

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA LESARSTVO

Robi ULAMEC

KAMBIJEVA CONA IN FLOEM V OBDOBJU MIROVANJA PRI BUKVI
(*Fagus sylvatica*) Z RASTIŠČA PRI ŠENTJURJU

DIPLOMSKO DELO
Visokošolski strokovni študij

CAMBIAL ZONE AND PHLOEM IN DORMANT PERIOD IN BEECH
(*Fagus sylvatica*) FROM THE SITE NEAR ŠENTJUR, SLOVENIA

GRADUATION THESIS
Higher professional studies

Ljubljana, 2011

Diplomsko delo je zaključek Visokošolskega strokovnega študija lesarstva. Delo je bilo opravljeno na Katedri za tehnologijo lesa na Oddelku za lesarstvo, Biotehniške fakultete, Univerze v Ljubljani, kjer so bile opravljene laboratorijske analize.

Senat Oddelka za lesarstvo je za mentorico diplomske naloge imenoval prof. dr. Katarino Čufar, za recenzentko pa dr. Jožico Gričar.

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik:

Član:

Član:

Datum zagovora:

Naloga je rezultat lastnega raziskovalnega dela.

Robi ULAMEC

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

ŠD	Vs
DK	UDK 630*811.13
KG	bukev/ <i>Fagus sylvatica</i> L./kambij/les/floem/mirovanje/reaktivacija
AV	ULAMEC, Robi
SA	ČUFAR, Katarina (mentorica)/GRIČAR, Jožica (recenzentka)
KZ	SI-1000 Ljubljana, Rožna dolina, c VIII/34
ZA	Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za lesarstvo
LI	2011
IN	KAMBIJEVA CONA IN FLOEM V OBDOBJU MIROVANJA PRI BUKVI Z RASTIŠČA PRI ŠENTJURJU
TD	Diplomsko delo (Visokošolski strokovni študij)
OP	VIII, str. 38, pregl. 2, sl. 24, vir. 20
IJ	sl
JI	sl/en
AI	Na 6 drevesih navadne bukve (<i>Fagus sylvatica</i> L.) z rastišča pri Šentjurju pri Celju smo raziskali kambijevo cono in floem v obdobju mirovanja pozimi od 20. 11. 2009 do 25. 4. 2010. Vzorce intaktnih tkiv lesa, kambija in skorje smo odvezemali v dvo- oz. enotedenskih intervalih. Tkiva smo vklopili v parafin in s pomočjo rotacijskega mikrotoma narezali mikroskopske preparate prečnih prerezov debeline 8 do 10 µm, ki smo jih obarvali s safraninom in astra modrim barvilom in vklopili v evparal. Za analizo škroba smo preparate odrezali z drsnim mikrotomom in jih obarvali z jodom. Analizo smo opravili s svetlobnim mikroskopom in sistemom za analizo slike. Opazovali smo dormantno kambijevo cono ter nediferencirane floemske in novo nastale ksilemske celice. Dormantna kambijeva cona je v povprečju vsebovala 4 do 5 slojev celic, po 18. 4. 2010 pa je število celic naraslo. Število nediferenciranih sitastih celic je bilo skozi dormantno obdobje med 1 in 2 slojema v radialnem nizu. Prve novo nastale floemske celice pa so se pojavile 18. 4. 2010; takrat smo zabeležili v povprečju 4 sloje celic. Prve novo nastale ksilemske celice so se pojavile teden kasneje, in sicer 25. 4. 2010. Pri analizi škroba smo določili površinski delež temneje obarvanih škrobnih zrn v parenhimskih celicah lesa, ki so se bolje videle v prečnem kot v radialnem prerezu. Pri analizi škroba bi nam večje število analiziranih preparatov omogočilo bolj natančno ovrednotenje rezultatov.

KEY WORDS DOCUMENTATION

DN Vs
DC UDC 630*811.13
CX beech/*Fagus sylvatica* L./cambium/wood/phloem/dormance/reactivation
AU ULAMEC, Robi
AA ČUFAR, Katarina (supervisor)/GRIČAR, Jožica (advisor)
PP SI-1000 Ljubljana, Rožna dolina, c VIII/34
PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Wood Science and Technology
PY 2011
TI CAMBIAL ZONE AND PHLOEM IN DORMANT PERIOD IN BEECH FROM THE SITE NEAR ŠENTJUR, SLOVENIA
DT Graduation Thesis (Higher professional studies)
NO VIII, p. 38, tab. 2, fig. 24, ref. 20
LA sl
AL sl/en
AB We researched the cambial zone and phloem in 6 beech trees (*Fagus sylvatica* L.) from the site near Šentjur during a period of winter dormancy, from 20th November 2009 until 25th April 2010. Intact tissue samples of wood, cambium and bark were taken in 1 or 2 week intervals. We embedded tissues in paraffin and used a rotary microtome to cut 8–10 µm thick microscopic slides, which we stained with safranin and astra blue, and embedded in euparal. To analyse starch, we cut the slides using a sliding microtome and stained them with iodine. We used a light microscope and an image analysis system for the analysis. We observed the dormant cambial zone and the adjacent undifferentiated phloem and xylem cells. On average, the dormant cambial zone contained 4 to 5 layers of cells, after 18th April 2010, the number of cells increased. The number of undifferentiated sieve cells varied during the period of dormancy between 1 and 2 layers per radial row, and the first newly formed phloem cells appeared on 18th April 2010. At that time we recorded on average 4 layers of newly formed cells. The first newly formed xylem cells appeared one week later, on 25th April 2010. In our analysis of starch, we determined the surface portion of darker starch grains in parenchyma cells of the wood. Compared to the radial section, these grains were more clearly visible in the transversal section. It was shown that we should analyse a greater number of slides to obtain more reliable results on starch portions.

KAZALO VSEBINE

str.

Key Words Documentation (KWD).....	IV
Kazalo vsebine	V
Kazalo preglednic.....	VI
Kazalo slik	VII
1 UVOD.....	1
2 PREGLED OBJAV.....	2
2.1 OPIS BUKVE	2
2.2 MIKROSKOPSKA ZGRADBA LESA BUKVE	4
2.2.1 Kambij in kambijeva cona	5
2.2.2 Diferenciacija	6
2.2.3 Floem	8
2.3 LUNA IN LUNARNI LES	9
2.3.1 Lunine mene	9
2.3.2 Lunarni les	10
2.3.3 Odpornost lesa glede na čas poseka	12
3 MATERIAL IN METODE.....	15
3.1 OPIS RASTIŠČA	15
3.2 ODVZEM INTAKTNIH VZORCEV	15
3.3 SKLADIŠČENJE VZORCEV	16
3.4 PRIPRAVA VZORCEV	16
3.5 REZANJE VZORCEV IN IZDELAVA PREPARATOV	18
3.6 HISTOMETRIČNA ANALIZA	21
4 REZULTATI IN RAZPRAVA.....	23
4.1 DORMANTNA KAMBIJEVA CONA IN FLOEM	23
4.2 KAMBIJEVA CONA IN SITASTE CEVI V DORMANTNEM OBDOBJU	26
4.3 ŠTEVILO CELIC V FLOEMU IN V KSILEMU	28
4.4 VSEBNOST ŠKROBA V PARENHIMSKIH CELICAH NAJMLAJŠE BRANIKE	29
5 SKLEPI	33
6 POVZETEK.....	34
7 VIRI.....	36

ZAHVALA

KAZALO PREGLEDNIC

	str.
Preglednica 1: Znanost o lunarnem lesu (prim. tudi Bues in Triebel 2004, cit. po Torelli, 2005a)	11
Preglednica 2: Prikaz števila novonastalih floemskih in ksilemskih celic pri šestih bukvah...	28

KAZALO SLIK

	str.
Slika 1: Razišrjenost bukve (<i>Fagus Sylavtica L.</i>) po Evropi (Brus, 2004).....	3
Slika 2: Prečni prerez kambijeve cone pri bukvi	5
Slika 3: Diferenciacija osnovnih elementov listavcev (trahejni člen, vlakno). Po delitvi kambijeve inicialke sledi determinacija, nastane lahko trahejni člen ali vlakno, nato sledijo faze diferenciacije: (1) Rast celice – pri trahejah se realizira predvsem površinska rast, pri vlaknih pa rast v dolžino. (2) Debelitev celične stene – na primarno steno se odložijo sloji sekundarne celične stene: S1, S2 in S3. (3) V celično steno se inkrustrira lignin. (4) Odmrtje in prevzem funkcije v trajnem tkivu (Samuels in sod., 2006, priredil Prislan, 2007).....	7
Slika 4: Prikaz glavnih luninih men (http://www.mladinska.com/azevednik/azevednik_je_prvi_in_edini#)	9
Slika 5: Razkroj smrekovine, posekane v različnih mesecih in takoj izpostavljene delovanju gliv (Možina, 1952)	12
Slika 6: Razkroj smrekovine, posekane v različnih mesecih in izpostavljene glivam po enoletnem sušenju (Možina, 1952).....	13
Slika 7: Komora za preparacijo tkiv Leica TP 1020 (A) ter parafinski dispencer Leica EG 1120 (B).	17
Slika 8: Polavtomatski rotacijski mikrotom Leica RM 2245 (A) ter drsni mikrotom Leica SM 2000 R (B).	18
Slika 9: Sušenje preparatov obteženih z 200 g utežmi.	20
Slika 10: Osební računalnik (levo) ter svetlobni mikroskop Nikon Eclipse E 800 (desno).....	21
Slika 11: Kambijeva cona (KC), sloji nediferenciranih sitastih cevi v floemu (PC) ter novo nastale ksilemske celice (PR) pri bukvi št. 3 (datum vzorčenja 25. 4. 2010)....	22
Slika 12: Prečni prerez lesa bukve št. 4 (zunanja branika) obarvane z jodom; datum vzorčenja 28. 3. 2010 v času polne lune	22
Slika 13: Število celic v kambijevi coni pri šestih bukvah v obdobju od 20. 11. 2009 do 25. 4. 2010.....	23
Slika 14: Širina kambijeve cone pri šestih bukvah v obdobju od 20. 11. 2009 do 25. 4. 2010	24
Slika 15: Število floemskih celic pri šestih bukvah v obdobju od 20. 11. 2009 do 25. 4. 2010	25

Slika 16: Širina sloja nediferenciranih sitastih cevi v odvisnosti od časa pri šestih bukvah v obdobju med 20. 11. 2009 in 25. 4. 2010.....	26
Slika 17: Kambijeva cona (KC) in sloji nediferenciranih sitastih cevi v floemu (PC) pri bukvi št. 1 na različne datume odvzema.	27
Slika 18: Kambijeva cona (KC) in sloji nediferenciranih sitastih cevi v floemu (PC) pri bukvi št. 3 na različne datume odvzema.	28
Slika 19: Kambijeva cona (KC) in celice floema v fazi primarne stene (PC) pri bukvi št. 4 v različnih obdobjih.	28
Slika 20: Prečni prerez lesa bukve št. 4 (zunanja branika) obarvane z jodom; datum vzorčenja 14. 2. 2010 v času mlaja.....	29
Slika 21: Prečni prerez lesa bukve št. 4 (zunanja branika) obarvane z jodom; datum vzorčenja 28. 3. 2010 v času polne lune	30
Slika 22: Radialni prerez lesa bukve št. 4 (zunanja branika) obarvane z jodom; datum vzorčenja 14. 2. 2010 (mlaj)	31
Slika 23: Radialni prerez bukve št. 4 (zunanja branika) obarvane z jodom; datum vzorčenja 28. 3. 2010 (polna luna)	31
Slika 24: Rezultati histometrične analize obarvane z jodom pri drevesu št. 4.	32

1 UVOD

Bukev (*Fagus sylvatica*) je pri nas najbolj razširjena drevesna vrsta. Uporablja se za širok spekter uporab in je pomembna za lesno industrijo. Les bukve je sestavljen iz celic, ki nastanejo z delovanjem kambija, zato je bilo v zadnjem času izvedenih veliko študij, ki proučujejo nastajanje lesa pri bukvi (Prislan, 2007, Čufar in sod., 2008, Prislan in sod., 2010). Glede na to, da je veliko objav posvečenih raziskavam kambijeve cone v rastni sezoni, manj pa vemo o tem, kaj se dogaja s kambijevo cono in floemom v obdobju mirovanja pozimi, smo se odločili, da bomo vzorčenje za raziskave opravili v zimskem času.

Z vzorčenjem smo pričeli 20. 11. 2009 in zaključili v začetku prvih delitev celic 25. 4. 2010. Za raziskavo smo uporabili metodo vzorčenja intaktnih tkiv, in sicer na šestih bukvah na rastišču pri Šentjurju.

Cilji diplomske naloge so bili:

- a) raziskati širino kambijeve cone v dormantnem obdobju 2009/2010 in določiti čas reaktivacije kambija v letu 2010,
- b) spremljati število nediferenciranih floemskih celic ob kambiju in določiti čas nastanka prve floemske celice v letu 2010,
- c) spremljati vsebnost in morebitno variiranje škroba v parenhimskih celicah v odvisnosti od časa in luninih men.

2 PREGLED OBJAV

2.1 OPIS BUKVE

Navadna bukev (*Fagus sylvatica* L.) spada v družino bukovk (*Fagaceae*). Je listopadna drevesna vrsta, ki zraste v naših krajih v višino od 35 do 40 m ter doseže premer debla 60 do 80 cm (Kotar in Brus, 1999).

