

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA LESARSTVO

Peter PRISLAN

**NASTAJANJE LESA PRI BUKVI (*Fagus sylvatica* L.) V
RASTNI SEZONI 2006**

DIPLOMSKO DELO

Univerzitetni študij

Ljubljana, 2007

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA LESARSTVO

Peter PRISLAN

**NASTAJANJE LESA PRI BUKVI (*Fagus sylvatica* L.) V RASTNI
SEZONI 2006**

DIPLOMSKO DELO
Univerzitetni študij

**WOOD FORMATION IN BEECH (*Fagus sylvatica* L.) IN THE 2006
GROWTH SEASON**

GRADUATION THESIS
University studies

Ljubljana, 2007

Diplomsko delo je zaključek univerzitetnega študija lesarstva. Opravljeno je bilo na Katedri za tehnologijo lesa Oddelka za lesarstvo Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani, kjer so bile opravljene laboratorijske analize. Terensko delo je potekalo v okviru diplomske naloge študenta visokošolskega študija gozdarstva Marka Beberja, v okolici Ljubljane.

Senat Oddelka za lesarstvo je za mentorico diplomskega dela imenoval prof. dr. Katarino Čufar, za somentorico dr. Jožico Gričar in za recenzenta prof. dr. Primoža Ovna.

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik:

Član:

Član:

Datum zagovora:

Naloga je rezultat lastnega raziskovalnega dela.

Peter Prislan

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

ŠD	Dn
DK	UDK 630*811.13:630*176.1 (<i>Fagus sylvatica</i> L.)
KG	<i>Fagus sylvatica</i> /bukev/ksilogeneza/nastanek lesa/kambijeva aktivnost/diferenciacija
AV	PRISLAN, Peter
SA	ČUFAR, Katarina (mentorica)/GRIČAR, Jožica (somentorica)/OVEN, Primož (recenzent)
KZ	SI- 1000 Ljubljana, Rožna dolina, Cesta VIII/34
ZA	Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za lesarstvo
LI	2007
IN	NASTAJANJE LESA PRI BUKVI (<i>Fagus sylvatica</i> L.) V RASTNI SEZONI 2006
TD	Diplomsko delo (Univerzitetni študij)
OP	IX, 68 str., 3 pregl., 24 sl., 32 vir.
IJ	sl
JJ	sl/en
AI	Na šestih drevesih navadne bukve (<i>Fagus sylvatica</i> L.) s Panjške reke pri Ljubljani smo raziskali sezonsko aktivnost kambijeve cone ter dinamiko nastanka ksilemske branike 2006. Iz živih dreves smo v tedenskih intervalih, med 24. aprilom in 22. avgustom 2006, odvzemali vzorce intaktnih tkiv lesa, kambija in skorje. Z rotacijskim mikrotomom smo pripravili histološke rezine, jih obarvali z barviloma safranin in astra modro ter analizirali s svetlobnim mikroskopom in sistemom za analizo slike. Opisali smo faze diferenciacije ksilemskih elementov: trahej, vlaken in aksialnega parenhima. Na mikroskopskih preparatih tkiv smo prešteli število slojev celic v kambijevi coni in izmerili širino tekočega ksilemskega prirastka. Dormantna kambijeva cona je bila široka od 3 do 5 slojev celic. Celične delitve v kambijevi coni so se pri vseh drevesih začele med 18. in 24. aprilom 2006. Že 18. aprila 2006 smo zasledili prve celice v postkambijski rasti, sinteza sekundarne celične stene pa se je pričela teden dni kasneje. Na začetku maja je bila kambijeva cona najširša (od 10 do 13 slojev celic). V tednu med 13. in 20. junijem 2006 smo zasledili prva dokončno diferencirana vlakna s popolnoma izoblikovano celično steno. Delitvena aktivnost kambijeve cone se je zaključila med 25. julijem in 16. avgustom 2006, konec avgusta pa je bila branika že popolnoma izoblikovana. Izmerjene vrednosti širin prirastka smo izravnali z Gompertzovo funkcijo. Obdobje najintenzivnejših delitev v kambijevi coni je bilo med 30. majem in 6. junijem 2006. Končna širina branike je bila v povprečju 2537,68 µm, čas potreben za njen nastanek pa je znašal 100 dni. Med drevesi so obstajale razlike v dinamiki nastajanja in končni širini ksilemske branike 2006.

KEY WORDS DOCUMENTATION

DN Dn

DC UDC 630*811.13:630*176.1 (*Fagus sylvatica* L.)

CX *Fagus sylvatica*/beech/xylogenesis/wood formation/cambial activity/differentiation

AU PRISLAN, Peter

AA ČUFAR, Katarina (supervisor)/GRIČAR, Jožica (co-supervisor)/OVEN, Primož (advisor)

PP SI- 1000 Ljubljana, Rožna dolina c. VIII/34

PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Wood Science and Technology

PY 2007

TI WOOD FORMATION IN BEECH (*Fagus sylvatica* L.) IN GROWTH SEASON 2006

DT Graduation thesis (University studies)

NO IX, 68 p., 3 tab., 24 fig., 32 ref.

LA si

AL si/en

AB We investigated the seasonal activity of the cambial zone and the dynamics of xylem growth-ring formation in the 2006 growth period in six beech (*Fagus sylvatica* L.) trees from Panjška reka near Ljubljana. We removed intact tissue samples of wood, cambial zone and bark from living trees at weekly intervals during the period from 24 April to 22 August 2006. Histological sections were prepared on a rotary microtome and stained with safranin and astra blue. Analyses were done with a light microscope and an image analysis system. We described the phases of differentiation of xylem elements (vessels, fibres and axial parenchyma). On microscopic slides of tissues, we counted the number of cell layers in the cambial zone and measured the width of the cambial zone and current xylem increment. The dormant cambial zone contained 3 to 5 layers of cells. In all trees, cell divisions in the cambial zone began between 18 and 24 April 2006. The first cells in postcambial growth were observed on 18 April 2006, while secondary wall formation began a week later. The cambial zone achieved maximum width at the end of May, when the cambial zone contained 10 to 13 cell layers. We observed completely differentiated fibres, with fully formed cell walls in the week between 13 and 20 June 2006. Divisional activity in the cambial zone ceased between 25 July and 16 August 2006. The annual ring was completely formed at the end of August. The measured values of xylem increments fitted the Gompertz function with an agreement of 98.7 %. The period of most intense cell production in the cambial zone was from 30 May to 6 June 2006. The average width of fully formed xylem growth-ring was 2537.68 µm, and the time necessary for its formation was 100 days. We observed differences among trees in terms of the dynamics of xylem growth-ring formation and its final width.

KAZALO VSEBINE

str.

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA (KDI)	III
KEY WORDS DOCUMENTATION (KWD).....	IV
KAZALO VSEBINE	V
KAZALO PREGLEDNIC	VII
KAZALO SLIK	VIII
1 UVOD	1
2 PREGLED OBJAV	2
2.1 BIOLOGIJA BUKVE	2
2.2 MIKROSKOPSKA ZGRADBA LESA BUKVE.....	3
2.2.1 Zgradba celične stene osnovnih elementov	5
2.2.2 Kambij in kambijeva cona.....	6
2.2.3 Diferenciacija	8
2.2.4 Sezonska aktivnost kambijeve cone in nastanka lesa.....	11
2.3 VPLIV OKOLJSKIH DEJAVNIKOV NA NASTANEK LESA	13
3 MATERIAL IN METODE.....	17
3.1 OPIS RASTIŠČA	17
3.2 ODVZEM VZORCEV	17
3.2.1 Odvzem vzorcev intaktnih tkiv	17
3.3 PRIPRAVA VZORCEV	19
3.4 PRIPRAVA REZIN ZA SVETLOBNO MIKROSKOPIJO Z ROTACIJSKIM MIKROTOMOM	20
3.5 ANALIZA SLIKE	23
3.6 HISTOMETRIČNE ANALIZE.....	24
3.7 STATISTIČNA OBDELAVA PODATKOV	25
3.8 KLIMATSKI PODATKI.....	27
4 REZULTATI.....	28
4.1 AKTIVNOST KAMBIJEVE CONE V VEGETACIJSKI DOBI 2006	28
4.2 ANATOMSKI VIDIKI NASTANKA KSILEMSKE BRANIKE	33
4.2.1 Nastanek vlaken in aksialnega parenhima.....	36
4.2.2 Nastanek trahej.....	37
4.3 KLIMATSKE RAZMERE V LETU 2006.....	38
4.4 OPIS NASTANKA KSILEMSKIH BRANIK 2006 PRI BUKVI Z GOMPERTZOVO FUNKCIJO.....	39
4.4.1 Dinamika nastanka ksilemske branike pri drevesu 1	40
4.4.2 Dinamika nastajanja ksilemske branike pri drevesu 2.....	41
4.4.3 Dinamika nastajanja ksilemske branike pri drevesu 3.....	42
4.4.4 Dinamika nastajanja ksilemske branike pri drevesu 4.....	44
4.4.5 Dinamika nastajanja ksilemske branike pri drevesu 5.....	46
4.4.6 Dinamika nastajanja ksilemske branike pri drevesu 6.....	47
4.4.7 Dinamika nastajanja ksilemske branike pri bukvi na rastišču Panjška reka v letu 2006	49
4.4.8 Primerjava parametrov Gompertzove funkcije posameznih dreves	50

5	RAZPRAVA IN SKLEPI.....	54
5.1	RAZPRAVA.....	54
5.2	SKLEPI.....	59
6	POVZETEK.....	61
7	VIRI	64
ZAHVALA		
PRILOGE		

KAZALO PREGLEDNIC

str.

Preglednica 1: Odvzem vzorcev intaktnih tkiv pri šestih bukvah s Panjške reke v letu 2006.	18
Preglednica 2: Odvzem vzorcev intaktnih tkiv pri drevesu 4 v rastni sezoni 2007.	18
Preglednica 3: Prikaz parametrov Gompertzove funkcije za šest bukev s Panjške reke v rastni sezoni 2006. <i>A</i> – zgornja asimptota ponazarja maksimalno širino ranike, <i>B</i> – mesto na osi <i>x</i> ponazarja začetek kambijeve aktivnosti, <i>k</i> – ocena dinamike rasti, <i>t</i> – mesto prevoja na horizontalni osi predstavlja obdobje maksimalne celične produkcije, <i>d</i> – čas, ki je potreben za nastanek ksilemske ranike 2006, <i>r</i> - povprečna širino ranike, nastale med rastno sezono 2006 (μm/dan).	51

KAZALO SLIK

str.

Slika 1: Razširjenost bukve (<i>Fagus sylvatica</i> L.) po Evropi.....	3
Slika 2: Kambij in produkcija sekundarnega prevodnega tkiva. Puščice prikazujejo centripetalno in centrifugalno diferenciacijo floema in ksilema.	8
Slika 3: Diferenciacija osnovnih elementov listavcev (trahejni člen, vlakno). Po delitvi kambijeve inicialke sledi determinacija, nastane lahko trahejni člen ali vlakno, nato sledijo faze diferenciacije: (1) Rast celice – pri trahejah se realizira predvsem površinska rast, pri vlaknih pa rast v dolžino. (2) Debelitev celične stene – na primarno steno se odložijo sloji sekundarne celične stene: S1, S2, in S3. (3) V celično steno se inkrustrira lignin. (4) Odmrtje in prevzem funkcije v trajnem tkivu.	11
Slika 4: Model za vrednotenje vpliva, majhnih količin padavin in visoke temperature med vegetacijo, na fiziološke procese v drevesu.	14
Slika 5: Obdelani količki v 15 ml penicilinki s 70 % etanolom.	19
Slika 6: A - Pravilna orientacija vzorca v kaseti za optimalno kakovost preparatov. Moder okvir prikazuje običajno orientacijo vzorcev, rdeč pa boljšo orientacijo vzorcev pod kotom 45°; B – Končni izgled vzorcev vklopljenih v parafin.....	21
Slika 7: A - Polavtomatski rotacijski mikrotom Leica RM 2245; B – Osnovna sestavna dela mikrotoma sta nož Feather N34H in vpenjalna glava za kasete z v parafin vklopljenim vzorcem. C – Vodna kopel Leica HI 1210 s temperaturo 40 °C.	22
Slika 8: Način merjenja širine nastajajoče branike in kambijeve cone ter štetja celic v kambijevi coni.	24
Slika 9: Kambijeva cona (KC) pri bukvi (<i>Fagus sylvatica</i>) v različnih obdobjih. A – Dormantna KC (6. marec 2007) sestavljena iz 5 do 6 slojev celic z majhnimi radialnimi dimenzijami in nekoliko odebeljenimi celičnimi stenami. B – aktivna KC (24. april 2006) s približno 11 plastmi celic. Radialne dimenzije celic KC so nekoliko povečane, debelina celičnih sten je manjša kot v marcu. Pod KC se nahaja branika lesa v fazi postkambijske rasti (PR). C – aktivna KC na sredini rastne sezone 2006 (27. junija 2006) iz povprečno 9 slojev celic; v nastajajoči braniki so vidne traheje, vlakna in aksialni parenhim v fazi PR. D – KC (12. september 2006) v mirujočem stanju s 5 do 6 plastmi celic. Pod KC popolnoma oblikovana branika lesa (ZV). Daljica 100µm.	29
Slika 10: Število celic v kambijevi coni pri šestih bukvah v rastni sezoni 2006.....	30
Slika 11: Povprečno število plasti celic v kambijevi coni pri šestih bukvah v rastni sezoni 2006 in ± 95% interval zaupanja.....	30
Slika 12: Širina kambijeve cone pri šestih bukvah v rastni sezoni 2006.....	30
Slika 13: Število celic v kambijevi coni po 22. avgustu (dan 234) pri drevesih 1 in 3.	32
Slika 14: Faze nastajanja ksilemske branike pri bukvi (<i>Fagus sylvatica</i>). A – Kambijeva cona (KC) in nastajajoča branika v lesu s celicami v postkambijski rasti (PR) na dan 115 (24. aprila 2006). B in C – Široka KC in nastajajoča branika v fazi PR in odlaganja sekundarne stene (SL) posnete v	

svetlem polju, kjer so celice SL rdeče obarvane (B), in v polarizirani svetlobi, kjer se celice SL svetijo (C). D – KC z zmanjšanim številom celic in branika s popolnoma zreliimi vlakni (ZV) ter celicami v fazi SL in PR. Zreli elementi imajo prazne lumne in popolnoma rdeče obarvane celične stene. E – Mirujoča KC in popolnoma izoblikovana branika na dan 16. avgusta 2006 z modro obarvanimi notranjimi plastmi celičnih sten najmlajših vlaken. F – Popolnoma oblikovana branika 2006. Daljica = 100 μ m.....	35
Slika 15: Povprečne, maksimalne in minimalne dnevne temperature ter količina padavin v Ljubljani v rastni sezoni 2006.....	38
Slika 16: Krivulja (siva črta) dinamike nastajanja ksilemske branike pri drevesu 1, v rastni sezoni 2006. Črne pike označujejo dejanske povprečne vrednosti, črna črtkana črta pa izračunan tedenski prirastek. G – Gompertzova funkcija, T – tedenski prirastek, D – dejanski prirastki	41
Slika 17: Krivulja (siva črta) dinamike nastajanja ksilemske branike pri drevesu 2, v rastni sezoni 2006. Črne pike označujejo dejanske povprečne vrednosti, črna črtkana črta pa izračunan tedenski prirastek. G – Gompertzova funkcija, T – tedenski prirastek, D – dejanski prirastki	42
Slika 18: Krivulja (siva črta) dinamike nastajanja ksilemske branike pri drevesu 3, v rastni sezoni 2006. Črne pike označujejo dejanske povprečne vrednosti, črna črtkana črta pa izračunan tedenski prirastek. G – Gompertzova funkcija, T – tedenski prirastek, D – dejanski prirastki	44
Slika 19: Krivulja (siva črta) dinamike nastajanja ksilemske branike pri drevesu 4 v rastni sezoni 2006. Črne pike označujejo dejanske povprečne vrednosti, črna črtkana črta pa izračunan tedenski prirastek. G – Gompertzova funkcija, T – tedenski prirastek, D – dejanski prirastki	45
Slika 20: Krivulja (siva črta) dinamike nastajanja ksilemske branike pri drevesu 5 v rastni sezoni 2006. Črne pike označujejo dejanske povprečne vrednosti, črna črtkana črta pa izračunan tedenski prirastek. G – Gompertzova funkcija, T – tedenski prirastek, D – dejanski prirastki	47
Slika 21: Krivulja (siva črta) dinamike nastajanja ksilemske branike pri drevesu 6 v rastni sezoni 2006. Črne pike označujejo dejanske povprečne vrednosti, črna črtkana črta pa izračunan tedenski prirastek. G – Gompertzova funkcija, T – tedenski prirastek, D – dejanski prirastki	48
Slika 22: Krivulja (siva črta) dinamike nastajanja ksilemske branike za povprečne vrednosti vseh šestih dreves, v rastni sezoni 2006. Črne pike označujejo dejanske povprečne vrednosti, črna črtkana črta pa izračunan tedenski prirastek. G – Gompertzova funkcija, T – tedenski prirastek, D – dejanski prirastki.....	50
Slika 23: Povprečna širina ksilemske branike 2006 za 6 bukev (<i>Fagus sylvatica</i>) na Panjški reki v rastni sezoni 2006 $\pm$ 95 % interval zaupanja.....	51
Slika 24: Primerjava stopnje dnevne produkcije lesa v posameznih tednih za vseh šest dreves v letu 2006 na Panjški reki.....	53

1 UVOD

Bukev (*Fagus sylvatica* L.) je naša najpomembnejša drevesna in lesna vrsta. Kljub njeni razširjenosti in pomenu je proces nastajanja lesa pri bukvi še vedno malo raziskan. Trahejni členi, vlakna in aksialni parenhim, ki v lesu bukve prevladujejo, nastanejo z delitvami vretenastih inicialk v kambijevi coni. Delitvam sledi proces diferenciacije, ki vključuje površinsko rast celic, debelitev celične stene z odlaganjem slojev sekundarne stene ter lignifikacijo. Na koncu sledi še programirana smrt celice in dezintegracija protoplazme. Za trahejne člene in vlakna velja, da odmrejo, preden lahko začnejo opravljati svojo funkcijo. Parenhimske celice aksialnega parenhima in trakov pa po nastanku v kambijevi coni živijo še več let, saj lahko nalogo prevajanja in skladiščenja hrane opravljajo le žive celice (prim. Čufar, 2006, Gričar, 2006).

Za študij aktivnosti kambijeve cone in nastajanja ksilema pri bukvi smo uporabili metodo vzorčenja intaktnih tkiv. Eksperimentalni del diplomske naloge smo opravili na 6 bukvah s Panjške reke.

Cilji pričujoče diplomske naloge so bili:

- a) ugotoviti začetek in konec aktivnosti kambijeve cone pri šestih odraslih bukvah,
- b) raziskati širino plasti celic v kambijevi coni preko celotne vegetacijske dobe 2006,
- c) določiti faze nastanka ksilemske branike in spremljati potek diferenciacije posameznih celic,
- d) spremljati priraščanje ksilemske branike v lesu in ga ovrednotiti z Gompertzovo funkcijo.

2 PREGLED OBJAV

2.1 BIOLOGIJA BUKVE

Navadna bukev (*Fagus sylvatica* L.) spada v družino bukovk (*Fagaceae*). Je listopadna drevesna vrsta, ki zraste v naših krajih v višino od 25 do 40 m ter doseže premer debla 60 do 80 cm (Kotar in Brus, 1999).

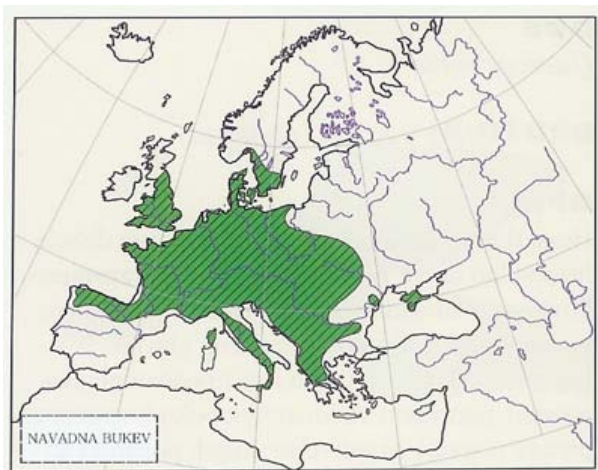
Bukev je naravno razširjena v večini srednje in zahodne Evrope, na severu jo najdemo v južni Angliji in na južnem koncu Skandinavije. Raste tudi po južnoevropskih gorovjih, na primer v Pirenejih, Apeninih in Dinarskem gorovju. Na vzhodu raste vse do Ukrajine, na jugovzhodu pa še na Balkanskem polotoku. V Alpah uspeva do 1700 m, v Apeninih do 1950 m nadmorske višine (Brus, 2004).

V Sloveniji je razširjena od nižin do gozdne meje oziroma do pasu ruševja na Snežniku. V nižinah je primešana gozdu gradna in navadnega gabra, v predgorskem pasu oblikuje skoraj čiste sestoje, v gorskem pasu sta ji primešani jelka in smreka. V zgornjem gorskem pasu skupaj z macesnom uspeva vse do gozdne meje. Bukev v Sloveniji manjka v poplavnih nižinah in gričevnatih legah, kjer je nevarnost pozeb. V Primorju ni prisotna v toploljubnih gozdovih črnega gabra ter združbah kraškega gabra (Kotar in Brus, 1999).

Bukev je sencovzdržna drevesna vrsta; še posebej v mladosti, ker oblikuje samo nežne senčne liste. Glede toplote je zahtevna in potrebuje za dobro uspevanje najmanj 5 mesecev dolgo vegetacijsko dobo. Najlepše uspeva na globokih, zračnih, svežih, s kalcijem bogatih tleh, kjer je zračna vlaga velika in padavine obilne. Manjka tem, kjer je padavin manj kot 600 – 700 mm (Kotar in Brus, 1999). Je subatlantska vrsta, sušno in hladno kontinentalno podnebje ji ne ustreza. Slabo prenaša mestno okolje, zlasti zbita tla, sol in industrijske pline (Brus, 2004).

