

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA LESARSTVO

Andrej ČERNE

NASTAJANJE LESA SMREKE V RASTNI SEZONI 2009

DIPLOMSKO DELO
Visokošolski strokovni študij

**WOOD FORMATION IN NORWAY SPRUCE IN GROWTH PERIOD
OF 2009**

GRADUATION THESIS
Higher professional studies

Ljubljana, 2016

Diplomski projekt je zaključek visokošolskega študija na Oddelku za lesarstvo, Biotehniške fakultete, Univerze v Ljubljani. Naloga je bila opravljena na Katedri za tehnologijo lesa.

Senat Oddelka za lesarstvo je za mentorico diplomske 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 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.

Andrej ČERNE

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

ŠD Vs
DK UDK 630*811.13
KG smreka/*Picea abies*/nastajanje lesa/kambij/Slovenija
AV ČERNE, Andrej
SA ČUFAR, Katarina (mentorica)/GRIČAR, Jožica (somentorica)/MERELA, Maks (recenzent)
KZ 1000- Ljubljana, Rožna dolina, Cesta VIII/34
ZA Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za lesarstvo
LI 2016
IN NASTAJANJE LESA SMREKE V RASTNI SEZONI 2009
TD Diplomsko delo (visokošolski strokovni študij)
OP IX, 54 str., 4 pregl., 36 sl., 23 vir.
IJ sl
JI sl/en
AI V diplomski nalogi smo pri navadni smreki (*Picea abies* (L.) Karst.) raziskali začetek, konec in trajanje kambijeve produkcije ter nastajanje posameznih faz lesne branike na dveh rastiščih, na Panški reki (400 m n.m.v.) in Menini planini (1200 m n.m.v.). Na prvem rastišču smo analizirali odvzete vzorce iz šestih dreves, na drugem pa vzorce iz desetih dreves. Vzorci (mikro izvrtki) so bili odvzeti iz živih dreves z orodjem Trephor, v letu 2009, v tedenskih intervalih med 16. marcem in 28. septembrom na Panški reki ter med 24. aprilom in 25. septembrom na Menini planini. Po odvzemu smo jih s pomočjo tkivnega preparatorja prepojili s parafinom. Iz vzorcev smo na mikrotomnu izdelali rezine prečnega prereza, jih obarvali z barviloma safranin in astra modro, ter iz njih naredili mikroskopske preparate. Preparate smo analizirali s svetlobnim mikroskopom (Nikon Eclipse E800), s kamero za prikaz slike na računalniškem ekranu. Preparate smo pod mikroskopom analizirali (merjenje in štetje lesnih celic) vzdolž treh radialnih nizov. Pridobljene podatke smo vnašali v program Excel in jih statistično in grafično obdelali. Rezultati kažejo, da so začetki, konci ter trajanje posameznih faz pri nastanku lesne branike različni. Čas vegetacije se je pri drevesih na nižje ležeči Panški reki začel prej in končal kasneje kot pri drevesih na višje ležečem rastišču na Menini planini.

KEY WORDS DOCUMENTATION

DN Vs
DC UDC 630*811.13
CX Norway Spruce/*Picea abies*/wood formation/cambium/Slovenia
AU ČERNE, Andrej
AA ČUFAR, Katarina (supervisor)/GRIČAR, Jožica (co- supervisor)/MERELA, Maks (reviewer)
PP 1000 Ljubljana, Rožna dolina, Cesta VIII/34, Slovenia
PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Wood Science and Technology
PY 2016
TI WOOD FORMATION IN NORWAY SPRUCE IN GROWTH SEASON OF 2009
DT Graduation Thesis (Higher Professional Studies)
NO X, 54 p., 4 tab., 36 fig., 23 ref.
LA en
AL sl/en
AB The graduation thesis deals with Norway spruce (*Picea abies* (L.) Karst.), namely with its beginning, end and duration of cambium production as well as the individual phases of tree ring formation on two sites on Panška reka (400 m. a. s. l.) and Menina planina (1200 m. a. s. l.). At the first site six trees samples have been analysed, and at the second nine. Specimens (microcores) were extracted from living trees by using Trephor tool in 2009 in weekly intervals between 16th March and 28th September on Panška reka, and between 24th April and 25th September on Menina planina. After extraction they were embedded in paraffin by means of a tissue preparator. From microtome samples, cross section slices were produced and stained with safranin red and astra blue. Sections were analysed with a light microscope (Nikon Eclipse E800), using the camera to show image on a computer screen. Specimens were microscopically analysed (measuring and counting wood cells) along three radial series. Acquired data were inserted in Excel programme, then statistical and graphical data analyses were carried out. Results showed that beginnings, ends and duration of individual phases of ring tree growth were different. Vegetation period started earlier and finished later in trees growing on low elevation site Panška reka than in trees growing on high elevation site of Menina Planina.

KAZALO VSEBINE

	str.
Ključna dokumentacijska informacija (KDI)	III
Key Words Documentation (KWD)	IV
Kazalo vsebine	V
Kazalo preglednic.....	VII
Kazalo slik.....	VIII
1 UVOD	1
2 PREGLED OBJAV	2
2.1 BIOLOGIJA SMREKE	2
2.2 RASTIŠČA IN RAZŠIRJENOST SMREKE	4
2.3 OPIS SMREKOVEGA LESA	5
2.3.1 Uporaba smrekovega lesa	6
2.4 MIKROSKOPSKA ZGRADBA SMREKOVEGA LESA	6
2.4.1 Anatomska zgradba celične stene	7
2.5 RAST DREVESA IN DELOVANJE MERISTEMOV	10
2.5.1 Kambijeva cona in delitve celic	11
2.5.2 Delitve v kambiju	11
2.5.3 Nastanek in diferenciacija traheid	12
2.5.4 Sezonska aktivnost kambija in vpliv dejavnikov na njegovo delovanje	13
3 MATERIAL IN METODE.....	15
3.1 OPIS RASTIŠČA IN TESTNIH DREVES	15
3.2 ODVZEM VZORCEV TKIV	15
3.3 PRIPRAVA VZORCEV	18
3.4 PRIPRAVA REZIN Z ROTACIJSKIM MIKROTOMOM ZA PREPARATE PRI SVETLOBNI MIKROSKOPIJI	19
3.4.1 Rezanje rezin na rotacijskem mikrotomu	22
3.4.2 Problem pretrgane kambijeve cone in dokončna izdelava preparatov	24
3.5 ANALIZA SLIKE	27
4 REZULTATI	30
4.1 DINAMIKA NASTANKA LESA V RASTNI SEZONI 2009 PRI SMREKAH NA PANŠKI REKI	30
4.1.1 Drevo št. 1	30
4.1.2 Drevo št. 2	34
4.1.3 Drevo št. 3	35
4.1.4 Drevo št. 4	36
4.1.5 Drevo št. 5	37
4.1.6 Drevo št. 6	38
4.2 DINAMIKA NASTANKA LESA V RASTNI SEZONI 2009 PRI SMREKAH NA MENINI PLANINI	39
4.2.1 Drevo št. 3	39
4.2.2 Drevo št. 4	40
4.2.3 Drevo št. 5	41
4.3 PRIMERJAVA SEZONSKE DINAMIKE NASTANKA LESA PRI SMREKAH NA PANŠKI REKI IN MENINI PLANINI V RASTNI SEZONI 2009	42
4.3.1 Panška reka	42
4.3.2 Menina planina	44

5	RAZPRAVA	46
6	SKLEPI	48
7	POVZETEK.....	49
8	VIRI.....	51
8.1	INTERNETNI VIRI	53
	ZAHVALA.....	54

KAZALO PREGLEDNIC

	str.
Preglednica 1: Odvzem mikroizvrtkov pri šestih smrekah s Panške reke v letu 2009	16
Preglednica 2: Odvzem mikroizvrtkov pri desetih smrekah Menine planine v letu 2009	17
Preglednica 3: Prikaz časovnega zaporedja dehidracije mikro izvrtkov z etanolom, bio-clearom in prepajanje z parafinom	19
Preglednica 4: Odstranjevanja parafina iz objektnega stekla in barvanje rezin	25

KAZALO SLIK

str.

Slika 1: A - Polnolesne smreke v strnjenem sestoju ob poti na Čepulje na Gorenjskem, B – Polnolesno smrekovo deblo z majhnimi odmrliimi vejami v objemu konkurenčne bukve ob poti na Čepulje na Gorenjskem. (Foto: Černe A.).....	2
Slika 2: A – Malolesna prostorastoča smreka na vrtu v Dobrunjah. B –Spodnji del krošnje z debelimi vejami malolesne smreke v Dobrunjah. (Foto: Černe J.).....	3
Slika 3: Zreli storži in poganjki (Brus, 2004)	3
Slika 4: Razširjenost navadne smreke v Evropi (Brus, 2004).....	5
Slika 5: Razširjenost navadne smreke v Sloveniji (Zavod za gozdove Slovenije) (Pisek, 2010).	5
Slika 6: Shematski slikovni prikaz slojev celične stene. Prikazani so srednja lamela (M), primarni (P), sekundarni (S) in bradavičasti (W) sloj ter orientacija celuloznih fibril (Čufar, 2006).....	9
Slika 7: Prečni prerez lesa navadne jelke, ki je obarvan z barviloma safranin in astra modro prikazuje razvoj lesnih celic od delitve v kambiju do odrasle celice ksilema. Modro so obarvane celice v kambiju, sekundarnem floemu in celice v sekundarnem floemu, ki so v fazi postkambialne rasti. V procesu lignifikacije, modro obarvanje postopoma nadomešča rdeče obarvanje s safraninom. Rdeče obarvane celične stene in lumni brez citoplazme predstavljajo povsem diferencirane, odrasle in mrtve traheide (Gričar, 2006).	13
Slika 8: Lokacija rastišča Panške reke in Menine planine (ARSO).....	15
Slika 9: A – Specialno orodje Trephor; B – Specialno orodje Trephor pri odvzemu mikro izvrtka. (Foto: Krže L.)	18
Slika 10: A – Parafinski disperzor Leica EG 112; B – Specialna ogrevana pinceta Leica EG F. (Foto: Černe A.).....	20
Slika 11: A – Obrezan blok pred poravnavanjem; B – Bloki pripravljeni za nadaljnjo obdelavo. (Foto: Černe A.).....	21
Slika 12: A – Polavtomatski rotacijski mikrotom; B – Odrezovanje rezin na rotacijskem mikrotomu. (Foto: Černe A.)	23
Slika 13: A – Steklena posoda z nizom rezin; B – Lebdeče rezine na gladini vode. (Foto: Černe A.).....	23
Slika 14: Vodna kopel Leica HI 1210. (Foto: Černe A.)	24
Slika 15: Pečica (Foto: Černe A.)	25
Slika 16: A – Steklene posode posameznih raztopin za barvanje preparatov; B – Barvanje preparatov v stekleni košarici. (Foto: Černe A.).....	26
Slika 17: A – Kapljice Euparala na rezinah lesnega tkiva; B – Lesno tkivo po strjenem Euparalu. (Foto: Černe A.).....	26
Slika 18: A – Obteženi preparati z 200 g. utežmi. (Foto: Černe A.).....	27
Slika 19: Pripravljeni mikroskopski preparati za analizo pod mikroskopom. (Foto: Černe A.)	28
Slika 20: Mikroskop Nikon Eclipse E800 za analizo mikroskopskih preparatov. (Foto: Černe A.)	28
Slika 21: Sezonska dinamika posameznih faz ksilemske branike pri drevesu št. 1 iz rastišča Panška reka v letu 2009. CC – kambijeve celice, PC – celice (traheide) v fazi postkambialne rasti, SW – celice (traheide) v fazi nastajanja sekundarne stene, MT – popolnoma oblikovane lesne celice (traheide), XR – ksilemska branika (PC + SW + MT)	31

Slika 22: (DK) – Dormanten kambij, (MT) - lesne celice kasnega lesa, (FL) - floem. (foto: Černe A.).....	31
Slika 23: Prikaz (PC) - celic v fazi postakambialne rasti, (KC) – kambijeve cone, (FL) - floema. (foto: Černe A.).....	32
Slika 24: Prikaz lesnih traheid (SW) v času začetka debelitve celične stene. Nastajanje sekundarne stene nakazuje svetleči del v celični steni. (MT) – lesne celice kasnega lesa vegetacijske sezone v letu 2008. Preparat je bil opazovan v polarizirani svetlobi. (foto: Černe A.)	32
Slika 25: A – Svetleči del slike nakazuje celice v fazi oblikovanja sekundarne celične stene. Pogled v polarizirani svetlobi. B - puščica nakazuje smer prehoda celic iz faze oblikovanja sekundarne celične stene, v fazo zrelih celic. (foto: Černe A.).....	33
Slika 26: Črta prikazuje celotno nastalo braniko. Levo od črte je vidnih pet travmatskih smolnih kanalov. Merilna skala - 100µm (foto: Černe A.).....	33
Slika 27: Sezonska dinamika posameznih faz ksilemske branike pri drevesu št. 2 iz rastišča Panška reka v letu 2009. CC – kambijeve celice, PC – celice (traheide) v fazi postkambialne rasti, SW – celice (traheide) v fazi nastajanja sekundarne stene, MT – popolnoma oblikovane lesne celice (traheide), XR – ksilemska branika (PC + SW + MT).....	34
Slika 28: Sezonska dinamika posameznih faz ksilemske branike pri drevesu št. 3 iz rastišča Panška reka v letu 2009. CC – kambijeve celice, PC – celice (traheide) v fazi postkambialne rasti, SW – celice (traheide) v fazi nastajanja sekundarne stene, MT – popolnoma oblikovane lesne celice (traheide), XR – ksilemska branika (PC + SW + MT).....	35
Slika 29: Sezonska dinamika posameznih faz ksilemske branike pri drevesu št. 4 iz rastišča Panška reka v letu 2009. CC – kambijeve celice, PC – celice (traheide) v fazi postkambialne rasti, SW – celice (traheide) v fazi nastajanja sekundarne stene, MT – popolnoma oblikovane lesne celice (traheide), XR – ksilemska branika (PC + SW + MT).....	36
Slika 30: Sezonska dinamika posameznih faz ksilemske branike pri drevesu št. 5 iz rastišča Panška reka v letu 2009. CC – kambijeve celice, PC – celice (traheide) v fazi postkambialne rasti, SW – celice (traheide) v fazi nastajanja sekundarne stene, MT – popolnoma oblikovane lesne celice (traheide), XR – ksilemska branika (PC + SW + MT).....	37
Slika 31: Sezonska dinamika posameznih faz ksilemske branike pri drevesu št. 6 iz rastišča Panška reka v letu 2009. CC – kambijeve celice, PC – celice (traheide) v fazi postkambialne rasti, SW – celice (traheide) v fazi nastajanja sekundarne stene, MT – popolnoma oblikovane lesne celice (traheide), XR – ksilemska branika (PC + SW + MT).....	38
Slika 32: Sezonska dinamika posameznih faz ksilemske branike pri drevesu št. 3 iz rastišča Menina Planina v letu 2009. CC – kambijeve celice, PC – celice (traheide) v fazi postkambialne rasti, SW – celice (traheide) v fazi nastajanja sekundarne stene, MT – popolnoma oblikovane lesne celice (traheide), XR – ksilemska branika (PC + SW + MT).....	39
Slika 33: Sezonska dinamika posameznih faz ksilemske branike pri drevesu št. 4 iz rastišča Menina planina v letu 2009. CC – kambijeve celice, PC – celice (traheide) v fazi postkambialne rasti, SW – celice (traheide) v fazi nastajanja sekundarne stene, MT – popolnoma oblikovane lesne celice (traheide), XR – ksilemska branika (PC + SW + MT).....	40
Slika 34: Sezonska dinamika posameznih faz ksilemske branike pri drevesu št. 5 iz rastišča Menina planina v letu 2009. CC – kambijeve celice, PC – celice (traheide) v fazi postkambialne rasti, SW – celice (traheide) v fazi nastajanja sekundarne stene, MT –	

popolnoma oblikovane lesne celice (traheide), XR – ksilemska branika (PC + SW + MT)	41
Slika 35: Sezonska dinamika posameznih faz ksilemske branike pri pri šestih drevesih iz rastišča Panška reka v letu 2009. CC – kambijeve celice, PC – celice (traheide) v fazi postkambialne rasti, SW – celice (traheide) v fazi nastajanja sekundarne stene, MT – popolnoma oblikovane lesne celice (traheide), XR – ksilemska branika (PC + SW + MT)	43
Slika 36: Sezonska dinamika posameznih faz ksilemske branike pri treh drevesih iz rastišča Menina planina v letu 2009. CC – kambijeve celice, PC – celice (traheide) v fazi postkambialne rasti, SW – celice (traheide) v fazi nastajanja sekundarne stene, MT – popolnoma oblikovane lesne celice (traheide), XR – ksilemska branika (PC + SW + MT)	45

1 UVOD

Smreka (*Picea abies* (L.) Karst.) je poleg bukve (*Fagus sylvatica* L.) najpomembnejša drevesna vrsta v Sloveniji. Proces nastajanja lesa pri smreki je bil do pred kratkim v Sloveniji še premalo neraziskan, v zadnjih letih pa so ga začeli intenzivno proučevati (Gričar, 2006, 2007; Gričar in Čufar, 2008; Gričar in sod., 2014, 2015). Raziskave so pokazale, da je nastajanje lesa treba spremljati v različnih ekosistemih in preko daljšega časovnega obdobja. V dolgotrajne raziskave so se vključili tudi študenti (npr. Gnidovec, 2013).

Eksperimentalno delo na pričujoči diplomski nalogi se je začelo z vzorčenjem na terenu v letu 2009, ki mu je sledilo delo v laboratoriju. Pomemben del te diplomske naloge je bila priprava mikroskopskih preparatov in njihova analiza. Spremljali smo aktivnost kambija in nastajanje lesa v rastni sezoni 2009. Mikro izvrtki za preparate so bili odvzeti iz odraslih smrek z dveh rastišč: Panška reka (v bližini Ljubljane) in na Menini planini.

Cilji pričujoče diplomske naloge so bili:

- a) ugotoviti čas začetka kambijeve produkcije pri odraslih smrekah na Panški reki pri Ljubljani (pribl. 400 m n.m.v.) in na Menini planini (pribl. 1200 m n.m.v.),
- b) spremljati diferenciacijo lesnih celic v času po reaktivaciji kambija ter nastanek lesa,
- c) primerjati procese na dveh rastiščih.

2 PREGLED OBJAV

2.1 BIOLOGIJA SMREKE

Navadna smreka (*Picea abies* (L.) Karst.) spada med drevesne vrste iglavcev in jo uvrščamo med zimzelene rastline, ker ji iglice pozimi ne odpadejo. Krošnja je stožčasta, njene veje pa imajo obliko venca, ki proti vrhu rastejo navzgor, v spodnjem delu pa navzdol. Iglice so v prerezu rombaste oblike in so na poganjku razmeščene spiralno. Na vejah se obdržijo od 5 do 7 let. Storži (slika 3) se v fazi zorenja povesejo in dokončno dozori v mesecu oktobru. Ko nastopi zima, se v februarju se začnejo odpirati in poleti odpadejo iz drevesa. (Gričar, 2006)

Poznamo več pojavnih oblik debla smrek in sicer polnolesno (slika 1) in malolesno (slika 2). Pri prvi je značilno, da raste v gozdu skupaj z ostalimi smrekami ali drugimi drevesnimi vrstami. Posledično je deblo vitko, ravno in dokaj cilindrično z malo vejami. Proti spodnjemu delu vej skoraj ni, kar pomeni, da tudi grč ni veliko. Malolesno obliko pa običajno najdemo kadar drevo raste na prostem, kjer okoli smreke ni sosednjih dreves, ki bi jo ovirale pri rasti. Pri tej obliki debla je v spodnjem delu več vej kot pri polnolesni in posledično tudi več grč. S tem so povezane težave pri predelavi in obdelavi lesa. Višine smrek segajo od 30 do 50 m, morda v izjemnih primerih do 60 m. Deblo v spodnjem delu zraste do 1,2 m oziroma do 2 m v premeru. Skorja na deblu je v začetni fazi rasti rdečkasto rjave barve. Kasneje na površini nastanejo razpoke in začne odstopati, v obliki okroglih ali oglatih lusk (Gričar, 2006; Čufar, 2006)

A



B



Slika 1: A - Polnolesne smreke v strnjenem sestoju ob poti na Čepulje na Gorenjskem, B – Polnolesno smrekovo deblo z majhnimi odmrliimi vejami v objemu konkurenčne bukve ob poti na Čepulje na Gorenjskem.