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

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

Navadna bukev je naša najpogostejša drevesna vrsta. Med gozdnimi tipi v Sloveniji prevladujejo različni bukovski gozdovi s 56,3 %, jelovo-bukovih gozdov je 13,8 %. To pomeni, da je bukev z večjim ali manjšim deležem zastopana v kar 70,1 % slovenskih gozdov. Njena lesna zaloga je bila 2001 enaka smrekovi in je znašala 31,9 % skupne lesne zaloge (Brus, 2004), leta 2010 pa je bila 31,8 % (Poročilo zavoda za gozdove Slovenije o gozdovih, 2011).

Glede toplote je zahtevna in potrebuje za dobro uspevanje najmanj 5 mesecev dolgo vegetacijsko dobo. Najlepše uspeva na globokih, zračnih, svežih, s kalcijem bogatih tleh, kjer je zračna vlaga velika in kjer so padavine obilne. Manjka tam, kjer je padavin manj kot 600 – 700 mm (Kotar in Brus, 1999).



Slika 1: Razišrjenost bukve (*Fagus Sylvatica L.*) po Evropi (Brus, 2004).

Rast bukve je razmeroma hitra, vendar je v mladosti lahko upočasnjena zaradi zasenčenja s strani starega drevja, bukev namreč pomlajujejo pod zastorom, ker jo sicer rade poškodujejo spomladanske pozne pozebe. Bukev ima lastnost, da lahko dolgo dobo preživi v senci in potem normalno nadaljuje z rastjo, ko se pojavi zadosti svetlobe. V času, ko je v mladosti zastrta, pa je močno zmanjšana rast v debelino kot tudi v višino. Priraščanje lesa je odvisno od rodovitnosti rastišča, tako priraščajo bukovski gozdovi pod samo gozdno mejo na Snežniku le 2 m³/ha/leto, v gozdovih gričevja, kjer so talne razmere izredno ugodne, pa 10 in več m³/ha/leto (Kotar in Brus, 1999).

V Sloveniji je navadna bukev med gospodarsko najpomembnejšimi drevesnimi vrstami. Ima trd, težek, elastičen in na prostem slabše obstojen les s kurilno vrednostjo. Iz njega pridobivajo kakovostno oglje, uporaben je za izdelavo pohištva, zlasti upognjenega,

parketa, vezanih plošč in za železniške pragove, slabši les porabijo za pridobivanje celuloze (Brus, 2004).

2.2 MIKROSKOPSKA ZGRADBA LESA BUKVE

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

Bukev spada med difuzno-porozne listavce, kjer so posamezne traheje ali skupine po dve do tri traheje enakomerno razporejene po prečnem prerezu njihov premer pa iz ranega v kasni les zelo malo pada. Traheje pa sestavljajo trahejni členi. V krajnih stenah elementov, ki se stikajo, se nahajajo perforirane ploščice, ki so pri bukvi lestvičaste in enostavne. Tangencialni premer trahej znaša okoli 100 μm . Premer trahej ni pogojen z evolucijsko naprednostjo lesne vrste, pač pa predstavlja ekološko adaptacijo – prilagoditev na okolje (Čufar, 2006).

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

Trakovno tkivo pri bukvi je iz parenhimskih celic. Je heterogeno, kar pomeni da je sestavljeno iz ležečih in kvadratastih parenhimskih celic (tip III Brazier in Franklin, 1961, cit. po Čufar, 2006), osrednji del iz ležečih celic, na robovih po ena vrsta kvadratastih celic. Določeni viri tudi navajajo, da je trakovno tkivo v lesu bukve homogeno (Richter in Dallwitz, 2005). Trakovi in traheje so med seboj povezani z velikimi in ovalnimi piknjami. V prečnem prerezu je vidno, da se širši trakovi pri letnici kolenčasto razširijo (Čufar,

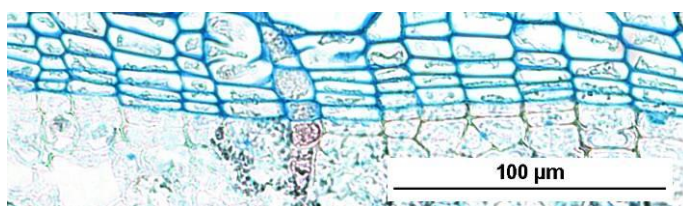
2006). Trakovi se razširijo, ker je tangencialni tlak zaradi intruzije manjši kot v osrednjem delu branike in ne zato, ker bi bil trak v območju letnice več celic širok (Torelli, 1990). Trakovi so enoredni do večredni, do 0,5 mm široki, 20 celic in 3 do 5 mm visoki (Schweingruber, 1990).

Aksialni parenhim je apotrahealen, kar pomeni, da ni v stiku s trahejami, temveč je difuzno razporejen. Lahko je tudi difuzen v agregatih (Čufar, 2006). Predvsem je namenjen skladiščenju in distribuciji ogljikovih hidratov (Torelli, 1990).

2.2.1 Kambij in kambijeva cona

Kambij predstavlja v strogem pomenu besede eno celico debelo plast vretenastih (fuziformnih) in trakovnih inicialk. Dolžina fuziformnih inicialk je pri primitivnejših listavcih, med katere spada tudi bukev, med 1000 in 2000 μm in pri najnaprednejših listavcih med 300 in 600 μm (Čufar, 2006).

Kambij je sloj aktivno delečih se celic, ki navzven (centrifugalno) producira sekundarni floem, navznoter (centripetalno) pa sekundarni ksilem. V rigoroznem smislu s kambijem označujemo le sloj fuziformnih in trakovnih inicialk, največkrat pa kambijevo cono, saj je težko ločiti kambijeve inicialke od njihovih najmlajših derivatov (Torelli, 1990).



Slika 2: Prečni prerez kambijeve cone pri bukvi

Kambijeve inicialke so tipične žive rastlinske celice s tanko celično steno. Delijo se v različnih smereh. Tako ločimo radialne (antikline) in psevdotransverzalne delitve v radialni ravnini oz. pravokotno na površino debla in perikline delitve v tangencialno aksialni ravnini oz. vzporedno s površino debla (Čufar, 2006).

Radialne delitve so multiplikativne. Z multiplikativnimi delitvami se množi število kambijevih inicialk. Posledica je povečanje površine oz. obsega kambija. Perikline delitve so aditivne. Z aditivnimi delitvami nastajajo celice, ki jih kambij dodaja lesu ali skorji. Posledica je povečevanje premera debla in debeline skorje. Ista inicialka se lahko predeli radialno (oz. psevdotransverzalno) ali tangencialno, vendar različna tipa delitve ne potekata hkrati (Čufar, 2006).

Pri periklinih delitvah vretenastih inicialk nastajajo ksilemske in floemske celice. Ker kambij dodaja nove celice lesu in skorji, jih imenujemo tudi aditivne delitve. Posledica teh delitev je povečevanje premera debla. Smer delitvene ravnine poteka tangencialno glede na obod debla (Čufar, 2006).

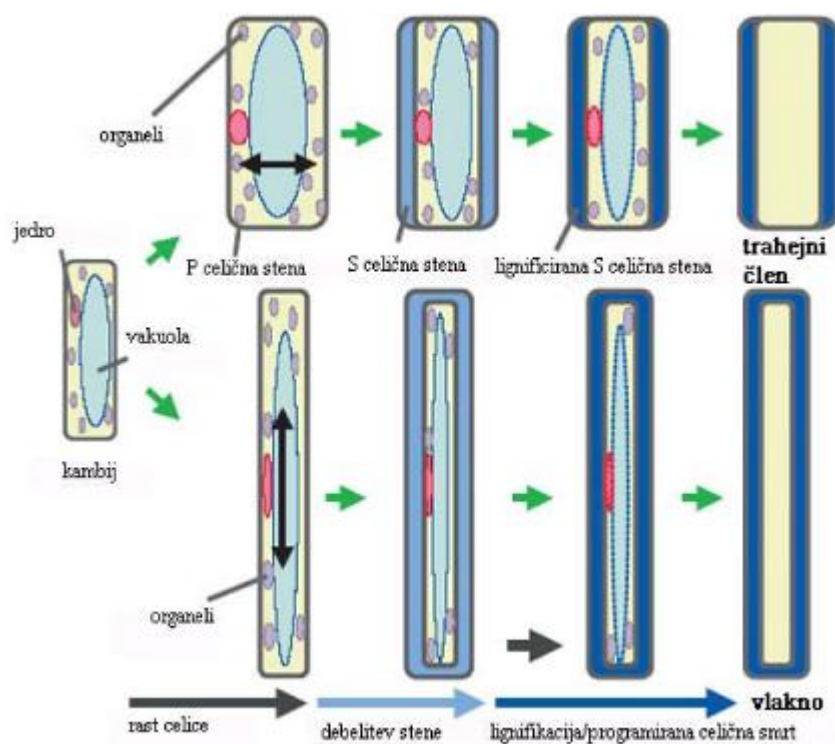
2.2.2 Diferenciacija

Diferenciacija obsega številne medsebojno povezane procese biokemične, fiziološke in morfološke narave, ki vodijo k specializaciji celice (Torelli, 1990). Delitev celice v splošnem sestoji iz naslednjih faz: delitev, determinacija, diferenciacija. V fazi delitve pride do delitve celičnega jedra, organelov in oblikovanja nove celične stene. V fazi determinacije pride do odločitve, kakšna celica bo nastala (npr. traheida, trahejni člen ipd.). V fazi diferenciacije se realizira rast in razvoj celice do njene končne oblike (Čufar, 2006).

V procesu diferenciacije, ki zajema postkambijsko rast celic, odlaganje sekundarne celične stene ter pri lesnih traheidah še lignifikacijo in programirano celično smrt, se celice specializirajo za opravljanje svojih funkcij. Celične delitve v kambiju in postkambijska rast določajo širino letnega ksilemskega in floemskega prirastka, sinteza sekundarne stene in lignifikacija pa kopičenje biomase v stenah celic (letni prirastek biomase) (Gričar, 2009).

V fazi delitve celične stene se na primarno celično steno v centripetalni smeri odloži sekundarna celična stena. Več raziskovalcev je ugotovilo, da se sekundarna celična stena trahej odloži prej kot pri ostalem tkivu in da lignifikacija celične stene v trahejah poteče

prej kot v okoliškem tkivu, za vzrok pa navajajo potrebo po čim prejšnjem začetku prevajanja vode (Sass 1993, cit. po Prislan, 2007).



Slika 3: Diferenciacija osnovnih elementov listavcev (trahejni člen, vlakno). Po delitvi kambijeve inicialke sledi determinacija, nastane lahko trahejni člen ali vlakno, nato sledijo faze diferenciacije: (1) Rast celice – pri trahejah se realizira predvsem površinska rast, pri vlaknih pa rast v dolžino. (2) Debelitev celične stene – na primarno steno se odložijo sloji sekundarne celične stene: S1, S2 in S3. (3) V celično steno se inkrustrira lignin. (4) Odmrtje in prevzem funkcije v trajnem tkivu (Samuels in sod., 2006, priredil Prislan, 2007).

2.2.3 Floem

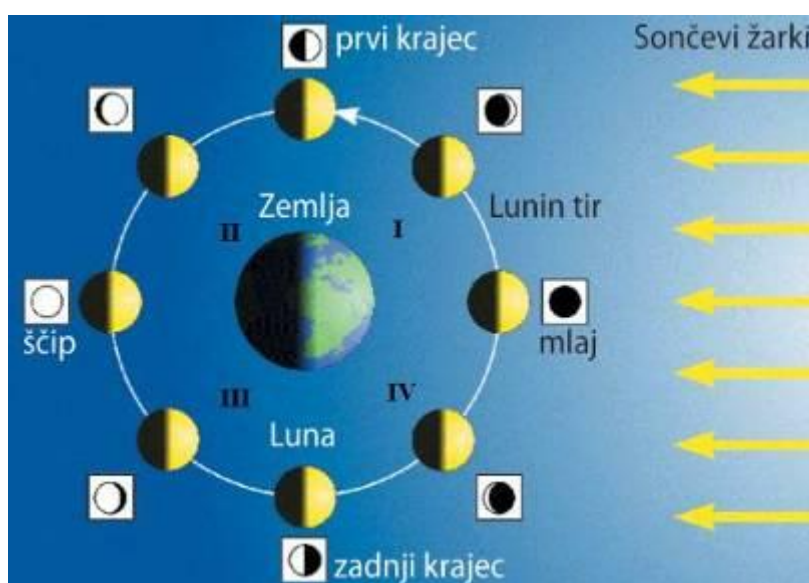
Floem predstavlja glavno tkivo za transport asimilatov pri vaskularnih rastlinah (cevnica). Sestoji predvsem iz sitastih elementov, parenhimskih celic, vlaken in sklereid. V splošnem nastane več ksilemskih kot floemskih celic, 4-14 več celic lesa kot floema (Čufar, 2006).