Rast bukve je razmeroma hitra, v mladosti pa je pogosto upočasnjena, če je mlado drevo zasenčeno. Bukev ima lastnost, da lahko dolgo preživi v senci in kasneje ob zadostni svetlobi, npr. zaradi poseka sosednjih dreves, normalno nadaljuje z rastjo. Priraščanje lesa je odvisno od rodovitnosti rastišča, tako priraščajo bukovi gozdovi pod samo gozdno mejo

na Snežniku le $2 \text{ m}^3/\text{ha}/\text{leto}$, v gozdovih gričevja, kjer so talne razmere izredno ugodne, pa 10 in več $\text{m}^3/\text{ha}/\text{leto}$. Od klimatskih dejavnikov bukvi pri nas najpogosteje škodujejo pozne pozebe, ki ogrožajo predvsem bukova mladja.



Slika 1: Razširjenost bukve (*Fagus sylvatica* L.) po Evropi (Brus, 2004).

2.2 MIKROSKOPSKA ZGRADBA LESA BUKVE

Bukev spada med evolucijsko primitivnejše listavce. Les oz. sekundarni ksilem sestavljajo: traheje, vlakna, aksialni parenhim in trakovi (Čufar, 2006).

Trahejni členi, ki sestavljajo traheje, so relativno dolgi, zašiljeni ter z lestvičastimi ali enostavnimi perforacijami. Po prečnem prerezu so traheje razporejene difuzno, posamezno ali pa v manjših skupkih po 2-3 traheje (Čufar, 2006). Tangencialni premeri trahej in njihovo število na enoto površine v braniki variirajo, tako da lahko razlikujemo rani in kasni les. V splošnem ni natančno definirano, kateri del tkiva v braniki pripada ranemu in kateri kasnemu lesu. Sass (1993) je kasni les definirala kot del branike, v katerem je 25% trahej.

V anatomiji je uveljavljeno, da premer trahej merimo na prečnem prerezu v tangencialni smeri (Čufar, 2006). Praviloma je tangencialni premer manjši od radialnega, zato imajo traheje značilno ovalno obliko. Povprečni tangencialni premeri trahej pri bukvi so 45–60–

80 μm , gostota trahej znotraj prirastne cone pa znaša 80-125-160 celic na mm^2 (Richter in Dallwitz, 2005).

Velikost trahej lahko močno variira tudi glede na rastišče (Schlagintweit, 1990, cit. po Z'Graggen, 1992) in različnih škodljivih vplivov okolja na rast dreves (Eckstein in sod., 1977, Petersen in sod., 1983, Eckstein in sod., 1984, vse cit. po Sass 1993). Poleg tega pa je velike razlike v premerih trahej mogoče opaziti tudi znotraj drevesa v odvisnosti od višine, posamezne branike in starosti kambija (Zimmermann in Potter, 1982, cit. po Sass 1993). V starejših branikah so v lumnih trahej pogoste tile, ki predstavljajo vrastke parenhima v lumne trahej (npr. Čufar, 2006).

Osnovno tkivo pri bukvi predstavljajo vlakna z obokanimi piknjami, ki sodelujejo pri prevajanju vode in opravljajo mehansko nalogo. Lesno-anatomska literatura vlaken pri bukvi ne poimenuje enako. Nekateri viri jih glede na obliko reduciranih pikenj poimenujejo traheide (Čufar, 2006), debelostena libriformska vlakna, vlaknaste traheide in tudi traheide (Grosser, 1977) libriformska vlakna (Schweingruber, 1990), traheide in libriformska vlakna (Richter in Dallwitz, 2005). Wagenführ (1996) navaja, da je osnovno tkivo sestavljeno pretežno iz libriformskih vlaknen, ob trahejah pa se nahajajo tudi vlaknaste traheide. V nalogi smo za celice osnovnega tkiva uporabljali izraz vlakna.

Aksialni parenhim v lesu bukve je apotrahealen. Razporejen je difuzno ali difuzno v agregatih (Čufar, 2006). Primarna naloga celic aksialnega parenhima je skladiščenje in prevajanje ogljikovih hidratov. Parenhimske celice ostanejo žive, dokler so del beljave, kar pri bukvi lahko traja več deset let (Torelli, 2003).

Trakovno tkivo je pri bukvi sestavljeno iz parenhimskih celic. Trakovi so dveh različnih velikosti, 2 do 4 redni in nizki, ter nad 10 (do 25) redni in visoki nad 1 mm (Grosser, 1977). Trakovno tkivo je heterogeno in ima osrednji del sestavljen iz ležečih celic, na robovih pa je po ena vrsta kvadratastih celic (Čufar, 2006). Tudi tu lesno-anatomska literatura ni enotna, saj nekateri viri navajajo, da je trakovno tkivo v lesu bukve homogeno (npr. Richter in Dallwitz, 2005). Trakovi in traheje so med seboj povezane z velikimi in ovalnimi piknjami (Čufar, 2006). V prečnem prerezu lahko vidimo, da se širši trakovi ob

letnici kolenčasto razširijo. Trakovi so v osrednjem delu branike bočno stisnjeni zaradi tlaka trahej, ki površinsko rastejo (Mellerowicz in sod., 2001) in zaradi apikalne intruzivne rasti vlaken, ob letnici pa ta tlak popusti in se razširijo (Torelli, 1998).

2.2.1 Zgradba celične stene osnovnih elementov

Anatomske učbeniki v splošnem navajajo, da imajo traheide iglavcev, ter vlakna listavcev podobno zgradbo celične stene, ki je sestavljena iz: srednje lamele (M), primarne stene (P), troslojne sekundarne stene (sloji S1, S2 in S3), pri nekaterih vrstah pa je ob lumnu prisoten še bradavičasti sloj (W) (Panshin in De Zeeuw 1980, Čufar, 2006).

Pri listavcih, kot tudi pri iglavcih, je v osnovnem tkivu orientacija mikrofibril v primarni celični steni naključna ali longitudinalna (Funada, 2000, cit. po Mellerowicz in sod., 2001). Vse celice ksilema bukve izoblikujejo sekundarno celično steno po zaključku postkambijske rasti. Za sekundarno celično steno je značilna gosta, helikalna, skoraj prečna ureditev mikrofibril, ki onemogoči nadaljnjo radialno rast celic (Abe in sod., cit. po Mellerowicz in sod., 2001). Zaporedni sloji sekundarne celične stene (S1, S2 in S3) traheid iglavcev in vlaken listavcev vsebujejo urejene celulozne mikrofibrile, ki tvorijo helikalno ali polhelikalno strukturo (Funada 2000, cit. po Mellerowicz in sod., 2001). Zunanji sloj S1 ima skorajda prečen mikrofibrilarni kot oz. položen heliks glede na os drevesa in sestoji iz več tankih lamel z izmeničnim Z- in S- heliksom. Sloj S2 predstavlja največji delež celične stene, zato v veliki meri določa mehanske lastnosti lesa. Celulozne fibrile v sloju S2 potekajo pretežno v Z heliksu. Kot celuloznih fibril je majhen oz. imajo »strm heliks«, kar pomeni, da potekajo skoraj vzporedno z osjo celice. V zadnjem izoblikovanem sloju S3 je zopet velik fibrilarni kot oz. »položen heliks« celuloznih mikrofibril. Spremembe v orientaciji mikrofibril med nastajanjem sosednjih slojev stene so posledica reorientacije kortikalnih mikrotubulov (Abe et al., 1995, Chaffey et al. 1997, Funada, 2000, vse cit. po Mellerowicz in sod., 2001).

Zgradba celične stene trahejnih členov in parenhimskih celic od te sheme nekoliko odstopa. Trahejni členi imajo primarno steno, ki jo je mogoče deliti v zunanji, srednji in

notranji del, od katerih ima vsak drugačno fibrilarno orientacijo. Mellerowicz in sod. (2001) navajajo, da imajo traheje troslojno sekundarno celično steno, podobno kot vlakna in traheide, le da je S2 sloj bistveno tanjši. Za traheje bukve je značilen še dodatni bradavičasti sloj na notranji strani celičnih sten ob lumnu (Liese, 1965).

Pri parenhimskih celicah ločimo tri sloje primarne stene (P1, P2 in P3). Kasneje se odloži še troslojna sekundarna celična stena (Murakami in sod., 1999, cit. po Mellerowicz in sod., 2001). Zgradba sekundarne stene pri parenhimskih celicah je zelo podobna zgradbi sekundarne stene pri traheidah iglavcev. Poleg tega celično steno trakovnih celic, ki mejijo na trahejo, sestavlja še terciarni sloj, imenovan zaščitni sloj. Le-ta se po avtolizi citoplazme v celičnih lumnih trahej odloži kot zaščitni sloj na notranji strani lignificirane sekundarne stene (Benayoun, 1983, cit. po Mellerowicz in sod., 2001). Zaščitni sloj ostane nelignificiran in izoblikuje tile v neprevodnih trahejah (Murakami in sod., 1999, cit. po Mellerowicz in sod., 2001). Zaščitni sloj in sloji sekundarne stene trakovnih celic, ki niso v stiku s trahejami, pa se lignificirajo v sezoni, v kateri so celice nastale (Panshin in De Zeeuw, 1980).

2.2.2 Kambij in kambijeva cona

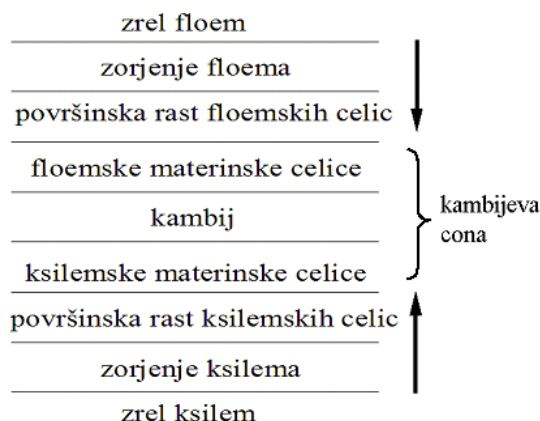
Vaskularni kambij (kratko kambij) je sekundarni meristem med lesom in skorjo, ki nastane iz prokambija, le-ta pa se razvije iz apikalnega meristema (Larson, 1994, cit. po Plomion in sod. 2001). Kambij večinoma definirajo kot eno celico debelo plast kambijevih inicialk (Slika 2), medtem ko izraz kambijeva cona zajema celotno območje delečih se celic, kamor spadajo poleg inicialk še deleče se materinske celice floema in ksilema (Wilson in sod., 1996, Schmid, 1976, Larson, 1994, vse cit. po Torelli, 1998).

V prečnem prerezu debla ima kambij obliko plašča valja oz. obroča. Aktivnost kambijeve cone zagotavlja redno obnovo funkcionalnega ksilema na notranji in sekundarnega floema na zunanji strani in s tem preživetje drevesa (Plomion in sod., 2001).

Enoslojno tkivo kambija sestavljata dva morfološko različna tipa celic: aksialno podaljšane fuziformne (vretenaste) kambijeve inicialke in kratke precej izodiametrične trakovne inicialke. Kambijeve inicialke so tipične žive celice s tanko celično steno. Dolžina fuziformnih inicialk je pri primitivnejših listavcih, kot je bukev, med 1000 in 2000 μm , pri najnaprednejših pa med 300 in 600 μm (Čufar, 2006). Z delitvijo inicialke nastaneta dve identični hčerinski celici, kjer ena obdrži meristemski značaj, druga pa se pred diferenciacijo v odraslo celico ksilema ali floema še nekajkrat deli. Iz vretenastih kambijevih inicialk nastane sistem aksialnih, iz trakovnih inicialk pa sistem radialnih celic v ksilemu in floemu. Iz iste fuziformne inicialke lahko nastanejo pri bukvi trije tipi ksilemskih celic: trahejni členi, vlakna in aksialni parenhim, medtem ko iz trakovnih inicialk nastanejo celice trakov.

Nastanek sekundarnega ksilema poteka v dveh korakih. Prvi vključuje mitotske delitve celic kambijeve cone, drugi pa diferenciacijo. V kompleksnem procesu diferenciacije iz tankostenih derivatov kambija nastanejo zrele funkcionalne celice, ki opravljajo prevodno in mehansko nalogo (Samuels in sod., 2006). To velja za vlakna in trahejne člene, medtem ko parenhimske celice skladiščijo in prevajajo ogljikove hidrate (Panshin in De Zeeuw, 1980).

Kambijeva cona ima pri debelinski rasti in razvoju dreves odločilno vlogo, saj s periklinimi delitvami, ki potekajo v tangencialni ravnini, nastajajo nova vaskularna tkiva ksilema in floema, s čimer se obseg dreves povečuje. Proizvajanje sekundarnih prevodnih tkiv sestavlja približno 90% vseh mitoz (Lachaud in sod., 1999). Antikline (radialne) delitve fuziformnih inicialk prav tako proizvajajo hčerinske celice in zagotavljajo povečanje površine oz. obsega kambija. Nove trakovne inicialke nastanejo z antiklino delitvijo fuziformnih inicialk (Plomion in sod., 2001). Razmerje med fuziformnimi in trakovnimi inicialkami je odvisno od starosti kambija in od drevesne vrste (Lachaud in sod., 1999).



Slika 2: Kambij in produkcija sekundarnega prevodnega tkiva. Puščice prikazujejo centripetalno in centrifugalno diferenciacijo floema in ksilema (po Lachaud, 1999).

2.2.3 Diferenciacija

Ksilogeneza (nastanek lesa) je primer celične diferenciacije lesnega tkiva v izredno kompleksni obliki. Ta proces kontrolirajo zunanji (fotoperioda in temperatura) in notranji (fitohormoni) dejavniki ter interakcije med njimi (Plomion in sod., 2001).

Nastanek nove celice v splošnem sestoji iz naslednjih faz: delitev, determinacija in diferenciacija. V fazi determinacije se določi tip celice in s tem smer diferenciacije (npr.: vlakno, trahejni člen, ipd.) (Čufar, 2006). Determinacija se prične že v kambijevi coni, po zaključku delitev.

Diferenciacija vlaken in trahej je sestavljena iz štirih glavnih korakov: rast celice (v literaturi pogosto imenovana tudi postkambijska rast), ki ji sledi postopno odlaganje večslojne sekundarne celične stene, lignifikacija in celična smrt. Derivati kambijeve cone rastejo v vseh smereh, da dosežejo končno velikost. Ko je rast celice zaključena, se prične sinteza večslojne sekundarne celične stene, ki jo usmerjajo geni vpleteni v biosintezo štirih glavnih komponent celične stene: polisaharidov (celuloza, hemiceluloze), lignina, proteinov in drugih topnih (stilbeni, flavonoidi, tanini in terpeni) in netopnih (pektini) komponent (Higuchi, 1997, cit. po Plomion in sod 2001).

Postkambijska rast se pri trahejnem členu kaže predvsem v površinski rasti, njegov premer se v primerjavi s premerom fuziformne inicialke lahko poveča do 50-krat. Dolžina trahejnega člena pa ostane navadno enaka dolžini fuziformne kambijeve inicialke oz. se podaljša le za okoli 15 % (Panshin in De Zeeuw, 1980). Trahejni členi rastejo v radialni in tangencialni smeri, zaradi česar pride do bočnega razmaka okoliškega tkiva (Mellerowicz in sod., 2001). Povečanje celice je v veliki meri odvisno od raztegljivosti primarne celične stene (Catesson, 1989, cit. po Sass, 1993), od osmotskih razmerij v celici ter razpoložljivosti z vodo (Ray in sod., 1972, cit. po Sass, 1993). Gonilna sila za povečanje trahej je turgor. Rast se lahko prične takoj, ko je primarna stena, zaradi procesov presnove v celici, zmehčana. Dörffling (1986) in Catesson (1989) (cit. po Sass, 1993) menita, da raztegljivost primarne celične stene usmerja avksin. Zaradi raztegovanja celice se turgor in potencial vode zmanjšata, posledično v celico vdre voda, zato se le-ta še dodatno razširi. Za vzdrževanje zadostnega turgorja je potrebna zadostna količina vode in prisotnost osmotsko učinkovitih snovi (Boyer, 1985, cit. po Sass, 1993).

Catesson (1989, cit. po Sass 1993) navaja, da se primarne celične stene bodočih trahejnih členov, v primerjavi z drugimi vrstami celic, razlikujejo po manjkajočemu celuloznemu skeletu in visokemu deležu ksiloz. Takšna sestava celičnih sten nastajajočih trahejnih členov omogoča intenzivno raztezanje oz. površinsko rast (Sass, 1993).

Velike traheje dosežejo svoj maksimalni premer v radialni smeri, in so zaradi tega v prečnem prerezu videti eliptične. To je posledica različne strukture celične stene v radialni in tangencialni smeri. Pri javoru je tangencialna stena trahej gostejša, medtem ko ima radialna celična stena rahlo celulozno strukturo in je zaradi tega bolj raztegljiva (Catesson, 1990, cit. po Sass, 1993). Nadaljnjo rast trahej prepreči odlaganje toge sekundarne celične stene, ki ji sledi lignifikacija (Sass, 1993).

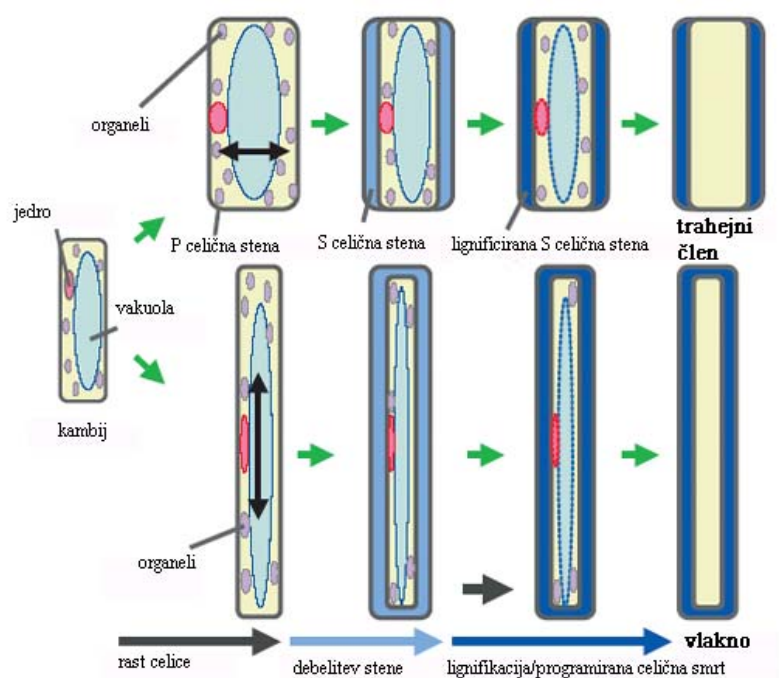
Postkambijska rast se pri vlaknih listavcev realizira predvsem v dolžinski rasti (apikalna intruzivna rast). Povprečno podaljšanje vlaken izračunano za 54 listavcev je 140 %, oz. 20 do 460 %. Pri primitivni listavcih, kot so *Alnus*, *Liquidambar*, pa tudi *Fagus*, se vlakna podaljšajo za povprečno 120 % (Panshin in De Zeeuw, 1980).

Celice aksialnega parenhima odlikuje manjša površinska rast (Čufar, 2006). Prameni aksialnega parenhima nastanejo s postkambijsko poddelitvijo v prečni ravnini celic nastalih iz fuziformnih kambijevih inicialk. Pri poddelitvah nastanejo prameni sestavljeni iz kratkih celic. Dolžina celotnega pramena je približno enaka dolžini vretenaste inicialke, iz katere je nastal. (Panshin in De Zeeuw, 1980).

V fazi debelitve celične stene se na primarno celično steno v centripetalni smeri odloži sekundarna celična stena, kar je podrobneje opisano v poglavju 2.2.1. Več raziskovalcev je ugotovilo, da se sekundarna celična stena trahej odloži prej kot pri ostalemu tkivu. Murakami in sod. (1999 cit. po Mellerowicz in sod., 2001) je pri topolu zasledil, da se sinteza sekundarne celične stene prične najprej pri trahejah in v elementih, ki le-te obdajajo. Do podobne ugotovitve so prišli tudi Marion in sodelavci (2007), ki so proučevali nastanek lesa ostrolistnega javora (*Acer platanoides*). Sass (1993) navaja, da lignifikacija celične stene v trahejah poteče prej kot v okoliškem tkivu, za vzrok pa navaja potrebo po čim prejšnjem začetku prevajanja vode.

Lignifikacija se prične najprej v trahejah in sosednjih trakovnih celicah, ki že imajo v celoti sintetizirano sekundarno celično steno. Celične stene vlaken in parenhimskih celic, ki niso v stiku s trahejami, pa se lignificirajo pozneje (Murakami in sod., 1999, cit. po Mellerowicz in sod., 2001). Najprej se lignin odloži v združeni srednji lameli, oz. v celičnih vogalih, ko se je že odložil sloj S1 (Terashima et al., 1993, cit. po Mellerowicz in sod., 2001). Lignifikacija se nato nadaljuje v centripetalni smeri, med istočasnim odlaganjem celuloze in polioz v sloju S2. Inkrustacija lignina je najintenzivnejša, ko se dokončno izoblikuje S3 sloj (Mellerowicz in sod., 2001). Sestava lignina se med fazo diferenciacije spreminja z oddaljenostjo od kambijeve cone. V celicah, ki so bližje kambijevi coni, so prisotne predvsem p-hidroksifenilne in gvajacilne enote lignina. Z oddaljevanjem od kambijeve cone pa se inkrustrira predvsem siringilni lignin (Yoshinaga et al., cit. po Mellerowicz in sod., 2001). Najprej se lignificirajo celične stene trahej, zato vsebujejo večji delež p-hidroksifenilnih in gvajacilnih enot. V sekundarne celične stene vlaken pa se odloži predvsem siringilni lignin (Terashima, 2000).