A



B



Slika 2: A – Malolesna prostorastoča smreka na vrtu v Dobrunjah. B –Spodnji del krošnje z debelimi vejami malolesne smreke v Dobrunjah. (Foto: Černe J.)



Slika 3: Zreli storži in poganjki (Brus, 2004)

Smreka načeloma uspeva tudi v kislih podlagah. Njen koreninski sistem je plitev, pogosto le do 30 cm globok, vendar pokriva veliko površino (Mlakar, 1990; Brus, 2004). Vročih poletnih temperatur in nizke relativne zračne vlažnosti smreka ne prenaša dobro, zato ji sušna obdobja niso ravno naklonjena. Glede na to, da potrebuje visoko vlago v zraku, je zelo

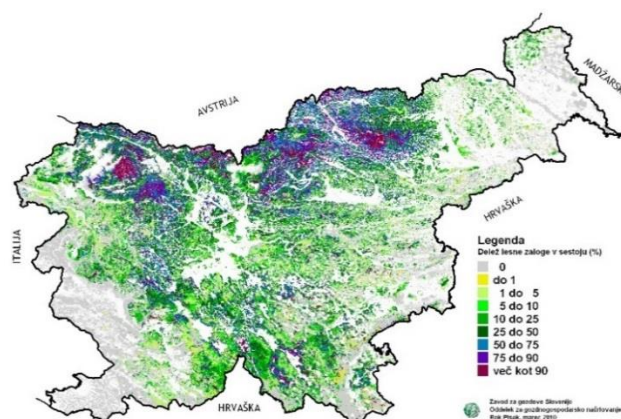
zaželeno, da so padavine porazdeljene enakomerno preko celega leta. Prav tako nanjo dobro ne vpliva onesnažen zrak. Količina svetlobe, ki jo smreka potrebuje je odvisna od nadmorske višine. To pomeni, da jo v višjih, goratih legah imenujemo kot polsvetloljubna vrsta, v nižjih, toplejših predelih, kjer so dobra tla pa ji pravimo sencozažirna vrsta. Njena gosta krošnja veliko prispeva k temu, da nam pod njo ni nikoli vroče in v primeru dežja nam bo služila kot dobro zavetje. Tla pod njo so zato bolj suha in deležna so malo svetlobe in toplote (Gričar, 2006).

2.2 RASTIŠČA IN RAZŠIRJENOST SMREKE

Smreka spada v družino borovk (Pinaceae) in je avtohtona drevesna vrsta na območju severne Evrope in gorovij srednje Evrope. Zaradi potreb industrije in gospodarstva so jo razširili po celotni celini. Ugaja ji sicer bolj hladno celinsko podnebje z veliko padavinami, ki omogočajo v njeni okolici vlažen zrak in sveža tla. V Evropi je danes pogosto razširjena v nižinah, njen areal pa sega do severa Skandinavije in daleč proti vzhodu z Rusijo (slika 4). V predelu srednje in južne Evrope je njen naraven areal predvsem v Dinarskem gorovju, Karpatih in Alpah, kjer uspeva do 2200 m n.m.v. V Sloveniji (slika 5) smreko v naravnem okolju najdemo samo v gorskih predelih (Pohorje, Karavanke in Alpe), v mrzlih visokokraških predelih (npr. okoli Snežnika v Trnovskem gozdu in na Kočevskem) in v zelo hladnih dolinah nižjih leg (npr. mrazišča na Notranjskem). Ker je bila smreka v preteklosti pospešeno sajena je danes razširjena po vsej. Kraji v Sloveniji, kjer smreke načeloma ne bomo našli so suhi predeli sredozemskega sveta, močvirska rastišča v panonskem svetu in obrečne nižine. Posebna smrekovina iz katere izdelujemo resonančni les raste na Pokljuki, Jelovici in nad Drago na Kočevskem (Mlakar, 1990; Brus, 2004). V zadnjih letih smreko zelo ogroža smrekov lubadar (Tome, 2010).



Slika 4: Razširjenost navadne smreke v Evropi (Brus, 2004).



Slika 5: Razširjenost navadne smreke v Sloveniji (Zavod za gozdove Slovenije) (Pisek, 2010).

2.3 OPIS SMREKOVEGA LESA

Smrekov les je rumeno bele barve, v starosti tudi rumeno rjav. Jedrovina in beljava se po barvi ne ločita. Skobljane površine lesa imajo svilnat lesk. Brez mikroskopa, vendar praviloma s pomočjo lupe, lahko vidimo normalne smolne kanale, ki so razporejeni pretežno posamezno. Zaradi tega ima svež les vonj po smoli. Les pogosto vsebuje smolne žepke, ki jih štejemo za napako. Branike so razločne. Rani les je svetel, kasni les je rdečkasto rjav. Smrekovino uvrščamo med vrste z nizko do srednjo gostoto, med 300 do 640 kg/m³, v povprečju pa 430 kg/m³ (Gričar, 2006; Čufar, 2006).

2.3.1 Uporaba smrekovega lesa

Smrekovino, kot surovino lahko kupimo v obliki hlodovine ali kot žagan les in furnir. Uporablja se lahko kot gradbeni in konstrukcijski les, npr. pri mostovih, raznih skeletih in stavbnih konstrukcijah, npr. montažne hiše, brunarice in nadstreški. Uporabljamo jo tudi pri notranji opreми, kot so pohištvo, stavbno pohištvo (stopnice, vrata, okna, razne obloge ...) in zunanji opreми, kot so ograje, zunanje obloge. Izdelujemo lahko razna lesna tvoriva kot so iverne plošče ipd. Iz smrekovine lahko pridobivamo celulozo za papir in kurilni medij (peleti, sekanci, drva in trske). Izdelke katere še lahko izdelujemo iz smrekovega lesa so športna oprema, igrače, butarice iz skobljancev, preklje za fižol ter izdelki iz resonančnega lesa, kot so glasbila.

2.4 MIKROSKOPSKA ZGRADBA SMREKOVEGA LESA

Osnovno tkivo lesa smreke predstavljajo aksialne traheide. Njihov delež v lesnem tkivu znaša več kot 90 % in v drevesu opravljajo mehansko funkcijo in funkcijo prevajanja vode. Medsebojno so povezane z obokanimi piknjami. Traheide so razporejene v radialnih nizih, znotraj enega niza imajo podobne tangencialne dimenzije. Če pa pogledamo radialno dimenzijo se od ranega lesa proti kasnemu lesu zmanjšuje. Lumen celice se od ranega proti kasnemu lesu zmanjšuje, debelina celične stene pa povečuje, zato je funkcija kasnega lesa bolj pomembna pri nosilnosti in trdnosti, funkcija ranega lesa pa bolj služi prevajanju vode. Dolžina traheid se giblje od 1700 do 3700 μm , premer pa od 20 do 40 μm . Dvojna debelina celičnih sten v ranem lesu znaša od 1,9 do 4,9 μm , v kasnem lesu pa 9,3 do 11,6 μm . Premer lumnov v ranem lesu je do 45 μm , v kasnem lesu pa od 6,4 do 22 μm (Čufar, 2006; Gričar, 2006).

Dve sosednji traheidi sta med seboj povezani s parom obokanih pikenj, ki se večinoma nahajajo v radialnih stenah. Največ jih je na koncih traheid (Čufar, 2006).

Trakovno tkivo poteka v radialni smeri od floema, lahko do stržena. Smreka ima heterocelularno trakovno tkivo, ki poleg parenhimskih celic vsebuje tudi trakovne traheide.

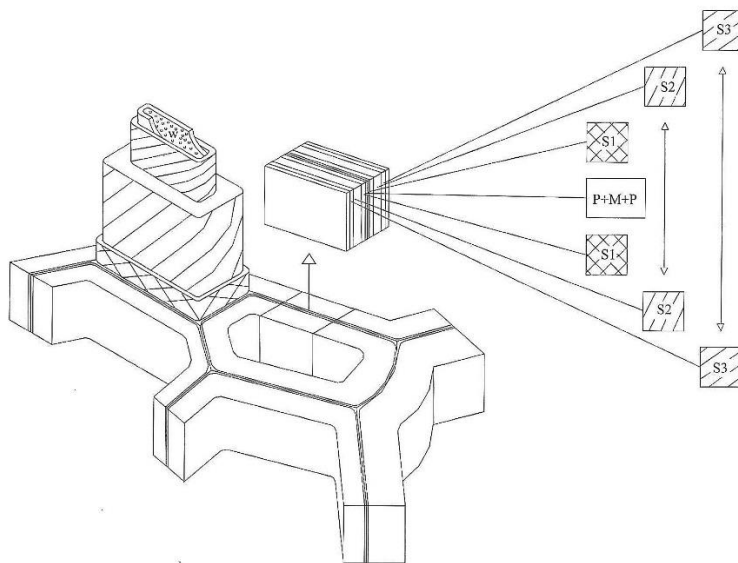
Trakovi pri smreki so enoredni ali večredni. Trakovi so večinoma enoredni trakove, razen vretenastih oziroma fuziformnih trakov, ki vsebujejo tudi radialni smolni kanal. Trakovi in aksialne traheide so povezani z različnimi vrstami pikenj. Pari enostavnih pikenj povezujejo med seboj trakovne parenhimske celice in ravno te celice so z aksialnimi traheidami v križnem polju povezane s polobokanimi piceoidnimi piknjami. Trakovne traheide so med seboj povezane s pari obokanih pikenj. Le te pa so z aksialnimi povezane z obokanimi piknjami. Predvsem les jedrovine vsebuje aspirirane obokane piknje, kjer je torus piknje nalegel na porus in prehod vode med celicami ni mogoč (Čufar, 2006). Razlogi za aspiracijo so lahko proces ojedritve, mehansko poškodovanje debela ali sušenje lesa zaradi staranja, poškodbe ali po poseku. Višina trakov meri od 100 do 190 μm , širina pa od 8 do 14 μm . Delež trakovnega tkiva v lesu se giblje od 4,4 do 5,5 %, delež trakovnih traheid pa znaša nekje 2,6 %. Naloga trakov je nujna izmenjava hranljivih snovi med floemom in ksilemom ter oskrba kambija (Čufar, 2006; Gričar, 2006).

2.4.1 Anatomska zgradba celične stene

Celične stene traheid so sestavljene iz več slojev (slika 6), ki se med drugim razlikujejo po deležu celuloze, hemiceluloz in lignina. Celuloza je zgrajena iz molekul dolgih verig, katere se združujejo v svežnje, ki jim pravimo fibrile. Fibrile so v vodi netopne in so povezane s hemicelulozami. Predstavlja skeletni del lesnega tkiva. Njen delež obsega malo manj kot polovico mase lesa in sicer $42 \pm 2\%$. Hemiceluloze so sestavljene iz pentoznih in heksoznih sladkornih enot, imajo krajše razvejane verige in so topne v vodi (Čufar, 2006). Njihov delež znaša približno 25 % absolutno suhega lesa. Lignin je amorfen polifenolni polimer, ki nastane iz treh hidroksi cinamil alkoholov: koniferil, sinapil ter p-kumaril alkoholov, ki se razlikujejo po številu metoksilnih skupin (Gričar, 2006). Lignifikacija celične stene se začne kasneje kot odlaganje celuloze in hemiceluloz in sicer tako, da lignin prepoji prostore v celični steni. Po končani lignifikaciji (olesenitvi) lignin zapolnjuje prostore med fibrilami celične stene (Čufar, 2006; Gričar in sod., 2005). Vsebnost lignina v lesu na splošno znaša od 20 do 35%. Pri iglavcih iz zmernega pasu znaša $25 \pm 3\%$. Poleg celuloze, hemiceluloz in lignina so v lesu prisotni tudi pektini in proteini. Njihov delež znaša od 1-8 %. Skozi razvoj celične stene so proteini zelo pomembni pri sestavi in morfologiji celične stene.

Pomembno vlogo pri sestavi in morfologiji celičnih sten ksilemskih elementov imajo proteini posebno v času razvoja celičnih sten. Ti poleg hemiceluloz bočno povezujejo oziroma zamrežujejo celulozne fibrile. Pektini so pomembni za nadzor razteznosti celične v fazi diferenciacije (Čufar, 2006; Gričar, 2006).

Celična stena je sestavljena iz primarne (P) in sekundarne (S) celične stene, ter srednje lamele (M), ki zapolnjuje prostor med celicami. S svetlobnim mikroskopom je srednjo lamelo težko ločiti od primarne stene, zato srednjo lamelo in primarni steni dveh sosednjih celic vidimo kot enotno tvorbo in jo poimenujemo združena srednja lamela (ZSL). Pri nekaterih drevesnih vrstah se na celični steni (gledano proti lumnu), nahaja še bradavičasti sloj. Primarna stena je prva stena v celici, ki jo obdaja potem ko nastane v kambiju. Njena debelina znaša od 0,1 do 0,2 μm , vsebuje pa celulozo, hemiceluloze in lignin. Ohlapne celulozne fibrile so prisotne na zunanji strani (aksialno) in na notranji strani (prečno). Po primarni steni, sledijo trije sloji sekundarne stene, ki imajo različno orientirane celulozne fibrile. Debelina prvega sloja (S1), znaša nekaj desetink μm . Orientacija celuloznih fibril poteka izmenično pod velikim kotom. Torej imajo fibrile položen heliks. Naslednji sloj (S2) ima heliks strm, kar pomeni, da potek celuloznih fibril poteka skoraj navpično, oz. vzporedno z osjo celice. Zaradi velikega deleža S2 v stenah traheid in vlaken (75 %), le ta določa fizikalne lastnosti celične stene kot so higroskopsko krčenje, nabrekanje in natezna trdnost lesa. Debelina sloja S2 je od enega do nekaj μm . Debelina sloja sekundarne stene (S3) znaša približno 0,1 μm . Celulozne fibrile imajo velik kot oziroma položen heliks. Kot smo že omenili obstaja pri določenih vrstah še bradavičasti sloj, ki je sestavljen iz lignina in hemiceluloz (Gričar in Čufar, 2004). Nastanek bradavic naj bi izviral iz ostankov citoplazme, ki se je odložila na sloj S3 in iz dodatnega stenskega materiala. Premer bradavic je od 0,05 do 0,5 μm . Bradavičasti sloj vpliva tudi na prehod vode med celicami, ker se lahko nahaja v pikenjski votlini.



Slika 6: Shematski slikovni prikaz slojev celične stene. Prikazani so srednja lamela (M), primarni (P), sekundarni (S) in bradavičasti (W) sloj ter orientacija celuloznih fibril (Čufar, 2006).

Pri procesu diferenciacije v kambijevi coni se včasih zgodi, da pride do razmaknitve nezrelih aksialnih elementov. Takrat se zgodi, da okoli teh nezrelih celic nastane medcelični (intercelularni) prostor v obliki cevi, ki mu pravimo smolni kanal. Nastane tako, da se skupki celic, ki so neposredni derivati kambija ne razvijajo normalno v aksialne traheide ali trakovne celice ampak se delijo v še več manjših celic, ki se v nizu zbirajo vzdolž osi v območju nastajajočega bodočega smolnega kanala. Nato počí srednja lamela (najbolj verjetno zaradi tlaka balzama, katerega proizvajajo epitelne celice) med celicami v centru skupka in tako nastane votlina smolnega kanala. Govorimo o normalnem smolnem kanalu, ki ga obkrožajo epitelne celice, ki so žive ko se še nahajajo v območju beljave in takrat vsebujejo smolo. Same celice, ki po plasteh obkrožajo votlino v debelini ene celice ali več, imenujemo epitelne celice. Skupaj z aksialnim parenhimom predstavljajo največ do 5% lesnega tkiva, njihove stene pa so lahko tankostene ali debelostene. Lahko so lignificirane in močno piknjave. Smolni kanali so značilni za rod smreke *Picea*. Smreka ima radialne in aksialne smolne kanale, ki skupaj tvorijo omrežje. Radialne kanale najdemo v vretenastih, več rednih trakovih. Premer smolnih kanalov se giblje od 30 do 150 μm . V anatomiji smreke lahko obstaja tudi travmatski (ranitveni) smolni kanal, ki je posledica ranitve kambijeve

cone. Pri smreki so epitelne celice debelostene, piknjave in najverjetneje lignificirane (Čufar, 2006; Gričar, 2006).

2.5 RAST DREVESA IN DELOVANJE MERISTEMOV

Osnovni organi pri drevesu so korenine, steblo in listi. Njihova začetna rast se začne v semenu, ki je sestavljen iz kalčka oziroma mirujočega embria in rezervnih snovi. Za rast rastline je potrebno, da seme začne kaliti (celice embria se začnejo deliti) in tako v nadaljevanje nastane klica, ki že ima osnovno korenino, steblo in liste oziroma iglice v primeru smreke. Na začetku imajo vse celice embrionalni značaj, kasneje pa večina od teh diferencira. To pomeni, da nimajo več sposobnosti delitve, ampak postanejo del trajnih tkiv, v katerih pridobijo dokončno velikost, obliko in funkcijo. Eno od trajnih tkiv je les, ki pri odraslem drevesu in predstavlja večinski delež. Celice, ki imajo sposobnost delitve, se nahajajo v prostorsko omejenih regijah meristemih (Mlakar, 1990; Čufar, 2006).

Po položaju v rastlinskem telesu, meristeme delimo na apikalne in lateralne. Prvi se nahajajo v koreninah in vršičkih glavnih in stranskih nadzemnih poganjkov. Druge pa predstavljata vaskularni kambij in plutni kambij (felogen). Po določitvi relativnega časa nastanka v rastlini meristeme ločimo tudi na primarne in sekundarne. Primarni so apikalni, ker nastanejo pred lateralnimi, ki so sekundarni. Prvi skrbijo za rast v višino pri deblu oziroma v dolžino pri veji ali poganjku, drugi pa za debelitev debla ali veje (Čufar, 2006).

Pri začetni fazi (prvo leto) rasti drevesa najprej deluje apikalni meristem, katerega rezultat delovanja v višino so primarna tkiva (slika 8). To so stržen, primarni ksilem na obodu stržena in primarni floem (primarno krovno tkivo skorje, ki se nahaja periferno od sekundarnega floema). Nato nastopi delovanje lateralnega meristema in začne se odlaganje sekundarnega ksilema okoli primarnega ksilema. Pri tem že nastaja branika lesa v prvem letu in hkrati tudi tkivo skorje. Pred pričetkom (na prehodu) debelinske sekundarne rasti primarno krovno tkivo (epiderm) razpoka, odpade in ga nadomesti periderm (sekundarno krovno tkivo). Spomladi se prične rast v drugem letu in tedaj bo že nastala druga branika, ki v celoti predstavlja sekundarni ksilem - les (Čufar, 2006).

