

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

Matej VOVK

**NASTAJANJE LESA PRI PRAVEM KOSTANJU
(*Castanea sativa* Mill.) Z RASTIŠČA V ITALIJI**

DIPLOMSKO DELO

Univerzitetni študij

Ljubljana, 2010

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

Matej VOVK

**NASTAJANJE LESA PRI PRAVEM KOSTANJU (*Castanea sativa* Mill.)
Z RASTIŠČA V ITALIJI**

DIPLOMSKO DELO
Univerzitetni študij

**WOOD FORMATION IN CHESTNUT (*Castanea sativa* Mill.) AT THE
SITE IN ITALY**

GRADUATION THESIS
University studies

Ljubljana, 2010

Diplomsko delo je zaključek univerzitetnega študija gozdarstva. Opravljeno je bilo na Katedri za tehnologijo lesa Oddelka za lesarstvo Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani in na katedri DAF Agronomske fakultete na Univerzi Tuscia v Viterbu (DAF, Facolta di Agraria, Università degli studi della Tuscia) v Italiji.

Komisija za študijska in študentska vprašanja Oddelka za gozdarstvo in obnovljive gozdne vire BF je dne 24. 8. 2010 sprejela temo in za mentorja diplomskega dela imenovala prof. dr. Katarino Čufar, za recenzenta pa prof. dr. Roberta Brusa.

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik:

Član:

Član:

Datum zagovora:

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

Matej Vovk

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

ŠD	Dn
DK	GDK 811.13:176.1 <i>Castanea sativa</i> Mill.:101(450)(043.2)=163.6
KG	<i>Castanea sativa</i> /pravi kostanj/Italija/ksilogeneza/nastanek lesa/kambijeva aktivnost/diferenciacija
KK	
AV	VOVK, Matej
SA	ČUFAR, Katarina (mentorica)
KZ	SI-1000 Ljubljana, Večna pot 83
ZA	Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za gozdarstvo in obnovljive gozdne vire
LI	2010
IN	NASTAJANJE LESA PRI PRAVEM KOSTANJU (<i>Castanea sativa</i> Mill.) Z RASTIŠČA V ITALIJI
TD	Diplomsko delo (univerzitetni študij)
OP	X, 62 str., 4 pregl., 15 sl., 2 pril., 33 vir.
IJ	sl
JJ	sl/en
AI	

Z metodo odvzema mikro izvrtkov so med 16. marcem in 28. oktobrom 2009 s prsne višine (1,3 m) desetih dreves pravega kostanja (*Castanea sativa* Mill.) z rastišča Monti Cimini v pokrajini Lazio v Italiji tedensko odvezemali vzorce. Pripravili so mikroskopske preparate, ki so vsebovali les, kambij in floem in jih proučili s svetlobnim mikroskopom Nikon Eclipse 800 (svetlo polje in polarizirana svetloba), digitalno kamero DS-Fi1 in sistemom za analizo slike NIS Elements BR3. Za vsak teden so določili širino ksilemskega prirastka tekoče branike in ovrednotili razvojno stopnjo celic v lesu. Med 31. marcem in 7. aprilom 2009 so zasledili nastanek prvih trahej. Sinteza sekundarne celične stene in lignifikacija se je pri prvih trahejah začela v tednu med 23. in 29. aprilom. Biosinteza sekundarne celične stene in lignina se je najprej začela okoli prvih trahej, pozneje pa še v preostalem tkivu. Med 20. in 29. majem se je zaključilo nastajanje ranega lesa. Rani les je vseboval 2-3 vence trahej, njegov delež pa je bil večji v ožjih branikah. Najbolj intenzivno nastajanje celic ksilemske branike so zabeležili v času od začetka junija do začetka julija. Kasni les je začel nastajati med 20. in 29. majem, dokončno pa se je oblikoval med 24. septembrom in 1. oktobrom. Branika je nastajala približno 4 mesece, pri čemer so opazili razlike med drevesi. Končna širina branike 2009 je povprečju znašala 3648 μm (3516 $\pm$ 703 μm). Rezultate o rasti branike so izravnali z Gompertzovo, Chapman-Richardovo, Weibullovo in Korfovno rastno funkcijo. Pri primerjavi teh rastnih funkcij so ugotovili, da se vse dobro prilegajo meritvam širin nastajajoče ksilemske branike. Gompertzova funkcija se zdi najprimernejša, ker se pri njej točka prevoja najbolje ujema z dejansko kulminacijo tekočega prirastka. Parametri te funkcije so tudi sicer primerni za opis dinamike nastajanja lesa.

KEY WORDS DOCUMENTATION

DN Dn
DC FDC 811.13:176.1 *Castanea sativa* Mill.:101(450)(043.2)=163.6
CX *Castanea sativa*/chestnut/Italy/xylogenesis/wood formation/cambial
activity/differentiation
CC
AU VOVK, Matej
AA ČUFAR, Katarina (supervisor)
PP SI-1000 Ljubljana, Večna pot 83
PB University of Ljubljana, Biotechnical faculty, Department of forestry and
renewable forest resources
PY 2010
TI WOOD FORMATION IN CHESTNUT (*Castanea sativa* Mill.) AT THE
SITE IN ITALY
DT Diplomsko delo (univerzitetni študij)
NO X, 62 p., 4 tab., 15 fig., 2 ann., 33 ref.
LA sl
AL sl/en
AB

Tissue samples from the breast height (1.3 m) of the selected chestnut trees (*Castanea sativa* Mill.) growing at a site of Monti Cimini in the Lazio region (Italy) were collected from 16 March until 28 October 2009. The samples were taken with the micro-coring method at weekly intervals. Microscopic cross-sections that contained xylem, cambium and phloem were prepared and analyzed with the light microscope Nikon Eclipse 800 (bright field and polarized light), digital camera DS-Fi1 and image analysis system NIS Elements BR3. The width of the xylem increment of the current annual ring was measured on samples taken at weekly intervals. The phase of cell differentiation was recorded as well. Occurrence of the first vessels was detected between 31 March and 7 April 2009. The synthesis and lignification of their secondary cell walls started between 23 and 29 April 2009. They started around the first vessels and spread afterwards to the surrounding tissue. The most intensive rate of xylem formation was detected from the beginning of June until the beginning of July. Earlywood consisted of 2-3 rows of vessels; its proportion was larger in narrower tree rings. Latewood started to develop in the period between 20 and 29 May and was fully developed by the week from 24 September till 1 October. Tree ring formation lasted for approximately 4 months, considerable differences among the trees were observed. The final average tree ring width was 3648 μm ($3516 \pm 703 \mu\text{m}$). The results of xylem growth were fitted with Gompertz, Chapman-Richard, Weibull and Korf growth functions. All of them were useful for fitting the data, but the Gompertz function seemed to be the most appropriate. The culmination calculated with this function, optimally agreed with the actual culmination of the increment. The parameters of this function are also very useful for describing the formation of the tree ring.

KAZALO

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA	III
KEY WORDS DOCUMENTATION	IV
KAZALO	V
KAZALO PREGLEDNIC	VII
KAZALO SLIK	VIII
KAZALO PRILOG	X
1 UVOD	1
2 PREGLED LITERATURE	2
2.1 BIOLOGIJA PRAVEGA KOSTANJA (<i>Castanea sativa</i> Mill.)	2
2.2 PRAVI KOSTANJ V SREDNJI ITALIJI	7
2.3 ANATOMSKI VIDIKI NASTANKA KSILEMSKE BRANIKE	8
2.4 RAZISKAVE NASTANKA KSILEMSKE BRANIKE	9
2.5 RASTNE FUNKCIJE	10
3 MATERIALI IN METODE	11
3.1 OPIS RASTIŠČA	11
3.2 ODVZEM VZORCEV	13
3.2.1 Odvzem vzorcev intaktnih tkiv	13
3.3 PRIPRAVA PREPARATOV	15
3.3.1 Infiltracijski postopek	15
3.3.2 Vklapljanje vzorcev v parafin	15
3.3.3 Rezanje z rotacijskim mikrotomom	16
3.3.4 Selektivno barvanje	17
3.4 ANALIZA SLIKE	18
3.5 MERITVE	19
3.6 STATISTIČNA OBDELAVA PODATKOV IN RASTNE FUNKCIJE	21
3.6.1 Statistična obdelava	21
3.6.2 Rastne funkcije	22
3.6.2.1 Rastna funkcija Gompertz	22
3.6.2.2 Rastna funkcija Chapman-Richards	25
3.6.2.3 Rastna funkcija Korf	27
3.6.2.4 Rastna funkcija Weibull	30
3.7 KLIMATSKI PODATKI	31
4 REZULTATI	32
4.1 MIKROSKOPSKA ZGRADBA KSILEMSKE BRANIKE PRAVEGA KOSTANJA	32
4.2 FAZE NASTAJANJA KSILEMSKE BRANIKE	34
4.3 RAZMERJE MED RANIM IN KASNIM LESOM	37
4.4 KLIMA IN VREMENSKE RAZMERE V LETU 2009	38
4.5 OPIS NASTANKA KSILEMSKIH BRANIK V LETU 2009 Z GOMPERTZOVO FUNKCIJO	39
4.5.1 Primerjava dinamike nastanka ksilemske branike med drevesi	40
4.5.2 Primerjava sestojev	44
4.6 PRIMERJAVA RASTNIH FUNKCIJ	46
5 RAZPRAVA IN SKLEPI	51
5.1 RAZPRAVA	51
5.2 SKLEPI	55

6	POVZETEK.....	57
7	VIRI.....	60
	ZAHVALA.....	64
	PRILOGE.....	65

KAZALO PREGLEDNIC

Preglednica 1: Razlike med sestojema. D – premer drevesa (cm), h – višina drevesa (m), KR – kostanjev rak, MV – mrtve veje, EP – epikormski poganjki, UK – ukrivljenost, RS – razpoke na skorji, KOL – kolesivost. Pomen števil v stolpcih od 4 do 9: 0 – odsotnost znaka, 1 – rahla prisotnost znaka, 2 – zmerna prisotnost znaka, 3 – močna prisotnost znaka.	12
Preglednica 2: Pregled datumov odvzema vzorcev tkiv pri desetih drevesih pravega kostanja iz rastišča Pian dei Fraticelli v letu 2009.	14
Preglednica 3: Parametri Gompertzove funkcije (stolpci 2 – 4) in značilne točke (stolpci 6 – 10) ter determinacijski koeficient R^2 (stolpec 5). V stolpcu 1 so imena dreves, v kategoriji »SKUPAJ« pa so predstavljeni parametri in značilne točke Gompertzove funkcije za vsa drevesa skupaj. Stolpec 12 predstavlja delež nastale branike ob času kulminacije povprečnega prirastka.	41
Preglednica 4: Primerjava rastnih funkcij Gompertz, Chapman-Richards, Weibull in Korf. Me_i – povprečna razlika med izmerjenimi in teoretičnimi širinami branike (enačba ... (2)), SD – standardni odklon (enačba ... (3)), R^2 – determinacijski koeficient.	46

KAZALO SLIK

Slika 1: Razširjenost pravega kostanja (<i>Castanea sativa</i> , Mill.); zeleno (naravni areal) (Brus, 2004).	3
Slika 2: Rotacijski mikrotom Leica RM 2245.	17
Slika 3: Svetlobni mikroskop Nikon Eclipse 800, digitalna kamera DS-Fi1, v ozadju sistem za analizo slike NIS Elements BR3.	18
Slika 4: Meritve širin branik. Vsak vzorec smo izmerili vzdolž treh radialnih nizov in izračunali povprečje.	20
Slika 5: Mikroskopska zgradba ksilemske branike pravega kostanja (<i>Castanea sativa</i> Mill.). A – prečni prerez lesa, kjer so vidne: kambijeva cona (KC), celice v postkambijalni rasti (PR) na ksilemski in floemski strani, ksilemska branika tekočega leta (KS) in floem (FL). B – prečni prerez, kjer sta vidna rani les (RL) in kasni les (KL) s trahejami ranega lesa (TR) in trahejami kasnega lesa (TK). C – tangencialni prerez, kjer so vidni kompleksi libriformskih vlaken (LV) in aksialni parenhim (TH) ter enoredni trakovi (R).	34
Slika 6: Faze nastajanja ksilemske branike pri pravem kostanju (<i>Castanea sativa</i> Mill.) v letu 2009. A – Kambijeva cona (KC) pred aktivacijo na dan 75 (16. marec 2009). B – Kambijeva cona (KC) in nastajajoča ksilemska branika s celicami v postkambijski rasti (PR) na 90. dan (31. marec 2009). C – KC in nastajajoča branika v fazi PR in odlaganja sekundarne stene (SL) pod polarizirano svetlobo kjer se sekundarna celična stena sveti (23. april 2009). D – Ksilemska branika ob kulminaciji tekočega prirastka (05. junij 2009) s pretrgano strukturo KC, celicami v SL (modro obarvane) in popolnoma zreliimi vlakni (ZV). Zreli elementi imajo prazne lumne in rdeče obarvane celične stene. E – Ksilemska pod polarizirano svetlobo s celicami v fazi SL in ZV na dan 29. julija 2009. F – Mirujoča KC in popolnoma izoblikovana branika 2009 na dan 24. septembra 2009. Daljica = 100 μ m.	36
Slika 7: Razmerje med ranim in kasnim lesom pri obravnavanih drevesih na koncu rastne sezone 2009.	37
Slika 8: Klimatski diagram. Povprečne, maksimalne in minimalne mesečne temperature ter količine padavin v letu 2009 v primerjavi s povprečji med leti 1978-2008.	39
Slika 9: Meritveni podatki: izmerjene širine ksilemskih branik vseh desetih dreves pravega kostanja skozi rastno sezono 2009.	40
Slika 10: Dinamika nastanka ksilemske branike vzorčnih dreves, izravnava podatkov z Gompertzovo funkcijo. Krivulje z zvezdico označujejo drevesa, ki so rasla v sestoji na nizkem pobočju, krivulje s polno črto označujejo drevesa, ki so rasla na visokem pobočju.	43
Slika 11: Prirastki ksilemskih branik vzorčnih dreves, izračunani z Gompertzovo funkcijo. Krivulje z zvezdico označujejo drevesa, ki so rasla v sestoji na nizkem pobočju, krivulje s polno črto označujejo drevesa, ki so rasla na visokem pobočju.	43
Slika 12: Razlike med sestojema. V sestoji na nizkem pobočju (Nizek) je bilo opravljeno šibko redčenje, v sestoji na visokem pobočju (Visok) pa zmerno redčenje.	45
Slika 13: Rastne krivulje dreves A, B, C in D: Gompertz (modra), Weibull (rdeča) in Korf (zeleni). Prirastne krivulje so podane s črtkano črto. Rastna krivulja Chapman-Richards je izločena, saj se popolnoma prilagaja Gompertzovi.	48
Slika 14: Rastne krivulje dreves E, F, G in H: Gompertz (modra), Weibull (rdeča) in Korf (zeleni). Prirastne krivulje so podane s črtkano črto. Rastna krivulja Chapman-Richards je izločena, saj se popolnoma prilagaja Gompertzovi.	49

Slika 15: Rastne krivulje dreves L in M ter vseh dreves skupaj: Gompertz (modra), Weibull (rdeča) in Korf (zelena). Prirastne krivulje so podane s črtkano črto. Rastna krivulja Chapman-Richards je izločena, saj se popolnoma prilagaja Gompertzovi. 50

KAZALO PRILOG

Priloga A: Izravnavo podatkov z Gompertzovo rastno funkcijo. Prikaz dinamike rasti vseh obravnavanih dreves posebej ($A - M$) in izravnavo podatkov vseh dreves skupaj (SKUPAJ). P – meritveni podatki, Y – krivulja Gompertzove rastne funkcije, Y' – krivulja Gompertzove prirastne funkcije, MDI – krivulja povprečnega prirastka.	65
Priloga B: Primerjava rastiškov Gompertz, Chapman-Richards, Weibull in Korf na podlagi vseh desetih obravnavanih dreves. A – zgornja asimptota, ki ponazarja maksimalno širino branike, Y'_{max} – vrednost kulminacije tekočega (dnevnega) prirastka, t' – čas kulminacije tekočega (dnevnega) prirastka, R^2 – determinacijski koeficient, MDI_{max} – vrednost kulminacije povprečnega prirastka, $t_{MDI_{max}}$ – čas kulminacije povprečnega prirastka, $Y(t_{MDI_{max}}) \cdot A/100$ – delež ksilemske branike, ki je nastal do kulminacije povprečnega prirastka.	67

1 UVOD

Pravi kostanj (*Castanea sativa* Mill.) je v pokrajini Lazio (Italija), kjer je bil opravljen del pričujoče diplomske naloge, gospodarsko pomembna drevesna vrsta. Kljub temu je nastajanje lesa pri njem slabo raziskano. Od aktiviranja kambija do zaključka njegovega delovanja preteče nekaj mesecev in v tem času se oblikuje branika v lesu. Širina in zgradba branike je odvisna od številnih dejavnikov, zato so datirane branike v lesu pomemben arhivski vir različnih podatkov. Kdaj branika začne nastajati, kako se oblikuje in zaključi, bom predstavil na ravni celic oziroma tkiv pri izbranih drevesih pravega kostanja z rastišča Monti Cimini v Italiji v pokrajini Lazio. Rastišče se nahaja v okolici mesta Viterbo, kjer sem študiral v okviru programa ERASMUS in na tamkajšnji agronomski fakulteti (DAF, Facolta di Agraria, Università degli studi della Tuscia) tudi opravil del raziskav.

Za študij nastajanja ksilema pri pravem kostanju smo uporabili metodo vzorčenja intaktnih tkiv. Eksperimentalni del diplomske naloge smo opravili na 10 drevesih z rastišča Monti Cimini.

Cilji diplomske naloge so bili:

- a) spremljati nastanek lesa tekoče branike na celičnem nivoju na tedensko odvzetih vzorcih iz desetih dreves pravega kostanja z rastišča Monti Cimini,
- b) rast branike opisati z različnimi rastnimi funkcijami in jih med seboj primerjati,
- c) ovrednotiti pomen poznavanja dinamike nastajanja lesa za gozdarsko prakso.

2 PREGLED LITERATURE

2.1 BIOLOGIJA PRAVEGA KOSTANJA (*Castanea sativa* Mill.)

Pravi kostanj zraste kot lepo oblikovano drevo do višine 35 m in v izjemnih primerih v debelino do 3m (Balkan). Najstarejša drevesa so stara do 1000 let (Etna) in debela do 6 m (Kotar in Brus, 1999). Na prostem rastoča drevesa imajo praviloma veje skoraj do tal in so pogosto večdebela. Skorja na deblu je v mladosti gladka, kasneje pa nastane luskasto lubje, ki ima globoke, spiralno potekajoče vzdolžne razpoke (Brus, 2004).

Pravi kostanj sodi med enodomne, večinoma žužkocvetne vrste, vendar se oprašuje tudi z vetrom (Brus, 2004). Oprašujejo ga čebele in nekatere druge žuželke. Skupaj so našli kar 135 vrst obiskovalcev kostanjevih cvetov, zato kostanj vzdržuje in ohranja mali živalski svet. Drevo nudi čebelam bogato pašo v juniju in juliju, ko je glavna sezona cvetenja drugih rastlin že mimo. Kostanj v Sloveniji cveti junija in v začetku julija, ker potrebuje za pričetek cvetenja temperaturo 15 – 18°C (Kotar in Brus, 1999).

Potrebuje globoka, rahla, zmerno vlažna, humozna, s kalijem bogata peščeno glinasta tla (Brus, 2004). Raste na tleh s kislo reakcijo, to je na kislih vulkanskih in sedimentnih kamninah: gnajsu, granitu, porfiru, porfiritu, peščenjakih, skrilavcih, laporju ipd. Na tleh teh vrst se pH vrednosti najpogosteje gibljejo med 4 in 6, delež humusa pa je med 5 in 15 % (Lakušič, 1980). Na apnencu raste le, kadar je ta prekrit s plastjo kisle prsti. Potrebuje veliko toplote, rad ima topla, a ne preveč sušna poletja in za zorenje plodov toplo, suho jesen. Slano slabo prenaša, ustreza mu mila zima, enakomerno razporejene padavine, zmerna zračna vlaga in tople zavetrne lege med 300 in 700 m nadmorske višine. Na toplih rastiščih je polsencozdržen, na hladnejših svetloljuben (Brus, 2004). Srednje letne temperature na rastiščih pravega kostanja se najpogosteje gibljejo med 9 in 15°C, srednja letna relativna zračna vlažnost pa med 65 in 80 %. Absolutne minimalne temperature na rastiščih kontinentalnih populacij pravega kostanja se lahko spustijo tudi do -30°C, absolutne maksimalne temperature na rastiščih submediteranskih populacij pa se lahko dvignejo do okoli 40°C (Lakušič, 1980).

Domnevamo, da so že Etruščani in Rimljani širili pravi kostanj izven njegovih naravnih rastišč. Ljudstva, ki so jih nasledila, so to razširjanje nadaljevala, zato ga imamo danes v predelih, ki so veliko bolj severno, kot bi bila meja njegove naravne razširjenosti. V krajih z milo klimo in daljšo vegetacijsko dobo je kostanj iz nasadov prešel tudi v gozd in tako postal gozdna drevesna vrsta v gozdovih, kjer se po naravi prej ni pojavljal (Kotar in Brus, 1999). Domnevna severna meja naravne razširjenosti se sklada z mejo 7-mesečne vegetacijske dobe in poteka nekako od Črnega morja po bolgarsko-grški meji prek Srbije, Hrvaške in Slovenije po južnem robu Alp čez južno Francijo do južnega dela Pirenejskega polotoka. Na Siciliji raste še na 1630 m nadmorske višine (Brus, 2004). Umetno vnesen raste tudi v drugih delih Evrope, na severu vse do juga Skandinavije (Lakušić, 1980, Brus, 2004). Podroben opis o razširjenosti pravega kostanja podaja tudi Anić (1942).



Slika 1: Razširjenost pravega kostanja (*Castanea sativa*, Mill.); zeleno (naravni areal) (Brus, 2004).