Ko je lignifikacija končana, sledi programirana smrt celic (vlaknen in trahejnih členov) v prevodnem tkivu. Na to vplivajo številni dejavniki (zlasti avksini), ki določajo vrsto hidrolaz, ki se sintetizirajo v celici in se nahajajo v neaktivni obliki v vakuolah. Preko signala, ki je do sedaj še nepoznan, tok kalcija povzroči kolaps vakuole, od koder se sprostijo hidrolaze, ki razkrojijo vso celično vsebino razen sekundarne celične stene (Mellerowicz in sod., 2001).



Slika 3: Diferenciacija osnovnih elementov listavcev (trahejni člen, vlakno). Po delitvi kambijeve inicialke sledi determinacija, nastane lahko trahejni člen ali vlakno, nato sledijo faze diferenciacije: (1) Rast celice – pri trahejah se realizira predvsem površinska rast, pri vlaknih pa rast v dolžino. (2) Debelitev celične stene – na primarno steno se odložijo sloji sekundarne celične stene: S1, S2, in S3. (3) V celično steno se inkrustrira lignin. (4) Odmrtje in prevzem funkcije v trajnem tkivu (Samuels in sod., 2006).

2.2.4 Sezonska aktivnost kambijeve cone in nastanka lesa

Sezonska aktivnost kambijeve cone je odvisna predvsem od zunanjih dejavnikov (temperature in padavin). V zmernem podnebjju kambij pozimi miruje (je v dormantnem stanju). Dormantno obdobje kambijeve cone nastopi ob zaključku celičnih delitev in s tem povezanimi procesi v celicah. Število celic v dormantni kambijevi coni je odvisno od različnih dejavnikov: drevesne vrste, starosti drevesa, vitalnosti, rastnosti, idr. (Gričar,

2006). Reaktivacija kambijeve cone pa se začne spomladi s ponovno delitvijo kambijevih inicialk in njenih neposrednih derivatov (Mellerowicz in sod., 2001). Glavni signal za reaktivacijo kambijeve cone ob postopni otoplitvi dajo fitohormoni, predvsem avksini in giberilini, ki se tvorijo v razvijajočih se popkih in listih (Little in Savidge, 1987, Aloni, 1987a,b, vse cit. po Sass, 1993). S celičnimi delitvami se širina kambijeve cone poveča (Larson, 1994, Deslauriers, 2003, vse cit. po Gričar, 2006). Število celic v kambijevi coni tekom vegetacije nakazuje ravnovesje med stopnjo produkcije ter stopnjo diferenciacije kambijevih derivatov v odrasle celice ksilema in floema (Oven, 1993, Lachaud et al., 1999). Na začetku rastne sezone potekajo delitve celic hitreje kot diferenciacija, zato širina kambija naraste. Dokler se ohranja ravnovesje med stopnjo celičnih delitev ter stopnjo diferenciacije, je širina kambija bolj ali manj konstantna. Ko je stopnja diferenciacije hitrejša od stopnje delitev, se prične kambij ožiti. Slednjič celične delitve popolnoma izostanejo (Oven 1993, Lachaud in sod., 1999).

Tako pri iglavcih kot pri listavcih so celične stene v dormantni kambijevi coni debelejšje, v delitveno aktivnem obdobju pa tanjše (Mellerowicz in sod., 2001). Stene celic v dormantni kambijevi coni pri divjem kostanju (*Aesculus hippocastanum*) so na primer večslojne z različnimi heliksi mikrofibril. Porazdelitev mikrofibril v celicah kambijeve cone pa je v aktivnem obdobju naključna. Mikrotubuli naj bi bili v dormantnem obdobju aksialno orientirani, v aktivnem pa naključno (Mellerowicz in sod., 2001).

Rani les nastane na začetku, kasni les pa na koncu rastne sezone. Pri topolu (*Populus* sp.), difuzno porozni vrsti, se tako kot pri bukvi kasni les od ranega razlikuje po postopnem zmanjševanju premerov in površinske gostote trahej. Pri topolu se dolžina celic osnovnega tkiva veča od ranega proti kasnem lesu (Hejnowicz, 1958, cit. po Mellerowicz, 2001). Vzrok naj bi bil v postopnem daljšanju fuziformnih inicialk tekom rastne sezone, preden nastopijo antikline delitve v poznem poletju. Poleg tega pa je v času diferenciacije kasnega lesa apikalna intruzivna rast vlaken intenzivnejša (Mellerowicz in sod., 2001). Kristaliničnost celuloze je v kasnem lesu večja kot v ranem (Parresol in Cao, 1998, cit. po Mellerowicz, 2001), sestava lignina pa v trahejnih členih sledi sezonskemu vzorcu in je drugačna kot pri vlaknih (Takabe in sod., 1992, cit. po Mellerowicz in sod., 2001). Tekom rastne sezone se namreč razmerje med siringilnim in gvajacilnim ligninom v traheji poveča

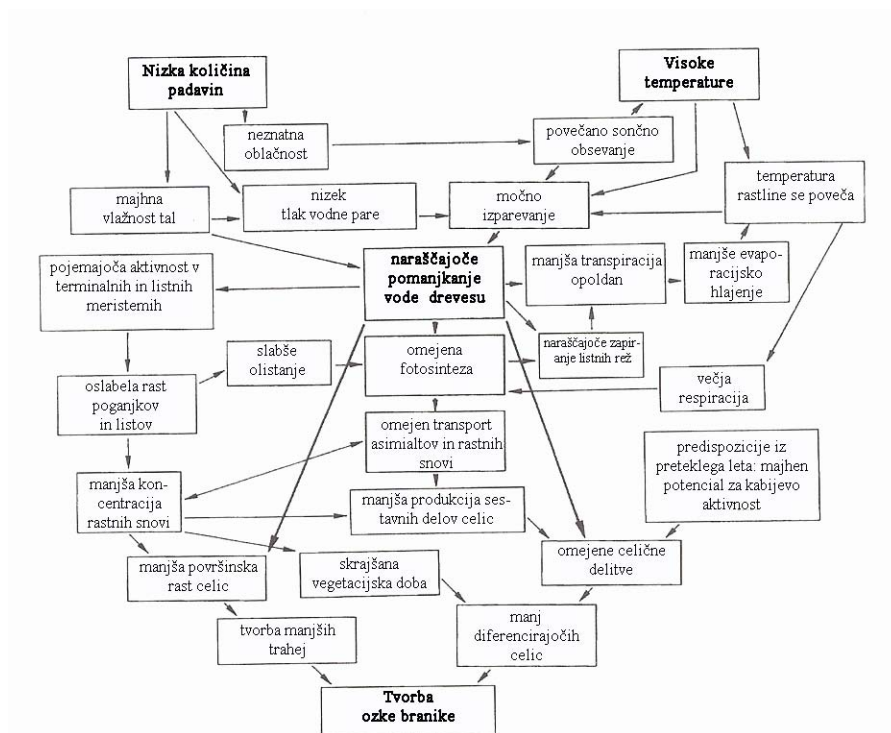
v prid siringilnemu, medtem ko se pri vlaknih zmanjša (Mellerowicz in sod., 2001). Primer topola, ki je po lesu podoben bukvi, navajamo zato ker v literaturi nismo zasledili podatkov o omenjenih procesih pri bukvi.

2.3 VPLIV OKOLJSKIH DEJAVNIKOV NA NASTANEK LESA

Ker so viri, ki proučujejo nastanek lesa pri bukvi redki (Schmitt in sod. 2000), največ informacij o vplivu različnih dejavnikov na nastanek lesa dobimo iz dendrokronoloških študij, predvsem dendroekoloških in dendroklimatoloških (npr. Diettmair in sod., 2001, Labourgeois in sod., 2004, Di Filippo in sod., 2007). Pri tem je treba poudariti, da dendroekologija proučuje zvezo med okoljskimi dejavniki in nastankom lesa, dendroklimatologija pa zvezo med klimatskimi dejavniki in nastankom lesa.

Najpomembnejša spremenljivka dendroekoloških in dendroklimatoloških raziskav je širina branike, raziskave pa lahko vključujejo tudi gostoto lesa ter pri iglavcih analize debelin celičnih sten in velikosti lumnov traheid (Schweingruber, 1989, Eckstein, 2004) in pri listavcih število, premere in površinsko gostoto trahej ter površine lumnov (Sass, 1993, Garcia Gonzalez in Eckstein, 2003, Fonti in Garcia Gonzalez, 2004). Slednje raziskave je omogočil šele razvoj modernih sistemov za analizo slike.

Od dejavnikov, ki vplivajo na širino branike in zgradbo lesa, je Fritts (1976, cit. po Garcia Gonzalez in Eckstein, 2003) izpostavil štiri: temperaturo med rastno sezono, razpoložljivost vode, koncentracijo rastnih snovi ter količino hrane (asimilatov). Ti faktorji vplivajo na dolžino aktivnosti kambijeve cone, dinamiko celičnih delitev in diferenciacijo celic. Na širino branike in njeno zgradbo vplivajo direktno ali indirektno. Direktni vpliv na kambijevo aktivnost in diferenciacijo celic ima na primer količina razpoložljive vode (Glerum 1970, cit. po Sass, 1993), indirektno pa klimatski dejavniki na braniko vplivajo preko fizioloških procesov v drevesu (Larcher, 1984, cit. po Sass, 1993). Vpliv zunanjih dejavnikov na fiziološke procese je povzet v Slika 4.



Slika 4: Model za vrednotenje vpliva, majhnih količin padavin in visoke temperature med vegetacijo, na fiziološke procese v drevesu (Sass, 1993).

Pri drevesih z območij zmerne klime je reaktivacija kambijeve cone možna, ko temperatura spomladi preseže nekaj dni zapored določeno vrednost. Matovic (1980, cit. po Garcia Gonzalez in Eckstein, 2003) je za jesen (*Fraxinus angustifolia* ssp.) ugotovil, da se kambijeve cone aktivira šele ko se temperature dvignejo nad 7 do 9 °C.

Za bukev je značilna velika geografska razširjenost s široko ekološko amplitudo, zato je vpliv zunanjih dejavnikov na različnih rastiščih (npr. na različnih nadmorskih višinah) lahko zelo različen (Di Filippo in sod. 2007).

Dejavniki, ki ugodno vplivajo na debelinsko rast bukve (prim. pogl. 2.1), načeloma ugodno vplivajo tudi na širino branik, čeprav se po nekaterih podatkih v normalnih pogojih za prirastek lesa debela porabi le okoli 20% produktov fotosinteze (Čufar, osebna komunikacija). Od klimatskih dejavnikov je najboljše raziskan vpliv, povprečne mesečne temperature in skupnih mesečnih padavin, na širino branike (Diettmair in sod., 2001, Labourgeois in sod., 2005, Di Filippo in sod., 2007). Za bukev v Sloveniji iz nadmorskih

višin 300-600 m so ugotovili negativen vpliv nizkih zimskih temperatur in poletne suše na širino branike (Di Filippo in sod. 2007).

Sass (1993), je pri bukvi dokazala, da je površina trahej dober indikator razpoložljivosti vode in da premeri trahej kažejo na vitalnost drevesa pred in med tvorbo trahej v kambijevi coni. Isti vir poroča tudi, da je iz velikosti trahej mogoče tudi predvideti, kako je drevo disponirano za prirastek naslednjih let.

Eckstein in sodelavci (1977, cit po Sass, 1993) so predpostavili, da velikost trahej pri listavcih odraža razpoložljivost vode tekom njihovega nastanka. To je potrdilo več študij (Woodstock, 1989, Pumijumong in Park, 1999, vse cit. po Garcia Gonzalez, Sass in Eckstein, 1995, Eckstein, 2004). Že majhno pomanjkanje vode omejuje razširjanje površinsko rastočih celic v fazi diferenciacije, pa tudi sposobnost celičnih delitev (Kozłowski in sod. 1991, cit. po Sass, 1993). Celica v kambijevi coni se lahko deli šele takrat, ko doseže ustrezno velikost, to pa je odvisno od zadostne količine razpoložljive vode. Pomanjkanje vode lahko na takšen način direktno vpliva na celične delitve (Sass, 1993).

Pomanjkanje vode nima le direktnega vpliva na velikost trahej, ampak tudi indirektnega preko delovanja na koncentracijo rastnih hormonov. Visoka koncentracija avksina povzroči manjšo velikost trahej, saj hitrejša diferenciacija dopušča le malo časa za celično rast (Aloni, 2001, cit. po Sass, 1993). Majhna koncentracija avksina povzroči počasnejšo diferenciacijo in celica lahko dlje površinsko raste (Garcia Gonzalez in Eckstein, 2003).

Padavine preteklega leta predvsem indirektno vplivajo na rast trahej, in sicer preko vpliva na količino skladiščnih snovi, nastanka listnih nastavkov ter brstov. Vpliv preteklega leta je zaradi aktualnih vremenskih vplivov v času aktivnosti kambijeve cone nekoliko zabrisan. Obilne padavine tekočega maja pa pozitivno vplivajo na aktivnost celičnih delitev ter celično rast in tako direktno oz. indirektno vplivajo na velikost trahej. Jasna ločitev med indirektnimi in direktnimi vplivi pomanjkanja vode skoraj ni mogoča (Munting in Willemse, 1987, cit. po Sass, 1993).

Temperatura zraka vpliva predvsem na površino trahej v ranem lesu. Le-ta ima največji vpliv na začetku vegetacijske dobe, pa tudi v pretekli jeseni. To pomeni da so traheje ranega lesa, zaradi nadpovprečno tople jeseni, kakor tudi zgodnje pomladi, manjše in obratno. Nizka temperatura namreč ovira celične delitve in diferenciacijo in posledično podaljšuje čas površinske rasti celic in formiranje sekundarne celične stene ter lignifikacijo (Eckstein, 2004).

3 MATERIAL IN METODE

3.1 OPIS RASTIŠČA

Sezonsko dinamiko kambijeve aktivnosti ter nastanka ksilemske branike smo proučevali na šest bukvah (*Fagus sylvatica* L.) iz privatnega gozda na Panški reki, v KO 1776 Lipoglav, pod vasjo Javor oz. blizu začetka označene poti »Pot na Pance«. Bukve rastejo v sestoju *Blechno fagetum* na nadmorski višini približno 450 m na pobočju, ki obkroža jaso nastalo zaradi podrtja dreves med snegolomom leta 1999, ki je zaradi plitvih tal izruval več dreves (bukev). Izbrana drevesa so bila stara okoli 100 let in so imela premer v prsni višini okoli 50 cm, na deblu in koreninah pa niso imela vidnih mehanskih poškodb.

3.2 ODVZEM VZORCEV

Za raziskave sezonske dinamike aktivnosti kambijeve cone smo uporabili metodo odvzema vzorcev intaktnih tkiv. Primerna je zato, ker omogoča študij nastanka ksilemske in floemske branike na celičnem nivoju. Poleg tega je s to metodo manjša možnost poškodbe tkiva v fazi, ko je širina kambijeve cone največja, ksilemske celice pa se še niso popolnoma diferencirale (Gričar s sod., 2007).

3.2.1 Odvzem vzorcev intaktnih tkiv

Odvzem vzorcev iz živih dreves je potekal v okviru diplomske naloge študenta visokošolskega študija gozdarstva Marka Beberja. Vzorčenje je potekalo celotno vegetacijsko obdobje v letu 2006, od 24. aprila do 20. septembra na vseh šestih drevesih. Za natančnejše proučevanje reaktivacije kambijeve cone spomladi, so na drevesu št. 4 odvzeli vzorce v obdobju med 2. marcem in 24. aprilom 2007. V preglednicama (Preglednica 1 in Preglednica 2) so navedeni datumi ter zaporedni dnevi odvzema vzorcev.

Preglednica 1: Odvzem vzorcev intaktnih tkiv pri šestih bukvah s Panške reke v letu 2006.

Odvzem	Datum	Dan v letu
1	25.4.2006	115
2	2.5.2006	122
3	9.5.2006	129
4	16.5.2006	136
5	23.5.2006	143
6	30.5.2006	150
7	6.6.2006	157
8	13.6.2006	164
9	20.6.2006	171
10	27.6.2006	178
11	4.7.2006	185
12	10.7.2006	191
13	18.7.2006	199
14	25.7.2006	206
15	1.8.2006	213
16	9.8.2006	221
17	16.8.2006	228
18	22.8.2006	234
19	29.8.2006	241
20	5.9.2006	248
21	12.9.2006	255
22	20.9.2006	263

Preglednica 2: Odvzem vzorcev intaktnih tkiv pri drevesu 4 v rastni sezoni 2007.

Odvzem	Datum	Dan v letu
1	2.3.2007	61
2	6.3.2007	65
3	13.3.2007	72
4	27.3.2007	86
5	4.4.2007	94
6	11.4.2007	101
7	14.4.2007	104
8	17.4.2007	107
9	24.4.2007	114

Odvzeti vzorci (okvirnih dimenzij 1 x 1 x 3 cm) so zajemali celoten nekolabirani floem, del kolabiranega floema, kambijvo cono, celotno ksilemsko braniko tekočega leta, ter del branike iz rastne sezone 2005. Vzorce so odvezemali v prsni višini (1,3 m nad tlemi) po celotnemu obodu drevesa. Razmak med posameznimi vzorci je znašal vsaj 10 cm. Tako so se izognili kalusnemu tkivu in poranitvenemu lesu, ki nastane kot odziv kambijeve cone na mehanske poškodbe pri predhodno odvzetih sosednjih vzorcih. Za odvzem, ki je potekal v

štirih korakih, so potrebovali olfa nož, široko in ozko dleto ter kladivo. Najprej so na omenjeni višini s širokim dletom odstranili zunanji, kolabirani del floema. Nato so z ostrim nožem v obod naredili dva globoka horizontalna vzporedna reza, ki sta določala širino vzorca. Zatem so zasekali z ozkim dletom pod kotom 45° v prečnih smereh in s tem določili aksialno dimenzijo vzorca. Na ta način so lahko lažje in previdneje odstranimo vzorec iz drevesa. Predvsem v prvi in zadnji fazi vegetacijske dobe, kjer je število nediferenciranih ksilemskih ter celic kambijeve cone veliko in je tkivo med odvzemom podvrženo raznim poškodbam, kot so porušitev ali tlačenje. Dolžino vzorca so nato definirali z dvema vzporednima horizontalnima rezoma. V zadnji fazi so z ozkim dletom previdno odstranili vzorec iz debla. Pri tem so dleto uporabili kot vzvod za generiranje strižne napetosti med tkivi starejših branik. Takoj po odvzemu iz drevesa so vzorce shranili v prahovke s fiksacijsko tekočino FAA (500 ml FAA vsebuje: 25 ml 37 % formalina, 450 ml 50 % etanola, in 25 ml 100% očetne kisline).

3.3 PRIPRAVA VZORCEV

Vzorce intaktnih tkiv so približno 1 teden hranili v fiksativu, nato je sledila dehidracija v etanolni vrsti (30%, 50% in 70%). V vsaki raztopini so bili vzorci 5 do 7 dni. Med postopkom dodatnega obrezovanja vzorcev so najprej z britvico odstranili odvečni ksilem in nato v radialni smeri odrezali približno 3 mm širok del tkiva (tangencialna dimenzija) dolžine 5 mm in ga namenili za pripravo prečnih rezin za svetlobno mikroskopijo. Preostali del vzorca so shranili v označenih 15 ml penicilinkah v 70 % etanolu. Na vsako penicilinko (Slika 5) so prilepili etiketo z datumom odvzema ter številko drevesa.



Slika 5: Obdelani količki v 15 ml penicilinki s 70 % etanolom.

3.4 PRIPRAVA REZIN ZA SVETLOBNO MIKROSKOPIJO Z ROTACIJSKIM MIKROTOMOM

Trajne anatomske preparate za histometrično preiskavo z rotacijskim mikrotomom je izdelala dr. Jožica Gričar v laboratoriju na Katedri za tehnologijo lesa. Tovrsten način izdelave trajnih preparatov omogoča kakovostno in relativno hitro rezanje. Pred pričetkom rezanja je potrebno vzorce tkiv prepojit s parafinom. Vsak posamezni vzorec so vstavili v kaseto, na katero so predhodno zapisali znak vzorca (oznake so enake kot na penicilinkah). Po pripravi zadostne količine kaset so napolnili reagenčno posodo komore za preparacijo tkiv Leica TP 1020 in pričeli s postopkom dehidracije z etanolom in bio-clearom (D-limonen) ter prepajanjem vzorcev s parafinom. Komori sestavljeni iz 12 reagenčnih posod so nastavili ustrezen program, po katerem je potekalo prepajanje vzorcev. V prvih sedmih reagenčnih posodah so kasete dehidrirali v različnih koncentracijah etanola različno dolgo. Pričeli so s 70 % etanolom ter nadaljevali z 90 %, 95 % in 100 % etanolom. V prvi reagenčni posodi je bil čas dehidracije 2 uri, v nadaljnjih pa 1,5 ure. V naslednjih treh posodah so kasete z vzorci dehidrirali po 1,5 ur v 100 % bio-clearom. V zadnjih dveh posodah pa je po 2 uri potekalo prepajanje s parafinom.

Ko je bil postopek prepajanja zaključen, so pripravili parafinske bloke s tkivi. Kasete z vzorci so postavili na grelno ploščo parafinskega dispenzerja Leica EG 1120. Parafin se je pri tem v kaseti stalil. Kaseto so nato odprli in obdržali tisto polovico kasete, na kateri je bila s svinčnikom napisana oznaka vzorca. Pravilno orientiran vzorec s staljenim parafinom so postavili v kovinsko posodico in ga zalili s staljenim parafinom (58 °C), s čemer so poskušali preprečiti nastajanje mehurčkov. Posodico so postavili v petrijevko z mrzlo vodo in z ogrevano pinceto Leica EG F držali vzorec na mestu toliko časa, da se je parafin nekoliko strdil (robovi so postali belkasti). V naslednjem koraku so postavili na posodico označeno polovico kasete, dolili parafin in jo postavili na mizo za toliko časa, da se je parafin strdil. Vzorce so nato postavili v zmrzovalnik za približno 30 min, da so odstranili parafinske bloke iz posodic.