2.5.1 Kambijeva cona in delitve celic

Kambij je lateralni meristem. Les (sekundarni ksilem) in sekundarni floem proizvaja vaskularni kambij, ki ga sestavljajo vretenaste (fuziformne) inicialke in trakovne inicialke. Nahaja se med celicami sekundarnega ksilema na notranji strani debla ali veje in sekundarnega floema, na zunanji strani. Definiran je kot obroč, ki ima debelino ene same celice vretenastih in trakovnih inicialk. Omenjene celice nimajo medceličnih prostorov, njihova radialna dimenzija pa je praviloma majhna v primerjavi s tangencialno. Ker inicialke težko ločimo od nediferenciranih celic sekundarnega ksilema in floema, območje kambijevih inicialk z njihovimi neposrednimi derivati floema in ksilema imenujemo kambijeva cona. Za poimenovanje kambijeve cone obstaja več teorij. Najbolj se je uveljavila teorija, da je kambijeva cona območje diferencirajočih se celic med ksilemom in floemom vključno s kambijevimi inicialkami in njihovimi materinskimi delečimi se celicami. Z delitvijo inicialke nastaneta dve identični hčerinski celici, kjer ena obdrži meristemski značaj, druga pa se pred diferenciacijo v odraslo celico ksilema in floema še nekajkrat deli (Prislan, 2007, 2012)

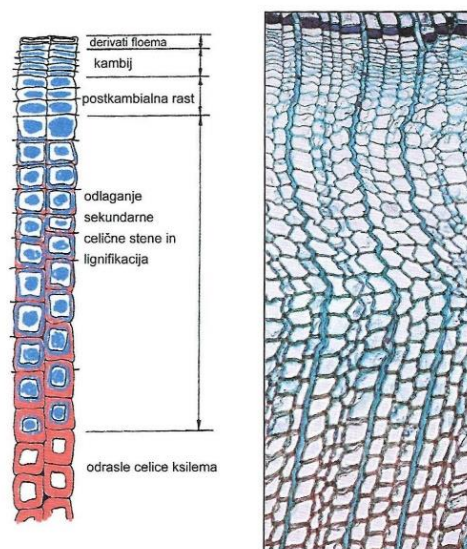
2.5.2 Delitve v kambiju

Inicialke v kambiju, se delijo v različnih smereh. Delitve ločimo na perikline (aditivne) in radialne (antikline) ter psevdotransverzalne delitve. Pri prvih nastanejo celice sekundarnega ksilema oz. lesa in celice sekundarnega floema, ki je del skorje. Proces se odvija v tangencialno aksialni ravnini, vzporedno s površino skorje in s tem se povečuje premer debla ali veje (Čufar, 2006).

Za razliko od večinoma mrtvih celic lesa so kambijeve inicialke tipične žive rastlinske celice, ki imajo trajno sposobnost delitve (Čufar, 2006). Les po nastanku v kambiju kasneje doživi še sekundarne spremembe in beljava se pretvori v jedrovino, ki je pri smreki neobarvana.

2.5.3 Nastanek in diferenciacija traheid

Proces nastajanja traheid (slika 7) se začne z delitvijo v kambiju. Kambijeve celice imajo majhne radialne dimenzije in tanke primarne stene, ki še niso lignificirane. Delitvi sledi determinacija in na koncu diferenciacija. Po zadnji delitvi ima celica že primarno celično steno. V fazi determinacije pride do odločitve kakšna celica bo nastala. Med fazo diferenciacije pride do ekspanzije celice. Celica raste površinsko v smislu radialne dimenzije in pri tem lahko nekajkrat poveča prvotno dimenzijo. Poleg radialne rasti raste traheida nekoliko zraste tudi v dolžino, ki praviloma na presega 10 %. Obe rasti običajno potekata istočasno. Pri procesu se vseskozi razteguje raztegljiva primarna celična stena in tako rast imenujemo tudi postkambijalna rast. Po končani rasti sledi debelitev celične stene. Na primarno steno se začne nalagati masivna, toga sekundarna celična stena, ki je sestavljena iz treh slojev. V fazi debelitve se začnejo oblikovati obokane piknje. Preden je celična stena dokončno formirana se v njej prične inkrustiranje lignina, t. i. postopek lignifikacije ali olesenitev celic. Po dokončni diferenciaciji celične stene nastopi programirana celična smrt. V lumnu celice se citoplazma razkroji in celica odmre. Mrtva celica v ksilemu šele sedaj začne upravljati prevodno funkcijo. Tako živa celica manjšega radialnega premera, manjše dolžine, tanjše celične stene in žive vsebine v lumnu postane mrtva celica večjega radialnega premera, večje dolžine, debele olesenele celične stene in lumna brez citoplazme. Traheida predstavljajo osnovne celice v lesnem tkivu iglavcev in poleg prevodne opravlja tudi mehansko funkcijo.



Slika 7: Prečni prerez lesa navadne jelke, ki je obarvan z barviloma safranin in astra modro prikazuje razvoj lesnih celic od delitve v kambiju do odrasle celice ksilema. Modro so obarvane celice v kambiju, sekundarnem floemu in celice v sekundarnem floemu, ki so v fazi postkambialne rasti. V procesu lignifikacije, modro obarvanje postopoma nadomešča rdeče obarvanje s safraninom. Rdeče obarvane celične stene in lumni brez citoplazme predstavljajo povsem diferencirane, odrasle in mrtve traheide (Gričar, 2006).

2.5.4 Sezonska aktivnost kambija in vpliv dejavnikov na njegovo delovanje

Delovanje in aktivnost kambija je odvisna od notranjih in zunanjih dejavnikov. V prečnem prerezu pod mikroskopom, lahko opazimo, da njegova širina preko leta variira. V pomladnem in poletnem delu letna je kambij večinoma. V jesenskem oziroma predvsem zimskem času je v stanju mirovanja oz. v dormantnem stanju. V času delovanja je pri jelki kambijeva cona lahko široka 10 ali več celic, v obdobju mirovanja pa od 3 do 6 celic (Čufar, 2006). Število celic kambijeve cone je tudi pokazatelj ravnovesja med stopnjo produkcije in stopnjo diferenciacije kambijevih derivatov. V začetku rastne sezone je delitev celic hitrejša od diferenciacije, zato se takrat širina kambija večja. V vmesni fazi, ko je stopnja delitve celic enaka stopnji diferenciacij, je širina kambija bolj ali manj konstantna. Ko je stopnja delitve manjša glede na stopnjo diferenciacije se pri kambiju prične faza ožanja. Po procesu ožitve, pa kambij obmiruje in nato spet »oživi« šele naslednjo pomlad. Debelina celičnih sten kambijevih celic pri iglavcih in listavcih je v dormantnem območju debelejša, na višku vegetacijskega pa najtanjša (Čufar, 2006; Gričar, 2006; Prislan, 2007, 2012).

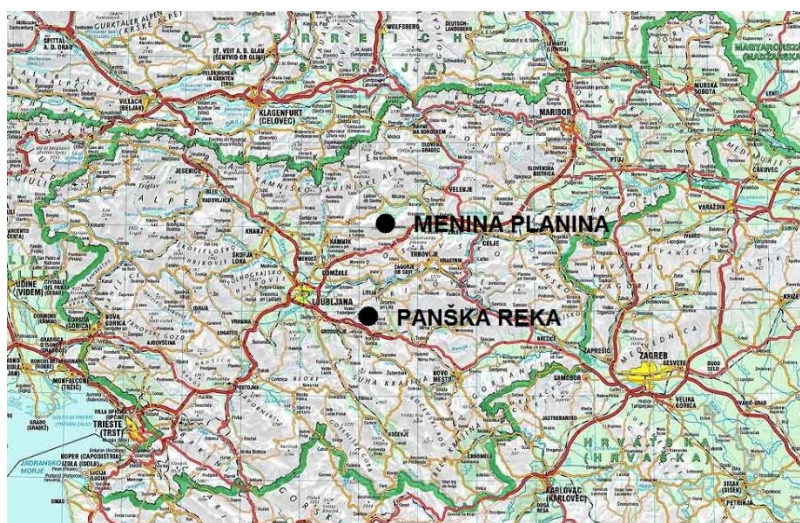
Med razlogi za periodično spreminjanje širine in aktivnosti kambija so pri drevesih zmerne klimatskega podnebja poleg vrojenih lastnosti tudi zunanji dejavniki, kot temperature in padavine. To se odraža v različnih branikah, letnicah, ter razlikah v ranem in kasnem lesu. Pri nas na delovanje kambija v veliki meri vplivajo temperature (Čufar, 2006; Gričar, 2006).

Na delovanje kambija vplivajo tudi notranji dejavniki. Pri tem so pomembni rastni hormoni. Pri razvijanju mladih poganjkov ali iglic v krošnji nastajajo rastni hormoni, ki vplivajo na delovanje nanj. Med hormoni so za rast kambija pomemben avksini. V obdobju najbolj intenzivne rasti, je koncentracija avksinov praviloma visoka. Ta hormon vpliva na površinsko rast celic, zato pod njegovim vplivom kambij proizvaja celice širokih radialnih dimenzij, ki sestavljajo rani les. Kasneje v sezoni ko se rast poganjkov in iglic ustavi se v drevesu zmanjša koncentracija rastnih hormonov, posledično pa nastajajo celice majhnih radialnih dimenzij, ki sestavljajo kasni les. Kambij se spomladi najprej aktivira v višjem delu debla. Razlog je večja bližina krošnje, posledično tudi krajša oddaljenost od hrane in hormonov, s katero se kambij oskrbuje. Ena od posledic neenakomerne količine rastnih hormonov v drevesu je nastanek so polnolesnih debel, ki imajo v spodnjem delu debla ožje branike, v zgornjem pa širše. Pri malolesnem drevesu in globoki krošnji so branike enakomerno široke po celotni višini debla. V fazi prehoda med aktivnim in dormantnim obdobjem začnejo celice kambija kopičiti rezervne snovi, med drugim tudi za odpornost na nizke temperature. Na ta način postanejo nedovzetne za rastni hormon eksogeni avksin. Spomladi, ko prične kambij ponovno delovati, skladiščne rezervne snovi pri tem pomagajo pri ponovni delitvi celic (Čufar, 2006; Gričar, 2006).

3 MATERIAL IN METODE

3.1 OPIS RASTIŠČA IN TESTNIH DREVES

Proučevanje kambijeve aktivnosti in nastanek ksilemske branike je potekalo na treh smrekah (*Picea abies* (L.) Karst.) iz gozda na Menini planini na nadmorski višini približno 1200 metrov in na 6 smrekah iz gozda na Panški reki pri Ljubljani približno 400 metrov nadmorske višine (slika 8).



Slika 8: Lokacija rastišča Panške reke in Menine planine (ARSO)

3.2 ODVZEM VZORCEV TKIV

Pri raziskavi kambijeve cone smo uporabljali metodo odvzema mikro izvrtkov, ki so jih iz dreves odzemale sodelavci Oddelka za lesarstvo, predvsem dr. Peter Prislan, za potrebe svoje doktorske disertacije, kjer so potekali podobni eksperimenti na bukvi (Prislan, 2012). Mikro izvrtki premera približno 2 mm in dolgi približno 10 mm so zajemali notranji floem, kambijevo cono in zunanji ksilem (nekaj branik). Za odvzem smo uporabljali specialno orodje Trephor (slika 9), ki ga je razvila skupina italijanskih raziskovalcev iz Padove (Rossi in sod., 2006). Odvzem je potekal na zdravih živih drevesih, metoda pa je zaradi dokaj majhnih poškodb na drevesu omogočala tedenski odvzem mikro izvrtkov. Časovni razpon

odvzemanja mikroizvrtkov na lokaciji Panška reka je segal od začetka vegetacijskega obdobja, 16. marca 2009 do 28. septembra 2009, na Menini planini pa od 24. aprila 2009 do 25. septembra 2009. V spodnjih dveh tabelah (preglednica 1) in (preglednica 2) so prikazani časovni podatki za odvzem mikro izvrtkov iz obeh rastišč..

Preglednica 1: Odvzem mikroizvrtkov pri šestih smrekah s Panške reke v letu 2009

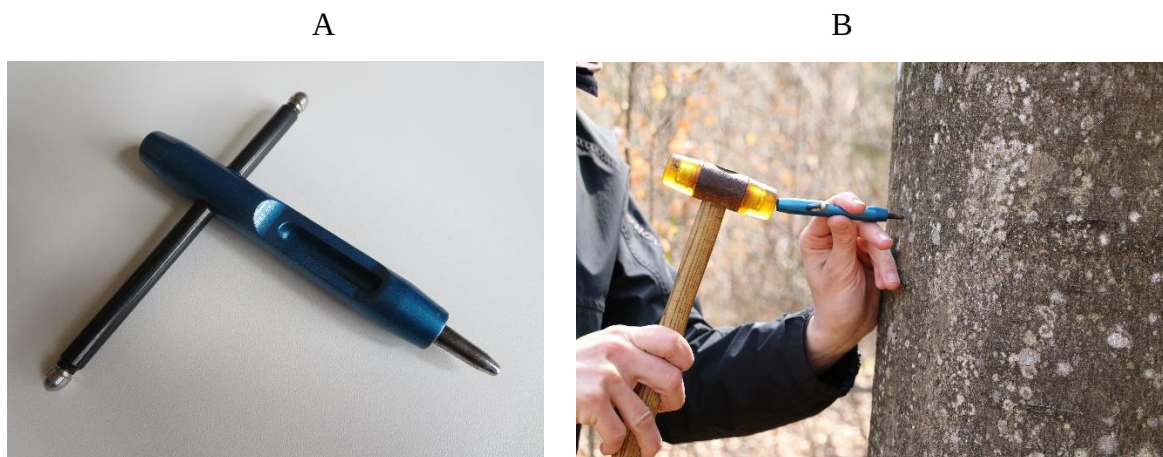
PANŠKA REKA		
Odvzem	Datum	Dan v letu
1	16.3.2009	75
2	23.3.2009	82
3	30.3.2009	89
4	6.4.2009	96
5	9.4.2009	99
6	14.4.2009	104
7	20.4.2009	110
8	28.4.2009	118
9	4.5.2009	124
10	11.5.2009	131
11	18.5.2009	138
12	25.5.2009	145
13	1.6.2009	152
14	8.6.2009	159
15	15.6.2009	166
16	22.6.2009	173
17	29.6.2009	180
18	6.7.2009	187
19	13.7.2009	194
20	20.7.2009	201
21	27.7.2009	208
22	3.8.2009	215
23	10.8.2009	222
24	17.8.2009	229
25	24.8.2009	236
26	31.8.2009	243
27	7.9.2009	250
28	14.9.2009	257
29	21.9.2009	264
30	28.9.2009	271

Preglednica 2: Odvzem mikroizvrtkov pri desetih smrekah Menine planine v letu 2009

MENINA PLANINA		
Odvzem	Datum	Dan v letu
1	24.4.2009	114
2	30.4.2009	120
3	8.5.2009	128
4	15.5.2009	135
5	22.5.2009	141
6	29.5.2009	149
7	5.6.2009	156
8	12.6.2009	163
9	19.6.2009	170
10	26.6.2009	177
11	3.7.2009	184
12	10.7.2009	191
13	17.7.2009	198
14	24.7.2009	205
15	31.7.2009	212
16	7.8.2009	219
17	14.8.2009	226
18	21.8.2009	233
19	28.8.2009	240
20	4.9.2009	247
21	11.9.2009	254
22	18.9.2009	261
23	25.9.2009	268

Pri postopku odvzema mikro izvrtkov na terenu so poleg Trephorja uporabljali tudi široko dleto in kladivo. Višino odvzema so opravljali na prsni višini 1,3 m nad tlemi. Najprej so s širokim ostrim dletom v prečni smeri drevesa odstranili zunanji del skorje, ki je zajemala periderm in kolabirani floem. Pri tem so morali paziti, da niso zarezali pregloboko in poškodoval kambijeve cone. Po postopku z dletom se je prikazala površina kambijeve cone prekrita z manjšim deležem rjavega floema. Potem je sledil postopek izsekavanja s Trephorjem. Konico orodja so nastavili na točno določeno mesto, pravokotno na obod debla, ter udarili s kladivom tako močno, da se je le to zarilo 15 mm globoko. Nato so Trephor rahlo zavrteli v levo in v desno ter ga tako z rahlimi krožnimi gibi počasi izvlekeli iz debla. Za odstranitev izvrtka iz Trephorja so uporabili ozko palčko, ki je morala biti še ožja od samega izvrtka. Takoj za tem je sledila shranitev mikro vzorcev v plastično kaseto na katero so zabeležili številko drevesa, in datum odvzema. Samo kaseto so nato shranili v plastično

posodo s fiksacijsko tekočino FFA (500 ml FFA vsebuje: 450 ml 50 % etanola, 25 ml 100 % očetne kisline in 25 ml 37 % formalina) (Prislan, 2012). Celotni postopek so ponovili še vsaj enkrat ali dvakrat zato, da so pridobili vsaj dva ali tri izvrtke za vsako drevo.



Slika 9: A – Specialno orodje Trephor; B – Specialno orodje Trephor pri odvzemu mikro izvrtka. (Foto: Krže L.)

3.3 PRIPRAVA VZORCEV

Mikro vzorce je bilo potrebno hraniti 1 teden v fiksacijskem sredstvu FFA potem pa je sledilo izpiranje s 50 % etanolom. Po izpiranju je bilo treba vzorce spraviti v posodo z 70 % etanolom vsaj za toliko časa, dokler se jih ni nabralo 50 primerkov. Na to je sledilo prepajanje s parafinom. Pred tem smo ocenili kateri je od dveh oziroma treh izvrtkov je najboljši za izdelavo preparatov. Najboljši vzorec je šel na mesto za na daljno obdelavo, ostali vzorci pa v plastično posodico z etanolom. V nadaljevanju je bilo potrebno izbrane vzorce dodatno obrezati z britvico in sicer odvečni ksilem predhodne branike in čim več kolabiranega floema. Ob koncu smo s svinčnikom označili še prečni prerez, jih dali v kaseto, na kateri je bilo potrebno označiti številko drevesa in datum odvzema vzorca.

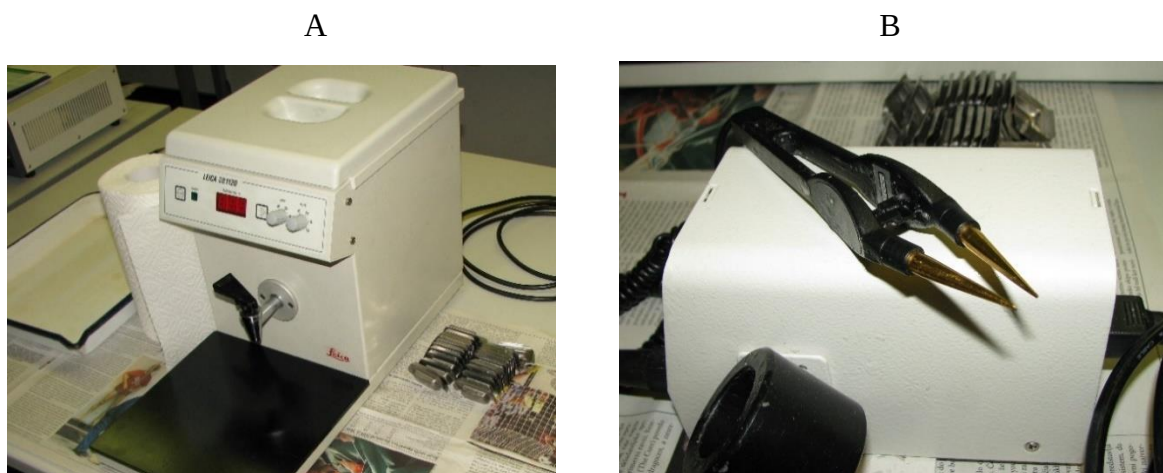
3.4 PRIPRAVA REZIN Z ROTACIJSKIM MIKROTOMOM ZA PREPARATE PRI SVETLOBNI MIKROSKOPIJI

Trajne anatomske preparate za svetlobno mikroskopiranje smo izdelali v laboratoriju na Katedri za tehnologijo lesa. Preden smo začeli s postopkom rezanja mikro izvrtkov, je bilo potrebno le te prepojit s parafinom. Posamezne vzorce, smo zložili v eno izmed reagenčnih posod komore tkivnega preparatorja Leica TP 1020. Nato smo pričeli s postopkom dehidracije z etanolom in bio-clearom (topilo na osnovi D – limonena), ter prepajanjem vzorcev s parafinom. Komora preparatorja je okrogla in je sestavljena iz 12 reagenčnih posod v katerih se nahajajo različne raztopine (preglednica 3). Delovanje temelji na principu že v naprej nastavljenega časovnega programa. Vzorci potujejo iz ene steklene reagenčne posode v drugo v različnih časovnih intervalih. To potovanje omogoča mehanizem, ki v krogu premika kovinsko valjasto košaro. Le ta pa prestavlja vzorce in jih potaplja v zaporednih raztopinah. V prvih 7 reagenčnih posodah je potekalo dehidriranje kaset v različnih koncentracijah etanola v različnih časih. Pričetek dehidracije se je začel s 70 % etanolom, ter nadaljevali z 90 %, 95 % in 100 % etanolom. Intervalni čas prve in druge posode je bil 2 uri, v nadaljnjih pa 1,5 ure. V naslednjih treh posodah po končanem namakanju v etanolu so bili vzorci dehidrirani po 1,5 ur v 100 % bio-clearu. V zadnji fazi je sledilo še prepajanje s parafinom (Preglednica 3).