Pravi kostanj je v Sloveniji skoraj gotovo razširjen samoniklo, to potrjujejo tudi najdbe peloda izpred nekaj tisoč let na Koprskem. Razlikujemo dve glavni območji razširjenosti: jedro prvega, celinskega območja je spodnje Posavje, od koder se je razširil tudi v Haloze, Slovenske gorice, na Goričko, Gorenjsko in ob Savi vse do Mojstrane; raste tudi ob toku Drave, pogost je v Beli krajini. Jedro drugega, manjšega območja je svet ob spodnjem toku

Soče, od koder se je prek manjših nahajališč čez kras razširil v Brkine in naprej proti Istri (Brus, 2004). V Sloveniji se povzpne se do nadmorske višine okoli 800 m, na Etni ,kot že omenjeno, celo do višine 1630 m (Kotar in Brus, 1999).

Poleg razmnoževanja s plodovi, je zmožen tudi regenerativnega razmnoževanja s poganjki iz panja. Zmožen je namreč več sto let odganjati iz spečih popkov pod skorjo panjev iz katerih poženejo močni poganjki. To je njegova rezervna strategija v boju za obstanek. Svoje zahteve glede edafskih pogojev je zmožen zadovoljevati s pomočjo odpadlih listov, ki se počasi organsko razkrajajo in spreminjajo kislota tal s pomočjo organskih kislin, kar mu ugaja. Obratno, v čistih kostanjevih sestojih, ki se na ta način močno zakisajo, dovoli prihod drugih vrst, kot sta bukev in gaber. Razgradnja listja teh vrst deluje v obratni smeri zmanjševanja kislote tal (Zelič, 1998).

Pavi kostanj pri nas cveti junija in v začetku julija, ker potrebuje za pričetek cvetenja temperaturo 15 – 18°C (Kotar in Brus, 1999). Zaradi relativno poznega cvetenja, ko ostale drevesne vrste že odcvetijo, ga s pridom izkoriščajo čebelarji oziroma čebele pri pridobivanju specifičnega medu in nektarja (Zelič, 1998).

Običajno obrodi vsako leto, vendar močnejše obrodi običajno na tri leta. Eno drevo daje v povprečju letno od 100 – 200 kg kostanjevih plodov. Plodovi kostanja so hranilni, poleg tega pa tudi zdravilni. Zdravijo krčne žile ter blažijo razne driske (Kotar in Brus, 1999). Plod pravega kostanja ima visoko hranljivo vrednost, vsebuje vitamine in minerale, škrob, sladkorje, maščobe, beljakovine, organske kisline in celulozo. Škrob, sladkorji, beljakovine in maščobe predstavljajo 80 % mase ploda. Plodovi so pomembni za prehrano ljudi. Uporabljajo se tudi za pitanje domačih živali in divjadi. V zadnjem času se njegova hranljiva vrednost v kombinaciji z mlekom izkorišča pri hitri vzreji telet pri pridobivanju najkvalitetnejšega mesa (Zelič, 1998).

V prvih letih pravi kostanj raste razmeroma počasi, v starosti 10 – 50 let je priraščanje hitrejše, potem se dinamika priraščanja zmanjša, a lahko ostane znatna do starosti več sto let. Količina lesne mase, ki jo kostanj proizvede je v splošnem manjša kot pri bukvi, razen

v primeru, ko gospodarimo na panju. Sposobnost odganjanja iz panja kostanj ohrani na toplih rastiščih do 100 in več let starosti (Kotar in Brus, 1999).

Pravi kostanj ima les z obarvano jedrovino, ki je v svežem stanju sivorumena, kasneje pa potemni do svetlo- oz. temnorjave barve. Beljava je ozka, umazano bela do rumenkasta. Les je dokaj trd in gost ($r_o = 530...590 \text{ kg/m}^3$). Je tipična venčastoporozna vrsta z razločnimi branikami (Čufar, 2006). Jedrovina vsebuje visok delež taninov, zato je manj izpostavljena napadu škodljivcev in se odlikuje s svojo trajnostjo. V gradbeništvu ga uporabljajo za tla in parkete, lesene konstrukcije, mostove, odre, brunarice, skodle in strešne konstrukcije ter v rudnikih in tunelih. Izdelujejo električne in telefonske stebre, železniške pragove, panelne, iverne in vezane plošče, uporaben pa je tudi za ladjedelništvo (Zelić, 1998). Skorjo in les, ki vsebujeta visok odstotek tanina, uporabljajo za pridobivanje visokokakovostnega tanina. V krajih, kjer je razvito vinogradništvo, so snovali kostanjeve gozdove za pridobivanje vinogradniških kolov. V ta namen so razvili tako imenovani panjevski ali nizki gozd (Kotar in Brus, 1999).

Pravemu kostanju škodujejo tako spomladanske kot jesenske pozebe ter zimski mraz, če pade temperatura pod -20°C . Prav tako mu škodujejo poletne suše. Odporen je proti vetru in viharjem. Pretežni del kostanjevih gozdov v Evropi sta uničili bolezen črnilovka in kostanjev rak (Kotar in Brus, 1999). Slednjega povzroča gliva *Cryphonectria parasitica*, ki s hifami in micelijem prodre predvsem v kambij pravega kostanja kjer izrablja hranilne snovi v celicah in z izločanjem patogenih snovi moti naravni metabolizem celic. Drevo se brani s povečano delitvijo celic da bi prišlo do preraščanja in zapore napadenega mesta, vendar mu to ne uspe in se na deblu pojavljajo odprte rakaste tvorbe. Prekinitev hranilnih tokov od korenin k listni površini in obratno povzroča sušenje celotnega drevesa. Širjenje bolezni v Sloveniji v zadnjih letih upada in zdi se kot da bi se bolezen ustavila. Znanstveniki so odkrili tri karakteristične tipe: virulentnega, hipovirulentnega in intermediarnega. Opazili so da imajo omenjeni tipi močnejše ali slabše sposobnosti medsebojnega povezovanja hif in izmenjavanja celičnih vsebin, ko se pojavijo skupaj. Tedaj so lahko medsebojno kompatibilni ali nekompatibilni. Hipovirulentna gliva izrinja virulentno in s tem se ustavi hitro umiranje pravega kostanja. Predpostavlja se, da je prišlo do naravne »samoregulacije« v biologiji te glive (Zelić, 1998).

Nevarnost pravemu kostanju predstavlja tudi žuželka *Dryocosmus kuriphilus* ali kostanjeva šiškarica. To je nova invazivna azijska vrsta ose šiškarice na pravem kostanju, ki je bila leta 2004 zanesena v Slovenijo s sadikami iz Piemonta v Italiji. Poškodbe se pojavljajo na poganjkih, osrednjih listnih žilah ter klasastih socvetjih na moških cvetovih. Škodo povzroča na gojenih in samoniklih vrstah kostanjev kjer uničuje poganjke in znižuje obrod plodov. Močnejši napadi lahko povzročijo slabitev in odmiranje starejših kostanjev, tudi mlajša pa lahko propadejo v sušnih razmerah ali v kombinaciji z drugimi stresnimi dejavniki (Jurc, 2009). V območjih Evrope, kjer uporabljajo kostanj za proizvodnjo lesa in utrditev brežin, pričakujejo resne težave, kot je npr. zmanjšanje priraščanja lesa ter erozijske pojave (OEPP/EPPO, 2005, cit. po Jurc, 2009). Pri nas se je vrsta udomačila in gozdarji leta 2009 beležijo njeno širjenje v sestojih *C. sativa* na Primorskem. Domnevamo, da je njeno širjenje nemogoče ustaviti in da je biotična kontrola z njenimi paraziti edina metoda, ki obeta preprečitev velikih poškodb kostanjevih sestojev in nasadov v Sloveniji (Jurc, 2009). Bolezen se je zelo razširila v srednji Italiji in resno ogroža kostanjeve sestoje (Romagnoli, osebna komunikacija).

Pravi kostanj (*Castanea sativa* Mill.) je potrebno ohraniti na njegovih naravnih rastiščih in to zato, ker je pomemben zaradi svoje ekološke, socialne in proizvodne funkcije. Pri ekoloških funkcijah je pomembna njegova vloga, ki jo ima pri izboljševanju rastišč zaradi svojega bogatega opada in močnega koreninskega pleteža, ki izboljšuje strukturo tal. Prispeva tudi k izboljšanju pestrosti živalskega sveta (Kotar in Brus, 1999). Naloga ohranjanja te drevesne vrste pa očitno predstavlja velik izziv glede na težave s katerimi se pravi kostanj sooča.

2.2 PRAVI KOSTANJ V SREDNJI ITALIJI

Opis stanja pravega kostanja v srednji Italiji povzemam po raziskavah Carboneja (2009).

V obdobju Würmske poledenitve je pravi kostanj najverjetneje uspeval v južni Italiji in bližnjih otokih, kjer je skoraj zagotovo tudi avtohton. Njegovi refugiji na Balkanu pa so tudi znanstveno potrjeni. Pravi kostanj je od časa Rimljanov do zgodnjega 19. stoletja močno razširjal človek, tako zaradi njegovih plodov kot tudi zaradi lesne proizvodnje v kratkih obhodnjah, kar je kmetijam prinašalo dohodek. Kot takšen je prinašal pomembne donose tudi samostanom, plemstvu in aristokraciji. Sledila je industrializacija, z njo pa urbanizacija in depopulacija podeželja. S tem so se pojavili tudi manj ugodni časi za pravi kostanj. Zaradi naraščajoče posestne problematike in neugodnih biotskih dejavnikov (črnilovka in kostanjev rak) je pravi kostanj preživel le v idealnih okoljih – na območjih z velikimi sestoji in zagotovljeno vsaj minimalno nego. Danes je slika drugačna, pravi kostanj se je zmožen naravno obnavljati, celo v srednji in severni Evropi. Ta vrsta je danes vseprisotna v italijanski gozdni flori, od severa do juga in je pomembna tako v krajinskem in hidrološkem kot tudi ekonomskem smislu na lokalnem in pokrajinskem nivoju.

V pokrajini Lazio je pravi kostanj na lestvici najbolj uporabljanih drevesnih vrst in se uvršča takoj za bukvijo. Ocenjujejo, da zavzema 9 % celotne gozdne površine v tej pokrajini. Pri podrobni analizi porazdelitve pravega kostanja v prostoru pa je vidno, da je odsoten v ravnih predelih, raste pa po gričevjih ter v submontanskem pasu Apeninov.

Povprečna letna produkcija pravega kostanja v Italiji, po izračunih Regione Lazio v letu 2002, je ocenjena na nekaj več kot 900.000 m³, od katerih je 63 % lesnih proizvodov, preostalo pa predstavljajo drugi proizvodi. Pokrajine Kalabrija, Lazio in Toskana k tej produkciji prispevajo kar 60 % delež. Poudariti je potrebno visoko produktivnost gozdov v pokrajini Lazio. V območju Castelli Romani znaša največji letni prirastek kar 14 m³/ha. Takšni prirastki so možni le na območjih s specifičnimi edafskimi pogoji na vulkanskih kameninah.

2.3 ANATOMSKI VIDIKI NASTANKA KSILEMSKE BRANIKE

Kambij v strogem pomenu besede predstavlja eno celico debelo plast vretenastih (fuziformnih) in trakovnih inicialk. V praksi je to plast celic težko ločiti od njihovih derivatov v lesu in skorji, zato pogosto uporabljamo naziv kambijeva cona, s katerim poimenujemo pas diferencirajočih se celic med ksilemom in floemom, skupaj s kambijevimi inicialkami (Čufar, 2006).

Kambijeve inicialke se delijo v različnih smereh. Tako ločimo radialne (antikline) in psevdotransverzalne delitve v radialni ravnini oz. pravokotno na površino debla in perikline delitve v tangencialno aksialni ravnini oz. vzporedno s površino debla. Perikline delitve so aditivne, z njimi nastajajo celice, ki jih kambij dodaja lesu ali skorji. Posledica je povečevanje premera debla (oziroma nastajanje branik) in debeline skorje. Ista inicialka se lahko predeli radialno ali tangencialno, vendar različna tipa delitve na potekata hkrati (Čufar, 2006).

Najznačilnejši elementi lesa listavcev so traheje, ki so specializirane za aksialni transport vode. Posamezna traheja je členjena cev nedoločene dolžine, sestavljena iz osnega niza trahejnih elementov. Pri venčasto poroznih vrstah, kamor sodi tudi pravi kostanj, so traheje ranega lesa bistveno večje od trahej kasnega lesa, njihov premer pa je lahko nad 200 μm . Premer trahej ni v zvezi z evolucijsko naprednostjo lesne vrste, pač pa predstavlja prilagoditev na okolje. Makroporni listavci, s premerom trahej nad 200 μm prevajajo vodo do 44 m/h kar pri venčasto poroznih vrstah predstavlja prilagoditev na sredozemsko klimo z deževnimi zimami in pomladmi ter sušnimi poletji. Spomladi, ob ugodni temperaturi in visoki vlažnosti tal obstaja potreba po dobri in hitri oskrbi krošnje z vodo, kar zagotavljajo traheje ranega lesa. Ob nastopu sušnega poletja pa za oskrbo rastline zadostujejo bistveno manjše traheje kasnega lesa (Čufar, 2006). Traheje kasnega lesa so bistveno manjše in tvorijo radialno usmerjena polja, kar povzroča plamenast videz na prečnem prerezu.

Osnovno tkivo lesa pravega kostanja je zgrajeno iz vlaken in sicer traheid ter libriformskih vlaken. Trakovi so enoredni in zato zelo ozki in s prostim očesom nerazločni. Trakovi so

pri listavcih izključno iz parenhimskih celic. Aksialni parenhim je apotrahealen difuzen in difuzen v agregatih, kar pomeni da ni v stiku s trahejami.

Trahejni členi, vlakna in aksialni parenhim so derivati vretenastih inicialk. Ob nastanku imajo vsi trije tipi celic obliko in dimenzije vretenastih inicialk, razlike med njimi pa nastanejo v fazi diferenciacije (Prislan, 2007).

Celice imajo v fazi površinske rasti tanke, primarne celične stene iz celuloze in hemiceluloz, ki se obarvajo z barvilom astra modro. Po zaključku površinske rasti, se na primarno steno v centripetalni smeri odloži večslojna sekundarna celična stena. Odlaganju celuloze in hemiceluloz sledi lignifikacija. Razvoj sekundarne celične stene je možno opazovati v polarizirani svetlobi, kjer se stena zaradi bolj ali manj vzporedno usmerjenih celuloznih mikrofibril sveti (Gričar, 2008). Končno oblikovana, lignificirana celična stena se na preparatu obarva rdeče, če preparat obarvamo s kombinacijo barvil astra modro in safranin. Rdeče obarvanje je posledica reakcije med barvilom safraninom in polifenolnimi komponentami lignina v celični steni (Prislan, 2007).

2.4 RAZISKAVE NASTANKA KSILEMSKE BRANIKE

Raziskave sezonske dinamike nastanka lesa pri različnih drevesnih vrstah so trenutno v polnem razmahu v številnih evropskih laboratorijih (Gričar, 2009). Večina raziskav je opravljena na iglavcih, manjši delež pa tudi na listavcih, in sicer bukvi (npr. Schmitt in sod., 2000, Prislan, 2007, Van den Werf in sod., 2007, Čufar in sod., 2008a, b), javorolistni platani, divjem kostanju in ostrolistnem javorju v urbanem okolju (Marion, 2007, Marion in sod., 2007) in nekaterih venčastoporoznih listavcih, kot npr. robinija (Schmitt in sod., 2000), dob (Van den Werf in sod., 2007), graden (Gričar, 2008). Do sedaj je bilo malo raziskav opravljenih glede sezonske dinamike nastanka ksilemske branike na pravem kostanju: Ciampi je leta 1951 opravil raziskavo na dveh drevesih v Toskani (Italija), Fonti s sodelavci leta 2007 na pravih kostanjih na južni strani švicarskih Alp (Fonti in sod., 2008), skupina raziskovalcev pod vodstvom prof. Čufarjeve pa je opravila raziskavo na petih drevesih pravega kostanja iz okolice Viterba v pokrajini Lazio (Italija) (Čufar in sod., v tisku).

2.5 RASTNE FUNKCIJE

Vsi živi organizmi imajo sposobnost, da na različnih stopnjah svojega življenja spremenijo svojo obliko, velikost ali pa številčnost. Vsi trije procesi so tesno povezani in pojem »rast« lahko uporabljamo za vsakega od teh treh procesov (Hunt, 1981, cit. po Kotar, 2005).

Pri prikazovanju zakonitosti rasti morajo biti odstranjeni vsi vplivi povzročiteljev manjših motenj in odmikov v rasti. Običajno je rast zadovoljivo prikazana z dvo, tri ali štiri parameterskimi funkcijami. Rastne krivulje so tudi dober pripomoček pri ugotavljanju sprememb v rasti, če je prišlo na rastišču do bistvenih sprememb pri posameznih rastiščnih dejavnikih. Rastne krivulje so bolj zanesljive, če so ugotovljene na osnovi rasti večjega števila dreves, zato je izračun rastnih krivulj največkrat identičen izračunu regresijskih krivulj, kjer podatkovnemu roju točk, ki smo ga pridobili z analizo večjega števila dreves, prilagodimo regresijsko črto (Kotar, 2005).

Najboljši pregled vseh rastnih funkcij do konca prejšnjega stoletja je objavil A. K. Kiviste iz Estonije (Zeide, 1993), ki je opisal in ovrednotil kar 75 rastnih funkcij. Podroben pregled podaja tudi Todorović v Glasniku Šumarskog fakulteta v Beogradu (1961), vendar je slednji starejšega izvora, znanost pa je od takrat zelo napredovala na tem področju. Zadovoljiv pregled danes najbolj uporabljenih funkcij nam podaja Zeide (1993), ki je teoretično analiziral 12 funkcij.

Veliko avtorjev se je lotilo primerjanja posameznih funkcij na podlagi določenih podatkov (npr. Zeide, 1989, Zhang, 1997, Yuancai in sod., 1997, Fengri in sod., 1997). Korfovo rastno funkcijo je podrobneje opisal in razčlenil Fengri (2000), z rastno funkcijo Chapman-Richards (ali Bertalanffy-Richards) sta se ukvarjala Lei in Zhang (2004). Večina objav obravnava obnašanje rastnih funkcij glede na določene sestojne kazalce, kot so višina in debelina dreves. Rossi in sod. (2003) pa so se lotili prikaza aplikacije rastne funkcije Gompertz na študijo nastanka lesa in razvoja celic.

3 MATERIALI IN METODE

3.1 OPIS RASTIŠČA

Sezonsko dinamiko nastanka ksilemske branike smo proučevali na desetih drevesih pravega kostanja (*Castanea sativa* Mill.) v panjevskem sestoju občinskega gozda. Gozd se nahaja v Pian dei Fraticelli na območju Monti Cimini, ki je del Comune di Soriano mesta Viterbo (približno 42°17' severno, 12°12' vzhodno) v Italijanski pokrajini Lazio.

Podnebje je tipično mediteransko. Količina letnih padavin v bližnjem Soriano nel Cimino je 741 mm (Regione Lazio). Največ padavin je v pozni jeseni in pozimi (od oktobra do decembra), najbolj suho obdobje pa je poleti (julij, avgust). Povprečna letna temperatura je 15,18°C, najtoplejši mesec je avgust (24,9°C), najhladnejši pa januar s povprečno temperaturo 6,8°C (Servizio Idrografico, 1978-2008). Snežne padavine so redke in se pojavljajo v le treh do štirih dneh na leto.

Parcela ima severno ekspozicijo, nahaja se na 850 m nadmorske višine s povprečnim naklonom 27 %. Vsa vzorčna drevesa so del 31-letnega panjevskega gozda, ki je bil nazadnje redčen v letu 2006. Fitosanitarni pogoji so zadovoljivi kljub prisotnosti kostanjevega raka (*Cryphonectria parasitica* M.). Poleg pravega kostanja (*Castanea sativa* Mill.) in bukve (*Fagus sylvatica* L.) so tu prisotne še druge drevesne vrste: mali jesen (*Fraxinus ornus* L.), topokrpi javor (*Acer obtusatum* W.), navadni beli gaber (*Carpinus betulus* L.) in navadni črni gaber (*Ostrya carpinifolia* Scop.). Temeljnica sestoja znaša 39,74 m²/ha, lesna zaloga pa 312,54 m³/ha. Na parceli je v povprečju 825 dreves na hektar s povprečnim premerom 8 cm.

Vzorčna drevesa se nahajajo v dveh različnih sestojih, so semenskega izvora in so bila izpuščena iz redčenj leta 2006. Sestoja smo ločili po povprečni višini dreves na visokega in nizkega. Drevesa A, B C, D, E in H so rasla v nizkem, drevesa F, G, L in M pa v visokem sestoju. Na nizkem sestoju je bilo opravljeno šibko redčenje, na visokem pa zmerno redčenje. Razlike med njima so vidne v preglednici (Preglednica 1).

Preglednica 1: Razlike med sestojema. D – premer drevesa (cm), h – višina drevesa (m), KR – kostanjev rak, MV – mrtve veje, EP – epikormski poganjki, UK – ukrivljenost, RS – razpoke na skorji, KOL – kolesivost. Pomen števil v stolpcih od 4 do 9: 0 – odsotnost znaka, 1 – rahla prisotnost znaka, 2 – zmerna prisotnost znaka, 3 – močna prisotnost znaka.

1	2	3	4	5	6	7	8	9
DREVO	D	h	KR	MV	EP	UK	RS	KOL
	NIZEK SESTOJ							
A	18	18.1	1	2	1	0	2	2
B	13	13.2	2	3	1	0	1	0
C	18	14.6	2	2	1	0	1	1
D	18.5	15.3	3	3	2	1	1	3
E	17	15.3	2	2	0	0	2	0
H	16	14.4	1	3	0	1	0	0
povprečje	16,75	15,15	1,83	2,50	0,83	0,33	1,17	1,00
	VISOK SESTOJ							
F	20.1	21	0	2	2	0	2	2
G	21	18.7	2	1	2	0	1	3
L	22	19	0	3	3	1	2	0
M	18	17	0	1	3	0	0	0
povprečje	20,28	18,93	0,50	1,75	2,5	0,25	1,25	1,25

Rastišče Pian dei Fraticelli sodi v območje toploljubnih bukovih gozdov. Matična podlaga je vulkanskega nastanka. Lastnosti tal so sledeče:

- L-horizont (O_L) je bogat z bukovim in kostanjevim opadom.
- F-horizont (O_F , delno razkrojeni rastlinski ostanki) je prav tako zmerno bogat, razkrajajo pa ga povečini živali iz rodu členonožcev (*Arthropoda*).
- Humusni površinski horizont predstavlja horizont A (horizont, ki ima humusne organske snovi povezane z mineralnimi snovmi v tako imenovane organsko-mineralne komplekse), ki je globok do 34 cm, je temno-rjave barve. Agregacijski kompleksi so povprečne velikosti in niso zelo očitni vendar tvorijo oblike podobne poliedrični. Rastlinska in živalska aktivnost je v tem horizontu zelo velika.