V predhodnih pripravih rezin so ugotovili, da je orientacija vzorca pri nadaljnjem rezanju z rotacijskim mikrotomom zelo pomembna. Posebej pri bukvi je zaradi trdega lesa bolje, da

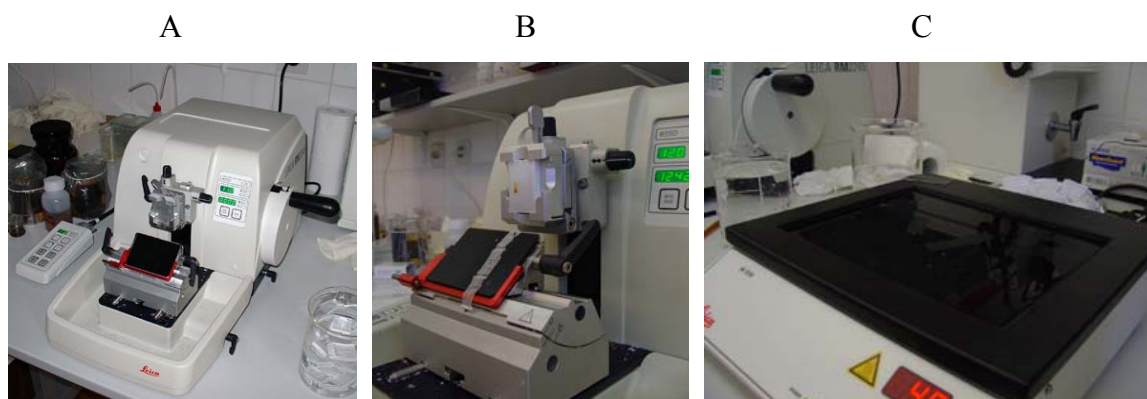
vzorci niso orientirani pravokotno, ampak pod določenim kotom glede na rezilo, kakor prikazuje slika (Slika 6). Na takšen način še dodatno izboljšamo kakovost izdelane rezine.



Slika 6: A - Pravilna orientacija vzorca v kaseti za optimalno kakovost preparatov. Moder okvir prikazuje običajno orientacijo vzorcev, rdeč pa boljšo orientacijo vzorcev pod kotom 45°; B – Končni izgled vzorcev vklopljenih v parafin.

Rezanje prečnih prerezov tkiv je potekalo s polavtomatskim rotacijskim mikrotomom Leica RM 2245. Uporabljali so nizkoprofilne jeklene nože za rezanje trših tkiv Feather N34H za enkratno uporabo. Za učinkovito porabo celotnega rezila posameznega noža so za rezanje najprej uporabili del ob robu noža ter nato nadaljevali po celotni širini rezila tako, da so del obrabljenega noža vedno označili in nadaljevali na neobrabljenem delu.

Najprej so ploskev namenjeno za rezanje prikojili na ustrezno velikost, odstranili presežni parafin in ploskev izravnali. Pred pričetkom so vzorce za približno eno uro namočili v vodo, da se je ksilemsko tkivo nekoliko zmehčalo. Na mikrotomu so nastavili debelino rezin na 12 μm . Odrezane rezine so najprej postavili v posodo s hladno vodo. Nato so jih prestavili v vodo ogreto na 40 °C, ki je bila v vodni kopeli Leica HI 1210, kakor prikazuje slika. Zaradi tega so se rezine nekoliko raztegnile. Rezine so nato pobrali iz vode z objektnim steklom premazanim z albuminom, s čemer so povečali oprijemnost. Objektna stekla so nato položili v pečico na 70 °C za približno 30 min.



Slika 7: A - Polavtomatski rotacijski mikrotom Leica RM 2245; B – Osnovna sestavna dela mikrotoma sta nož Feather N34H in vpenjalna glava za kasete z v parafin vklopljenim vzorcem. C – Vodna kopel Leica HI 1210 s temperaturo 40 °C.

Preden so preparate obarvali, jim je bilo potrebno po določenem postopku odstraniti parafin. Podobno kot pri vklapljanju parafina so preparate za določen čas izpostavili 100% raztopini bio-cleara (komercialno ime za topilo na osnovi ksilena) in 95% raztopini etanola.

Najprej so preparate obarvali s safraninom (0,5 %, v 95 % etanolu), barvanje je trajalo 1 uro. Safranin rdeče obarva polifenolne komponente, kot je npr. lignin. Po pretečenem času so barvilo iz preparata sprali s 95 % etanolom. Sledilo je obarvanje z astra modrim (0,5 %, v 95 % etanolu), ki obarva celulozne komponente celične stene. Zaradi agresivnosti barvila, so preparate barvali le 30 sekund. Nazadnje je spet sledilo spiranje s 95 % etanolom, dokler niso odstranili vsega odvečnega barvila.

Rezine na objektnem steklu so nazadnje prepojili z vklopnim medijem Euparal, prekrili s krovnim steklom, odstranili mehurčke, ujete v vklopnem mediju, ter preparate obtežili z 200 g težkimi kovinskimi utežmi in pustili obtežene vsaj 24 ur, da se je smola strdila. Vsak preparat so sproti označili z ustrezno oznako, ki je vsebovala informacijo o številki drevesa ter datumu odvzema.

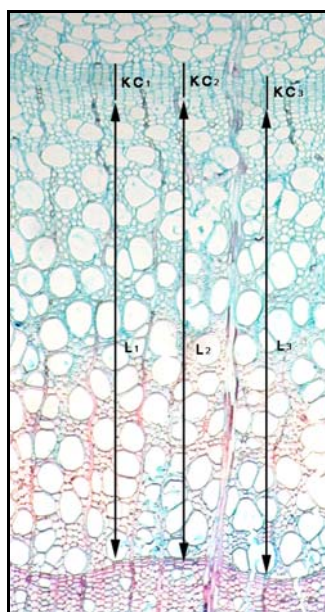
3.5 ANALIZA SLIKE

Vse izdelane preparate smo analizirali s pomočjo svetlobnega mikroskopa Nikon Eclipse E800, digitalne kamere (PIXELink, PL-A66Z Camera kit), osebne računalnika in računalniškega programa LUCIA G 4.8. Za analizo slike smo uporabili mikroskopiranje v svetlem polju ob uporabi različnih filtrov, kot je npr. filter za polarizirano svetlobo, ki omogoča lažje prepoznavanje različnih faze diferenciacije. Največkrat smo uporabljali objektivne z 2x, 4x, 10x in 20x povečavo. Sliko smo opazovali na zaslonu osebne računalnika. V veliko pomoč posebej pri merjenju je bila premična objektna miza mikroskopa, ki omogoča obračanje preparatov v poljuben položaj. Položaj slike na zaslonu lahko uravnavamo tudi s položajem oz. zasukom digitalne kamere, ki je nameščena na vrhu mikroskopa. Za boljše »branje« slik nam določene možnosti ponuja tudi program LUCIA G 4.8., kjer lahko uravnavamo delež rdeče, zelene in modre barve, svetlost ter kontrast. Ta program, poleg že omenjenih funkcij, z ustrezno opremo (digitalno kamero) omogoča prenos »žive« slike iz mikroskopa na zaslon računalnika. To pomeni, da se v primeru premika objektna mize ustrezno spremeni tudi slika na zaslonu. Program LUCIA G 4.8 smo uporabili za merjenje razdalj na preparatu, ki smo ga opazovali pod mikroskopom. Vsakokrat, ko smo spremenili povečavo smo izbrali ustrezno kalibracijo zanjo, nakar smo lahko pričeli s štetjem, merjenjem dolžin itd. S kalibracijo smo zagotovili, da so bile merjene enote v skladu s standardnim merskim sistemom (cm, mm, μ m). Vse izvedene meritve smo shranili v obliki *.txt datoteke ter jo ustrezno poimenovali. Ime datoteke je bilo sestavljeno iz datuma odvzema, številke drevesa, mesta meritve v braniki, ter vrste meritve. Ime »24_4_06_1_KC_ST« na primer pomeni, da je bil vzorec odvzet 24. aprila 2006 iz drevesa 1, na proučevanem preparatu pa smo v kambijeve coni izmerili število celic. Dobljene podatke smo za lažjo analizo izvozili v program Microsoft Excel, grafe pa smo narisali s pomočjo programa Sigma Plot in Systat.

3.6 HISTOMETRIČNE ANALIZE

Po izdelavi preparatov, smo le-te razdelili po posameznih drevesih ter jih kronološko sortirali, kar je omogočilo hitrejše merjenje v nadaljevanju. Pred začetkom merjenja smo pod mikroskopom pregledali in ocenili primernost rezin za meritve.

Ker smo imeli za vsak odvzem več preparatov, smo za merjenje izbrali le najprimernejše rezine iz vsakega odvzetega dneva. Histometrične preiskave so zajemale merjenje širine branike vzdolž vsaj treh radialnih nizov tekoče branike 2006 ter merjenje širine kambijeve cone. Poleg meritev širin smo prešteli tudi število celic v kambijevi coni. Pri izbranih preparatih smo za posamezni mesec preverili tudi širino posameznih faz diferenciacije. Različne faze diferenciacije smo določili z opazovanjem pod polarizirano svetlobo, indikator pa je bilo tudi obarvanje z barvili safranin in astra modro. V modro obarvanih tkivih je bila prisotna zgolj celuloza in hemiceluloze, popolnoma rdeče obarvane celične stene pa so nakazovale, da se je lignin inkrustriral v steno, s čimer je bila diferenciacija trahej in vlaken zaključena.



Slika 8: Način merjenja širine nastajajoče branike in kambijeve cone ter štetja celic v kambijevi coni.

3.7 STATISTIČNA OBDELAVA PODATKOV

Vzorci intaktnih tkiv

Pri vsakem vzorcu smo izračunali povprečno dolžino branike (X_i) 2006 na osnovi izmerjenih 3 radialnih nizov (Slika 8):

$$X_i = \frac{\sum_{j=1}^n x_{ij}}{n} \dots 2 \leq n \leq 3 \quad (1)$$

x – širina branike, i – datum vboda, n – število meritev, j – zaporedna meritev na posameznem vzorcu.

Podatke smo obdelali in preračunali v programu Microsoft Excel, v programu SigmaPlot 9.0 pa smo narisali grafe.

Gompertzova funkcija

Nastanek ksilemske branike 2006 smo na danem rastišču analizirali z Gompertzovo funkcijo (Deslauriers in sod., 2003a, b; Rossi in sod., 2003, vse cit. po Gričar 2006):

$$y = A \exp(-\exp(B - k t)) \quad (5)$$

y – tedenska širina tekoče branike, t – dan v letu, A – zgornja asimptota, ki ponazarja maksimalno širino branike, B – mesto na osi x in oceni začetek kambijeve aktivnosti, k – mesto prevoja krivulje.

Preračun izmerjenih tedenskih prirastkov in uporaba različnih funkcij, ki se prilegajo biološkemu trendu sezone rasti drevesa, skuša odpraviti variabilnosti v številu celic oziroma širini znotraj iste branike ter s tem ustrezno oceniti ksilemski razvoj posameznega drevesa oziroma izbranega rastišča med rastno sezono (Rossi in sod., 2003; Deslauriers in

sod., 2003a, b; Deslauriers in Morin, 2005, vse cit. po Gričar, 2006). Nastanek ksilemske branike je mogoče opisati z različnimi funkcijami (logistična, Weibullova, monomolekularna, Korfova, Richardsova itd.), vendar pa se je Gompertzova funkcija izkazala kot najustreznejša zaradi asimetrične oblike (Deslauriers in sod., 2003a, b; Rossi in sod., 2003, 2006b, 2007, vse cit. po Gričar, 2006).

Za vseh šest dreves smo določili mesto prevoja modelnih krivulj. Prevoj Gompertzove funkcije se ujema z maksimalno vrednostjo prvega odvoda funkcije y' :

$$y' = A k \exp(-\exp(B - k t)) \exp(B - k t) \quad (6)$$

y – tedenska širina tekoče branike, t – dan v letu, A – zgornja asimptota in predstavlja maksimalno širino branike, B – mesto na osi x in oceni začetek kambijeve aktivnosti, k – mesto prevoja krivulje. S prvim odvodom Gompertzove funkcije smo izračunali dnevni ksilemski prirastek celic v vsakem tednu, s čimer smo dobili podatek o stopnji debelinske rasti za vsako drevo.

Pri maksimalni vrednosti prvega odvoda y' je drugi odvod $y'' = 0$:

$$y'' = y' k (\exp(B - k t) - 1) = 0 \quad (7)$$

y – tedenska širina tekoče branike, t – dan v letu, A – zgornja asimptota in predstavlja maksimalno širino branike, B – mesto na osi x in oceni začetek kambijeve aktivnosti, k – mesto prevoja krivulje.

Gompertzova funkcija ima prevoj tipa »S«, zato y'' preide iz pozitivnih vrednosti na negativne.

Drugi odvod y'' je enak 0 pri

$$t = B/k \quad (8)$$

t – mesto prevoja na horizontalni osi in predstavlja obdobje maksimalne celične produkcije, B – mesto na osi x in oceni začetek kambijeve aktivnosti, k – mesto prevoja krivulje.

Iz parametra k Gompertzove funkcije, ki določa dinamiko rasti, smo izračunali čas d , ki je bil potreben za nastanek glavnine ksilemske branike 2006 pri omenjenih drevesih po formuli:

$$d = 4/k \quad (9)$$

k – mesto prevoja krivulje.

Iz parametrov A in k smo izračunali koeficient r , ki ponazarja povprečno širino branik, nastale med rastno sezono 2006:

$$r = A k/4 = A d^{-1} \quad (10)$$

k – mesto prevoja krivulje.

Vse statistične izračune smo opravili v programu Statgraphics, grafe pa smo narisali v programu SigmaPlot 9.0.

3.8 KLIMATSKI PODATKI

Klimatskih podatkov na rastišču Panška reka nismo beležili, zato smo za oceno klimatskih razmer uporabili podatke za Ljubljano v letu 2006, ki smo jih dobili od Gozdarskega inštituta Slovenije, ki je imel postavljeno vremensko postajo (Davis Vantage Pro Radio-Kit) pred stavbo inštituta na Večni poti 2 v Ljubljani. Vremenska postaja je klimatske parametre (temperatura zraka, padavine) beležila vsakih 10 min. Iz dobljenih podatkov so izračunali povprečne, maksimalne in minimalne dnevne temperature ter dnevno količino padavin.

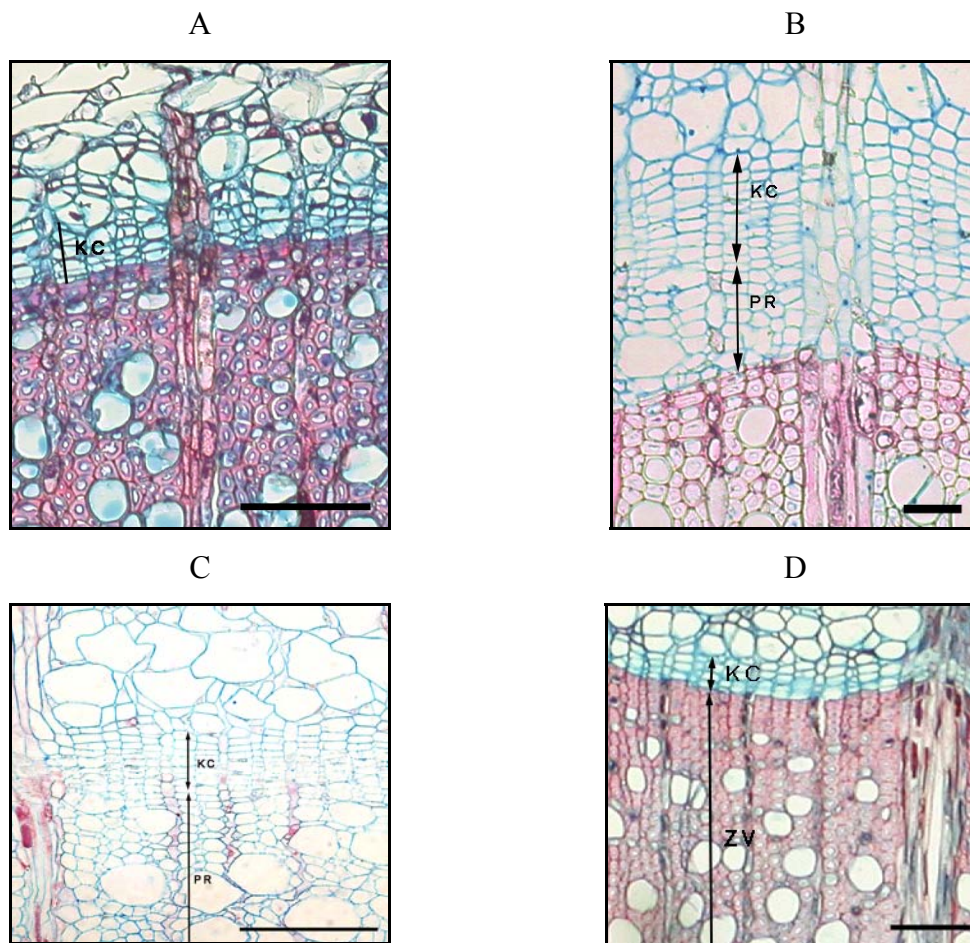
4 REZULTATI

4.1 AKTIVNOST KAMBIJEVE CONE V VEGETACIJSKI DOBI 2006

Celice kambijeve cone je včasih težko ločiti od nastajajočih celic ksilema in floema, zato smo najprej definirali, kateri del tkiva na preparatih prečnih prereзов intaktnih vzorcev predstavlja kambijevo cono, ki sestoji iz vretenastih in trakovnih inicialk in njihovih neposrednih derivatov (Slika 9).

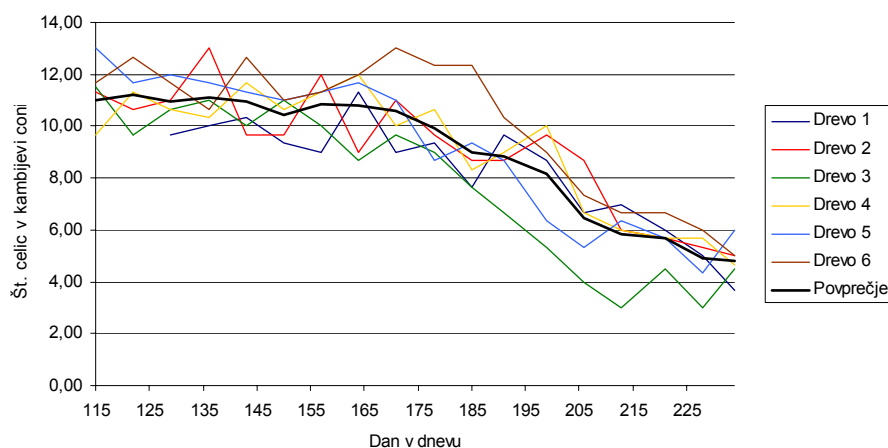
Vretenaste inicialke kambija in njihovi neposredni derivati so bili urejeni v radialnih nizih. Celice so bile radialno sploščene in so imele tanjše modro obarvane celične stene. Debelina celičnih sten se je spreminjala, v mirujoči kambijevi coni so bile debelejšje, v aktivni pa tanjše (Slika 9A, B). Trakovne inicialke so bile modro obarvane in jih ni bilo mogoče razlikovati od njihovih neposrednih derivatov (Slika 9B).

Dormantna kambijeva cona je bila sestavljena iz 5 do 6 slojev celic z majhnimi radialnimi dimenzijami in nekoliko odebeljenimi celičnimi stenami (Slika 9A). Po reaktivaciji v aprilu je njena širina narasla na približno 10-13 slojev celic, pod njo pa je bilo mogoče prepoznati celice nastajajoče ksilemske branike v fazi postkambijske rasti in kasneje v fazi debelitve celične stene (Slika 9B,C). Pri aktivni kambijevi coni so se radialne dimenzije celic nekoliko povečale, celične stene pa so se stanjšale. Širina kambijeve cone se je konec avgusta ponovno zmanjšala na 3 do 6 plasti celic (Slika 9D).

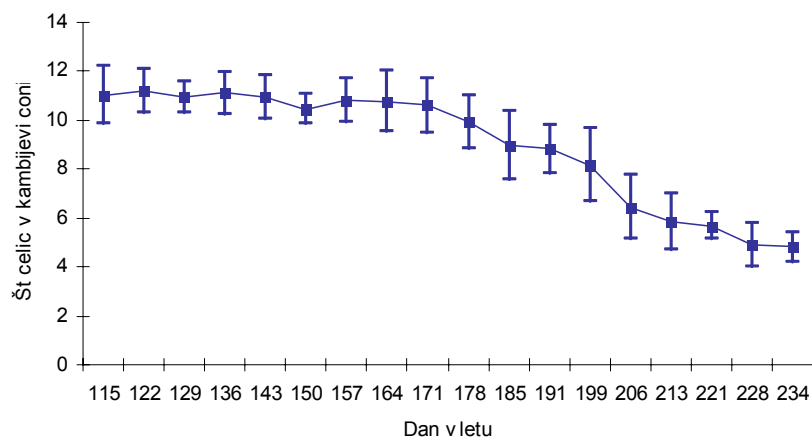


Slika 9: Kambijeva cona (KC) pri bukvi (*Fagus sylvatica* L.) v različnih obdobjih. A – Dormantna KC (6. marec 2007) sestavljena iz 5 do 6 slojev celic z majhnimi radialnimi dimenzijami in nekoliko odebeljenimi celičnimi stenami. B – aktivna KC (24. april 2006) s približno 11 plastmi celic. Radialne dimenzije celic KC so nekoliko povečane, debelina celičnih sten je manjša kot v marcu. Pod KC se nahaja branika lesa v fazi postkambijske rasti (PR). C – aktivna KC na sredini rastne sezone 2006 (27. junija 2006) iz povprečno 9 slojev celic; v nastajajoči braniki so vidne traheje, vlakna in aksialni parenhim v fazi PR. D – KC (12. september 2006) v mirujočem stanju s 5 do 6 plastmi celic. Pod KC popolnoma oblikovana branika lesa (ZV). Daljica 100 μ m.

