63, 2: 78–81.
- Oven P. 2001. Mehanske poškodbe drevja. *Proteus*, 63, 8: 366–370.
- Oven P., Zupančič M. 2001. Osnove sodobne arboristike: Arboristični seminar za Zavod za varstvo naravne in kulturne dediščine, 11. december 2001, Ljubljana. (neobjavljeno)
- Oven P. 2008. »Zgradba skorje ostrolistnega javorja«. Ljubljana, Gozdarski inštitut Slovenije, Katedra za tehnologijo lesa (osebni vir, junij 2008)
- Shigo A. L. 1986. *A new tree biology*. Durham, New Hampshire, USA, Shigo & trees, associates: 595 str.
- Stobbe H., Schmitt U., Eckstein D., Dujesiefken D. 2002. Developmental stages and fine structure of surface callus formed after debraking of living lime trees (*Tilia* sp.). *Annals of botany*, 89: 773–782.
- Torelli N. 1990. *Les & skorja: slovar strokovnih izrazov*. Ljubljana, Biotehniška fakulteta: 70 str.
- Tree decay: an expanded concept. (1997)
<http://www.na.fs.fed.us/spfo/pubs/misc/treedecay/pg12-19.htm> (25.6.2008)

ZAHVALA

Iskreno se zahvaljujem mentorju prof. dr. Primožu Ovnu za ves čas, trud, strokovne nasvete in usmerjanje ob nastajanju diplomske naloge. Zahvaljujem se somentorici dr. Leni Marion za ves material, dodatne nasvete in poglobljen pregled diplomskega dela.

Zahvaljujem se tudi recenzentu doc. dr. Janezu Pirnatu za hitro in korektno recenzijo.

Hvala vsem domačim za vso toplino in ljubezen. Hvala sestrama Lari in Sari, ker sta mi vedno stali ob strani, ter mami Slavici in očetu Lawrencu za ves trud.

Hvala vsem prijateljem in kolegom, s katerimi smo skupaj uživali v študentskem življenju, se med seboj vzpodbujali, si pomagali in nemalokrat skupaj podaljšali večere.

PRILOGE

Priloga A: Tabele uporabljene pri pregledu preparatov pod mikroskopom – aprilski vzorci

	dan														
prizadeto št. 1	494	60	53	47	40	32	28	25	21	18	14	11	7	4	0
kalus	+	+	+	+	+	+	+	+							
ranitveni les	+	+	-	+	+	-									
kambijeva cona	+	+	+	+	+	+	+	-	s	s	s		s	s	
ranitvena skorja	+	+		+	+	-									
kalus	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	,	+	+	
ranitveni felogen	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-					
pluta	+	+	+	+	-	-									
L-S plast	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	,				

	dan														
prizadeto št. 3	494	60	53	47	40	32	28	25	21	18	14	11	7	4	0
kalus	+	+	+	+	+	,		-							
ranitveni les	+	+	+	+	+										
kambijeva cona	+	+	+	+	+	+	s	-		s	s				
ranitvena skorja	+	+	+	+	+										
kalus	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+			
ranitveni felogen	+	+	+	+	+	+	+			-					
pluta	+	+	+	+	+	-									
L-S plast	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	,				

	dan					
zdravo št. 2	53	47	40	7	4	0
kalus						
ranitveni les						
kambijeva cona						
ranitvena skorja						
kalus	+	+	+	-		
ranitveni felogen						
pluta						
L-S plast	+	+	-			

	dan												
zdravo št. 4	60	53	47	40	32	28	25	21	14	11	7	4	0
kalus			+	-									
ranitveni les	-		+	+									
kambijeva cona	s	s	+	+	-								
ranitvena skorja	s	s	+	+									
kalus	+		+	-	+	+	+	+	+	+	-		
ranitveni felogen	+		+	-									
pluta	+		+										
L-S plast	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-			

Legenda:

, = tkiva so točkovno prisotna

- = večja pokritost z določenimi tkivi

+ = popolnoma prisotna tkiva

s = stara tkiva so ostala na poškodbi

Priloga B: Tabele uporabljene pri pregledu preparatov pod mikroskopom – junijski vzorci

	dan										
prizadeto št. 5	49	42	31	28	21	17	14	10	7	3	0
kalus	-	+	+	+	+	+	+	+			
ranitveni les	+	+	+	+	+	-					
kambijeva cona	+	+	+	+	+	+	+	-	s	s	
ranitvena skorja	+	+	+	+	+	-					
kalus	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
ranitveni felogen	+	+	+	+	+	+	-				
pluta	+	+	+	+	+	+					
L-S plast	+	+	+	+	+	+	+	+			

	dan										
prizadeto št. 7	42	31	28	21	17	14	10	7	3	0	
kalus	+	+	+	+	+						
ranitveni les			-								
kambijeva cona	+	+	+	+	+	s	-				
ranitvena skorja			-								
kalus	+	+	+	+	+	+	+	+			
ranitveni felogen	+	+	+	-							
pluta	+										
L-S plast	+	+	+	+	+	+	-				

	dan										
zdravo št. 6	42	31	28	21	17	14	10	7	3	0	
kalus	-	+	+	+	+	+	+				
ranitveni les	-										
kambijeva cona	+	+	+	+	+	+	-				
ranitvena skorja	+										
kalus	+	+	+	+	+	+	+	+			
ranitveni felogen	+	+	-	-							
pluta											
L-S plast	+	+	+	+	+	+	+	-			

	dan					
zdravo št. 8	14	10	7	3	0	
kalus						
ranitveni les						
kambijeva cona	s	s	s			
ranitvena skorja						
kalus	+	+	+			
ranitveni felogen						
pluta						
L-S plast	+	+	-			

Legenda:

, = tkiva so točkovno prisotna

- = večja pokritost z določenimi tkivi

+ = popolnoma prisotna tkiva

s = stara tkiva so ostala na poškodbi

Priloga C: Tabele uporabljene pri pregledu preparatov pod mikroskopom – avgustovski vzorci

	dan							
prizadeto št. 9	56	42	18	14	11	8	4	0
kalus								
ranitveni les								
kambijeva cona	s	s	s	s	s	s	s	
ranitvena skorja								
kalus	+	+	+	+	+	+	+	
ranitveni felogen	+	+	,					
pluta								
L-S plast	+	+	+	+	+			

	dan							
prizadeto št. 11	56	39	18	14	11	8	4	0
kalus								
ranitveni les								
kambijeva cona	s	s	s	s	s	s	s	
ranitvena skorja								
kalus	+	+	+	+	+	+	+	
ranitveni felogen	+	-	,					
pluta								
L-S plast	+	+	+	+	+	-		

	dan							
zdravo št. 10	56	39	18	14	11	8	4	0
kalus	+		+	-				
ranitveni les	+	-						
kambijeva cona	+	s	+	-	-			
ranitvena skorja	+	-						
kalus	+	+	+	+	+	+	+	
ranitveni felogen	+	+	+	-	,			
pluta	+							
L-S plast	+	+	+	+	+	-		

	dan							
zdravo št. 12	56	42	18	14	11	8	4	0
kalus	+	+	+					
ranitveni les	-	+						
kambijeva cona	+	+	+	-	-	s		
ranitvena skorja	-	+						
kalus	+	+	+	+	+	+	+	
ranitveni felogen	-	+	+					
pluta		+						
L-S plast	+	+	+		+			

Legenda:

, = tkiva so točkovno prisotna
 - = večja pokritost z določenimi tkivi

+ = popolnoma prisotna tkiva
 s = stara tkiva so ostala na poškodbi