Fizikalno-kemijske analize prsti do globine 50 cm so pokazale, da primanjkuje kalcija. Kemijske lastnosti so sicer zelo dobre z izjemo pomanjkanja fosforja, kar je v tesni povezavi z odsotnostjo kalcija in koloidnih elementov. Kljub temu pa nenehna prisotnost bogatega opada in humifikacija le-tega omogoča zadovoljivo zalogo mineralnih elementov. Takšni pogoji pa ravno ustrezajo pravemu kostanju.

3.2 ODVZEM VZORCEV

Za odvzem vzorcev smo uporabili metodo odvzema mikro izvrtkov. Primerna je zato, ker omogoča študij nastanka ksilemske in floemske branike na celičnem nivoju. Zaradi majhnih dimenzij izvrtkov drevo z odvzemom minimalno poškodujemo.

3.2.1 Odvzem vzorcev intaktnih tkiv

Odvzem vzorcev iz živih dreves je potekal v okviru magistrske naloge Martine Cherubini. Vzorčenje je potekalo celotno vegetacijsko obdobje v letu 2009, od 16. marca do 28. oktobra 2009 na vseh desetih drevesih v približno tedenskih intervalih. V preglednici (Preglednica 2) so navedeni datumi in zaporedni dnevi odvzema vzorcev.

Opravili smo tudi kontrolni odvzem vzorca na pravem kostanju v Ljubljani (območje Rožnika) na dan 06. maj 2010, ki smo ga uporabili za primerjavo kakovosti odvzemanja vzorcev in njihove priprave med načinom dela v Ljubljani in Viterbu. Iz tega vzorca smo poleg prečnega (Slika 5 A) naredili tudi tangencialni prerez (Slika 5 C). Tako smo dobili tudi boljšo prostorsko predstavo o mikroskopski zgradbi lesa pravega kostanja.

Preglednica 2: Pregled datumov odvzema vzorcev tkiv pri desetih drevesih pravega kostanja iz rastišča Pian dei Fraticelli v letu 2009.

Odvzem	Datum	Dan v letu
1	16/03/2009	75
2	24/03/2009	83
3	31/03/2009	90
4	07/04/2009	97
5	13/04/2009	103
6	23/04/2009	113
7	29/04/2009	119
8	06/05/2009	126
9	14/05/2009	134
10	20/05/2009	140
11	29/05/2009	149
12	05/06/2009	156
13	11/06/2009	162
14	17/06/2009	168
15	24/06/2009	175
16	01/07/2009	182
17	09/07/2009	190
18	16/07/2009	197
19	24/07/2009	205
20	29/07/2009	210
21	06/08/2009	218
22	13/08/2009	225
23	21/08/2009	233
24	28/08/2009	240
25	03/09/2009	246
26	10/09/2009	253
27	17/09/2009	260
28	24/09/2009	267
29	01/10/2009	274
30	09/10/2009	282
31	15/10/2009	288
32	28/10/2009	301

Vzorke so odvezemali s treforjem (Rosi s sod., 2006), njihov premer je bil 1,8 mm, dolžina pa približno 15 mm. Zajemali so celoten floem, kambijevo cono, ksilemsko braniko tekočega leta in del branike iz rastle sezone 2008. Vzorci so bili odvzeti na prsni višini (1,3 m nad tlemi) po celotnem obodu drevesa. Pri vsakem odvzemu so vzeli po en vzorec na drevo. Razmak med posameznimi luknjami na deblu je znašal vsaj 10 cm. Na ta način so se izognili kalusnem tkivu in poranitvenem lesu, ki nastane kot odziv kambijeve cone na mehanske poškodbe pri predhodno odvzetih sosednjih vzorcih. Takoj po odvzemu iz drevesa smo vzorce shranili v 70 % etanolu.

3.3 PRIPRAVA PREPARATOV

Prvi korak pri laboratorijskem delu raziskave je predstavljal zmanjšanje vzorcev na optimalno velikost. Odstranili smo odvečni ksilem in pustili le predhodno braniko. Odstranili smo tudi zunanji del skorje. Sledila je označitev prečnega prereza vzorca s svinčnikom. Vzдолж izvirka (na prečni površini) naredimo črto, ki nam v kasnejših fazah raziskave omogoča prepoznati prečni prerez. Vzorec nato postavimo v histo kaseto na kateri označimo črko vzorca in datum, ko je bil opravljen odvzem posameznega vzorca.

3.3.1 Infiltracijski postopek

Vzorci namakamo v različne koncentracije etanola in v reagentu bio-clear, kot je zapisano spodaj:

- 30 minut v 70 % etanolu
- 30 minut v 95 % etanolu
- 30 minut v 100 % etanolu
- 30 minut v raztopini etanol/bio-clear 1:1
- 30 minut v raztopini etanol/bio-clear 1:3
- 3-krat po 15 minut v 100 % bio-clear

3.3.2 Vklapljanje vzorcev v parafin

Po tem, ko smo histo kasete z vzorci namakali v bio-clearu, jih moramo čez noč pustiti v aluminijastih posodah s tekočim parafinom pri 60°C. Dan pozneje potrebujemo jeklene posodice, plastična ogrodja za vklapljanje, tekoči parafin, pinceto in manjšo posodo z navadno vodo.

Na grelno ploščo (60°C) postavimo stekleni kozarec s tekočim parafinom, jeklene posodice in aluminijasto posodo z vzorci v tekočem parafinu. Parafin moramo vedno ohranjati v tekočem stanju.

Vzorci poševno postavimo na jeklene posodice skupaj s plastičnimi ogrodji. Prečni del vzorca mora biti obrnjen navzgor tako, da je vidna oznaka, ki smo jo dan prej naredili s

svinčnikom. S pinceto primemo vzorec in počasi vlivamo parafin do roba jeklene posodice pri tem pa pazimo, da ne nastajajo mehurčki, nato vse skupaj (jeklene posodice, vzorec v tekočem parafinu in plastična ogrodja za vklapljanje) postavimo v posodo z vodo kjer ohlajamo parafin, medtem pa zopet vlivamo parafin do roba plastičnih ogrodij in pustimo 10 minut da se ohladi. Po desetih minutah posodico postavimo v zmrzovalnik in pustimo 20 minut, nato jekleno posodo zlahka odstranimo.

3.3.3 Rezanje z rotacijskim mikrotomom

Preden se lotimo rezanja, moramo zmanjšati površino, ki jo režemo. To storimo tako, da odstranimo odvečni parafin in ga piramidasto oblikujemo, pri tem pa pazimo, da ne poškodujemo izvrtkov. Z mikrotomom nato odstranimo še odvečni parafin nad izvrtki. To storimo tako, da vzorce, ki smo jih pred vklapljanjem v parafin postavili pod kotom 45°, namestimo na mikrotom z navzdol orientiranim floemskim delom. Odvečni parafin nad vzorcem odstranimo, pri tem pa smo pozorni, da z rezanjem pridemo do izvrtka. Ko se to zgodi, odrežemo še tolikšen del vzorca skupaj s parafinom, da je izvrtek odrezan po celotni dolžini. S tem omogočimo, da voda omehča ksilemsko tkivo. Tako pripravljene vzorce pustimo v vodi čez noč, še bolje pa jih je v vodi pustiti še kakšen dan dlje.

Rezanje prečnih prerezov tkiv smo opravili s polavtomatskim rotacijskim mikrotomom Leica RM 2245 (Slika 2). Uporabljali smo nizkoprofilne jeklene nože za rezanje trših tkiv Feather N34H za enkratno uporabo. Za učinkovito porabo celotnega rezila posameznega noža smo za rezanje najprej uporabili del ob robu noža ter nato nadaljevali po celotni širini rezila tako, da smo del obrabljenega noža vedno označili in nadaljevali na neobrabljenem delu (Prislan, 2007). Na mikrotomu smo nastavili debelino rezila na 9 µm. Odrezane rezine smo najprej postavili v posodo s hladno vodo, nato pa smo jih postavili v vodo, ogreto na približno 40°C, ki je bila v posodi na primerno ogreti grelni plošči. S prenosom v toplejšo vodo se rezine nekoliko raztegnejo in izravnavajo. Rezine smo nato z objektnim steklom, na katero smo napisali vse potrebne informacije o vzorcu (ime zaporednega drevesa, datum odvzema) in ga premazali z albuminom (za boljši oprijem), pobrali iz vode. Objektna stekla smo položili v peč, ogreto na približno 65°C za približno 30 min. S tem se je parafin na objektnih steklih stalil. Vzorce nato operemo:

- 15 minut v 100 % raztopini bio-clear,
- dvakrat po 15 minut v 100 % etanolu.



Slika 2: Rotacijski mikrotom Leica RM 2245.

3.3.4 Selektivno barvanje

Paziti moramo, da se rezine nikoli ne posušijo. Po namakanju v etanolu, jih namakamo v mešanici safranina in astra modro (raztopina 40 mg safranina in 150 mg astra modro v 100 ml demineralizirane vode z dodatkom 2 ml očetne kisline) (van der Werf s sod., 2007), kjer ostanejo 10 minut, nato pa jih zopet izpiramo v etanolu in dehidriramo. Z obarvanjem lahko razločimo del, kjer se začne lignifikacija (rdeče obravano tkivo) in del, kjer je prisotna samo celuloza (modro obarvano tkivo).

Rezine na objektnem steklu smo po izpiranju v etanolu prepojili z vklopnim medijem Euparal, prekrili s krovnim steklom, odstranili mehurčke, ujete v vklopnem mediju in preparate obtežili z 200 g težkimi kovinskimi utežmi. Tako obtežene smo jih pustili vsaj 24 ur, da se je smola strdila.

3.4 ANALIZA SLIKE

Za opazovanje, štetje in merjenje celic ter tkiv v različnih fazah diferenciacije smo uporabili svetlobni mikroskop Nikon Eclipse 800 (svetlo polje in polarizirano svetlobo), digitalno kamero DS-Fi1 in sistem za analizo slike NIS Elements BR3. Največkrat smo uporabili objektivne z 2x, 4x, 10x in 20x povečavo, sliko pa smo opazovali na zaslonu osebnega računalnika (Slika 3). Program Nis Elements BR3 smo uporabili za opazovanje žive slike na mikroskopu, merjenje širin branik in štetje celic v kambijevi coni. Širino branike in kambijeve cone smo na vsakem vzorcu izmerili vzdolž treh radialnih nizov (Slika 4) in upoštevali povprečno izmerjeno vrednost. Pozorni smo bili na vsakokratno spremembo povečave na mikroskopu, saj smo skladno s povečavo morali izbrati ustrezno kalibracijo zanjo, nakar smo lahko pričeli s štetjem in merjenjem dolžin. Program NIS Elements se je izkazal kot zelo praktičen pripomoček, saj pri merjenju dolžin in štetju celic sam izračuna povprečno vrednost meritev in omogoča prenos podatkov v program Microsoft Excel. Vse izvedene meritve smo shranili in obdelali v programu Microsoft Excel, kjer smo tudi narisali grafe. Podatke smo nato statistično obdelali s programom SPSS Statistics 17.0.



Slika 3: Svetlobni mikroskop Nikon Eclipse 800, digitalna kamera DS-Fi1, v ozadju sistem za analizo slike NIS Elements BR3.

3.5 MERITVE

Izdelane preparate smo zaradi hitrejšega merjenja kronološko sortirali. Pred začetkom merjenja smo preparate pregledali pod mikroskopom in ocenili njihovo primernost za meritve. Za vsak odvzem smo imeli po dva preparata, vsak od njiju pa je vseboval vsaj pet rezin prečnih prereзов, zato smo za merjenje izbrali najprimernejše rezine.

Merili smo širino branike vzdolž vsaj treh radialnih nizov tekoče branike 2009 (Slika 4). Meritev kambijeve cone in štetja kambijevih celic nismo mogli opraviti zaradi porušene strukture celic v kambijevi coni v mesecih njihove največje občutljivosti (med aprilom in septembrom). Pri izbranih preparatih smo preverili tudi v kateri fazi diferenciacije se nahajajo celice. Različne faze smo določili z opazovanjem preparatov pod polarizirano svetlobo, indikator pa je bilo tudi obarvanje z barvili safranin in astra modro. Celulozo in hemiceluloze smo prepoznali po modri obarvanosti, rdeče obarvane celične stene pa so kazale, da se je lignin inkrustriral v steno, s čimer se je diferenciacija vlaken in trahej zaključila.

Na vzorcih s konca rastne sezone smo izmerili tudi širino ranega lesa. Meritve smo opravili na vzorcih odvzetih 24. septembra ter 1., 9. in 15. oktobra 2009, ko je kambijeva aktivnost prenehala.



Slika 4: Meritve širin branik. Vsak vzorec smo izmerili vzdolž treh radialnih nizov in izračunali povprečje.

3.6 STATISTIČNA OBDELAVA PODATKOV IN RASTNE FUNKCIJE

3.6.1 Statistična obdelava

Pri vsakem vzorcu smo izračunali povprečno širino branike (X_i) 2009 na osnovi treh izmerjenih radialnih nizov (Slika 4: Meritve širin branik. Vsak vzorec smo izmerili vzdolž treh radialnih nizov in izračunali povprečje.). Na enak način smo izračunali tudi povprečno širino ranega lesa:

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

X – širina branike ali ranega lesa, i – datum odvzema vzorca, n – število meritev, j – zaporedna meritev na posameznem vzorcu.

Podatke smo obdelali s programoma SPSS Statistics 17.0, kjer smo izvedli nelinearno regresijo, in Microsoft Excel kjer smo tudi narisali grafe.

Za primerjavo funkcij smo upoštevali determinacijski koeficient R^2 , ki ga izračuna program SPSS Statistics 17.0, izračunali pa smo še povprečno razliko med izmerjenimi in teoretičnimi širinami ksilemske branike (Me_i – enačba ... (2)) in standardni odklon (SD), ki je prikazan v enačbi ... (3):

$$Me_i = \frac{X_i - Y_i}{n} \quad \dots(2)$$

Me_i – povprečna razlika med izmerjenimi in teoretičnimi širinami branike, X – izmerjena širina branike, Y – teoretična širina branike, i – datum odvzema vzorca, n – število izmerjenih širin branike.

$$SD = \sqrt{\frac{\sum (e_i - Me_i)^2}{n - 1}} \quad \dots(3)$$

SD – standardni odklon, e_i – razlika med izmerjenimi in teoretičnimi širinami ksilemske ranike, Me_i – povprečna razlika med izmerjenimi in teoretičnimi širinami ksilemske ranike, i – datum odvzema vzorca, n – število izmerjenih širin ranike.

Za testiranje razlik med sestojema smo uporabili T-test. Izračun je bil izveden v programu SPSS Statistics 17.0.

3.6.2 Rastne funkcije

Za izravnavo pridobljenih podatkov smo uporabili in med seboj primerjali štiri funkcije. Te funkcije so Gompertz, Chapman-Richards, Korf in Weibull.

3.6.2.1 Rastna funkcija Gompertz

Gompertz je že leta 1825 oblikoval krivuljo z namenom, da bi predstavil starostno porazdelitev človeške populacije. Kot rastno funkcijo pa jo je uporabil Winsor leta 1932. Enačba izraža relativni prirastek kot elementarno eksponentno funkcijo $\left(\frac{Y'(t)}{Y(t)} = p = bce^{-ct}\right)$ (Kotar, 2005). Zaradi tega so jo nekateri imenovali tudi »funkcija eksponentnega razkroja« (Laird s sod., 1965, citirano po Zeide, 1993). Trenutno je ta funkcija najbolj priljubljena za opis kambijeve aktivnosti in nastanka ksilemske ranike.

Rastna funkcija ima naslednjo obliko:

$$Y(t) = Ae^{-be^{-ct}} \quad \dots(4)$$

$Y(t)$ – teoretična širina tekoče ranike, t – dan v letu, A – zgornja asimptota, ki ponazarja maksimalno širino ranike, b – mesto na osi x, ki oceni začetek kambijeve aktivnosti, c – mesto prevoja krivulje.

Za vseh deset dreves smo določili mesto prevoja modelnih krivulj. Prevoj Gompertzove funkcije se ujema z najvišjo vrednostjo prvega odvoda funkcije $Y'(t)$, kar imenujemo tudi kulminacija tekočega prirastka:

$$Y'(t) = Ace^{-e^{(b-ct)}} e^{(b-ct)} \quad \dots(5)$$

$Y'(t)$ – dnevni (tekoči) prirastek branike, t – dan v letu, A – zgornja asimptota, ki ponazarja maksimalno širino branike, b – mesto na osi x , ki oceni začetek kambijeve aktivnosti, c – mesto prevoja krivulje. S prvim odvodom Gompertzove funkcije smo izračunali dnevni ksilemski prirastek branike, s čimer smo dobili podatek o stopnji debelinske rasti za vsako drevo.

Kulminacija tekočega prirastka nastopi takrat, ko velikost rastnega znaka $Y(t)$ doseže vrednost:

$$Y(t) = \frac{A}{e} \quad \dots(6)$$

Vrednost kulminacije tekočega prirastka (Y'_{max}) lahko izračunamo s parametri A in c Gompertzove funkcije:

$$Y'_{max} = \frac{cA}{e} \quad \dots(7)$$

Y'_{max} – vrednost kulminacije tekočega (dnevnega) prirastka, k – mesto prevoja krivulje, A – zgornja asimptota, ki ponazarja maksimalno širino branike.

Pri maksimalni vrednosti prvega odvoda $Y'(t)$ (točka infleksije oziroma prevoj funkcije) je drugi odvod (rastni pospešek) $Y''(t) = 0$:

$$Y''(t) = Y'(t)c(e^{(b-ct)} - 1) = 0 \quad \dots(8)$$

Y'' – rastni pospešek, Y' – dnevni prirastek branike, t – dan v letu, b – mesto na osi x , ki oceni začetek kambijeve aktivnosti, c – mesto prevoja funkcije.

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

Drugi odvod Y'' je enak 0 pri:

$$t' = \frac{b}{c} \quad \dots(9)$$

t' – čas kulminacije tekočega prirastka ksilemske branike, b – mesto na osi x , ki oceni začetek kambijeve aktivnosti, c – mesto prevoja krivulje.

Za ugotavljanje nastanka večine ksilemske branike smo uporabili povprečni dnevni prirastek (MDI). Izračunali smo ga tako, da smo razmerje med teoretično širino ksilemske branike (Y_i) in časom njenega nastanka (t_i) pomnožili s 100:

$$MDI = \frac{Y_i}{t_i} \times 100 \quad \dots(10)$$

MDI – povprečni dnevni prirastek, Y_i – teoretična širina ksilemske branike v času t_i .

S pomočjo orodja »solver« v programu Microsoft Excel smo poiskali čas kulminacije povprečnega prirastka ($tMDI$), maksimum funkcije MDI smo nato izračunali tako, da smo v enačbo ... (10) namesto t_i vstavili $tMDI$ in tako smo dobili vrednost kulminacije povprečnega prirastka MDI_{max} :

$$MDI_{max} = \frac{Ae^{-be^{-ctMDI}}}{t_{MDI}} \times 100 \quad \dots(11)$$

3.6.2.2 Rastna funkcija Chapman-Richards

To funkcijo je uporabil že Mitscherlich pri zakonu o zmanjševanju donosa v primeru, ko so faktorji učinka ($c_1, c_2, \dots, c_k$) več rastnih dejavnikov enaki (Kotar, 2005). Leta 1959 jo je Richards uporabil kot rastno funkcijo in od takrat je najbolj uporabljana rastna funkcija v študijah drevesne in sestoje rasti (Zeide, 1993).

Rastna funkcija ima naslednjo obliko:

$$Y(t) = A(1 - e^{-bt})^c \quad \dots(12)$$

$Y(t)$ – teoretična širina ksilemske branike, t – dan v letu, A – zgornja asimptota, ki ponazarja maksimalno širino branike, b in c – parametra funkcije.

Za vseh deset dreves smo določili mesto prevoja modelnih krivulj. Prevoj funkcije Chapman-Richards se ujema z najvišjo vrednostjo prvega odvoda funkcije $Y'(t)$, kar imenujemo tudi kulminacija tekočega prirastka:

$$Y'(t) = Abce^{-bt}(1 - e^{-bt})^{c-1} \quad \dots(13)$$

$Y'(t)$ – dnevni (tekoči) prirastek branike, t – dan v letu, A – zgornja asimptota, ki ponazarja maksimalno širino branike, b in c – parametra funkcije. S prvim odvodom funkcije Chapman-Richards smo izračunali dnevni ksilemski prirastek branike, s čimer smo dobili podatek o stopnji debelinske rasti za vsako drevo.

Pri maksimalni vrednosti prvega odvoda $Y'(t)$ (točka infleksije oziroma prevoj funkcije) je drugi odvod (rastni pospešek) $Y''(t) = 0$:

$$Y''(t) = Y'(t) \left(\frac{b(ce^{-bt} - 1)}{1 - e^{-bt}} \right) \quad \dots(14)$$

$Y''(t)$ – rastni pospešek, $Y'(t)$ – dnevni prirastek branike, t – dan v letu, b in c – parametra funkcije.

Pri maksimalni vrednosti prvega odvoda (kulminacija tekočega prirastka – Y'_{max}) je drugi odvod enak 0. Čas kulminacije dnevnega prirastka (t') zato lahko izrazimo s parametroma c in b :

$$t' = \frac{\ln c}{b} \quad \dots(15)$$

t' – čas kulminacije tekočega prirastka ksilemske branike, b in c – parametra funkcije.

Širino ksilemske branike ob času kulminacije tekočega prirastka ($Y(t')$) dobimo, če v enačbo ... (12) vstavimo t' . Vrednost kulminacije tekočega prirastka (Y'_{max}) nato lahko izračunamo:

$$Y'_{max} = \frac{Y(t')bc}{c-1} \quad \dots(16)$$

Y'_{max} – vrednost kulminacije tekočega prirastka, $Y(t')$ – širina ksilemske branike ob času kulminacije tekočega prirastka, b in c – parametra funkcije.

