

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA LESARSTVO

Dejan POVŠE

**ZAKLJUČEK KAMBIJEVE AKTIVNOSTI V RASTNI SEZONI 2008 PRI BUKVAH
Z DVEH RASTIŠČ**

DIPLOMSKO DELO
Visokošolski strokovni študij

**COMPLETION OF CAMBIAL ACTIVITY IN GROWING SEASON 2008 IN
BEECH AT TWO FOREST SITES**

GRADUATION THESIS
Higher Professional Studies

Ljubljana, 2009

Diplomsko delo je zaključek Visokošolskega študija lesarstva. Opravljeno je bilo na Katedri za tehnologijo lesa Oddelka za lesarstvo Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani, kjer so bile opravljene laboratorijske analize. Terensko delo je potekalo v okviru doktorske naloge mladega raziskovalca Petra Prislana, univ. dipl. ing. les, v okolici Ljubljane in na Menini planini

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

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik:

Član:

Član:

Datum zagovora:

Naloga je rezultat lastnega raziskovalnega dela.

Dejan POVŠE

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

ŠD Vs
DK UDK 630*811.13:176.1 (*Fagus sylvatica* L.)
KG bukev/*Fagus sylvatica* L./ksilogeneza/kambijeve aktivnost/diferenciacija/nastanek kasnega lesa/Panška reka/Menina planina
AV POVŠE, Dejan
SA ČUFAR, Katarina (mentorica)/GRIČAR, Jožica (somentorica)/OVEN, Primož (recenzent)
KZ SI-1000 Ljubljana, Rožna dolina, c. VIII/34
ZA Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za lesarstvo
LI 2009
IN ZAKLJUČEK KAMBIJEVE AKTIVNOSTI V RASTNI SEZONI 2008 PRI BUKVAH Z DVEH RASTIŠČ
TD Diplomsko delo (visokošolski strokovni študij)
OP IX, 53 str., 9 pregl., 28 sl., 27 vir.
IJ sl
JI sl/en
AI V drugi polovici rastne sezone 2008 smo na 6 drevesih navadne bukve (*Fagus sylvatica* L.) s Panške reke pri Ljubljani in 6 bukvah z Menine planine raziskovali kambijevo aktivnost, nastajanje ksilemske branike in diferenciacijo celic. Od 7. julija do 8. septembra (Panška reka) oziroma od 7. julija do 12. septembra (Menina planina) smo iz rastočih dreves v tedenskih intervalih odvzemali mikro izvrtke tkiv lesa, kambija in skorje. Z rotacijskim mikrotomom smo pripravili histološke rezine, jih obarvali z barviloma safranin in astra modro ter jih analizirali s svetlobnim mikroskopom in sistemom za analizo slike. Na mikroskopskih preparatih tkiv smo prešteli število slojev celic v kambijevi coni in izmerili širino nastajajoče ksilemske branike. Na začetku vzorčenja je kambijeve cona na Menini planini vsebovala med 7 in 8, na Panški reki pa med 9 in 10 plasti celic v radialnem nizu. Na Panški reki se je delitev celic zaključila med 28. julijem in 25. avgustom z izjemo enega drevesa (delitev končana že 7. julija), na Menini planini pa med 7. in 18. julijem. Stene terminalnih vlaken so se na Panški reki dokončno lignificirale med 11. avgustom in 8. septembrom, na Menini planini pa med 8. in 22. avgustom. Dormantna kambijeve cona je bila v radialnem nizu široka od 3 do 5 slojev celic.

KEY WORDS DOCUMENTATION

DN Vs
DC UDC 630*811.13:176.1 (*Fagus sylvatica* L.)
CX beech/*Fagus sylvatica* L./xylogenesis/cambial activity/differentiation/wood formation/Panška reka/Menina planina
AU POVŠE Dejan
AA ČUFAR, Katarina (supervisor)/GRIČAR, Jožica (co-supervisor)/OVEN, Primož (reviewer)
PP SI-1000Ljubljana, Rožna dolina, c. VIII/34
PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Wood Science and Technology
PY 2009
TI COMPLETION OF CAMBIAL ACTIVITY IN GROWING SEASON 2008 IN BEECH AT TWO FOREST SITES
DT Graduation Thesis (Higher professional studies)
NO IX, 53 p., 9 tab., 28 fig., 27 ref.
LA sl
AL sl/en
AB Cambial activity, formation of xylem growth-ring, and differentiation of xylem cells were studied in 6 trees of common beech (*Fagus sylvatica* L.) from Panška reka near Ljubljana and in 6 trees from Menina planina. The sampling was performed in the second half of the growing season 2008. Micro cores were collected from living trees at weekly intervals from July 7 - September 8 (Panška reka) and from July 7 - September 12 (Menina planina). They contained wood, cambial zone and bark. Histological slices were cut with rotary microtome, and stained with safranine and astra blue stains, then they were observed under the light microscope and analyzed with image analysis system. The number of cell layers in the cambial zone was counted and the width of the forming tree-ring measured. At the beginning of the sampling, the cambial zone at Panška reka contained 9 - 10 and at Menina planina 7 - 8 layers of cells in the radial row. Cell divisions at Panška reka were completed from July 28 - August 25 with the exception of 1 tree (division completed by July 7) and at Menina planina from 7th - 18th July. The lignification of the fibre cell walls at Panška reka was completed from August 11 - September 8, and at Menina planina from 8th - 22nd August, 2008. The dormant cambial zone contained 3 - 5 layers of cells in radial row.

KAZALO VSEBINE

	str.
Ključna dokumentacijska informacija (KDI)	II
Key Words Documentation (KWD)	IV
Kazalo vsebine	V
Kazalo preglednic	VII
Kazalo slik	VIII
1 UVOD	1
2 PREGLED OBJAV	3
2.1 OPIS BUKVE	3
2.1.1 Rastišče in razširjenost bukve	3
2.2 OPIS BUKOVINE	4
2.2.1 Makroskopske lastnosti lesa bukve	4
2.3 MIKROSKOPSKA ZGRADBA LESA	4
2.4 NASTANEK LESA PRI BUKVI	5
2.4.1 Kambij in kambijeva cona	5
2.4.2 Celična organizacija in delitve v kambijevi coni	6
2.4.2.1 Aditivne delitve	6
2.4.2.2 Multiplikativne delitve	6
2.4.3 Aditivne delitve in diferenciacija celic	7
2.4.4 Sezonska aktivnost kambija	8
2.4.5 Fiziologija nastanka ranega in kasnega lesa	9
2.5 DENDROEKOLOGIJA BUKVE	11
2.6 NASTAJANJE LESA PRI BUKVI V SLOVENIJI	13
3 MATERIAL IN METODE	15
3.1 OPIS RASTIŠČA	15
3.2 ODVZEM VZORCEV	15
3.2.1 Odvzem mikroizvrtkov s Trephorjem	16
3.3 PRIPRAVA VZORCEV	18
3.4 PRIPRAVA REZIN ZA SVETLOBNO MIKROSKOPIJO Z ROTACIJSKIM MIKROTOMOM	19
3.5 ANALIZA SLIKE	25
3.6 HISTOMETRIČNE ANALIZE	26
4 REZULTATI IN DISKUSIJA	28
4.1 AKTIVNOST KAMBIJEVE CONE V DRUGI POLOVICI RASTNE SEZONE 2008	28
4.1.1 Panška reka	28
4.1.2 Menina planina	31
4.2 NASTAJANJE KSILEMSKE BRANIKE IN DIFERENCIACIJA CELIC V DRUGI POLOVICI RASTNE SEZONE 2008	34
4.2.1 Panška reka	35
4.2.1.1 Nastajanje ksilemske branike	35
4.2.1.2 Diferenciacija ksilemskih celic	37
4.2.1.2.1 Priraščanje ksilemske branike	39
4.2.2 Menina planina	41
4.2.2.1 Nastajanje ksilemske branike	41
4.2.2.2 Diferenciacija ksilemskih celic	43
4.2.2.3 Priraščanje ksilemske branike	43

4.3	PRIMERJAVA REZULTATOV TESTNIH DREVES Z RASTIŠČ PANŠKA REKA IN MENINA PLANINA	45
4.3.1	Primerjava aktivnosti kambijeve cone na rastišču Panška reka in Menina planina	45
4.3.2	Primerjava prirastka ksilemske branike med rastiščema na Panški reki in Menini planini	46
5	SKLEPI	50
6	POVZETEK	51
7	VIRI	53