Floemski prirastek je izpostavljen razmeroma hitrim sekundarnim spremembam tkiva, kot so kolaps, sklerifikacija in inflacija aksialnega parenhima. Zato je mogoče razločno prepoznati le strukturo ene ali dveh najmlajših floemskih branik. Starejše neprevodno floemsko tkivo se sčasoma zgnete v radialni smeri, deformira in pozneje največkrat tudi odpade ter tako ni primerno za dendrokronološke in dendroekološke študije (Čufar, 2006). Pri raziskavah debelinske rasti dreves je zelo pomembna sezonska dinamika nastanka floema, saj je kambij dvostranski meristem (t. j. proizvaja celice na lesno in floemsko stran), zato študije kambijeve aktivnosti in nastanka lesa razkrivajo le del informacij o kambijevi celični produktivnosti med rastno sezono. V primeru ozkih ksilemskih branik, ko je razmerje med ksilemom in floemom lahko tudi v prid floema, se tako zanemari pomemben delež debelinskega prirastka. V nasprotju s ksilemskimi branikami je širina floemskih branik v tesni povezavi z njihovo anatomsko zgradbo (Gričar in sod., 2009). Poleg tega se procesi nastanka lesa in ličja v časovnem in prostorskem pomenu razlikujejo, notranji in zunanji dejavniki pa različno vplivajo na mehanizme njunega nastanka, tako da so celostne študije nujne za spoznanja o vplivih določenih podnebnih dejavnikov na debelinsko rast dreves (Gričar, 2009).

2.3 LUNA IN LUNARNI LES

2.3.1 Lunine mene

Vpliv lune na življenje in dogajanje na zemlji naj bi bil zelo univerzalen in kompleksen (Torelli, 2005a).



Slika 4: Prikaz glavnih luninih men (http://www.mladinska.com/azevednik/azevednik_je_prvi_in_edini#)

Ko luna kroži okoli zemlje, obrača soncu samo eno stran, ki jo vidimo ob polni luni. Če stoji luna, gledano z zemlje, »med« zemljo in soncem, nam obrača svojo hrbtno stran, ne vidimo je in pravimo, da je lunin mlaj (Kunaj, 2007).

Nekaj ur po nastanku mlaja se prikaže k soncu obrnjena stran lune v obliki ozkega srpa, ki narašča od leve proti desni. Približno šestdnevno potovanje do polmeseca imenujemo tudi I. četrtna lune, potovanje naprej (skupaj okoli 13 dni) do polne lune pa II. četrtna (Kunaj, 2007).

Ko luna zaključi polovico svojega potovanja okoli zemlje, na nebu vidimo njeno k soncu obrnjeno sijočo okroglo ploskev, polno luno. Gledano s sonca je luna zdaj »za« zemljo. Luna potuje naprej, njena senčna stran se veča od desne proti levi, začenja se trinajstdnevno obdobje pojemajoče lune: III. in IV. četrtina (Paungger in Poppe, 1995).

2.3.2 Lunarni les

O lunarnem lesu oz. o luskem lesu, kot ga tudi poimenujejo, je napisanih kar nekaj člankov. Pri nas je o tem pisal Torelli (2005a, b, 2002) in Kunaj (2007). Lunarni les naj bi bil les, posekan ob "pravem času", t.j. v času, kot ga narekujejo lunine mene (faze) in zodiška znamenja ter les, posekan natančno določenega dne (Torelli, 2005b).

Lunarni les naj bi imel posebne oz. za les nenavadne lastnosti: ne trohni, ne gnije, ne lotijo se ga insekti, ne gori, je bolj suh, se ne krči, ne poka, se ne veži in je zelo trd (Torelli, 2005b).

V nadaljevanju navajam poročila iz literature (vse cit. po Torelli, 2005b). Kdaj torej sekati? »Ko popusti žgoča poletna pripeka, tedaj hrošči ne ogrožajo gozda« (Hesiod iz Molla 1920); »Sekati tako spomladi kot tudi jeseni, preden pride hlad iz tal in preden se začne delo na polju« (Carlowitz 1713). »Sekaj pozimi, ker je več časa in ker je transport zaradi zamrznjenih tal enostavnejši« (Neuenhahn 1763). »Listavce in iglavce je mogoče sekati vse leto, pri čemer kakovost ne bo trpela« (Accum 1833 iz Clausnitzerja 1990). Mantel (1980) navaja stare nemške podatke o »pravem času« poseka. Mnogokrat so predpisovali zimsko sečnjo, vendar ne iz patoloških in tehnoloških razlogov, ampak zato, ker tedaj ni bilo dela na polju in je bila delovna sila najcenejša.

Torelli (2005a) navaja, da je U. Seeling v skladu z ljudskim izročilom v času od novembra do januarja posekala po 10 dreves v terminih tri dni pred ščipom in tri dni pred mlajem. Srednja gostota absolutno suhega lesa (ρ_0), posekanega pred mlajem, je bila 363...**479**...666 kg/m³, pred ščipom pa 328...**468**...613 kg/m³. Les posekan pred mlajem je bil v povprečju za 6,20 % gostejši od lesa, posekanega pred ščipom. Thoma (1999, cit.

po Torelli) sklepa: »Ob pravem času posekan les je gostejši. Gostejši les je trdnější in bolj odporen«. Vsekakor drži, da je gostejši les bolj trden, problematična pa je ugotovitev, da je les gostejši zaradi poseka ob »pravem« času, t.j. v času pojemajoče lune (Torelli, 2005a).

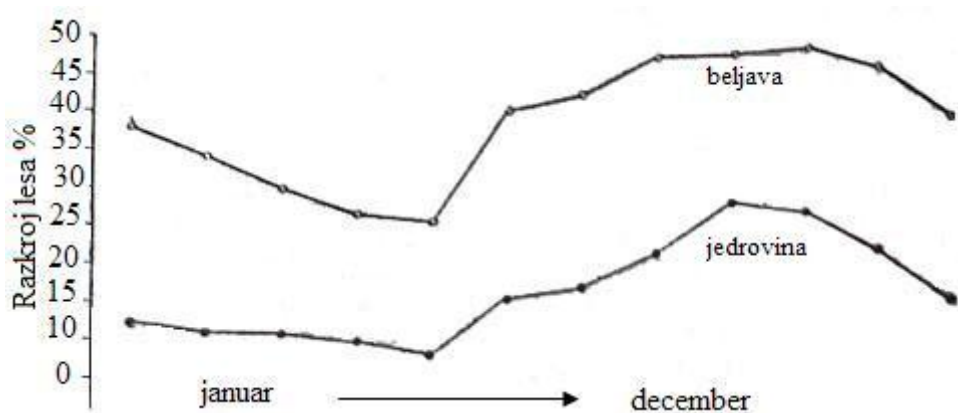
Torelli (2005a) navaja neskladne podatke različnih raziskovalcev za vlažnost hrastove beljave: »de Monceau (1755) je ugotovil, da je lesna vlažnost najvišja pozimi in najmanjša spomladi ter poleti. Nördlinger (1879) navaja, da je najvišja julija in najnižja decembra, Hartig (1858/1871) pa, da je najvišja poleti in najmanjša spomladi. Bukovina naj bi bila po Büsgenu (1911) najbolj suha v pozni jeseni, po Gäumanu (1935) pa decembra in januarja. Pri dvokaličnicah (listavcih) je Gibbs (1958) ugotovil večinoma najnižjo vlažnost v poznem poletju in najvišjo jeseni, ko drevje odvrže listje« (Kunaj, 2007).

Preglednica 1: Znanost o lunarnem lesu (prim. tudi Bues in Triebel 2004, cit. po Torelli, 2005a)

Lastnosti	Avtor	Rezultat
Gorljivost	Herz 1998 Triebel 1998 Seeling 1998 Niemz & Kučera 2000 Teischinger & Fellner 2000	Ni nikakršnih razlik med lunarnim in »navadnim« lesom. O negorljivosti ni govora!
Odpornost/trajnost	Triebel 1998 Hirmke 1999 Teischinger & Fellner 2000	Lunarni les ni bolj odporen!
Krčenje	Herz 1998 Seeling 1998 Triebel 1998 Rösch 1999 Bariska & Rösch 2000 Niemz & Kučera 2000 Seeling 2000 Teischinger & Fellner 2000	Ni razlik v krčenju med lunarnim in »navadnim« lesom!
Trdota	Seeling 1998 Niemz R & Kučera 2000 Seeling 2000 Neuman 2003	Nikakršnih razlik med lunarnim in »navadnim« lesom!
Lesna vlažnost	Seeling 2000 Torno 2003	Morebitne razlike v vlažnosti so v območju normalnih variacij.

2.3.3 Odpornost lesa glede na čas poseka

Možina (1952) navaja poizkus, ki je povzet po Gäumannu in prikazuje razkroj smrekovega lesa, ki je bil posekan v različnih mesecih in takoj po sečnji izpostavljen delovanju gliv v vedno enakih okoliščinah. Kot prikazuje Slika 5, vidimo, da je najmočnejše prizadet les posekan spomladi, v mesecih maju in juniju. Nadalje je iz grafikona razvidno, da vpliva sečna doba v enaki meri na beljavo in črnjavo, le da je stopnja v beljavi znatno večja (Možina, 1952).



Slika 5: Razkroj smrekovine, posekane v različnih mesecih in takoj izpostavljene delovanju gliv (Možina, 1952)

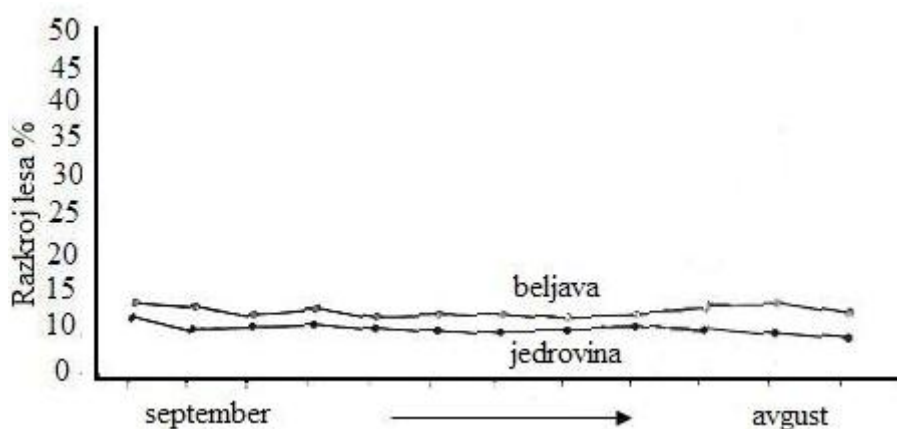
Možina (1952) v nadaljevanju navaja, da je poizkus, ki ga je opravil Gäumann na bukovini, dal proti pričakovanju drugačne rezultate. Bukov les, posekan v raznih letnih dobah in izpostavljen enakim okoliščinam, je pokazal prav majhne razlike v pogledu trpežnosti. Le v posameznih primerih je bila ugotovljena neznatna prednost zimske sečnje (Možina, 1952).

To ugotovitev, ki je navidezno v nasprotju z izkušnjami vsakdanje prakse, razlagamo z naslednjimi dejstvi. Smrekov les je po naravi odpornejši proti glivam. Vsebuje le malo snovi, ki služijo glivam za hrano, predvsem izredno malo dušika. Zato imajo spremembe v mikrostrukturi celuloze sorazmerno velik vpliv na trpežnost lesa. Drugače je to pri bukovini. Bukov les nudi glivam mnogo več hrane, predvsem več dušika, in je zato slabo

odporen. Ti pogoji so že sami na sebi zadostni za uspešen razvoj gliv in zato spremembe v mikrostrukturi celuloze niso toliko pomembne (Možina, 1952).

Slika 6 (po Gäumannu) prikazuje razkroj smrekovega lesa, ki je bil posekan v raznih letnih dobah ter nato šele po enoletnem sušenju izpostavljen delovanju gliv v enakih okoliščinah kot v primeru, ki ga prikazuje Slika 5. Na osnovi primerjave s Slika 5 ugotavljamo sledeče: stopnja razkroja je znatno nižja kakor v prvem primeru. Vpliv sečne dobe je komaj zaznaven. Intenzivnost razkroja je v beljavi in črnjavi skoraj enaka (Možina, 1952).

Na osnovi opisanih Gäumannovih raziskovanj lahko ugotovimo, da je trpežnost lesa dejansko odvisna od dobe, v kateri je bil les posekan. Razlike so največje neposredno po sečnji. Po preteku določene dobe, v opisanem primeru je bila ta doba eno let, pa te razlike skoraj izginejo, tako da je les letne sečnje praktično enakovreden lesu zimske sečnje (Možina, 1952).



Slika 6: Razkroj smrekovine, posekane v različnih mesecih in izpostavljene glivam po enoletnem sušenju (Možina, 1952)

Količina škroba v beljavi rastočega drevesa se močno menja tako pri posameznih drevesnih vrstah kakor tudi tekom letne dobe. Škrob nastaja v listih v času vegetacije in služi kot izhodiščna surovina za izgradnjo novih delov drevesa. Novo nastali škrob porabi drevo bodisi takoj, ali pa ga odlaga v deblu kot rezervo. Največ škroba je v lesu jeseni, ko preneha asimilacija. Pozimi porabijo nekaj te zaloge žive celice, spomladi pa se z njo gradi

novo tkivo toliko časa, dokler se ne razvije nov asimilacijski aparat. Les rastočega drevesa vsebuje torej največ škroba jeseni in pozimi, najmanj pa spomladi (Možina, 1952).