Parametra b in c je možno izraziti s časom kulminacije tekočega prirastka (t'):

$$b = \frac{\ln c}{t'} \quad \dots(17)$$

$$c = e^{bt'} \quad \dots(18)$$

Parameter c pa je možno izraziti tudi z razmerjem med kulminacijo tekočega prirastka (Y'_{max}) in povprečnim prirastkom ob prevoju funkcije (Y/t'):

$$\frac{c \ln c}{c-1} = \frac{Y'_{max}}{Y/t'} \quad \dots(19)$$

c – parameter funkcije, Y'_{max} – vrednost kulminacije tekočega prirastka, Y – širina ksilemske branike ob kulminaciji tekočega prirastka, t' – čas kulminacije tekočega prirastka ksilemske branike.

Za ugotavljanje nastanka večine ksilemske branike smo uporabili povprečni dnevni prirastek (MDI). Izračunali smo ga tako, da smo razmerje med teoretično širino ksilemske branike (Y_i) in časom njenega nastanka (t_i) pomnožili s 100:

$$MDI = \frac{Y_i}{t_i} \times 100 \quad \dots(20)$$

MDI – povprečni dnevni prirastek, Y_i – teoretična širina ksilemske branike v času t_i .

S pomočjo orodja »solver« v programu Microsoft Excel smo poiskali čas kulminacije povprečnega prirastka (t_{MDI}), maksimum funkcije MDI smo nato izračunali tako, da smo v enačbo ... (20) namesto t_i vstavili t_{MDI} in tako smo dobili vrednost kulminacije povprečnega prirastka MDI_{max} :

$$MDI_{max} = \frac{A(1 - e^{-bt_{MDI}})}{t_{MDI}} \times 100 \quad \dots(21)$$

3.6.2.3 Rastna funkcija Korf

Korf je svojo funkcijo objavil že leta 1939, pozneje pa so jo večkrat uporabili pri ponazoritvi višinske rasti. Še posebej primerna je za ponazoritev debelinske rasti (Kotar, 2005).

Rastna funkcija ima naslednjo obliko:

$$Y(t) = Ae^{-bt^{-c}} \quad \dots(22)$$

$Y(t)$ – teoretična širina ksilemske branike, t – dan v letu, A – zgornja asimptota, ki ponazarja maksimalno širino branike, b in c – parametra funkcije.

Za vseh deset dreves smo določili mesto prevoja modelnih krivulj. Prevoj Korfove funkcije se ujema z najvišjo vrednostjo prvega odvoda funkcije $Y'(t)$, kar imenujemo tudi kulminacija tekočega prirastka:

$$Y'(t) = Abct^{-c-1}e^{-bt^{-c}} \quad \dots(23)$$

$Y'(t)$ – dnevni (tekoči) prirastek branike, t – dan v letu, A – zgornja asimptota, ki ponazarja maksimalno širino branike, b in c – parametra funkcije. S prvim odvodom Korfove funkcije smo izračunali dnevni ksilemski prirastek branike, s čimer smo dobili podatek o stopnji debelinske rasti za vsako drevo.

Pri maksimalni vrednosti prvega odvoda $Y'(t)$ (točka infleksije oziroma prevoj funkcije) je drugi odvod (rastni pospešek) $Y''(t) = 0$:

$$Y''(t) = Abct^{-c-2}e^{-bt^{-c}}(-c-1+bct^{-c}) = 0 \quad \dots(24)$$

$Y''(t)$ – rastni pospešek, A – zgornja asimptota, ki ponazarja maksimalno širino branike, t – dan v letu, b in c – parametra funkcije.

Za nadaljnje računanje karakterističnih točk si lahko pomagamo s Korf-A enačbo (Feng-ri s sod., 2000):

$$Y(t) = Ae^{-b(t+k)^{\frac{1}{p-1}}} \quad \dots(25)$$

V enačbi ... (25) je izraz $-\frac{1}{p-1}$ enak parametru c v enačbi ... (22). Iz tega razmerja z lahko izrazimo parameter p , ki nam bo v veliko pomoč pri računanju karakterističnih točk:

$$p = -c^{-1} + 1 \quad \dots(26)$$

Zdaj lahko izrazimo čas kulminacije tekočega prirastka (t'):

$$t' = \left(\frac{b}{p}\right)^{p-1} \quad \dots(27)$$

t' – čas kulminacije tekočega prirastka ksilemske branike, b in p – parametra funkcije.

Teoretično širino ksilemske branike v času kulminacije tekočega prirastka ($Y(t')$) lahko izrazimo s parametroma A in p :

$$Y(t') = Ae^{-p} \quad \dots(28)$$

$Y(t')$ – teoretična širina branike ob kulminaciji tekočega prirastka, A - zgornja asimptota, ki ponazarja maksimalno širino branike, p – parameter funkcije.

Vrednost kulminacije tekočega prirastka (Y'_{max}) izrazimo s parametri A , b in p Korfove funkcije:

$$Y'_{max} = A \left(\frac{b}{p-1} \right)^{-(p-1)} \left(\frac{p-1}{p} \right)^{-p} e^{-p} \quad \dots(29)$$

Y'_{max} – vrednost kulminacije tekočega prirastka, A - zgornja asimptota, ki ponazarja maksimalno širino branike, b in p – parametra funkcije.

Za ugotavljanje nastanka večine ksilemske branike smo uporabili povprečni dnevni prirastek (MDI). Izračunali smo ga tako, da smo razmerje med teoretično širino ksilemske branike (Y_i) in časom njenega nastanka (t_i) pomnožili s 100:

$$MDI = \frac{Y_i}{t_i} \times 100 \quad \dots(30)$$

MDI – povprečni dnevni prirastek, Y_i – teoretična širina ksilemske branike v času t_i .

Da bi izračunali vrednost kulminacije povprečnega prirastka (MDI_{max}), smo najprej izračunali čas kulminacije povprečnega prirastka (t_{MDI}) s sledečo enačbo:

$$t_{MDI} = \left(\frac{b}{p-1} \right)^{p-1} \quad \dots(31)$$

V enačbo ... (30) smo namesto t_i vstavili t_{MDI} in tako izračunali vrednost kulminacije povprečnega prirastka (MDI_{max}).

$$MDI_{max} = \frac{Ae^{-bt_{MDI}^{-c}}}{t_{MDI}} \times 100 \quad \dots(32)$$

3.6.2.4 Rastna funkcija Weibull

Ta funkcija je poznana iz teorije verjetnosti, vendar jo lahko uspešno uporabimo pri ponazoritvi naraščanja povprečnega prsnega premera sestoja. Za razliko od ostalih funkcij je rast pri tej funkciji izražena s potenčno funkcijo glede na starost (Kotar, 2005).

Rastna funkcija ima naslednjo obliko:

$$Y(t) = A(1 - e^{-bt^c}) \quad \dots(33)$$

$Y(t)$ – teoretična širina ksilemske branike, t – dan v letu, A – zgornja asimptota, ki ponazarja maksimalno širino branike, b in c – parametra funkcije.

Za vseh deset dreves smo določili mesto prevoja modelnih krivulj. Prevoj Weibullove funkcije se ujema z najvišjo vrednostjo prvega odvoda funkcije $Y'(t)$, kar imenujemo tudi kulminacija tekočega prirastka:

$$Y'(t) = Abct^{c-1}e^{-bt^c} \quad \dots(34)$$

$Y'(t)$ – dnevni (tekoči) prirastek branike, t – dan v letu, A – zgornja asimptota, ki ponazarja maksimalno širino branike, b in c – parametra funkcije. S prvim odvodom Korfove funkcije smo izračunali dnevni ksilemski prirastek branike, s čimer smo dobili podatek o stopnji debelinske rasti za vsako drevo.

Pri maksimalni vrednosti prvega odvoda $Y'(t)$ (točka infleksije oziroma prevoj funkcije) je drugi odvod (rastni pospešek) $Y''(t) = 0$:

$$Y''(t) = Abct^{c-2}e^{-bt^c}(c - 1 - bct^c) = 0 \quad \dots(35)$$

$Y''(t)$ – rastni pospešek, A – zgornja asimptota, ki ponazarja maksimalno širino branike, t – dan v letu, b in c – parametra funkcije.

Kulminacija tekočega prirastka nastopi takrat, ko velikost rastnega znaka $Y(t)$ doseže vrednost:

$$Y(t) = \frac{A}{2} \quad \dots(36)$$

S pomočjo orodja »solver« v programu Microsoft Excel smo poiskali maksimum funkcije $Y'(t)$ in dobili vrednost kulminacije tekočega prirastka ksilemske branike (Y'_{max}) ter čas kulminacije tekočega prirastka ksilemske branike (t').

Za ugotavljanje nastanka večine ksilemske branike smo uporabili povprečni dnevni (tekoči) prirastek (MDI). Izračunali smo ga tako, da smo razmerje med teoretično širino ksilemske branike (Y_i) in časom njenega nastanka (t_i) pomnožili s 100:

$$MDI = \frac{Y_i}{t_i} \times 100 \quad \dots(37)$$

MDI – povprečni dnevni prirastek, Y_i – teoretična širina ksilemske branike v času t_i .

S pomočjo orodja »solver« v programu Microsoft Excel smo poiskali čas kulminacije povprečnega prirastka (t_{MDI}), maksimum funkcije MDI smo nato izračunali tako, da smo v enačbo ... (37) namesto t_i vstavili t_{MDI} in tako smo dobili vrednost kulminacije povprečnega prirastka MDI_{max} :

$$MDI_{max} = \frac{A(1 - e^{-bt_{MDI}^c})}{t_{MDI}} \times 100 \quad \dots(38)$$

3.7 KLIMATSKI PODATKI

Klimatskih podatkov na rastišču Pian dei Fraticelli nismo beležili, zato smo za oceno klimatskih razmer uporabili podatke za bližnji Soriano nel Cimino, ki smo jih dobili od Regione Lazio. Podatki so vsebovali najnižje in najvišje ter povprečne temperature za vse mesece v letu od leta 1927 do 2008 (z izjemo med leti 1941 in 1950). Podatki so prav tako vsebovali kumulativno količino padavin v vsakem mesecu v omenjenih letih.

4 REZULTATI

4.1 MIKROSKOPSKA ZGRADBA KSILEMSKE BRANIKE PRAVEGA KOSTANJA

Pri vseh desetih drevesih smo spremljali kambijevo aktivnost in naraščanje širine nastajajoče ksilemske branike skozi celotno vegetacijsko dobo 2009. Spremljali smo tudi faze nastanka branike, pri čemer smo bili pozorni na diferenciacijo, ekspanzijo in lignifikacijo trahej ter lignifikacijo branike. Števila celic kambijeve cone ni bilo možno natančno prešteti pri vseh vzorcih, zato smo več pozornosti posvetili ksilemski braniki.

Kambij predstavlja eno celico debelo plast vretenastih (fuziformnih) in trakovnih inicialk. V praksi pa je to plast celic težko ločiti od njihovih derivatov v lesu in skorji, zato pogosto uporabljamo naziv kambijeva cona (KC, Slika 5), s katerim poimenujemo pas diferencirajočih se celic med ksilemom in floemom, skupaj s kambijevimi inicialkami.

Ob nastanku prvih celic ksilema je bilo sprva težko ločiti kambijevo cono od nastajajočega ksilema in floema, vendar pa je že kmalu po reaktivaciji kambijeve cone in hitre površinske rasti trahej razlikovanje tkiv lažje. Za morfološko razlikovanje tkiva v različnih fazah diferenciacije smo si pomagali z obarvanjem preparatov z mešanico barvil safranin in astra-modro, z opazovanjem pod polarizirano svetlobo in opazovanjem dimenzij ter 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 6 A), razlike med njimi pa nastanejo v fazi diferenciacije.

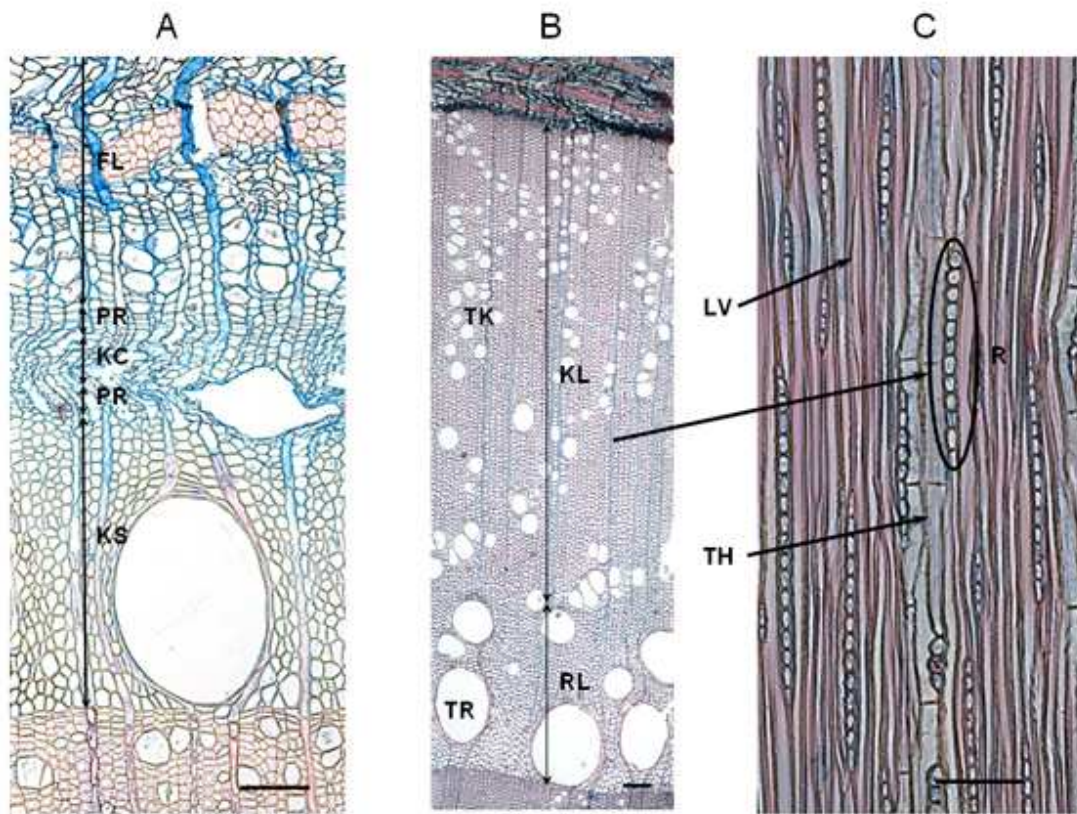
Kambijeva cona (KC) in nastajajoče tkivo sta bila po aktivaciji kambija zelo občutljiva, njihova struktura pa se zaradi tega zlahka poruši (Slika 5 A, Slika 6 D). Celice imajo namreč v fazi površinske rasti tanko, primarno celično steno, zato je tkivo med vzorčenjem in nadaljnjo obdelavo vzorcev zelo občutljivo. Celice ranega lesa so zaradi velikih dimenzij še toliko bolj občutljive vse dokler se ne lignificirajo. Možen razlog za porušitev

nekaterih celičnih struktur pa je tudi to, da vzorcev po odvzemu nismo fiksirali v mešanici FAA (raztopina formalina, alkohola in očetne ksiline), ki povzroči hitro zakrnitev celic. Fiksativ FAA uporabljajo na Oddelku za lesarstvo v Ljubljani (Prislan, 2007) in je učinkovitejša kot etanol, ki smo ga uporabili v našem primeru.

Celice sprva obdajajo primarne stene iz celuloze in hemiceluloz, ki se obarvajo z barvilom astra modro. Ko je površinska rast zaključena, se začne debelitev celične stene: na primarno steno v centripetalni smeri se odloži večslojna in toga sekundarna celična stena. Odlaganju celuloze in hemiceluloze sledi lignifikacija (Mellerowicz, 2001, Čufar, 2006). Dokončno oblikovana (lignificirana) celična stena se obarva rdeče, kar je posledica reakcije med barvilom safranin in polifenolnimi komponentami lignina v celični steni.

Prisotnost celuloze smo opazovali s pomočjo polarizirane svetlobe svetlobnega mikroskopa, kjer se je stena svetila zaradi urejenih in vzporedno usmerjenih celuloznih fibril. Svetloba iz polarizatorja se namreč odbije pod določenim kotom, zato se celična stena zasveti (Slika 6 C in E). V primarni steni, v fazi površinske rasti, so mikrofibrile neurejene oziroma prepletene in naključno usmerjene, zato se svetloba, ki nanje pada, razprši, in celično steno ter podlago (lumen) vidimo temno.

Slika 5 nam podaja predstavo o mikroskopski zgradbi lesa. Vidimo traheje ranega lesa (TR), ki so zelo velike, tangencialni premer znaša več kot 200 μm , pojavljajo pa se v dveh do treh vencih (Slika 5 B, Slika 6 F). Traheje kasnega lesa so bistveno manjše in tvorijo radialno usmerjena polja, kar povzroča plamenast videz na prečnem prerezu (Slika 5 B, Slika 6 E in F). Zaradi očitnih razlik med ranim in kasnim lesom je pravi kostanj tipičen predstavnik venčastoporozne vrste. Osnovno tkivo sestavljajo sestavljajo aksialni parenhim (TH) in kompleksi libriformskih vlaken (LV) (Slika 5 C). Traheide, ki obdajajo traheje (vazicentrične traheide) sodelujejo pri prevajanju vode. Aksialni parenhim je difuzen in difuzen v agregatih. Trakovi so zelo ozki, enoredni (Slika 5 C).



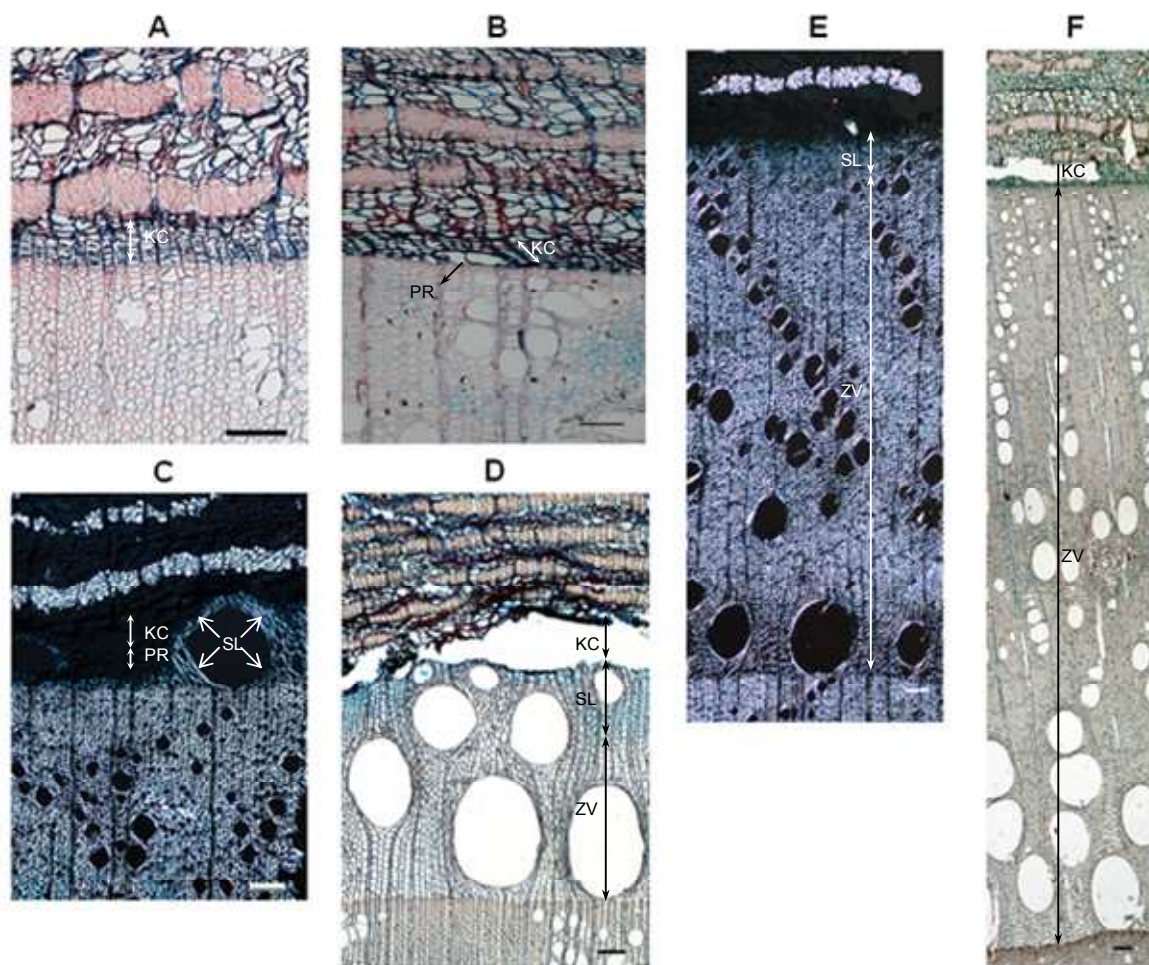
Slika 5: Mikroskopska zgradba ksilemske branike pravega kostanja (*Castanea sativa* Mill.). A – prečni prerez lesa, kjer so vidne: kambijeva cona (KC), celice v postkambijalni rasti (PR) na ksilemski in floemski strani, ksilemska branika tekočega leta (KS) in floem (FL). B – prečni prerez, kjer sta vidna rani les (RL) in kasni les (KL) s trahejami ranega lesa (TR) in trahejami kasnega lesa (TK). C – tangencialni prerez, kjer so vidni kompleksi libriformskih vlaken (LV) in aksialni parenhim (TH) ter enoredni trakovi (R).

