

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA LESARSTVO

Gašper GNIDOVEC

**NASTAJANJE LESA IN FLOEMA NAVADNE SMREKE V PANŠKI
REKI PRI LJUBLJANI**

MAGISTRSKA NALOGA
Magistrski študij – 2. stopnja

M. SC. THESIS
Master Study Programme

Ljubljana, 2013

Magistrska naloga je zaključek Magistrskega študija Trajnostna raba lesa – 2. stopnja na Oddelku za lesarstvo, Biotehniške fakultete, Univerze v Ljubljani. Naloga je bila opravljena na Katedri za tehnologijo lesa, Oddelka za lesarstvo, Biotehniške fakultete v Ljubljani, kjer so bile opravljene vse laboratorijske analize.

Senat Oddelka za lesarstvo je za mentorico magistrske naloge imenoval prof. dr. Katarino Čufar, za somentorico doc. dr. Jožico Gričar in za recenzenta doc. dr. Maksa Merele.

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik:

Član:

Član:

Datum zagovora:

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

Gašper Gnidovec

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

ŠD Du2
DK UDK 630*811.13
KG smreka/*Picea abies* (L.) Karst./nastajanje lesa/kambij/Slovenija
AV GNIDOVEC, Gašper
SA ČUFAR, Katarina (mentorica)/GRIČAR, Jožica (somentorica)/MERELA, Maks (recenzent)
KZ SI-1000 Ljubljana, Rožna dolina, c. VIII/34
ZA Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za lesarstvo
LI 2013
IN NASTAJANJE LESA IN FLOEMA NAVADNE SMREKE
V PANŠKI REKI PRI LJUBLJANI
TD Magistrska naloga (Magistrski študij – 2. stopnja)
OP VII, 38 str., 2 pregl., 25 sl., 23 vir.
IJ sl
JI sl/en
AI Raziskave smo opravili na 6 odraslih drevesih smreke (*Picea abies* (L.) Karst.) na rastišču pri Panški reki v bližini Ljubljane, pri katerih smo spremljali kambijevo aktivnost, sezonsko dinamiko nastajanja ksilema in floema (rast branike in diferenciacijo celic). Iz mikro izvrtkov, odvzetih v tedenskih intervalih v rastni sezoni 2012, smo pripravili prečne prereze tkiv, ki smo jih opazovali pod svetlobnim mikroskopom in analizirali s pomočjo sistema za analizo slike. Za vsak odvzem smo prešteli število trenutno oblikovanih ksilemskih, floemskih in kambijevih celic in izmerili širine tkiv. Ugotovili smo, da se je kambijeva aktivnost pri 5 raziskanih smrekah začela 3.4.2012, pri eni pa en teden kasneje. Zaključek kambijeve celične produkcije, ki je v povprečju trajala 144 dni, smo zabeležili med 13.8. in 3.9.2012. Pri spremljanju sezonske dinamike nastajanja ksilemske branike smo ugotovili, da so prve celice v fazi površinske rasti, v povprečju nastale 17.4.; prve celice v fazi odlaganja in lignifikacije večslojne sekundarne celične stene 7.5; in prve popolnoma oblikovane celice 24.5.2012. Proučili smo tudi sezonsko dinamiko nastajanja floemske branike, kjer smo zabeležili diferenciacijo prvih celic ranega floema 20.3., pojav aksialnega parenhima 2.5. in nastanek prvih celic kasnega floema 6.5.2012. Primerjave ksilemskih in floemskih branik, nastalih v istem letu, so pokazale, da so bile floemske branike v povprečju 7,8-krat ožje od ksilemskih.

KEY WORDS DOCUMENTATION

DN Du2
DC UDC 630*811.13
CX Norway spruce/*Picea abies* (L.) Karst./wood formation/cambium/Slovenia
AU GNIDOVEC, Gašper
AA ČUFAR, Katarina (supervisor)/GRIČAR, Jožica (co-advisor)/MERELA, Maks (reviewer)
PP SI-1000 Ljubljana, Rožna dolina, c. VIII/34
PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Wood Science and Technology
PY 2013
TI WOOD AND PHLOEM FORMATION IN NORWAY SPRUCE
AT PANŠKA REKA NEAR LJUBLJANA
DT M. Sc. Thesis (Master Study Programmes)
NO VII, 38 p., 2 tab., 25 fig., 23 ref.
LA sl
AL sl/en
AB Cambial activity and seasonal dynamics of xylem and phloem formation (tree ring increment and differentiation of cells) taken from 6 mature trees of Norway spruce (*Picea abies* (L.) Karst.) growing at a site near Panška reka close to Ljubljana, were monitored. Cross-sections of tissues, prepared from micro-cores, taken weekly in the growing season 2012, were observed under a light microscope and analysed using the image analysis system. The numbers of currently formed xylem, phloem and cambial cells were counted for each sampling, and the widths of the tissues were measured. Cambial activity in 5 Norway spruces started on April 3, 2012 and in 1 spruce a week later. An average completion of cambial cell production lasted 144 days, from August 13 to September 3, 2012. In seasonal formation of xylem tree rings we found out the first cells in the phase of extension growth, on average on April 17, the first cells in the phase of deposition and lignification of the multilayer secondary cell wall on May 7, while the first fully mature cells were observed on May 24. In seasonal dynamics of phloem ring formation, differentiation of the first cells of early phloem was recorded on March 20, appearance of axial parenchyma on May 2, while the formation of the first cells of late phloem on May 6, 2012. The comparison of xylem and phloem tree rings, formed in the same year, showed that phloem tree rings were on average 7-8 times narrower than the xylem ones.

KAZALO VSEBINE

str.

Ključna dokumentacijska informacija (KDI)	III
Key Words Documentation (KWD)	IV
Kazalo vsebine	V
Kazalo preglednic	VI
Kazalo slik	VII

1	UVOD	1
2	PREGLED OBJAV	2
2.1	BIOLOGIJA NAVADNE SMREKE	2
2.2	MIKROSKOPSKA ZGRADBA LESA NAVADNE SMREKE	3
2.3	OPIS, LASTNOSTI IN UPORABA SMREKOVINE	5
2.4	ZGRADBA SKORJE IGLAVCEV	5
2.5	SKORJA SMREKE	8
2.6	KAMBIJ	8
2.6.1	Celične delitve v kambiju	9
2.6.2	Sezonska aktivnost kambija	10
2.7	NASTAJANJE LESA	10
2.7.1	Nastajanje lesa in floema pri smreki	10
2.7.2	Nastajanje lesa in floema pri bukvi v Sloveniji	11
3	MATERIAL IN METODE	13
3.1	OPIS RASTIŠČ	13
3.2	ODVZEM VZORCEV	13
3.3	PRIPRAVA VZORCEV ZA IZDELAVO MIKROSKOPSKIH PREPARATOV	14
3.4	REZANJE VZORCEV IN IZDELAVA MIKROSKOPSKIH PREPARATOV	18
3.5	MERITVE IN OBDELAVA PODATKOV	21
4	REZULTATI	23
4.1	KAMBIJEVA AKTIVNOST PRI NAVADNI SMREKI V RASTNI SEZONI 2012	23
4.2	SEZONSKA DINAMIKA NASTAJANJA KSILEMSKE BRANIKE	24
4.3	SEZONSKA DINAMIKA NASTAJANJA FLOEMSKE BRANIKE	28
4.4	ŠIRINE KSILEMSKE IN FLOEMSKE BRANKE V RASTNI SEZONI 2012	31
5	RAZPRAVA	33
6	SKLEPI	36
7	POVZETEK	37
8	VIRI	39

ZAHVALA
PRILOGE

KAZALO PREGLEDNIC

	str.
Preglednica 1: Drevesna sestava gozdov v Sloveniji, izračunana na podlagi lesne zaloge drevesnih vrst, ob upoštevanju v letu 2011 izdelanih gozdno gospodarskih načrtov GEE ter primerjava s preteklimi leti (v % - od lesne zaloge) (Zavod za gozdove Slovenije 2012, www.zgs.gov.si).	4
Preglednica 2: Prikaz uporabljenih raztopin in časa izpostavljenosti mikro izvrtkov v postopku infiltracije (Rossi in sod., 2006).	16

KAZALO SLIK

	str.
Slika 1: Areal navadne smreke (<i>Picea abies</i> (L.) Karsten) v Evropi (EUFORGEN 2009, www.euforgen.org).	2
Slika 2: Zgradba skorje (Gričar J., 2007).	6
Slika 3: Odvzem mikro izvrtka s pomočjo Trephorja.	14
Slika 4: Odstranjevanje starejšega ksilema in floema ter orientacija vzorcev.	14
Slika 5: Tkivni preparator Leica TP 1020.	15
Slika 6: A - Parafinski dispencer Leica EG 1120 in ogrevalna pinceta Leica EG F; B – ohlajanje vzorcev pri sobni temperaturi.	17
Slika 7: A – Vodna kopel Leica HI 1210 in posoda z mrzlo vodo; B – modro stekleno stojalce za objektna stekelca.	18
Slika 8: Posodice v katerih je potekal postopek obarvanja.	19
Slika 9: A – Izdelava trajnih mikroskopskih preparatov; B – Sušenje preparatov obteženih z 200 g utežmi.	20
Slika 10: PH - floem; CZ – kambijeva cona; PC – celice v fazi primarne stene; SW – celice v fazi oblikovanja večslojne sekundarne celične in njihove lignifikacije; MT – zrele celice.	21
Slika 11: Kambijeva aktivnost pri navadni smreki na Panški reki v rastni sezoni 2012. Stolpci prikazujejo razpon od dneva v letu ko se je kambijeva aktivnost začela in končala pri vsakem od 6 testnih dreves.	23
Slika 12: Nastanek prvih celic v fazi primarne celične stene (PC) pri posamezni smreki. .	24
Slika 13: Nastanek prvih celic v fazi odlaganja in lignifikacije celične stene (SW) pri posameznem drevesu.	25
Slika 14: Nastanek prvih zrelih celic pri posamezni smreki.	25
Slika 15: Konec nastajanja celic lesa pri posameznem drevesu.	26
Slika 16: Popolnoma oblikovane zadnje nastale celice kasnega lesa pri smrekah s Panške reke v letu 2012.	26
Slika 17: Število celic v popolnoma oblikovani ksilemski braniki 2012 pri smrekah s PA.	27
Slika 18: Povprečna širina ksilemske branike 2012 pri posameznem drevesu.	27
Slika 19: Začetek diferenciacije prvih celic ranega floema za posamezno drevo.	28
Slika 20: Dan pojava prvih celic aksialnega parenhima za posamezno drevo.	29
Slika 21: Dan nastanka prvih celic kasnega floema za posamezno drevo.	29
Slika 22: Število celic ranega floema (EP) za posamezno drevo.	30
Slika 23: Število celic kasnega floema (LP) za posamezno drevo.	30
Slika 24: Širina floemske branike za posamezno drevo.	31
Slika 25: Primerjava širine ksilemske (A) in floemske (B) branike.	32

1 UVOD

Raziskave sezonske dinamike nastajanja lesa proučujemo z odvzemom vzorcev iz živih dreves v kratkih časovnih intervalih tekom vegetacijske dobe. Nastajanje lesa se začne s produkcijo novih celic v kambiju, ki se v procesu diferenciacije razvijejo v odrasle celice. Proces nastanka lesa predstavlja tudi akumulacijo oz. skladiščenje ogljika in energije, ki v lesu lahko ostaneta vezana dolga leta. Razumevanje mehanizmov nastajanja lesa je med drugim pomembno za analize produktivnosti dreves in sestojev, kakovosti lesa in učinka klimatskih sprememb na rast in razvoj dreves in ekosisteme. V Sloveniji so raziskave nastajanja lesa pri smreki (*Picea abies* (L.) Karst.) potekale na Sorškem polju in Pokljuki v obdobju 2002-2004 (Gričar, 2007, Gričar in Čufar, 2008), od leta 2009 dalje pa sezonsko dinamiko nastajanja lesa in floema pri tej vrsti proučujejo na Panški reki in Menini planini (Čufar in Gričar, osebna komunikacija).