Vse kaže, da tiste vrste gliv, ki se hranijo z osnovno lesno substanco, bodisi s celulozo (povzročiteljica rdeče gnilobe) ali z ligninom (povzročiteljica bele gnilobe), napadajo les ne glede na količino škroba v njem. Spomladi posekan les je najmanj odporen, čeprav vsebuje le minimalno količino škroba, medtem ko je les jesenske in zimske sečnje z mnogo škroba najodpornější (Možina, 1952).

Ne moremo pa trditi, da je prisotnost škroba brezpomembna v vseh primerih. Nekateri lesni škodljivci (npr. *Lyctus*) se ne hranijo z osnovno lesno tvarino, temveč se s celično vsebino, predvsem s škrobom. Te vrste škodljivcev napadajo le tisti del debla, ki vsebuje škrob, to je beljavo. V tem primeru je beljava jesenske ali zimske sečnje zaradi večje količine škroba manj odporna od beljave spomladanske sečnje (Možina, 1952).

Z lunarnim lesom se je ukvarjalo mnogo strokovnjakov, vendar nihče ni dokazal, zakaj naj bi bil lunarni les boljši.

Torelli (2005a) pravi, da drži, da lunarni les zelo skrbno izbirajo in z njim zelo pazljivo ravna po poseku. To pa utegne biti edini razlog za resnično boljše lastnosti lunarnega lesa v primerjavi z »navadnim« lesom (Torelli, 2005a).

Možina (1952) prav tako meni, da na osnovi dotedanjih dognanj lahko trdimo, da luna ne vpliva na kakovost lesa.

3 MATERIAL IN METODE

3.1 OPIS RASTIŠČA

V diplomski nalogi sem proučeval strukturo kambijeve cone in floem na šestih bukvah (*Fagus sylvatica* L.) iz privatnega gozda v Dobrini, KO 1154 Dobrina. Bukve rastejo na nadmorski višini približno 570 m. Rastišče, na katerem rastejo, je nerodovitno in precej kamnito. Na tem območju prevladujejo večinoma bukova drevesa (80 %), ostale drevesne vrste so: gorski javor (*Acer pseudoplatanus* L.), veliki jesen (*Fraxinus excelsior* L.) in navadni črni gaber (*Ostrya carpinifolia* Scop.).

Izbrana drevesa so bila stara okoli 100 let in so imela prsni premer od 40 do 50 cm, na deblu in koreninah pa niso imela vidnih mehanskih poškodb.

3.2 ODVZEM INTAKTNIH VZORCEV

Izbira dreves in odvzem prvih vzorcev je potekalo ob pomoči Petra Prislana, mladega raziskovalca na Katedri za tehnologijo lesa. Vzorčenje je potekalo na šestih drevesih od 20. novembra 2009 do 15. marca 2010 na 14 dni. Od 15. marca pa do 25. aprila 2010 pa na en teden. Odvzeti vzorci so bili okvirnih dimenzij 1 x 1 x 3 cm. Odvzeti so bili v prsni višini 1,3 m nad tlemi in po celotnem obodu drevesa. Razmak med posameznimi vzorci je bil približno 10 cm. Za odvzem intaktnih vzorcev smo potrebovali olfa nož, ozko dleto ter kladivo. Najprej smo na omenjeni višini zarezali z olfa nožem dva vertikalna reza globine približno enega centimetra. Reza sta bila v razmaku enega centimetra, ta razmak pa je določal širino vzorčka. Nato smo z dletom zasekali v prečnih smereh pod kotom 45° in s tem določili aksialno dimenzijo vzorca. Za tem smo v prečnih smereh še zasekali pod kotom 90° in odstranili skorjo in del lesa. S tem smo naredili prostor, da smo lažje odvzeli vzorec. Na koncu smo s pomočjo dleta odstranili vzorček iz drevesa. Takoj po odvzemu iz drevesa smo vzorček spravili v plastičen lonček na katerem je bila napisana številka drevesa ter datum odvzema, lonček pa je bil do polovice napolnjen s fiksacijsko tekočino

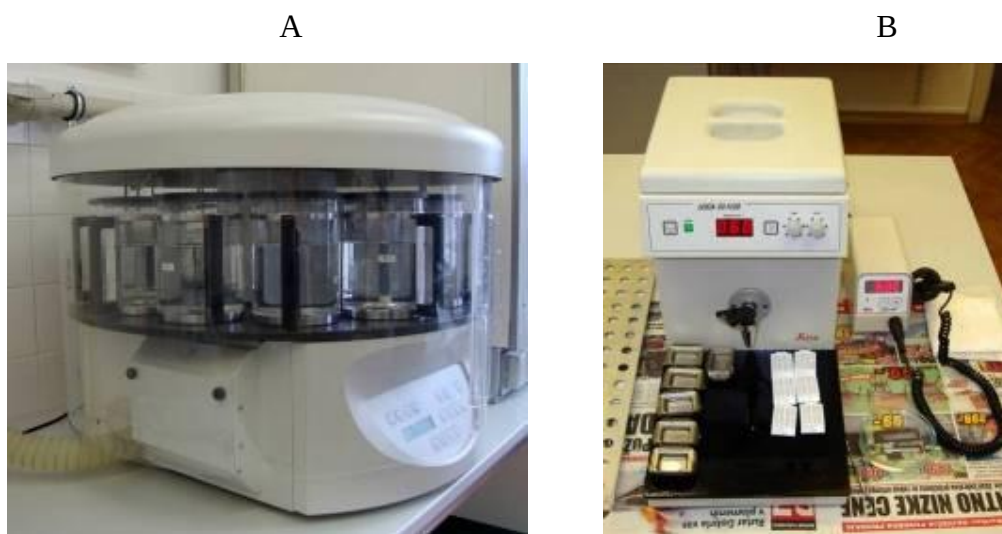
FAA (500 ml FAA vsebuje: 25 ml 37 % formalina, 450 ml 50 % etanola in 25 ml 100 % ocetne kisline).

3.3 SKLADIŠČENJE VZORCEV

Vzorčke smo nato hranili v fiksacijski tekočini, nakar smo jih po sedmih dneh prestavili v 70 % etanol. Na vsak vzoreček smo napisali datum odvzema ter ga spravili v plastičen lonček, ki smo ga predhodno označili s številko drevesa in datumom odvzema.

3.4 PRIPRAVA VZORCEV

Ko se je nabralo določeno število vzorcev, smo jih pripravili za nadaljnjo obdelavo. Z britvico smo najprej odstranili del ksilema in nato v radialni smeri odrezali približno 3 mm debelo rezino, ki smo jo nato prerezali še prečno na višino 3 mm. Tako smo dobili vzoreček velikosti 3 x 3 x 5 mm. Vzoreček smo nato vstavili v kaseto, na katero smo napisali datum odvzema in številko drevesa ter kaseto potopili v posodo, v kateri je bil 70 % etanol. Ko smo posodo napolnili s kasetami, je bila ta pripravljena na infiltracijo. Postopek je potekal v komori za preparacijo tkiv Leica TP 1020. Komora je sestavljena iz 12 reagenčnih posod. V prvih sedmih posodah poteka dehidracija v etanolu. Postopek se prične s 70 % etanolom ter se nadaljuje z 90 %, 95 %, in 100 % etanolom. Čas dehidracije poteka v prvi posodi 2 uri, nato v vsaki naslednji 1,5 ure. Temu sledi dehidracija s 100 % bio-clearom. Ta poteka v treh posodah in v vsaki posodi se dehidrira 1,5 ure. Na koncu imamo še dve posodi napolnjeni s parafinom, v kateri poteka prepajanje po 2 uri.



Slika 7: Komora za preparacijo tkiv Leica TP 1020 (A) ter parafinski dispenzer Leica EG 1120 (B).

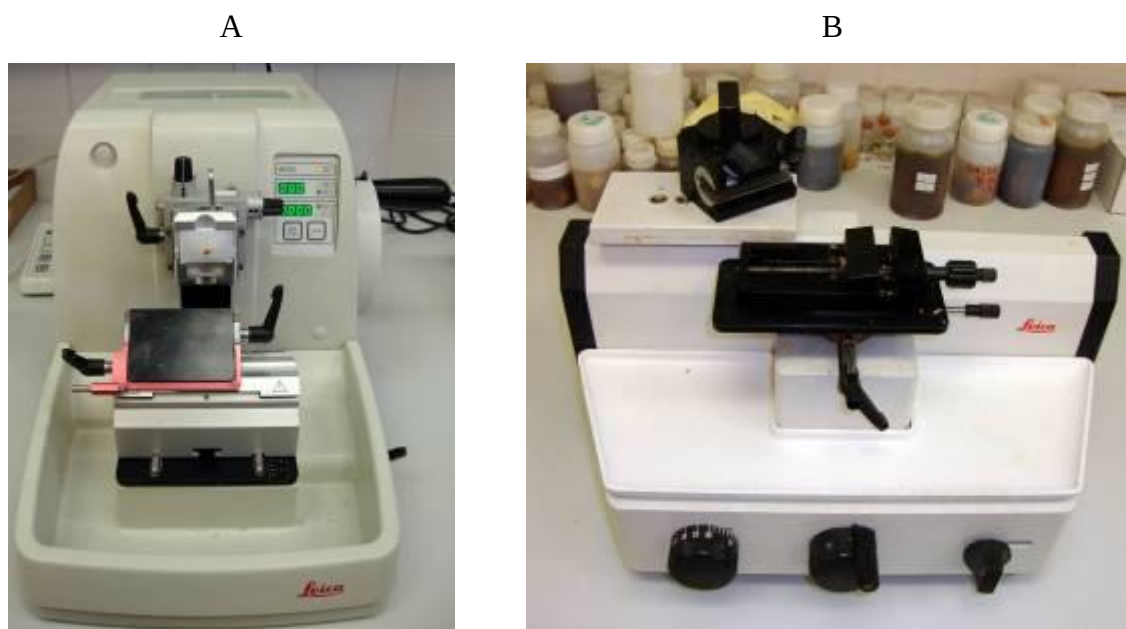
Po zaključenem postopku infiltracije je sledilo vklapljanje v parafin. To je potekalo na parafinskem dispenzerju Leica EG 1120. Kasete smo vzeli iz posode ter jih postavili na grelno ploščo parafinskega dispenzerja. Kasete smo odprli in pokrovčke zavrgli. Preostali del kasete pa smo porabili v nadaljnjem postopku. Iz kasete smo z ogrevano pinceto Leica EG F, ki je imela temperaturo 60°C, vzeli vzoreček ter ga postavili na ogrevano ploščo. Preostanek parafina se je tako stalil. Nato smo v posodico nalili staljen parafin, ki je prav tako imel temperaturo 60°C. To smo nato skupaj z vzorčkom, ki smo ga z ogrevano pinceto pričvrstili na dno, pomočili v petrijevko, ki je bila napolnjena z mrzlo vodo. V vodi smo jo pustili toliko časa, da se je parafin strdil. Nato smo na posodico položili še preostanek kasete in vse skupaj zalili s parafinom. Postavili smo jo na ravno podlago in počakali, da se je parafin ohladil. Ko se je parafin ohladil, smo posodice dali v hladilnik za približno 30 minut. Tako so parafinski blokci sami odstopili od posodic.

Pomembno pri tem postopku pa je, da vzorčke v posodice pravilno orientiramo. Postaviti jih je bilo potrebno na pravilno ravnino, ter jih orientirati pod kotom približno 45°. S tem smo se izognili težavam pri rezanju preparatov (v našem primeru prečnih ali radialnih). Pomembno je tudi, da posodice napolnjene s parafinom predhodno ohladimo na sobni temperaturi in jih šele nato damo v hladilnik. Kajti v nasprotnem primeru bi nam parafin v hladilniku popokal in pri rezanju preparatov bi nam lahko vzoreček izpadel iz parafinskega blokca.

3.5 REZANJE VZORCEV IN IZDELAVA PREPARATOV

Rezanje vzorcev je potekalo s polavtomatskim rotacijskim mikrotomom Leica RM 2245. Rezanje na omenjenem mikrotomu poteka tako, da nož miruje, obdelovanec pa se giblje v vertikalni smeri gor in dol. Ob pomiku obdelovanca navzdol se odreže rezina, ko pa se obdelovanec vrne nazaj na točko nič, se ta pomakne za debelino rezine proti nožu.

Za rezanje smo uporabljali jeklene nože Feather N34H za enkratno uporabo. Da pa smo nož izkoristili v celoti, smo začeli rezilo uporabljati na enem koncu. Ko pa je le to otopelo, smo se pomikali po dolžini rezila naprej.



Slika 8: Polavtomatski rotacijski mikrotom Leica RM 2245 (A) ter drsni mikrotom Leica SM 2000 R (B).

Predno pa smo pričeli z rezanjem, smo morali s parafinskih blokcev odstraniti odvečni parafin. Obrezali smo jih tako, da je okoli vzorčka ostal le še ozek rob parafina. Ploskev namenjeno za rezanje smo nato poravnali na rotacijskem mikrotomu in nato vzorce namočili v vodo. V vodi smo jih namakali najmanj 24 ur in pri tem se je ksilemsko tkivo nekoliko zmečalo, zaradi česa je bilo rezanje lažje.