4.2 FAZE NASTAJANJA KSILEMSKE BRANIKE

Na začetku odjemanja vzorcev (dan 75, 16. marec 2009) je bil kambij v večini dreves še v mirovanju. Izjema sta bili drevesi C in D, katerih kambij je bil ravno v začetku aktivacije. Začetek kambijeve aktivnosti smo tako zabeležili med 75. in 103. dnevom v letu, v povprečju pa med 90. in 97. dnevom v letu oziroma med 31. marcem in 7. aprilom 2009. Prve traheje so prav tako najprej začele nastajati pri drevesih C in D v tednu med 31. marcem in 7. aprilom, sicer pa v povprečju med 103. in 113. dnevom v letu (med 13. in 23. aprilom). Lignifikacija vazicentričnih traheid okoli prvega venca trahej je potekala med 13. aprilom in 6. majem (med 103. in 126. dnevom v letu), v povprečju pa se je začela v tednu med 23. in 29. aprilom 2009 (med 113. in 119. dnevom v letu). Nastanek drugega venca

trahej se je začel med 119. in 126. dnevom v letu (med 29. aprilom in 6. majem 2009), njihova lignifikacija pa se je začela med 126. in 134. dnevom v letu (med 6. in 14. majem 2009). Večina dreves je imelo tudi tretji venec trahej. Traheje tretjega venca so začele nastajati med 134. in 140. dnevom v letu (med 14. in 20. majem 2009), njihova lignifikacija pa se je začela med 140. in 149. dnevom v letu (med 20. in 29. majem), ravno takrat pa so se pojavile tudi prve traheje kasnega lesa. Lignifikacija prvih trahej kasnega lesa se je začela med 149. in 156. dnevom v letu (med 29. majem in 5. junijem 2009). Konec kambijeve aktivnosti smo zabeležili med 240. in 267. dnevom v letu, oziroma med 28. avgustom in 24. septembrom, v povprečju pa v tednu med 253. in 260. dnevom v letu (med 10. in 17. septembrom 2009). Lignifikacija branike se je zaključila med 267. in 274. dnevom v letu oziroma med 24. septembrom in 1. oktobrom 2009.

Faze nastajanja ksilemske branike pri pravem kostanju so prikazane na sliki (Slika 6). Slika 6 A prikazuje stanje 16. marca 2009, ko je kambij še miroval, teoretična širina ksilemske branike pa znaša 14 μm . Na sliki (Slika 6 B) je viden aktiven kambij 31. marca 2009 in začetek nastanka prvega venca trahej ranega lesa, ki je videti kot razpoka v kambijeви coni. Na vzorcu iz dne 23. aprila 2009 (Slika 6 C) je že videti novo ksilemsko braniko oziroma prvi venec trahej, predvsem pa se zaradi polarizirane svetlobe vidi sekundarna celična stena, ki se je najprej začela nalagati v vogalih prvih trahej ranega lesa in sosednjega tkiva. Slika 6 D prikazuje stanje na dan 156 (05. junij 2009), ko je nastala 1/3 ksilemske branike, ki vsebuje popolnoma zrele elemente (prvi in drugi venec trahej), elemente v fazi nastajanja celične stene (tretji venec trahej in tkivo okoli njega, ki je obarvano modro) in elemente v fazi površinske rasti. Slika 6 E prikazuje stanje branike na dan 210 (29. julij 2009), ko je nastalo 73 % branike. Rani les je popolnoma razvit, traheje kasnega lesa pa so bistveno manjše in si sledijo v radialnih nizih. Ksilemska branika je v tej fazi še v nastajanju, kar se vidi tudi po nesvetlečih oziroma modrih celicah blizu kambijeve cone. Slika 6 F kaže celotno popolnoma razvito braniko 2009 (na dan 24. september 2009).

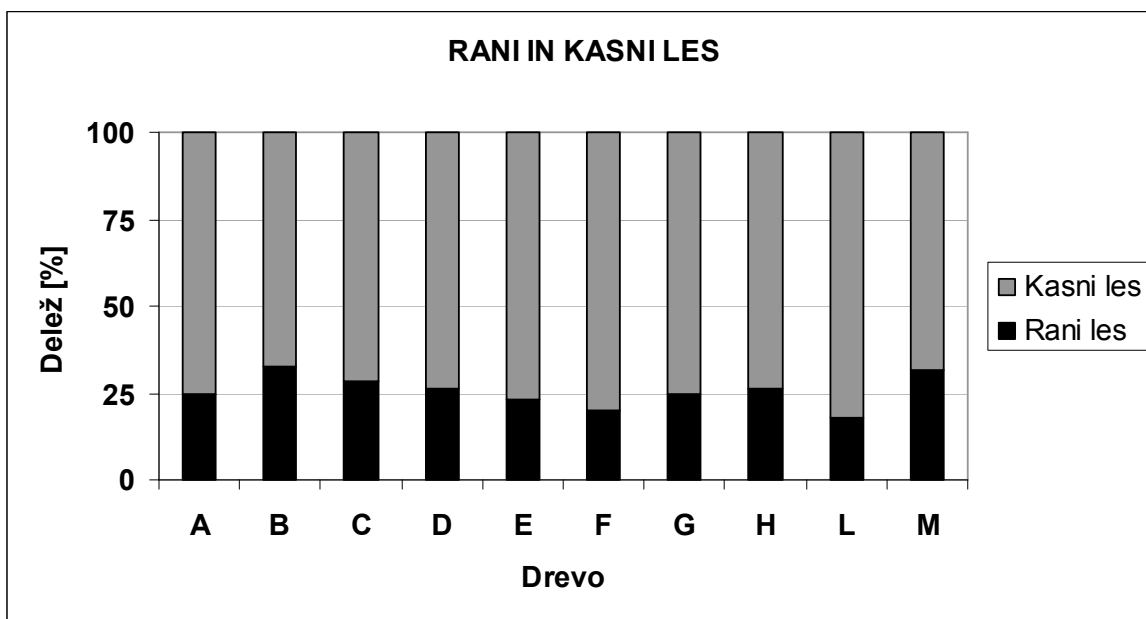


Slika 6: Faze nastajanja ksilemske branike pri pravem kostanju (*Castanea sativa* Mill.) v letu 2009. A – Kambijeva cona (KC) pred aktivacijo na dan 75 (16. marec 2009). B – Kambijeva cona (KC) in nastajajoča ksilemska branika s celicami v postkambijski rasti (PR) na 90. dan (31. marec 2009). C – KC in nastajajoča branika v fazi PR in odlaganja sekundarne stene (SL) pod polarizirano svetlobo kjer se sekundarna celična stena sveti (23. april 2009). D – Ksilemska branika ob kulminaciji tekočega prirastka (05. junij 2009) s pretrgano strukturo KC, celicami v SL (modro obarvane) in popolnoma zreli vlakni (ZV). Zreli elementi imajo prazne lumne in rdeče obarvane celične stene. E – Ksilemska pod polarizirano svetlobo s celicami v fazi SL in ZV na dan 29. julija 2009. F – Mirujoča KC in popolnoma izoblikovana branika 2009 na dan 24. septembra 2009. Daljica = 100 μ m.

4.3 RAZMERJE MED RANIM IN KASNIM LESOM

Na vzorcih iz konca rastne sezone smo pri vseh obravnavanih drevesih izmerili širine ranega in kasnega lesa tekoče ksilemske branike. Meritve smo opravili na vzorcih iz 24. septembra ter 1., 9., in 15. oktobra 2010 v treh radialnih nizih (Slika 4) in izračunali povprečje.

V povprečju je nastalo 24 % ranega in 76 % kasnega lesa. Največji delež ranega lesa je imelo drevo B (33 %), najmanjšega pa drevo L z zgolj 18 % ranega lesa. Izstopata še drevesi M (32 % ranega lesa) in F (20 % ranega lesa). Pri vseh ostalih drevesih smo zabeležili med 23 % in 28 % ranega lesa (Slika 7).



Slika 7: Razmerje med ranim in kasnim lesom pri obravnavanih drevesih na koncu rastne sezone 2009.

4.4 KLIMA IN VREMENSKE RAZMERE V LETU 2009

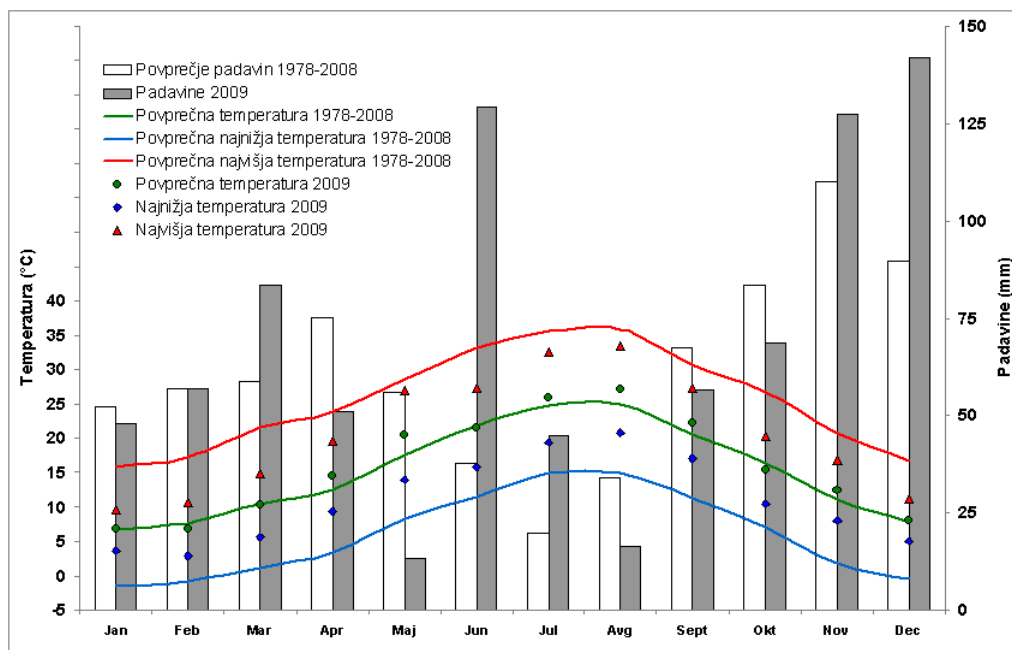
Klimatski podatki za Soriano nel Cimino, reprezentativni za Monti Cimini, so prikazani na sliki (Slika 8: Klimatski diagram) ki prikazuje povprečno, najnižjo in najvišjo temperaturo ter kumulativno količino padavin v letu 2009 in dolgoletno povprečje istih vrednosti od leta 1978 do 2009.

Povprečne temperature v letu 2009 so v povprečju za 0,8°C višje od povprečnih temperatur med leti 1978 in 2008. Največja odstopanja je opaziti v aprilu, maju in avgustu, kjer so povprečne temperature leta 2009 za 1,8°C, 3°C oziroma 2,2°C višje od dolgoletnega povprečja. Najnižje temperature v letu 2009 se niso spuščale pod ničlo, čeprav dolgoletno povprečje kaže negativne vrednosti le-teh za januar in februar (-1,52°C in -0,76°C). V vseh mesecih leta 2009 so najnižje temperature višje od dolgoletnega povprečja za 3,5°C v oktobru do kar 6,2°C v novembru, oziroma za 5°C v povprečju. Najvišje temperature so v vseh mesecih leta 2009 nižje od dolgoletnega povprečja in sicer od 1,7°C v maju do 6,6°C v marcu oziroma za kar 4,7°C v povprečju. Iz primerjav med letom 2009 in povprečjem v letih 1978-2009 je razvidno, da so povprečne temperature v letu 2009 bile rahlo višje, nihanja pa manjša.

Povprečne temperature se v letu 2009 že v mesecu marcu dvignejo nad 10°C in do meseca maja dosežejo 20,5°C. Najvišje povprečne temperature so v avgustu, kar 27,1°C, nato pa se zopet spuščajo in oktobra dosežejo 15,4°C.

Razpored padavin ima v tem podnebjju dva vrhova, in sicer zgodaj spomladi, v marcu, in pozno jeseni v novembru ko zapade največ padavin. V letu 2009 je razpored padavin rahlo nenavaden glede na dolgoletno povprečje in ima kar 3 vrhove (marec, junij in december). Padavine so v začetku leta 2009 primerljive dolgoletnim povprečjem, marca opazimo rahel presežek (24,7 mm), aprila pa nekaj manj padavin (24,4 mm). V maju 2009 je za 42,8 mm manj padavin v primerjavi s povprečjem, vendar pa je v juniju 2009 opaziti izjemno veliko količino padavin, ki kar za 91,4 mm presega dolgoletno povprečje. Dvakrat več padavin v primerjavi s povprečjem je opaziti tudi julija 2009, medtem ko je v avgustu, septembru in

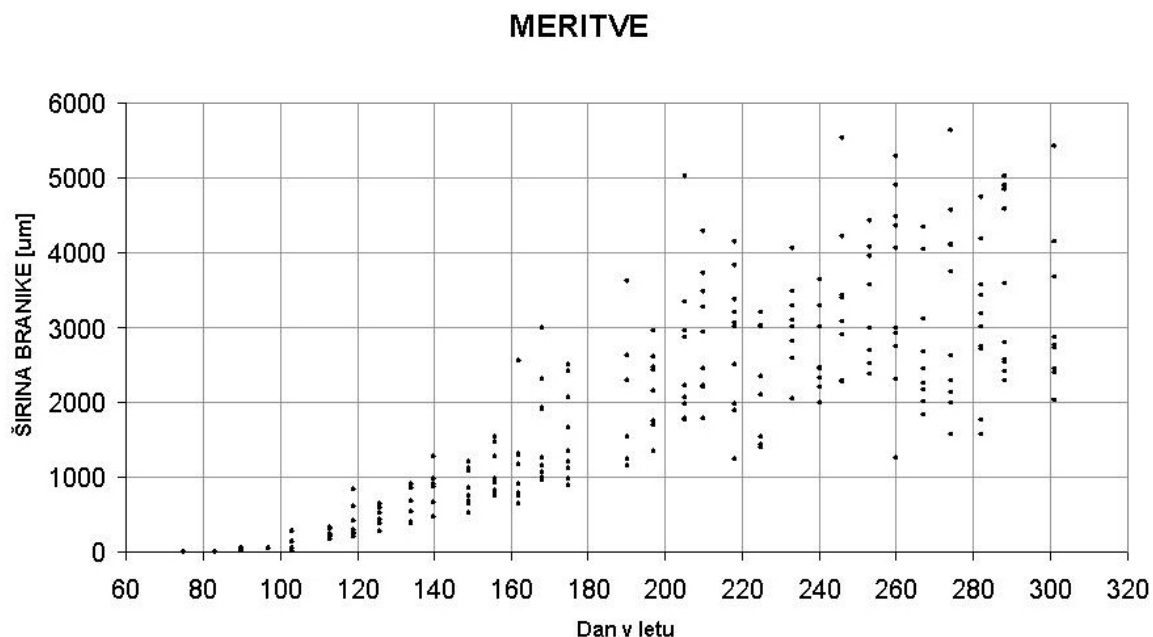
oktobru za 17,8, 10,6 oziroma 14,7 mm manj padavin. November in december zopet izstopata iz povprečja in imata za 17,3 oziroma 52,1 mm več padavin.



Slika 8: Klimatski diagram. Povprečne, maksimalne in minimalne mesečne temperature ter količine padavin v letu 2009 v primerjavi s povprečji med leti 1978-2008.

4.5 OPIS NASTANKA KSILEMSKIH BRANIK V LETU 2009 Z GOMPERTZOVO FUNKCIJO

Meritve širin ksilemskih branik pravega kostanja skozi vso rastno sezono vseh obravnavanih dreves dobijo drugo dimenzijo, ko jih združimo v eni sliki (Slika 9). Na sliki je viden začetek rasti po 75. dnevu v letu (takrat so se tudi začele meritve). Na začetku je raztros podatkov še relativno majhen, vendar pa se večja s širino branike. Občutno povečanje variabilnosti med podatki je opaziti po 160. dnevu in se z nadaljnjim širjenjem branike še povečuje. Vzrokov za velik raztros podatkov je lahko več, saj na rast vpliva veliko faktorjev: pomanjkanje hranil, kompeticija, reprodukcija, bolezni, rastlinojede živali, motnje itn. (Zeide, 1993). Pri opazovanju več osebkov gre vključiti tudi gensko raznolikost le-teh. Pri pričujočih podatkih pa moramo kot enega pglavitnih vzrokov velikega raztrosa omeniti variabilnost med širinami branik po obodu posameznega drevesa. Drevo je namreč heterogena snov, njegova oblika se s časom spreminja v vseh treh dimenzijah z različno intenziteto (kot posledica različne kambijeve aktivnosti), vzorce pa ni možno skozi vso rastno sezono odvezemati na istem mestu.



Slika 9: Meritveni podatki: izmerjene širine ksilemskih branik vseh desetih dreves pravega kostanja skozi rastno sezono 2009.

Kljub vsej raznolikosti pa lahko opazujemo trende rasti. Na sliki (Slika 9) se namreč nakazuje sigmoidna oblika, ki je značilna za rastni proces. Zato smo pri vseh desetih drevesih navadnega kostanja izračunali krivuljo razvoja ksilemske branike v letu 2009 z uporabo Gompertzove funkcije (Rossi, 2003).

4.5.1 Primerjava dinamike nastanka ksilemske branike med drevesi

Preračunavanje izmerjenih tedenskih prirastkov in uporaba različnih funkcij, ki se prilegajo biološkemu trendu sezone rasti drevesa, skuša 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 sigmoidni obliki, ki je reprezentativna za določeno drevesno populacijo. Četudi na debelinsko rast dreves vplivajo klimatski dejavniki, se oblika krivulje ne spreminja (Prislan, 2007).

Iz parametrov Gompertzove funkcije A (zgornja asimptota, ki ponazarja maksimalno število celic), b (mesto na osi x , ki oceni začetek kambijeve aktivnosti) in c (mesto prevoja

krivulje), smo za vsako drevo izračunali še značilne vrednosti: t' (čas kulminacije tekočega/dnevnega prirastka ksilemske branike), $Y(t')$ (širina branike ob času t'), Y'_{max} (vrednost kulminacije tekočega/dnevnega prirastka ksilemske branike), MDI_{max} (vrednost kulminacije povprečnega prirastka ksilemske branike), $t_{MDI_{max}}$ (čas kulminacije povprečnega prirastka ksilemske branike), $Y(t_{MDI_{max}})$ (širina ksilemske branike ob kulminaciji povprečnega prirastka ksilemske branike). Izračunali smo tudi delež branike, ki je nastal do kulminacije povprečnega prirastka (Preglednica 3, stolpec 12). Vsi izračunani parametri in značilne vrednosti so podani v preglednici (Preglednica 3). V izogib izravnavanju podatkov s povprečji, smo izračunali tudi parametre in značilne točke Gompertzove funkcije za vsa drevesa skupaj (to je za vse meritve dreves skozi rastno sezono).

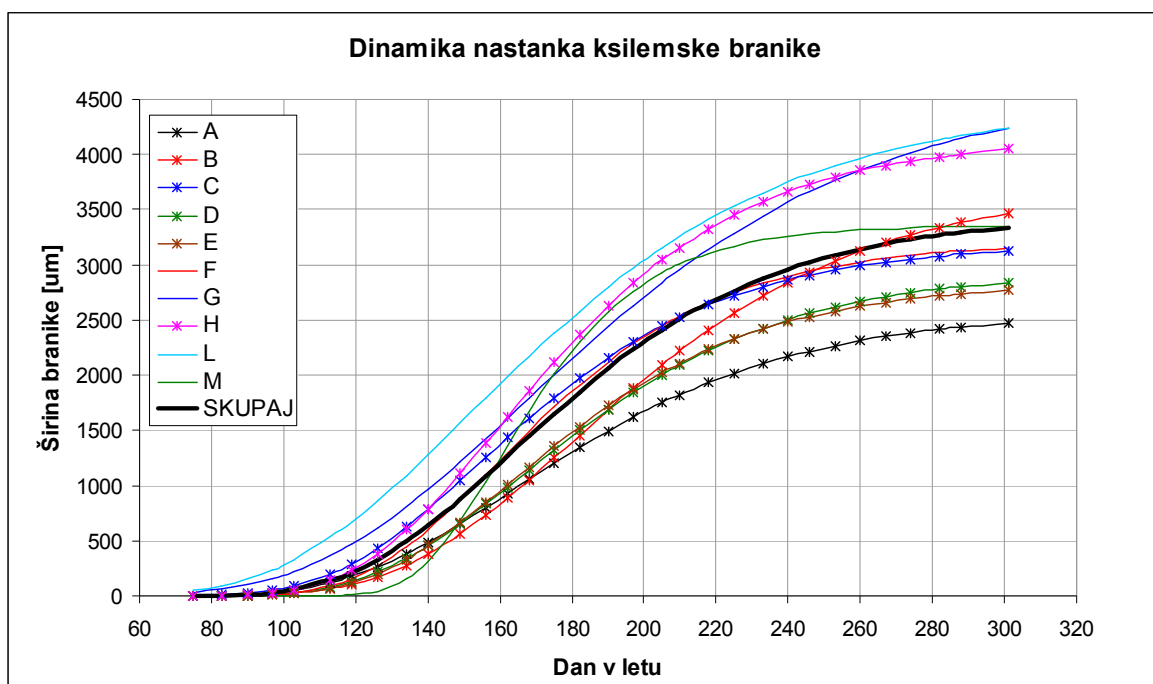
Preglednica 3: Parametri Gompertzove funkcije (stolpci 2 – 4) in značilne točke (stolpci 6 – 10) ter determinacijski koeficient R^2 (stolpec 5). V stolpcu 1 so imena dreves, v kategoriji »SKUPAJ« pa so predstavljeni parametri in značilne točke Gompertzove funkcije za vsa drevesa skupaj. Stolpec 12 predstavlja delež nastale branike ob času kulminacije povprečnega prirastka.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
DREVO	A	b	c	R ²	t'	$Y(t')$	Y'_{max}	MDI_{max}	$t_{MDI_{max}}$	$Y(t_{MDI_{max}})$	11/2
A	2595	3.642	0.022	0.729	163	955	21	903	238	2150	0.828
B	3746	3.787	0.021	0.781	179	1380	29	1201	260	3123	0.833
C	3196	3.903	0.025	0.933	153	1176	30	1210	221	2676	0.837
D	2956	4.001	0.024	0.819	166	1088	26	1042	238	2484	0.840
E	2846	4.243	0.026	0.682	163	1047	27	1036	233	2412	0.847
F	3205	4.442	0.028	0.688	158	1179	33	1221	224	2733	0.853
G	4636	2.949	0.018	0.965	165	1706	30	1489	249	3701	0.798
H	4158	4.104	0.026	0.749	160	1530	39	1534	229	3507	0.843
L	4464	2.983	0.020	0.760	151	1642	32	1569	228	3572	0.800
M	3360	6.952	0.044	0.817	160	1236	54	1431	211	3012	0.897
SKUPAJ	3468	3.832	0.024	0.705	162	1276	30	1233	235	2896	0.835