KAZALO PREGLEDNIC

	str.
Preglednica 1: Zaporedni datumi odvzetih mikroizvrtkov z trephorjem pri šestih bukvah na Panški reki v letu 2008	17
Preglednica 2: Zaporedni datumi odvzetih mikroizvrtkov z trephorjem pri šestih bukvah na Menini planini v letu 2008	17
Preglednica 3: Prikazana primerjava datumov zaključka debeljenja celičnih sten in zaključka kambijeve aktivnosti pri preiskovanih bukvah na rastišču Panška reka. Prikazane so tudi širine novonastale ksilemske branik ob zaključku diferenciacije.	38
Preglednica 4: Po datumih prikazane širine ksilemskih branik in število plasti celic v kambijeви coni pri drevesu 6 z rastišča Panška reka.	39
Preglednica 5: Povprečna širina ksilemske branike pri preiskovanih bukvah z rastišča Menina planina	41
Preglednica 6: Prikazan zaključek diferenciacije celičnih sten in širina ksilemske branike pri preiskovanih bukvah ob zaključku diferenciacije celičnih sten.	43
Preglednica 7: Po datumih prikazane širine ksilemskih branik in število plasti celic v kambijeви coni pri bukvi številka 2 z rastišča Menina planina.	44
Preglednica 8: Konec kambijeve aktivnosti in dokončna lignifikacija celičnih sten po posameznih preiskovanih bukvah in obdobjih na Panški reki	49
Preglednica 9: Konec kambijeve aktivnosti in dokončna lignifikacija celičnih sten po posameznih preiskovanih bukvah in obdobjih na Menini planini	49

KAZALO SLIK

	str.
Slika 1: V sredini kambijeve cona (KC), zgoraj vidimo celice floema (CF) in spodaj vidimo celice ksilema-lesa-skorje (CK)	5
Slika 2: Branika z ranim (RL) in kasnim lesom (KL), na vrhu je vidna tudi kambijeve cona (KC)	11
Slika 3: A - rastišče na Menini planini, B - rastišče na Panški reki	15
Slika 4: A-Trephor zabiti v deblu, B-vzorec viden v trephorju http://www.tesaf.unipd.it/Sanvito/trephorEN.asp	16
Slika 5: A - obrezovanje mikroizvrtka z britvico, B - kaseta z mikroizvrtkom in obrezan mikroizvrtak	19
Slika 6: Komora za preparacijo tkiv Leica TP 1020	20
Slika 7: A - parafinski dispanzer Leica EG 1120, B - nalivanje parafina v kovinske posodice s kaseto	21
Slika 8: Polavtomatski rotacijski mikrotom Leica RM 2245	22
Slika 9: A - vodna kopel Leica HI 1210, B - pobiranje rezin z objektnim steklom	23
Slika 10: Posode z bio-clearom, 95 % etanolom in zadnja posoda s safraninom	23
Slika 11: A - Pribor za barvanje z astra modrim, postopek barvanja si sledi od leve proti desni. Čaši s 95% etanolom sta rdeče obarvani, saj sta namenjeni spiranju odvečnega safranina iz rezin. Objektno steklo nato položimo v modro barvilo (na sredini), v čašah s 95% etanolom pa nato speremo obvečno barvilo. Na preparat kanemo 3-4 kapljice euparala (na sredini slike pod astra modrim) in pokrijemo s krovnim steklom. B – obteženi preparati z utežmi	24
Slika 12: Svetlobni mikroskop z digitalno kamero, ki je nameščena na vrhu mikroskopa	26
Slika 13: Prečni prerez bukovine (<i>Fagus sylvatica</i> L.) kambijeve cona (KC) in ksilemske celice v postkambialni rasti PR. Daljica 100µm	27
Slika 14: Povprečno število slojev celic v kambijevi coni pri šestih bukvah iz rastišča Panška reka v zadnjem delu rastne sezone 2008 in ± 95 % interval zaupanja	29
Slika 15: Število celic v kambijevi coni pri šestih bukvah s Panške reke v rastni sezoni 2008	30
Slika 16: Spremljanje širine kambijeve cone pri bukvi številka 6 z rastišča Panška reka v drugi polovici rastne sezone 2008	30
Slika 17: Povprečno število slojev celic v kambijevi coni pri šestih bukvah z rastišča Menina planina v rastni sezoni 2008 in ± 95 % interval zaupanja	32
Slika 18: Število celic v kambijevi coni pri šestih bukvah z Menine planine v rastni sezoni 2008	33
Slika 19: Spremljanje širine kambijeve cone pri bukvi številka 2 z rastišča Menina planina, v drugi polovici rastne sezone 2008.	33
Slika 20: Povprečna širina ksilemskih branik preiskovanih bukev z rastišča Panška reka v rastni sezoni 2008 in ± 95 % interval zaupanja	36
Slika 21: Prikazane širine ksilemskih branik od šestih bukev z rastišča Panška reka	36
Slika 22: Diferenciacija tkiva v terminalnem delu branike pri bukvi številka 6 z rastišča Panška reka v drugi polovici rastne sezone 2008.	38
Slika 23: Priraščanje ksilemske branike pri bukvi številka 6 z rastišča Panška reka v rastni sezoni 2008. Vodoravno prikazani datumi vzorčenja in navpično prikazana širina ksilemske branike v µm. Merilne črte prikazujejo velikost 200 µm.	40
Slika 24: Povprečna širina ksilemskih branik pri preiskovanih bukvah z rastišča Menina planina v rastni sezoni 2008 in ± 95 % interval zaupanja	42
Slika 25: Prikazane širine ksilemskih branik pri preiskovanih bukvah z rastišča Menina planina	42

Slika 26: Priraščanje ksilemske branike pri bukvi številka 2 z rastišča Menina planina v rastni sezoni 2008	45
Slika 27: Povprečno število celic v kambijevi coni pri preiskovanih bukvah s Panške reke in Menine planine	46
Slika 28: Povprečna širina ksilemske branike pri preiskovanih bukvah z rastišč Menina planina in Panška reka	47

1 UVOD

Bukev (*Fagus sylvatica* L.) je med gospodarsko najpomembnejšimi lesnimi vrstami v Sloveniji. Kvaliteta bukovine je tesno povezana z anatomsko zgradbo lesa, ta pa je odvisna od procesov, ki se odvijajo med nastankom lesa. Te procese vodijo notranji in zunanji dejavniki, ki še niso povsem raziskani.

Debelinska rast drevesa se začne s celičnimi delitvami v vaskularnem kambiju, ki dodaja nove celice ksilemskemu in floemskemu tkivu. V procesu diferenciacije, ki zajema postkambijsko rast celic, odlaganje sekundarne celične stene ter pri ksilemu še lignifikacijo in programirano celično smrt, se celice specializirajo za opravljanje svojih funkcij. V zadnjem času se je zvrstilo že več raziskav o nastajanju lesa pri bukvi.

Raziskave aktivnosti kambijeve cone ter nastajanje ksilema pri bukvi potekajo na Katedri za tehnologijo lesa, Oddelka za lesarstvo šele nekaj let. Podrobna analiza nastajanja lesa pri bukvi se je začela v letu 2006 (Prislan, 2007, Čufar in sod., 2008a, b) in se nadaljuje Sitar, 2009, Prislan in sod., 2009). Poleg prvih raziskav na nižje ležečih rastiščih so leta 2008 raziskave razširili tudi na višje ležeča rastišča. Tako trenutno potekajo na Panški reki, ki je na nadmorski višini okoli 450 metrov in na Menini planini na nadmorski višini približno 1100 metrov (Sitar, 2009). Za rast bukve so v višje ležečih predelih ključni drugi dejavniki kot v nižinah (Di Filippo in sod., 2007, Čufar in sod., 2008c), ki močno vplivajo tudi na reaktivacijo in zaključek kambijeve aktivnosti ter na dinamiko nastanka ksilemske branike. V končni fazi se vpliv vseh dejavnikov odraža v lastnostih in kvaliteti lesa.