Preglednica 3: Prikaz časovnega zaporedja dehidracije mikro izvrtkov z etanolom, bio-clearom in prepajanje z parafinom

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 zaključenem prepajanju s parafinom, je bilo potrebno pripraviti mikro izvrtke za nadaljnjo obdelavo. Kasete s parafinom v katerem so bili ujeti mikro izvrtki smo postavili na grelno ploščo parafinskega dispanzerja Leica EG 1120 (slika 10A). Parafin se je stalil, kasete smo razstavili na dva dela in mikro izvrtke ločili od parafina. Za vlivanje parafina smo uporabili že omenjeni dispanzer, ki je bil sestavljen iz pipice skozi katero je tekel raztaljen parafin, zaslona s številkami in vrtljivima gumboma za nastavljanje ustrezne temperature taljenja parafina in grelne plošče, ki je služila za taljenje parafina v posodici. Dispanzer je imel na vrhu tudi loputo, ki je zakrivala odprtino v katero se je stresal novi parafin v granulaciji. Poleg dispanzerja smo uporabljali tudi posebno specialno pinceto Leica EG F (slika 10B), ki je imela ogrevane konice in prav tako je bila temperaturno nastavljiva. Pinceta nam je omogočala, da smo mikro izvrtke, lahko enostavno naravnali v ustrezen položaj v kovinski posodici. Bodisi vzdolžno s posodico ali pod 45 %. Mikro izvrtke je bil s svinčnikom označen v radialni smeri, kar pomeni, da ga je bilo potrebno v posodici postaviti v tak položaj, da je bila črtica vidna zgoraj. Pravilen položaj črtice je bil zelo pomemben pri kasnejšem svetlobnem mikroskopiranju, saj nam je tako omogočal pravilen pravokoten pogled na lesne celice. Pri določenih vzorcih se nam položaja črtice ni posrečilo pravilno nastaviti, zato tudi pogled ni bil takšen, kot ga pričakujemo pri prečnem prerezu.



Slika 10: A – Parafinski dispanzer Leica EG 112; B – Specialna ogrevana pinceta Leica EG F.

V posodico smo vlili staljeni parafin temperature 58 °C samo toliko, da je bilo prekrito dno, nato smo s pinceto prijeli mikro izvrtke in ga položili na dno posodice. Parafin na dnu posodice se še ni stalil, saj je vseskozi postavljen na grelni plošči dispanzerja. Ko smo hoteli

mikro izvrtek fiksirati v parafin, smo posodico odstavili iz grelne plošče in posledično se je začel parafin ohlajati. Da se je hitreje ohladil oziroma strdil, smo imeli zraven stekleno petrijevko z vodo, v katero smo pomočili zunanjo spodnjo ploskev posodice. Parafin se je strdil in hkrati fiksiral mikro izvrtek, da se le ta ni več premikal. Znak strjevanja parafina je bila belkasta površina. Količina parafina v posodici je morala biti tolikšna, da ni presegala višine mikro izvrtka. Nato smo vzeli označeni del kasete ki smo ju prej razstavili in ga položili na posodico, kjer smo že imeli fiksiran mikro izvtrek. Na kaseto v posodico smo do vrha vlili parafin in tako dobili blok z fiksiranim mikro izvrtkom. Prekinitveni čas med prvim vlivanjem v posodico in drugim vlivanjem čez kaseto na posodici je moral biti čim manjši, saj smo lahko le tako dosegli dobro združitev oziroma spojitev obeh polovic parafina. Če se oba dela parafina nista dobro združila, je lahko pri rezanju z rotacijskem mikrotomom zaradi sunka sile, tanjši del parafina odtrgalo skupaj z mikro izvrtkom. Parafin v posodici, se je dokončno ohladil na sobni temperaturi. V naslednjem koraku smo morali ločiti posodico in blok parafina s kaseto. To smo dosegli tako, da smo omenjeni skupek dali v hladilnik za 30 min in to naredili za več kosov naenkrat. V naslednjem koraku smo morali vsem blokom, kjer se je nahajal mikro izvrtek, odrezati s tehničnim nožem (olfa nož) robove parafina (slika 11). To smo morali narediti čim globlje vendar je moralo okoli mikro izvrtka še vedno ostati dovolj parafina, da je lahko le ta močno držal obdelovanec pri silah rezanja rezin. Po obrezovanju robov, smo na polavtomatskem rotacijskem mikrotomu Leica RM 2245 (slika 12), vsakemu bloku poravnali površino na mestu kjer je bil fiksiran mikro izvrtek.

A



B



Slika 11: A – Obrezan blok pred poravnavanjem; B – Bloki pripravljeni za nadaljnjo obdelavo.

Torej, odstraniti je bilo potrebno odvečen parafin, ki se nahajal pred mikro izvrtkom in s tem hkrati poravnati začetno okroglino samega izvrtka. Poravnavali smo toliko časa, da smo na koncu dobili čim večji prerez v obliki kvadrata. Odrezovanje je potekalo na ostrih jekleni nožih, ki so bili že rabljeni, ker pri tem nismo potrebovali kvalitetnega odreza. Pred izdelovanjem pravih rezin za izdelavo preparata, smo morali blok namočiti v vodi za 30 min, da se je ksilemsko tkivo nekoliko zmehčalo. Namakanje je potekalo za več blokov hkrati in sicer za toliko, kolikor smo vedeli, da jih bomo lahko obdelali in narezali preparate v določenem času.

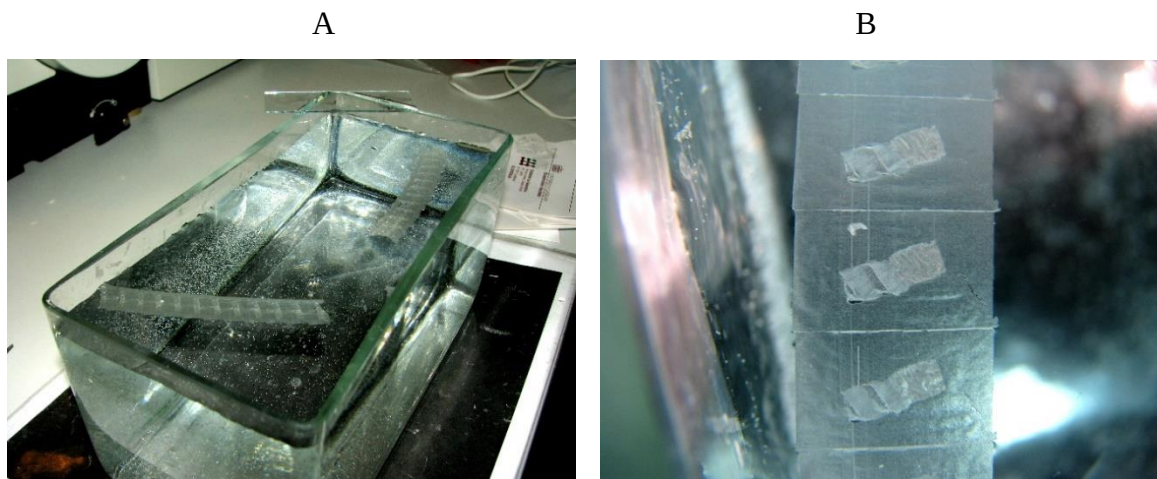
3.4.1 Rezanje rezin na rotacijskem mikrotomu

Rezanje rezin ksilemskega tkiva je potekalo na polavtomatskem rotacijskem mikrotomu, kjer smo uporabljali popolnoma nove jeklene nože. Za čimbolj učinkovito odrezovanje tkiva smo morali nož premikati po dolžini, ker se je po določenih rezih skrhal. Premikali smo ga za dolžino reza mikro izvrtka. Torej, ko smo opazili, da rez postaja slabši, smo nož premaknili in tako smo lahko spet nadaljevali z neobrabljenim delom. Debelina rezanja na mikrotomu je bila nastavljena na 10 μm . Princip delovanja rotacijskega mikrotoma temelji na pretvorbi krožnega gibanja ročaja, ki ga poganjamo med odrezovanjem v premo gibanje (gor in dol) vpenjalne glave bloka. Vpenjalna glava je omogočala vpenjanje bloka v horizontalni ali vertikalni smeri. Med delom smo ugotovili, da horizontalni, pokončni rez ni kazal dobrih rezultatov. Kambijeva cona je bila videti pod mikroskopom potlačena in tako štetje celic ni bilo mogoče. Zato smo se po tem posluževali vertikalnega reza oziroma reza pod kotom 45° . Le tega smo morali že prej nastaviti pri fiksiranju mikro izvrtka v parafin. Pri odrezovanju smo si pomagali s pinceto in kovinsko palčko. Če je rez potekal gladko, smo pri odrezovanju dobili po 5 ali 7 zaporedno, širinsko spojenih rezin. Takšen rez smo najlažje izvedli z neprestanimi enakomernimi obrati ročaja.



Slika 12: A – Polavtomatski rotacijski mikrotom; B – Odrezovanje rezin na rotacijskem mikrotomu.

Niz rezin smo potem s pinceto prenesli v stekleno posodo (slika 13) z mrzlo vodo, ki je pod seboj imela črno podlogo. Namen črne podloge je bil za boljšo vidljivost prosojnih rezin. V mrzli vodi so se rezine rahlo poravnale hkrati pa smo odstranili slabe rezine, ki niso bile uporabne.



Slika 13: A – Steklена posoda z nizom rezin; B – Lebdeče rezine na gladini vode.

3.4.2 Problem pretrgane kambijeve cone in dokončna izdelava preparatov

Ko smo v vodi steklene posode imeli pripravljene rezine na gladini vode, je bil naslednji korak prestaviti rezine v vodno kopel Leica HI 1210 (slika 14) z nastavljeno temperaturo vode 38 °C. Rezine smo prestavljali s pinceto in ko smo jih položili v toplo vodo, so se iz stanja rahle nagubanosti v trenutku poravnale. Nato smo izbrane rezine prenesli na objektno steklo in sicer tako, da smo jih zajeli iz vode. Na objektno steklo smo morali pred tem nanesti albumin s čemer e je povečala oprijemnost rezin na steklo. Nanesli smo ga s kapalko, razmazali pa smo ga s prstom. Rezine so se v topli vodi zelo raztegnile in se začele ločevati med seboj v prej strjenem nizu. Zato je bila pomembna hitra odločitev za izbiranje in zajemanje rezin iz vode. V primeru počasnosti so se rezine ločile tudi od parafina in posledično so začele plavati vsaka v svojo smer. Namesto, da bi niz strjenih rezin zajeli z enim zamahom je bilo zajemanje in lovljenje potem veliko težje. Ko so bile rezine na objektnem steklu, smo morali le temu ustrezno označiti kraj rastišča, št. drevesa in datum odvzema mikro izvrtka. Ulovljene rezine na objektnih steklih smo nato v stekleni košarici postavili v pečico (slika 15) za 30 min na 70 °C.



Slika 14: Vodna kopel Leica HI 1210.



Slika 15: Pečica

Potem je sledilo barvanje preparatov (slika 16). Postopek barvanja je vključeval tudi izpiranje parafina, ki se je držal na objektnem steklu poleg rezine. Izpirali smo 10 objektnih stekel naenkrat, zloženih v stekleni košarici, v stekleni posodi. Kot medij za izpiranje smo uporabljali 100 % bio-clear in 95 % etanol (preglednica 4) v določenem časovnem zaporedju.

Preglednica 4: Odstranjevanja parafina iz objektnega stekla in barvanje rezin

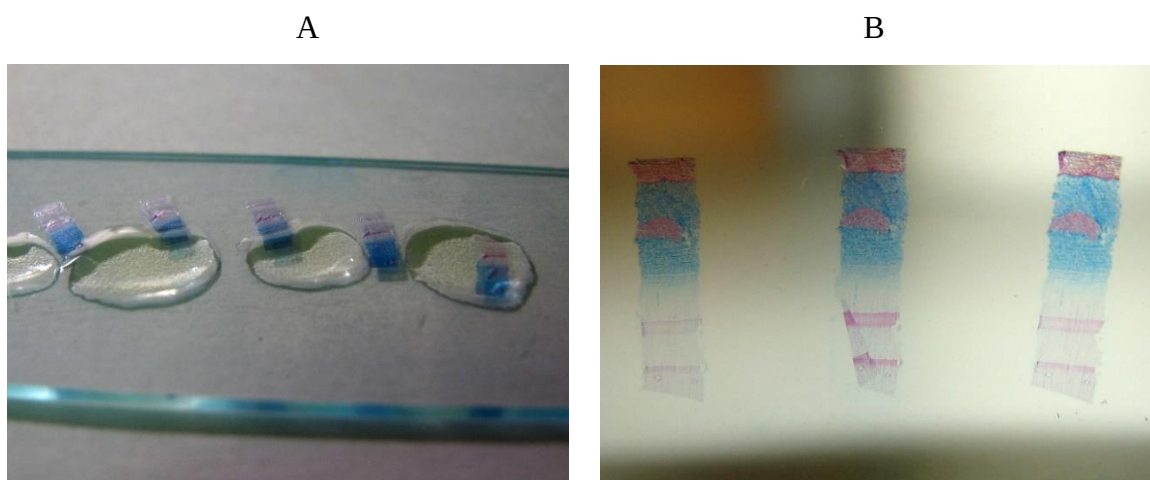
Raztopina	Čas (min)
Bio-clear	10
Bio-clear	10
Etanol 95 %	15
Etanol 95 %	15
Safranin	120
Astra - modra	3-5

Po čiščenju rezin, se je začelo 2 urno barvanje rezin s safraninom (0,5 % v 95 % etanolu). Obarvale so se polifenolne komponente, v našem primeru predvsem lignin. Nato je sledilo izpiranje barvila z 95 % etanolom. Za ponovno barvanje smo uporabili astra modro (0,5 % v 95 % etanolu), ki obarva celulozne komponente celične stene. To barvilo je bilo zelo agresivno, zato je namakanje trajalo le od 3 do 5 min.



Slika 16: A – Steklene posode posameznih raztopin za barvanje preparatov; B – Barvanje preparatov v stekleni košarici.

V zadnji fazi preden smo rezine pokrili s krovnim steklom, smo morali še enkrat izprati s pinceto vsak preparat posebej. Med krovno steklo in objektno steklo smo nanесли od 3 do 4 kapljice Euparala (slika 17).



Slika 17: A – Kapljice Euparala na rezinah lesnega tkiva; B – Lesno tkivo po strjenem Euparalu.

Pri pokrivanju krovnega stekla smo morali odstraniti še mehurčke, ki so bili ujeti med vklopljenim medijem in hkrati pritisniti na zgornje steklo. Na steklo smo pritisnili s prstom. Na vsak preparat smo potem postavili 200 g utež (slika 18) za 24 ur, da se je Euparal strdil.



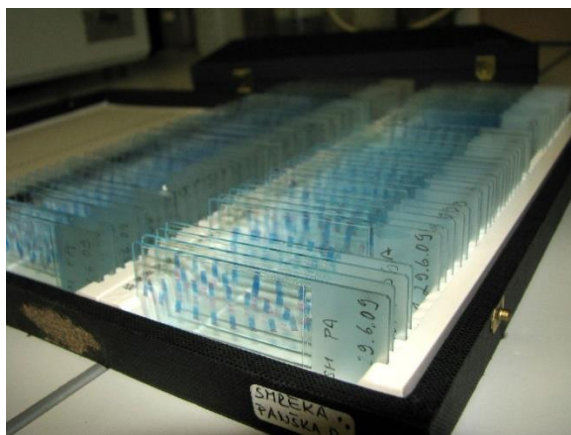
Slika 18: A – Obteženi preparati z 200 g. utežmi.

Med izdelovanjem preparatov smo preverili kvaliteto preparatov pod mikroskopom. Ugotovili smo, da je na marsikaterem preparatu kambijeva cona pretrgana, kljub temu, da so preparati izgledali brez napak. Na koncu smo odkrili napako. Pri polaganju krovnega stekla in odstranjevanju mehurčkov, smo videli, da se pri pritiskanju na zgornje steklo rezina nekoliko raztegne ravno v območju občutljive kambijeve cone. To je bilo komaj opaziti, vendar pod mikroskopom se je to zelo poznalo. Napaka je bila premočan pritisk s prstom na steklo, pri odstranjevanju mehurčkov. Moja končna ugotovitev je bila, da ni toliko pomembna lepota celega preparata ampak, da je pomembno da najobčutljivejši del preparata, kambijeva cona, ostane cela.

3.5 ANALIZA SLIKE

Za analizo slike izdelanih mikroskopskih preparatov (slika 19), smo uporabljali mikroskop Nikon Eclipse E800 (slika 20), digitalno kamero (Nikon – DS Fil), osebni računalnik in računalniški program LUCIA G 4.8. Pri analiziranju smo uporabljali metodo mikroskopiranja v svetlem polju, če je bilo potrebno pa tudi polarizirano svetlobo, ki nam omogoča vidljivost začetka odlaganja sekundarne celične stene. Naj bolj pogosto smo uporabljali objektivne z 2x, 4x, 10x in 20x povečavo. Živo sliko preparata je računalnik s pomočjo objektivov prikazoval na LCD zaslonu. Položaj slike na zaslonu smo lahko obračali zaradi priročne, premične objektne mize na mikroskopu, s katero lahko obračamo preparat

in z zasukom digitalne kamere, ki je vgrajena na vrhu mikroskopa. Za bolj kvalitetno branje slik nam program LUCIA G 4.8 omogoča uravnavanje deleža rdeče, zelene in modre barve, jakost svetlosti in kontrasta. Šteli smo celice in merili razdalje na preparatu, vendar smo morali paziti pri menjavi povečave. Pri vsakem drugem objektivu smo morali izbrati drugo kalibracijo za preračun povečave. Kalibracija nam je omogočala, da so bile merjene enote v skladu s standardnim merskim sistemom (mm, μ m).



Slika 19: Pripravljeni mikroskopski preparati za analizo pod mikroskopom.



Slika 20: Mikroskop Nikon Eclipse E800 za analizo mikroskopskih preparatov.

Rezultat analize slike zgradbe lesa na mikroskopu, smo zapisovali v program Microsoft Excel. Zapisovali smo podatke o številu celic kambijeve cone, številu celic postkambialne rasti, številu celic v fazi nastajanja sekundarne stene, številu zrelih celic in širini nastajajoče ranike v mikrometrih. Vsako od naštetih meritev smo ponovili 3 krat oz. vzdolž 3. radialnih

nizov. Določene faze oziroma meje, ko so se celice spreminjale iz ene vrste v drugo in razne lesne značilnosti, kot so smolni kanali, smo označevali s kratkim komentarjem v posebnem stolpcu. Poleg ksilemskega tkiva smo v program zapisovali tudi podatke o tkivih skorje. Šteli smo celice ranega floema, aksialnega parenhima, kasnega floema in širino floemske branike v mikrometrih. Zraven v poseben stolpec smo dodatno navedli pomembne komentarje. Za opazovanje odlaganja sekundarne celične stene smo si pomagali s polarizirano svetlobo, pomagalo pa je tudi obarvanje preparata. Tkivo, ki je bilo obarvano z modro je nakazovalo prisotnost celuloze in hemiceluloz, rdeče obarvane celične stene pa so prikazovale inkrustriran lignin v steno vlaken.