V okviru magistrske naloge smo želeli proučiti nastajanje lesa in floema pri smrekah na Panški reki v rastni sezoni 2012. V ta namen so bili v tedenskih intervalih iz šestih odraslih dreves odvzeti mikro izvrtki tkiv lesa, kambija in skorje, iz katerih smo pripravili preparate prečnih prereзов tkiv in jih proučili s svetlobnim mikroskopom ter sistemom za analizo slike.

Cilji pričujoče naloge so bili:

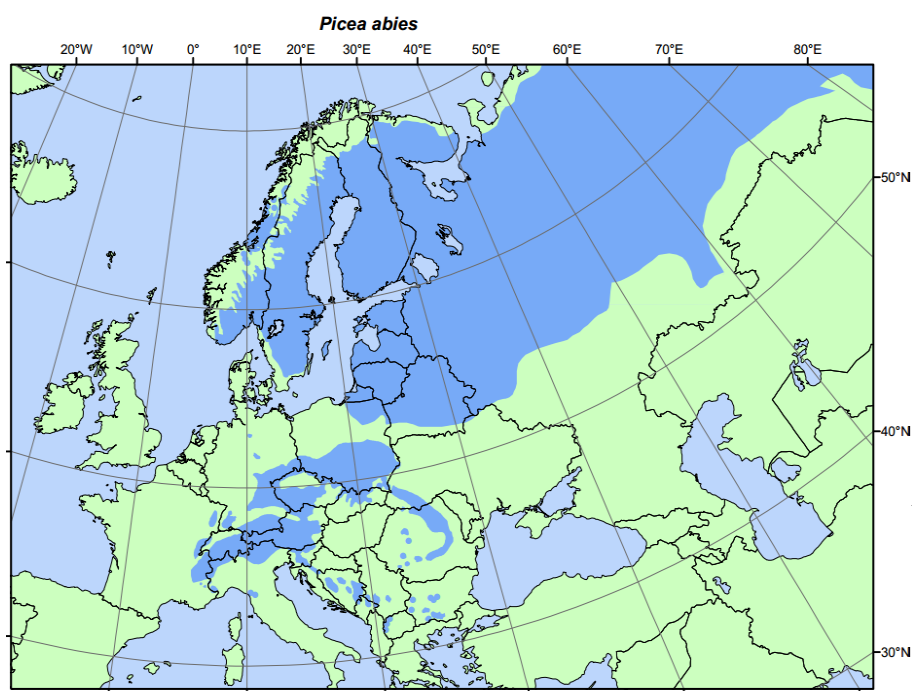
- a) določiti začetek in konec kambijeve celične produktivnosti ter posameznih faz nastajanja lesa in floema;
- b) raziskati sezonsko dinamiko nastanka ksilemske in floemske branike;
- c) primerjati dinamiko nastajanja lesa in floema med drevesi.

2 PREGLED OBJAV

2.1 BIOLOGIJA NAVADNE SMREKE

Navadna smreka (*Picea abies* (L.) Karst.) spada v družino borovk (*Pinaceae*). Je vednozeleno, do 50 m visoko in do 2 m debelo iglasto drevo s stožčasto krošnjo (Brus, 2004).

Smreka je značilna borealno alpska drevesna vrsta. V severni Evropi raste predvsem v nižinah in sega skoraj do severa Skandinavije ter daleč proti vzhodu v Rusijo. V srednji in južni Evropi je gorska vrsta in raste predvsem v Alpah, Karpatih in Dinarskem gorovju, kjer uspeva do 2200 m nadmorske višine (Brus, 2004).



Slika 1: Areal navadne smreke (*Picea abies* (L.) Karst.) v Evropi (EUFORGEN 2009).

Naravna rastišča smreke so v Sloveniji le v gorskih predelih, na primer v Julijskih Alpah, Karavankah in na Pohorju, v zelo hladnih dolinah nižjih leg in v visokokraških mraziščih, na primer v Trnovskem gozdu, okrog Snežnika in na Kočevskem, kjer še najdemo precej

strnjene avtohtone populacije. Sajena in pospeševana danes raste po vsej Sloveniji, izjema so samo močvirska rastišča v panonskem svetu, obrečne nižine in suhi predeli sredozemskega sveta (Brus, 2004).

Smreka je enodomna in vetrocvetna vrsta, ki cveti aprila in maja. Večinoma se razmnožuje s semeni, za žlahtnjenje pa uporabljajo tudi vegetativno razmnoževanje s potaknjenci, za vlogo okrasnih sort pa cepljenje. Najraje ima sveža in zračna tla na vseh podlagah, prenese tudi kislata tla, potrebuje visoko zračno vlago in čez vse leto enakomerno porazdeljene padavine. Suše in vročine ne prenaša, občutljiva je na onesnažen zrak. Odporna je proti mrazu in nizki temperaturi in potrebuje zelo malo poletne toplote. V nižjih in toplejših legah je sencovzdržna, v višjih legah pa polsvetloljubna vrsta (Brus, 2004).

2.2 MIKROSKOPSKA ZGRADBA LESA NAVADNE SMREKE

Les ali sekundarni ksilem, za katerega so značilni trahealni elementi, je mehansko in za vodo prevodno tkivo debel in korenin, ki ga tvori kambij. Anatomska zgradba lesa iglavcev je enostavnejša od zgradbe listavcev. Pri iglavcih več kot 90 % lesnega tkiva predstavljajo aksialne traheide. Traheida je mrtva neperforirana celica, ki jo s kongeneričnimi elementi povezujejo obokane pikenje (Torelli, 1990).

Na začetku rastne sezone nastajajo traheide ranega lesa z velikimi lumni, na koncu pa traheide kasnega lesa z majhnimi lumni. Traheide ranega lesa so zaradi velikih lumnov pomembne za prevajanje vode, traheide kasnega lesa pa z debelimi stenami zagotavljajo trdnost lesa (Čufar, 2006).

Komunikacija med dvema sosednjima traheidama poteka skozi pare pikenj. Pikenja je vrzel v sekundarni celični steni (Torelli, 1990). Obokane pikenje med osnimi traheidami so pri smreki razporejene večinoma v enojnih nizih. Aksialni parenhim je pri iglavcih zelo redek ali manjka (Grosser, 1977). Parenhimske celice so žive, ko so del beljave, nato se citoplazma v njih razkroji (Panshin in de Zeeuw, 1980). Namenjene so predvsem skladiščenju in transportu ogljikovih hidratov. Za smreko so značilni normalni smolni kanali (Grosser, 1977; Wagenführ, 1996). Smolni kanal je cevast medcelični prostor, ki je

nastal z razmaknitvijo nezrelih aksialnih elementov v procesu diferenciacije. Ta prostor obdajajo epitelne celice in v beljavi vsebuje smolo (Torelli, 1990). V lesu se lahko pojavijo tudi travmatski smolni kanali, ki nastanejo kot odziv kambija na mehanske poškodbe (Torelli in sod., 1990).

Radialno potekajoč agregat celic v ksilemu in floemu imenujemo trak. Trakovi iglavcev so večinoma enoredni, večredni so le vretenasti oz. fuziformni trakovi, ki vsebujejo radialni smolni kanal (Torelli, 1990; Čufar, 2006).

Les navadne smreke ima razločne branike s postopnim preходом iz ranega v kasni les. Les vsebuje aksialne in radialne smolne kanale z debelostenimi epitelnimi celicami. Trakovno tkivo je heterocelularno, sestavljeno iz parenhimskih celic in trakovnih traheid. V križnih poljih se nahaja več manjših piceoidnih pikenj. Obokane pikenje v traheidah se praviloma nahajajo v enojnih nizih. Traheide so brez helikalnih odebelitev (Čufar, 2006, Čufar in Zupančič, 2009).

Podatki Zavoda za gozdove Slovenije za leto 2011, kažejo, da je trenutni delež smreke v lesni zalogi slovenskih gozdov 31,5 %. Delež smreke v lesni zalogi v zadnjih letih upada, kar je razvidno tudi iz preglednice (Preglednica 1).

Preglednica 1: Drevesna sestava gozdov v Sloveniji, izračunana na podlagi lesne zaloge drevesnih vrst, ob upoštevanju v letu 2011 izdelanih gozdno gospodarskih načrtov GEE ter primerjava s preteklimi leti (v % - od lesne zaloge) (Zavod za gozdove Slovenije 2012, www.zgs.gov.si).

LETO	smreka	jelka	bori	maces.	dr. igl.	bukev	hrasti	pl. list.	dr.t.list.	meh.list.	iglavci	listavci
1998	32,7	9,1	5,9	1,3	0,2	31,7	6,7	3,8	7,0	1,6	49,2	50,8
1999	32,5	9,0	6,1	1,3	0,1	31,6	6,8	3,6	7,4	1,6	49,0	51,0
2000	32,5	8,5	6,0	1,2	0,2	31,6	6,9	4,1	7,4	1,6	48,4	51,6
2001	32,3	8,3	6,0	1,2	0,2	31,6	6,9	4,1	7,8	1,6	48,0	52,0
2002	32,3	8,2	6,0	1,2	0,2	31,6	7,0	4,2	7,8	1,5	47,9	52,1
2003	32,3	7,9	5,8	1,2	0,3	31,5	7,0	4,3	7,9	1,7	47,5	52,5
2004	32,4	7,8	5,7	1,2	0,3	31,7	6,9	4,4	7,9	1,7	47,4	52,6
2005	32,2	7,7	5,8	1,2	0,3	31,7	7,0	4,5	8,0	1,7	47,1	52,9
2006	32,3	7,6	5,7	1,2	0,3	31,7	7,0	4,6	8,0	1,7	47,0	53,0
2007	32,0	7,5	5,8	1,2	0,3	31,7	7,1	4,7	8,2	1,7	46,7	53,3
2008	31,9	7,5	5,8	1,2	0,3	31,8	7,1	4,7	8,2	1,7	46,6	53,4
2009	31,8	7,4	5,9	1,2	0,3	31,7	7,0	4,9	8,2	1,7	46,5	53,5
2010	31,5	7,6	5,9	1,2	0,2	31,8	7,0	4,9	8,2	1,7	46,4	53,6
2011	31,5	7,5	5,8	1,2	0,2	31,8	7,0	5,0	8,2	1,7	46,2	53,8

2.3 OPIS, LASTNOSTI IN UPORABA SMREKOVINE

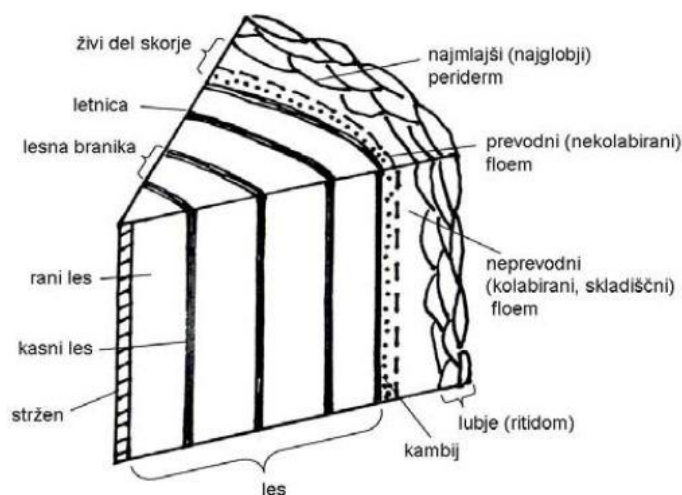
Smreka ima les z neobarvano jedrovino, zato se beljava in jedrovina barvno ne ločita. Les je večinoma rumenkastobel, v starosti tudi rumenkastorjav. Ima različno široke branike od ozkih do širokih in so lepo razločne. Prehod iz ranega lesa do kasnega lesa je večinoma postopen. Svež les diši po smoli, zelo pogost pojav pa so smolni žepki. Les ima nizko do srednjo gostoto (430 kg/m^3) in se zmerno krči. Smrekovina je elastična in trdna in se lahko cepi ter suši brez težav. Brez težav se površinsko obdeluje z vsemi komercialnimi laki, dobro pa se tudi lepi, vijači in žeblija (Čufar, 2006).