V pričujoči nalogi smo raziskali kambijevo aktivnost in nastajanje lesa pri bukvah na Panški reki in na Menini planini v drugi polovici rastne sezone 2008. Naloga se vsebinsko navezuje na diplomsko delo Aljaža Sitarja (Sitar, 2009), ki je proučeval nastajanje lesa pri bukvah.

Cilji pričujoče diplomske naloge so bili:

- raziskati kambijevo aktivnost in nastajanje ksilemske branike v drugi polovici rastne sezone 2008 pri bukvah s Panške reke (450 m n. m. v.) in Menine planine (1100 m n. m. v.),
- določiti faze nastajanja ksilemske branike in opisati potek diferenciacije celic v tem obdobju,
- ugotoviti konec kambijeve aktivnosti,
- raziskati število celic in širino plasti celic v kambiju v proučevanem obdobju,
- primerjati nastajanje lesa in čas zaključka kambijeve aktivnosti na dveh rastiščih.

2 PREGLED OBJAV

2.1 OPIS BUKVE

Navadna bukev (*Fagus sylvatica* L.) je listopadna drevesna vrsta, spada v družino bukovk (Fagaceae). V višino zraste do 40 m in premer debla ima lahko do 1 m. Bukev ima značaj sencovzdržne drevesne vrste kar se kaže tudi v gosti sklenjenosti odraslih bukovih sestojev. Je izrazita sestojna drevesna vrsta, saj drevesa v sestoji, kjer vlada gozdna mikroklima, rastejo bolje kot na prostem. Zahtevna je glede toplote. Za dobro uspevanje potrebuje najmanj 5 mesecev dolgo vegetacijsko dobo, razmeroma dobro prenaša zimski mraz, sneg in žled, mladje in gošča pa sta zelo občutljiva na spomladansko slano in sončno pripeko (Brus, 2005).

Korenine bukve so sorazmerno globoke in razvejane, razvijejo se v srčast koreninski sistem. Uspevanje bukve je najboljše na globokih, zračnih, svežih in s kalcijem bogatih humoznih tleh, bukev ima rada tudi visoko zračno vlago in obilne padavine. Kjer je padavin manj kot 600 mm letno, ne uspeva. Skorja bukve je tanka, gladka in srebrno sive barve, razpokana je le pri starejših drevesih na spodnjem delu debla. Deblo je ravno in včasih razvito do vrha krošnje. Krošnja je zaobljena in velika (Kotar in Brus, 1999).

2.1.1 Rastišče in razširjenost bukve

V Sloveniji je bukev razširjena od nižin do gozdne meje oziroma pasu ruševja na Snežniku. V nižinah je primešana gozdu navadnega gabra in gradna, v predgorskem pasu oblikuje skoraj čiste sestoje, v gorskem pasu pa sta ji primešani jelka in smreka. V zgornjem gorskem pasu raste skupaj z macesnom vse do gozdne meje.

Bukev v Sloveniji manjka le v poplavnih nižinah in gričevnatih legah, kjer je nevarnost pozeb, v Primorju je ni v toploljubnih gozdovih črnega gabra in združbah kraškega gabra (Kotar in Brus, 1999).

Navadna bukev ima rastišče v večini srednje in zahodne Evrope, na severu jo najdemo še v južni Angliji in na južnem koncu Skandinavije. Raste tudi po južnoevropskih gorovjih, v Pirenejih, Apeninih in Dinarskem gorovju. Na vzhodu raste vse do Ukrajine na jugovzhodu pa tudi na balkanskem polotoku, tu jo postopoma zamenjuje vzhodna bukev. V Alpah raste do 1700, v Apeninih pa do 1950 m n. v. (Brus, 2005).

2.2 OPIS BUKOVINE

2.2.1 Makroskopske lastnosti lesa bukve

Les bukve je svetel z rdečkasto rjavim nadihom. Kadar ima diskoloriran les (t.i. rdeče srce) je ta rdeče rjav. Bukev nima prave jedrovine, zato les lahko do pozne starosti obdrži od periferije do stržena značaj beljave, diskoloriran les pa nastane zaradi poškodbe, na primer odloma velike veje (Čufar, 2006).

Bukev spada med difuzno porozne listavce. Branike so razločne in lepo vidne zaradi temnejšega kasnega in svetlejšega ranega lesa. Strženovi trakovi so dveh velikosti: prvi so zelo široki in dobro vidni tudi s prostim očesom, drugi pa so ozki in vidni samo z lupo (Čufar, 2006).

2.3 MIKROSKOPSKA ZGRADBA LESA

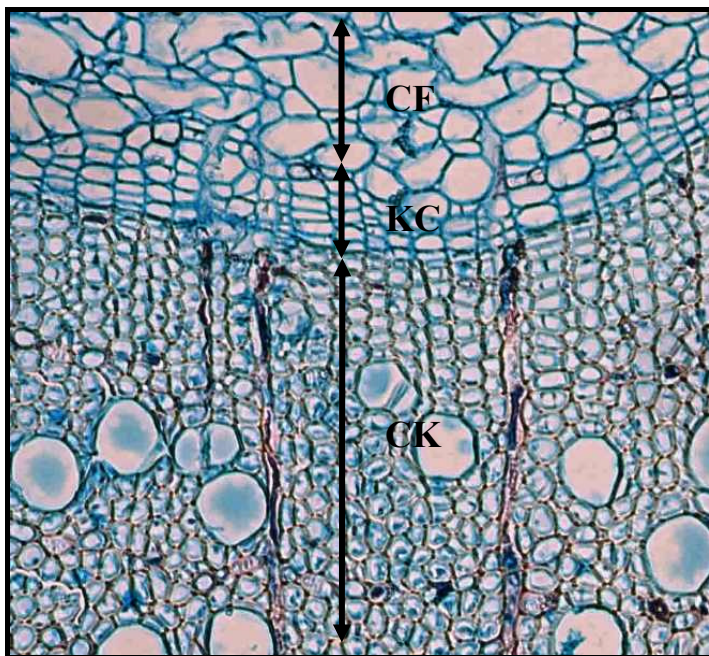
Traheje so po prečnem prerezu razporejene difuzno. Trahejni členi imajo lestvičaste in enostavne perforacije. Intervaskularne piknje so nasprotne in/ali lestvičaste. Tangencialni premer trahej je okoli 100 μm . Osnovno tkivo pri bukvi predstavljajo traheide z obokanimi piknjami, ki so vidne v radialnem prerezu. Traheide sodelujejo pri prevajanju vode. Povezava prevodnega sistema preko letnic poteka po traheidah. Manjši trakovi so 2-4 redni in nizki, večji trakovi pa so nad 10 redni in nad 1 mm visoki. Trakovi na letnici so v prečnem prerezu razširjeni (Čufar, 2006). Trakovno tkivo je heterogeno, tip III, osrednji del je iz ležečih celic, na robovih pa je po ena vrsta kvadratastih celic. Piknje med trahejami in trakovi so velike in ovalne (režaste). Aksialni parenhim je apotrahealen, difuzen, lahko tudi difuzen v agregatih.

Les bukve je evolucijsko primitiven. Anatomiški znaki za to se kažejo tako, da so trahejni členi relativno dolgi in zašiljeni, pogosto z lestvičasnimi perforacijami. Osnovno tkivo je sestavljeno iz traheid z razločnimi obokanimi piknjami, ki skupaj s trahejami prevajajo vodo.

2.4 NASTANEK LESA PRI BUKVI

2.4.1 Kambij in kambijeva cona

Vaskularni kambij, na kratko kambij, je sekundarni meristem med lesom in skorjo, ki nastane iz prokambija, le ta pa se razvije iz apikalnega meristema. Kambij večinoma definirajo kot eno celico široko plast kambijevih inicialk, medtem ko kambijeva cona pomeni celotno cono delečih se celic, to je poleg inicialk še deleče se materinske celice floema in ksilema (Čufar, 2006). Delitvena aktivnost navznoter, to je na ksilemsko oziroma lesno stran, je mnogo bolj intenzivna kot na floemsko stran. To pomeni, da je produkcija lesa navadno nekajkrat večja od produkcije floema (Čufar, 2006).