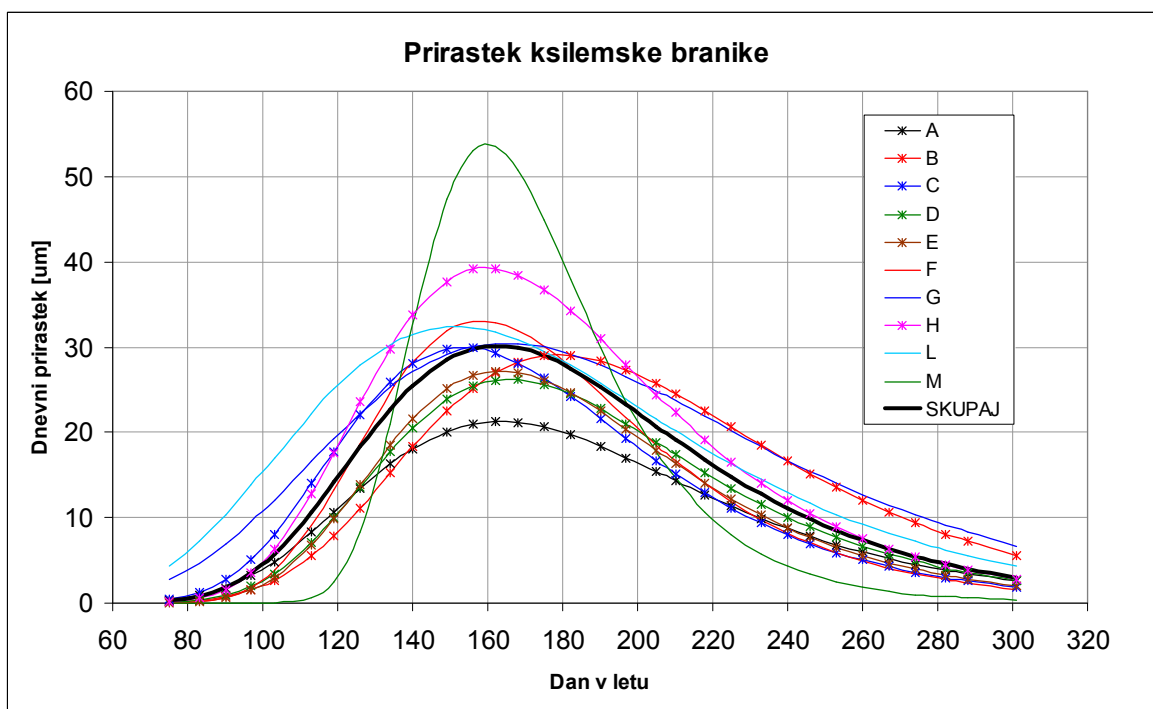
Gompertzov model je začetek delitvene aktivnosti kambijeve cone za večino dreves ocenil približno okoli začetka odvzema vzorcev (16. marec 2009). Izjema so drevesa G in H, ki imajo na dan 16. marca 2009 teoretično širino branike 31 μm oziroma 49 μm , ter drevo M, pri katerem naj bi začetek kambijeve aktivnosti nastopil pozneje, med 7. in 13. aprilom 2009 (Slika 10). Končna teoretična širina branike znaša od 2595 μm (drevo A) do 4636 μm (drevo G), v povprečju pa 3468 μm (Preglednica 3, stolpec 2 in Slika 10). Pri tem znaku se že vidijo velike razlike med drevesi, kjer bi lahko izpostavili drevo A z daleč najmanjšo širino branike, potem sledi skupina dreves katerih širina branike sega od 2846 μm do 3746

μm (to so B, C, D, E, F in M), med skupino z najširšimi branikami pa sodijo drevesa G, H in L (od 4158 μm do 4636 μm). Največje odklone dejanskih podatkov od Gompertzove funkcije smo zasledili po 205. dnevu v letu (24. julij 2009), predvsem pa med 253. in 267. dnevom, torej proti koncu rastne sezone (Priloga A). Prileganje Gompertzove funkcije izmerjenim vrednostim je znašalo od 68,2 % do 96,5 % (Preglednica 3, stolpec 5). Najnižje prileganje smo zabeležili pri drevesih E in F (68,2 % in 68,8 %), najvišjega pa pri drevesih C in G (93,3 % in 96,5 %). Pri obravnavi vseh dreves skupaj pa je bilo prileganje Gompertzove funkcije le 70,5 %. Kulminacija tekočega oziroma dnevnega prirastka (Preglednica 3, stolpec 6) je pri različnih drevesih nastopila med 29. majem in 1. julijem 2009. Pri drevesih L in C je bilo obdobje najvišje celične produkcije med 29. majem in 5. junijem, pri drevesih F, H, in M med 5. in 11. junijem. Največ dreves je imelo kulminacijo tekočega prirastka med 11. in 17. junijem (drevesa A, D, E in G), pri drevesu B pa je bilo najvišje priraščanje najpoznejše, in sicer v tednu med 24. junijem in 1. julijem. Najvišjo vrednost kulminacije dnevnega prirastka je imelo drevo M (54 μm), najnižjo pa drevo A (21 μm), ki je imelo tudi najožjo braniko. Pri ostalih drevesih je vrednost najvišjega dnevnega prirastka znašala med 26 μm in 39 μm (Preglednica 3 in Slika 11). O veliki dinamiki rasti pri drevesu M pa priča tudi parameter c Gompertzove funkcije, ki znaša kar 0,044 (Preglednica 3, stolpec 4).

Pri analizi časa kulminacije povprečnega prirastka pridemo do zaključkov, da je drevo M najhitreje doseglo to točko in je že v 211. dnevu (v tednu med 29. julijem in 06. avgustom) širina branike znašala 89,7 % končne vrednosti. Drevo B pa je kulminacijo povprečnega prirastka doseglo najpozneje, šele v 260. dnevu (17. septembra 2009), ko je širina branike znašala 83,3 % končne vrednosti. Drevo C je najvišji povprečni prirastek doseglo med 6. in 13. avgustom (83,7 % končne širine branike), drevesa E, F, H in L med 13. in 21. avgustom (84,7 %, 85,3 %, 84,3 % in 80,0 % končne širine branike), drevesi A in D pa med 21. in 28. avgustom (82,8 % oziroma 84,0 % končne širine branike). Vsi podatki so v preglednici (Preglednica 3, stolpca 10 in 12), grafičen prikaz pa v prilogi (Priloga A).



Slika 10: Dinamika nastanka ksilemske branike vzorčnih dreves, izravnava podatkov z Gompertzovo funkcijo. Krivulje z zvezdico označujejo drevesa, ki so rasla v sestoju na nizkem pobočju, krivulje s polno črto označujejo drevesa, ki so rasla na visokem pobočju.



Slika 11: Prirastki ksilemskih branik vzorčnih dreves, izračunani z Gompertzovo funkcijo. Krivulje z zvezdico označujejo drevesa, ki so rasla v sestoju na nizkem pobočju, krivulje s polno črto označujejo drevesa, ki so rasla na visokem pobočju.

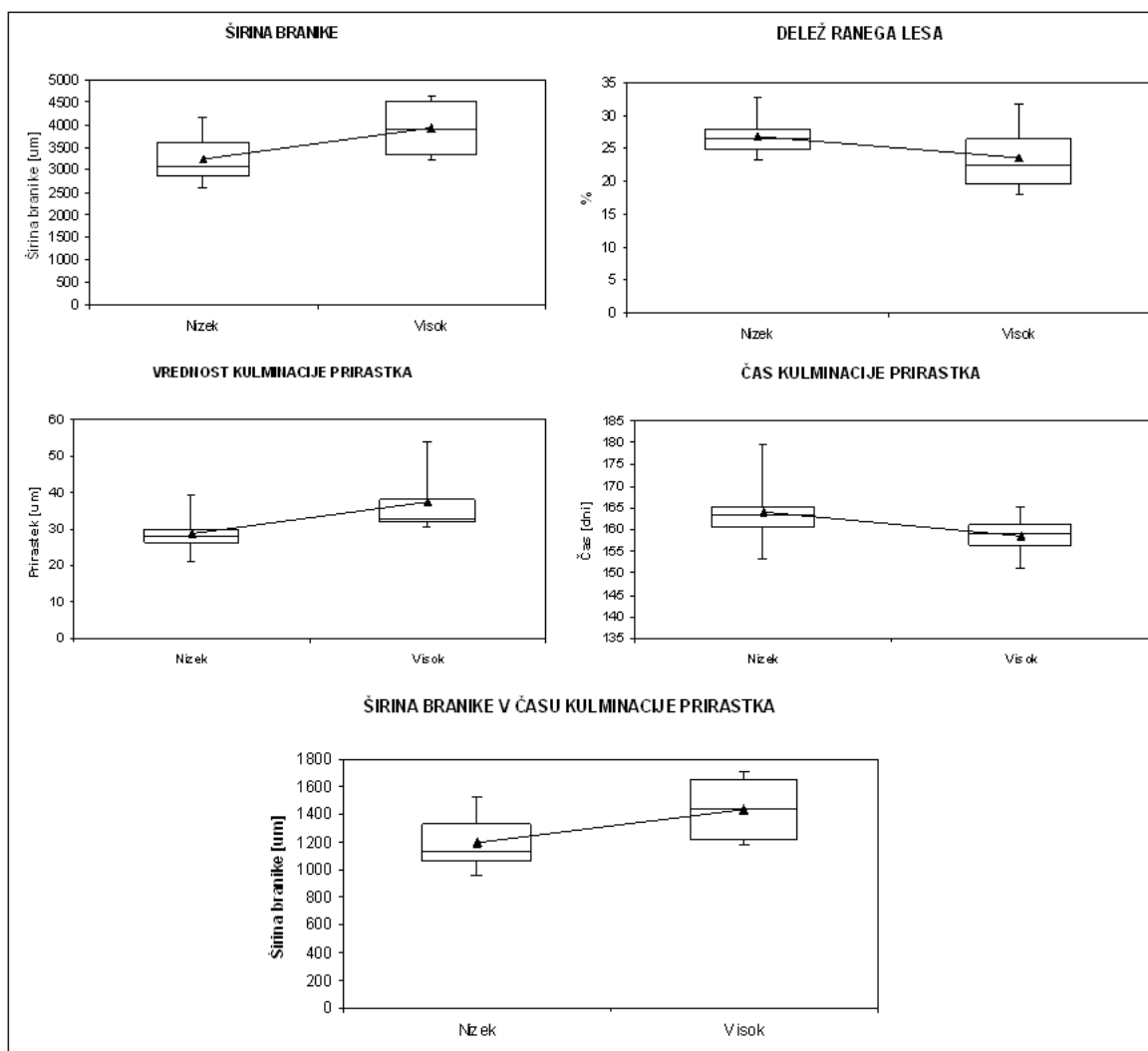
4.5.2 Primerjava sestojev

Med seboj smo primerjali dva sestoja, na katerih so se nahajala vzorčna drevesa. Drevesa A, B, C, D, E in H so rasla v sestoku na nizkem pobočju (»nizek«), kjer je bilo opravljeno šibko redčenje. Drevesa F, G, L in M pa so rasla na visokem pobočju, kjer je bilo opravljeno zmerno redčenje (»visok«) (Preglednica 1).

Primerjali smo širino ranike (parameter A Gompertzove funkcije), delež ranega lesa, vrednost Y'_{max} (vrednost kulminacije dnevnega/tekočega prirastka), čas t' (čas kulminacije dnevnega prirastka) in širino ranike v času t' . Vse vrednosti so izračunane z Gompertzovo funkcijo, delež ranega lesa pa smo izmerili in upoštevali povprečno vrednost vsakega drevesa.

Povprečna širina ksilemske ranike vzorčnih dreves na »visokem« sestoku je višja kot na »nizkem«, razlika pa ni statistično značilna. Povprečna vrednost širine ranike pri »visokem« sestoku znaša 3916 μm , pri »nizkem« pa 3250 μm . Delež ranega lesa je posledično nižji pri drevesih »visokega« sestoka, saj je absolutna širina ranega lesa pri venčastoporoznih vrstah relativno konstantna. Pri drevesih »visokega« sestoka znaša povprečni delež ranega lesa 23,58 %, pri drevesih »nizkega« sestoka pa 26,92 %. Povprečna vrednost kulminacije (dnevnega) prirastka pri drevesih »nizkega« sestoka znaša 28,84 μm in je nižja kot pri drevesih »visokega« sestoka, ki znaša 37,43 μm . Drevesa v »visokem« sestoku so tudi hitreje rasla, njihov povprečni čas kulminacije dnevnega prirastka naj bi bil 5,5 dni zgodnejši kot pri drevesih v »nizkem« sestoku. Povprečen čas kulminacije dnevnega prirastka pri drevesih v »visokem« sestoku nastopi na 159. dan v letu, pri »nizkem« sestoku pa na 164. dan v letu. Širina ranike v času kulminacije dnevnega prirastka pa je pri drevesih v »visokem« sestoku višja (1441 μm) kot pri drevesih v »nizkem« sestoku (1196 μm). Rezultati so vidni na sliki (Slika 12).

Razlike med sestokoma smo preverjali s T-testom. Nobena od testiranih vrednosti ni bila statistično značilna. Razlik med sestokoma ne moremo potrditi.



Slika 12: Razlike med sestojeoma. V sestoji na nizkem pobočju (Nizek) je bilo opravljeno šibko redčenje, v sestoji na visokem pobočju (Visok) pa zmerno redčenje.

4.6 PRIMERJAVA RASTNIH FUNKCIJ

Izvedli smo primerjavo med rastnimi funkcijami Gompertz ...(4), Chapman-Richards ...(12), Weibull ...(33) in Korf ...(22). V preglednici (Preglednica 4) so predstavljeni kazalci prilagajanja krivulj dejanskim podatkom. Determinacijski koeficient je pri vseh krivuljah zelo podoben ali celo enak. Pri drevesih A, B, C, D in E malenkost večje vrednosti determinacijskega koeficienta dosega rastna funkcija Weibull, vendar razlike ne presegajo 4,1 % (drevo B). Pri drevesih F, G in H so te razlike še manjše (največ 0,3 %), pri drevesu L ima funkcija Weibull za dober odstotek manjše prilagajanje kot druge funkcije, pri drevesu M pa se je najbolje prilagajala funkcija Chapman-Richards. Iz preglednice je razvidno, da ni večjih razlik v prilagajanju krivulj. Krivulji Gompertz in Chapman-Richards se praktično povsem enako prilagajata podatkom (Slika 13, Slika 14, Slika 15), manjše razlike pa so vidne pri krivuljah Weibull in Korf, vendar pa so tudi te zanemarljive.

Preglednica 4: Primerjava rastnih funkcij Gompertz, Chapman-Richards, Weibull in Korf. Me_i – povprečna razlika med izmerjenimi in teoretičnimi širinami ranike (enačba ...(2)), SD – standardni odklon (enačba ...(3)), R^2 – determinacijski koeficient.

DREVO	GOMPERTZ			CHAPMAN-RICHARDS			WEIBULL			KORF		
	$Me(i)$	SD	R^2	$Me(i)$	SD	R^2	$Me(i)$	SD	R^2	$Me(i)$	SD	R^2
A	9	557	0.729	10	557	0.729	6	547	0.739	14	683	0.725
B	13	649	0.781	14	649	0.781	90	650	0.822	85	665	0.797
C	11	306	0.933	12	307	0.932	8	281	0.943	14	318	0.927
D	11	493	0.819	12	493	0.819	2	485	0.825	10	498	0.815
E	15	673	0.682	16	673	0.682	14	650	0.703	14	681	0.674
F	-102	606	0.688	-102	607	0.688	-129	605	0.686	-102	615	0.685
G	2	288	0.965	3	288	0.965	-9	291	0.965	7	295	0.964
H	2	858	0.749	2	858	0.749	-2	867	0.744	5	858	0.750
L	-13	821	0.760	-18	820	0.765	-35	841	0.748	-7	810	0.766
M	81	543	0.817	9	525	0.855	68	540	0.822	68	547	0.807

Kazalniki v preglednici (Preglednica 4) pa nam ne povedo vsega o razlikah med obravnavanimi rastnimi funkcijami. Te so vidne ob pogledu na slike (Slika 13, Slika 14, Slika 15), in pri analizi karakterističnih točk (Priloga B). Tu se pokažejo razlike v poteku krivulj in v njihovih značilnostih.

Weibullova funkcija dosega najnižje vrednosti končne širine ranike (parameter A, oziroma zgornja asimptota funkcije), ki so za približno 300 μm v povprečju nižje kot pri

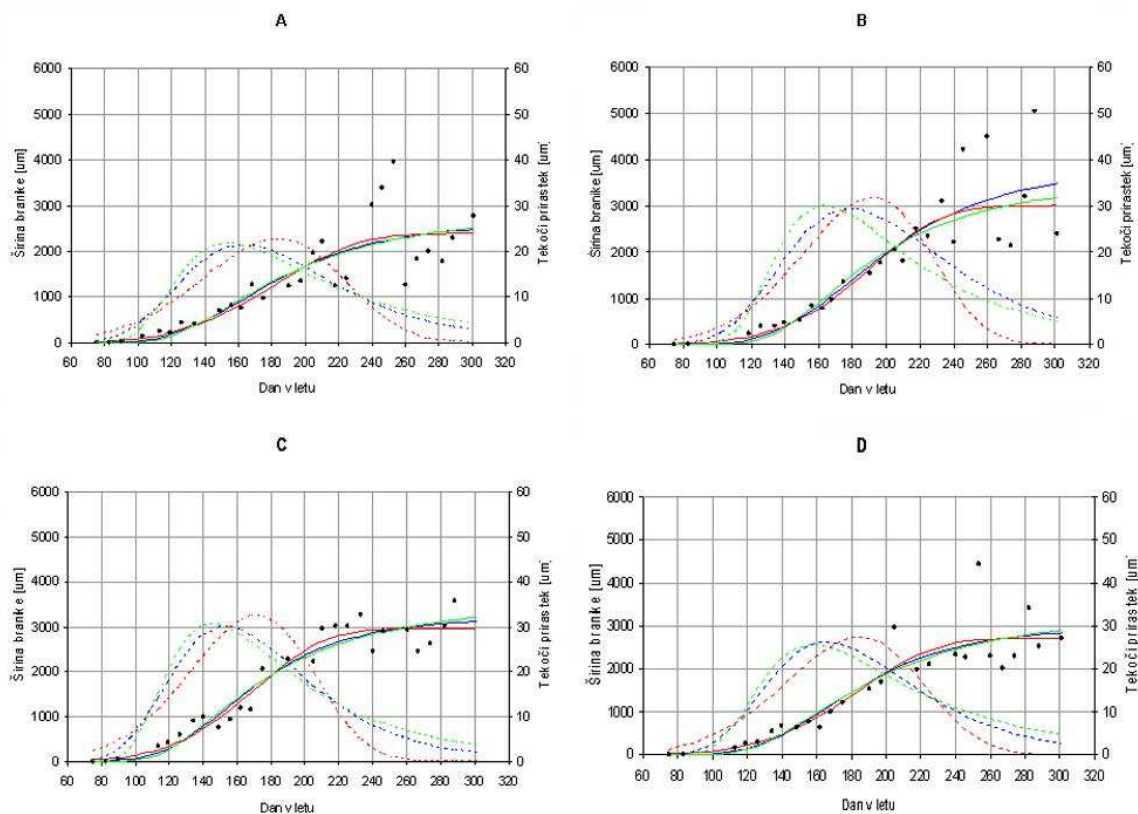
Gompertzovi ali Chapman-Richardsovi funkciji. Korfova funkcija pa dosega konstantno najvišje vrednosti parametra A in sicer za približno 400 μm v povprečju več kot Gompertzova ali Chapman-Richardstova, oziroma za skoraj 700 μm več kot Weibullova funkcija. Posledica različnih vrednosti asimptot se vidi tudi na slikah (Slika 13, Slika 14, Slika 15), kjer le Weibullova funkcija pri večini dreves dosega vrednosti njene asimptote - izjema sta le drevesi G in L, kjer doseženi vrednosti funkcije od asimptote odstopata le za 20 μm oziroma 76 μm .

Nekaj razlike je tudi pri vrednostih najvišjega prirastka (Y'_{max}), če gledamo podatke za posamezna drevesa. Največja odstopanja so vidna pri Weibullovi prirastni funkciji, ki pri drevesih A, B, C, D, G in H dosega najvišje vrednosti, pri drevesu L pa najnižjo. Korfova prirastna funkcija ima najvišje vrednosti pri drevesu F in L, najnižjo vrednost pa pri drevesu M. Pri drevesu M je tudi sicer opaziti največje razlike med prirastnimi funkcijami, saj vrednosti Y'_{max} segajo od 43 μm pri Korfu do 54 μm pri Gompertzu (Priloga B).

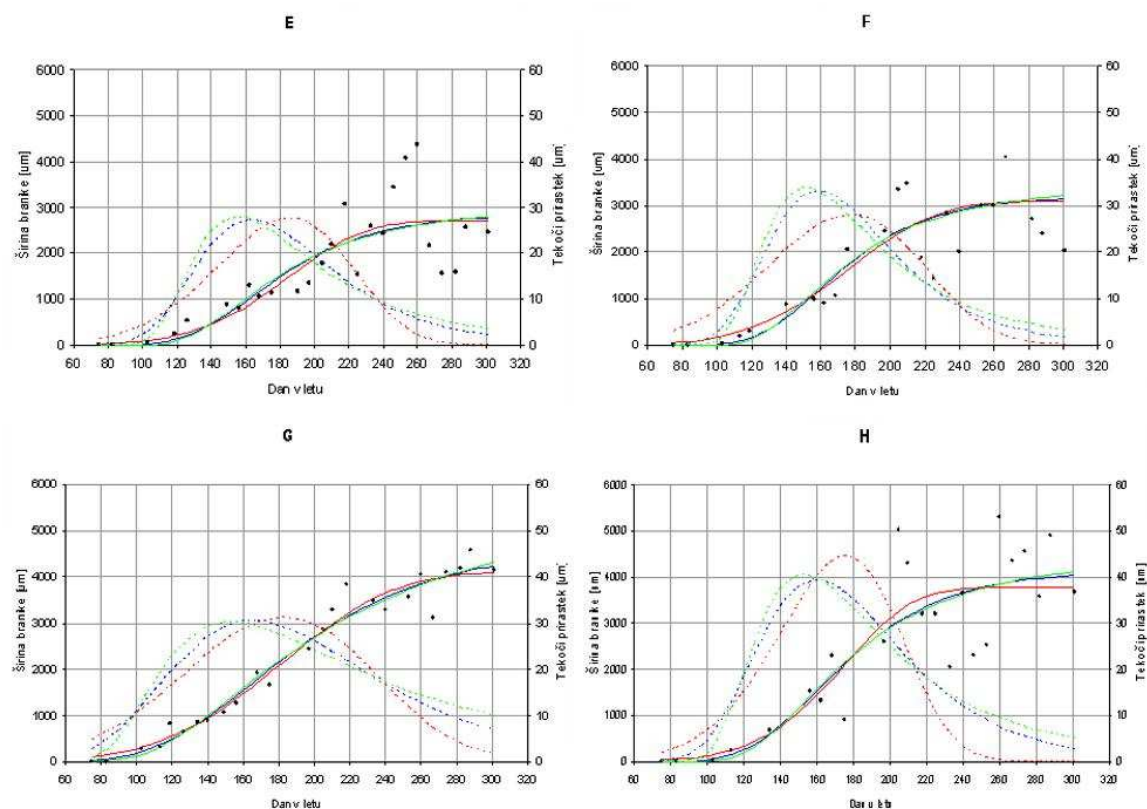
Razlike med funkcijami opazimo tudi pri času kulminacije dnevnega prirastka (t'). Tu sta si funkciji Gompertz in Chapman-Richards zopet zelo podobni, največja razlika med njima pa je vidna pri drevesu M, kjer Chapman-Richardsova funkcija predvidi t' 9 dni pozneje kot Gompertzova funkcija. Največja odstopanja imata zopet Weibullova in Korfova funkcija. To je posledica značilnosti teh dveh funkcij, saj Weibullova doseže kulminacijo tekočega prirastka ob $Y=A/2$, Korfova pa, ko je $Y \leq A/e$ (Feng-ri in sod., 2000). Zaradi tega Weibullova funkcija čas najvišje produkcije predvideva v povprečju kar 18 dni pozneje od Gompertzove in 19 dni pozneje od Chapman-Richardsove funkcije, ter celo 27 dni v povprečju pozneje od Korfove, ki kulminacijo tekočega prirastka predvideva 8, oziroma 9 dni prej kot Chapman-Richardsova oziroma Gompertzova funkcija (Priloga B, Slika 13, Slika 14, Slika 15).