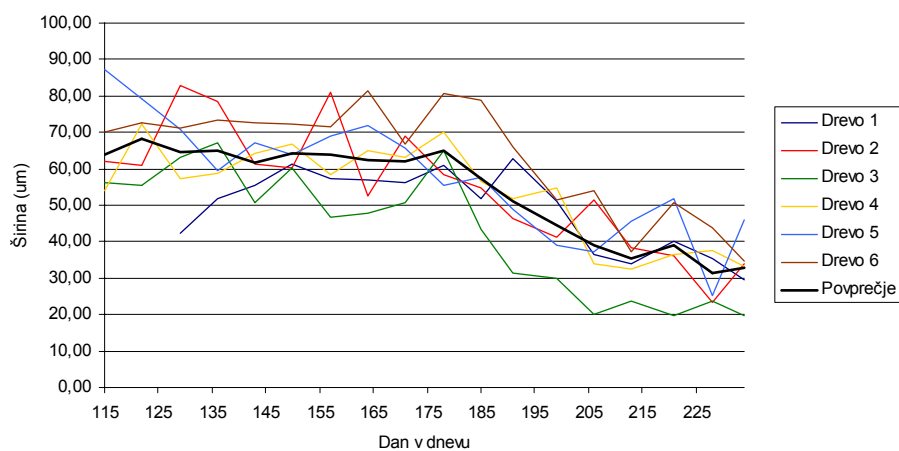
Rezultati meritev števila celic in širine kambijeve cone so prikazani na slikah (Slika 10, Slika 11 in Slika 12).



Slika 10: Število celic v kambijevi coni pri šestih bukvah v rastni sezoni 2006.



Slika 11: Povprečno število plasti celic v kambijevi coni pri šestih bukvah v rastni sezoni 2006 in $\pm 95\%$ interval zaupanja.



Slika 12: Širina kambijeve cone pri šestih bukvah v rastni sezoni 2006.

Ob prvem odvzemu 24. aprila 2006 (dan 115) je bila kambijeva cona že delitveno aktivna. Kambijeva cona je v povprečju vsebovala 11 slojev celic in je bila široka 64 μm .

Maksimalno število celic je kambijeva cona imela v obdobju od sredine aprila do prve polovice maja, nato pa je število pričelo rahlo upadati ter je 20. junija 2006 (dan 171) vsebovala okoli 10 slojev celic. Od konca junija se je število celic pričelo manjšati (Slika 10). Iz slike (Slika 10) je razvidno, da od povprečne vrednosti, ki jo prikazuje črna krivulja, najbolj odstopa drevo 6, pri katerem je bilo število celic v kambijevi coni največje. Pri tem drevesu se je število slojev celic v kambijevi coni začelo manjšati šele 4. julija 2006 (dan 185), kar je dva tedna kasneje kot pri ostalih drevesih.

Proti koncu rastne sezone se je število celic v kambijevi coni pri vseh drevesih zmanjšalo na 5-6 slojev celic. Že v prvem tednu avgusta (dan 213) je bila kambijeva cona v povprečju široka okoli 6 slojev celic, do 22. avgusta (dan 234) pa se je število zmanjšalo na 5 slojev (Slika 11). Kambijeva cona je bila na vzorcih iz obdobja mirovanja v povprečju široka 5 slojev celic.

Ker smo se želeli prepričati, ali se je aktivnost v kambijevi coni resnično zaključila že 22. avgusta, smo pri drevesih 1 in 3 z najširšima ksilemskima branikama opravili še meritve na preparatih vzorcev odvzetih med 29. avgustom in 26. septembrom (dan 241 do 269). Število celic v kambijevi coni je v tem obdobju variiralo med 4 in 6 slojev (Slika 13), kar predstavlja pričakovano variabilnost znotraj drevesa in med drevesi (Gričar, 2006). Predpostavili smo, da se je kambijeva aktivnost zaključila, ko se je v nazadnje nastalih celicah že pričel odlagati lignin in so bile nazadnje nastale celice na ksilemski strani že obarvane rdeče, v postkambijski rasti pa ni bilo več nobene celice.

Delitev v kambijevi coni nismo opazili pri nobenem vzorcu odvzetem 22. avgusta (dan 234) ali kasneje. Na dan 22. avgusta, nazadnje nastale celice v braniki še niso bile popolnoma oblikovane, vendar pa nismo zasledili celic v postkambijski rasti.



Slika 13: Število celic v kambijevi coni po 22. avgustu (dan 234) pri drevesih 1 in 3.

Opazovanja preparatov s svetlobnim mikroskopom so pokazala, da smo pri vzorčenju v letu 2006 zamudili reaktivacijo kambijeve cone, zato smo pri drevesu št. 4 eksperiment ponovno zastavili spomladi, v marcu in aprilu 2007. Pred reaktivacijo je širina dormantne kambijeve cone znašala v povprečju $36,7 \mu\text{m}$. Kambijeva cona je imela 4 - 5 slojev celic z nekoliko debelejšo steno (Slika 9A). Delitve so se začele v tednu od 4. do 11. aprila 2007 (dan 94 do 101), kar je bilo razvidno iz tanjšanja sten celic kambijeve cone in postopnega naraščanja števila plasti celic. V dneh od 11. do 14. aprila (dan 101 do 104) pa se je število celic povečalo na okoli 12 plasti. V tem obdobju smo opazili tudi prve diferencirajoče se celice ksilema (Slika 9B, C).

Širina kambijeve cone je bila na dan 24. april 2006 in 2007 primerljiva ($52,32 \mu\text{m}$ - 2007, $54,13 \mu\text{m}$ – 2006). To nam je bilo v pomoč pri oceni časa aktivacije kambijeve cone v letu 2006.

Glede na dobljene rezultate iz vegetacijske dobe 2006 ter dela rastne sezone 2007, smo sklepali, da je kambijeva cona mirovala v obdobju med 22. avgustom 2006 in 18. aprilom 2007. Pojav reaktivacije kambijeve cone v letu 2006 smo na podlagi podatkov iz leta 2007 ocenili na obdobje med 18. in 24. aprilom. Zaključek celičnih delitev pa se je med drevesi nekoliko razlikoval. Najprej se je aktivnost kambijeve cone zaključila pri drevesu 4, med 25. julijem in 1. avgustom (med 206. in 213. dnem) nazadnje pa pri drevesu št. 6, med 9. in 16. avgustom 2006 (med 221. in 228. dnem).

4.2 ANATOMSKI VIDIKI NASTANKA KSILEMSKE BRANIKE

Pri vseh 6 drevesih smo poleg širine kambijeve cone spremljali tudi naraščanje širine nastajajoče ksilemske branike skozi celotno vegetacijsko dobo 2006. Pri izbranih drevesih smo definirali tudi faze nastanka ksilemske branike, pri čemer smo bili pozorni na posamezne faze diferenciacije trahej, vlaken, aksialnega parenhima in trakov.

Ob nastanku prvih celic ksilema je bilo sprva težko ločiti kambijevo cono od nastajajočega ksilema in floema. Zaradi hitre površinske rasti trahej, pa je bilo že kmalu po reaktivaciji kambijeve cone razlikovanje tkiv lažje. Za morfološko razlikovanje tkiva v različnih fazah diferenciacije smo si pomagali z obarvanjem preparatov z barvili astra modro in safranin, z opazovanjem pod polarizirano svetlobo in z opazovanjem dimenzij in oblik anatomskih elementov.

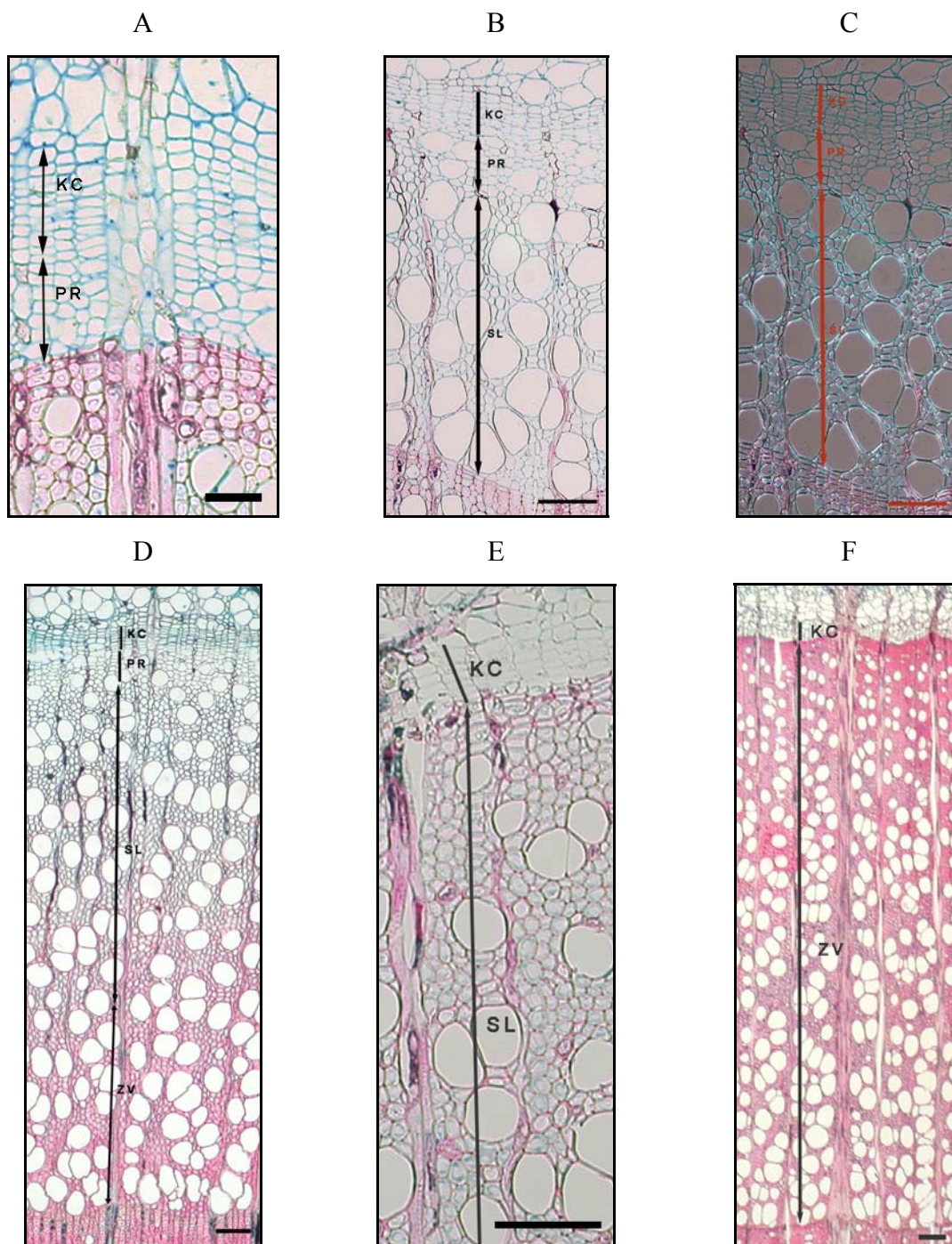
Trahejni členi, vlakna in aksialni parenhim so derivati vretenastih inicialk. Ob nastanku imajo vsi trije tipi celic obliko in dimenzije vretenastih inicialk (Slika 14A), razlike med njimi pa nastanejo v fazi diferenciacije.

Celice sprva obdajajo primarne stene iz celuloze in hemiceluloz, ki se obarvajo z barvilom astra modro. Ko je površinska rast zaključena, se na primarno steno v centripetalni smeri odloži večslojna in toga sekundarna celična stena. Odlaganju celuloze in hemiceluloz sledi lignifikacija (Panshin in De Zeeuw, 1980, Mellerowicz, 2001, Plomion, 2001, Gričar 2006). Na trajnih preparatih se dokončno oblikovana celična stena obarva rdeče, kar je posledica reakcije med barvilom safranin in polifenolnimi komponentami lignina v celični steni.

Prisotnost celuloze lahko opazujemo tudi s pomočjo polarizirane svetlobe svetlobnega mikroskopa, ki omogoča prepoznavanje urejenih oziroma kristalnih struktur. Ker so celulozne fibrile v sekundarni celični steni urejene in vzporedno usmerjene, se usmerjena svetloba iz polarizatorja odbije pod določenim kotom, kar zaznamo kot svetlo polje. Zato lahko sledimo njihovo sintezo v sekundarnih celičnih stenah razvijajočih se celic. V

primarni steni, v fazi površinske rasti, so mikrofibrile neurejene oziroma prepletene in naključno usmerjene, zato se svetloba, ki nanje pade, razprši, kar vidimo temno.

Faze nastajanja ksilemske branike pri bukvi so prikazane na sliki (Slika 14). Slika 14A prikazuje stanje 24. aprila 2006, ko je bila širina ksilemske branike približno 80µm in je vsebovala prva diferencirajoča se vlakna in traheje v fazi površinske rasti, ki so se obarvala modro. Na slikah (Slika 14B in Slika 14C) je tekoča branika, kjer se je začela odlagati sekundarna celična stena, kar smo določili po rdečem obarvanju zunanjih delov celične stene in po njeni debelitvi (Slika 14B) ter s polarizirano svetlobo (Slika 14C). Slika 14D je zajeta na dan 191 (10. julij 2006), ko je nastal že velik del branike, ki vsebuje popolnoma zrele elemente, elemente v fazi nastajanja celične stene in elemente v fazi površinske rasti. Takrat se je število slojev celic v kambijevi coni že začelo zmanjševati. Slika 14E prikazuje situacijo na dan 228 (16. avgusta 2006), ko so se delitve v kambijevi coni že zaključile, sinteza sekundarne celične stene v kasnem lesu pa še ni bila končana, kar smo določili po modrem obarvanju notranjih plasti celičnih sten vlaken. Slika 14F kaže celotno popolnoma izgrajeno braniko 2006. Sass (1993) je kasni les definirala kot del branike, v katerem je 25% trahej.



Slika 14: Faze nastajanja ksilemske branike pri bukvi (*Fagus sylvatica* L.). A – Kambijeva cona (KC) in nastajajoča branika v lesu s celicami v postkambijski rasti (PR) na dan 115 (24. aprila 2006). B in C – Široka KC in nastajajoča branika v fazi PR in odlaganja sekundarne stene (SL) posnete v svetlem polju, kjer so celice SL rdeče obarvane (B), in v polarizirani svetlobi, kjer se celice SL svetijo (C). D – KC z zmanjšanim številom celic in branika s popolnoma zreliimi vlakni (ZV) ter celicami v fazi SL in PR. Zreli elementi imajo prazne lumne in popolnoma rdeče obarvane celične stene. E – Mirujoča KC in popolnoma izoblikovana branika na dan 16. avgusta 2006 z modro obarvanimi notranjimi plastmi celičnih sten najmlajših vlaken. F – Popolnoma oblikovana branika 2006. Daljica = 100 μ m

Ker je ksilemska branika pri bukvi sestavljena iz različnih tipov celic z različnim razvojem tako v prostorskem kot v časovnem smislu, je potrebno ločeno opazovati njihov nastanek.

4.2.1 Nastanek vlaken in aksialnega parenhima

Nastanek in površinska rast prvih vlaken sta se pričela že pred 24. aprilom 2006, torej pred prvim vzorčenjem. Morfološko so vlakna na začetku površinske rasti zelo podobna vretenastim inicialkam in so pravilne pravokotne oblike. Proti koncu površinske rasti imajo vlakna vse bolj nepravilno, večkotno (poligonalno) obliko (Slika 14B) in zaradi površinske rasti trahej ter apikalne intruzivne rasti vlaken niso več urejena v radialnih nizih.

S pomočjo svetlobnega mikroskopa in polarizirane svetlobe smo v vlaknih opazovali potek sinteze sekundarne celične stene. Zaradi urejene strukture celuloznih fibril v sekundarni steni smo pod polarizirano svetlobo zaznali svetlečo se sekundarno steno, takoj ko je začela nastajati (Slika 14C). Sinteza sekundarne celične stene se je pri prvih vlaknih pričela že med tednom od 24. aprila do 3. maja 2006, vendar v tem obdobju nastajajoča branika še ni vsebovala vlaken s popolnoma oblikovano celično steno. Prva dokončno diferencirana vlakna, ki so imela rdeče obarvano celično steno in prazne lumne, smo zasledili v tednu med 13. in 20. junijem oz. 5 tednov po njihovem nastanku.

Šele takrat, ko so bila vlakna popolnoma oblikovana, jih je bilo v prečnem prerezu mogoče jasno ločiti od aksialnega parenhima, ki je pri bukvi apotrahealen difuzen in difuzen v agregatih. Zaradi morfološke podobnosti aksialnega parenhima in vlaken, obeh celičnih tipov na prečnem prerezu ni bilo mogoče ločiti v fazi površinske rasti in v začetni fazi odlaganja sekundarne celične stene.

Nastanek prvih vlaken kasnega lesa je bilo mogoče zaslediti med 20. in 27 junijem, ko je bilo izoblikovane že okoli 70% celotne ksilemske branike (Slika 14D). V tem obdobju je bila ksilemska branika že pri večini dreves v celoti izoblikovana. Nove celice lesa niso več nastajale, najmlajša vlakna v kasnem lesu pa se še niso dokončno diferencirala. Od tega tedna naprej je število celic v zaključnih fazah diferenciacije upadalo. Na dan 16. avgusta 2006 so bili obodi celičnih sten vlaken v kasnem lesu še vedno modro obarvani (Slika 14E), kar je nakazovalo, da so bila vlakna še vedno v zaključnih fazah procesa

diferenciacije. Teden dni kasneje, 22. avgusta 2006 pa se je sinteza sekundarne celične stene in lignifikacija že pri večini dreves zaključila, o čemer so pričala popolnoma rdeče obarvana vlakna (Slika 14F).

4.2.2 Nastanek trahej

Bukev je difuzno porozna vrsta, kjer so traheje oz. pore približno enakih velikosti dokaj enakomerno razporejene po braniki. Vendarle pa imajo traheje kasnega lesa nekoliko manjši premer in njihova numerična gostota (število trahej na enoto površine) je nekoliko manjša kot v ranem lesu.

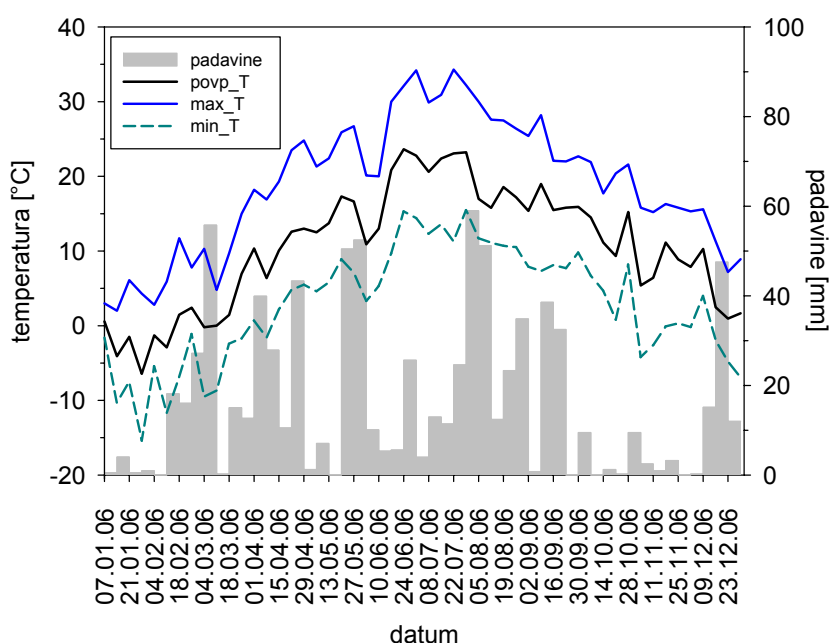
Primarna stena trahejnega člana nima običajnega celuloznega skeleta kot vlakna, ampak je delež hemiceluloz povečan, kar omogočajo trahejnemu členu, da se v fazi postkambijske rasti močno razširi v radialni in tangencialni smeri (Catesson 1989, cit. po Sass in Eckstein, 1995). Vodilna sila pri povečanju premera traheje je turgor (Ray in sod., 1972, cit. po Sass in Eckstein, 1995). Pod vplivom avksina se primarna stena zmehča (Dörffing 1986, cit. po Sass in Eckstein, 1995). Turgor se nato postopno zmanjša in posledično v trahejo vstopi več vode, ki povzroči, da se traheja močno razširi. Površinska rast traheje je zaključena takoj, ko se prične odlagati sekundarna celična stena (Akini in Zimmermann 1983; Aloni 1987, cit. po Sass in Eckstein, 1995). Mellerowicz in sod. (2001) in Marion in sod. (2007), so ugotovili, da se v celičnih stenah trahej, ter tkivu, ki le-to obdaja sinteza celuloznega skeleta ter lignifikacija pričneta prej kot v ostalih celicah.

Na sliki (Slika 14A) so imele traheje v fazi površinske rasti nekoliko manjše premere kot običajne traheje ranega lesa, saj se še niso v celoti razširile. Ker je celična stena trahej zelo tanka, je na trajnih mikroskopskih preparatih zelo težko opazovati razvojne faze celične stene. Pri nastanku branike smo razlikovali nastanek trahej ranega in kasnega lesa. Traheje kasnega lesa so pričele nastajati v tednu od 27. junija do 4. julija 2006 in so imele izrazito manjše premere kot traheje ranega lesa.