Slika 1: V sredini kambijeva cona (KC), zgoraj vidimo celice floema (CF) in spodaj vidimo celice ksilema-lesa-skorje (CK)

2.4.2 Celična organizacija in delitve v kambijevi coni

Vaskularni kambij sestavljata dva tipa celic: (1) fuziformne ali vretenaste in (2) trakovne inicialke. Pri listavcih, ki so evolucijsko naprednejši (npr. robinja), je kambij etažen ali stratificiran, fuziformne inicialke so krajše, 140 – 520 μm , in razporejene v etažah oziroma nadstropjih. Za les iglavcev in primitivnejših listavcev je značilen neetažen ali nestratificiran kambij z daljšimi fuziformnimi inicialkami. Les bukve spada med primitivne listavce (Čufar, 2006).

Vse celice osnega oz. aksialnega sistema nastajajo iz fuziformnih inicialk, trakovne oz. radialne celice ksilema in floema pa nastajajo iz trakovnih inicialk. Fuziformne inicialke se delijo na dva načina: (1) aditivne delitve, tedaj nastajajo ksilemske in floemske celice, (2) multiplikativne delitve, s katerimi se ohranja z debelinsko rastjo usklajena površinska rast kambija. Trakovne inicialke se delijo antiklino prečno in radialno. Trakovi rastejo v višino s prečnimi delitvami inicialk, z radialnimi pa v širino (Oven, 1993).

2.4.2.1 Aditivne delitve

Pri aditivnih delitvah vretenastih inicialk, ki so glede na smer delitvene ravnine imenovane perikline, nastajajo ksilemske in floemske celice. Smer delitvene ravnine poteka tangencialno glede na obod debla (Čufar, 2006). Posledica teh delitev je povečevanje premera debla.

2.4.2.2 Multiplikativne delitve

Multiplikativne delitve omogočajo, da se množijo kambijeve inicialke. Posledica tega je povečevanje površine oziroma obsega kambija (Čufar, 2006).

Pri listavcih z etažnim kambijem so multiplikativne delitve antikline, pri listavcih z neetažnim kambijem in iglavcih pa so delitve psevdotransverzalne. Po psevdotransverzalnih delitvah inicialke rastejo vršno (apikalno) intruzivno. Lateralno pa se začnejo ponovno deliti, ko dosežejo prvotno dolžino (Oven, 1993). Psevdotransverzalno se celice delijo praviloma na koncu rastne sezone, pogosto tik pred nastankom celic kasnega lesa oz. skorje, zato so novi ksilemski in floemski radialni nizi celic vidni predvsem v

neposredni bližini kambija. Te delitve so praviloma omejene samo na prave kambijeve inicialke (Oven, 1993).

2.4.3 Aditivne delitve in diferenciacija celic

Delitev celic v splošnem poteka po naslednjem vrstnem redu: delitev (mitoza) in diferenciacija. V fazi delitve celice 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).

Diferenciacija celic se prične po zadnji delitvi inicialk oz. materinskih celic. Diferenciacijo sestavljajo naslednje faze: rast celice (v literaturi pogosto imenovana tudi poskambialna rast), odlaganje večslojne sekundarne celične stene, lignifikacija celične stene in celična smrt (v primeru vlaken in trahejnih členov) (Sitar, 2009).

Postkambialna rast se prične, ko ima celica samo primarno steno. Pri tem različni tipi ksilemskih vlaken pri listavcih in traheide iglavcev rastejo v dolžino z apikalno intruzijo, trahejni členi in sitaste cevi pri listavcih pa rastejo le v širino.

Druga faza diferenciacije je odlaganje plasti sekundarne celične stene in inkrustacija lignina v celično steno. Na primarno steno se odložijo sloji sekundarne stene S1, S2 in S3. Sekundarna stena se najprej razvije v osredjem delu celice, medtem ko so ostali deli še v postkambialni rasti. Srednja lamela v vogalih celice se najprej lignificira, nato pa se nadaljuje v notranje sloje sekundarne celične stene. Diferenciacija se zaključi z odmrtnjem žive vsebine celic (Oven, 1993, Čufar, 2006, Gričar, 2007).

Lignifikacija celičnih sten se prične najprej v trahejah in sosednih trakovnih celicah, ki imajo sekundarne celične stene najmanj oblikovane. Celične stene vlaken in parenhimskih celic, ki niso v stiku s trahejami, pa se lignificirajo pozneje. Lignin se najprej odloži v združeni srednji lameli, oziroma v celičnih vogalih, ko se je že odložil sloj S1. Lignifikacija se nadaljuje v centipetalni smeri, med istočasnim odlaganjem celuloze in polioz v sloju S2. Ko se dokončno izoblikuje sloj S3, je inkrustacija lignina v celične

stene najintenzivnejša (Gričar, 2007). Med fazo diferenciacije se sestava lignina spreminja glede na oddaljenost od kambijeve cone. Celice, ki so bližje kambijevi coni, vsebujejo predvsem p-hidroksifenilne in gvajacilne enote lignina. Z oddaljevanjem od kambijeve cone pa se v celične stene inkrustrira predvsem siringilni lignin. Celične stene trahej se lignificirajo najprej, zato vsebujejo večji delež p-hidroksifenilnih in gvajacilnih enot. Sekundarne celične stene vlaken pa vsebujejo predvsem siringilni lignin (Prislan, 2007, Prislan in sod., 2009).

2.4.4 Sezonska aktivnost kambija

Med vegetacijskem obdobjem se število celic v kambijevi coni spreminja glede na razmerje med frekvenco nastajanja celic in diferenciacijo novih celic. Ko postane kambij aktiven, se celice delijo hitreje, kot se nastali derivati diferencirajo, zato se debelina kambijeve cone poveča. Ko se prične diferenciacija, se vzpostavi ravnovesje, s tem pa postane širina kambijeve cone konstantna. Ko pa se frekvenca delitev zmanjša in diferenciacija poteka hitreje, se kambijeva cona zoži. V zimskem času je kambijeva cona sestavljena le iz inicialk in nekaj materinskih celic in morda iz nekaj v diferenciaciji zaostalih celic (Oven, 1993, Gričar, 2007).

Fizikalni dejavniki okolja vplivajo na sezonsko aktivnost kambija prek hormonov. Rastlinski hormoni imajo ključno vlogo pri fizioloških procesih v drevesu. Lahko jih razdelimo v dve skupini: promotorji kot so avksini, giberelini, citokinini, ki pospešujejo rast in inhibitorji, na primer abscizinska kislina, ki rast zavirajo. Pri uravnavanju aktivnosti kambijeve cone je avksin najpomembnejši fitohormon (Gričar in sod., 2006). Kambijeva občutljivost na avksin (najpogostejši avksin je β -indol očetna kislina, kratko IAA) je kot kaže neposredno povezana s sposobnostjo kambijevih celic za polarni transport snovi. Med rastno periodo poteka transport avksinov kot bazipetalni tok, od zgoraj navzdol po drevesu. Hitrost tega toka je odvisna od temperature. S prenehanjem kambijeve aktivnosti ob koncu poletja ali zgodaj jeseni se avksinski transport kvalitativno spremeni. V oktobru ali novembru transport postane bolj ali manj difuzen, kar nakazuje neaktivnost ali izguba večine avksinskih nosilcev v kambiju. Kambijeva reaktivacija je mogoča samo, če celice znova pridobijo sposobnost polarnega avksinskega transporta (Gričar in sod., 2006).

2.4.5 Fiziologija nastanka ranega in kasnega lesa

Na nastanek ranega in kasnega lesa naj bi vplivala razpoložljiva količina rastnih hormonov in hrane oz. produktov fotosinteze. Tvorbo letne prirastne plasti povezujejo ravno s hormonalnim nadzorom. Pri iglavcih se traheide ranega in kasnega lesa najbolj razlikujejo po debelini celičnih sten in radialnih premerih lumnov. Na radialne dimenzije vplivajo rastni hormoni, na debelino celičnih sten pa vpliva razpoložljivost hrane. Obe spremenljivki sta medsebojno neodvisni in se spreminjata med vegetacijsko dobo (Čufar, 2006).