Vrednosti kulminacije povprečnega prirastka (MDI_{max}) so si relativno blizu. Najvišje vrednosti MDI_{max} v povprečju dosega Weibullova funkcija (približno 30 μm več od Gompertzove in Chapman-Richardsove in 60 μm več od Korfove funkcije), najnižje pa v povprečju dosega Korfova funkcija. Bistvenih razlik v času kulminacije povprečnega prirastka ($t_{MDI_{max}}$) ni. Tu je zopet »najhitrejša« Weibullova funkcija (3 dni pred

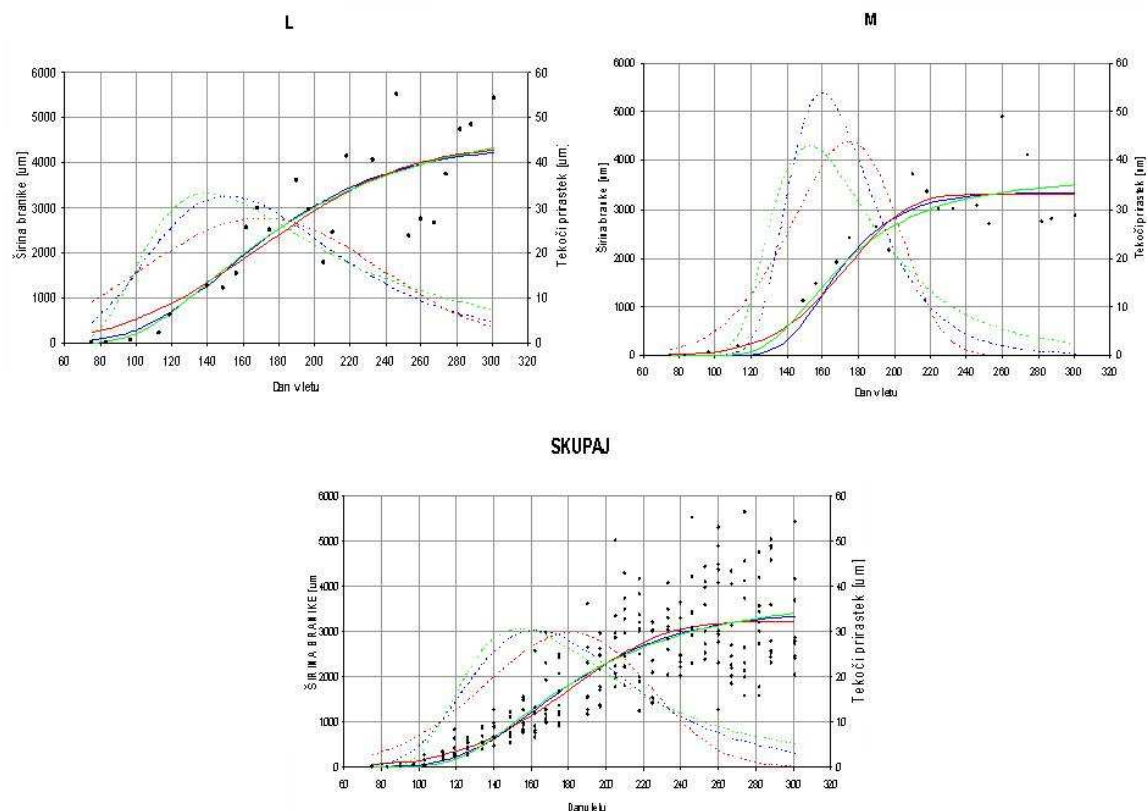
Gompertzovo in Chapman-Richardsovo ter 5 dni pred Korfovo funkcijo), najpočasnejša pa Korfova funkcija. Večje razlike pa se pojavijo v predvidenem deležu nastale branike v času $t_{MDI_{max}}$ glede na največjo širino branike: $Y(t_{MDI_{max}}) / A * 100$. Gompertzova in Chapman-Richardsova funkcija predvidevata v povprečju nastanek dobrih 83 %, Weibullova v povprečju 92,4 %, Korfova pa le 74,4 % branike (Priloga B).



Slika 13: Rastne krivulje dreves A, B, C in D: Gompertz (modra), Weibull (rdeča) in Korf (zelena). Prirastne krivulje so podane s črtkano črto. Rastna krivulja Chapman-Richards je izločena, saj se popolnoma prilagaja Gompertzovi.



Slika 14: Rastne krivulje dreves E, F, G in H: Gompertz (modra), Weibull (rdeča) in Korf (zelena). Prirastne krivulje so podane s črtkano črto. Rastna krivulja Chapman-Richards je izločena, saj se popolnoma prilagaja Gompertzovi.



Slika 15: Rastne krivulje dreves L in M ter vseh dreves skupaj: Gompertz (modra), Weibull (rdeča) in Korf (zelena). Prirastne krivulje so podane s črtkano črto. Rastna krivulja Chapman-Richards je izločena, saj se popolnoma prilagaja Gompertzovi.

5 RAZPRAVA IN SKLEPI

5.1 RAZPRAVA

Leta 2009 smo z vzorčenjem dreves začeli sredi marca (16. marca), ko se delitve celic v kambijevi coni v večini primerov še niso začele. Pri venčasto poroznih drevesnih vrstah začne les nastajati pred olistanjem in fotosintetsko aktivnostjo. Suzuki in sodelavci (1996) so začetek nastanka prvih trahej zabeležili dva do šest tednov pred razvojem prvih listov.

Z vidika priprav mikroskopskih preparatov je bila kambijeva cona v rastni sezoni pri obravnavanih drevesih pravega kostanja zelo občutljiva. Zaradi porušitev struktur nekaterih nastajajočih tkiv ni bilo vedno možno zanesljivo izmeriti širine kambijeve cone in prešteti števila celic v njej. Do podobnih težav je prišla tudi Gričar (2007) pri raziskavi dinamike ksilogeneze pri gradnu, ki je, tako kot pravi kostanj, venčasto porozna vrsta. Celice v fazi površinske rasti imajo le tanke, primarne celične stene, zato se tkivo med vzorčenjem pa tudi pri naknadni obdelavi vzorcev zlahka poruši. Še posebej so občutljive celice ranega lesa zaradi velikih dimenzij (Gričar, 2007). Pri našem primeru je potrebno omeniti tudi to, da v Italiji nismo uporabili fiksacijskega sredstva FAA, ki omogoča hitro fiksiranje celic in celičnih sten, ki zato obdržijo svojo obliko tudi po odvzemu iz drevesa. Za primerjavo smo 6. maja 2010 v Ljubljani pod Rožnikom odvzeli dodaten vzorec, pri katerem smo uporabili FAA (Slika 5 A in C). Izkazalo se je da so tkiva po obdelavi bolje ohranila obliko kot pri vzorcih odvzetih iz Viterba pri katerih nismo uporabljali fiksacijskega sredstva FAA. Zaradi tega upravičeno lahko sklepamo na ugoden vpliv FAA na kakovost vzorcev in preparatov.

Začetek nastajanja lesa se je ujemal z začetkom reaktivacije kambijeve cone med 31. marcem in 7. aprilom. Čufar in sodelavci (2011, v tisku) so na drevesih pravega kostanja, ki so rasla na istih rastiščih v okolici Viterba in so jih spremljali v letu 2008, prišli do podobne ugotovitve, in sicer, da je reaktivacija kambijeve cone nastopila pred 17. Aprilom 2008, torej preden so v letu 2008 začeli z vzorčenjem. Do reaktivacije kambija je po vsej verjetnosti prišlo po zadnjem hladnejšem obdobju v mesecu marcu 2008. Takrat je kambijeva cona že štela 7-9 celic, širina novo nastale ksilemske branike pa je bila 140 μm .

V našem primeru v letu 2009 širine kambijeve cone ni bilo mogoče ugotoviti, širina novo nastale branike pa je v podobnem času znašala med 60 μm in 141 μm . Castellani je v letih 1978-1979 z uporabo dendrometrov pri raziskavah na pravem kostanju v Italiji ocenil, da se je radialna rast začela v marcu, ko je povprečna temperatura presegla 8°C (Čufar in sod., 2011 v tisku).

Traheje so se v zgodnji fazi nastanka najprej začele širiti v tangencialni smeri, pozneje pa ji je sledila hitra rast radialnih dimenzij. Ta ugotovitev se sklada z ugotovitvami nekaterih drugih avtorjev (Zasada in Zahner, 1969, Wakuta in sod., 1973, vse citirano po Suzuki s sod., 1996). Prav tako je podobno kot pri raziskavah Suzukija s sod. (1996) ugotovljeno, da so se prvi elementi trahej nahajali nekaj celic izven meje med prejšnjo in tekočo ksilemsko braniko. V tednu med 23. in 29. aprilom pa smo že zabeležili odlaganje sekundarne celične stene in lignifikacijo prvega venca trahej ranega lesa. Biosinteza sekundarne celične stene in lignina se je namreč najprej začela okoli prvih trahej, pozneje pa še v preostalem tkivu. Enako je ugotovila Čufar s sodelavci (2011, v tisku), in sicer med 17. aprilom in 1. majem na drevesih pravega kostanja in Gričar (2007) na drevesih gradna, vendar pa slednja ne podaja časovnih okvirjev nastanka. Suzuki in sodelavci (1996) so depozicijo sekundarne celične stene pri venčasto poroznih vrstah zabeležili v 3-7 tednih po začetku nastanka trahej. Glede na te rezultate predpostavljamo, da so hitro oblikovane traheje ranega lesa namenjene za transport in čim večji izkoristek vode v zgodnji pomladi. Do podobnih ugotovitev so prišli tudi pri drugih drevesnih vrstah (Marion in sod., 2007).

Med 20. in 29. majem se je nastajanje ranega lesa zaključilo. Tudi to se ujema z ugotovitvami Čufarjeve s sod. (2011, v tisku), ki so dokončno oblikovan rani les zabeležili med 22. majem in 4. junijem 2008. Rani les je v naših raziskavah vseboval 2-3 vence trahej, medtem ko Gričarjeva (2007) pri gradnu (*Quercus petraea*) beleži 1-3 vence trahej v ranem lesu. Delež ranega lesa se je po naših ugotovitvah razlikoval med drevesi. Večji delež ranega lesa so praviloma imela drevesa, ki so imela ožjo braniko. To je vidno pri primerjavi obeh sestojev, kjer ima sestoj s povprečno manjšo širino branik večji delež ranega lesa.

Najbolj intenzivno priraščanje ksilemske branike je bilo od začetka junija do začetka julija 2009, kar je približno dva tedna pozneje kot pri raziskavi Čufarjeve s sodelavci (2011, v tisku), ki so najvišjo produkcijo zabeležili od sredine maja do sredine junija 2008, prav tako pa je tudi Gričar (2007) pri gradnu zabeležila najvišjo produkcijo v drugi polovici maja. Razlike v ugotovitvah med raziskavami najbrž izhajajo iz tega, da so v času raziskave Čufarjeve s sodelavci v letu 2008 zabeležili podpovprečno majhno količino padavin, medtem ko smo v letu 2009, sicer na istem rastišču, zabeležili nadpovprečno količino padavin predvsem v pozni pomladi in zgodnjem poletju.

Kasni les je začel nastajati v času, ko se je zaključila formacija ranega lesa, med 20. in 29. majem, dokončno pa se je oblikoval v med 24. septembrom in 1. Oktobrom 2009. Začetek nastajanja kasnega lesa se ujema tudi z ugotovitvami Čufarjeve s sodelavci (2011, v tisku), vendar pa je konec formacije branike pri naši raziskavi nastopil dober mesec pozneje in je trajal 4 mesece. Delež kasnega lesa je naraščal s širino branike, končna širina branike pa je v našem primeru prav tako bila večja kot po ugotovitvah Čufarjeve s sodelavci v letu 2008, kjer so namerili $2027 \pm 635 \mu\text{m}$, v našem primeru pa je v povprečju znašala $3648 \mu\text{m}$ (oziroma $3516 \pm 703 \mu\text{m}$). Ta ugotovitev razlik med širinami branik iste drevesne vrste na enakem rastišču kaže na pozitiven vpliv nadpovprečnih junijskih in julijskih padavin na rast širine ksilemske branike v letu 2009.

Pri primerjavi rastnih funkcij Gompertz, Chapman-Richards, Korf in Weibull smo prišli do zaključkov, da se vse krivulje približno enako prilagajajo raztrosu točk, ki smo jih dobili iz meritev širin nastajajoče ksilemske branike. Determinacijski faktor (R^2) je variiral od 0,674 do 0,965, kot posledica razlik med drevesi. Do podobnih prilagajanj je prišel tudi Rossi (2003) pri drevesih vrst *Abies balsamea* in *Pinus cembra*, kjer je uporabljal le Gompertzovo funkcijo. Pri opazovanju trajektorije funkcij opazamo izstopanje Weibullove funkcije, ki na začetku rastne sezone sicer malo preceni širino branike, a se zdi, da njen nadaljnji potek in predvsem konec rasti opiše bolje od ostalih funkcij, saj edina od obravnavanih rastnih funkcij doseže asimptotično vrednost. Pri samem poteku trajektorije in vseh ostalih karakterističnih točk smo tudi ugotovili, da razlik med Gompertzovo in Chapman-Richardsovo funkcijo praktično ni. Trajektoriji se namreč pri teh dveh funkcijah povsem prekrivata, imata zelo podobni ali enaki asimptoti in točki odvoda. Rastna funkcija

Korf pa je pri vseh drevesih dosegala najvišje vrednosti asimptot in sklepamo da precenjuje največjo širino branike, prav tako pa tudi predvidi najzgodnejši nastop kulminacije prirastka branik in sicer preden širina branike doseže vrednost $A/2$. Slednjega Gompertzova funkcija doseže, ko je širina branike A/e , Weibullova pa, ko je širina branike $A/2$, zaradi česar Weibullova funkcija predvidi najpoznejši nastop kulminacije prirastka branik. Razlike med krivuljami so torej najbolj vidne v njihovih značilnostih kdaj dosežejo kulminacijo tekočega prirastka, kolikšna je širina branike v tem času in kolikšna je predvidena maksimalna širina branike (A).

Poudariti je treba, da se kažejo velike razlike med prikazovanjem rasti in prilagajanjem funkcij, ko združujemo podatke vseh dreves. Tedaj so vrednosti R^2 lahko mnogo nižje v primerjavi z nekaterimi posameznimi drevesi. V tej raziskavi smo se odločili, da z rastnimi funkcijami ne bomo izravnavali povprečja podatkov širin branik. V raziskavah npr. Gričarjeve (2006) in Prislana (2007) so za prikaz rasti skupine dreves upoštevali povprečja meritev oziroma so za posamezna drevesa uporabili avtokorelacijo in tako dosegli višjo vrednost determinacijskega koeficienta in višje prilagajanje.

Gompertzova funkcija se je izkazala kot zelo primerna za prikaz dinamike nastanka ksilemske branike, kar ugotavljajo tudi drugi avtorji na različnih drevesnih vrstah (npr. Rossi, 2003, Gričar, 2006, Prislana, 2007). Zaradi svoje značilnosti, da točko prevoja (kulminacijo tekočega prirastka) doseže, ko je širina branike A/e , se zdi, da najbolj upošteva značilnosti dinamike rasti. Pozitivne strani te funkcije so vsekakor tudi enostavnost izračunavanja karakterističnih točk in dejanski pomen parametrov funkcije.

Poznavanje nastajanja lesa v rastni sezoni nam pomaga pri razumevanju fiziologije in produktivnosti ter v zaostrenih razmerah preživetvene možnosti dreves. Ta spoznanja predstavljajo osnovo za študij odzivov dreves na klimatske razmere in druge dejavnike in bodo pomembne za gojenje gozdov.

5.2 SKLEPI

Začetek rasti širine ksilemske branike pri proučenih pravih kostanjih (*Castanea sativa* Mill.) smo zabeležili med 31. marcem in 7. aprilom 2009, ko smo zasledili nastanek prvih trahej. Sinteza sekundarne celične stene in lignifikacija se je pri prvih trahejah začela v tednu med 23. in 29. aprilom. Biosinteza sekundarne celične stene in lignina se je najprej začela okoli prvih trahej, pozneje pa še v preostalem tkivu. Glede na te rezultate predpostavljamo, da so hitro oblikovane traheje ranega lesa namenjene za čim bolj učinkovit transport vode spomladi.

Med 20. in 29. majem se je formacija ranega lesa zaključila. Rani les je vseboval 2-3 vence trahej. Delež ranega lesa se je razlikoval med drevesi. Večji delež ranega lesa so praviloma imela drevesa, ki so imela ožjo braniko. Ta pojav je bil viden pri primerjavi obeh sestojev, kjer je imel sestoj s povprečno manjšo širino branik večji delež ranega lesa. V povprečju je nastalo 24 % ranega in 76 % kasnega lesa.

Najbolj intenzivno priraščanje ksilemske branike je bilo od začetka junija do začetka julija, ko je v povprečju nastalo 1276 μm branike. Kasni les je začel nastajati v času, ko se je zaključilo nastajanje ranega lesa, med 20. in 29. majem, dokončno pa se je oblikoval med 24. septembrom in 1. oktobrom, ko je bil končan razvoj vseh celic.

Konec kambijeve aktivnosti smo zabeležili v med 10. in 17. septembrom 2009. Nastajanje branike je trajalo štiri mesece, končna širina branike pa je v povprečju znašala 3648 μm (oziroma $3516 \pm 703 \mu\text{m}$).

Opazovanja smo opravili na mikroskopskih preparatih, ki smo jih naredili iz mikro izvrtkov vzetih v tedenskih intervalih iz živih dreves. Izkazalo se je, da kvalitetne preparate lesa, kambija in floema lahko naredimo iz tkiv, ki so bila takoj po odvzemu na terenu fiksirana v raztopini FAA (fromalin, alkohol in ocetna kislina), ki omogoča ohranjanje celičnih struktur in celične stene, ki jih opazujemo pri spremljanju nastajanja lesa.

Izravnava podatkov z rastnimi funkcijami Gompertz, Chapman-Richards, Weibull in Korf je pokazala, da je odločitev za določeno funkcijo treba prilagoditi vrsti podatkov. Izbrane funkcije so se namreč podobno prilagale podatkom, vendar pa so se razlike pojavile pri vrednostih karakterističnih točk. Pri preučevanju nastanka ksilemske branike se je izkazalo, da je najprimernejša Gompertzova funkcija, ker doseže točko infleksije pri širini branike A/e , kar skupaj z drugimi parametri funkcije najbolje opiše dejanske zakonitosti rasti branike.

Čeprav les nastaja v kratkem časovnem obdobju štirih mesecev, so naše ugotovitve dinamike nastajanja lesa za leto 2009 pokazale, da obstojajo razlike v primerjavi z rezultati druge študije opravljene v letu 2008. Na medletne razlike verjetno vplivajo klimatske razmere v posameznem letu, ki se na raziskanem območju v Italiji spreminjajo tudi zaradi globalne spremembe klime. Poznavanje nastajanja lesa v rastni sezoni nam pomaga pri razumevanju fiziologije, produktivnosti, ogroženosti in preživetvene možnosti dreves. Ta spoznanja so pomembna za gojenje gozdov.

6 POVZETEK

Pravi kostanj (*Castanea sativa* Mill.) je v pokrajini Lazio v Italiji pomembna gospodarska drevesna vrsta. Kostanjev les je tam cenjen in ga široko uporabljajo, gojenje hrastovih sestojev pa je usmerjeno v produkcijo kvalitetnega lesa. Ker pravi kostanj ogrožajo različni škodljivci, ki zmanjšujejo prirastek lesa in ker v deblih pogosto nastanejo krožne razpoke (kolesivost) je raziskovalna skupina pod vodstvom prof. Manuele Romagnoli želela raziskati proces nastajanja lesa pri pravem kostanju, ki je bil do sedaj slabo raziskan. Cilji diplomske naloge so bili spremljati nastanek lesa tekoče branike na celičnem nivoju na tedensko odvzetih vzorcih iz desetih dreves pravega kostanja, rast branike nato opisati z različnimi rastnimi funkcijami (Gompertz, Chapman-Richards, Weibull in Korf) in jih med seboj primerjati ter ovrednotiti pomen poznavanja dinamike nastajanja lesa za gozdarsko prakso.