Zaradi nizke vsebnosti ekstraktivov je les kemično komajda aktiven, kar pomeni, da v stiku z vodo, kislinami, bazami, alkoholom, maščobami, oljem, bakrom ali medenino ne pride do obarvanja. Nezaščiten les je le zmerno odporen proti vremenskim vplivom in neodporen proti glivam in insektom. Pri uporabi na prostem mora biti smrekovina pravilno vgrajena in zaščitena oz. površinsko obdelana. Smrekovina se na trgu pojavlja kot hlodovina, žagan les in furnir. Njena uporaba je zelo raznovrstna in množična. Poseben pomen ima kot gradben in konstrukcijski les ter za notranjo opremo, vendar pa se uporablja tudi za druge namene kot so ostrešja, mostovi, stene, stropi, okna, vrata, itd. (Čufar, 2006).

2.4 ZGRADBA SKORJE IGLAVCEV

Skorja predstavlja vsa tkiva zunaj vaskularnega kambija, ki so rezultat delovanja dveh sekundarnih lateralnih meristemov: vaskularnega in plutnega kambija. Prvi prispeva sekundarni floem, drugi pa felem in feloderm, ki skupaj s felogenom tvorita periderm – sekundarno krovno tkivo dreves (Torelli, 1990). Skorja opravlja krovno funkcijo in služi za prevajanje asimilatov iz listov po vejah in deblu do korenin (Čufar, 2006).

Skorjo delimo na živi del, ki sega od vaskularnega kambija do najmlajšega, najglobljega periderma in zunanji mrtvi del, ki ga imenujemo tudi lubje ali ritidom (Čufar, 2006).



Slika 2: Zgradba skorje (Gričar, 2007).

Aksialni sistem floema iglavcev je sestavljen iz sitastih celic in aksialnih parenhimskih celic, redkeje tudi vlaken. Podobno, kot v lesu se tudi v zrelem floemu ohrani radialni razpored celic. Za razliko od prevajanja vode, ki ga opravljajo mrtve celice lesa, je prevajanje hrane aktivni transport, ki ga lahko opravljajo le žive celice. Pri iglavcih prevajanje asimilatov poteka po sitastih celicah, ki so podolgovate in se na koncih prekrivajo. Celice so med seboj povezane s sitastimi polji z modificiranimi piknjami, ki jih je največ v radialnih stenah in na koncih celic. Ker sitaste celice ne vsebujejo jedra in vakuole, je njihovo preživetje popolnoma odvisno od specializiranih parenhimskih celic, ki jim pravimo tudi Strassburgerjeve celice, s katerimi so sitaste celice fiziološko povezane. Sitaste celice prevajajo hrano le dokler so del prevodnega floema, kar ponavadi traja 1-2 leti. Znak, da celice niso več prevodne, je pojav kaloze, ki zatesni sitasta polja. Temu pojavu sledi kolaps sitaste celice (Čufar, 2006). Po kolapsu sitastih celic, parenhimske celice, ki so del starejše žive skorje pogosto dodatno zrastejo in doživijo sklerifikacijo, ki se odraža, kot debelitev sten. Sklereide so mrtve celice z odebeljenimi in lignificiranimi celičnimi stenami. Če parenhimska celica enakomerno raste na vse strani, nastane brahisklereida (Čufar, 2006).

Osnovna naloga aksialnega parenhima v floemu je prevajanje in skladiščenje hrane, v starejši skorji pa lahko vsebuje razne ergastične substance, kot so kristali in podobno. Parenhimske celice so žive, dokler so del žive skorje, po potrebi pa so se sposobne deliti in rasti. Najintenzivnejša sprememba parenhimskih celic je površinska rast (hipertrofija, inflacija) ter naknadna rast in diferenciacija v različne tipe debelostenih sklereid (Čufar, 2006).

Floemska vlakna pri iglavcih pogosto izostanejo (tudi pri smreki), če pa so že prisotna, pa povečujejo trdoto in trdnost skorje (Čufar, 2006).

Radialni sistem floema iglavcev sestavljajo floemski trakovi, ki so večinoma enoredni in so zgrajeni iz parenhimskih celic, in sicer iz običajnih parenhimskih celic in Strassburgerjevih celic, ki se med seboj po obliki le malo razlikujejo, vendar imajo različno funkcijo (Čufar, 2006).

S funkcionalnega vidika ločimo prevodni in neprevodni (skladiščni) floem. Ker je za sitaste celice značilno, da v neprevodnem floemu kolabirajo, prevodni floem imenujemo tudi nekolabirani, neprevodni floem pa kolabirani (Čufar, 2006).

V najmlajšem prevodnem floemu je načeloma mogoče ločiti letne prirastne kolobarje ali branike ter rani in kasni floem, vendar te niso tako izrazite kot v lesu. Širina branik v skorji je v splošnem manjša kot v lesu in v povprečju znaša nekaj desetink milimetra. Aksialni in trakovni parenhim v neprevodnem floemu pogosto doživita inflacijo (povečanje dimenzij) in sklerifikacijo (odebelitev celičnih sten) (Čufar, 2006).

2.5 SKORJA SMREKE

Skorja smreke je sestavljena iz ozkega nekolabiranega in širokega kolabiranega floema, ki sega do najglobjega periderma, ter lubja z več peridermi. Mlajši nekolabirani sekundarni floem se nahaja tik ob kambijevi coni. V njem so vidne prirastne plasti. Sitaste celice so urejene v radialnih nizih. Plasti sitastih celic prekinjajo tangencialni nizi aksialnega parenhima. Floemske trakove sestavljajo parenhimske in Strassburgerjeve celice. Sitaste celice so že kolabirane, aksialni parenhim pa doživi inflacijo. V kolabiranem floemu se floemski trakovi zveržijo. Pojavijo se gnezda sklereid, ki so nastala s sklerefikacijo floemskega parenhima. Gnezda sklereid imajo slojasto odebeljene celične stene in majhne pore. Njihovo število narašča od mlajšega proti starejšemu floemu. V kolabiranem floemu se lahko nahajajo tudi sluzne celice. Smreka ima luskast tip lubja.

2.6 KAMBIJ

V deblih dreves prevladujejo sekundarna tkiva, delež primarnih tkiv pa je skoraj zanemarljiv. Sekundarna rast je rezultat aktivnosti vaskularnega kambija (v nadaljevanju kambij) in plutnega kambija, ki ga imenujemo tudi felogen. Oba kambija predstavljata sekundarna in obstranska (lateralna) meristema, pri čemer vaskularni kambij proizvaja sekundarni ksilem (les) in sekundarni floem, felogen pa tvori felem in feloderm. S sekundarno rastjo se povečuje količina prevodnih tkiv v deblu, posledično pa se povečuje tudi premer debla (Čufar, 2006).

Prostorsko gledano ima kambij obliko votlega valja in v centripetalni smeri proizvaja celice sekundarnega ksilema (lesa), centrifugalni smeri pa celice sekundarnega floema (ličje) (Čufar, 2006).

Kambij je sestavljen iz vretenstih (fuziformnih) in trakovnih inicialk. Dolžina fuziformnih inicialk je pri iglavcih nekje med 2 in 9 mm. (Čufar, 2006).

Kambij v strogem pomenu besede predstavlja eno celico debelo plast vretenastih in trakovnih inicialk. Ker pa je kambijeve inicialke v praksi težko ločiti od njihovih neposrednih derivatov v lesu in skorji, pogosto uporabljamo izraz kambijeva cona, s katerim poimenujemo kambijeve inicialke in njihove neposredne derivate (Čufar, 2006).

Kambijeve celice so tipične žive rastlinske celice s tanko celično steno. Za razliko od celic v kambiju pa je, z izjemo parenhimskih celic v beljavi, večina celic v lesu mrtvih in šele takrat lahko opravljajo svoje naloge (Čufar, 2006).

2.6.1 Celične delitve v kambiju

Kambijeve celice 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 (Čufar, 2006).

Radialne delitve so multiplikativne, s katerimi se množi število kambijevih celic. Posledica je povečevanje površine oz. obsega kambija. Perikline delitve pa so aditivne in z njimi nastajajo celice lesa ali floema. Posledica je povečevanje premera debla. Ista kambijeva celica se lahko predeli radialno ali tangencialno, vendar različna tipa delitve ne potekata hkrati (Čufar, 2006).

Razvoj celice poteka v več fazah: delitev, determinacija in diferenciacija. V fazi delitve pride do delitve celičnega jedra, organelov in oblikovanja nove celične stene. V fazi determinacije je določen tip celice (npr. traheida, parenhimska celica itd.). V fazi diferenciacije se celica dokončno oblikuje (Čufar, 2006).

Proces diferenciacije traheide je sestavljen iz naslednjih faz:

- Rast celice (celica raste površinsko in v dolžino);
- Biosinteza večslojne sekundarne celične stene in lignifikacija;
- Odmrtje celice, razkroj protoplazme in prevzem funkcije v trajnem tkivu (Čufar, 2006).

2.6.2 Sezonska aktivnost kambija

Delovanje kambija je periodično. V našem podnebjju kambij pozimi praviloma miruje in to obdobje imenujemo tudi dormantno obdobje. Kambij je aktiven v času vegetacijske dobe, ki po grobi oceni na nižje ležečih rastiščih v osrednji Sloveniji traja od konca aprila oz. začetka maja pa vse do konca avgusta oz. začetka septembra. Na višku vegetacijske dobe, ko so delitve najbolj intenzivne, je kambij najširši, najožji pa je v obdobju mirovanja (Čufar, 2006). Ta osnovna spoznanja so zelo dopolnile raziskave kambijeve aktivnosti v zadnjih letih (Gričar in sod., 2005, 2006, Gričar, 2007, Gričar in Čufar, 2008)

2.7 NASTAJANJE LESA

2.7.1 Nastajanje lesa in floema pri smreki

Raziskave nastajanja lesa in floema pri navadni smreki so v Sloveniji začela že leta 2002 (Gričar, 2007, Gričar in Čufar, 2008). Ugotovili so, da sta metodi pining (vbod kambija z iglo) in metoda vzorčenja intaktnih tkiv primerni za raziskave dinamike nastanka ksilemske branike, za nastanek floemske branike pa je bila ustrezna le metoda vzorčenja intaktnih tkiv. Poleg tega pa so ugotovili tudi, da se celične delitve v kambiju začnejo in končajo istočasno na ksilemski in floemski strani. Opravljeni so bili tudi nadzorovani poskusi lokaliziranega ogrevanja in hlajenja debela navadne smreke v aktivnem in dormantnem obdobju kambija, ki do dodatno pojasnili, kako temperaturne spremembe vplivajo na kambijevo delovanje in celično produkcijo (Gričar in sod., 2005, 2006).