4.3 KLIMATSKE RAZMERE V LETU 2006

Klimatski podatki za Ljubljano, reprezentativni za Panško reko, so prikazani na sliki (Slika 15), ki prikazuje povprečne, maksimalne in minimalne dnevne temperature zraka in količine padavin, zabeležene med 7. januarjem in 23. decembrom 2006. Od začetka leta do 1. aprila minimalne temperature niso bile nikoli nad 0 °C, maksimalne pa so bile le redko nad 10 °C, nato pa so počasi naraščale. Na začetku vegetacijske dobe ob koncu aprila je bila povprečna temperatura okoli 10 °C (maksimalna pribl. 20 °C, minimalna pa ok. 5 °C). Skupna količina padavin je v prvi polovici aprila znašala okoli 40 mm tedensko. Največjo ohladitev je mogoče opaziti med 27. majem in 10. junijem, ko se je povprečna temperatura zmanjšala za skoraj 5 °C. V obdobju od 24. junija do 22. julija, so bile največje dnevne temperature zraka nad 30 °C, nočne le okoli 15 °C.

Najnižja količina padavin je bila v januarju, juniju ter med septembrom in decembrom, od 0 do 10 mm. V marcu, maju in avgustu pa je maksimalna tedenska količina padavin znašala okoli 60 mm. Povprečna temperatura je 22. julija 2006 pričela postopno padati. Na koncu vegetacijske dobe je bila povprečna temperatura med 10 in 15 °C, konec decembra pa še vedno nad 0 °C. Zima 2006/2007 je veljala za eno najtoplejših od kar v Ljubljani beležijo klimatske podatke.



Slika 15: Povprečne, maksimalne in minimalne dnevne temperature ter količina padavin v Ljubljani v rastni sezoni 2006.

4.4 OPIS NASTANKA KSILEMSKIH BRANIK 2006 PRI BUKVI Z GOMPERTZOVO FUNKCIJO

Pri vseh šestih bukvah iz Panške reke smo izračunali krivuljo razvoja ksilemske branike 2006 z uporabo Gompertzove funkcije. Preračunavanje izmerjenih tedenskih prirastkov in uporaba različnih funkcij, ki se prilegajo biološkimi trendom sezone rasti drevesa, skušajo odpraviti variabilnost v širini znotraj iste branike ter s tem ustrezno oceniti ksilemski razvoj posameznega drevesa oziroma izbranega rastišča med rastno sezono (Rossi in sod., 2003, 2006b, 2007; Deslauriers, 2003; Deslauriers in sod., 2003a, b; Deslauriers in Morin, 2005, vse cit. po Gričar, 2006). Pri vseh drevesih ksilemski prirastek skozi rastno sezono sledi krivulji oblike črke S, ki je reprezentativna za določeno drevesno populacijo. Četudi na debelinsko rast dreves vplivajo klimatski dejavniki, se oblika krivulje ne spreminja. Rast v obliki črke S kaže na dve različni razvojni fazi: pozitivno eksponentno fazo, ki ji sledi upadajoča rast. Številne sigmoidne krivulje opisujejo te procese, vendar pa se je Gompertzova funkcija izkazala za najustreznejšo zaradi asimetrične oblike (Zeide, 1993; 2004, Deslauriers in sod., 2003a, b; Rossi in sod., 2003, vse cit. po Gričar, 2006).

Iz parametrov Gompertzove funkcije A (zgornja asimptota, ki ponazarja maksimalno širino branike), B (mesto na osi x , ki oceni začetek kambijeve aktivnosti) in k (mesto prevoja krivulje), smo izračunali še parametre: t (mesto prevoja na horizontalni osi in predstavlja obdobje maksimalne celične produkcije), d (čas, ki je potreben za nastanek glavnine ksilemske branike) in r (povprečna tedenska stopnja debelinske rasti izražena v μm na dan).

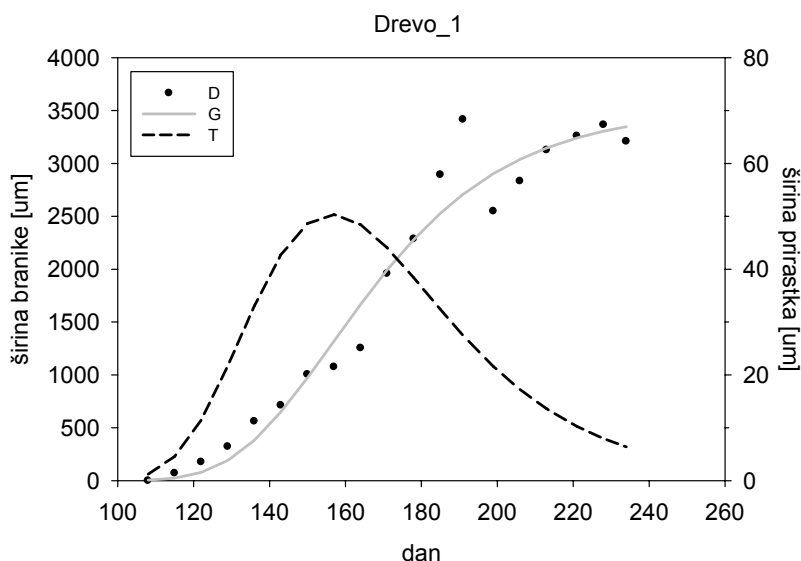
4.4.1 Dinamika nastanka ksilemske branike pri drevesu 1

Z Gompertzovo funkcijo smo izračunali krivuljo nastanka ksilemske branike 2006 za drevo 1:

$$y = 3515,316 \exp(-\exp(6,089 - 0,0389t)) \quad (1)$$

Začetek celične delitvene aktivnosti kambijeve cone smo pri drevesu 1 ocenili med 18. in 25. aprilom 2006. Končna širina branike 2006 je bila pri drevesu 1 ocenjena na 3515,3 μm (enačba 11, slika 11), dejanska pa je znašala nekoliko manj; 3207,9 μm . Večji odklon dejanskih podatkov od Gompertzove funkcije lahko zasledimo na 191. dan v letu (10. julij 2006). Prileganje dejanskih izmerjenih vrednosti Gompertzovi funkciji je bilo visoko in je znašalo 96,2 %. Omeniti je potrebno, da je visoka zveza med dejanskimi vrednostmi in vrednostmi izračunanimi z Gompertzovo funkcijo, pri vseh šestih drevesih posledica avtokorelcije. Vrednost dejanskih širin ksilemskih branik se je od izračunane krivulje razlikovala zlasti na koncu rastne sezone, ko je dinamika celične produkcije v kambijeви coni upadla. Iz parametrov B in k smo izračunali obdobje maksimalne celične produkcije, ki je za to drevo nastopilo okoli 156. dneva v letu, tj. med 30. majem in 6. junijem 2006. S prvim odvodom Gompertzove funkcije (enačba 1) smo izračunali tedenske prirastke ksilemskih celic. Stopnja debelinske rasti je bila v obdobju med 30. majem in 6. junijem 2006 največja, ko je v povprečju nastalo preko 40 μm ksilemske branike na dan. V obdobju maksimalne rasti (okoli 156. dneva) pa je nastalo tudi preko 50 μm na dan. O veliki dinamiki rasti priča tudi parameter k z vrednostjo 0,0389.

Z mikroskopsko analizo preparatov smo ugotovili, da se je pri drevesu 1 delitvena aktivnost kambijeve cone zaključila med 1. in 9. avgustom 2006. Čas potreben za nastanek celotne ksilemske branike je znašal 103 dni. Parameter d Gompertzove funkcije pa je ocenil konec celičnih delitev teden dni prej, med 18. in 25. julijem.



Slika 16: Krivulja (siva črta) dinamike nastajanja ksilemske branike pri drevesu 1, v rastni sezoni 2006. Črne pike označujejo dejanske povprečne vrednosti, črna črtkana črta pa izračunan tedenski prirastek. G – Gompertzova funkcija, T – tedenski prirastek, D – dejanski prirastki

4.4.2 Dinamika nastajanja ksilemske branike pri drevesu 2

Za drevo 2 smo Gompertzovo funkcijo zapisali sledeče:

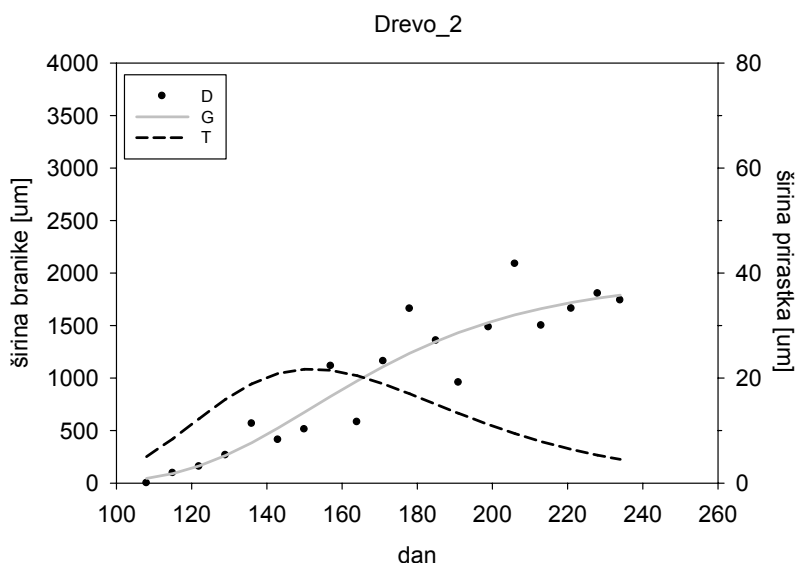
$$y = 1943,624 \exp(-\exp(4,613 - 0,0304t)) \quad (2)$$

Aktivnost kambijeve cone se je pričela v tednu med 18. in 25. aprilom 2006. Izmerjena končna širina branike 2006 je pri drevesu 2 bila 1741,3 μm , parameter A Gompertzove funkcije pa je znašal približno 200 μm več (1943,6 μm). Dejanske vrednosti izmerjenih podatkov se pri tem drevesu, le s 87,5 % prilagajajo Gompertzovi funkciji, vzrok je velika variabilnosti v širini ksilemske branike po obodu.

Vrednost koeficienta k je bila nizka (0,0303), kar se kaže v zelo položni krivulji oz. majhnem naklonu. Najintenzivnejša debelinska rast je bila ocenjena na 129. dan v letu (med 2. in 9. majem 2006), ko je v enem tednu nastalo okoli 15 μm ksilemske branike na dan. Z izračunom koeficienta B/k , smo določili dan, ko je bila celična produkcija v kambijeви coni maksimalna. To je bil 151. dan v letu (med 30. majem in 6. julijem 2006),

ko je nastalo več kot 20 μm ksilemske branike na dan. Tedenska stopnja ksilemskega prirastka r je tekom rastne sezone 2006 v povprečju znašala 14,75 $\mu\text{m}/\text{dan}$.

Celična delitvena aktivnost se je zaključila med 1. in 9. avgustom 2006. Izračunan čas, potreben za nastanek ksilemske branike d je znašal 131,729 dni oz. 4,4 mesece, kar odstopa od dejanskih podatkov in določi konec 2 tedna prej.



Slika 17: Krivulja (siva črta) dinamike nastajanja ksilemske branike pri drevesu 2, v rastni sezoni 2006. Črne pike označujejo dejanske povprečne vrednosti, črna črtkana črta pa izračunan tedenski prirastek. G – Gompertzova funkcija, T – tedenski prirastek, D – dejanski prirastki

4.4.3 Dinamika nastajanja ksilemske branike pri drevesu 3

Potek krivulje (siva črta) na sliki 3, lahko opišemo z Gompertzovo funkcijo:

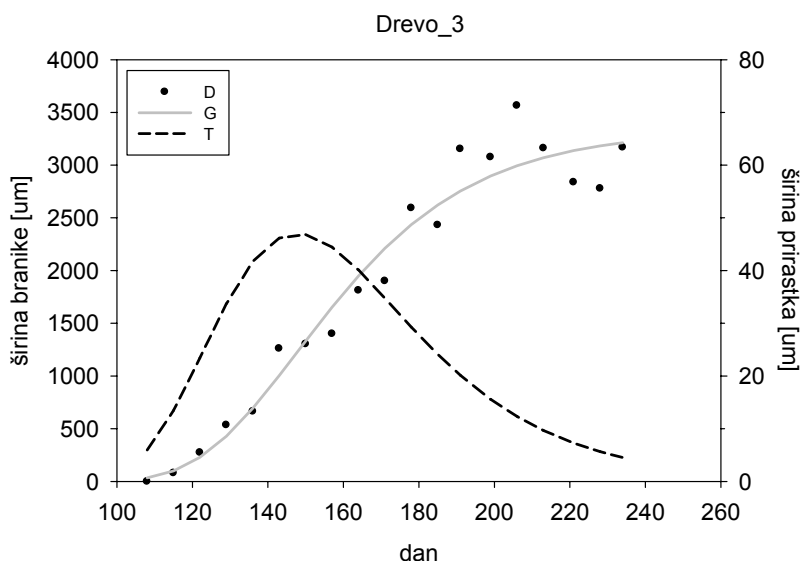
$$y = 3332,996 \exp(-\exp(5,662 - 0,0383t)) \quad (3)$$

S pomočjo mikroskopa in trajnih preparatov smo ocenili, da so se celične delitvene v kambijevi coni pri drevesu 3 začele med 18. in 25. aprilom 2006. Končna širina ksilemske branike A je bila pri tem drevesu ocenjena na 3332,9 μm , dejanska širina pa je znašala 3168,7 μm . Iz slike 3 je razvidno, da se črne pike, ki ponazarjajo dejanske izmerjene

vrednosti ksilemskih prirastkov s 95,6 %, dobro prilagajajo Gompertzovi funkciji (enačba 3). Večji odkloni dejanskih širin ksilemske branike se kažejo predvsem ob koncu vegetacije, ko se je aktivnost kambijeve cone upočasnila in je bila variabilnost celic po obodu debla drevesa zelo izrazita. Najbolj odstopa vrednost na dan 25. julij 2006, ki se od ocenjene vrednosti razlikuje kar za 572 μm .

Krivulja Gompertzove funkcije ima velik naklon, kar dokazuje tudi visoka vrednost koeficienta k , ki znaša 0,0383. Veliko dinamiko rasti potrjuje tudi visoka stopnja debelinske rasti, ki je bila med 2. in 9. majem 2006 največja. V tem obdobju je nastalo okoli 30 μm ksilemske branike na dan. Model je za drevo 3 predvidel največjo dinamiko celičnih delitev na 148. dan (med 23. in 30. majem), takrat je dnevno nastalo do 48 μm branike. V povprečju pa je skozi celotno sezono 2006 branika priraščala s hitrostjo r 31,92 $\mu\text{m}/\text{dan}$.

Izračunan čas nastanka ksilemske branike, ki je znašal 104 dni oz. 3,5 mesece se pri drevesu 3 ni ujemal z dejanskim zaključkom kambijeve aktivnosti, ki je datiran med 9. in 16. avgust 2006. Izračunan zaključek kambijeve aktivnosti je bil ocenjen 16 dni prej, in sicer 205. dan v letu oz. med 18. in 25. julijem.



Slika 18: Krivulja (siva črta) dinamike nastajanja ksilemske branike pri drevesu 3, v rastni sezoni 2006. Črne pike označujejo dejanske povprečne vrednosti, črna črtkana črta pa izračunan tedenski prirastek. G – Gompertzova funkcija, T – tedenski prirastek, D – dejanski prirastki

4.4.4 Dinamika nastajanja ksilemske branike pri drevesu 4

Za drevo 4 je bila Gompertzova funkcija sledeča:

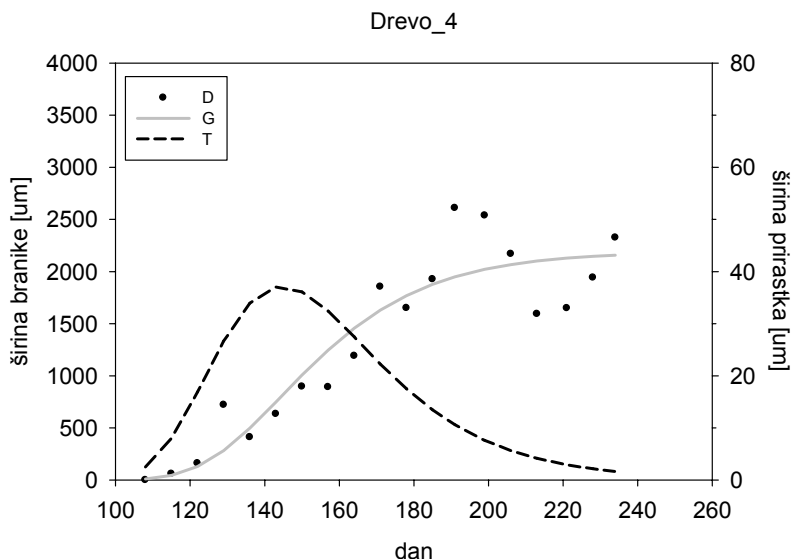
$$y = 2193,285 \exp(-\exp(6,651 - 0,046t)) \quad (4)$$

Aktivnost kambijeve cone se je pri drevesu 4 pričela med 18. in 25. aprilom 2006. Ocenjena končna širina ksilemske branike je bila 2193,2 µm, dejanska pa je bila za 132,6 µm večja (2325,4 µm). Iz slike (Slika 19) je mogoče razbrati velika odstopanja od Gompertzove funkcije predvsem v drugi polovici sezone 2006, ko se delitve v kambijeви coni upočasnijo. Prilagajanje dejanskih vrednosti krivulji je z 86,4% nekoliko slabše. Najbolj je od ocenjene vrednosti Gompertzove funkcije odstopala meritev na dan 26. julij 2006, kar za 660 µm.

Parameter k z visoko vrednostjo 0,046 nakazuje na veliko dinamiko celičnih delitev in potrjuje velik naklon krivulje Gompertzove funkcije. Dan maksimalne celične produkcije smo izračunali s pomočjo parametrov B in k in je bil 145. dan v letu, tj. med 23. in 30. majem 2006, ko je bilo obdobje maksimalne celične produkcije največje in je v enem

dnevu nastalo do 37 μm ksilemske branike. Najintenzivnejša debelinska rast, ki smo jo izračunali s prvim odvodom enačbe 4, je nastopila nekoliko prej, med 9. in 16. majem 2006 (med 129. in 126. dnem v letu). V tem obdobju je nastalo okoli 20 μm ksilemske branike na dan. Povprečna hitrost nastajanja ksilemske branike tekom rastne sezone 2006 *r* pa je znašala 25,22 $\mu\text{m}/\text{dan}$.

Dejanski konec celične produkcije smo zasledili v tednu med 25. julijem in 1. avgustom 2006. Izračunan čas *d*, potreben za nastanek branike, je znašal 90 dni, in je določil konec celičnih delitev v kambijevi coni za 188. dan v letu, kar predstavlja teden med 4. in 10. julijem 2006.



Slika 19: Krivulja (siva črta) dinamike nastajanja ksilemske branike pri drevesu 4 v rastni sezoni 2006. Črne pike označujejo dejanske povprečne vrednosti, črna črtkana črta pa izračunan tedenski prirastek. G – Gompertzova funkcija, T – tedenski prirastek, D – dejanski prirastki

4.4.5 Dinamika nastajanja ksilemske branike pri drevesu 5

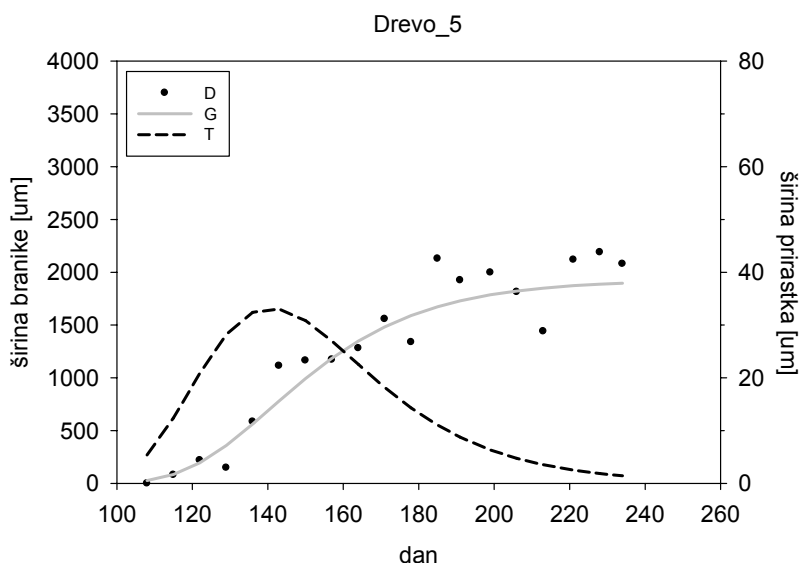
Za drevo 5 so bile vrednosti Gompertzove funkcije naslednje:

$$y = 2193,285 \exp(-\exp(6,651 - 0,046t)) \quad (5)$$

Začetek celične delitvene aktivnosti kambijeve cone smo pri drevesu 5 ocenili med 18. in 25. aprilom 2006. Končna širina ksilemske branike je bila ocenjena na 2035,2 µm, dejanska (2079,7 µm) pa je bila le za 42 µm manjša. Črne pike prikazane na sliki 5, ki prikazujejo dejanske izmerjene ksilemske prirastke, se s 93 % prilagajajo Gompertzovi funkciji (siva črta). Največja odstopanja je mogoče zaslediti na koncu rastne sezone 2006, ko je bila variabilnost v širini po obodu najbolj izrazita. Za več kot 400 µm sta od krivulje Gompertzove funkcije odstopali vrednosti na 185. in 213. dan (4.7. in 1.8.2006).