Z metodo odvzema intaktnih tkiv smo na desetih drevesih pravega kostanja (*Castanea sativa* Mill.) iz rastišča Monti Cimini v Italiji v pokrajini Lazio tedensko odvezemali vzorce. Vzorčenje je potekalo v prsni višini odraslih živih dreves med 16. marcem in 28. oktobrom 2009. Dodaten vzorec pa smo odvzeli še v Ljubljani v območju Rožnika na dan 6. maj 2010 s katerim smo primerjali preparate pripravljene v Viterbu. Vzorce smo takoj po odvzemu shranili v 70 % etanolu in jih pozneje vklopili v parafin. Histološke rezine prečnih prereзов, debeline 9 μm smo pripravili z rotacijskim mikrotomom Leica RM2245 z nizkoprofilnimi jeklenimi noži, jih obarvali z mešanico barvil safranin in astra-modro ter jih trajno vklopili v Euparal. Vse potrebne analize smo opravili s pomočjo svetlobnega mikroskopa Nikon Eclipse 800 (svetlo polje in polarizirana svetloba), digitalne kamere DS-Fi1 in sistema za analizo slike NIS Elements BR3 na Oddelku za lesarstvo Biotehniške fakultete. Merili smo širino ksilemskega prirastka tekočega leta. Meritve smo vedno opravili vzdolž treh radialnih nizov. Dobljene rezultate smo ovrednotili z Gompertzovo funkcijo in primerjali drevesa med seboj. Dodatno smo rezultate izravnali še s Chapman-Richardovo, Weibullovo in Korfovo rastno funkcijo in med seboj primerjali te rastne funkcije. Vse statistične izračune smo opravili v programu SPSS Statistics 17.0 in Microsoft Excel, kjer smo narisali tudi grafe.

Začetek rasti širine ksilemske branike smo zabeležili med 31. marcem in 7. aprilom, ko smo zasledili nastanek prvih trahej. Sinteza sekundarne celične stene in lignifikacija se je pri prvih trahejah začela v tednu med 23. in 29. aprilom. Biosinteza sekundarne celične stene in lignina se je namreč najprej začela okoli prvih trahej, pozneje pa še v preostalem tkivu. Glede na te rezultate predpostavljamo, da so hitro oblikovane traheje ranega lesa namenjene za transport in čim večji izkoristek vode v zgodnji pomladi.

Med 20. in 29. majem se je formacija ranega lesa zaključila. Rani les je vseboval 2-3 vence trahej. Delež ranega lesa se je razlikoval med drevesi. Večji delež ranega lesa so praviloma imela drevesa, ki so imela ožjo braniko na koncu rastne sezone. Ta pojav je bil viden pri primerjavi obeh sestojev, kjer je imel sestoj s povprečno manjšo širino branik večji delež ranega lesa.

Najbolj intenzivno priraščanje ksilemske branike je bilo od začetka junija do začetka julija. Kasni les je začel nastajati v času, ko se je zaključila formacija ranega lesa, med 20. in 29. majem, dokončno pa se je oblikoval v med 24. septembrom in 01. oktobrom. Formacija branike je trajala 4 mesece. Delež kasnega lesa je naraščal s širino branike, končna dolžina branike pa je povprečju znašala 3648 μm (oziroma $3516 \pm 703 \mu\text{m}$).

Pri primerjavi rastnih funkcij Gompertz, Chapman-Richards, Korf in Weibull smo prišli do zaključkov, da se vse krivulje približno enako prilagajajo raztrosu točk, ki smo jih dobili iz meritev širin nastajajoče ksilemske branike. Determinacijski faktor (R^2) je variiral od 0,674 do 0,965, kot posledica razlik med drevesi. Pri opazovanju trajektorije funkcij smo opazili izstopanje Weibullove funkcije, ki na začetku rastne sezone sicer malo preceni širino branike, a se njen nadaljnji potek in predvsem konec rasti zdi bolj primeren od ostalih funkcij, saj edina od obravnavanih rastnih funkcij doseže asimptotično vrednost. Pri samem poteku trajektorije in vseh ostalih karakterističnih točk razlik med Gompertzovo in Chapman-Richardsovo funkcijo ni razlik. Trajektoriji se namreč pri teh dveh funkcijah povsem prekrivata, imata zelo podobni ali enaki asimptoti in točki odvoda. Rastna funkcija Korf pa je pri vseh drevesih dosegala najvišje vrednosti asimptot in sklepamo da precenjuje največjo širino branike, prav tako pa tudi predvidi najzgodnejši nastop kulminacije prirastka branik in sicer preden širina branike doseže vrednost $A/2$. Slednjega

Gompertzova funkcija doseže, ko je širina ranike A/e , Weibullova pa, ko je širina ranike $A/2$, zaradi česar Weibullova funkcija predvidi najpoznejši nastop kulminacije prirastka ranik. Razlike med krivuljami so torej najbolj vidne v njihovih značilnostih kdaj dosežejo kulminacijo tekočega prirastka, kolikšna je širina ranike v tem času in kolikšna je predvidena maksimalna širina ranike (A).

Gompertzova funkcija se je izkazala kot zelo primerna za prikaz dinamike nastanka ksilemske ranike. Zaradi svoje značilnosti, da točko prevoja (kulminacijo tekočega prirastka) doseže, ko je širina ranike A/e , se zdi, da najbolj upošteva značilnosti dinamike rasti. Pozitivne strani te funkcije so vsekakor tudi enostavnost izračunavanja karakterističnih točk in dejanski pomen parametrov funkcije.

7 VIRI

Anić M. 1942. O rasprostranjenosti evropskog pitomog kestena. Zagreb, Tiskara C. Albrecht (P. Acinger): 142 str.

Brus R. 2004. Drevesne vrste na Slovenskem. Ljubljana, Mladinska knjiga: 399 str.

Carbone F., Sirna A. 2009. Valorizzazione e caratterizzazione degli assortimenti di castagno (*Castanea sativa* Mill.) regionale con provenienze diverse: implicazioni tecnologiche e economico-commerciali” (Cod. progetto 2003/53). Viterbo, Università degli studi della Tuscia: 98 str.

Čufar K. 2006. Anatomija lesa: univerzitetni učbenik. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za lesarstvo: 185 str.

Čufar K., Prislan P., Gričar J. 2008a. Cambial activity and wood formation in beech (*Fagus sylvatica*) during the 2006 growth season. Wood Research, 53, 4: 1-12

Čufar K., Prislan P., De Luis M., Gričar J. 2008b. Tree-ring variation, wood formation and phenology of beech (*Fagus sylvatica*) from a representative site in Slovenia, SE Central Europe. Trees, 22: 749-758

Čufar K., Cherubini M., Gričar J., Prislan P., Spina S., Romagnoli M. 2011. Xylem and phloem formation in chestnut (*Castanea sativa* Mill.) during the 2008 growing season. Dendrochronologia, v tisku

Fengri L., Yonghe W., Lijun H. 1997. Comparison of the Chapman-Richards function with the Schnute model in stand growth. Journal of Roresty Research, 8, 3: 137-143

Fengri L., Bao-dong Z., Gui-lin S. 2000. A derivation of the generalized Korf growth equation and its application. Journal of Forestry Research 11, 2: 81-88

Fonti P., Garcia-Gonzalez I. 2008. Earlywood vessel size of oak as a potential proxy for spring precipitation in mesic sites. *Journal of Biogeography*, 35: 2249-2257

Gričar J. 2006. Vpliv temperature in padavin na ksilogenezo pri jelki (*Abies alba*) in smreki (*Picea abies*): doktorska disertacija. (Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za lesarstvo). Ljubljana: 181 str.

Gričar J. 2008. Dinamika ksilogeneze pri gradnu v letu 2007. *Zbornik gozdarstva in lesarstva*, 86: 45-50

Gričar J. 2009. Sezonska dinamika debelinske rasti dreves. *Gozdarski vestnik*, 67, 4: 195-201

Jurc M. 2009. Evropski pravi kostanj – *Castanea sativa* Mill. *Gozdarski vestnik*, 67, 4: 349-364

Kotar M. 2005. Zgradba, rast in donos gozda na ekoloških in fizioloških osnovah. Ljubljana, Zveza gozdarskih društev Slovenije, Zavod za gozdove Slovenije: 471 str.

Kotar M., Brus R. 1999. Naše drevesne vrste. Ljubljana, Slovenska matica: 319 str.

Lakušić R. 1980. Ekologija biljaka. Sarajevo, IGKRO »Svjetlost« - OOUR Zavod za udžbenike: 248 str.

Lei Y. C., Zhang S. Y. 2004. features and partial derivatives of Bertalanffy-Richards growth model in forestry. *Nonlinear Analysis: Modelling and Control*, 25, 1: 65-73

Marion L. 2007. Sezonska aktivnost kambija in njegov odziv na mehanske poškodbe pri mestnem drevju: doktorska disertacija: doktorska disertacija. (Oddelek za gozdarstvo in obnovljive gozdne vire). Ljubljana: 182 str.

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

Prislan P. 2007. Nastajanje lesa pri bukvi (*Fagus sylvatica* L.) v rastni sezoni 2006: diplomsko delo. (Biotehniška fakulteta, Oddelek za lesarstvo). Ljubljana: 68 str.

Rossi S., Deslauriers A., Morin H. 2003. Application of the Gompertz equation for the study of xylem cell development. *Dendrochronologia*, 21, 1: 33-39

Rossi S., Anfodillo T., Menardi R. 2006. Trephor: a new tool for sampling microcores from tree stems. *IAWA Journal*, 27, 1: 89-97

Regione Lazio. Ufficio Idrografico e Mareografico di Roma:
<<http://www.idrografico.roma.it/default.aspx>> (18.7.2010)

Schmitt U., Moller 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

Suzuki M., Yoda K., Suzuki H. 1996. Phenological comparison of the onset of vessel formation between ring-porus and diffuse-porus deciduous trees in a Japanese temperate forest. *IAWA Journal*, 17: 431-444

Todorović D. 1961. Zakonitost rastenja i njegova analitička predstava. *Glasnik Šumarskog fakulteta, Univerzitet u Beogradu*, 21: 206 str.

Werf Van Den G. W., Sass-Klassen U., Mogren G. M. J. 2007. The impact of the 2003 summer drought on the intra-annual growth pattern of beech (*Fagus sylvatica* L.) and oak (*Quercus robur* L.) on a dry site in the Netherlands. *Dendrochronologia*, 25: 103-112

Yuancai L., Marques C. P., Macedo W. F. 1997. Comparison of Schnute's and Bertalanffy-Richards' growth functions. *Forest Ecology and Management*, 96: 283-288

Zeide B. 1989. Accuracy of equations describing diameter growth. Canadian Journal of Forestry Research, 19: 1283-1286

Zeide B. 1993. Analysis of growth equations. Forest Science, 39, 3: 594-616

Zelić J. 1998. Pitanje auktoktonosti i dalji uzgoj pitomog kestena (*Castanea sativa* Mill.) u požeškom gorju. Šumarski list, 11/12: 525-536

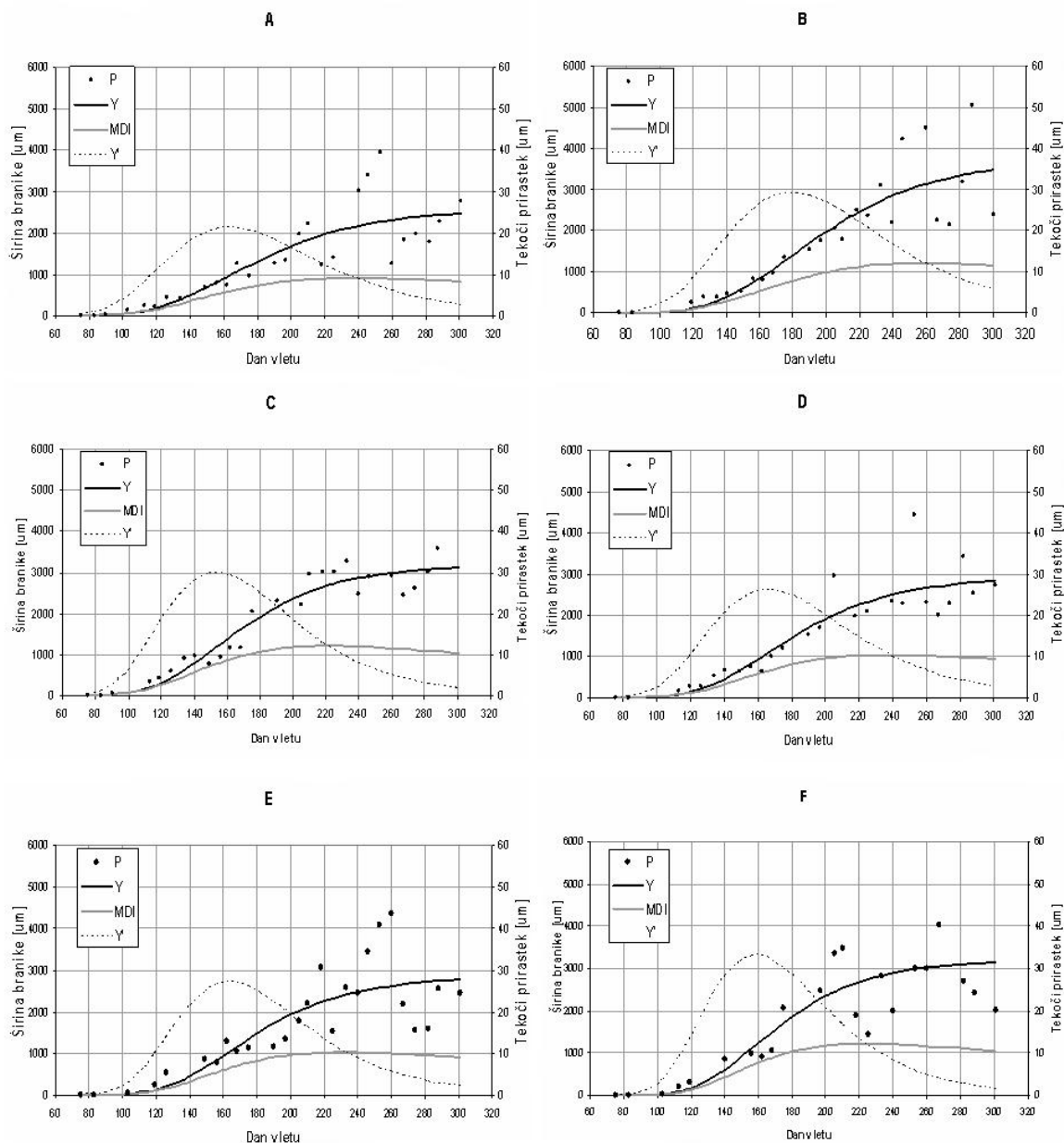
Zhang L. 1997. Cross-validation of non-linear growth for modelling tree height-diameter relationships. Annals of Botany 79: 251-257

ZAHVALA

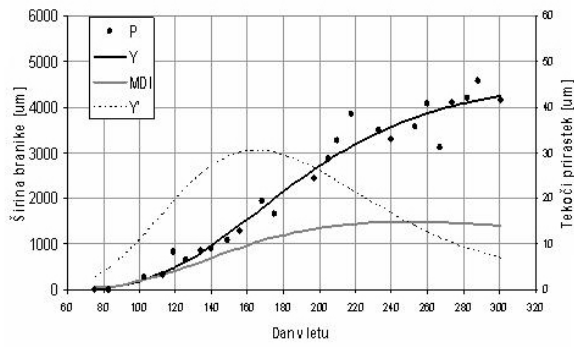
Zahvaljujem se mentorici prof. dr. Katarini Čufar za usmerjanje in organizacijo mojega dela, delovni mentorici v Italiji prof. dr. Manueli Romagnoli, Martini Cherubini in Stefanu Spini za nesebično pomoč ter Petru Prislanu za strokovno podporo. Zahvaljujem se tudi prof. dr. Robertu Brusu za temeljit pregled pričujočega gradiva.

PRILOGE

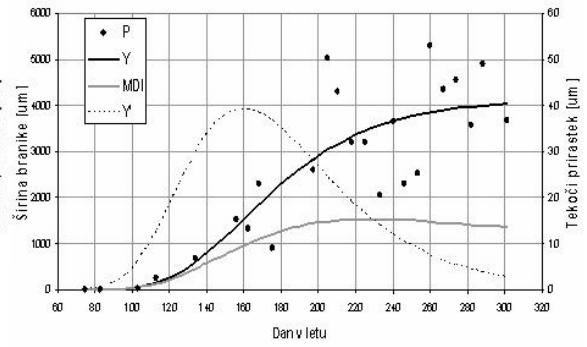
Priloga A: Izravnava podatkov z Gompertzovo rastno funkcijo. Prikaz dinamike rasti vseh obravnavanih dreves posebej (A – M) in izravnava podatkov vseh dreves skupaj (SKUPAJ). P – meritveni podatki, Y – krivulja Gompertzove rastne funkcije, Y' – krivulja Gompertzove prirastne funkcije, MDI – krivulja povprečnega prirastka.



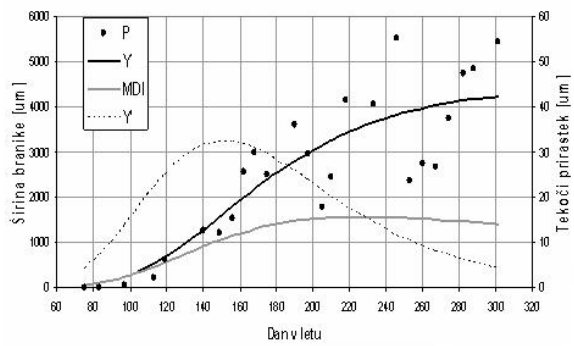
G



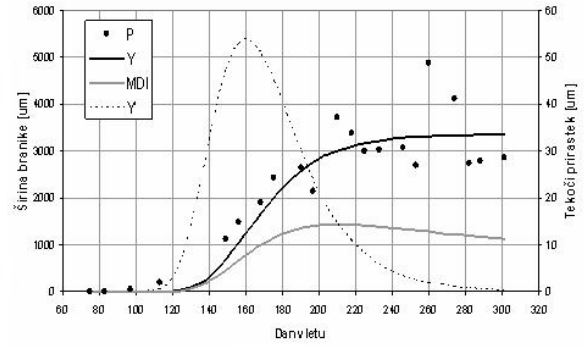
H



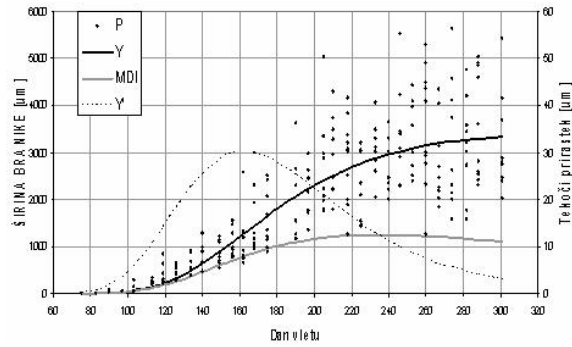
L



M



SKUPAJ



Priloga B: Primerjava rastnih funkcij Gompertz, Chapman-Richards, Weibull in Korf na podlagi vseh desetih obravnavanih dreves. A – zgornja asimptota, ki ponazarja maksimalno širino ranike, $Y'_{\max}$ – vrednost kulminacije tekočega (dnevnega) prirastka, t' – čas kulminacije tekočega (dnevnega) prirastka, R^2 – determinacijski koeficient, $MDI_{\max}$ – vrednost kulminacije povprečnega prirastka, $t_{MDI_{\max}}$ – čas kulminacije povprečnega prirastka, $Y(t_{MDI_{\max}}) \cdot A/100$ – delež ksilemske ranike, ki je nastal do kulminacije povprečnega prirastka.

DREVO	GOMPERTZ	CHAPMAN-RICHARD	WEIBULL	KORF
	A [um]			
A	2595	2597	2384	2922
B	3746	3750	3000	3608
C	3196	3197	2953	3531
D	2956	2958	2719	3370
E	2846	2844	2702	3085
F	3205	3206	3098	3457
G	4636	4679	4118	5837
H	4158	4165	3767	4548
L	4464	4564	4345	5312
M	3360	3347	3298	3644
POVPREČJE	3516	3531	3238	3931
DREVO	Y' _{max} [um]			
A	21	21	23	22
B	29	29	32	30
C	30	30	33	30
D	26	26	27	26
E	27	27	28	28
F	33	33	28	34
G	30	30	31	30
H	39	39	44	40
L	32	32	28	33
M	54	48	44	43
POVPREČJE	32	32	32	32
DREVO	t' [dan v letu]			
A	163	163	184	154
B	179	179	192	164
C	153	153	171	145
D	166	165	184	158
E	163	163	186	156
F	158	158	177	151
G	165	164	182	153
H	160	159	176	153
L	151	151	171	140
M	160	151	175	152
POVPREČJE	161.9	160.6	179.8	152.7
DREVO	R ²			
A	0.729	0.729	0.739	0.725
B	0.781	0.781	0.822	0.797
C	0.933	0.932	0.943	0.927
D	0.819	0.819	0.825	0.815

E	0.682	0.682	0.703	0.674
F	0.688	0.688	0.686	0.685
G	0.965	0.965	0.965	0.964
H	0.749	0.749	0.744	0.75
L	0.76	0.765	0.748	0.766
M	0.817	0.855	0.822	0.807
POVPREČJE	0.792	0.797	0.800	0.791
MDI_{lmax}				
A	903	902	942	891
B	1201	1201	1180	1119
C	1210	1210	1278	1191
D	1042	1042	1088	1026
E	1036	1036	1080	1023
F	1221	1221	1238	1204
G	1489	1487	1523	1474
H	1534	1533	1628	1516
L	1569	1566	1563	1547
M	1431	1444	1469	1366
POVPREČJE	1264	1264	1299	1236
t_{MDI_{lmax}} [dan v letu]				
A	238	238	235	241
B	260	260	239	248
C	221	221	216	223
D	238	238	233	245
E	233	233	234	234
F	224	224	230	225
G	249	249	243	257
H	229	229	218	231
L	228	230	239	231
M	211	204	213	218
POVPREČJE	233	233	230	235
Y(t_{MDI_{lmax}}) / A * 100 [%]				
A	82.8	82.7	92.7	73.5
B	83.3	83.2	94.0	76.8
C	83.7	83.6	93.5	75.3
D	84.0	84.0	93.3	74.4
E	84.7	84.7	93.5	77.5
F	85.3	85.2	91.9	78.4
G	79.8	79.2	90.0	64.9
H	84.3	84.2	94.2	76.9
L	80.0	79.0	86.1	67.3
M	89.7	88.2	95.1	81.8
POVPREČJE	83.8	83.4	92.4	74.7