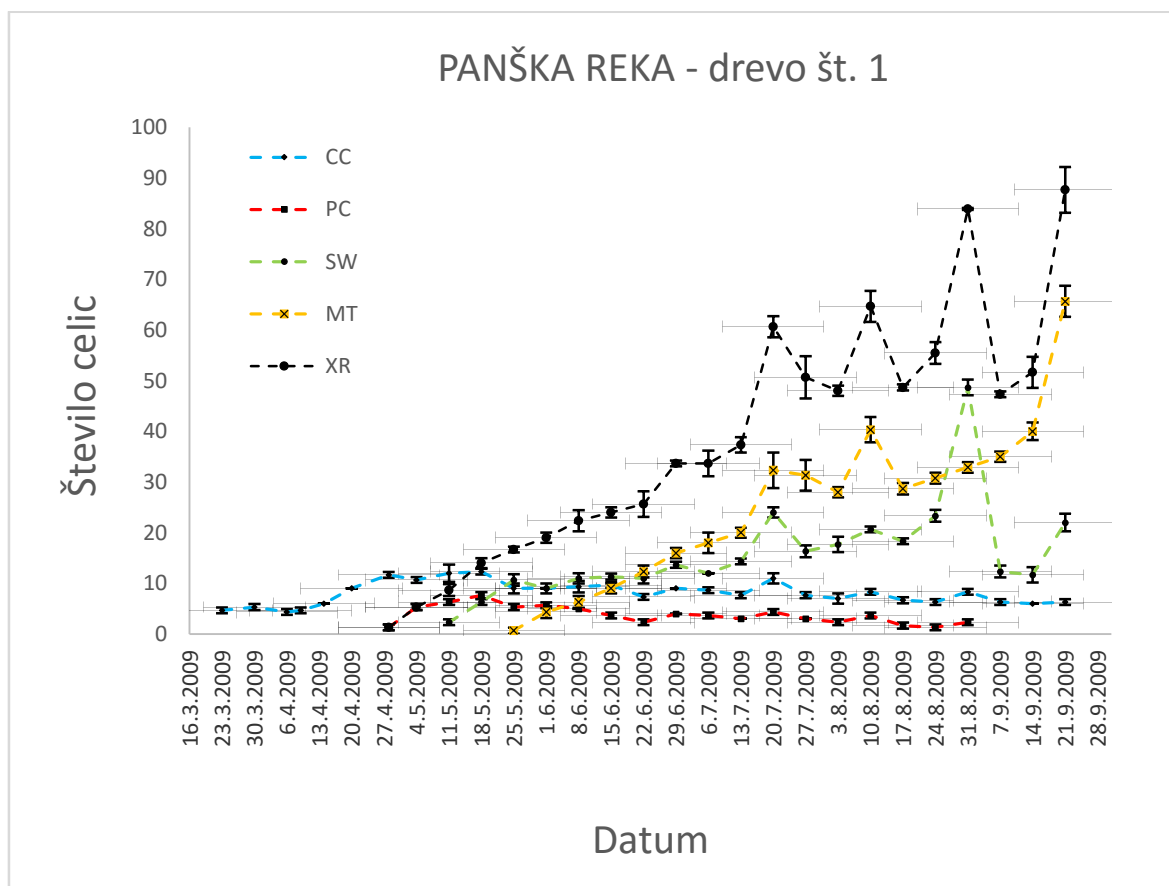
4 REZULTATI

Analize smo opravili na tedensko odvzetih mikro izvrtkih iz šestih dreves na rastišču Panška reka ter iz desetih dreves na Menini planini (preglednica 1, 2). Pri drugem rastišču smo konec junija začeli dodatno vzorčiti še štiri drevesa (št. 7, 8, 9 in 10), saj smo na drevesih št. 1, 2 in 6 zabeležili napad lubadarja. Posledično je bila vitalnost teh dreves zmanjšana, kar je bilo razvidno tudi v spremenjeni dinamiki nastajanja lesne branike 2009, kot npr. zmanjšana kambijeva celična produkcija. Dne 17.7.2009 se je tako vzorčenje na teh drevesih zaključilo. Za prikaz sezonske dinamike nastanka lesa v rastni sezoni 2009 smo tako na rastišču Menina planina uporabili le podatke treh dreves (št. 3, 4 in 5), katere smo vzorčili tekom celotne rastne sezone.

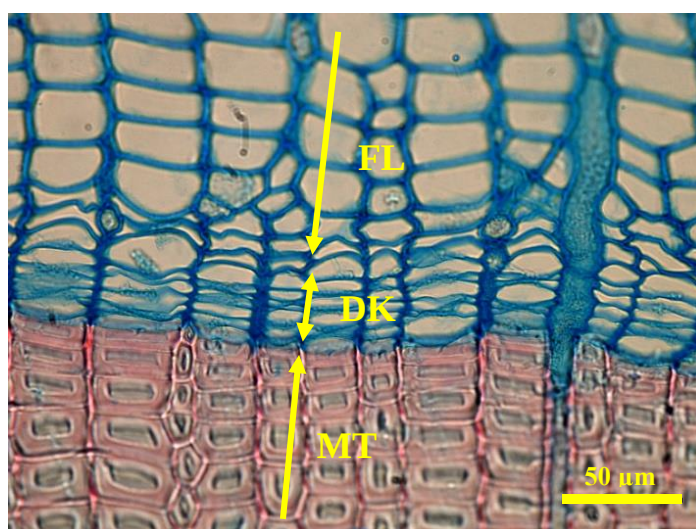
4.1 DINAMIKA NASTANKA LESA V RASTNI SEZONI 2009 PRI SMREKAH NA PANŠKI REKI

4.1.1 Drevo št. 1

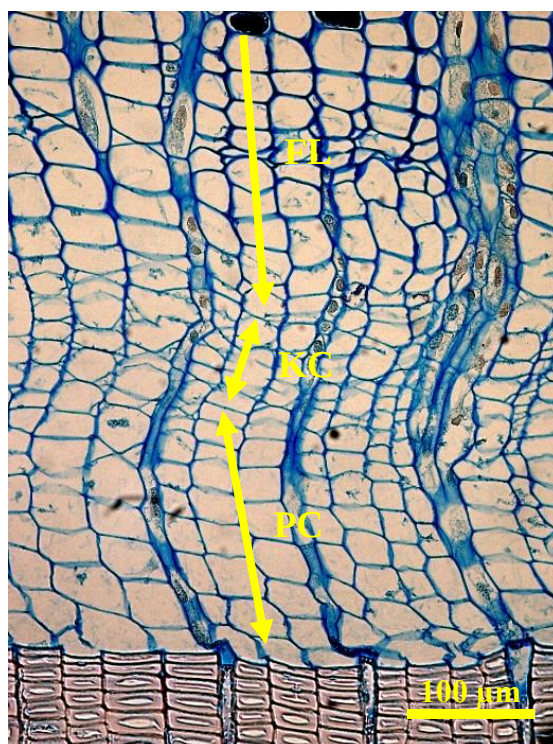
Celične delitve v kambiju so se pri drevesu št. 1 (slika 21) začele med 14.4.2009 in 20.4.2009, ko je število celic v kambiju (CC) naraslo iz 6 na 9 slojev. Teden dni kasneje smo zasledili prve lesne celice v fazi postkambialne rasti (PC) (slika 23). Tri tedne kasneje se je v prvih nastalih traheidah začelo oblikovanje sekundarne celične stene, čemur je sledila lignifikacija (SW) (slika 24). Prve popolnoma oblikovane lesne celice (MT) (slika 25) smo zasledili 25.5.2009, tj. 5 tednov po začetku celičnih delitev. Kambijeva celična produkcija se je zaključila med 31.8.2009 in 7.9.2009. Tedaj ob kambiju nismo več opazili PC celic. Dormanten kambij (slika 22) je štel 5 slojev celic. Kambijeva celična produkcija je tako pri smreki št. 1 v rastni sezoni 2009 trajala 21 tednov in faza PC 20 tednov. Trajanje faze SW in celotnega nastajanja branike (XR) (slika 26), od začetne delitve kambijevih celic do zaključka faze SW, ne moremo določiti, ker se je pred zaključkom obeh faz končalo vzorčenje. Kambij je bil najbolj produktiven 28.4.2009 ter med 11.5.2009 in 18.5.2009, ko je štel 12 slojev celic. Izmerjena širina branike zadnjega vzorca odvzetega v letu 2009 je znašala 2803 μm .



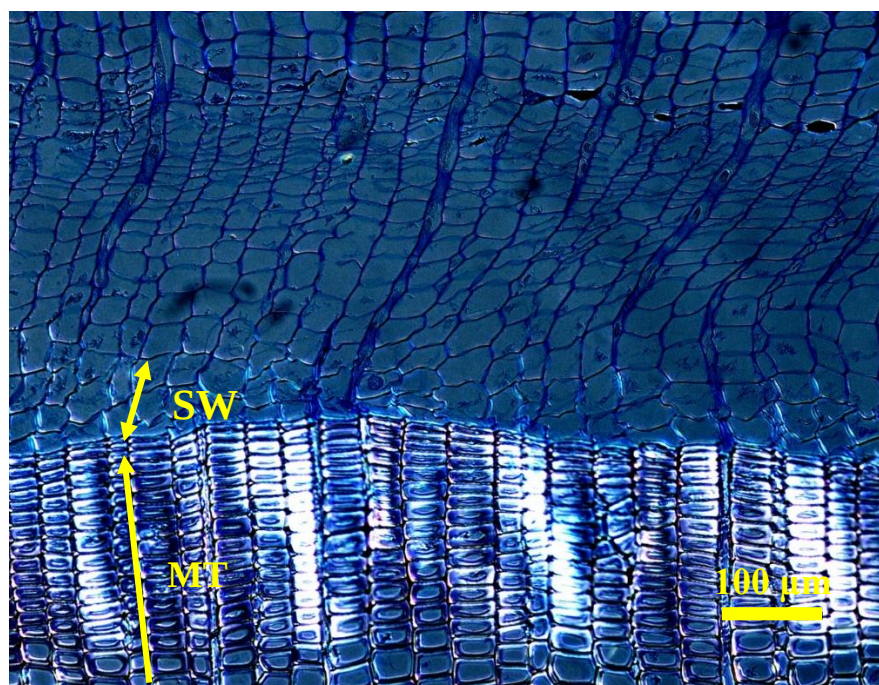
Slika 21: Sezonska dinamika posameznih faz ksilemske branike pri drevesu št. 1 iz rastišča Panška reka v letu 2009. CC – kambijeve celice, PC – celice (traheide) v fazi postkambialne rasti, SW – celice (traheide) v fazi nastajanja sekundarne stene, MT – popolnoma oblikovane lesne celice (traheide), XR – ksilemska branika (PC + SW + MT)



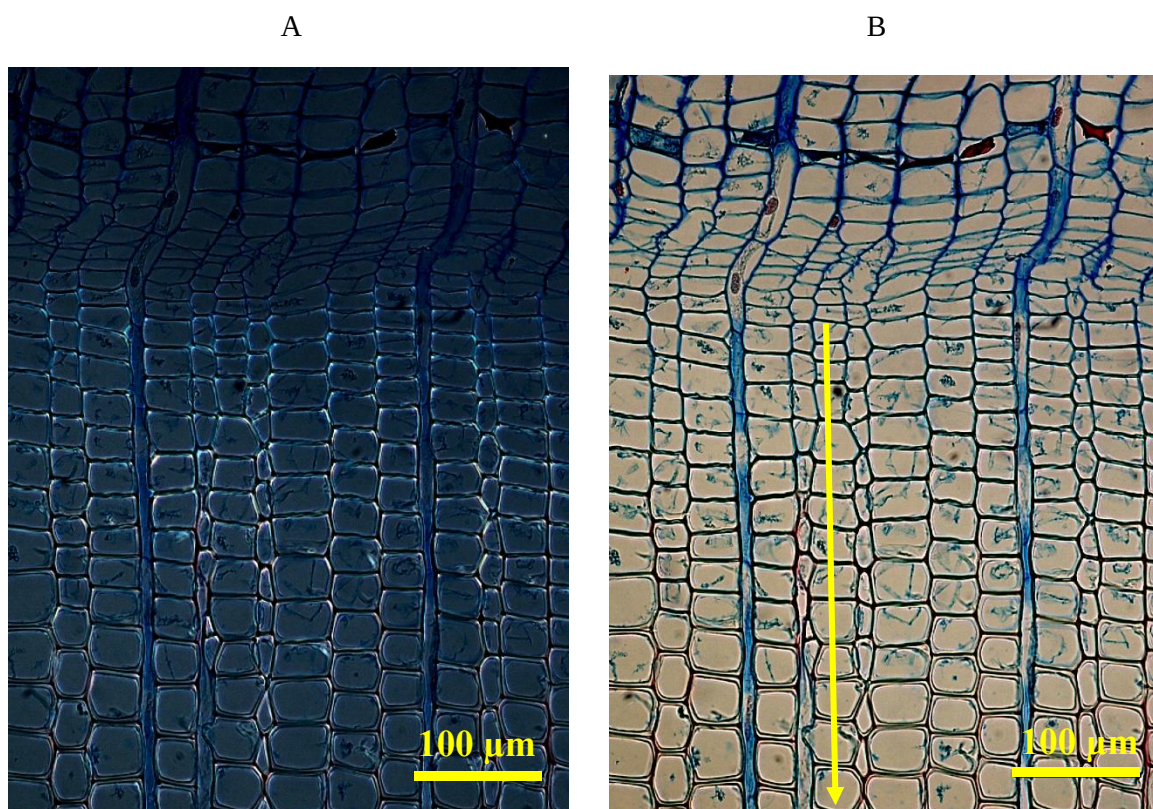
Slika 22: (DK) – Dormanten kambij, (MT) - lesne celice kasnega lesa, (FL) - floem.



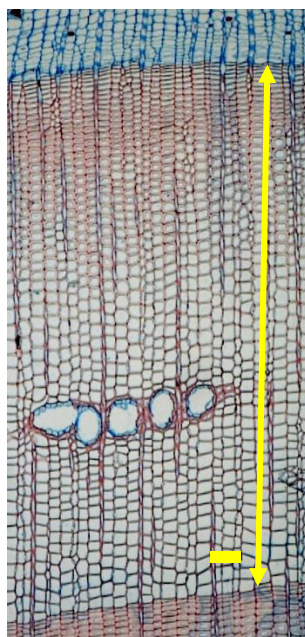
Slika 23: Prikaz (PC) - celic v fazi postakambialne rasti, (KC) – kambijeve cone, (FL) - floema.



Slika 24: Prikaz lesnih traheid (SW) v času začetka debelitve celične stene. Nastajanje sekundarne stene nakazuje svetleči del v celični steni. (MT) – lesne celice kasnega lesa vegetacijske sezone v letu 2008. Preparat je bil opazovan v polarizirani svetlobi.



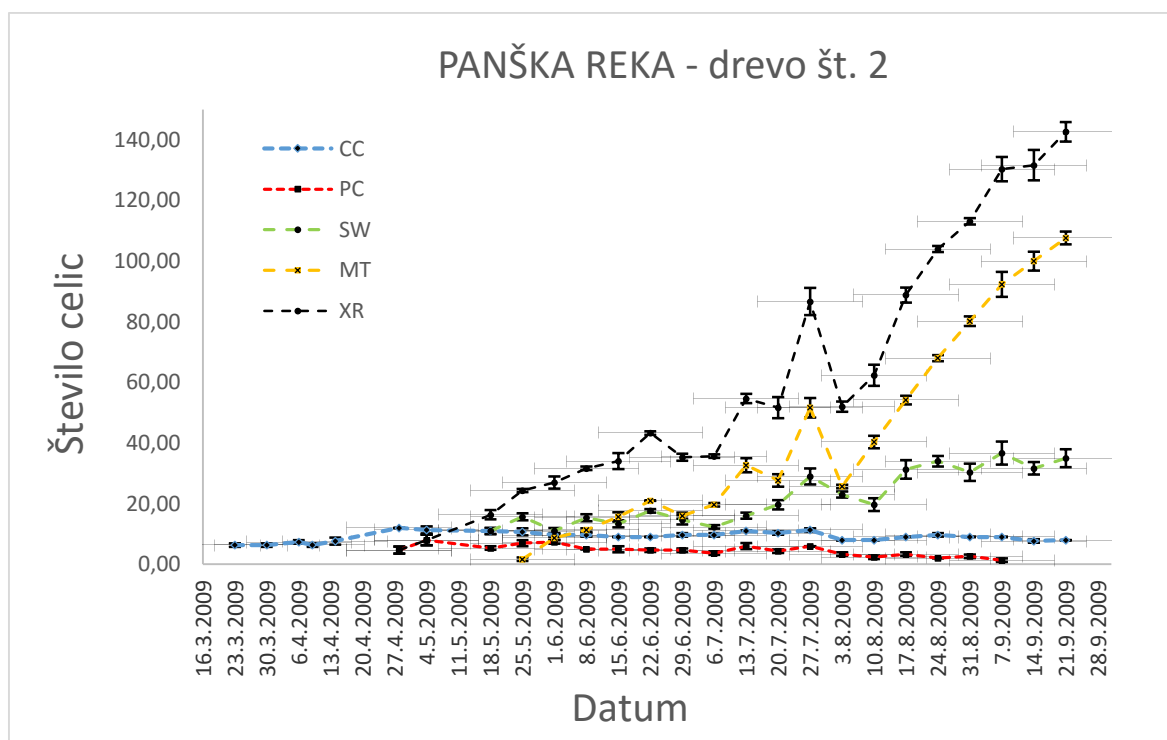
Slika 25: A – Svetleči del slike nakazuje celice v fazi oblikovanja sekundarne celične stene. Pogled v polarizirani svetlobi. B - puščica nakazuje smer prehoda celic iz faze oblikovanja sekundarne celične stene, v fazo zrelih celic.



Slika 26: Črta prikazuje celotno nastalo braniko. Levo od črte je vidnih pet travmatskih smolnih kanalov. Merilna skala - 100μm

4.1.2 Drevo št. 2

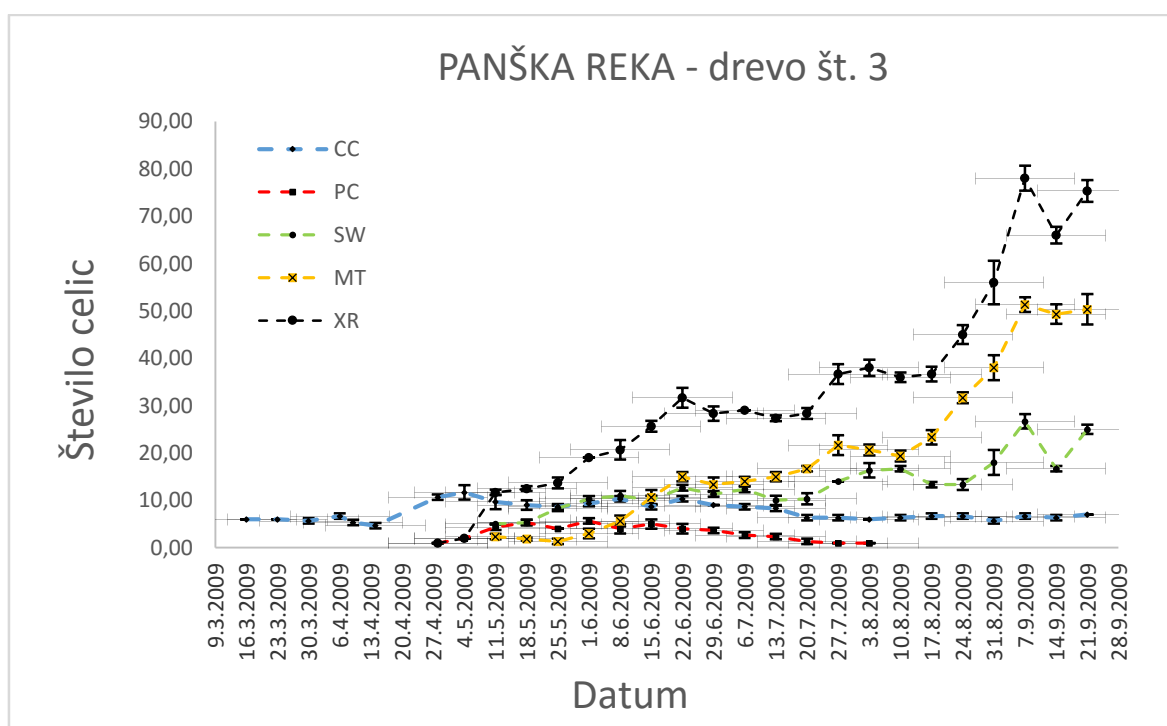
Celične delitve v kambiju so se pri drevesu št. 2 (slika 27) začele med 14.4.2009 in 20.4.2009. Teden dni kasneje smo zasledili prve lesne celice v fazi postkambialne rasti (PC). Štiri tedne kasneje se je v prvih nastalih traheidah začelo oblikovanje sekundarne celične stene, čemur je sledila lignifikacija (SW). Prve popolnoma oblikovane lesne celice (MT) smo zasledili 25.5.2009, tj. 5 tednov po začetku celičnih delitev. Kambijeva celična produkcija se je zaključila med 7.9.2009 in 14.9.2009. Tedaj ob kambiju nismo več opazili PC celic. Dormanten kambij je štel 7 slojev celic. Kambijeva celična produkcija je tako pri smreki št. 2 v rastni sezoni 2009 trajala 22 tednov in faza PC 21 tednov. Trajanje faze SW in celotnega nastajanja branike (XR), od začetne delitve kambijevih celic do zaključka faze SW, ne moremo določiti, ker se je pred zaključkom obeh faz končalo vzorčenje. Kambij je bil najbolj produktiven 28.4.2009, ko je štel 12 slojev celic. Izmerjena širina branike zadnjega vzorca odvzetega v letu 2009 je znašala 5468 μm .