Intenzivnost svetlobe, dolžina dneva in oskrba z vodo so dejavniki, ki vplivajo na tvorbo traheid z različnimi kombinacijami radialnega premera in debeline celične stene. Našteti dejavniki vplivajo na rast poganjkov in listov in preko njih na količino rastnih hormonov. V obdobju intenzivne rasti poganjkov in listov je nivo avksinov visok, kar vpliva na nastanek celic z velikim premerom, ki so značilne za rani les. Ko je razvoj listov in poganjkov končan, količina avksina upada, posledično pa se zmanjšujejo tudi radialne dimenzije novo nastalih celic v kasnem lesu. Tako naj bi okolje posredno preko rasti poganjkov in nivoja avksina vplivalo na število in radialne dimenzije celic (Čufar, 2006).

Nastanek kasnega lesa je najverjetneje rezultat upočasnjene stopnje celičnih delitev, krajšega trajanja in zmanjšane stopnje postkambialne rasti ter daljšega obdobja sinteze sekundarne celične stene (Gričar in sod., 2006).

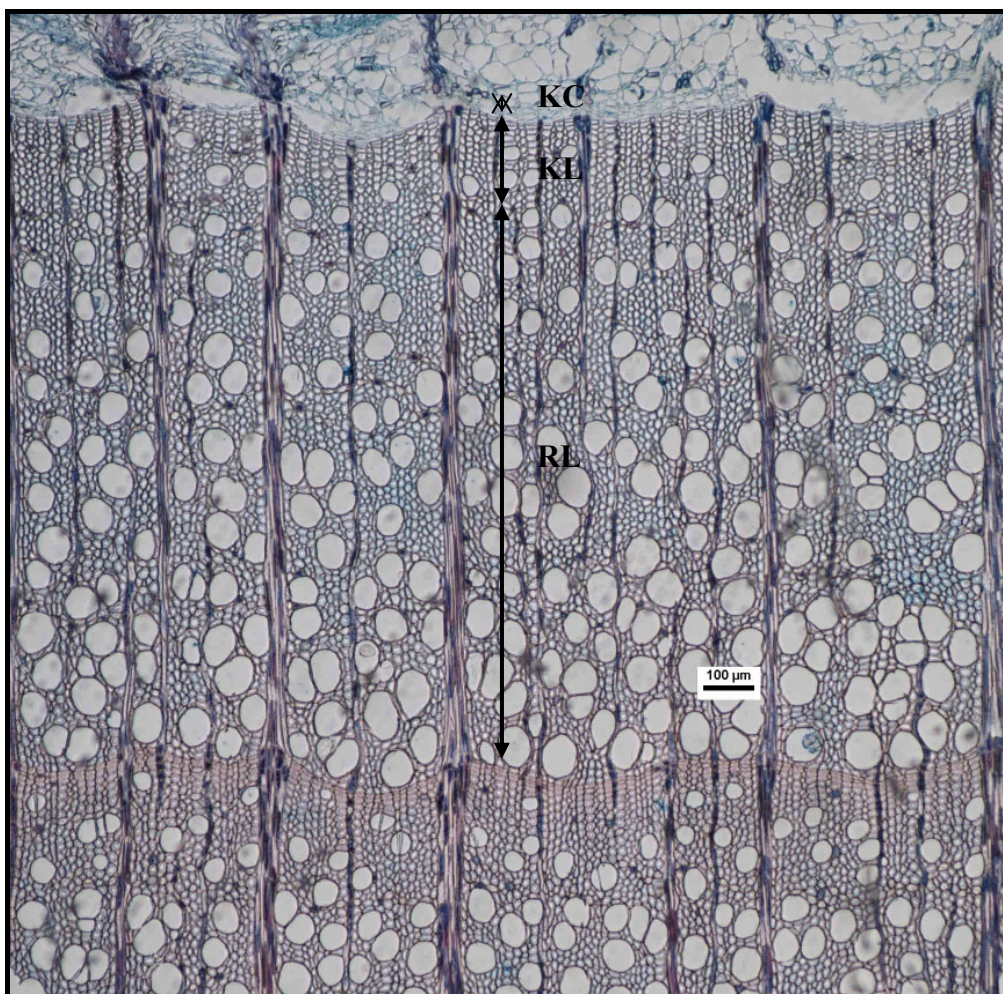
Prehod iz ranega v kasni les ni povezan z zmanjšano oskrbo kambijeve cone z avksini, pač pa je v tesni povezanosti z zmanjšanjem širine radialne porazdelitve avksinov, posledično pa tudi s povečano koncentracijo avksinov v kambiju. Zaključek celičnih delitev v kambiju ni povezan z zmanjšanjem koncentracije avksinov v tem območju. Zmanjšane radialne dimenzije traheid kasnega lesa niso povezane z znižano koncentracijo avksinov v območju postkambialne rasti (Gričar in sod., 2006).

Kasni les začne nastajati v juliju in to najprej na bazi drevesa. To lahko pojasnujemo z avksinskim gradientom, kar pomeni različno koncentracijo avksina po deblu. Količina

avksina se začne manjšati, ko začne rast poganjkov pešati. Listi, ki se razvijajo v območju krošnje zagotavljajo enakomerno oskrbo z avksinom skozi pretežni del vegetacijskega obdobja, s tem pa pri iglavcih tvorbo traheid s širokimi lumni (Čufar, 2006). Avksin ima pomembno vlogo, vendar ni edini hormon, ki vpliva na aktivacijo kambija in diferenciacijo njegovih derivatov.

Za razmejevanje med ranim in kasnim lesom pri iglavcih pogosto uporabljamo kriterij po Morku, po katerem h kasnemu lesu prištevamo tiste celice v radialnem nizu, ki imajo radialno dimenzijo lumna manjšo kot je dvojna debelina tangencialne celične stene (Čufar, 2006), vendar ta metoda ni uporabna za razmejevanje ranega in kasnega lesa pri listavcih.

Dejavniki, ki vplivajo na nastanek ranega in kasnega lesa pri listavcih, so le v grobem podobni. Rani in kasni les pri bukvi je bolj težko razmejiti. Od ranega proti kasnemu lesu se debelina celične stene povečuje, lumni pa se ožijo (Čufar, 2006).



Slika 2: Branika z ranim (RL) in kasnim lesom (KL), na vrhu je vidna tudi kambijeva cona (KC)

2.5 DENDROKOLOGIJA BUKVE

Ker so bili viri, ki proučujejo nastanek lesa pri bukvi, do pred kratkim redki (Schmitt in sod. 2000, Werf van der in sod., 2006, Prislan, 2007, Čufar in sod. 2008a, b, Prislan in sod., 2008, 2009, Sitar, 2009), so veliko informacij o vplivu različnih dejavnikov na nastanek lesa dobili iz dendrokronoloških študij, predvsem dendroekoloških in dendroklimatoloških (Di Filippo in sod., 2007, Berdajs, 2008, Čufar in sod., 2008c). Pri tem je treba poudariti, da dendroekologija proučuje zvezo med okoljskimi dejavniki in nastankom lesa, dendroklimatologija pa zvezo med klimatskimi dejavniki in nastankom lesa (Prislan, 2007).

Dejavniki, ki vplivajo na širino branike in zgradbo lesa so: temperatura med rastno sezono, razpoložljivost vode, koncentracija rastnih snovi ter količina hrane (asimilatov). Ti faktorji močno vplivajo na dolžino aktivnosti kambijeve cone, dinamiko celičnih delitev in diferenciacijo celic. Na širino branike in njeno zgradbo vplivajo direktno ali indirektno. Direktni vpliv na kambijevo aktivnost in diferenciacijo celic ima na primer količina razpoložljive vode, indirektno pa klimatski dejavniki na braniko vplivajo preko fizioloških procesov v drevesu (Prislan, 2007).

Di Filippo in sod. (2007) so predstavili raziskavo o vplivu bioklimatskih razmer na rast bukke na različnih višinskih pasovih v Italiji, Sloveniji in Avstriji. Testirane bukke so bile razdeljene v različne skupine glede na nadmorsko višino. Raziskava je pokazala, da je radialna rast bukev v višje ležečih območjih (nad 800 m n.m.v.) negativno povezana s količino padavin do meseca maja in pozitivno povezana s temperaturo zraka v poletnih mesecih. Januarske nizke temperature pa ugodno vplivajo na rast bukev v prihodnjih mesecih. Debelinska rast bukev v nižje ležečih predelih (do 800 m n.m.v.) pa je pozitivno povezana s padavinami in negativno s temperaturo zraka v obdobju od maja do avgusta, kar pomeni, da poletna suša negativno vpliva na nastajanje lesa v tem obdobju.