Leta 2009 so se začele kontinuirane raziskave sezonske dinamike nastajanja lesa in floema na približno 100 let starih drevesih navadne smreke na rastiščih Panška reka pri Ljubljani (400 m n.m.v.) in Menina planina (1200 m n.m.v.). Rezultati raziskav v letih 2009-2011 so pokazali, da se kambijeva celična produkcija začne prej na spodnjem rastišču Panška reka, in sicer v sredini aprila, na Menini planini pa v prvi polovici maja. Obdobje najbolj intenzivnega nastajanja celic je bilo zabeleženo na obeh rastiščih podobno, in sicer v prvi polovici junija. Rastna sezona je na spodnjem rastišču daljša, celična produkcija v kambiju se zaključi v drugi polovici avgusta, na Menini planini pa v sredini avgusta. Celična produkcija na nižjem rastišču traja od 19-20 tednov, na višje ležečem rastišču pa 15-17 tednov. Posledično je ksilemski in floemski prirastek širši pri smrekah iz nižjega rastišča. Poleg tega je kambijeva celična produkcija 3 do 6-krat večja na ksilemski kakor pa na floemski strani (Čufar in sod., 2012).

Na floemski strani se diferenciacija 1-2 plasti sitastih celic, ki so prezimile začne en mesec pred kambijevo celično delitvijo. Letni floemski prirastek je bil primerljiv med tremi leti in je bil za 1-2 celice širši na nižjem rastišču (Čufar in sod., 2012).

Ker se lahko sezonska dinamika kambijeve aktivnosti med leti zelo razlikuje, je treba s tovrstnimi raziskavami nadaljevati več let. Pričujoče delo predstavlja del teh raziskav o nastajanju lesa in floema pri smreki v Sloveniji.

2.7.2 Nastajanje lesa in floema pri bukvi v Sloveniji

Študije nastajanja lesa in floema pri navadnih bukvah (*Fagus sylvatica* L.), starih okoli 150 let, so se začele v letu 2006 (Prislan, 2007, Prislan, 2012, Prislan in sod. 2010, 2013) na rastiščih Panška reka pri Ljubljani (400 m n.m.v.) in Menina planina (1200 m n.m.v.).

Rezultati kažejo, da se produkcija novih ksilemskih in floemskih celic pri bukvah na Panški reki vedno začne v prvi polovici aprila. Obdobje maksimalne celične produkcije je nastopilo konec maja oz. na začetku junija. Kambijeva celična produkcija se je zaključila v sredini avgusta. Vzorci nastajanja lesa so bili podobni na obeh rastiščih, vendar z zamikom

na višjem rastišču Menina planina, kjer se je produkcija novih celic začela v sredini maja, maksimalna celična produkcija pa je nastopila okrog poletnega solsticija. Kambijeve celična produkcija se je zaključila prej, kot na nižjem rastišču, in sicer na začetku avgusta. Ksilemski prirastek je bil pri bukvi na Panški reki skoraj dvakrat širši, kot na Menini planini (Prislan in sod., 2013).

Metodi UV-mikrospektrofotometrija (UMSP) in transmisijška elektronska mikroskopija (TEM) omogočata raziskave na sub-celičnem in ultra-strukturnem nivoju, zato je mogoče podrobno raziskati proces odlaganja sekundarne celične stene in lignifikacije celic. Lignifikacija se je pri bukvah s Panške reke začela 1 do 2 tedna po nastanku prve nove celice. Po enem mesecu je bilo možno opaziti prvo popolno razvito trahejo ranega lesa. Lignifikacija vlaken in aksialnega parenhima v ranem lesu se je zaključila približno 2 meseca kasneje. Po končani kambijeve celični produkciji je diferenciacija terminalnih lesnih vlaken potekala še štiri tedne (Prislan in sod., 2009).

Študija nastanka floema pri bukvi je pokazala, da se je produkcija celic na lesno in floemsko stran začela istočasno, vendar se nastanek floema očitno začne z diferenciacijo 1 do 2 floemskih celic, ki sta prezimili. Kolaps sitastih celic ranega floema se pojavi kmalu po prenehanju kambijeve celične produkcije (Prislan in sod., 2012).

Dinamika kambijeve aktivnosti ter nastajanja lesa in floema pri bukvi so za nas zanimive, ker so raziskave potekale na Panški reki, v bližini rastišča, kjer smo pridobili vzorčni material smreke za to magistrsko nalogo.

3 MATERIAL IN METODE

3.1 OPIS RASTIŠČ

Raziskave te naloge smo opravili na šestih odraslih drevesih smreke (*Picea abies* (L.) Karst.) na rastišču pri Panški reki (46° 00'S in 14°40'V; okoli 400 m n.m.v.) v bližini Ljubljane. Na rastišču smo izbrali dominantna in kodominantna smrekova drevesa, stara 68±8 let, s premerom okoli 36±5 cm. Izbrana vzorčna drevesa se nahajajo v gozdni združbi *Blechno fagetum*, ki vsebuje pretežno navadno bukev (*Fagus sylvatica* L.), gorski javor (*Acer pseudoplatanus* L.) in navadno smreko.

3.2 ODVZEM VZORCEV

Mikro izvrtke so sodelavci Oddelka za lesarstvo v letu 2012 odvezemali v tedenskih intervalih od konca marca (23.3.2012) do konca septembra (24.9.2012) s pomočjo orodja Trephor (Slika 3) (Rossi in sod., 2006). Da so se izognili nezaželenim poranitvenim vplivom, ki so nastali kot odziv kambija na mehansko poškodbo, je bila razdalja med vzorci najmanj 4 cm, vzorčenje pa je potekalo spiralno navzgor po obodu debla.

Takoj po odvzetju vzorca iz drevesa so ga fiksirali v raztopini etanol-formalina-očetne kisline (FAA) (Gričar, 2007).



Slika 3: Odvzem mikro izvrtka s pomočjo Trephorja.

3.3 PRIPRAVA VZORCEV ZA IZDELAVO MIKROSKOPSKIH PREPARATOV

Mikro izvrtke so iz FAA po 1 tednu preložili v 70 % etanol in jih tam shranili. Izvrtke smo najprej obrezali na manjše dimenzije, in sicer tako, da smo vzorcu s pomočjo britvice odstranili odvečne starejše branike ksilema, pri čemer smo ohranili le zadnjih nekaj nastalih branik lesa in kolabiranega dela floema. Nato smo vzorec orientirali, tako da smo prečni prerez obarvali s svinčnikom (Slika 4).



Slika 4: Odstranjevanje starejšega ksilema in floema ter orientacija vzorcev.

Zatem smo vzorec dali v kaseto, na katero smo napisali šifro, z oznako rastišča,, številke drevesa in datuma odvzema in nato kaseto potopili v reagenčno posodo tkivnega preparatorja Leica TP 1020, napolnjeno s 70 % etanolom (Slika 5). Ko smo posodo napolnili s kasetami (približno 50 vzorcev), je bila ta pripravljena na infiltracijo. Proces infiltracije je potekal v tkivnem preparatorju v 12 reagenčnih posodah z različnimi raztopinami. Program in mehanizem tkivnega preparatorja sta omogočila avtomatsko prestavljanje vzorcev iz ene reagenčne posode v drugo. V prvih sedmih posodah so se vzorci dehidrirali v etanolu, in sicer na začetku v 70 % raztopini, nato pa še v 90 %, 95 % in na koncu v 100 % etanolu. Čas dehidracije poteka 2 uri v prvi in drugi posodi, v preostalih pa po 1,5 ure. V naslednjih treh posodah sledi dehidracija v 100 % bio-clearu, in sicer 1,5 ure v vsaki posodi. Postopek se zaključi s prepajanjem vzorcev s parafinom, ki poteka v dveh posodah po 2 uri (Preglednica 2).



Slika 5: Tkivni preparator Leica TP 1020.

Preglednica 2: Prikaz uporabljenih raztopin in časa izpostavljenosti mikro izvrtkov v postopku infiltracije (Rossi in sod., 2006).

RAZTOPINA	ČAS (min)
Etanol 70 %	120
Etanol 70 %	120
Etanol 90 %	90
Etanol 90 %	90
Etanol 95 %	90
Etanol 100 %	90
Etanol 100 %	90
Bio-clear	90
Bio-clear	90
Bio-clear	90
Parafin	120
Parafin	120

Po končanem postopku infiltracije je sledilo vklapljanje vzorcev v parafin s pomočjo parafinskega dispenzerja Leica EG 1120 (Slika 6). Kasete z vzorci smo skupaj s kovinskimi posodicami, v katerih smo kasneje izdelovali parafinske bloke, postavili na grelno ploščo parafinskega dispenzerja, ogreto na 60°C in počakali, da so se segrele. Nato smo kasete z vzorci odprli in pokrovček kasete zavrgli. V kovinske posodice smo vlili toliko parafina, da smo pokrili dno posodice. Zatem smo s pomočjo ogrevalne pincete Leica EG F položili vzorec na dno posodice pod kotom 45 stopinj glede na njene robove, pri čemer je bil prečni prerez vzorca obrnjen navzgor. Nato smo kovinsko posodico postavili v petrijevko z mrzlo vodo in s pomočjo ogrevane pincete držali vzorec v parafinu toliko časa, dokler se ni parafin nekoliko utrdil in s tem fiksiral vzorec. V nadaljevanju smo na kovinsko posodico postavili označeno kaseto, dolili parafin in jo postavili na mizo za toliko časa, da se je parafin na sobni temperaturi strdil. Vzorce smo nato za 30 minut položili v hladilnik, da smo ohlajen parafinski blok lažje ločili od kovinske posodice. Po končanem postopku smo s parafinskih blokov z olfa nožem odstranili odvečen parafin. Pred začetkom rezanja preparatov smo na polavtomatskem rotacijskem mikrotomu Leica RM 2245 bloku najprej izravnali površino rezanja in odstranili toliko parafina, da smo prišli do vzorca. Nato smo vzorec za 24 ur namakali v mrzli vodi, s čimer so se tkiva zmehčala, kar je olajšalo rezanje in izboljšalo kakovost rezin.



Slika 6: A - Parafinski dispenzer Leica EG 1120 in ogrevalna pinceta Leica EG F; B – ohlajanje vzorcev pri sobni temperaturi.

3.4 REZANJE VZORCEV IN IZDELAVA MIKROSKOPSKIH PREPARATOV

Rezanje prečnih prerezov tkiv je potekalo s polavtomatskim rotacijskim mikrotomom Leica RM 2245. Za rezanje smo uporabili jeklene nože Feather N34H za enkratno uporabo. Postopek rezanja na rotacijskem mikrotomu poteka tako, da nož miruje, vzorec pa se giblje v vertikalni smeri. Ko se vzorec vrne v začetno točko, se pomakne za debelino rezine proti nožu. Za ekonomično porabo celotnega rezila noža in kvaliteto rezin smo nož horizontalno postopoma premikali za dolžino vzorca.