Naklon krivulje Gompertzove funkcije je pri drevesu 5 velik, kar potrjuje tudi parameter k z vrednostjo 0,044. Stopnja debelinske rasti je bila v obdobju med 25. aprilom in 2. majem 2006 največja, ko je dnevno v povprečju nastalo 20 µm ksilemske branike. Dan maksimalne celične produkcije smo izračunali s pomočjo parametrov B in k in je bil določen na 141. dan v letu (med 16. in 23. majem 2006). Širina ksilemske branike se je v tem obdobju dnevno povečala kar za 33 µm. Povprečna hitrost priraščanja r skozi celotno rastno sezono pa je znašala 22,5 µm/dan.

Delitvena aktivnost kambijeve cone se je zaključila med 1. in 9. avgustom 2006. Po izračunih s pomočjo parametra d Gompertzove funkcije pa naj bi se delitve v kambijevi coni prenehale na 191. v letu dan oz. med 10. in 18. julijem 2006.



Slika 20: Krivulja (siva črta) dinamike nastajanja ksilemske branike pri drevesu 5 v rastni sezoni 2006. Črne pike označujejo dejanske povprečne vrednosti, črna črtkana črta pa izračunan tedenski prirastek. G – Gompertzova funkcija, T – tedenski prirastek, D – dejanski prirastki

4.4.6 Dinamika nastajanja ksilemske branike pri drevesu 6

Tudi pri drevesu 6 smo dinamiko nastajanja ksilemske branike 2006 prikazali s pomočjo Gompertzove funkcije:

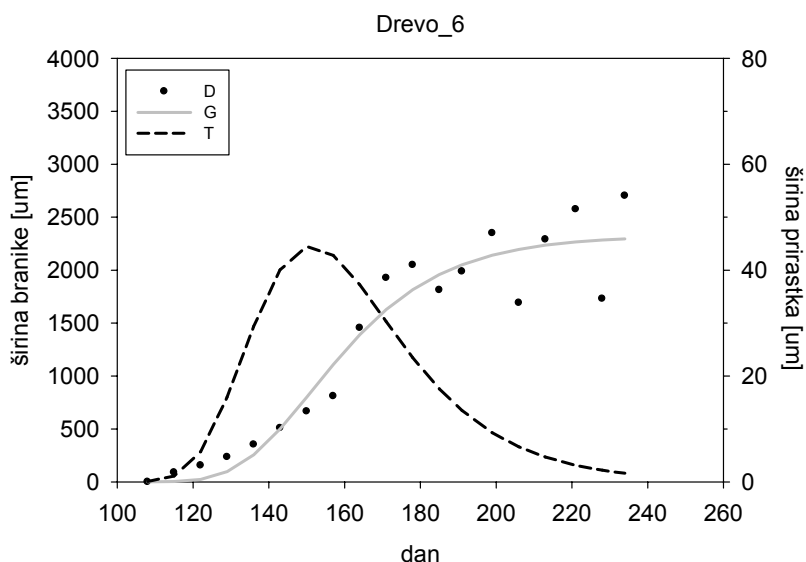
$$y = 2327,048 \exp(-\exp(7,874 - 0,0521t)) \quad (6)$$

Začetek celične delitvene aktivnosti kambijeve cone smo pri drevesu 6 ocenili med 18. in 24. aprilom. Dejanska končna širina je pri tem drevesu znašala 2702,2 µm, parameter A pa je bil manjši kar za 275 µm (2327,0 µm). Kljub temu pa se dejanski podatki Gompertzovi funkciji prilagajajo z 93%. Največja odstopanja od izračunanih vrednosti so bila ravno na koncu sezone 2006 (Slika 21), kjer za več kot 500 µm odstopata meritvi z dne 206 in 228 (25. 7. in 16.8.2006).

Parameter k Gompertzove funkcije je bil pri tem drevesu zelo velik in potrjuje velik naklonski kot krivulje. Med 16. in 23. majem 2006 je bila debelinska rast najintenzivnejša, ko je v enem dnevu nastalo okoli 20 µm ksilemske branike. V obdobju maksimalne rasti,

ki ga izračunamo kot koeficient parametrov B in k , je na 151. dan v letu (med 23. in 30. majem 2006) dnevno nastalo več kot 44 μm branike. Povprečna hitrost nastanka ksilemske branike skozi celotno vegetacijsko dobo je znašala 30,28 μm na dan.

S pomočjo mikroskopa in preparatov smo določili, da je konec kambijeve aktivnosti med 9. in 18. avgustom 2006. Čas potreben za nastanek ksilemske branike d znaša le 77 dni oz. 2,5 meseca. Kambijeva aktivnost, bi se skladno s tem morala končati že 178. dan v letu oz. med 27. junijem in 4. julijem 2006, kar je skoraj 8 tednov pred dejanskim zaključkom.



Slika 21: Krivulja (siva črta) dinamike nastajanja ksilemske branike pri drevesu 6 v rastni sezoni 2006. Črne pike označujejo dejanske povprečne vrednosti, črna črtkana črta pa izračunan tedenski prirastek. G – Gompertzova funkcija, T – tedenski prirastek, D – dejanski prirastki

4.4.7 Dinamika nastajanja ksilemske branike pri bukvi na rastišču Panška reka v letu 2006

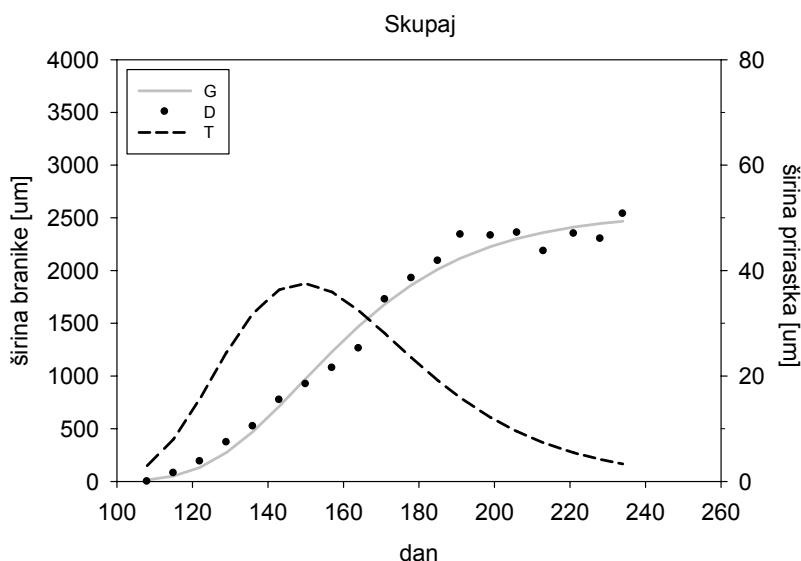
Gompertzova funkcija, ki opisuje rast povprečnega drevesa z rastišča Panška reka je sledeča :

$$y = 2552,296 \exp(-\exp(5,964 - 0,04t)) \quad \dots (7)$$

Na rastišču Panška reka smo za vseh šest vzorčnih dreves predvideli začetek delitvene aktivnosti v kambijevi coni med 18. in 24. aprilom 2006. Končna širina ksilemskih branik 2006 je bila ocenjena na 2552,2 μm (enačba 14, Slika 22) in le za 14 μm odstopa od dejanske vrednosti (2537, 6 μm). Iz slike je razvidno, da se črne pike, ki ponazarjajo dejanske izmerjene povprečne širine ksilemskih branik, z 98,7 % prilagajajo krivulji Gomperzove funkcije (zelo dobro prilagajanje je vzrok avtokorelacije). Manjša odstopanja je bilo mogoče opaziti le na koncu vegetacijske dobe, ko je dinamika celičnih delitev upadla, razlika v širini ksilemskih branik pa je po obodu dreves postala izrazitejša.

Naklon krivulje Gomperzove funkcije je velik ($k = 0,04$) in kaže na visoko stopnjo rasti. V obdobju med 2. in 9. majem 2006 je bila debelinska rast najintenzivnejša in je znašala okoli 24 μm na dan. Model je predvidel največjo dinamiko celičnih delitev na 149. dan v letu oz. med 23. in 30. majem 2006, ko je v enem dnevu nastalo okoli 37 μm ksilemske branike. Povprečna hitrost nastajanja ksilemske branike skozi celotno rastno sezono pa je znašala 25,52 μm na dan.

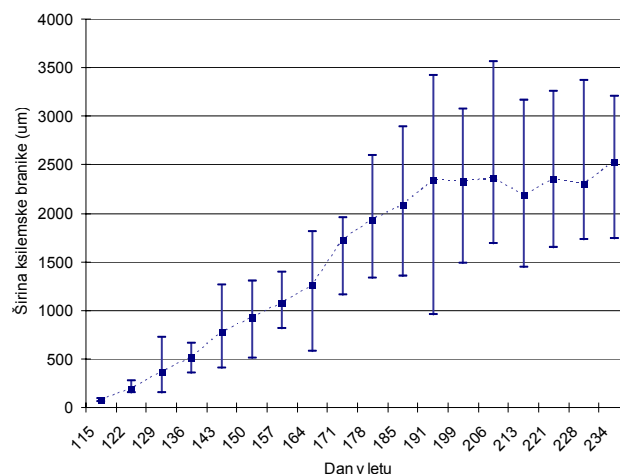
Čas d , ki je potreben za nastanek glavnine ksilemske branike, je znašal 100 dni, iz česar lahko izračunamo, da se je kambijeva aktivnost branike na rastišču Panška reka zaključila 201. dan v letu oz. med 25. julijem in 1. avgustom. Odstopanje od dejanskih vrednosti ni bilo veliko, saj pri vseh drevesih nastopi konec celične delitvene aktivnosti med 27. julijem in 16. avgustom 2006.



Slika 22: Krivulja (siva črta) dinamike nastajanja ksilemske branike za povprečne vrednosti vseh šestih dreves, v rastni sezoni 2006. Črne pike označujejo dejanske povprečne vrednosti, črna črtkana črta pa izračunan tedenski prirastek. G – Gompertzova funkcija, T – tedenski prirastek, D – dejanski prirastki

4.4.8 Primerjava parametrov Gompertzove funkcije posameznih dreves

Dinamika nastanka ksilemske branike 2006 se je med drevesi nekoliko razlikovala (Slika 23). V preglednici (Preglednica 3) so prikazani parametri Gompertzove funkcije za vsako posamezno drevo in za povprečje vseh šestih dreves. Proces ksilogeneze se je pri vseh drevesih začel med 18. in 24. aprilom 2006 (med 108. in 115. dnem v letu). Glede na izračunane vrednosti od povprečja najbolj izstopa drevo 2 z najožjo ksilemsko braniko 2006, ki je kar 1,3-krat manjša od povprečja, sledi ji drevo 5, ki ima 1,2-krat manjšo širino branike.



Slika 23: Povprečna širina ksilemske branike 2006 za 6 bukev (*Fagus sylvatica* L.) na Panški reki v rastni sezoni 2006 $\pm$ 95 % interval zaupanja.

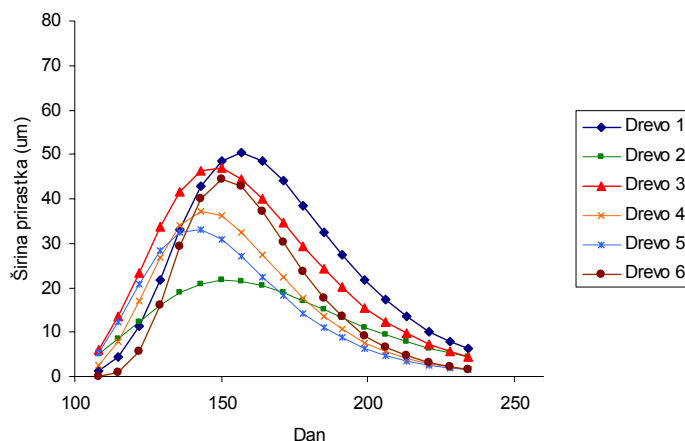
Preglednica 3: Prikaz parametrov Gompertzove funkcije za šest bukev s Panške reke v rastni sezoni 2006. *A* – zgornja asimptota ponazarja maksimalno širino branike, *B* – mesto na osi *x* ponazarja začetek kambijeve aktivnosti, *k* – ocena dinamike rasti, *t* – mesto prevoja na horizontalni osi, predstavlja obdobje maksimalne celične produkcije, *d* – čas, ki je potreben za nastanek ksilemske branike 2006, *r* – povprečna širina branike, nastale med rastno sezono 2006 ($\mu\text{m}/\text{dan}$).

Parametri	Drevo 1	Drevo 2	Drevo 3	Drevo 4	Drevo 5	Drevo 6	SKUPAJ
A	3515,3	1943,6	3332,9	2193,2	2035,2	2327,0	2552,2
B	6,090	4,613	5,662	6,651	6,236	7,874	5,964
k	0,039	0,030	0,038	0,046	0,044	0,052	0,040
t (B/K)	156,466	151,903	147,758	144,587	140,738	151,239	149,100
d	102,772	131,730	104,390	86,957	90,281	76,832	100,000
r	34,205	14,755	31,928	25,223	22,543	30,288	25,523
Ujemanje	0,962	0,875	0,956	0,864	0,923	0,930	0,987

Za vseh 6 dreves smo določili mesto prevoja krivulj, ki se ujema z maksimalno vrednostjo prvega odvoda funkcije y' (enačba 3). Pri maksimalni vrednosti prvega odvoda y' je drugi odvod $y'' = 0$. Izračunali smo tudi tedenske prirastke ksilemskih celic, s čimer smo dobili podatek o stopnji debelinske rasti dreves. Gompertzova funkcija ima prevoj tipa »S«, zato y'' preide iz pozitivnih vrednosti v negativne. Drugi odvod y'' je enak 0 pri $t = B/k$, tj. pri mestu prevoja na horizontalni osi. Pri vseh drevesih je bil *k* med 149. in 156. dnem v letu oz. med 23. majem in 6. junijem 2006. V območju prevoja je bila celična produkcija največja.

Iz parametra k Gompertzove funkcije, ki oceni dinamiko rasti, smo izračunali čas d , ki je bil potreben za nastanek glavnine ksilemske branike 2006 pri posameznih drevesih. Ocenjeno trajanje nastanka ksilemske branike je v povprečju za 2 tedna odstopalo od dejanskih vrednosti, ki smo jih pridobili z merjenjem. Gričar (2007) je ugotovila, da so pri višjih vrednostih parametra k odstopanja od dejanskih podatkov večja, česar v tej raziskavi nismo zasledili. Izmerjene vrednosti pri drevesu št. 2, z najmanjšo vrednostjo koeficienta k ($k = 0,03036$), so se z 87,5 % prilagajale Gomperzovi funkciji, pri drevesu št. 6 z največjo vrednostjo ($k = 0,052$) pa s 93 % (Preglednica 3). Najkrajši čas nastanka ksilemske branike smo izračunali pri drevesu 6, ki je znašal približno 77 dni oz. 2,5 meseca, kljub temu da je bila vrednost končne širine branike relativno visoka. Pri drevesu 2 je rastna sezona trajala najdlje, 132 dni oz. 4,4 mesece. S primerjavami dejanskih podatkov in izračunanih vrednosti smo zaključili, da je d le približna ocena dejanskega trajanja debelinske rasti dreves, saj ne vključuje zadnjih nekaj tednov. Takrat nastajajo predvsem vlakna z majhnimi radialnimi dimenzijami, ki na končno širino ksilemskih branik ne vplivajo bistveno. Meritve ksilemskega prirastka namreč poleg stopnje celične produkcije zajemajo tudi informacijo o radialni ekspanziji ksilemskih elementov.

Primerjava stopnje ksilemskega prirastka v posameznih tednih tekom vegetacijske dobe med različnimi drevesi kaže, da je bila največja dinamika delitev pri drevesu 1, kjer je na višku vegetacijske dobe dnevno nastalo tudi do 50 μm ksilemske branike (Slika 24). Najmanjšo dinamiko celičnih delitev v rastni sezoni 2006 smo zabeležili pri drevesu 2, kjer je na višku sezone nastalo le okoli 20 μm ksilemske branike. Obdobje intenzivnih delitev je bilo pri vseh drevesih približno enako dolgo, le da se je pri nekaterih drevesih pričelo prej (drevo 3), pri nekaterih pa kasneje (npr. drevo 2).



Slika 24: Primerjava stopnje dnevne produkcije lesa v posameznih tednih za vseh šest dreves v letu 2006 na Panški reki.

Iz parametrov A in k smo izračunali koeficient r , ki določa povprečno stopnjo nastajanja ksilemske branike med rastno sezono 2006. Pri drevesu 1 je branika nastajala najhitreje; 34 μm na dan, najpočasneje pa pri drevesu 2, le 14 μm na dan. Pri vseh ostalih drevesih je ksilemska branika nastajala s hitrostjo okoli 27 μm na dan.

Dejanski zaključek celične delitvene aktivnosti v kambijeви coni se je med drevesih nekoliko razlikoval. Pri drevesu 4 so se delitve v kambijeви coni zaključile med 25.7 in 1.8.2006, pri drevesih 1, 2, in 5 med 1. in 9. avgustom ter pri drevesih 3 in 6 med 9. in 16. avgustom.

5 RAZPRAVA IN SKLEPI

5.1 RAZPRAVA

Trajne mikroskopske preparate smo opazovali s svetlobnim mikroskopom v svetlem polju, meritve pa smo opravili s pomočjo programa za analizo slike Lucia-G 4.8. Ob začetku dela smo se morali odločiti, ali bomo merili širine nastajajočih ksilemskih branik ali pa bomo šteli plasti nastalih celic. Pri iglavcih, ki imajo traheide urejene v radialnih nizih, je mogoče uporabiti obe metodi (npr. Gričar 2006), vendar pri štetju plasti celic dobimo podatke o celičnih delitvah oz. o številu nastalih celic, medtem ko merjenje širine nastajajoče branike vključuje podatke o celičnih delitvah v kambijevi coni in postkambijski rasti ksilemskih celic.

Pri bukvi je zaradi površinske rasti trahejnih členov v radialni in tangencialni smeri okoliško tkivo zamaknjeno in ni urejeno v jasnih radialnih nizih kakor pri večini iglavcev. Težave pri merjenju se pojavijo tudi v primerih slabe kvalitete rezin, posebno če je tkivo deformirano, stisnjeno ali raztrgano. Zato smo se odločili, da bomo vedno merili širino nastajajoče ksilemske branike, v kambijevi coni, kjer so celice urejene v radialnih nizih pa smo izmerili širino in prešteli število plasti celic.

Marion in sod. (2007) se je v podobni raziskavi pri difuzno poroznem ostrolistnem javorju (*Acer platanoides*) težavam štetja plasti vlaken v ksilemski braniki izognila tako, da je štetje celic nadaljevala v sosednjem nizu na mestih kjer je bil prekinjen s trahejo. Poleg tega je za poenotenje analize vselej štela sloje celic neposredno ob traku, saj so bili tam radialni nizi nekoliko bolj urejeni.

Kambijeva cona se je v fazi mirovanja (v dormantnem obdobju) morfološko jasno razlikovala od popolnoma diferencirane ksilemske branike pod njo. Kambijevo cono je sestavljalo 3 do 5 slojev celic, ki so imele nekoliko debelejša celična stena kot celice aktivne kambijeve cone. Po raziskavah Marion in sod. (2007) na difuzno poroznih ostrolistnih javorjih (*Acer platanoides*), so prav tako ugotovili, da se je anatomija

dormantnega kambija razlikovala od anatomije diferenciranega floemskega in ksilemskega tkiva. Celice kambijeve cone so imele manjše radialne dimenzije kakor celice v postkambijski rasti ter tanko nelignificirano steno. Kambijeva cona je bila pri ostrolistnem javoru sestavljena iz 8 do 9 celic, kar je bistveno več kot pri naših bukvah.

Začetek nastajanja lesa se je ujemal z začetkom reaktivacije kambijeve cone med 18. in 24. aprilom 2006. Schmitt in sodelavci (2000) so na bukovih drevesih, ki so rasla v bližini Hamburga, ugotovili, da je les na bazi drevesa začel nastajati okoli 10. maja, kar je bistveno pozneje kot pri naših raziskavah. Ugotovili so, da se kambijeva cona pri difuzno poroznih bukvah aktivira najprej v bližini krošnje, nazadnje pa na bazi drevesa. Razlog naj bi bil v bazipetalnem širjenju avksina – glavnega stimulatorja kambijeve cone – iz brstov, kjer se sintetizira, po deblu navzdol. Alberts in sodelavci (1995, cit. po Schmitt in sod., 2000) in Schmitt in sodelavci (2000) so ugotovili, da je razlika v času aktivacije kambijeve cone v zgornjem in spodnjem delu debla skoraj 15 dni. Mi smo opravili raziskave le v prsni višini debla, zato sklepamo, da se je aktivacija kambijeve cone v zgornjih delih debel dreves s Panške reke verjetno pričela že nekje v začetku aprila 2006.

Krivulja nastajajoče ksilemske branike v odvisnosti od časa ima obliko črke S. Tudi Schmitt in sodelavci (2000), so ugotovili, da je dinamiko sezonskega nastanka lesa mogoče prikazati s sigmoidno krivuljo, s počasnim nastajanjem lesa na začetku, hitro rastjo na sredini in upadom hitrosti nastajanja na koncu vegetacijske dobe. Do podobnih ugotovitev so pri difuzno poroznih vrstah prišli tudi drugi raziskovalci (Bosshard, 1974, Ladefoged, 1952, Fritts, 1976, vse cit. po Sass, 1993). Schmitt in sod. (2000) so ugotovili, da je začetna faza počasne rasti trajala do 21. junija, ko je bilo oblikovane le 10% branike. Ladefoged (1952, cit. po Schmitt in sod., 2000) pa po drugi strani navaja, da pri bukvah do konca junija nastane okoli 30 – 40% celotne ksilemske branike. Escherich (1995, cit po Schmitt in sod., 2000) je prehod med počasno in hitrejšo dinamiko celičnih delitev datiral nekoliko prej; ugotovil je, da je bilo obdobje največje aktivnosti kambijeve cone med koncem maja in v sredini junija. Na te razlike v veliki meri vplivajo različne razmere na raziskanih rastiščih, razlike v starosti dreves, saj bukev uspeva v zelo različnih pogojih (npr. Di Filippo in sod. 2007).