Izkazalo se je, da nadmorska višina vpliva na rast bukev, in sicer višja kot je nadmorska višina, manjši je prirastek zato, ker se rastna sezona na višje ležečih predelih prične kasneje in se hkrati konča bolj zgodaj. Raziskava je namreč pokazala, da se dolžina rastne sezone zmanjša za približno 2 do 3 dni na vsakih 100 metrov višji nadmorski višini (Di Filippo in sod., 2007).

Na višjih nadmorskih višinah rast bukev upočasnjujejo nizke temperature in manjša namočenost tal, saj se sneg začne topiti šele pozno pomladi. Na teh območjih lahko negativno vpliva na rast dreves tudi večja oblačnost, ki povzroča pomanjkanje svetlobe (Di Filippo in sod., 2007).

Čufar in sod. (2008c) so opravili raziskavo variabilnosti kronologij širin branik bukke z različnih rastišč v Sloveniji glede na klimo. Sestavili so 14 lokalnih kronologij širin branik za nadmorske višine od 300 do 1450 m. Dendroklimatološke analize so pokazale, da imajo

poletne (posebno junijske) temperature negativen, junijske padavine pa pozitiven vpliv na širine branik na enajstih raziskanih rastiščih iz osrednje, JV in JZ Slovenije. Širine branik bukev iz zgornje gozdne meje v Julijskih Alpah nad Tolminom (nadmorska višina 1200-1450 m) pa v nasprotju z drugimi rastišči kažejo pozitiven odziv na temperaturo v času vegetacijske dobe (predvsem v maju). Zanimiv je velik vpliv junijskih razmer na variiranje širin branik med leti. Nekoliko manj pomemben, a podoben vpliv kot junijske razmere imajo temperature in padavine v maju, juliju in avgustu. Vlažni in ne preveč vroči junijski pogoji torej pozitivno vplivajo na širino branik bukke in drugih drevesnih vrst. Junijski pogoji so prav tako ključnega pomena za kmetijstvo, na primer koruzo in druge pridelke zrnja kot tudi za mnoge druge gojene rastline. Ta ugotovitev se dopolnjuje z njihovimi raziskavami nastanka lesa pri bukvi iz Panške reke pri Ljubljani, kjer so ugotovili, da je v juniju 2006 nastalo več kot 35 % branike, kar je največji mesečni prirastek branike (Čufar in sod., 2008c).

2.6 NASTAJANJE LESA PRI BUKVI V SLOVENIJI

Prislan (2007) je spremljal nastajanje lesa pri bukvah v letu 2006 na Panški reki. Ugotovil je, da se je branika popolnoma izoblikovala v tednu med 9. in 16. avgustom 2006, nato je potekala le še diferenciacija nazadnje nastalih celic. Na dan 22. avgusta 2006 pa se je sinteza sekundarne celične stene in lignifikacija že popolnoma zaključila. Čas najintenzivnejše debelinske rasti je nastopil med 2. in 9. majem 2006, s pomočjo Gompertzove funkcije je ocenil, da je na dan nastalo 24 μm ksilemske branike. Obdobje intenzivnih delitev je bilo pri vseh drevesih približno enako dolgo, le da se je pri nekaterih drevesih pričelo prej, pri nekaterih pa kasneje, med 30. majem in 6. junijem 2006. Povprečna hitrost nastajanja ksilemske branike skozi celotno rastno sezono pa je v povprečju znašala 25,52 μm na dan (Prislan, 2007).

Sitar (2009) je proučeval drevesa raziskana v tem diplomskem delu, pri čemer je spremljal nastajanje lesa v prvi polovici rastne sezone, tj. od marca do junija 2008. Prva vlakna, traheje in aksialni parenhim v fazi postkambialne rasti je zasledil na obeh rastiščih že v tednu po reaktivaciji kambijeve cone. Do reaktivacije kambijeve cone na Panški reki je prišlo v tednu med 14. in 21. aprilom, na Menini planini pa v tednu med 9. in 16. majem 2008. Sinteza sekundarne celične stene se je na rastišču Panška reka pričela v tednu med

21. in 28. aprilom 2008, kar je približno mesec dni prej kot na rastišču Menina planina. Na rastišču Panška reka je prva dokončno diferencirana vlakna zasledil 6 tednov po njihovem nastanku (v tednu med 26. majem in 2. junijem), na rastišču Menina planina pa 5 tednov po njihovem nastanku (Sitar, 2009).

3 MATERIAL IN METODE

3.1 OPIS RASTIŠČA

Nastanek kasnega lesa ter zaključek kambijeve aktivnosti v rastni sezoni 2008 smo preučevali na šestih bukvah (*Fagus sylvatica* L.) iz privatnega gozda na Panški reki. Bukve rastejo na pobočju v sestoji Blechno-Fagetum na nadmorski višini okoli 450 metrov. Sestoj dreves obkroža jaso, ki je nastala zaradi snegoloma leta 1999. Drevesa, ki smo jih proučevali, so bila stara približno 100 let in so imela na prsni višini premer okoli 50 cm, na deblih pa ni bilo vidnih poškodb. Proučevali smo tudi šest bukev, ki rastejo na Menini planini v sestoji Fagetum altimontanum praealpinum na nadmorski višini približno 1100 metrov. Proučevana drevesa, ki rastejo na precej kamnitem rastišču, imajo na prsni višini premer okoli 60 cm, stara pa so nad 100 let. Tudi na teh deblih ni bilo videti nobenih poškodb. Rastišči sta prikazani na sliki (Slika 3).



Slika 3: A - rastišče na Menini planini, B - rastišče na Panški reki

3.2 ODVZEM VZORCEV

Za raziskave nastanka kasnega lesa ter zaključka kambijeve aktivnosti smo uporabili metodo odvzema mikroizvrtkov s trephorjem, ki je prikazan na sliki (Slika 4). Primerna je zato, ker omogoča študij nastanka ksilemske in floemske branike na celičnem nivoju. Odvzem vzorcev s to metodo poteka dokaj hitro in enostavno, vendar pa je potrebno paziti, da na mestu vzorčenja odstranimo dovolj zunanjega dela skorje, da ne pride do poškodb

(tlačenja) v predelu kambijeve cone in diferencirajočih se celic ksilemske in floemske branike.

A



B



Slika 4: A-Trephor zabiti v deblu, B-vzorec viden v trephorju
<http://www.tesaf.unipd.it/Sanvito/trephorEN.asp>

3.2.1 Odvzem mikroizvrtkov s Trephorjem

Odvzem mikro izvrtkov iz živih dreves je potekal v okviru doktorskega dela študenta Petra Prislan. Moje diplomsko delo je nadaljevanje diplomskega dela Aljaža Sitarja (Sitar, 2009). Vzorčenje je potekalo celotno vegetacijsko obdobje 2008 na vseh dvanajstih drevesih. Sitarjevo vzorčenje je potekalo od 17.3.08 do 30.6.08, moje vzorčenje pa je potekalo od 7.7.08 do 12.9.08. Preglednici (Preglednica 1 in Preglednica 2) imata navedene datume ter zaporedne dneve odvzetih vzorcev. Večino odvzemov na terenu je opravil Peter Prislan.