Za vsak vzorec smo izdelali dva preparata z rezinami različnih debelin: 8 μm in 10 μm . Pri rezanju je nastajal dolg trak rezin, ki smo ga kasneje s pomočjo vlažnih lesenih palčic (zaradi boljšega oprijema) prestavili v posodo z mrzlo vodo. Najkvalitetnejše rezine smo z objektnim stekelcem prestavili v vodno kopel Leica HI 1210 s temperaturo vode 40°C, da so se lepo razgrnile (Slika 7). Nato smo jih prestavili na objektno steklo, namazano z albuminom, ki zagotavlja boljši oprijem rezin na steklu. Po končanem postopku smo objektna stekla z rezinami postavili v stekleno stojalce in jih za 20 minut postavili v laboratorijski sušilnik. Na koncu so se stekla ohladila na sobno temperaturo.



Slika 7: A – Vodna kopel Leica HI 1210 in posoda z mrzlo vodo; B – modro stekleno stojalce za objektna stekelca.

Sledilo je čiščenje in barvanje rezin, ki je potekalo po 15 minut v petih posodicah z različnimi raztopinami. V prvih dveh je bila 100 % raztopina bio-cleara, da smo iz vzorcev odstranili parafin, v drugih dveh smo jih spirali s 100 % etanolom, v zadnji posodici pa smo jih obarvali z vodno mešanico barvil safranin in astra modro (Slika 8).



Slika 8: Posodice v katerih je potekal postopek obarvanja.

Mešanica barvila je bila pripravljena tako, da smo v 100 ml destilirane vode dodali 40 mg safranina v prahu, 150 mg astra modrega v prahu in 2 ml očetne kisline (Van der Werf in sod., 2007).

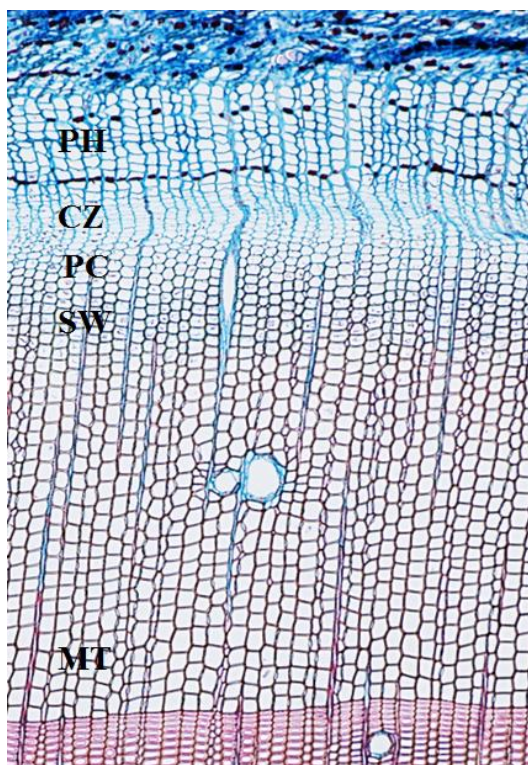
Po končanem barvanju smo vzorce spirali z destilirano vodo in jih dehidrirali v 100% etanolu. Sledilo je vklapljanje rezin v vklopni medij Euparal, ki smo jih prekrili s krovnim steklom. S pomočjo preparirne igle smo odstranili odvečne mehurčke, ki so se ujeli v vklopnem mediju, s čopičem odstranili odvečni vklopni medij ob robovih objektnega stekla in preparate obtežili z 200 g utežmi za najmanj 24 ur, da se je vklopni medij strdil (Slika 9). Na koncu smo trajne preparate prečnih prereзов tkiv zložili v škatle.



Slika 9: A – Izdelava trajnih mikroskopskih preparatov; B – Sušenje preparatov obteženih z 200 g utežmi.

3.5 MERITVE IN OBDELAVA PODATKOV

Sledila je analiza tkiv s svetlobnim mikroskopom in sistemom za analizo slike. Za opazovanje in zajem slike smo uporabili svetlobni mikroskop Nikon Eclipse E800 in digitalno kamero Nikon DS-Fi1, za merjenje tkiv pa računalniški program za analizo slike NIS-Elements BR 3.2. Meritve so potekale tako, da smo na prečnih prerezih prešteli ksilemske in floemske branike tekočega leta ter kambijeve celice vzdolž treh radialnih nizov. Pri vsakem vzorcu pa smo izmerili tudi širino nastajajoče ksilemske in floemske branike 2012 (Slika 10).



Slika 10: PH - floem; CZ – kambijeve celice; PC – celice v fazi primarne stene; SW – celice v fazi oblikovanja večslojne sekundarne celične in njihove lignifikacije; MT – zrele celice.

Pri spremljanju sezonske dinamike kambijeve celične produkcije smo določili začetek in konec ter posledično trajanje obdobja, ko kambij proizvaja celice. Začetek kambijeve produktivnosti smo določili takrat, ko se je število celic v kambiju povečalo, njihove celične stene pa so bile tanjše (zlasti novonastale). Konec kambijeve produktivnosti smo določili takrat, ko je število celic upadlo, lesnih celic v fazi postkambialne rasti ni bilo opaziti, pač pa so bile lesne celice neposredno ob kambiju v naprednejših fazah diferenciacije (npr. biosinteza sekundarne celične stene in lignifikacija).

Pri procesu nastajanja ksilemske branike smo beležili glavne faze nastajanja celic (Slika 10):

- število celic v fazi površinske rasti (PC),
- število celic v fazi oblikovanja večslojne sekundarne celične stene in njihova lignifikacija (SW),
- število zrelih celic (MT).

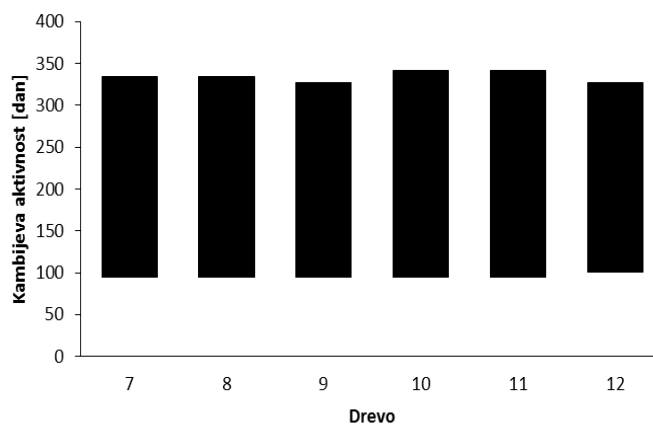
Pri procesu nastajanja floemske branike smo beležili začetek diferenciacije prve celice ranega floema (EP), ki se začne pred kambijevo reaktivacijo, čas nastanka prvih celic aksialnega parenhima (AP) in oblikovanje sklenjenega tangencialnega pasu AP, ki predstavlja mejo med ranim in kasnim floemom (EP oz. LP) ter število celic ranega in kasnega floema (Slika 10). Širino ksilemskega in floemskega prirastka smo tudi izmerili.

Poleg tega, pa smo s pomočjo računalniškega programa za analizo slike NIS-Elements BR 3.2 izmerili še širino ksilemske in floemske branike. Podatke smo zbrali v skupni tabeli, jih obdelali in grafično prikazali v programu Excel.

4 REZULTATI

4.1 KAMBIJEVA AKTIVNOST PRI NAVADNI SMREKI V RASTNI SEZONI 2012

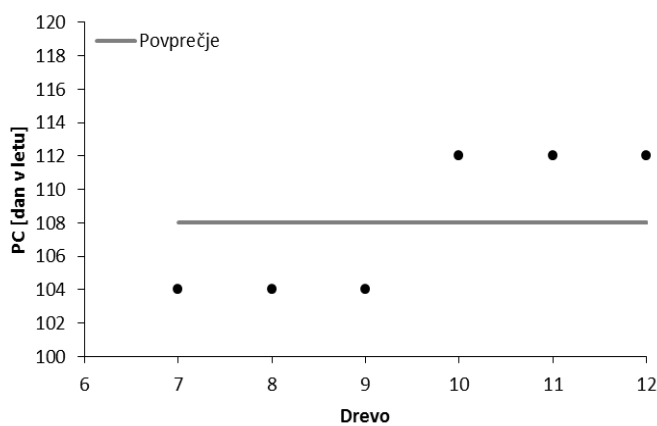
Dinamiko kambijeve aktivnosti pri vzorčnih smrekah na Panški reki v rastni sezoni 2012 se je razlikovala med posameznimi drevesi. Pri vseh drevesih smo kambijevo aktivnost zabeležili 94. dan v letu (3.4.2012), izjema je le drevo 12, pri katerem je bil kambij aktiven teden dni kasneje (10.4.) (Slika 11). Zaključek kambijeve celične produkcije se je med drevesi bolj razlikoval in smo ga zabeležili med 226. in 247. dnevom v letu (13.8. in 3.9.). Povprečno je kambijeve aktivnost trajala 144 dni, pri čemer je bila najkrajša pri smreki 12 (125 dni) in najdaljša pri smreki 10 in 11 (153 dni). Začetek, konec in trajanje kambijeve aktivnosti pri vsakem od 6 testnih dreves so prikazani na sliki (Slika 11).



Slika 11: Kambijeve aktivnost pri navadni smreki na Panški reki v rastni sezoni 2012. Stolpci prikazujejo razpon od dneva v letu, ko se je kambijeve aktivnost začela in končala pri vsakem od 6 testnih dreves.

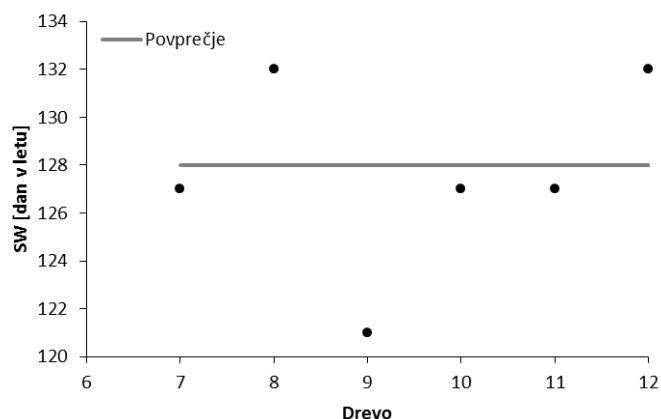
4.2 SEZONSKA DINAMIKA NASTAJANJA KSILEMSKE BRANIKE

Pri nastajanju ksilemske branike smo raziskali tri glavne faze razvoja lesnih celic: celice v fazi površinske rasti (PC), celice v fazi oblikovanja in lignifikacije večslojne sekundarne celične (SW) ter popolnoma oblikovane celice (MT). Prve PC celice so pri drevesih 7, 8 in 9 pojavile na 104. dan v letu (13.4.), pri drevesih 10, 11 in 12 pa na 112. dan v letu (21.4.) (Slika 12).