Slika 27: Sezonska dinamika posameznih faz ksilemske branike pri drevesu št. 2 iz rastišča Panjska reka v letu 2009. CC – kambijeve celice, PC – celice (traheide) v fazi postkambialne rasti, SW – celice (traheide) v fazi nastajanja sekundarne stene, MT – popolnoma oblikovane lesne celice (traheide), XR – ksilemska branika (PC + SW + MT)

4.1.3 Drevo št. 3

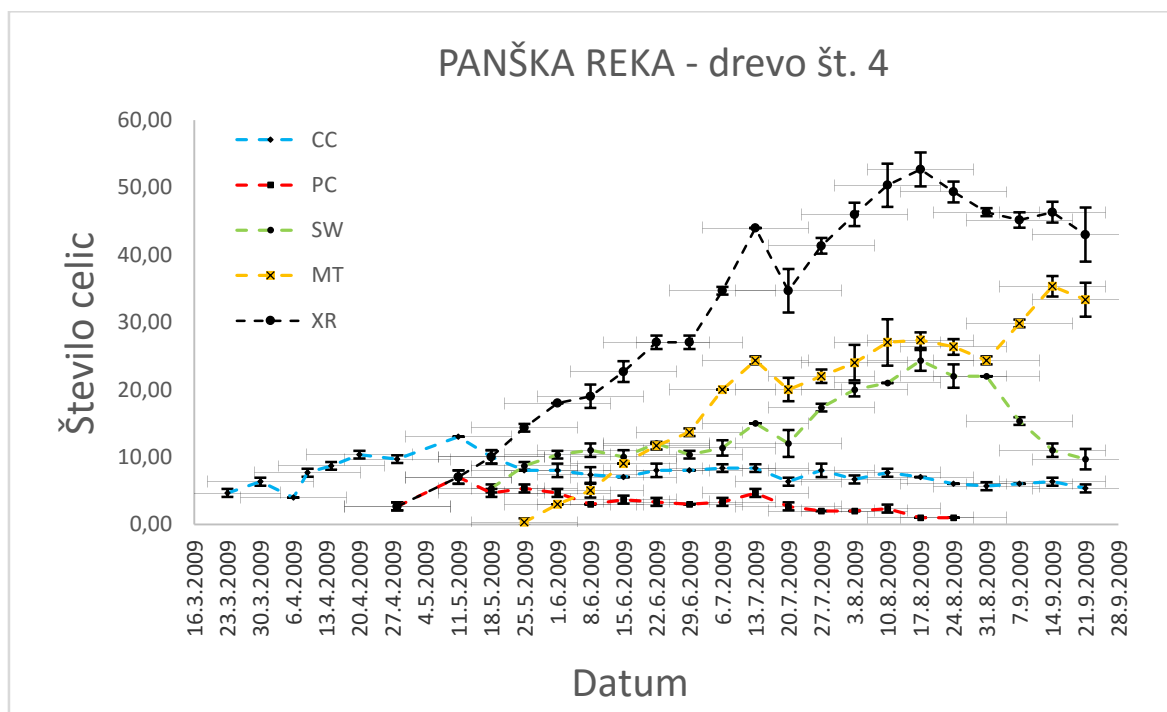
Celične delitve v kambiju so se pri drevesu št. 3 (slika 28) začele med 14.4.2009 in 20.4.2009. Teden dni kasneje smo zasledili prve lesne celice v fazi postkambialne rasti (PC). Tri tedne kasneje se je v prvih nastalih traheidah začelo oblikovanje sekundarne celične stene, čemur je sledila lignifikacija (SW). Prve popolnoma oblikovane lesne celice (MT) smo zasledili 11.5.2009, tj. 3 tedne po začetku celičnih delitev. Kambijeva celična produkcija se je zaključila med 3.8.2009 in 10.8.2009. Tedaj ob kambiju nismo več opazili PC celic. Dormanten kambij je štel 6 slojev celic. Kambijeva celična produkcija je tako pri smreki št. 3 v rastni sezoni 2009 trajala 17 tednov in faza PC 16 tednov. Trajanje faze SW in celotnega nastajanja branike (XR), od začetne delitve kambijevih celic do zaključka faze SW, ne moremo določiti, ker se je pred zaključkom obeh faz končalo vzorčenje. Kambij je bil najbolj produktiven 4.5.2009, ko je štel 12 slojev celic. Izmerjena širina branike zadnjega vzorca odvzetega v letu 2009 je znašala 1396 μm .



Slika 28: Sezonska dinamika posameznih faz ksilemske branike pri drevesu št. 3 iz rastišča Panška reka v letu 2009. CC – kambijeve celice, PC – celice (traheide) v fazi postkambialne rasti, SW – celice (traheide) v fazi nastajanja sekundarne stene, MT – popolnoma oblikovane lesne celice (traheide), XR – ksilemska branika (PC + SW + MT)

4.1.4 Drevo št. 4

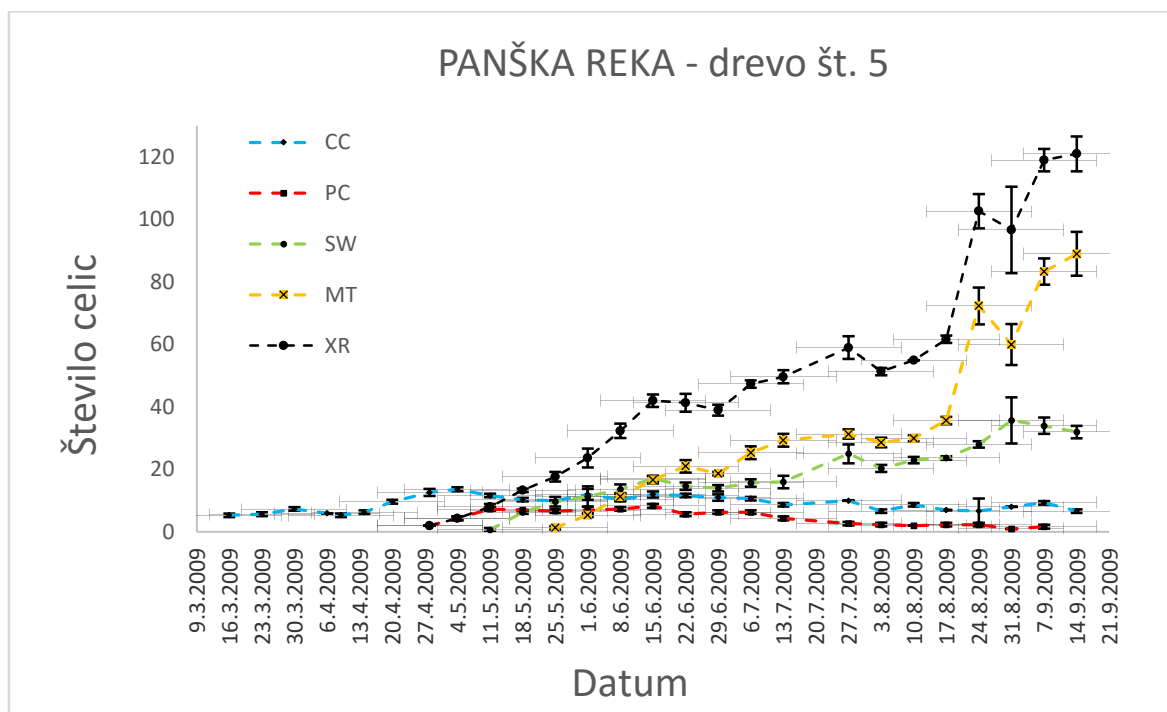
Celične delitve v kambiju so se pri drevesu št. 4 (slika 29) začele med 9.4.2009 in 14.4.2009, ko je število celic v kambiju (CC) naraslo iz 8 na 9 slojev. Tri tedne kasneje smo zasledili prve lesne celice v fazi postkambialne rasti (PC). Šest tednov kasneje se je v prvih nastalih traheidah začelo oblikovanje sekundarne celične stene, čemur je sledila lignifikacija (SW). Prve popolnoma oblikovane lesne celice (MT) smo zasledili 25.5.2009, tj. 7 tednov po začetku celičnih delitev. Kambijeva celična produkcija se je zaključila med 24.8.2009 in 31.8.2009. Tedaj ob kambiju nismo več opazili PC celic. Dormanten kambij je štel 5 slojev celic. Kambijeva celična produkcija je tako pri smreki št. 4 v rastni sezoni 2009 trajala 22 tednov in faza PC 19 tednov. Trajanje faze SW in celotnega nastajanja branike (XR), od začetne delitve kambijevih celic do zaključka faze SW, ne moremo določiti, ker se je pred zaključkom obeh faz končalo vzorčenje. Kambij je bil najbolj produktiven 11.5.2009, ko je štel 13 slojev celic. Izmerjena širina branike zadnjega vzorca odvzetega v letu 2009 je znašala 1169 μm .



Slika 29: Sezonska dinamika posameznih faz ksilemske branike pri drevesu št. 4 iz rastišča Panjska reka v letu 2009. CC – kambijevе celice, PC – celice (traheide) v fazi postkambialne rasti, SW – celice (traheide) v fazi nastajanja sekundarne stene, MT – popolnoma oblikovane lesne celice (traheide), XR – ksilemska branika (PC + SW + MT)

4.1.5 Drevo št. 5

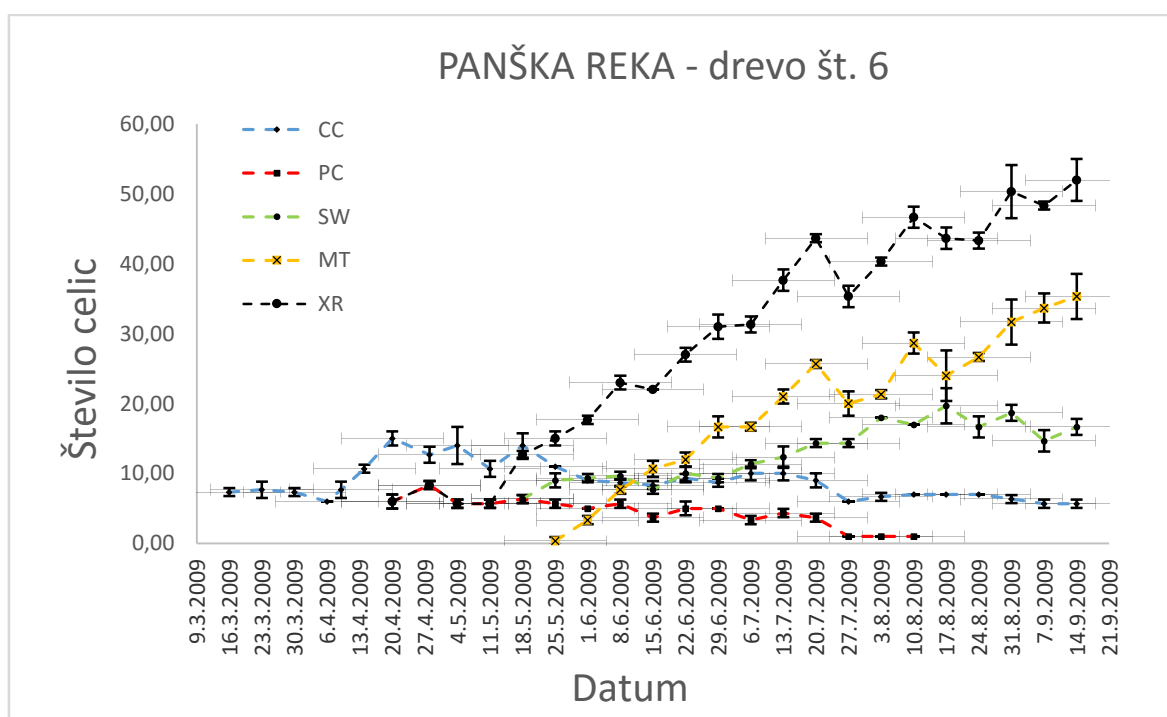
Celične delitve v kambiju so se pri drevesu št. 5 (slika 30) začele med 14.4.2009 in 20.4.2009, ko je število celic v kambiju (CC) naraslo iz 6 na 10 slojev. Teden dni kasneje smo zasledili prve lesne celice v fazi postkambialne rasti (PC). Tri tedne kasneje se je v prvih nastalih traheidah začelo oblikovanje sekundarne celične stene, čemur je sledila lignifikacija (SW). Prve popolnoma oblikovane lesne celice (MT) smo zasledili 25.5.2009, tj. 5 tednov po začetku celičnih delitev. Kambijeva celična produkcija se je zaključila med 7.9.2009 in 14.9.2009. Tedaj ob kambiju nismo več opazili PC celic. Dormanten kambij je štel 6 slojev celic. Kambijeva celična produkcija je tako pri smreki št. 5 v rastni sezoni 2009 trajala 22 tednov in faza PC 21 tednov. Trajanje faze SW in celotnega nastajanja branike (XR), od začetne delitve kambijevih celic do zaključka faze SW, ne moremo določiti, ker se je pred zaključkom obeh faz končalo vzorčenje. Kambij je bil najbolj produktiven 4.5.2009, ko je štel 14 slojev celic. Izmerjena širina branike zadnjega vzorca odvzetega v letu 2009 je znašala 3947 μm .



Slika 30: Sezonska dinamika posameznih faz ksilemske branike pri drevesu št. 5 iz rastišča Panjska reka v letu 2009. CC – kambijeve celice, PC – celice (traheide) v fazi postkambialne rasti, SW – celice (traheide) v fazi nastajanja sekundarne stene, MT – popolnoma oblikovane lesne celice (traheide), XR – ksilemska branika (PC + SW + MT)

4.1.6 Drevo št. 6

Celične delitve v kambiju so se pri drevesu št. 6 (slika 31) začele med 9.4.2009 in 14.4.2009. Dva tedna kasneje smo zasledili prve lesne celice v fazi postkambialne rasti (PC). Šest tednov kasneje se je v prvih nastalih traheidah začelo oblikovanje sekundarne celične stene, čemur je sledila lignifikacija (SW). Prve popolnoma oblikovane lesne celice (MT) smo zasledili 25.5.2009, tj. 7 tednov po začetku celičnih delitev. Kambijeva celična produkcija se je zaključila med 10.8.2009 in 17.8.2009. Tedaj ob kambiju nismo več opazili PC celic. Dormanten kambij je štel 7 slojev celic. Kambijeva celična produkcija je tako pri smreki št. 6 v rastni sezoni 2009 trajala 20 tednov in faza PC 18 tednov. Trajanje faze SW in celotnega nastajanja branike (XR), od začetne delitve kambijevih celic do zaključka faze SW, ne moremo določiti, ker se je pred zaključkom obeh faz končalo vzorčenje. Kambij je bil najbolj produktiven 28.4.2009, ko je štel 15 slojev celic. Izmerjena širina branike zadnjega vzorca odvzetega v letu 2009 je znašala 1284 μm .

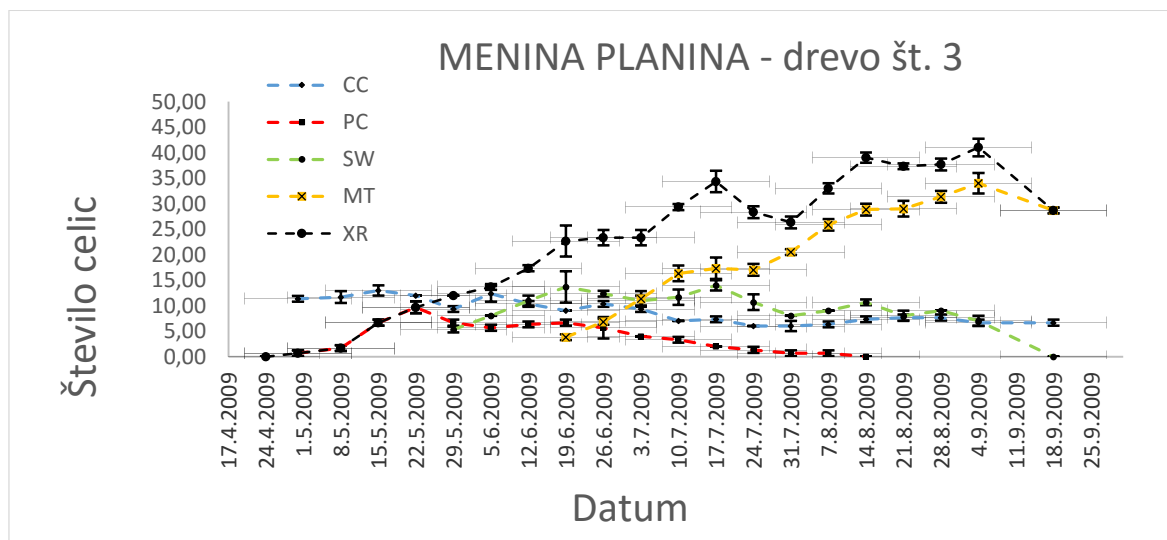


Slika 31: Sezonska dinamika posameznih faz ksilemske branike pri drevesu št. 6 iz rastišča Panška reka v letu 2009. CC – kambijevе celice, PC – celice (traheide) v fazi postkambialne rasti, SW – celice (traheide) v fazi nastajanja sekundarne stene, MT – popolnoma oblikovane lesne celice (traheide), XR – ksilemska branika (PC + SW + MT)

4.2 DINAMIKA NASTANKA LESA V RASTNI SEZONI 2009 PRI SMREKAH NA MENINI PLANINI

4.2.1 Drevo št. 3

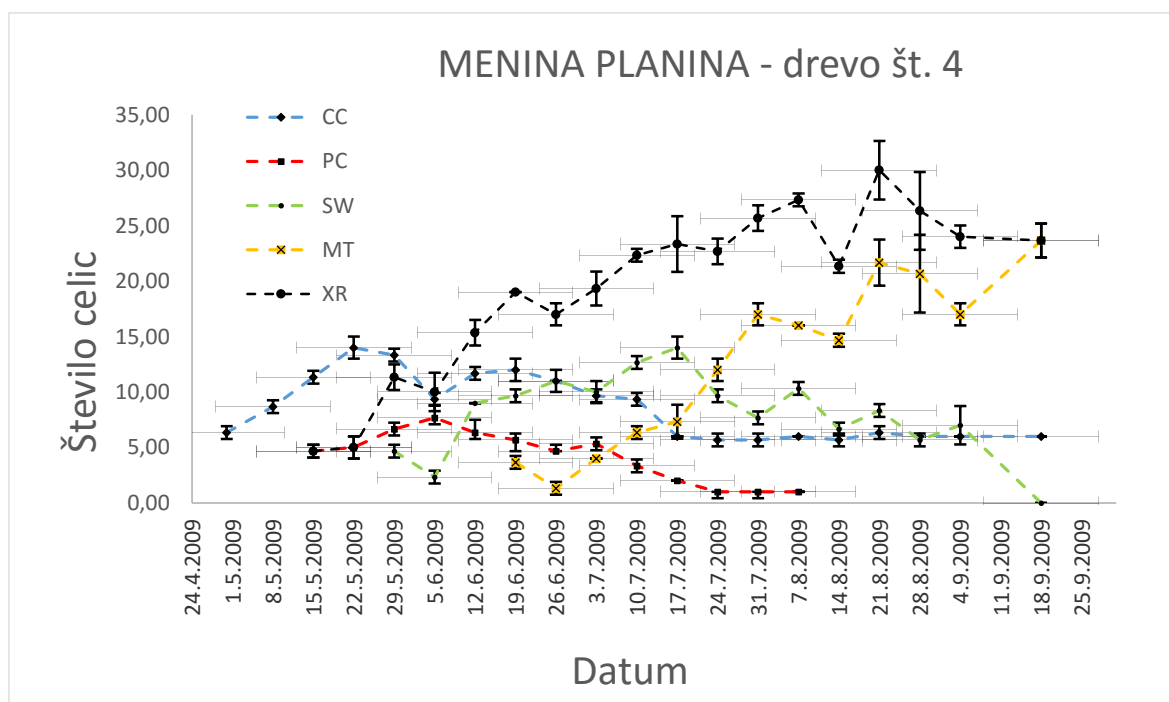
Celične delitve v kambiju so se pri drevesu št. 3 (slika 32) začele med 17.4.2009 in 24.4.2009. Teden dni kasneje smo zasledili prve lesne celice v fazi postkambialne rasti (PC). Pet tednov kasneje se je v prvih nastalih traheidah začelo oblikovanje sekundarne celične stene, čemur je sledila lignifikacija (SW). Prve popolnoma oblikovane lesne celice (MT) smo zasledili 19.6.2009, tj. 8 tednov po začetku celičnih delitev. Kambijeva celična produkcija se je zaključila med 7.8.2009 in 14.8.2009. Tedaj ob kambiju nismo več opazili PC celic. SW se je zaključila 6 tednov po končani kambijevi produkciji. Pri smreki št. 3 v rastni sezoni 2009 je kambijeva produkcija trajala 17 tednov, faza PC 16 tednov ter faza SW 17 tednov. Trajanje celotnega nastajanja branike (XR), od začetne delitve kambijevih celic do zaključka faze SW je bilo 22 tednov. Kambij je bil najbolj produktiven 15.5.2009, ko je štel 13 slojev celic. Izmerjena širina celotne nastale branike v letu 2009 je znašala 1137 μm .