Pred rezanjem smo mikrotom nastavili na debelino rezin 8 μm . V primeru, da pri rezanju nismo dobili lepih rezin, smo morali prilagajati debelino odrezka. Pri rezanju smo na

mikrotomu dobili neskončen trak in ko smo videli, da so rezine lepe, smo trak s pomočjo pincete prestavili v mrzlo vodo. Nato smo jih s pomočjo stekla prestavili v toplo vodo, ki je imela temperaturo 38°C. Pri tem so se rezine nekoliko raztegnile. Te smo pobrali iz vode na objektno steklo, ki smo ga predhodno namazali z albuminom za boljšo oprijemnost. Na vsako steklo smo napisali številko drevesa in datum odvzema. Nato smo stekla položili v stekleno košarico, to pa smo dali v laboratorijski sušilnik na temperaturo 70°C za 20 minut.

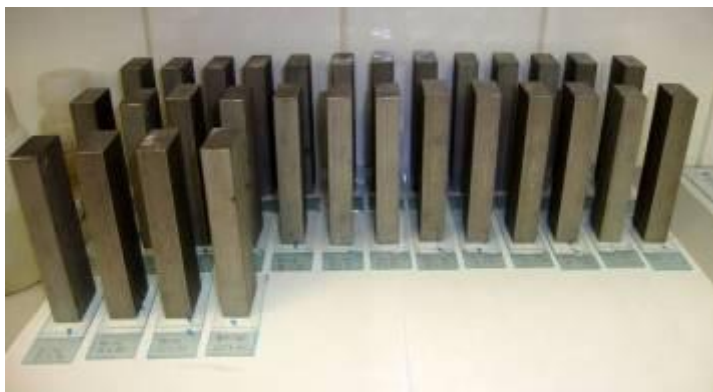
Po končanem sušenju smo košarico z objektnimi stekli pustili, da se ohladi na sobni temperaturi. Temu je sledila izpostavitve v 100% raztopini bio-cleara, nato spiranje v 100% etanolu in na koncu barvanje.

Posodice so si sledile po vrsti in sicer najprej dve z bio-clearom, nato dve z etanolom in na koncu še ena za barvila. V vseh je bil čas izpostavitve 15 minut, razen v barvilu sem preparate pustil 30 minut.

Barvanje je potekalo v mešanici barvila, ki smo ga pripravili tako, da smo v 100 ml destilirane vode dodali 40 mg safranina, 150 mg astra modre in 2 ml očetne kisline (Van der Werf in sod. 2007).

Ko so bile rezine obarvane, smo jih izpostavili raztopini 100 % etanola, da so se dehidrirale. Nato smo vsako steklo posebej vzeli iz alkohola, ga obrisali, nanj kapnili vklopni medij Euparal, nanj položil krovno steklo ter odstranil mehurčke zraka, ki so se nabrali pod krovnim steklom. Na koncu smo preparate še obtežili z 200 g utežmi in jih pustili vsaj 24 ur, da se je Euparal strdil.

Ko so bili preparati suhi, smo jih zložili v škatle in sicer po številki drevesa in po datumu odvzema.



Slika 9: Sušenje preparatov obteženih z 200 g utežmi.

Rezanje preparatov, ki smo jih uporabili za analizo škroba je potekalo na drsnem mikrotomu Leica SM 2000 R. Preparati so bili narejeni na vzorčkih drevesa št. 4. Naključno pa so bili izbrani datumi odvzema in sicer en januarski, dva februarska in en marčevski. Vsaj en preparat je bil pripravljen iz vzorca odvzetega ob polni in ob prazni luni. Rezanje in izdelavo preparatov je opravil Peter Prislan.

Rezanje je potekalo tako, da smo najprej iz vzorčkov, ki so bili shranjeni v 70 % etanolu z olfa nožem naredili količke velikosti 1 x 1 x 1 cm. Nato smo jih vpeli v držalo tako, da je bil prečni prerez obrnjen navzgor. Z nožem, ki je bil prav tako vpet v držalo nad količkom, smo nato v horizontalni smeri potegnili nož in odrezali rezino. Ko se je nož vrnil v izhodiščni položaj, se je pomaknil za nastavljeno debelino rezine proti količku. Rezali smo rezine debele 10 μm , ki smo jih s pomočjo čopiča prestavili v jodovo raztopino (2g kalijevega jodida in 1 g joda smo raztopili v 100 ml vode), ki omogoča kvalitativno dokazovanje škroba. Po približno 5 minutah smo rezino s pomočjo čopiča položili na objektno steklo, to rahlo sprali z destilirano vodo, nanjo kanili glicerin in jo pokrili s krovnim steklom. Na preparat smo napisali še datum odvzema in številko drevesa. Enak postopek smo ponovili pri rezanju radialnega prereza.

3.6 HISTOMETRIČNA ANALIZA

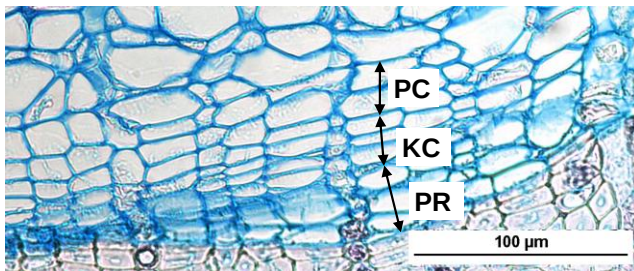
Izdelane preparate smo analizirali s pomočjo svetlobnega mikroskopa Nikon Eclipse E 800, digitalne kamere, osebnega računalnika in računalniškega programa Nis-Elements BR 3.0. Omenjeni program omogoča mnogo funkcij, toda pri delu smo uporabljali le določene kot so štetje celic, merjenje dolžin, merjenje površine in fotografiranje. Pri mikroskopiranju smo največ uporabljali 4x, 10x in 20x povečavo. Povezava med mikroskopom in računalnikom omogoča, da na monitorju spremljamo živo sliko preparata. Tako si poiščemo na preparatu primerno mesto, ki ga želimo izmeriti, ga izostrimo in skalibriramo (to pomeni, da v programu označimo povečavo objektiva). Po potrebi na mikroskopu še povečamo jakost svetlobe. Sledijo meritve, ki se shranjujejo v tekstovni datoteki, ki jo nato izvozimo v Excelov dokument za nadaljnjo obdelavo.



Slika 10: Osebni računalnik (levo) ter svetlobni mikroskop Nikon Eclipse E 800 (desno)

Merjenje je potekalo tako, da smo najprej v Excelovem dokumentu sestavili tabelo, ki je vsebovala številko drevesa, datum odvzema in rubirke za zapis števila kambijevih celic, širine kambijeve cone, števila floemskih celic in širino floemskih celic. Nato smo pod mikroskopom na preparatu poiskali mesto merjenja, sliko preklpili v program Nis-Elements BR 3.0 in pričeli z merjenjem. Najprej smo prešteli število kambijevih celic. Pri vsakem štetju smo vzeli tri nize celic. Nato smo izmeril še širino kambijeve cone in podatke prepisali v Excelovo tabelo. Enako smo naredili s floemskimi celicami. V primerjavi s kambijevimi celicami so imele nediferencirane floemske celice večje radialne

dimenzije. Ko smo vse meritve opravili, smo podatke grafično obdelali v Excelovem dokumentu.

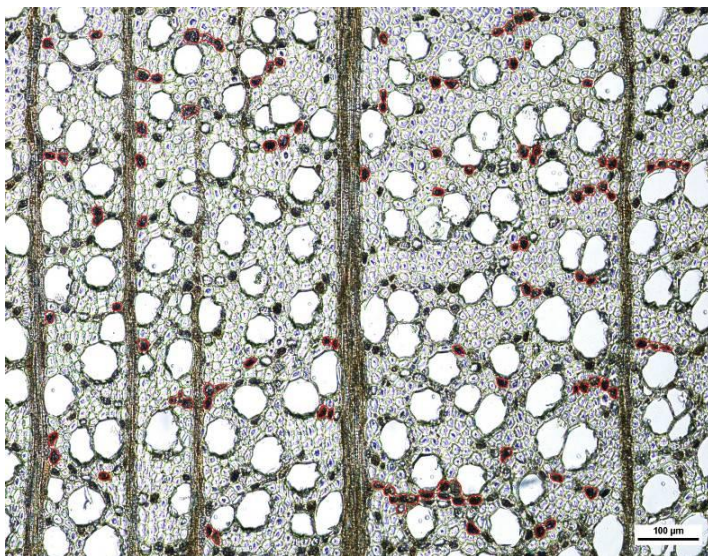


Slika 11: Kambijeva cona (KC), sloji nediferenciranih sitastih cevi v floemu (PC) ter novo nastale ksilemske celice (PR) pri bukvi št. 3 (datum vzorčenja 25. 4. 2010).

Za kvalitativno določanje škroba na prečnih in radialnih prerezih preparatov smo uporabili jodovo raztopino (2g kalijevega jodida in 1 g joda smo raztopili v 100 ml vode).

Ker obarvanje z jodom ni trajno, smo takoj po obarvanju posneli fotografije, ki smo jih naknadno analizirali s sistemom za analizo slike Nis Elements 3.0.

Za histometrične analize smo prešteli in izmerili površino območij obarvanih črno. Iz razmerja med črno obarvanih površin in površinah slike smo sklepali o količini škroba. Na vzorcih odvzetih v času polne lune in mlaja. Meritev smo opravili na zadnji četrtini branike drevesa 4.

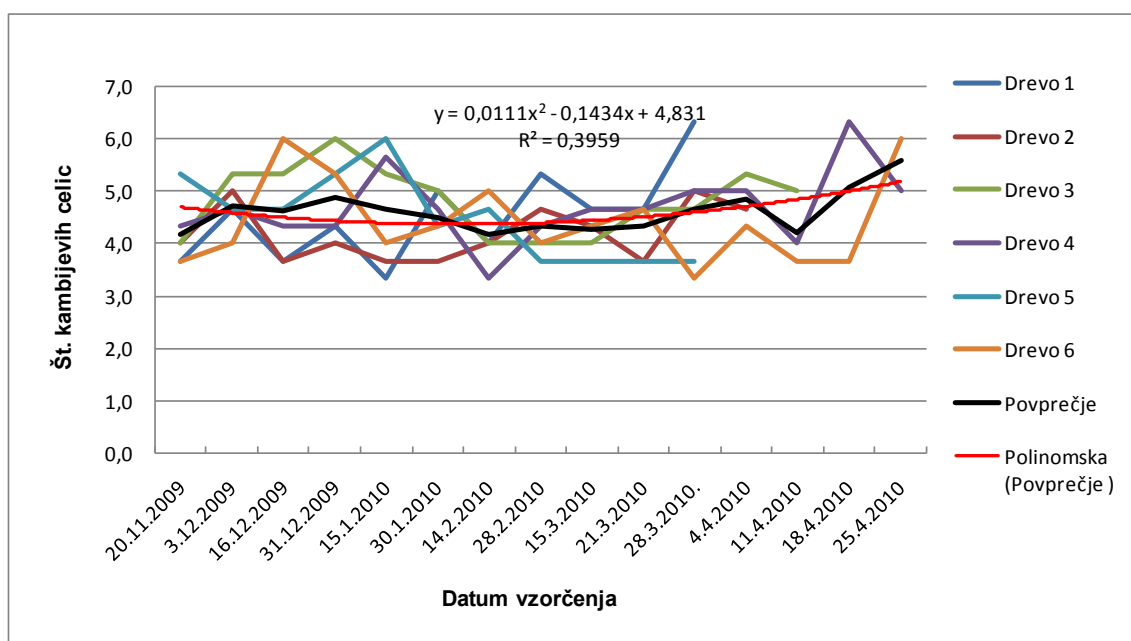


Slika 12: Prečni prerez lesa bukve št. 4 (zunanja branika) obarvane z jodom; datum vzorčenja 28. 3. 2010 v času polne lune

4 REZULTATI IN RAZPRAVA

4.1 DORMANTNA KAMBIJEVA CONA IN FLOEM

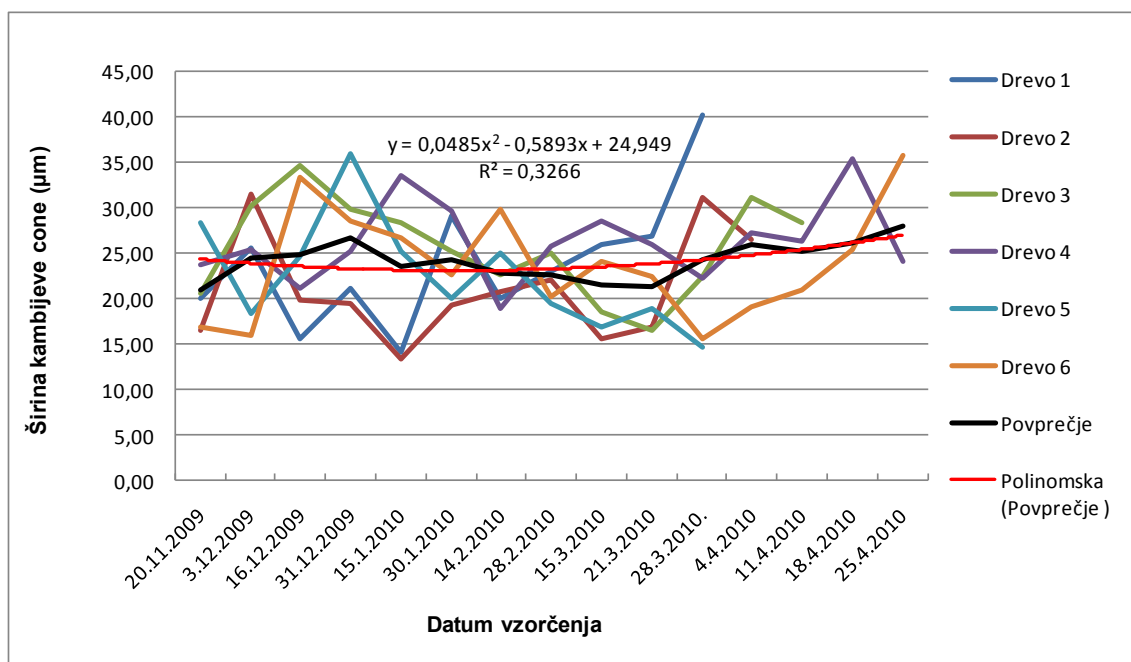
Pred začetkom histometričnih meritev smo dormantne kambijeve celice, na podlagi njihovih morfoloških karakteristik, ločili od ksilemskih in floemskih celic. Celice dormantne kambijeve cone so bile urejene v radialnih nizih, bile so radialno sploščene in so imele nekoliko odebeljeno celično steno. Ob koncu eksperimenta oz. dormantne dobe se je celična stena kambijevih celic začela tanjšati, radialne dimenzije pa večati.