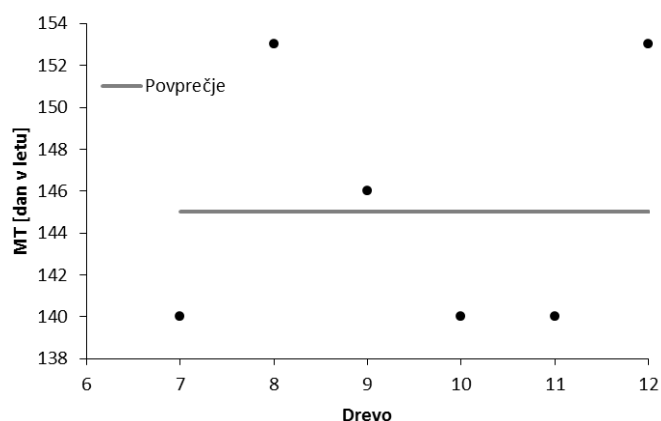
Slika 12: Nastanek prvih celic v fazi primarne celične stene (PC) pri posamezni smreki.

Prve SW celice so se pri posameznih drevesih pojavile zelo različno, med 121. dnevom v letu (30.4.) in 132. dnevom v letu (11.5.). Najprej so se pojavile pri drevesu 9, najkasneje pa pri drevesih 8 in 12 (Slika 13).



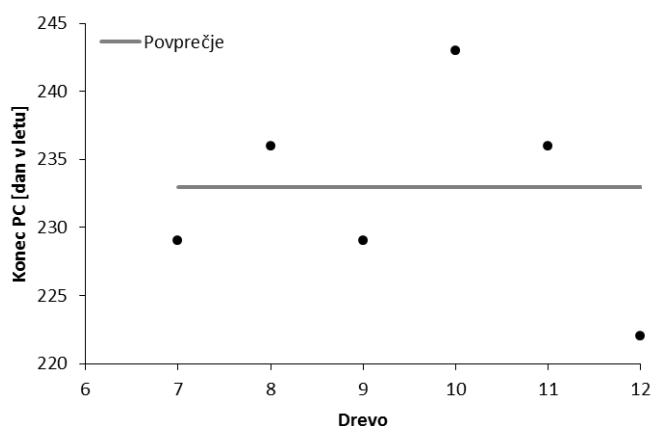
Slika 13: Nastanek prvih celic v fazi odlaganja in lignifikacije celične stene (SW) pri posameznem drevesu.

Podobno so se tudi prve MT celice oblikovale pri posameznih drevesih zelo različno; med 140. dnevom v letu (19.5.) in 153. dnevom v letu (1.6.). Najprej so se pojavile pri drevesih 7, 10 in 11, najkasneje pa pri drevesih 8 in 12 (Slika 14). Iz zgoraj prikazanih rezultatov lahko vidimo, da je v povprečju od nastanka prve PC celice pa do nastanka prve MT celice preteklo 37 dni, od nastanka prve PC celice do nastanka prve SW celice 20 dni, od nastanka prve SW celice pa do nastanka prve MT celice pa 17 dni.



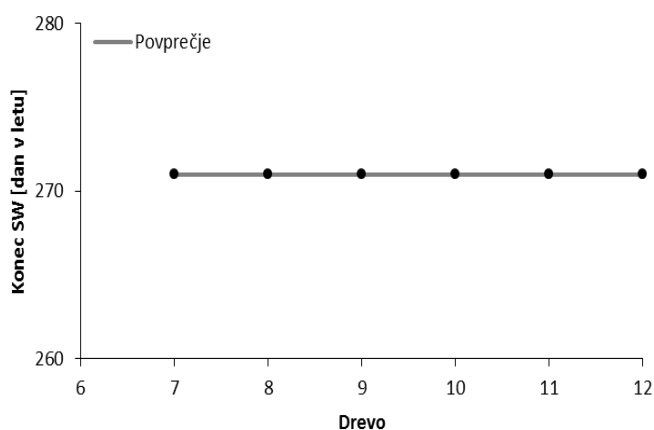
Slika 14: Nastanek prvih zrelih celic pri posamezni smreki.

Z zaključkom kambijeve celične produktivnosti, novih PC celic v lesu ni bilo več. Med drevesi se je konec produkcije zelo razlikoval, saj smo ga zabeležili med 222. (9.8.) in 243. dnevom v letu (30.8.). Konec nastajanja novih celic se je najprej pojavil pri drevesu 12, najkasneje pa pri drevesu 10 (Slika 15).



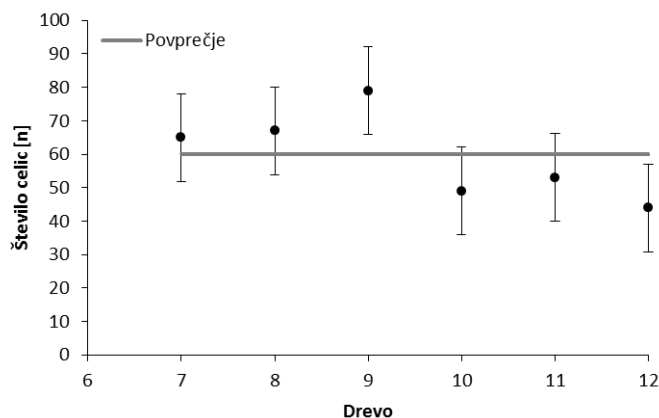
Slika 15: Konec nastajanja celic lesa pri posameznem drevesu.

Iz spodnje slike (Slika 16) je razvidno, da so se zadnje nastale celice kasnega lesa pri vseh drevesih popolnoma izoblikovale do 271. dneva v letu, kar pomeni da so se v povprečju popolnoma oblikovale 32 dni po koncu kambijeve aktivnosti.

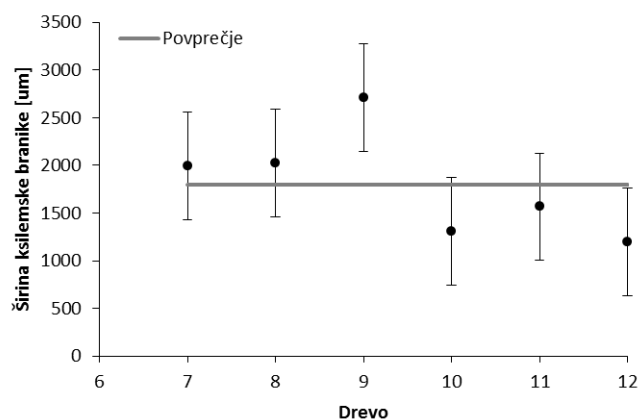


Slika 16: Popolnoma oblikovane zadnje nastale celice kasnega lesa pri smrekah s Panške reke v letu 2012.

Končno širino ksilemskih branik 2012 pri smrekah s Panške reke smo izrazili s številom celic in širino v μm (Slika 17 in 18). Iz slik 17 in 18 je razvidno, da je bila branika lesa 2012 v povprečju široka 60 celic, oziroma 1800 μm (Slika 18). Drevo 9 je imelo najširšo braniko, ki je znašala 2711 μm oz. 79 celic, najožjo braniko pa je imelo drevo 12, in sicer 1195 μm oz. 44 celic v radialnem nizu.



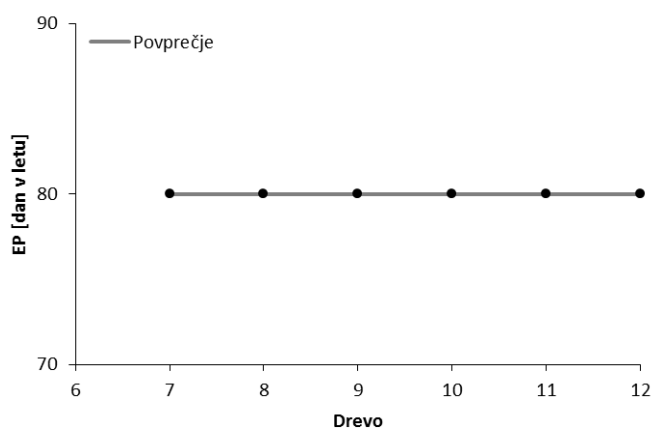
Slika 17: Število celic v popolnoma oblikovani ksilemski braniki 2012 pri smrekah s Panške reke.



Slika 18: Povprečna širina ksilemske branike 2012 pri posameznem drevesu.

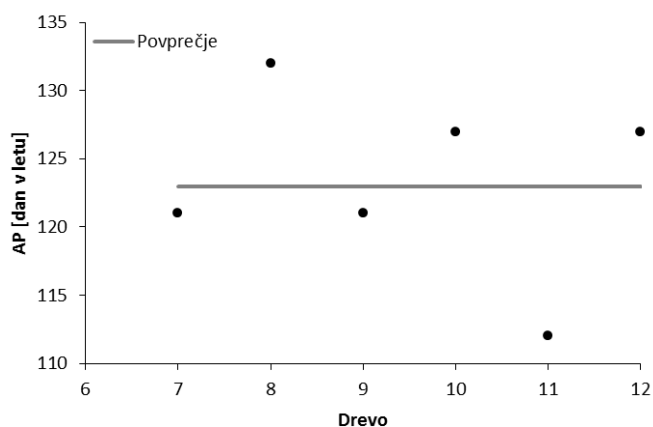
4.3 SEZONSKA DINAMIKA NASTAJANJA FLOEMSKE BRANIKE

Diferenciacija prvih celic ranega floema (EP) se začne 15 dni pred kambijevo reaktivacijo, in se je pri vseh preiskovanih smrekah začela istočasno, tj. 80. dan v letu (20.3.) (Slika 19).



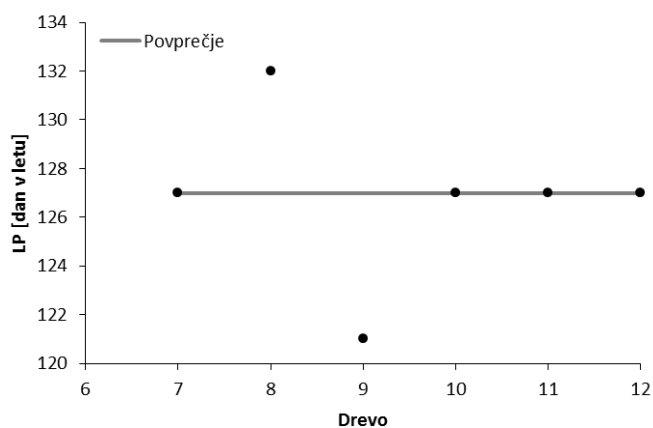
Slika 19: Začetek diferenciacije prvih celic ranega floema za posamezno drevo.

Mejo med ranim in kasnim floemom predstavlja tangencialni pas aksialnega parenhima (AP), ki se je posamično začel pojavljati pri posameznih drevesih zelo različno, vendar pa je v povprečju nastal 123. dan v letu (2.5.) (Slika 20). Najprej je nastal pri drevesu 11, in sicer 112. dan v letu (21.4.), najkasneje pa se je pojavil pri drevesu 8, in sicer 132. dan v letu (11.5.). Tangencialni pas AP se je sklenil pri drevesu 7 na 135. dan v letu (14.5.), pri drevesu 8 na 170. dan v letu (18.6.), pri drevesu 9 na 49. dan v letu (28.5.), pri drevesu 10 na 143. dan v letu (22.5.), pri drevesu 11 na 130. dan v letu (9.5.) in pri drevesu 12 na 184. dan v letu (2.7.).