Slika 32: Sezonska dinamika posameznih faz ksilemske branike pri drevesu št. 3 iz rastišča Menina Planina v letu 2009. CC – kambijeve celice, PC – celice (traheide) v fazi postkambialne rasti, SW – celice (traheide) v fazi nastajanja sekundarne stene, MT – popolnoma oblikovane lesne celice (traheide), XR – ksilemska branika (PC + SW + MT)

4.2.2 Drevo št. 4

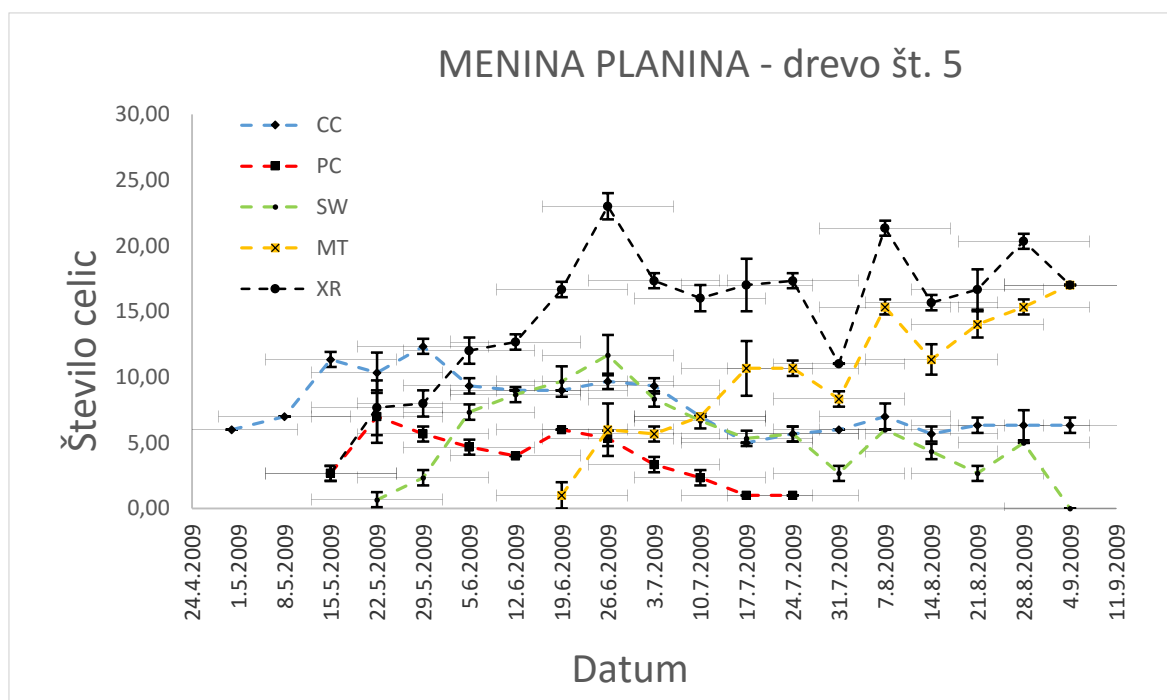
Celične delitve v kambiju so se pri drevesu št. 4 (slika 33) začele med 30.4.2009 in 8.5.2009, ko je število celic v kambiju (CC) naraslo iz 6 na 9 slojev. Teden dni kasneje smo zasledili prve lesne celice v fazi postkambialne rasti (PC). Tri tedne kasneje se je v prvih nastalih traheidah začelo oblikovanje sekundarne celične stene, čemur je sledila lignifikacija (SW). Prve popolnoma oblikovane lesne celice (MT) smo zasledili 19.6.2009, tj. 6 tednov po začetku celičnih delitev. Kambijeva celična produkcija se je zaključila med 7.8.2009 in 14.8.2009. Tedaj ob kambiju nismo več opazili PC celic. Dormanten kambij je štel 6 slojev celic. SW se je zaključila 6 tednov po končani kambijevi produkciji. Pri smreki št. 4 v rastni sezoni 2009 je kambijeva produkcija trajala 15 tednov, faza PC 14 tednov ter faza SW 17 tednov. Trajanje celotnega nastajanja branike (XR), od začetne delitve kambijevih celic do zaključka faze SW je bilo 20 tednov. Kambij je bil najbolj produktiven 22.5.2009, ko je štel 14 slojev celic. Izmerjena širina celotne nastale branike v letu 2009 je znašala 833 μm .



Slika 33: Sezonska dinamika posameznih faz ksilemske branike pri drevesu št. 4 iz rastišča Menina planina v letu 2009. CC – kambijeve celice, PC – celice (traheide) v fazi postkambialne rasti, SW – celice (traheide) v fazi nastajanja sekundarne stene, MT – popolnoma oblikovane lesne celice (traheide), XR – ksilemska branika (PC + SW + MT)

4.2.3 Drevo št. 5

Celične delitve v kambiju so se pri drevesu št. 5 (slika 34) začele med 30.4.2009 in 8.5.2009, ko je število celic v kambiju (CC) naraslo iz 6 na 7 slojev. Teden dni kasneje smo zasledili prve lesne celice v fazi postkambialne rasti (PC). Dva tedna kasneje se je v prvih nastalih traheidah začelo oblikovanje sekundarne celične stene, čemur je sledila lignifikacija (SW). Prve popolnoma oblikovane lesne celice (MT) smo zasledili 19.6.2009, tj. 6 tednov po začetku celičnih delitev. Kambijeva celična produkcija se je zaključila med 24.7.2009 in 31.7.2009. Tedaj ob kambiju nismo več opazili PC celic. Dormanten kambij je štel 6 slojev celic. SW se je zaključila 6 tednov po končani kambijevi produkciji. Pri smreki št. 5 v rastni sezoni 2009 je kambijeva produkcija trajala 13 tednov, faza PC 12 tednov ter faza SW 16 tednov. Trajanje celotnega nastajanja branike (XR), od začetne delitve kambijevih celic do zaključka faze SW je bilo 18 tednov. Kambij je bil najbolj produktiven 29.5.2009, ko je štel 12 slojev celic. Izmerjena širina celotne nastale branike v letu 2009 je znašala 678 μm .



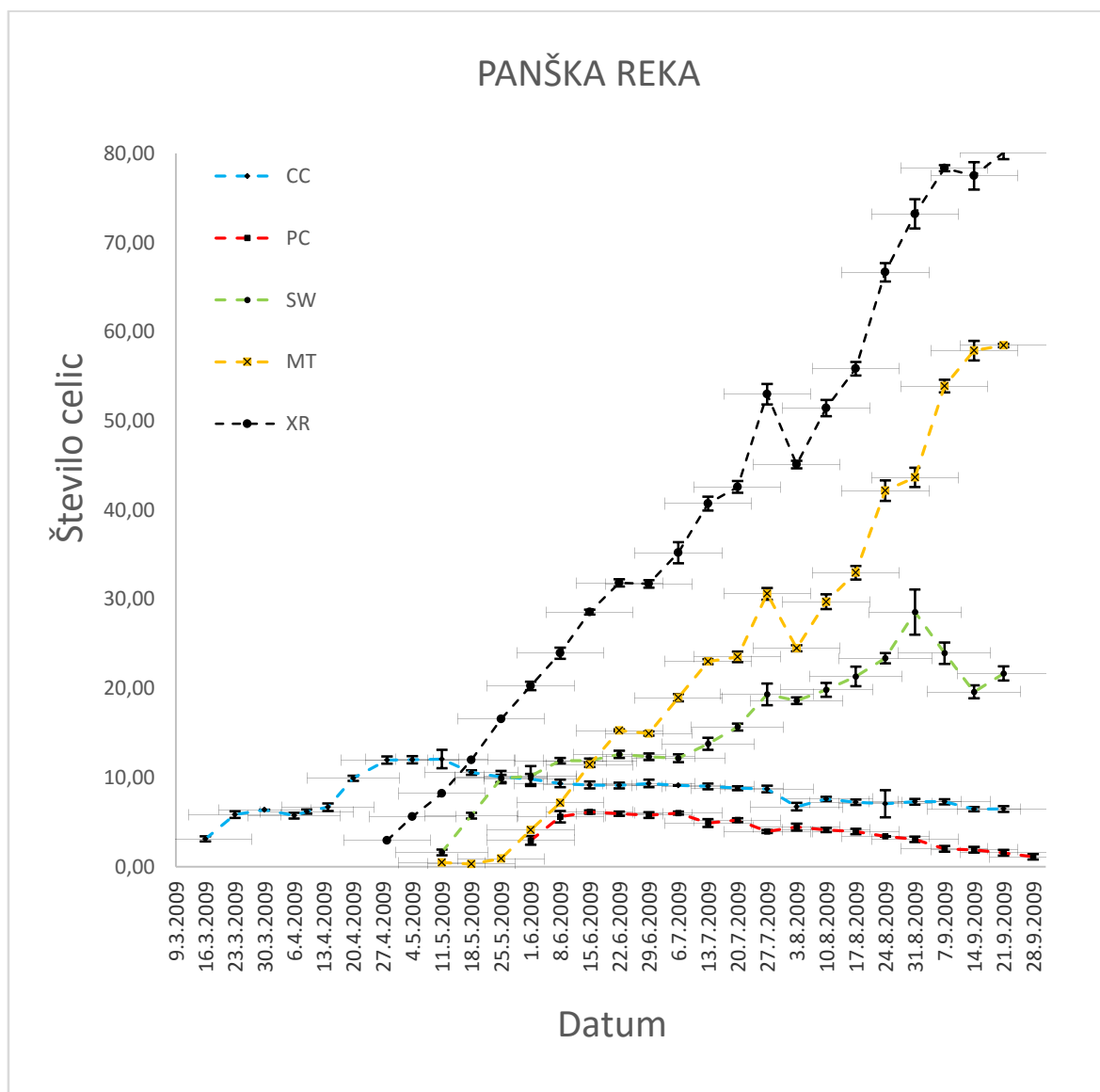
Slika 34: Sezonska dinamika posameznih faz ksilemske branike pri drevesu št. 5 iz rastišča Menina planina v letu 2009. CC – kambijeve celice, PC – celice (traheide) v fazi postkambialne rasti, SW – celice (traheide) v fazi nastajanja sekundarne stene, MT – popolnoma oblikovane lesne celice (traheide), XR – ksilemska branika (PC + SW + MT)

4.3 PRIMERJAVA SEZONSKE DINAMIKE NASTANKA LESA PRI SMREKAH NA PANŠKI REKI IN MENINI PLANINI V RASTNI SEZONI 2009

4.3.1 Panška reka

Za posamezno rastišče smo izdelali graf, ki prikazuje skupno sezonsko dinamiko posameznih faz ksilogeneze vseh proučevanih dreves v rastni sezoni 2009. Iz vrednosti smo za vsako posamezno drevo tako izračunali povprečne vrednosti za rastišči. Celične delitve v kambiju so se na Panški reki (slika 35) začele med 9.4.2009 in 20.4.2009. Najzgodnejši pričetek celičnih delitev smo zabeležili pri drevesih št. 4 in 6, najkasnejši pa pri drevesih št. 1, 2, 3 in 5. Najmanj celic v dormantnem kambiju sta imeli drevesi št. 1 in 4 in sicer po 5 slojev, največ pa drevesi št. 2 in 6, s sedmimi sloji celic. Največja razlika v povečanem številu CC celic v začetku delitve je bila iz 6 na 10 slojev. Zasledili smo jo pri drevesu št. 5. Prve lesne celice v fazi PC so se pri drevesih št. 1, 2, 3 in 5 pojavile v tednu med 20.4.2009 in 28.4.2009. Oblikovanje SW se je začelo v tednu med 4.5.2009 in 11.5.2009, in sicer najprej pri drevesih št. 1, 3, in 5. Prve MT smo zasledili pri drevesu št. 3 v tednu med 4.5.2009 in 11.5.2009. Najkasneje so se pojavile pri drevesih št. 4 in 6 in sicer med 18.5.2009 in 25.5.2009. Kambijeva celična produkcija se je zaključila od 3.8.2009 do 14.9.2009. Tedaj ob kambiju nismo več opazili PC celic in je število CC celic upadlo na 6 do 8 slojev, pri čemer je imelo drevo št. 1, 3 in 4 najožji kambij. Najbolj zgođen zaključek kambijeve celične produkcije smo opazili pri drevesu št. 3, najkasnejši pa pri drevesih št. 2 in 5. Kambijeva celična produkcija je v povprečju trajala od 17 do 22 tednov, in sicer najmanj pri drevesu št. 3 in najdlje pri drevesih št. 2, 4 in 5. Faza PC je v povprečju trajala od 16 do 21 tednov. Najkrajše obdobje je bilo pri drevesu št. 3, najdaljše pa pri drevesih št. 2 in 5. Celotno obdobje nastajanje branike, od začetka delitve v kambiju in diferenciacije, tj. od prvih PC celic do zaključka diferenciacije SW celic, ko je bila lesna branika (XR) 2009 popolnoma oblikovana ni bilo dokončano, saj se je že pred tem končalo vzorčenje. Lahko pa rečemo, da se je nastajanje nedokončane lesne branike na Panški reki pri zadnjem časovnem vzorcu zaključilo med 14. in 28. septembrom. Največjo produktivnost kambija smo zasledili 28.4.2009 pri drevesu št. 6, s 15 sloji celic, najmanjša produktivnost se je kazala v obdobju med 28.4.2009 in 18.5.2009 pri drevesih št. 1, 2 in 3, z dvanajstimi sloji celic. Kljub

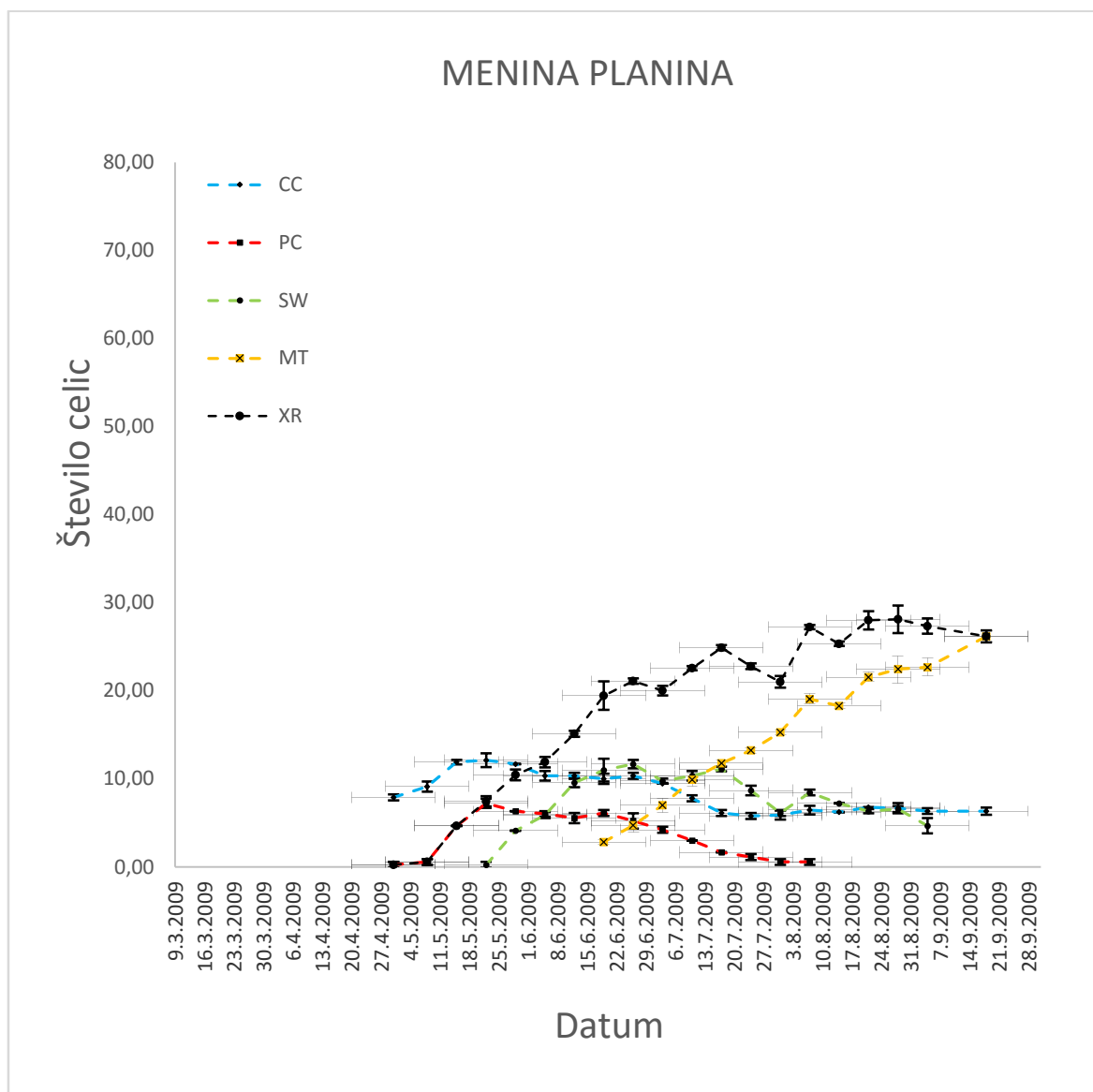
nedokončanem vzorčenju, se je po podatkih zadnjega vzorca, na drevesih Panške reke širina branike gibala med 1169 μm in 5468 μm .