Slika 13: Število celic v kambijevi coni pri šestih bukvah v obdobju od 20. 11. 2009 do 25. 4. 2010

Slika 13 prikazuje število kambijevih celic v odvisnosti od datuma vzorčenja pri šestih bukvah. Povprečno število celic je bilo med dormantnim obdobjem konstantno in je znašalo 4 do 5 slojev celic (natančno $4,6 \pm 0,4$). 25. 4. 2010, ko smo opazili spremenjene morfološke karakteristike celic značilne za aktivno kambijevo cono, se je število celic povečalo na 5 do 6 slojev. Takrat smo vzorčenje zaključili.

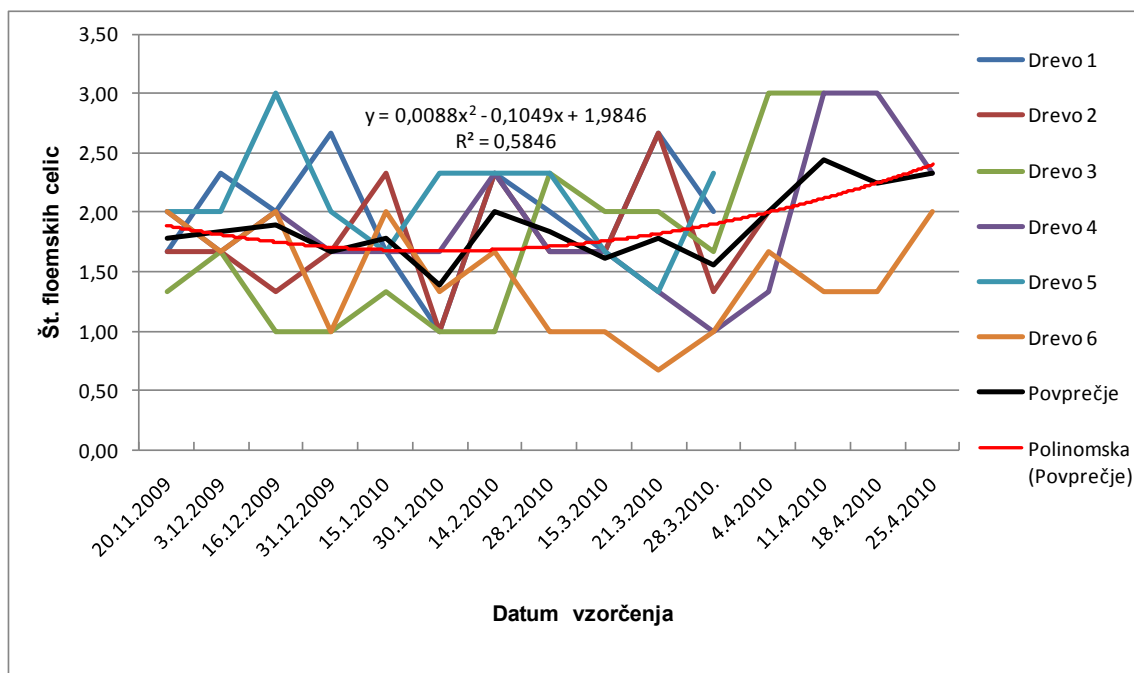
Pri drevesu 3, 5 in 6 smo med dormantnim obdobjem (med 3. 12. 2009 in 30.1.2010) opazili okoli 6 celic v radialni vrsti. Kljub povečanemu številu plasti, pa so celice imele karakteristike, kot jih imajo celice v dormantnem stanju in sklepamo, da gre zgolj za variabilnost števila po obodu. Tudi pri drevesu št. 1 smo na vzorcu odvzetem 28. 3. 2010 opazili podobno stanje.



Slika 14: Širina kambijevе cone pri šestih bukvah v obdobju od 20. 11. 2009 do 25. 4. 2010

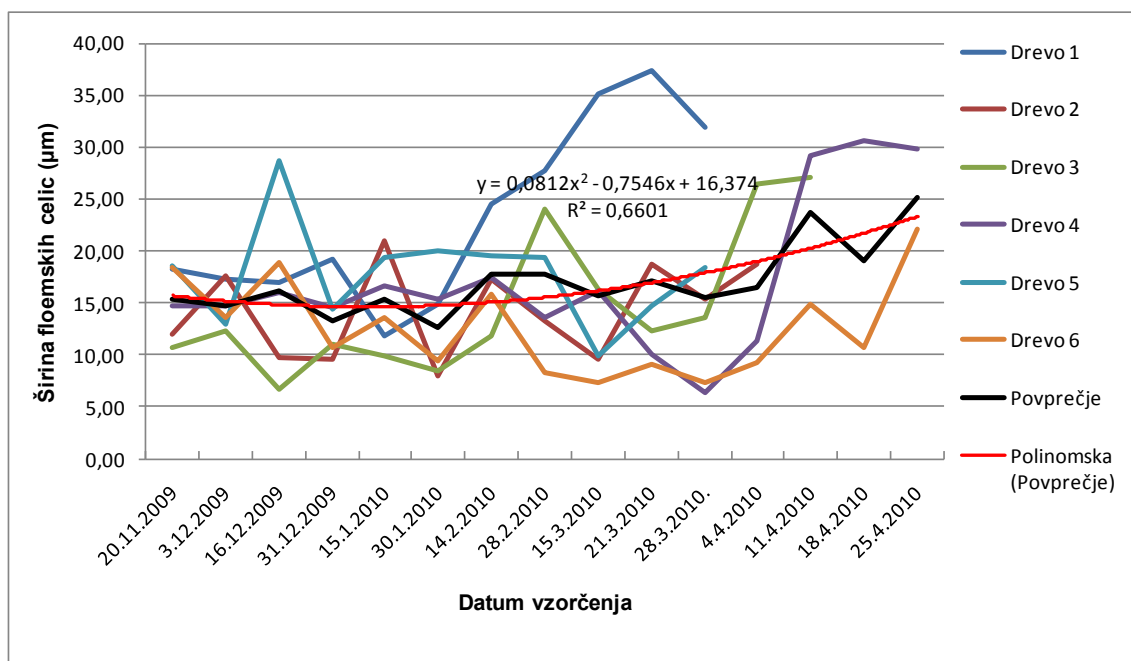
Slika 14 pa prikazuje širino dormantne kambijevе cone v odvisnosti od datuma vzorčenja pri šestih bukvah. Dormantna kambijeva cona (od 20. 11. 2009 do 18. 4. 2010) je bila pri opazovanih bukvah široka v povprečju okoli 24 μm (±1,85). V aprilu pa je širina kambijevе cone pričela naraščati in je pri zadnjem vzorčenju 25. 4. znašala povprečno 28 μm.

Potek krivulj, ki prikazujejo širino kambijevе cone oz. število celic v kambijevi coni v odvisnosti od časa so bile primerljive. Standardni odklon pa je bil pri podatkih o širini večji, kot pri številu celic. To bi lahko pripisali pripravi preparatov (pri tem, ko se rezina položi na objektno steklo, se nekoliko raztegne).



Slika 15: Število floemskih celic pri šestih bukvah v obdobju od 20. 11. 2009 do 25. 4. 2010

Spremljali smo tudi nediferencirane celice sekundarnega floema ob kambiju. Spremljali smo, koliko sitastih celic na floemski strani prezimi (to so celice, ki nastanejo ob koncu rastne sezone vendar njihova diferenciacija ne poteče do konca), ter ali se njihovo število in oblika tekom dormantnega obdobja spreminja. Število nediferenciranih sitastih celic je bilo v času dormantnega obdobja med 1 in 2 (v povprečju 1,74) na radialni niz. V času eksperimenta nismo opazili večjih odstopanj. V aprilu pa je povprečno število celic naraslo na 2-3 sloja celic (v povprečju 2,26). Nove floemske sitaste cevi (ki so nastale z delovanjem kambija) so se pojavile v aprilu in sicer 18. 4. 2010 pri drevesih 2, 4, 5 in 6.

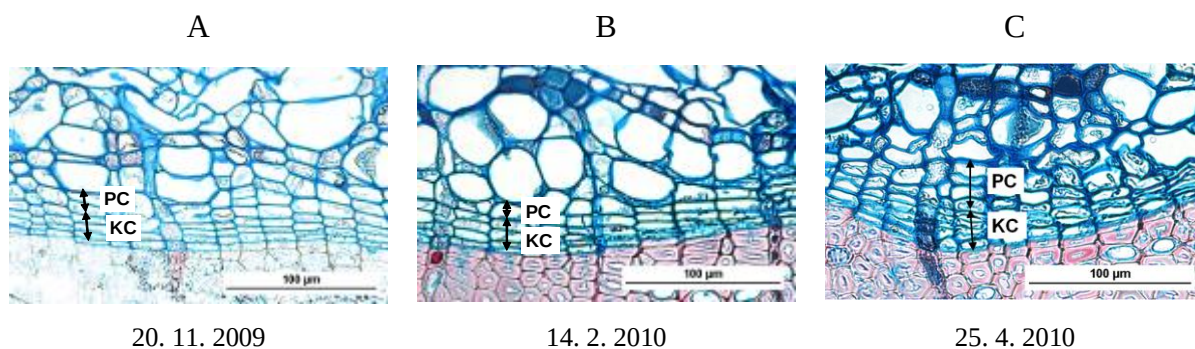


Slika 16: Širina sloja nediferenciranih sitastih cevi v odvisnosti od časa pri šestih bukvah v obdobju med 20. 11. 2009 in 25. 4. 2010.

Slika 16 prikazuje širino sloja nediferenciranih sitasti cevi na floemski strani kambijeve cone v odvisnosti od časa pri šestih bukvah v obdobju med 20. 11. 2009 ter 25. 4. 2010. Širina sloja sitastih cevi je od 20.11.2009 do 28.3.2010 znašala okoli 15 µm ($\pm 1,6$). Od 4.4.2010 pa do 25.4.2010 pa je širina sloja sitastih cevi narasla v povprečju na 21 µm (± 4).

4.2 KAMBIJEVA CONA IN SITASTE CEVI V DORMANTNEM OBDOBJU

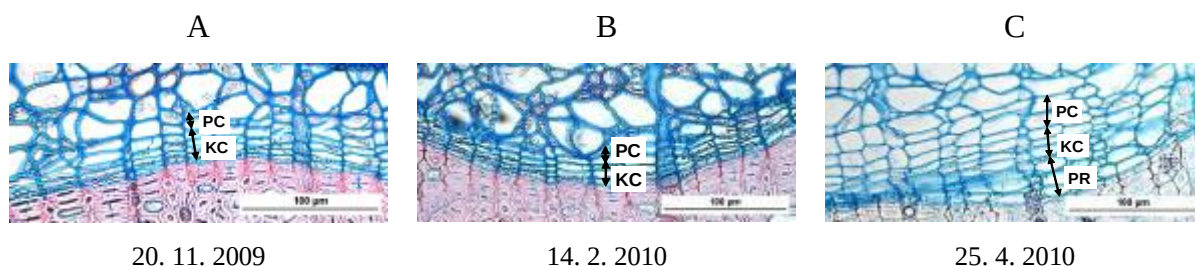
Spodnje slike (slike 17, 18, 19) prikazujejo stanje na območju kambijeve cone na sredini in proti koncu dormantnega obdobja ter začetek reaktivacije kambijevih delitev pri treh izbranih drevesih:



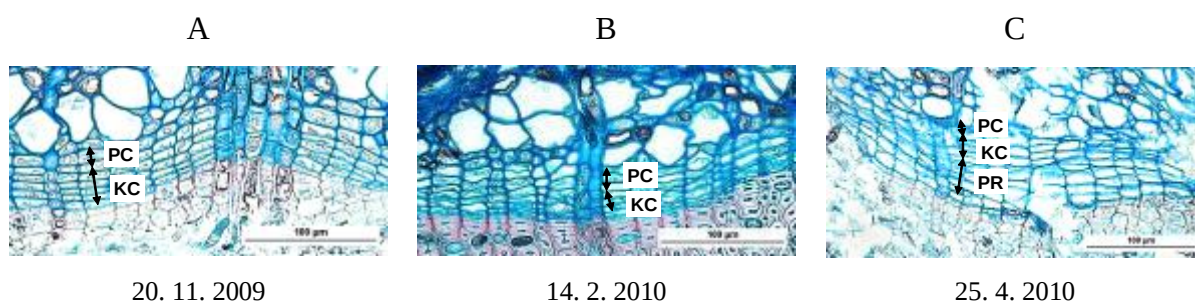
Slika 17: Kambijeva cona (KC) in sloji nediferenciranih sitastih cevi v floemu (PC) pri bukvi št. 1 na različne datume odvzema.