Preglednica 1: Zaporedni datumi odvzetih mikroizvrtkov z trephorjem pri šestih bukvah na Panški reki v letu 2008

Odvzem	Datum	Dan v letu
17	7.7.2008	189
18	14.7.2008	196
19	21.7.2008	203
20	28.7.2008	210
21	4.8.2008	217
22	11.8.2008	224
23	18.8.2008	231
24	25.8.2008	238
25	1.9.2008	245
26	8.9.2008	252

Preglednica 2: Zaporedni datumi odvzetih mikroizvrtkov z trephorjem pri šestih bukvah na Menini planini v letu 2008

Odvzem	Datum	Dan v letu
13	7.7.2008	189
14	11.7.2008	193
15	18.7.2008	200
16	25.7.2008	207
17	1.8.2008	214
18	8.8.2008	221
19	15.8.2008	228
20	22.8.2008	235
21	29.8.2008	242
22	8.9.2008	252
23	12.9.2008	256

Vzorci, ki so jih odvzeli z trephorjem, so imeli premer 3 mm, dolgi so bili približno 15 mm, zajemali pa so del kolabiranega floema, nekolabiran floem, kambijevo cono, celotno

ksilemsko braniko tekočega leta in del branike iz rastne sezone 2007. Vzorce so začeli odvzemati na prsni višini 130 cm, nato pa se je po celotnem obodu drevesa višina odvzema večala. Razmak med odvzetimi vzorci je znašal vsaj 10 cm. Tako so se izognili kalusnemu in poranitvenemu lesu, ki nastane kot odziv kambijeve cone na mehanske poškodbe na mestih, kjer so že bili odvzeti vzorci. Metoda odvzema vzorcev s trephorjem je za drevo manj destruktivna kot odvzem vzorcev intaktnih tkiv, ker so mehanske poškodbe manjše. Za odvzem vzorcev so potrebovali 15 mm široko dleto, kladivo in trephor. Na omenjeni višini je bilo potrebno najprej z dletom odstraniti zunanji kolabirani floem, nato so na tem mestu s pomočjo kladiva zabili trephor v deblo, pri čemer so morali biti zelo previdni, da se vzorci niso poškodovali. Da se je vzorec ločil od debla, so trephor zasukali trikrat v eno stran in trikrat v drugo stran. Pri tem je bilo potrebno pritiskati trephor v deblo, potem pa je bilo potrebno s krožnimi gibi počasi izvleči trephor iz debla. Odvzet vzorec je moral biti nepoškodovan. Ob vsakem vzorčenju sta morala biti odvzeta najmanj dva vzorca. Takoj po odvzemu so dali vzorce v posebne kasete, ki so bile označene z datumom in krajem odvzema ter oznako drevesa. Te vzorce smo nato shranili v prahovke s fiksacijsko tekočino FAA (500 ml FAA vsebuje: 25 ml 37 % formalina, 450 ml 50 % etanola in 25 ml 100 % očetne kisline).

3.3 PRIPRAVA VZORCEV

V nadaljevanju sem ob pomoči Petra Prislana vzorce pripravil za izdelavo mikroskopskih preparatov prečnih prereзов. Vzorce odvzete s trephorjem smo v fiksacijski tekočini hranili toliko časa, dokler se jih ni nabralo približno 50. Nato je sledilo dodatno obrezovanje vzorcev, pri čemer smo z britvico najprej odstranili odvečni ksilem in nato v radialni smeri skrajšali vzorec, da je zajemal celotno braniko tekočega leta (Slika 5). Ko smo vzorce obrezali, smo jim s svinčnikom označili prečni prereз (to je temnejša stran vzorca), jih položili v novo kaseto ter prepisali oznake s kasete s preostalimi preparati. Preostale preparate smo shranili v posodo s 70 % etanolom in tesno zaprli, obrezan vzorec pa smo položili v reagenčno posodo komore za preparacijo tkiv.

A

B



Slika 5: A - obrezovanje mikroizvrtka z britvico, B - kaseta z mikroizvrtkom in obrezan mikroizvrtek

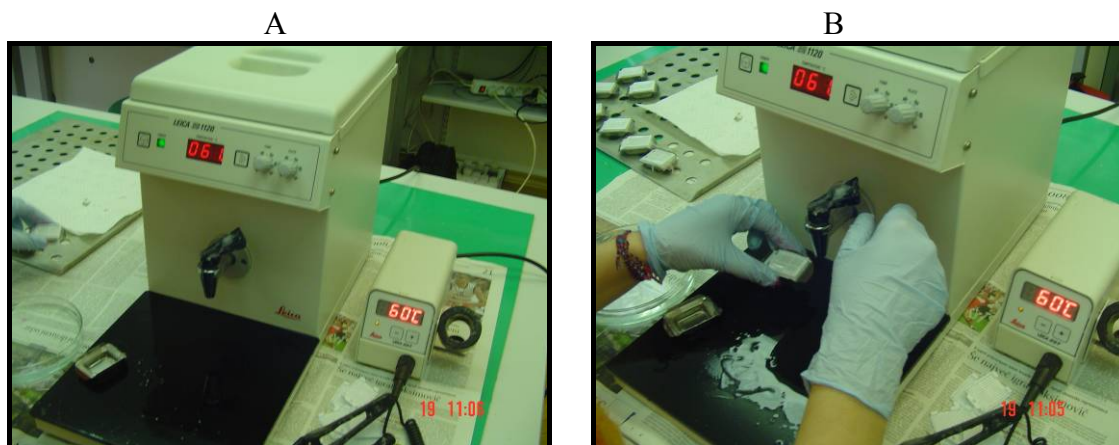
3.4 PRIPRAVA REZIN ZA SVETLOBNO MIKROSKOPIJO Z ROTACIJSKIM MIKROTOMOM

Trajne anatomske preparate za histometrično preiskavo smo z rotacijskim mikrotomom izdelovali na Katedri za tehnologijo lesa. Tovrsten način rezanja se je izkazal za relativno enostaven, kakovosten in hiter. Pred pričetkom rezanja je potrebno vzorce tkiv prepojit s parafinom. Zato smo po pripravi zadostne količine kaset napolnili reagenčno posodo komore za preparacijo tkiv Leica TP 1020 (Slika 6) in pričeli postopek dehidracije z etanolom in bio-clearom (D-limonen) (bio-clear je komercialno ime za topilo na osnovi ksilena) ter prepajanjem vzorcev s parafinom. Komora je sestavljena iz 12 reagenčnih posod, v katerih poteka prepajanje vzorcev po predhodno ustrezno nastavljenemu programu. V prvih sedmih reagenčnih posodah smo kasete dehidrirali v različnih koncentracijah etanola različno dolgo. Pričeli smo s 70 % etanolom ter nadaljevali z 90 %, 95 % in 100 % etanolom. V prvi reagenčni posodi je bil čas dehidracije 2 uri, v nadaljnjih pa 1,5 ure. V naslednjih treh posodah so se kasete z vzorci dehidrirale po 1,5 ure v 100 % bio-clearu. V zadnjih dveh posodah pa je po 2 uri potekalo prepajanje s parafinom.



Slika 6: Komora za preparacijo tkiv Leica TP 1020

Po zaključenem postopku prepariranja smo pripravili parafinske bloke s tkivi. Kovinske posodice in kasete z vzorci smo položili na grelno ploščo parafinskega disperzerja Leica EG 1120 (Slika 7). Parafin v kaseti se je pri tem stalil, kovinske posodice pa so se ogrele. Kaseto z preparatom smo previdno odprli in pokrov odvrgli. Iz nje smo z ogrevano pinceto Leica EG F (razvidna iz slike 7 poleg parafinskega disperzerja) vzeli vzorec in ga položili na ploščo, da se je ves vosek stopil. Vzorec smo orientirali tako, da je bil s svinčnikom označen prečni del zgoraj, nato smo vzorec z ogrevano pinceto prijeli in postavili v kovinsko posodo, ki je bila že v celoti napolnjena s staljenim parafinom. Pri čemer smo ga orientirali diagonalno na posodico. Posodico smo za kratek čas postavili v mrzlo vodo. Vzorec smo z ogrevano pinceto držali toliko časa, da se je parafin deloma strdil in s tem vzorec fiksiral. Nato smo na kovinsko posodico položili kaseto, označeno s podatki, in počasi zalili s staljenim parafinom (približno 60 °C), kot kaže slika 7-B (Slika 7), pri tem pa smo poskušali preprečiti nastajanje mehurčkov. Vzorce smo za nekaj časa postavili na mizo, da se je parafin strdil in potem odnesli v hladilnik, kjer so bili 30 minut. Nato smo odstranili parafinske bloke iz posodic.



Slika 7: A - parafinski disperzer Leica EG 1120, B - nalivanje parafina v kovinske posodice s kaseto

Orientacija vzorcev je pri rezanju z rotacijskim mikrotomom zelo pomembna, saj smo ugotovili, da morajo biti vzorci orientirani pod določenim kotom glede na rezilo in ne pravokotno na rezilo, kar velja posebej pri bukvi zaradi trdega lesa. Glede na postavitev vzorcev lahko močno vplivamo na kakovost izdelave rezin. Po pravilih naj bi bil kolabirani floem (skorja) obrnjen navzgor, ugotovili pa smo, da je v nekaterih primerih bolje, če je kolabirani floem obrnjen navzdol.