Slika 35: Sezonska dinamika posameznih faz ksilemske branike pri šestih drevesih iz rastišča Panška reka v letu 2009. CC – kambijeve celice, PC – celice (traheide) v fazi postkambialne rasti, SW – celice (traheide) v fazi nastajanja sekundarne stene, MT – popolnoma oblikovane lesne celice (traheide), XR – ksilemska branika (PC + SW + MT)

4.3.2 Menina planina

Za posamezno rastišče smo izdelali graf, ki prikazuje skupno sezonsko dinamiko posameznih faz ksilogeneze vseh proučevanih dreves v rastni sezoni 2009. Iz vrednosti smo za vsako posamezno drevo tako izračunali povprečne vrednosti za rastišči. Celične delitve v kambiju so se na Menini Planini (slika 36) začele med 17.4.2009 in 8.5.2009. Najzgodnejši pričetek celičnih delitev smo zabeležili pri drevesu št. 3, najkasnejši pa na ostalih dveh drevesih. V dormantnem kambiju smo pri drevesih št. 4 in 5 zasledili po 6 slojev celic. Pri drevesu št. 3 nismo imeli podatka. SW se je pri vseh drevesih zaključila 6 tednov po končani kambijeve produkciji. Največja razlika v povečanem številu CC celic v začetku delitve je bila iz 6 na 9 slojev. Zasledili smo jo pri drevesu št. 4. Prve lesne celice v fazi PC so se pojavile v tednu med 30.4.2009 in 15.5.2009. To se je zgodilo najprej pri drevesu št. 3, najbolj pozno pa pri ostalih dveh drevesih. Oblikovanje SW se je začelo v tednu med 15.5.2009 in 29.5.2009 in sicer najprej pri drevesu št. 5, najkasneje pa pri ostalih dveh drevesih. Prve MT smo zasledili pri vseh drevesih v tednu med 12.6.2009 in 19.6.2009. Kambijeva celična produkcija se je zaključila od 24.7.2009 do 14.8.2009. Tedaj ob kambiju nismo več opazili PC celic in je število CC celic upadlo na 6 do 7 slojev, pri čemer sta imeli drevesi št. 4 in 5 najožji kambij. Najbolj zgođen zaključek kambijeve celične produkcije smo opazili pri drevesu št. 5, najkasnejši pa pri ostalih dveh drevesih. Kambijeva celična produkcija je v povprečju trajala od 13 do 17 tednov, in sicer najmanj pri drevesu št. 5 in najdlje pri drevesu št. 3. Faza PC je v povprečju trajala od 12 do 16 tednov. Najkrajše obdobje je bilo pri drevesu št. 5, najdaljše pa pri drevesu št. 3. Povprečno trajanje SW faze je bilo od 16 do 17 tednov. Največ pri drevesih št. 3 in 4, najmanj pa pri drevesu št. 5. Celotno obdobje branike, od začetka delitve v kambiju in diferenciacije, tj. od prvih PC celic do zaključka SW celic, ko je bila lesna branika (XR) 2009 popolnoma oblikovana je trajalo od 18 do 22 tednov. Največ pri drevesu št. 3, najmanj pri drevesu št. 5. Največjo produktivnost kambija smo zasledili 22.5.2009 pri drevesu št. 4, s 14 sloji celic, najmanjšo pa 29.5.2009 pri drevesu št. 5, z 12 sloji celic. Izmerjena širina, končno nastale branike se je na treh drevesih z Menine planine v letu 2009 gibala med 678 in 1137 μm .



Slika 36: Sezonska dinamika posameznih faz ksilemske branike pri treh drevesih iz rastišča Menina planina v letu 2009. CC – kambijeve celice, PC – celice (traheide) v fazi postkambialne rasti, SW – celice (traheide) v fazi nastajanja sekundarne stene, MT – popolnoma oblikovane lesne celice (traheide), XR – ksilemska branika (PC + SW + MT)

5 RAZPRAVA

Ugotovili smo, da se je časovna dinamika nastajanja lesne branike 2009 pri smrekah na Panški reki in Menini planini razlikovala.

Začetek delitev kambijevih celic se je pri smrekah na Panški reki začel med 9. in 20. aprilom ter se zaključil med 3. avgustom in 14. septembrom. Začetek delitev na Menini planini se je začel povprečno 2 tedna kasneje (med 17. aprilom in 8. majem) in se zaključil povprečno 3 tedne prej, in sicer med 24. julijem in 14. avgustom. Razlog za kasnejši začetek celičnih delitev na višjem rastišču Menina planina je najverjetneje povezan z nižjimi temperaturami zraka in tal, ter s trajanjem snežne odeje, ki se lahko zavleče do konca aprila ali začetka maja (Kirryanov in sod., 2003).

Eden izmed glavnih razlogov za te razlike je različna nadmorska višina in posledično temperatura zraka, kar je razvidno iz povprečnih letnih temperatur ter letne količine padavin klimatoloških postaj za leto 2009, ki so najbližje obema rastiščema, in sicer Krvavec za Menino planino in Grosuplje za Panško reko. Na Krvavcu z 1740 m n.m.v. je bila povprečna letna temperatura zraka 3,8°C, povprečna maksimalna temperatura zraka 7,8°C, ter povprečna minimalna temperatura zraka 1,2°C. V kraju Grosuplje, blizu Panške reke, z 350 m n.m.v. je bila povprečna letna temperatura zraka 10,5°C, povprečna maksimalna temperatura zraka 16,3°C, ter povprečna minimalna temperatura zraka 5,8°C. Letna količina padavin na prvem kraju je bila 1549 mm, na drugem pa 1331 mm (Agencija Republike Slovenije za Okolje). Visoka letna količina padavin preko 1000 mm kaže, da padavine v rastni sezoni 2009 niso bile omejujoč dejavnik za rast dreves.

Rossi in sodelavci (2008) so ugotovili, da les pri iglavcih s hladnejših področij severne poloble začne nastajati, ko pomladne minimalne, srednje in maksimalne temperature zraka presežejo 4–5°C, 8–9°C in 13–14°C. Prislan in sodelavci (2010) so največjo intenzivnost celičnih delitev pri bukvi na obeh rastiščih zabeležili nekaj dni pred poletnim solsticijem, ki nastopi 21. junija.

Za primerjavo našim rezultatom, so zanimivi tudi podatki o nastajanju lesa pri bukvi na istih rastiščih. Nastajanje lesne branike je pri bukvah v letu 2008 na Panški reki trajalo 11 do 19 tednov, na Menini planini pa 6 do 7 tednov (Prislan in sod., 2010). Pri primerjavi teh podatkov z našimi analizami smrek ugotovimo, da je povprečni čas nastajanja branike na obeh rastiščih, pri bukvah krajši kot pri smrekah. Čas nastajanja lesne branike pri smrekah na Panški reki je v povprečju daljši za 8 tednov, čas pri Menini Planini pa za 12 tednov kot pri bukvah. Te razlike bi lahko pojasnili z razlikami med drevesnima vrstama (smreka kot iglavec ter bukev kot difuzno porozni listavec), pa tudi z različnimi vremenskimi razmerami v rastni sezoni 2008, ko so bile opravljene analize na bukvi (Prislan in sod., 2010) ter v rastni sezoni 2009, ko smo proučili sezonsko dinamiko nastanka lesa pri smreki. Kljub temu pa je bil čas nastajanja lesne branike pri bukvah na Panški reki v letu 2008, kot tudi pri smrekah na tem rastišču v letu 2009 daljši kot pri drevesih na Menini planini, kar bi lahko nakazovalo plastičnost debelinske rasti obeh drevesnih vrst, kar pomeni, da se lahko prilagodita na lokalne okoljske razmere.

Ne glede na različni drevesni vrsti (bukve in smreka) pa je vzorec zaporednih faz nastajanja lesa na obeh rastiščih podoben. Pri obeh vrstah pride zaradi različnih nadmorskih višin do časovnega zamika nastajanja lesa na višjem rastišču, ki se pri drevesnih vrstah nekoliko razlikuje. Na časovni zamik imajo velik vpliv klimatske razmere (Prislan in sod., 2013). Pri obeh lesnih vrstah ima temperatura ozračja različen vpliv glede na višinsko lego rastišča. Višje temperature in posledično sušna obdobja imajo negativen vpliv na debelinsko rast bukve na rastišče Panške reke, zlasti v poletnih mesecih (Čufar in sod., 2008). Na Menini planini imajo višje temperature pozitiven vpliv na rast dreves in so praviloma nizke temperature v pomladnih mesecih omejujoče za rast dreves (Kirdyanov in sod., 2003). Zato sklepam, da imajo večji delež spremembe temperatur zaradi različnih višinskih leg (Prislan in sod., 2010).

6 SKLEPI

Časovna dinamika nastajanja lesne branike se je pri smrekah na Panški reki in Menini planini v rastni sezoni 2008 razlikovala. Začetek kambijeve celične produkcije se je pri smrekah na Panški reki začel med 9. in 20. aprilom ter se zaključil med 3. avgustom in 14. septembrom. Začetek delitev pri Menini planini se je začel povprečno 2 tedna kasneje (med 17. aprilom in 8. majem) in se zaključil povprečno 3 tedne prej in sicer med 24. julijem in 14. avgustom.

Začetek faze postkambialne rasti se je na Panški reki začel med 20. in 28. aprilom, ter se je zaključil med 3. avgustom in 14. septembrom. Začetek faze postkambialne rasti se je na Menini planini začel povprečno 2 tedna kasneje (med 30. aprilom in 15. majem) in se zaključil povprečno 3 tedne prej in sicer med 24. julijem in 14. avgustom.

Sinteza sekundarne celične stene in lignifikacija se je na Panški reki začela med 4. in 11. majem, in se zaključil med 14. in 28. septembrom. Faza debelitve celične stene se je na Menini planini začela povprečno 3 tedne kasneje in sicer med 15. majem in 29. septembrom.

Nastajanje lesne branike je bilo na Menini planini zaključeno med 28. avgustom in 4. septembrom. Zaključka nastajanja lesne branike in njene širine pri Panški reki ne moremo določiti, ker se je vzorčenje prenehalo pred zaključkom nastajanja branike. Na osnovi podatkov sklepamo, da se je oblikovanje lesne branike 2009 pri smrekah na Panški reki zaključilo do konca septembra oz. v začetku oktobra.

Povprečna širina lesne branike 2009 pri smrekah na Panške reke znaša 87 slojev celic in je v povprečju trikrat širša kot pri smrekah na Menini planini (23 slojev celic).

7 POVZETEK

Smreka (*Picea abies* (L.) Karst.) je poleg bukve (*Fagus sylvatica* L.) najpomembnejša drevesna vrsta v Sloveniji. Proces nastajanja lesa pri smreki je bil do pred kratkim v Sloveniji še premalo raziskan, v zadnjih letih pa so ga začeli intenzivno proučevati (Gričar, 2006, 2007; Gričar in Čufar, 2008; Gričar in sod., 2014, 2015). Raziskave so pokazale, da je nastajanje lesa treba spremljati v različnih ekosistemih in preko daljšega časovnega obdobja. V dolgotrajne raziskave so se vključili tudi študenti (Gnidovec, 2013). Cilji diplomske naloge so bili ugotoviti čas začetka kambijeve produkcije pri odraslih smrekah na rastiščih Panške reke pri Ljubljani (pribl. 400 m n.m.v.) in na Menine planine (pribl. 1200 m n.m.v.) v rastni sezoni 2009, spremljati diferenciacijo lesnih celic v času po reaktivaciji kambija ter nastanek lesa ter primerjati procese na dveh rastiščih.

Pri raziskavah smo uporabili metodo odvzema mikro izvrtkov (t. i. mikro vzorčenje). Vzorce so v tedenskih intervalih odzemale sodelavci oddelka za lesarstvo, predvsem dr. Peter Prislan za potrebe svoje doktorske disertacije, kjer so potekali podobni eksperimenti na bukvi (Prislan, 2012). Odvzem vzorcev (premera 2 mm in dolžine 10 mm) je potekal na prsni višini živih dreves na šestih smrekah iz Panške reke med 16. marcem in 28. septembrom 2009, ter desetih smrekah iz Menine planine med 24. aprilom in 25. septembrom 2009. Ker je sedem dreves na Menini planini napadel lubadar, smo kasneje analizirali vzorce samo na treh smrekah. Vzorce so sodelavci na kraju odvzemu shranili v fiksacijski tekočini FFA (raztopina etanola, očetne kisline in formalina), po 7 dneh dehidrirali v raztopinah etanola (70 %, 90 % in 95%) ter bio-clearu in na koncu vklopili v parafin. Histološke rezine prečnih prereзов (debeline 10 µm) smo za trajne anatomske preparate izdelali na rotacijske mikrotomu Leica RM 2245. Rezine smo barvali z barviloma safranin in astra modro, ter jih potem trajno vklopili v Euparal. Končno izdelane preparate smo s pomočjo mentorice in somentorice analizirali in opazovali pod svetlobnim mikroskopom Nikon Eclipse E800. Z računalnikom in programom LUCIA G 4.8. ter digitalno kamero (Nikon – DS Fil) priključeno na mikroskop smo v treh radialnih nizih šteli število celic v posameznih fazah nastajanja lesne branike. Merili smo tudi širino lesnih branik, šteli ter merili tkivo floema, čeprav omenjeno ni bil cilj moje diplomske naloge.

Pridobljene podatke smo zapisovali v Excel, ter jih kasneje grafično in statistično obdelali za rezultate.

Iz statistike podatkov smo v rezultatih določili začetke in konce ter trajanje posameznih faz pri nastajanju lesne branike na obeh rastiščih. Ugotovili smo, da se je produkcija kambijevih celic na Panški reki začela med 9. in 20. aprilom, na Menini planini pa povprečno 2 tedna kasneje. Zaključek produkcije celic, se je na drugem rastišču zaključil povprečno 3 tedne prej, med 24. julijem in 14. avgustom, kot na prvem. Začetek faze postkambialne rasti se je na Panški reki začel med 20. in 28. aprilom, ter se je zaključil med 3. avgustom in 14. septembrom, začetek na Menini planini je sledil povprečno 2 tedna kasneje in se zaključil povprečno 3 tedne prej. Začetek nastajanja traheid v fazi debelitvene rasti celične stene se je na Panški reki začel med 4. in 11. majem. Zaključka omenjene faze na Panški reki ne moremo določiti, ker se je pred tem končalo vzorčenje. Lahko pa trdimo, da se je pri dani fazi vzorčenje zaključilo med 14. in 28. septembrom. Začetek nastajanja traheid v fazi debelitvene rasti se je na Menini planini začel povprečno 3 tedne kasneje in sicer med 15. in 29. majem, ter končal 3 tedne prej, med 28. avgustom in 4. septembrom. Nastajanje lesne branike je bilo na Menini planini zaključeno med 28. avgustom in 4. septembrom tj. tri tedne prej, preden se je končalo vzorčenje na Panški reki. Zaradi prehitro končanega vzorčenja, ne moremo določiti zaključka nastajanja branike na Panški reki. Lahko pa sklepamo, da se je vzorčenje nedokončane lesne branike na Panški reki prenehalo med 14. in 28. septembrom. Takrat je povprečna širina nedokončane branike znašala 87 celic, kar je več kot trikratna dokončana povprečna širina branike iz Menine planine, ki znaša 23 celic. Če bi vzorčenje na Panški reki potekalo do zaključka nastajanja branike, bi prišlo do še nekoliko večjega odstopanja rezultatov glede na Menini planino.

8 VIRI

- Brus R. 2004. Drevesne vrste na Slovenskem. Ljubljana, Mladinska knjiga: 399 str.
- Čufar K. 2006. Anatomija lesa. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za lesarstvo: 185 str.
- Čufar K., Prislan P., De Luis M., Gričar J. 2008. Tree-ring variation, wood formation and phenology of beech (*Fagus sylvatica*) from a representative site in Slovenia, SE Central Europe. *Trees*, 22, 6: 749-758
- Gnidovec G. 2013. Nastajanje lesa in floema navadne smreke v Panški reki pri Ljubljani. Magistrska naloga Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za lesarstvo: 42 str.
- Gričar J., Čufar K. 2004. Bradavičasti sloj. *Les*, 56, 9: 274-277
- Gričar J., Oven P., Čufar K. 2005. Modela nastanka ligninskega polimera. *Les*, 57, 7/8: 228-233
- Gričar J. 2006. Vpliv temperature in padavin na ksilogenezo pri jelki (*Abies alba*) in smreki (*Picea abies*). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za lesarstvo: 181 str.
- Gričar J. 2007. Ksilo- in floemogeneza pri beli jelki (*Abies alba* Mill.) in navadni smreki (*Picea abies* (L.) Karst.). Ljubljana, Gozdarski inštitut Slovenije: 106 str.
- 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.
- Gričar J., Prislan P., Gryc V., Vavrčík H., De Luis M., Čufar K. 2014. Plastic and locally adapted phenology in cambial seasonality and production of xylem and phloem cells in *Picea abies* from temperate environments. *Tree Physiology*, 34, 8: 787-791.
- Gričar J., Prislan P., De Luis M., Gryc V., Hacurová J., Vavrčík H., Čufar K. 2015. Plasticity in variation of xylem and phloem cell characteristics of Norway spruce under different local conditions. *Frontiers in plant science*, 6, article 730: 13 str.

- Kirdyanov A., Hughes M., Vaganov E., Schweingruber F., Silkin P. 2003. The importance of early summer temperature and date of snow melt for tree growth in the Siberian Subarctic. *Trees*, 17: 61- 69.
- Mlakar J. 1990. Dendrologija. Drevesa in grmi Slovenije, Tehniška založba Slovenije: 164 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., 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., 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.
- Rossi S., A. Deslauriers, J. Gričar, J.W. Seo, C.W.G. Rathgeber, T. Anfodillo, H. Morin, T. Levanič, P. Oven and R. Jalkanen. 2008. Critical temperatures for xylogenesis in conifers of cold climates. *Global Ecology Biogeography* 17: 696-707.
- Tome S. 2010. Ogroženost gozdov. *Naravoslovna solnica*, 14, 2: 8 -13

8.1 INTERNETNI VIRI

Zavod za gozdove Slovenije, Oddelek za gozdno gospodarsko načrtovanje. 2010.

http://www.zgs.si/fileadmin/zgs/main/img/CE/gozdovi_SLO/Karte/Smreka_2.JPG

(26.5.2016)

ARSO. 2009. Arhiv podatkov o letnih padavinah in

temperaturah. <http://meteo.arso.gov.si/met/sl/app/webmet/#webmet> (30.5.2016)

ARSO. 2016. Lokacija rastišča Panške reke in Menine planine.

[http://www.arso.gov.si/soer/datoteke/predstavitev_Slovenije/diversity_slika_1-](http://www.arso.gov.si/soer/datoteke/predstavitev_Slovenije/diversity_slika_1-sl.PNG)

[sl.PNG](http://www.arso.gov.si/soer/datoteke/predstavitev_Slovenije/diversity_slika_1-sl.PNG) (30.5.2016)

ZAHVALA

Iskreno se zahvaljujem mentorici, prof. dr. Katarini Čufar za pomoč in skrb pri izdelavi diplomskega dela.

Lepo se zahvaljujem somentorici doc. dr. Jožici Gričar za pomoč pri mikroskopiranju, ter za pomoč pri izdelavi rezultatov v diplomskem delu.

Zahvaljujem se doc. doc. dr. Maksu Mereli za recenzijo diplomskega dela.

Zahvala gre tudi strokovnemu sodelavcu univ. dipl. ing. les. Martinu Zupančiču za veliko pomoč pri uvajanju laboratorijskega dela.

Zahvaljujem se dr. Petru Prislanu za odvzem vzorcev iz dreves na obeh rastiščih.

Hvala Luku Krže dipl. ing. les. za pomoč pri fotografiranju mikroskopskih preparatov.

Zahvaljujem se Agenciji (Republike Slovenije za Okolje) za pomoč pri pridobitvi podatkov o temperaturah ter količinah padavin.

Velika zahvala gre moji ženi in obema otrokoma za podporo in potrpežljivost pri pisanju diplomskega dela.