Kambijeva cona dreves 1, 3 in 4 (slika 17, 17, 19) je sredi dormantnega obdobja (20. 11. 2009) v radialnih nizih vsebovala 3 do 4 sloje celic. Nad kambijem pa je bilo mogoče v radialnih nizih prešteti 1 do 2 sloja nediferenciranih floemskih celic. Proti koncu dormantnega obdobja (14. 2. 2010) je bilo stanje podobno, le pri drevesu 4 (slika 20) je bilo mogoče opaziti nekoliko večje število kambijevih celic (okoli 5), sicer še dormantnim značajem (debele stene, majhne radialne dimenzije).

V drugi polovici aprila (25. 4. 2010) smo pri vseh opisanih drevesih opazili pričetek delitvenih aktivnosti v kambijevi coni - število plasti v radialnih nizih kambijeve cone se je povečalo na 6. Število plasti sitastih cevi pa se je pri drevesu 1 povečalo za eno plast v drevesih 3 in 4 pa za dve plasti v radialnem nizu. Novonastale ksilemske celice se 25. 4. 2010 pri drevesu 1 še niso pojavile. Pri drevesih 3 in 4 pa smo pod kambijevo cono v radialnih nizih opazili tri do štiri sloje prvih ksilemskih celic v fazi postkambialne rasti (PR). Za ksilemske in floemske celice pa so bile v tem obdobju značilne tanke celične stene z nekoliko povečanimi radialnimi dimenzijami.



Slika 18: Kambijeva cona (KC) in sloji nediferenciranih sitastih cevi v floemu (PC) pri bukvi št. 3 na različne datume odvzema.



Slika 19: Kambijeva cona (KC) in celice floema v fazi primarne stene (PC) pri bukvi št. 4 v različnih obdobjih.

4.3 ŠTEVILO CELIC V FLOEMU IN V KSILEMU

Preglednica prikazuje število novonastalih floemskih sitasti cevi in novonastalih ksilemskih celic v obdobju začetka kambijeve aktivnosti (od 18. 4. in 25. 4. 2010). Iz preglednice je razvidno, da so se 18. 4. začele prve delitve celic pri drevesih 2, 4, 5 in 6. V času med 18. 4. in 25. 4. 2010 so se celice kambija začele deliti in proizvajati prve celice ksilema.

Preglednica 2: Prikaz števila novonastalih floemskih in ksilemskih celic pri šestih bukvah

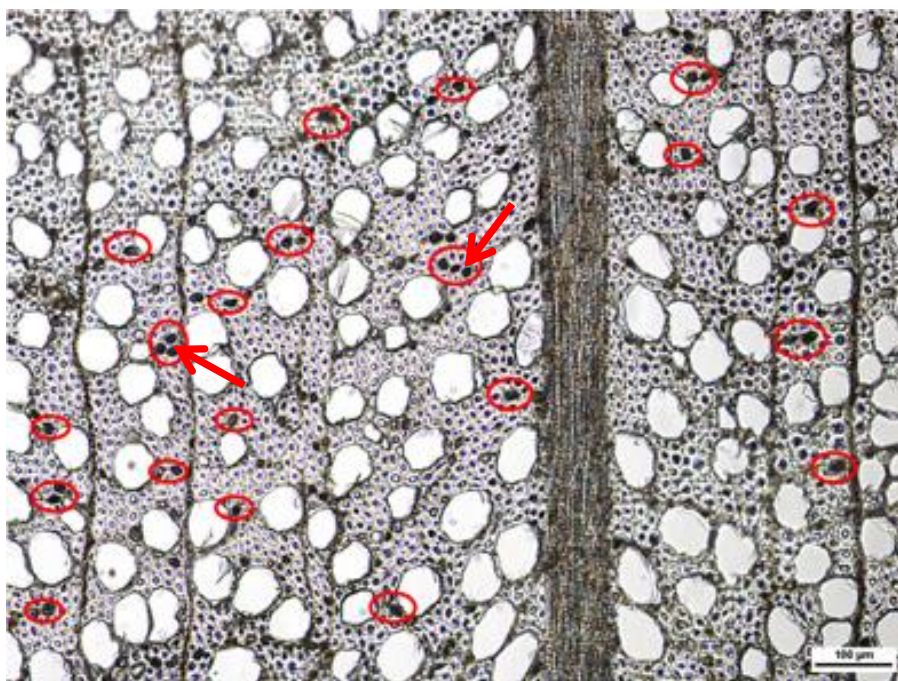
Št. drevesa	1		2		3		4		5		6	
Datum	št. floemskih celic	št. ksilemskih celic	št. floemskih celic	št. ksilemskih celic	št. floemskih celic	št. ksilemskih celic	št. floemskih celic	št. ksilemskih celic	št. floemskih celic	št. ksilemskih celic	št. floemskih celic	št. ksilemskih celic
18.4.2010	/	/	3,00	0 *	/	/	3,00	0	1,67	0	1,33	0
25.4.2010	2,67	0	/	/	2,33	3	2,33	4	/	/	2	2

* začetek delitve celic

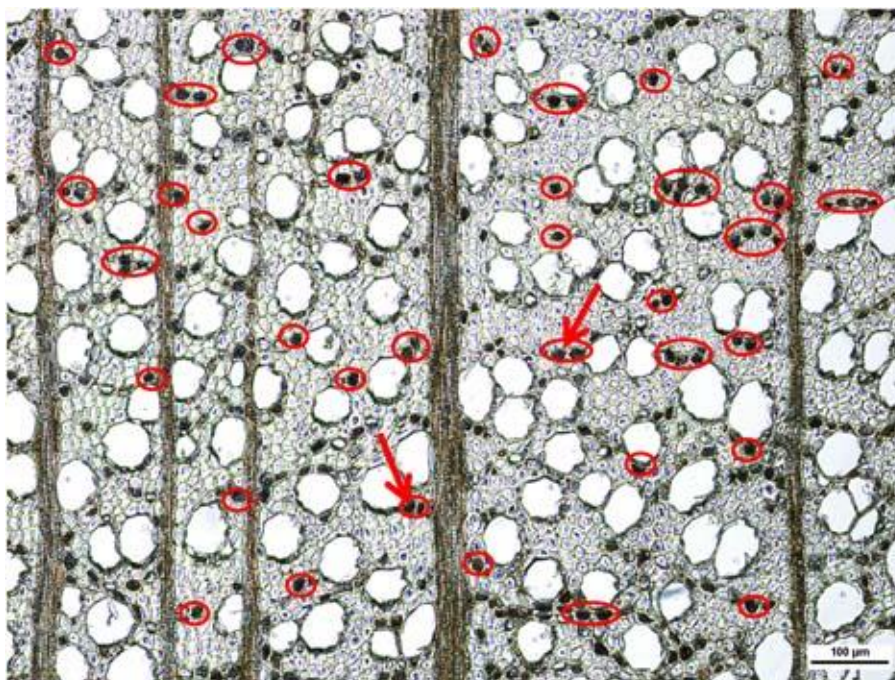
/ ni podatka

4.4 VSEBNOST ŠKROBA V PARENHIMSKIH CELICAH NAJMLAJŠE BRANIKE

Slika 20 in Slika 21 prikazujeta prečni prerez lesa bukve obarvane z jodovo raztopino. Temnejša polja obkrožena z rdečo barvo (nakazana z rdečo puščico) prikazujejo aksialni parenhim, kjer se v plastidih nahajajo škrobna zrna (z rdečo obrobo sem nakazal le lokalna mesta na sliki, ne pa celotne fotografije). Ob mlaju (14. 2. 2010) je bilo z jodom obarvane 0,092%, površine, ob polni luni (28. 3. 2010) pa 0,138%. Dobljeni podatki kažejo, da je prečni prerez razkril večjo vsebnost škroba ob polni luni kot ob mlaju. Glede na velikost vzorca pa razlike niso statistično značilne. Najverjetneje gre za manjše razlike v številu/koncentraciji škrobnih zrn v parenhimskem tkivu, zato uporabljena metodologija (kombinacija histološkega obarvanja z jodom in analiza slik) ni najbolj primerna. Bolj primerna bi bila npr. analitična metoda kot je HPLC.

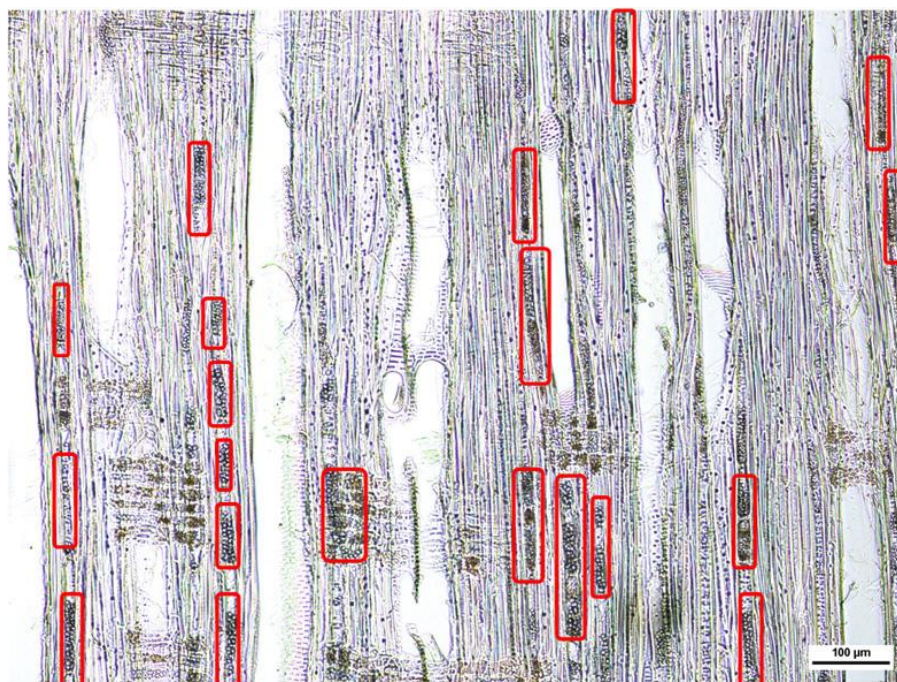


Slika 20: Prečni prerez lesa bukve št. 4 (zunanja branika) obarvane z jodom; datum vzorčenja 14. 2. 2010 v času mlaja.

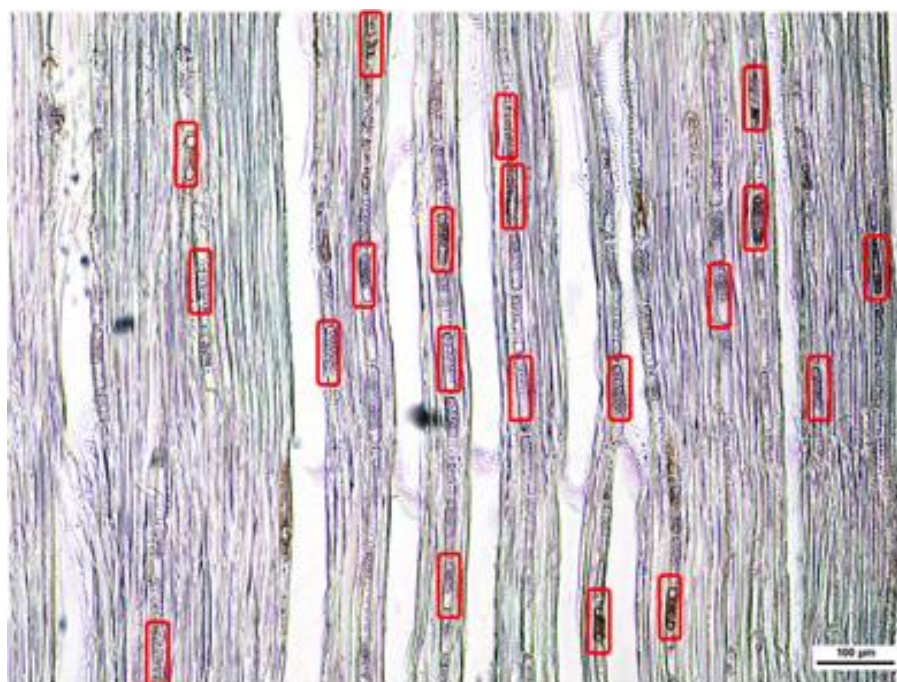


Slika 21: Prečni prerez lesa bukve št. 4 (zunanja branika) obarvane z jodom; datum vzorčenja 28. 3. 2010 v času polne lune

Slika 22 in Slika 23 prikazujeta radialni prerez bukve obarvane z jodovo raztopino. Rdeči kvadrati prikazujejo polja škrobnih zrn, ki so se obarvala temneje (na sliki sem prikazal le lokalna območja, ki bolj odstopajo, ne pa celotne slike). Iz obstoječih slik bi lahko sklepali, da je v času mlaja bila vsebnost škroba večja kot ob polni luni.