Za vseh šest vzorčnih dreves na Panški reki smo s pomočjo Gompertzove funkcije ocenili, da je maksimalna celična produkcija v letu 2006 potekala med 30. majem in 6. junijem, kar se sklada z ugotovitvami Escherich-a (1995, cit. po Schmitt in sod., 2000). V nasprotju z ugotovitvami Schmitta in sodelavcev (2000) je bila v naši raziskavi inicialna faza počasne rasti ksilemske branike precej krajša in je trajala le do 9. maja 2006. V tem obdobju je nastalo 14 % ksilemske branike. To bi lahko pojasnili z različnimi rastiščnimi razmerami v severni Nemčiji in Sloveniji.

Rossi in sodelavci (2006b) so za iglavce (*Abies alba*, *Larix decidua*, *Picea abies*, *Picea mariana*, *Pinus cembra*, *Pinus sylvestris*, *Pinus uncinata*), ki rastejo v hladnih območjih severne poloble, ugotovili obdobje maksimalne celične produkcije nekaj dni pred poletnim solsticijem (21. junij), in sicer 164. dan v letu. Takrat je dolžina fotoperiode najdaljša. To so ugotovili za vse raziskane drevesne vrste in rastišča. Gričar (2006, 2007) je podobne rezultate dobila za smreke na Pokljuki in jelke na Ravniku.

Naše ugotovitve torej kažejo, da obdobje maksimalne celične produkcije pri difuzno porozni bukvi nastopi približno 15 dni prej kot pri zgoraj naštetih iglavcih. Sass (1993) je ugotovila, da imajo notranji dejavniki pri bukvi na začetku vegetacije veliko večji vpliv na aktivnost kambijeve cone kot proti koncu vegetacijske dobe, ko se poveča vpliv zunanjih dejavnikov. To je po njenem mnenju uspešna strategija za izgradnjo sistema za učinkovit transport vode. Bukev mora torej v krajšem času formirati večji delež branike z zadostnim številom trahej za oskrbo krošnje z vodo. Tako se zavaruje pred morebitnimi kasnejšimi negativnimi vplivi okolja. Iz navedenega lahko sklepamo, da utegne imeti dolžina fotoperiode pri listavcih manjši vpliv na delitve v kambijevi coni kot pri iglavcih.

V naši študiji smo prve celice osnovnega tkiva v postkambijski rasti opazili med 18. in 24. aprilom 2006. Takrat smo opazili tudi prve traheje v fazi površinske rasti. Sinteza sekundarne celične stene se je pri prvih vlaknih pričela že med tednom od 24. aprila do 3. maja 2006. Po Mellerowicz in sodelavcev (2001) ter Marion in sodelavcev (2007) se sinteza sekundarne celične stene trahejnih členov prične prej kot pri vlaknih, kar smo zasledili tudi v naši raziskavi na bukvi.

Na dan 22. avgusta 2006 je bila branika pri večini dreves že popolnoma izoblikovana, konec avgusta pa pri vseh. Po oceni Gomperzove funkcije je čas nastanka ksilemske branike v povprečju znašal 100 dni oz. 3,3 mesece. Marion in sodelavci (2007) so ugotovili, da je bil čas nastanka ksilemske branike pri difuzno poroznem ostrolistnem javoru v Ljubljani 21 tednov oz. 147 dni, kar je bistveno več kot pri naših bukvah. Razlike lahko pojasnimo z različnimi drevesnimi vrstami in endogenimi (notranjimi) dejavniki, rastiščnimi dejavniki, nadmorsko višino, klimo in drugimi dejavniki.

Na debelinsko rast dreves poleg vrojenih endogenih dejavnikov vplivajo tudi dejavniki okolja, ki določajo začetek, trajanje, dinamiko in zaključek posameznih faz ksilogeneze (Skene, 1972, Denne in Dodd, 1981; Schweingruber, 1990; Larson 1994; Kozłowski in Pallardy, 1997; Wodizicki, 2001; Larcher, 2003; vse cit. po Gričar, 2006). Kljub temu, da so naša raziskana drevesa rasla pod približno enakimi pogoji, je med njimi mogoče opaziti znatne razlike v dinamiki nastajanja branike in v širini branike. Najbolj se razlikujeta drevesi 2 in 4. Dinamika priraščanja drevesa 4 se z dokaj visoko vrednostjo koeficienta k 0,046 najmanj prilagaja krivulji Gompertzove funkcije (ujemanje 86,4%). Za drevo 2 pa je značilno najpočasnejše priraščanja ter posledično, kar 1,3 krat manjša širina branike od povprečja. Odstopa tudi drevo 6 z najkrajšim časom nastajanja ksilemske branike ($d=76,83$ dni) in relativno široko braniko ($A=2327,048 \mu\text{m}$).

Schweingruber (1992), navaja da na rast drevesa oz. na aktivnost kambijeve cone vplivajo klimatski dejavniki, še večji vpliv pa imajo lastnosti posamezne vrste ter prostorsko delujoči biotski in abiotski dejavniki. Od klimatskih dejavnikov, ki vplivajo na širino branike, je najbolj raziskan vpliv padavin in temperature. Za bukev v Sloveniji iz nadmorskih višin 300-600 m Di Filippo in sodelavci (2007) navajajo, da nizke zimske temperature in poletna suša v splošnem negativno vplivajo na širine branik. Glede na to, da so naša raziskana drevesa rasla pod enakimi klimatskimi pogoji s primerljivo količino padavin, je treba vzrok za razlike med drevesi iskati še v drugih, neidentificiranih dejavnikih. Raziskati bil bilo potrebno tudi, variabilnost v priraščanju med leti.

Dodatne podatke bi utegnili dobiti z analizo velikosti trahej (premerov in površin lumnov na prečnem prerezu) znotraj branike. Sass (1993) meni, da so traheje zaradi njihove

prevodne funkcije fiziološko pomembne za rast in preživetje drevesa. Po eni strani njihova velikost kaže na vitalnost drevesa ob nastanku trahejnega člena, po drugi strani je iz velikosti (premerov in površine v prečnem prerezu) trahej mogoče sklepati, kakšne so dispozicije za prirastek drevesa v prihodnjih letih (Sass, 1993).

5.2 SKLEPI

V dormantni kambijevi coni se je v radialnem nizu nahajalo od 3 do 5 celic, značilnih kvadratastih oblik z nekoliko debelejšo celično steno v primerjavi s celicami v aktivni kambijevi coni. Celična delitvena aktivnost v kambijevi coni se je pri vseh šestih proučevanih drevesih pričela med 18. in 24. aprilom 2006. Število celic se je po reaktivaciji kambijeve cone, med 25. aprilom in 2. majem 2006, povečalo na maksimalno vrednost od 10 do 13 slojev. Do 20. junija 2006 je bilo v kambijevi coni konstantno okoli 10 slojev celic, od tega dne naprej pa je število začelo postopoma padati. Širina kambijeve cone se je konec avgusta ponovno zmanjšala na 3 do 6 plasti celic.

Prva vlakna, traheje in aksialni parenhim v postkambijski rasti smo zasledili med 18. in 24. aprilom. Sinteza sekundarne celične stene se je pri prvih vlaknih pričela že v tednu od 24. aprila do 3. maja 2006. Prva dokončno diferencirana vlakna, smo zasledili v tednu med 13. in 20. junijem oz. 5 tednov po njihovem nastanku. Med 9. in 16. avgustom je bila branika že popolnoma izoblikovana, potekala je le še diferenciacija zadnjih nastalih celic. Na dan 22. avgusta 2006 se je sinteza sekundarne celične stene in lignifikacija pri večini dreves že v celoti zaključila, konec avgusta pa pri vseh.

Razvoj ksilemske branike se je med drevesi nekoliko razlikoval. Končna (povprečna) širina ksilemskih branik 2006 je bila s pomočjo Gompertzove funkcije ocenjena na 2552,2 μm , kar le za 14 μm odstopa od dejanske vrednosti (2537, 6 μm). Prilagajanje dejanskih vrednosti vseh šestih dreves krivulji Gompertzove funkcije je bilo zelo dobro in je znašalo 98,7 %. Najmanj so se s krivuljo Gompertzove funkciji ujemale meritve drevesa 4, najbolj pa drevesa 1. Pri vseh šestih drevesih je bilo odstopanje dejanskih vrednosti od krivulje na koncu rastne sezone največje, ker se je takrat nastajanje celic že upočasnilo.

Čas najintenzivnejše debelinske rasti je nastopil med 2. in 9. majem 2006, ko je na dan nastalo 24 μm ksilemske branike. Obdobje intenzivnih delitev je bilo pri vseh drevesih približno enako dolgo, le da se je pri nekaterih drevesih pričelo prej (drevo 3), pri nekaterih pa kasneje, med 149. in 156. dnem v letu oz. med 30. majem in 6. junijem 2006. Povprečna

hitrost r nastajanja ksilemske branike skozi celotno rastno sezono pa je v povprečju znašala 25,52 μm na dan.

Čas d , ki je bil potreben za nastanek glavnine ksilemske branike, je znašal v povprečju 100 dni. Najkrajši (77 dni) je bil pri drevesu 6, najdaljši (132 dni) pa pri drevesu 2. S pomočjo omenjenega parametra smo izračunali konec aktivnosti v kambijeви coni. Ta je za približno 14 dni odstopal od dejanskega zaključka, ki je bil med 25. julijem in 16. avgustom 2006.

6 POVZETEK

Bukev (*Fagus sylvatica* L.) je naša najpomembnejša drevesna vrsta, vendar pa je proces nastajanja lesa pri njej relativno malo raziskan. Cilji diplomske naloge so bili proučiti začetek in konec delitvene aktivnosti kambijeve cone pri šestih odraslih drevesih in spremljati širino kambijeve cone tekom celotne vegetacijske dobe 2006. V nastajajoči ksilemski braniki smo določili faze diferenciacije posameznih ksilemskih celic in spremljali priraščanje. Dobljene rezultate smo ovrednotili s pomočjo Gompertzove funkcije.

Z metodo odvzema intaktnih tkiv smo na šestih navadnih bukvah (*Fagus sylvatica* L.) s Panške reke, v bližini Ljubljane, tedensko odvezemali vzorce. Vzorčenje je potekalo v prsni višini odraslih, živih dreves med 24. aprilom in 22. avgustom 2006. Dodatno smo odvzeli vzorce v začetku rastne sezone 2007 (od 2. marca do 24. aprila), da smo podrobneje raziskali reaktivacijo dormantne kambijeve cone. Vzorce smo na mestu odvzema shranili v fiksacijski tekočini FAA (raztopina formalina, očetne kisline in etanola), po enem tednu dehidrirali v etanolni vrsti (30, 50 in 70%) in vklopili v parafin. Histološke rezine prečnih prereзов (debeline 14 μm) smo pripravili z rotacijskim mikrotomom Leica RM2245 z nizkoprofilnimi jeklenimi noži jih obarvali z barviloma safranin in astra modro ter jih trajno vklopili v Euparal. Vse potrebne analize in opazovanja preparatov smo opravili s pomočjo svetlobnega mikroskopa Nikon Eclipse E800, digitalne kamere (PIXElink, PL-A66Z Camera kit), osebnega računalnika in računalniškega programa za analizo slike LUCIA G 4.8. Merili smo širino ksilemskega prirastka in širino kambijeve cone, v kateri smo prešteli tudi število plasti celic. Meritve smo vedno opravili v treh radialnih nizih. Dobljene rezultate smo ovrednotili z Gompertzovo funkcijo, saj se njena asimetrična oblika dobro prilagaja priraščanju ksilemske branike. Iz dobljenih parametrov B (ocena začetka aktivnosti kambijeve cone) in k (ocena mesta prevoja krivulje) smo izračunali obdobje maksimalne celične produkcije T (B/k), čas d , ki je bil potreben za nastanek glavnine ksilemske branike 2006 in koeficient r , ki ponazarja povprečni ksilemski prirastek na posamezen dan v rastni sezoni 2006. Vse statistične izračune smo opravili v programu Statgraphics, grafe pa smo narisali v programih SigmaPlot 9.0 in Microsoft Excel.

V dormantni kambijevi coni se je v radialnem nizu nahajalo od 3 do 5 celic, značilnih kvadratastih oblik z nekoliko debelejšo celično steno v primerjavi s celicami v aktivni kambijevi coni. Celična delitvena aktivnost v kambijevi coni se je pri vseh šestih proučevanih drevesih pričela med 18. in 24. aprilom 2006. Število celic se je po reaktivaciji kambijeve cone, med 25. aprilom in 2. majem 2006 povečalo na maksimalno 10 do 13 slojev v radialnem nizu. Do 20. junija 2006 je bilo v kambijevi coni konstantno okoli 10 slojev celic, od tega dne naprej pa je število začelo padati. Širina kambijeve cone se je konec avgusta ponovno zmanjšala na 3 do 6 plasti celic.

Prva vlakna, traheje in aksialni parenhim v postkambijski rasti smo zasledili med 18. in 24. aprilom. Sinteza sekundarne celične stene se je pri prvih vlaknih pričela že v tednu od 24. aprila do 3. maja 2006. Prva dokončno diferencirana vlakna smo zasledili v tednu med 13. in 20. junijem oz. 5 tednov po njihovem nastanku. Med 9. in 16. avgustom je bila branika že popolnoma izoblikovana, potekala je le še diferenciacija zadnjih nastalih celic. Na dan 22. avgusta 2006 se je sinteza sekundarne celične stene in lignifikacija že v celoti zaključila.

Razvoj ksilemske branike se je med drevesi nekoliko razlikoval. Končna (povprečna) širina ksilemskih branik 2006 je bila s pomočjo Gompertzove funkcije ocenjena na 2552,2 μm , kar le za 14 μm odstopa od dejanske vrednosti (2537, 6 μm). Prilagajanje dejanskih vrednosti vseh šestih dreves krivulji Gompertzove funkcije je bilo zelo dobro in je znašalo 98,7 %. Najmanj so se s krivuljo Gompertzove funkcije ujemale meritve drevesa 4, najbolj pa drevesa 1. Pri vseh šestih drevesih je bilo odstopanje dejanskih vrednosti od krivulje na koncu rastne sezone največje, ker se je takrat nastajanje celic že upočasnilo.

Čas najintenzivnejše debelinske rasti je nastopil med 2. in 9. majem 2006, ko je na dan nastalo 24 μm ksilemske branike. Obdobje intenzivnih delitev je bilo pri vseh drevesih približno enako dolgo, le da se je pri nekaterih drevesih pričelo prej (drevo 3), pri nekaterih pa kasneje, med 149. in 156. dnem v letu oz. med 30. majem in 6. junijem 2006. Povprečna hitrost r nastajanja ksilemske branike skozi celotno rastno sezono pa je v povprečju znašala 25,52 μm na dan.

Čas d , ki je bil potreben za nastanek glavnine ksilemske branike, je znašal v povprečju 100 dni. Najkrajši (77 dni) je bil pri drevesu 6, najdaljši (132 dni) pa pri drevesu 2. S pomočjo omenjenega parametra smo izračunali konec, aktivnosti v kambijeви coni. Ta je za približno 14 dni odstopal od dejanskega zaključka, ki je bil med 25. julijem in 16. avgustom 2006.

7 VIRI

- Brus R. 2004. Drevesne vrste na Slovenskem. Ljubljana, Mladinska knjiga: 399 str.
- Čufar K. 2006. Anatomija lesa. Univerzitetni učbenik. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za lesarstvo: 185 str
- Di Filippo A., Biondi F., Čufar K., De Luis M., Grabner M., Maugeri M., Presutti Saba E., Schirone B., Piovesan G. 2007. Bioclimatology of beech (*Fagus sylvatica* L.) in the Eastern Alps: spatial and altitudinal climatic signals identified through a tree-ring network. Journal of Biogeography, (v tisku) doi:10.1111/j.1365-2699.2007.01747.x.
- Dittmar C., Zech W., Elling W. 2001. Growth variations of Common beech (*Fagus sylvatica* L.) under different climatic and environmental conditions in Europe-a dendroecological study. Forest Ecology and Management, 173: 63-78
- Eckstein D. 2004. Change in past environments - secrets of the tree hydrosystem. New Phytologist, 163: 1-4
- Fonti P., Garcia Gonzalez I. 2004. Suitability of chestnut earlywood vessel chronologies for ecological studies. New Phytologist, 163: 77-86
- Grosser D. 1977. Die Hölzer Mitteleuropas. Berlin, Heidelberg, New York, Springer-Verlag: 208 str.
- Garcia Gonzales G.I., Eckstein D. 2003. Climatic signal of earlywood vessels of oak on a maritime site. Tree Physiology, 23: 497-504
- Gričar J. 2006. Vpliv temperature in padavin na ksilogenezo pri jelki (*Abies alba*) in smreki (*Picea abies*). Doktorska disertacija. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za lesarstvo: 181 str.

- Gričar J. 2007. Ksilo- in floemogeneza pri beli jelki (*Abies alba* Mill.) in navadni smreki (*Picea abies* (L.) Karst). Ljubljana, Gozdarski inštitut Slovenije: 106 str.
- Kotar M., Brus R. 1999. Naše drevesne vrste. Ljubljana, Slovenska matica: 319 str.
- Lachaud S., Catesson A.-M., Bonnemain J.-L. 1999. Structure and functions of the vascular cambium. *Life Sciences*, 322: 633-650
- Lebourgeois F., Breda N., Ulrich E., Granier A. 2005. Climate-tree-growth relationship of European beech (*Fagus sylvatica* L.) in the French Permanent Plot Network (RENECOFOR). *Trees*, 19: 385-401
- Liese W. 1965. The warty layer. V: Cellular ultrastructure of woody plants. Proceedings of the Advanced Science Seminar Pinebrook Conference Center Upper Saranac Lake, New York, September, 1964. Cote W.A (ed.). Syracuse, New York, Syracuse University Press:251-269
- Marion L., Gričar J., Oven P. 2007. Wood formation in urban Norway maple trees studied by the micro-coring method. *Dendrochronologia*, 25, 2: 97-102
- Mellerowicz E.J., Baucher M., Sundberg B., Boerjan W. 2001. Unravelling cell wall formation in the woody dicot stem. *Plant Molecular Biology*, 47: 239-274
- Oven P. 1993. Anatomija skorje in njen odziv na mehanska poškodovanja pri zdravih in prizadetih jelkah (*Abies alba* Mill.). Magistrsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za lesarstvo: 97 str.
- Panshin A. J., De Zeeuw C. 1980. Textbook of wood technology. Fourth edition. New York, McGraw-Hill: 722 str.

- Plomion C., Leprovost G., Stokes A. 2001. Wood formation in trees. *Plant Physiology*, 127: 1513-1523
- Richter H.G., Dallwitz M.J., 2005. Commercial timbers: descriptions, illustrations, identification, and information retrieval. In English, French, German, and Spanish. Računalniški program.
- Samuels A.L., Kaneda M., Rensing K.H. 2006. The cell biology of wood formation: from cambial division to mature secondary xylem. *Special Issue on Plant Cell Biology*, 84: 631-639
- Sass U. 1993. Die Gefäße der Buche als ökologische Variable – Bildanalytische Erfassung, dendroklimatologische Prüfung, ökologische Bewertung. Doktorska disertacija. Hamburg, Universität Hamburg: 172 str.
- Sass U., Eckstein D. 1995. The variability of vessel size in beech (*Fagus sylvatica* L.) and its ecophysiological interpretation. *Trees*, 9: 247-252
- Schmitt U., Möller R., Eckstein D. 2000. Seasonal wood formation dynamics of beech (*Fagus sylvatica* L.) and black locust (*Robinia pseudoacacia* L.) as determined by the "pinning" technique. *Journal of Applied Botany*, 74: 10-16
- Schweingruber F.H. 1990. Microscopic wood anatomy. *Mikroskopische Holzanatomie*. Birmensdorf, Eidgenössische Anstalt für das Forstliche Versuchswesen: 226 str.
- Schweingruber F.H. 1992. Baum und Holz in der Dendrochronologie. Eidgenössische Forschungsanstalt für Wald, Schnee und Landschaft, 112-115
- Schweingruber F.H. 1989. Tree Rings. Basic and Applications of Dendrochronology. Dordrecht, Boston, London. Kluwer Academic Publishers: 276 str.

- Terashima N. 2000. Formation and ultrastructure of lignified plant cell walls. V: New horizons in wood anatomy. Kim Y.S. (ed.). Proceedings of the 4th. Pacific Regional Wood Anatomy Conference. Chonnam National University Press, Kwangju, Korea South: 169-180
- Torelli N. 1998. Zunajkambijska rast celic v lesu dvokaličnic. Les, 50, 10: 293-298
- Torelli N. 2003. Ojedritev – vloga in proces. Les, 55, 11: 368-379
- Wagenführ R. 1996. Holzatlas. Leipzig, Fachbuchverlag: 688 str.
- Z'Graggen S. 1992. Dendrohistometrisch- klimatologische Untersuchung an Buchen (*Fagus sylvatica* L.). Doktorska disertacija. Zürich, Univer...: 167 str.

ZAHVALA

Iskreno se zahvaljujem mentorici prof. dr. Katarini Čufar in somentorici dr. Jožici Gričar za vodenje, pomoč in nasvete pri izdelavi diplomske naloge.

Zahvaljujem se prof. dr. Primožu Ovnu za recenzijo diplomske naloge.

Vsem zaposlenim v Katedri za tehnologijo lesa se zahvaljujem za vse nasvete in podporo pri delu.

Družini in vsem bližnjim se zahvaljujem za podporo in potrpežljivost tekom študija, še posebej pa v času izdelave diplomske naloge.