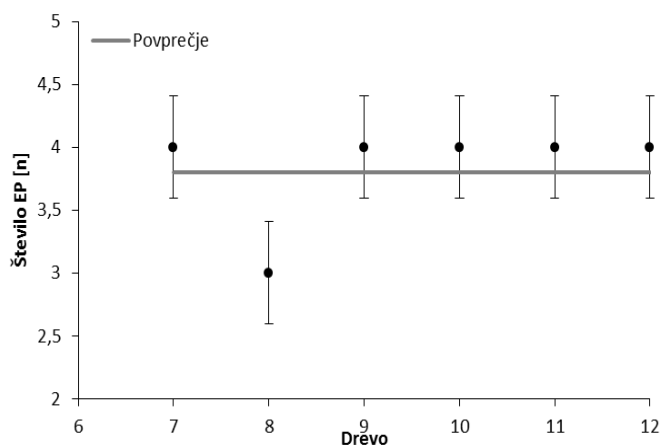
Slika 20: Dan pojava prvih celic aksialnega parenhima za posamezno drevo.

Prve celice kasnega floema (LP) so se pri štirih drevesih (7, 10, 11 in 12) pojavile istočasno, in sicer na 127. dan v letu (6.5.), pri drevesu 8 na 132. (11.5.) in pri drevesu 9 na 121. dan v letu (30.4.) (Slika 21).



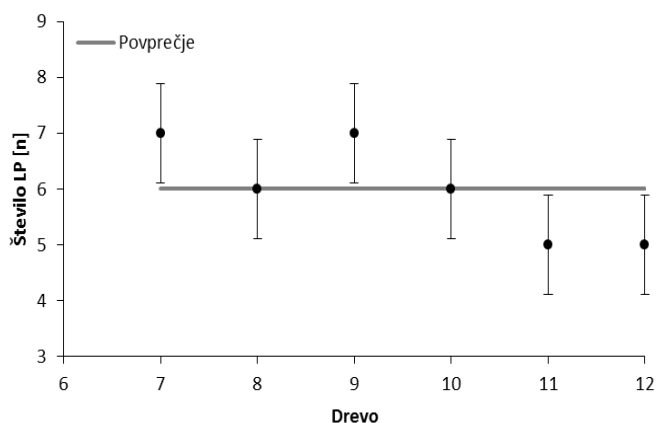
Slika 21: Dan nastanka prvih celic kasnega floema za posamezno drevo.

Struktura EP je bila pri vseh testnih drevesih primerljiva, saj je bila sestavljena iz treh do štirih slojev sitastih celic (Slika 22). V splošnem je bil EP pri petih smrekah sestavljen iz 4 celic, izjema je le drevo 8, pri katerem je bilo povprečno število celic EP 3 sloje.



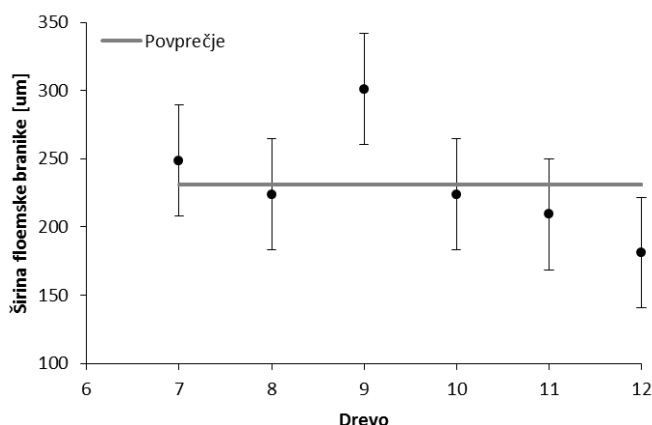
Slika 22: Število celic ranega floema (EP) za posamezno drevo.

Število celic LP pa se je med drevesi nekoliko bolj razlikovalo in je znašalo v povprečju 5-7 slojev celic (Slika 23).



Slika 23: Število celic kasnega floema (LP) za posamezno drevo.

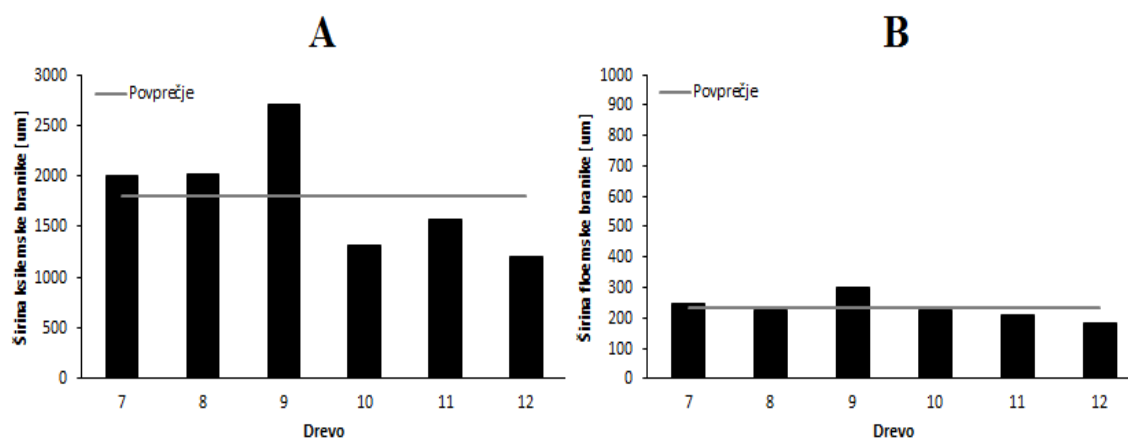
Poleg števila celic ranega in kasnega floema pa smo merili tudi širino floemske branike (Slika 24), ki je v povprečju znašala 231 μm . Ugotovili smo, da je nastala najširša floemska branika pri drevesu 9 in sicer 301 μm oz. 11 slojev celic, najožja pa je nastala pri drevesu 12 in sicer 181 μm oz. 9 slojev celic.



Slika 24: Širina floemske branike za posamezno drevo.

4.4 ŠIRINE KSILEMSKE IN FLOEMSKE BRANKE V RASTNI SEZONI 2012

Primerjali smo širine ksilemskih in floemskih branik nastalih v letu 2012. Rezultati (Slika 25), kažejo, da so bile floemske branike znatno ožje od ksilemskih, in sicer v povprečju kar za 7,8-krat. Floemske branike tako predstavljajo v povprečju le 12,8 % širine letnega debelinskega prirastka, ki ga proizvede kambij na bazi drevesa. Najširša floemska in ksilemska prirastka smo zabeležili pri drevesu 9, najožja pa pri drevesu 12. Pri drevesu 7 floemska branika predstavlja 12,5 % širine ksilemske branike, pri drevesu 8 in 9 11 % oz. 11,1%, pri drevesu 10 17,1 %, pri drevesu 11 13,4 % in pri drevesu 12 15,1 % širine ksilemske branike. Iz podatkov je mogoče tudi razbrati, da je variabilnost v širini letnega prirastka med posameznimi drevesi večja v primeru ksilema kot floema.



Slika 25: Primerjava širine ksilemske (A) in floemske (B) branike.

5 RAZPRAVA

Pri raziskovanju kambijeve aktivnosti pri navadni smreki v rastni sezoni 2012 smo ugotovili, da se je pri vseh drevesih začela istočasno, in sicer na začetku aprila. Izjema je bilo le drevo 12, pri katerem smo kambijevo reaktivacijo zabeležili teden dni kasneje. Prve raziskave sezonske dinamike kambijeve aktivnosti so bili v Sloveniji opravljene v letih 2002-2004 na Sorškem polju in Pokljuki (Gričar, 2007). Pri smrekah na Sorškem polju so se delitve v kambiju začele v sredini aprila na Pokljuki pa na začetku maja. Prve ksilemske celice v fazi postkambijske rasti so bile zabeležene 1-2 tedna po začetku delitev v kambiju. Časovni odmiki med zaporednimi fazami ksilogeneze so pri smreki na obeh rastiščih znašali približno 2 tedna (Gričar, 2007). Pri naših smrekah pa smo prve ksilemske celice v fazi postkambijske rasti zabeležili 2-3 tedne po začetku delitev v kambiju.

Prislan (2012) je od leta 2008 do 2011 raziskoval sezonsko nastajanje ksilema in floema pri bukvi (*Fagus sylvatica* L.) na Panški reki. Primerjava sezonske dinamike kambijeve aktivnosti pri bukvi in smreki kažejo, da se je začetek celične produkcije v kambiju pri bukvi v raziskanih letih začel približno en teden kasneje v primerjavi z našo smreko na Panški reki v letu 2012. Ugotovil je tudi, da se je celična produkcija začela in končala istočasno na ksilemski in floemski strani in, da je bila celična produkcija kambija na ksilemski strani do 12-krat večja, kot na floemski strani v treh letih raziskav bukve na Panški reki.

Zadnje nastale celice kasnega lesa so se pri vseh smrekah raziskanih v tej nalogi popolnoma izoblikovale do 271. dneva v letu, tj. 32 dni po zaključku kambijeve celične produkcije. Podobno je tudi Gričar (2007), ki je raziskovala ksilo- in floemogenezo pri beli jelki (*Abies alba* Mill.) na Ravniku in navadni smreki (*Picea abies* (L.) Karst.) na Sorškem polju in Pokljuki v letu 2003, ugotovila, da je na vseh rastiščih razvoj terminalnih traheid kasnega lesa (odlaganje sekundarne celične stene in lignifikacija) potekal še 7-9 tednov po koncu kambijeve aktivnosti, prav tako pa je na vseh rastiščih razvoj terminalnih celic kasnega floema potekal približno 4 tedne po zaključku celičnih delitev v kambiju.

Končna širina ksilemskih branik smreke na Panški reki v letu 2012 je v povprečju štela 60 celic, oziroma merila 1800 μm . Gričar (2007) poroča, da je povprečna širina ksilemske branike 2003 pri smrekah s Pokljuke znašala 42 slojev celic in s Sorškega polja 26 celic, pri jelkah z Ravnika pa okoli 70 celic.

V naši raziskavi smo zasledili veliko variabilnost v dinamiki nastajanja ksilemske branike med posameznimi drevesi na Panški reki. Vendar pa lahko širina prirastka zelo variira tudi po obodu istega drevesa.

Gričar (2007) je nadalje pri proučevanju sezonske dinamike floemske branike ugotovila, da se je diferenciacija prvih celic ranega floema (EP) začela pred kambijevo reaktivacijo, kar smo potrdili tudi v naših raziskavah.

Gričar (2007) je ugotovila, da je bila floemska branika ob koncu rastne sezone 2003 pri smrekah na Sorškem polju široka 8-13 in na Pokljuki 7-11 plasti celic ter pri jelkah na Ravniku 6-9 slojev celic. V splošnem je kambij pri naštetih drevesnih vrstah in rastiščih, proizvedel 5 do 12-krat več ksilemskih celic kot pa floemskih. Prav tako je ugotovila, da je bila variabilnost v številu celic po obodu debla posameznega drevesa, med drevesi in med rastišči v letu 2003 večja na ksilemski strani v primerjavi s floemsko. Širina floemske branike naših smrek s Panške reke v letu 2012 je bila sestavljena iz 9-11 plasti celic.