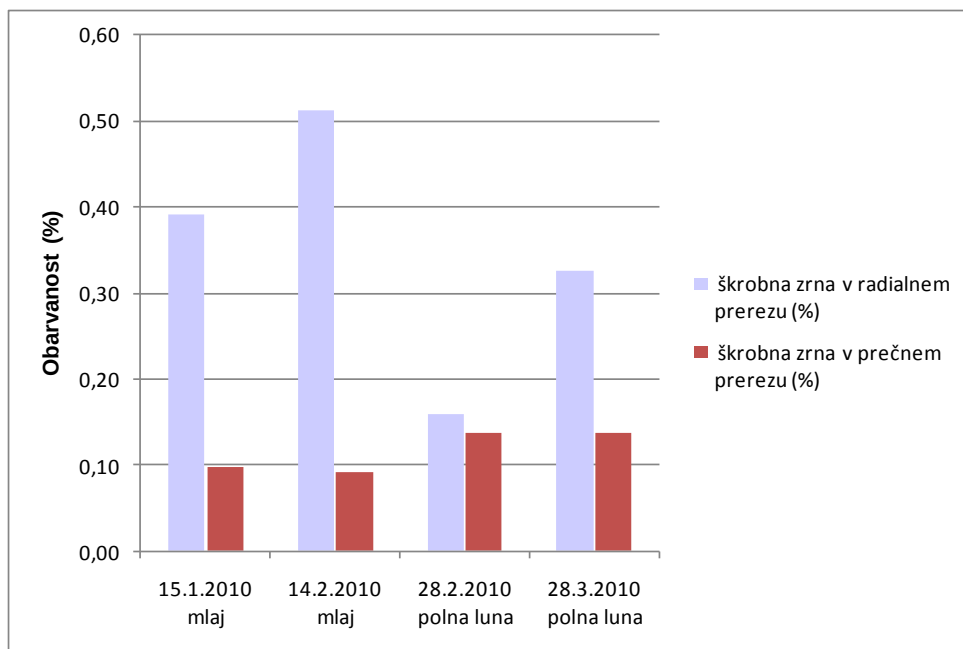


Slika 22: Radialni prerez lesa bukve št. 4 (zunanja branika) obarvane z jodom; datum vzorčenja 14. 2. 2010
(mlaj)



Slika 23: Radialni prerez bukve št. 4 (zunanja branika) obarvane z jodom; datum vzorčenja 28. 3. 2010
(polna luna)

Slika 24 prikazuje kvantitativno oceno vsebnosti škroba v parenhimskih celicah v odvisnosti od časa pri vzorcih, ki smo jih odvzeli v štirinajst dnevni presledkih in sicer ob polni luni in ob mlaju.



Slika 24: Rezultati histometrične analize obarvane z jodom pri drevesu št. 4.

Histometrična analiza na prečnem prerezu preparata (rdeči stolpci) je pokazala, da je v času mlaja površina obarvanja manjša kot ob polni luni. Povprečno se razlikuje za približno 0,05%. Pri radialnem prerezu pa je rezultat ravno obraten. V času mlaja je vsebnost škroba bistveno večja in se v povprečju od polne lune razlikuje nekje do 0,20%.

Iz grafa je tudi razvidno, da je v radialnem prerezu bistveno večja obarvanost, kot v prečnem. To je posledica tega, da v prečnem prerezu vidimo le območja aksialnega parenhima, v radialnem prerezu pa vidimo škrobna zrna po vsej aksialni dolžini.

Slika 24 nam prikazuje vsebnost škroba pri različnih vzorčenjih. Iz omenjenega grafa pa ne moremo trditi ali je na vsebnost škroba vplivala luna, kajti imeli smo premajhno število vzorcev in testirali smo premajhen delež v lesu.

5 SKLEPI

Pri proučevanju števila celic v radialnih nizih kambijeve cone smo ugotovili, da je skozi dormantno obdobje število celic kambijeve cone variiralo od 4 do 5. Povečanje števila celic smo zabeležili na vzorcih odvzetih 18. 4. 2010, ko je število celic na radialni niz naraslo nad 5. Širina kambijeve cone je v obdobju dormance znašala okoli 24 μm .

V floemu tik ob kambijevi coni smo v dormantnem obdobju zabeležili 1 do 2 nediferencirani sitasti celici na radialni niz. Nove nastale sitaste celice floema smo pri večini dreves zabeležili 18. 4. 2010.

Glede na zgoraj navedeno ugotavljamo, da smo po zaključku dormantnega obdobja prve delitve v kambiju zabeležili na vzorcih tkiv odvzetih 18. 4. 2010. Takrat so že nastale prve nove floemske celice in sicer v povprečju 4 sloje celic. Novih ksilemskih celic ob odvzemu 18. 4. 2010 še nismo opazili. Opazili smo jih na vzorcih odvzetih 25. 4. 2010. Glede na zgoraj navedeno, je kambij prej proizvedel prve floemske kot prve ksilemske celice.

Na preparatih, ki smo jih obarvali z jodom, so se škrobna zrna v parenhimskih celicah temno obarvala. Obarvana površina z jodom je bila bolj opazna na prečnem, kot na radialnem prerezu. Pri tem je treba upoštevati, da je obarvanje z jodom netrajno, zato je treba analize opraviti takoj po pripravi in barvanju preparatov.

Raziskave nam niso omogočile ocene vpliva luninih men na dogajanja v živih celicah kambijeve cone, floema in lesa.

6 POVZETEK

Bukev (*Fagus sylvatica*) je pri nas najbolj razširjena in pomembna drevesna vrsta. Les bukve je sestavljen iz celic, ki nastanejo z delovanjem kambija, zato je bilo v zadnjem času izvedenih veliko študij, ki proučujejo nastajanje lesa pri bukvi (Prislan, 2007, Čufar in sod., 2008, Prislan in sod., 2010). Omenjene objave so posvečene raziskavam v rastni sezoni. Doslej še ni bilo raziskano kaj se s kambijevo cono in nediferenciranimi floemskimi celicami dogaja pozimi, v obdobju mirovanja, zato smo se odločili, da bomo vzorčenje za raziskave na drevesih opravili v zimskem času.

Cilji diplomske naloge so bili:

- d) raziskati širino kambijeve cone v dormantnem obdobju 2009/2010 in določiti čas reaktivacije kambija v letu 2010,
- e) spremljati število nediferenciranih floemskih celic ob kambiju in določiti čas nastanka prvih floemskih celic v letu 2010,
- f) spremljati vsebnost in morebitno variiranje škroba v parenhimskih celicah v odvisnosti od časa in luninih men.

Iz živih dreves smo odvzeli tkiva, ki so vsebovala les, kambijevo cono in floem. Za raziskavo smo uporabili metodo vzorčenja intaktnih tkiv in sicer na šestih bukvah na rastišču pri Šentjurju. Z vzorčenjem tkiv iz smo pričeli 20. 11. 2009 in ga zaključili 25. 4. 2010. Iz v parafin vklopljenih intaktnih tkiv smo v laboratoriju Katedre za tehnologijo lesa s pomočjo rotacijskega mikrotoma pripravili trajne mikroskopske preparate debeline 8 do 10 µm obarvane s safraninom in astra modrim. Za analizo škroba smo preparate odrezali z drsnim mikrotomom in jih obarvali z jodom. Vse meritve tkiv in štetje celic smo opravili s pomočjo svetlobnega mikroskopa, digitalne kamere, osebne računalnika ter računalniškega programa za analizo slike. Opazovali smo kambijevo cono ter floemske in ksilemske celice. Pri analizi škroba smo določili površinski delež temneje obarvanih škrobnih zrn v parenhimskih celicah lesa.

Pri proučevanju števila celic v radialnih nizih kambijeve cone smo ugotovili, da je skozi dormantno obdobje število celic kambijeve cone variiralo od 4 do 5. Povečanje števila celic smo zabeležili na vzorcih odvzetih 18. 4. 2010, ko je število celic na radialni niz naraslo nad 5. Širina kambijeve cone izražena v mikrometrih je v obdobju dormance bila okoli 24 μm .

V floemu tik ob kambijevi coni smo v dormantnem obdobju zabeležili 1 do 2 nediferencirani sitasti celici na radialni niz. Nove nastale sitaste celice floema smo pri večini dreves zabeležili 18. 4. 2010.

Glede na zgoraj navedeno ugotavljamo, da smo po zaključku dormantnega obdobja prve delitve v kambiju zabeležili na vzorcih tkiv odvzetih 18. 4. 2010. Takrat so že nastale prve nove floemske celice in sicer v povprečju 4 sloje celic. Novih ksilemskih celic ob odvzemu 18. 4. 2010 še nismo opazili. Opazili smo jih na vzorcih odvzetih 25. 4. 2010. Glede na zgoraj navedeno, je kambij prej proizvedel prve floemske kot prve ksilemske celice.

Na preparatih, ki smo jih obarvali z jodom, so se škrobna zrna v parenhimskih celicah temno obarvala. Škrobna zrna so bila bolj opazna na prečnem, kot na radialnem prerezu, zato ugotavljamo, da je za proučevanje prisotnosti škroba primernejši prečni prerez. Pri tem je treba upoštevati, da je obarvanje z jodom netrajno, zato je treba analize opraviti takoj po pripravi in barvanju preparatov. Uporaba sistema za analizo slike za določevanje količine škroba v celicah je zamudna in nam v našem primeru ni omogočila, da bi pridobili zanesljive rezultate.

Raziskave nam niso omogočile ocene vpliva luninih men na dogajanja v živih celicah kambijeve cone, floema in lesa.

7 VIRI

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

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

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: 749-758

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

Gričar J., Krže L., Čufar K. 2009. Relationship among number of cells in xylem, phloem and dormant cambium in silver fir (*Abies alba* Mill.) trees of different vitality. *IAWA Journal* 30 (2): 121-133

Grosser D. 1977. Die Hölzer Mitteleuropas. Berlin, Heidelberg, New York, Springer-Verlag: 208 str.

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

Kunaj J. 2007. Tradicionalna pravila za določanje časa poseka lesa. Diplomsko delo. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za lesarstvo: 89 str.

Mladinska knjiga, Založba d.d. Ažvednik je prvi in edini.
http://www.mladinska.com/azevednik/azevednik_je_prvi_in_edini# (10.11.2010)

Možina I. 1952. Sečna doba in kakovost lesa. *Gozdarski vestnik*, 10: 9–22

- Paungger J., Poppe T. 1995. Vse ob pravem času–uporaba luninega koledarja v vsakdanjem življenju. 1. Izdaja. Celje, Mavrica d.o.o: 213 str.
- Prislan P. 2007. Nastajanje lesa pri bukvi (*Fagus sylvatica* L.) v rastni sezoni 2006. Diplomsko delo. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, 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 =Wood formation in beech from two sites at different altitudes. Les, 62 (5): 164-170
- Richter H.G, Dallwitz M.J., 2005. Commercial timbers: descriptions, illustrations, identification and information retrieval. In english, French, German and Spanish. Računalniški program.
- Schweingruber F. H. 1990. Mikroskopische Holzanatomie. Anatomie microscopique du bois. Microscopic Wood Anatomy. Birmensdorf, Eidgenössische Forschungsanstalt für Wald: 226 str.
- Torelli N. 1990. Les & Skorja. Wood & Bark. Holz & Rinde. Slovar strokovnih izrazov. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, VTOZD za lesarstvo: 70 str.
- Torelli N. 2002. Lunarni les ali les posekan ob "pravem" času. Les, 54, 1-2: 19-20
- Torelli N. 2005a. Lunarni les – mit ali resničnost. Zbornik gozdarstva in lesarstva, 76: 71–101
- Torelli N. 2005b. Lunski les, drugič. Les, 57, 1–2: 17-20
- Wagenführ R. 1996. Holzatlas. Leipzig, Fachbuchverlag: 688 str.

ZAHVALA

Iskreno se zahvaljujem mentorici prof. dr. Katarini Čufar za vodenje, pomoč in nasvete pri diplomski nalogi. Enako se zahvaljujem tudi mlademu raziskovalcu Petru Prislanu za vso pomoč in nasvete pri diplomski nalogi. Zahvala gre tudi vsem ostalim zaposlenim v Katedri za tehnologijo lesa, ki so kakorkoli prispevali k moji diplomski nalogi.

Zahvaljujem se tudi dr. Jožici Gričar za recenzijo diplomske naloge.

Zahvaljujem pa se tudi družini in Katji, ki so me kakorkoli podpirali in spodbujali skozi celotno študijsko obdobje.

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA LESARSTVO

Robi ULAMEC

KAMBIJEVA CONA IN FLOEM V OBDOBJU MIROVANJA PRI BUKVI
(*Fagus sylvatica*) Z RASTIŠČA PRI ŠENTJURJU

DIPLOMSKO DELO

Visokošolski strokovni študij

Ljubljana, 2011