Struktura ranega floema je bila primerljiva pri smreki in jelki na treh rastiščih (Gričar, 2007). Rani floem je bil zgrajen iz 3-4 plasti sitastih celic z velikimi radialnimi dimenzijami in tankimi celičnimi stenami, kar je značilno za družino borovk. Do podobnih ugotovitev smo prišli tudi pri smrekah, preiskovanih v tej nalogi.

V svoji raziskavi Gričar (2007) navaja, da se je pri obeh drevesnih vrstah celična produkcija začela istočasno na ksilemski in floemski strani. Pred kambijevo aktivnostjo je v 1-2 zunanjih plasteh floemskih derivatov že potekal proces diferenciacije, brez predhodnih delitev (druga polovica aprila). Prve posamezne celice tangencialnega pasu aksialnega parenhima, ki ločijo rani in kasni floem, je zasledila približno 2-3 tedne po

kambijevi reaktivaciji ne glede na drevesno vrsto ali rastišče. Prve posamezne celice tangencialnega pasu aksialnega parenhima pa smo pri naših smrekah zasledili približno 3-4 tedne po kambijevi reaktivaciji.

Na podlagi naših ugotovitev lahko zaključimo, da obstajajo razlike v dinamiki nastajanja lesa in floema med drevesnimi vrstami, pa tudi pri posamezni drevesni vrsti, saj na njih vplivajo številni dejavniki, kot npr. sama genetska zgradba populacij drevesne vrste, starost in vitalnost dreves, rastišče, itd.

6 SKLEPI

Kambijeva aktivnost se je v letu 2012 pri petih raziskanih smrekah (*Picea abies*) na Panški reki začela na 94. dan v letu (3.4.2012), pri eni pa teden dni kasneje. Zaključek kambijeve celične produkcije smo zabeležili med 13.8. in 3.9.2012. Kambijeva aktivnost je v povprečju trajala 144 dni (od 125 do 153 dni).

Pri spremljanju sezonske dinamike nastajanja ksilemske branike smo ugotovili, da so prve celice v fazi površinske rasti (PC) v povprečju nastale 17.4., celice v fazi oblikovanja večslojne sekundarne celične stene in lignifikacije (SW) 7.5. in popolnoma oblikovane celice (MT) 24.5. 2012. Konec nastajanja novih PC celic lesa, ki je časovno sovpadal z zaključkom kambijeve celične produkcije, smo v povprečju zabeležili 20.8.2012. Razvoj zadnjih nastalih celicah kasnega lesa se je popolnoma zaključil do 27.9.2012. Povprečna širina lesne branike 2012 je bila 1800 μm (1195,7 do 2711,5 μm) oz. 60 (44 do 79) celic v radialnem nizu.

Pri proučevanju sezonske dinamike nastajanja floemske branike smo zabeležili diferenciacijo prvih celic ranega floema (EP) 20.3., nastanek prvih celic aksialnega parenhima (AP), ki predstavlja mejo med ranim in kasnim floemom, 2.5., in nastanek prvih celic kasnega floema (LP) 6.5. 2012. Povprečno število celic ranega floema je bilo 4, kasnega floema pa 6 celic v radialnem nizu. Povprečna širina floemske branike je znašala 231 μm (181,1 do 301,1) oz. 10 slojev celic (9 do 11).

Pri primerjavi širin ksilemske in floemske branike 2012 smo ugotovili, da je bila floemska branika v povprečju 7,8-krat (5,8 do 9,1) ožja od ksilemske branike. Variabilnost širin ksilemskih branik je bila večja, kot variabilnost širin floemskih branik.

7 POVZETEK

Raziskave nastajanja lesa in floema smo opravili na šestih odraslih drevesih smreke (*Picea abies* (L.) Karst.) na rastišču pri Panški reki (46° 00'S in 14°40'V; okoli 400 m n.m.v.) v bližini Ljubljane.

Cilji naloge so bili:

- a) določiti začetek in konec kambijeve celične produktivnosti ter posameznih faz nastajanja lesa in floema;
- b) raziskati sezonsko dinamiko nastanka ksilemske in floemske branike;
- c) primerjati dinamiko nastajanja lesa in floema med drevesi.

Mikro izvrtke so sodelavci Oddelka za lesarstvo odvezemali v tedenskih intervalih od 23.3.2012 do 24.9.2012 s pomočjo orodja Trephor.

Meritve smo opravili na trajnih mikroskopskih preparatih prečnih prereзов tkiv kambija, ksilema in floema obarvanih s safraninom in astra modrim s pomočjo svetlobnega mikroskopa Nikon Eclipse E800 in programa za analizo slike NIS-Elements BR 3.2.

Kambijeva aktivnost se je v letu 2012 pri petih raziskanih smrekah (*Picea abies*) na Panški reki začela na 94. dan v letu (3.4.2012), pri eni pa teden dni kasneje. Zaključek kambijeve celične produkcije smo zabeležili med 13.8. in 3.9.2012. Kambijeva aktivnost je v povprečju trajala 144 dni (od 125 do 153 dni).

Pri spremljanju sezonske dinamike nastajanja ksilemske branike smo ugotovili, da so prve celice v fazi površinske rasti (PC) v povprečju nastale 17.4., celice v fazi oblikovanja večslojne sekundarne celične stene in lignifikacije (SW) 7.5. in popolnoma oblikovane celice (MT) 24.5. 2012. Konec nastajanja novih PC celic lesa, ki je časovno sovpadal z zaključkom kambijeve celične produkcije, smo v povprečju zabeležili 20.8.2012. Razvoj zadnjih nastalih celicah kasnega lesa se je popolnoma zaključil do 27.9.2012. Povprečna

Širina lesne branike 2012 je bila 1800 μm (1195,7 do 2711,5 μm) oz. 60 (44 do 79) celic v radialnem nizu.

Pri proučevanju sezonske dinamike nastajanja floemske branike smo zabeležili diferenciacijo prvih celic ranega floema (EP) 20.3., nastanek prvih celic aksialnega parenhima (AP), ki predstavlja mejo med ranim in kasnim floemom, 2.5., in nastanek prvih celic kasnega floema (LP) 6.5. 2012. Povprečno število celic ranega floema je bilo 4, kasnega floema pa 6 celic v radialnem nizu. Povprečna širina floemske branike je znašala 231 μm (181,1 do 301,1) oz. 10 slojev celic (9 do 11).

Pri primerjavi širin ksilemske in floemske branike 2012 smo ugotovili, da je bila floemska branika v povprečju 7,8-krat (5,8 do 9,1) ožja od ksilemske branike. Variabilnost širin ksilemskih branik je bila večja, kot variabilnost širin floemskih branik.

8 VIRI

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

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

Čufar K., Zupančič M. 2009. Anatomija lesa - navodila za vaje. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za lesarstvo: 98 str.

Čufar K., Prislan P., Gričar J., Koch G., Schmitt U., Romagnoli M., De Luis M. 2012. Wood and phloem formation in selected tree species V: 2. Dresdner Holzanatomisches Kolloquium: 18.-19. Oktober 2012. Dresden: IHD, 2012, str. 8-17.

EUFORGEN, 2009. European forest genetic resources programme.
www.euforgen.org (20.8.2013)

Gričar J., Čufar K., Oven P., Schmitt U., 2005. Differentiation of terminal latewood tracheides in silver fir trees during autumn. *Annals of Botany*, 95, 5: 959-965

Gričar J., Zupančič M., Čufar K., Koch G., Schmitt U., Oven P. 2006. Effect of local heating and cooling on cambial activity and cell differentiation in the stem of Norway spruce (*Picea abies*). *Annals of Botany*, 97, 6: 943-951

Gričar J. 2007. Ksilo- in floemogeneza pri beli jelki (*Abies alba* Mill.) in navadni smreki (*Picea abies* (L.) Karst.). Strokovna in znanstvena dela. Ljubljana, Gozdarski inštitut Slovenije: 106 str.

- Gričar J., Čufar K. 2008. Seasonal dynamics of phloem and xylem formation in silver fir in Norway spruce as affected by drought. *Russian Journal of Plant Physiology*, 55: 538-543
- Grosser D. 1977. *Die Hölzer Mitteleuropas*. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, New York: 288 str.
- Panshin A. J., de Zeeuw C. 1980. *Textbook of wood technology*. Fourth edition. New York, McGraw-Hill: 722 str.
- Prislan P. 2007. Nastajanje lesa pri bukvi (*Fagus sylvatica* (L.) v rastni sezoni 2006. Diplomsko delo (univerzitetni študij). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za lesarstvo: 68 str.
- Prislan P., Merela M., Zupančič M., Krže L., Čufar K. 2009. Uporaba izbranih svetlobno mikroskopskih tehnik za raziskave lesa in skorje. *Les*, 61, 5: 222-229
- Prislan P., Zupančič M., Krže L., Gričar J., Čufar K. 2010. Nastajanje lesa pri bukvah z dveh rastišč na različnih nadmorskih višinah. *Les*, 62, 5: 164-170
- Prislan P. 2012. Večletno in sezonsko nastajanje ksilema in floema pri bukvi (*Fagus sylvatica* L.) z dveh rastišč v Sloveniji. Doktorska disertacija. Ljubljana, Biotehniška fakulteta: 143 str.
- Prislan P., Schmitt U., Koch G., Gričar J., Čufar K. 2012. Cellular and topochemical characteristics of secondary changes in bark tissues of beech (*Fagus sylvatica* L.). *Holzforschung*, 66: 131-138
- Prislan P., Gričar J., De Luis M., Smith K. T., Čufar K. 2013. Phenological variation in xylem and phloem formation in *Fagus sylvatica* from two contrasting sites, *Agricultural and Forest Meteorology*, 180: 142-151

- Rossi S., Anfodillo T., Menardi R. 2006. Trephor: A new tool for sampling microcores from tree stems. *IAWA Journal*, 27: 89-97
- Torelli N. 1990. Les in skorja. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za lesarstvo: 70 str.
- Torelli N., Oven P., Zupančič M. 1990. Nastanek in značilnosti barierne cone ter lesa nastalega po ranitvi. *Zbornik gozdarstva in lesarstva*, 36: 3-16
- Wagenführ R. 1996. *Holzatlas*. 4. neubearbeitete Auflage, München, Wien, Carl Hanser Verlag: 688 str.
- Werf van der G.W., Sass-Klaassen U., Mohren 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
- Zavod za gozdove Slovenije. Poročilo zavoda za gozdove Slovenije o gozdovih za leto 2011.
http://www.zgs.gov.si/fileadmin/zgs/main/img/PDF/LETNA_POROCILA/2011_o_gozdovih.pdf (23.8.2013)

ZAHVALA

Iskreno se zahvaljujem mentorici prof. dr. Katarini Čufar in somentorici doc. dr. Jožici Gričar za pomoč in vodenje pri izdelavi magistrske naloge.

Rad bi se zahvalil tudi Luki Kržetu, dipl. inž. les., ki mi je veliko pomagal pri laboratorijskem delu, tako z razlago kot tudi z napotki.

Hvala tudi doc. dr. Maksu Mereli za recenzijo magistrske naloge.

Posebna zahvala gre tudi moji družini in dekletu Maji za potrpežljivost in podporo pri izdelavi magistrske naloge.

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA LESARSTVO

Gašper GNIDOVEC

**NASTAJANJE LESA IN FLOEMA NAVADNE
SMREKE V PANŠKI REKI PRI LJUBLJANI**

MAGISTRSKA NALOGA

Magistrski študij – 2. stopnja

Ljubljana, 2013