Rezanje prečnih prereзов tkiv je potekalo s polavtomatskim rotacijskim mikrotomom Leica RM 2245 (Slika 8). Za rezanje smo uporabljali nizkoprofilne jeklene nože za rezanje trših tkiv Feather N34H, namenjene za enkratno uporabo. Celotno rezilo smo najbolj izkoristili tako, da smo z rezanjem pričeli na enem koncu noža, in ga uporabljali toliko časa, dokler rezilo ni postalo skrhano, nato smo se za širino rezine pomaknili na drugo mesto rezila in nadaljevali z rezanjem. Ko je bilo celotno rezilo obrabljeno, smo ga enostavno zamenjali z novim.



Slika 8: Polavtomatski rotacijski mikrotom Leica RM 2245

Parafinskim blokom smo prirojili ploskev rezanja na primerno velikost. Z nožem smo najprej odstranili odvečni parafin na robovih. Ploskev smo na mikrotomu poravnali toliko, da smo odstranili tudi del lesnega tkiva. Pred pričetkom rezanja smo vzorce namočili v vodo, da se je les nekoliko omehčal. Ugotovili smo, da so se vzorci lepše rezali, če so bili v vodi namočeni kar čez noč, da se je ksilemsko tkivo dovolj zmehčalo. Debelina rezanja rezin z mikrotomom je bila 10 μm . Rezine, ki smo jih odrezali, smo najprej položili v posodo s hladno vodo. Nato smo jih previdno s pomočjo objektnega stekla prenesli v vodno kopel Leica HI 1210, ki je bila ogreta na 40 °C (Slika 9). Rezine so se zaradi tople vode nekoliko raztegnile. Objektno steklo smo premazali z albuminom, s čemer smo povečali oprijemnost rezin na objektnem steklu. Rezine smo nato previdno pobrali iz vode in objektna stekla ustrezno označili. Objektna stekla smo nato položili v pečico za približno 30 minut, ki je bila ogreta na 70 °C, da so se rezine oprijele stekla.



Slika 9: A - vodna kopel Leica HI 1210, B - pobiranje rezin z objektnim steklom

Pred obarvanjem preparatov je bilo potrebno odrezanim rezinam odstraniti parafin. V ta namen smo preparate postavili v 100 % raztopino bio-cleara in 95 % raztopino etanola za približno 15 minut. Kot kaže slika (Slika 10), smo uporabili šest posodic, ki so si sledile od leve proti desni. V prvih dveh je bila raztopina bio-cleara, v naslednjih treh pa 95 % raztopina etanola. Preparati so bili v teh posodah najmanj 15 minut, v zadnji posodi pa je bilo barvilo safranin (0,5 %, v 95 % etanolu), kjer smo preparate pustili uro in pol. Izkazalo se je, da so se preparati, ki smo jih pustili v barvilu čez noč, obarvali intenzivneje.

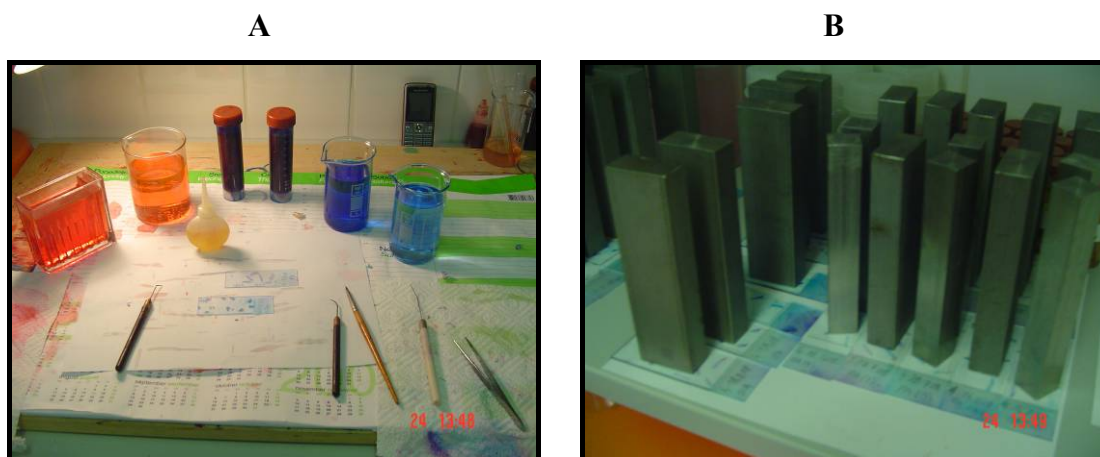


Slika 10: Posode z bio-clearom, 95 % etanolom in zadnja posoda s safraninom

Barvilo safranin reagira na polifenolne komponente (npr. lignin, celične stene) in jih obarva rdeče. Ko smo preparate vzeli iz safranina, smo odvečno barvilo iz rezine sprali s 95 % etanolom. Takoj za tem je sledilo barvanje z astra modrim (0,5 % v 95 % etanolu), ki reagira s celuloznimi komponentami celične stene in jih obarva modro. Barvilo je zelo

agresivno, zato smo morali biti zelo previdni in preparate barvati največ 3 do 4 minute. Po barvanju z astra modrim smo preparate spirali s 95 % etanolom toliko časa, dokler se ni izpralo vso odvečno barvilo.

Ko je iz objektnega stekela izhlapel ves etanol, smo rezine prepojili z vklopnim medijem Euparal. Objektno steklo smo nato prekrili s krovnim steklom in izpod njega odstranili odvečni Euparal in mehurčke. Euparal smo z roba stekla odstranili s čopičem ter preparate obtežili z 200 g težkimi utežmi in jih pustili obtežene vsaj 24 ur, da se je Euparal (smola) dovolj strdil (Slika 11).



Slika 11: A - Pribor za barvanje z astra modrim, postopek barvanja si sledi od leve proti desni. Čaši s 95% etanolom sta rdeče obarvani, saj sta namenjeni spiranju odvečnega safranina iz rezin. Objektno steklo nato položimo v modro barvilo (na sredini), v čašah s 95% etanolom pa nato speremo odvečno barvilo. Na preparat kanemo 3-4 kapljice euparala (na sredini slike pod astra modrim) in pokrijemo s krovnim steklom. B – obteženi preparati z utežmi

3.5 ANALIZA SLIKE

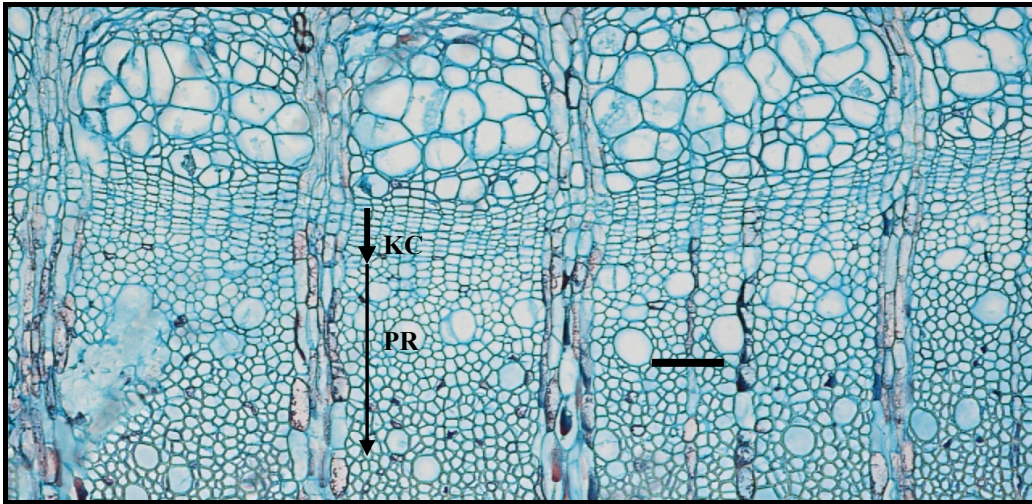
S pomočjo svetlobnega mikroskopa Nikon Eclipse E 800, digitalne kamere Nikon DS-Fi1, osebnega računalnika ter računalniškega programa NIS elements BR3, smo vse preparate analizirali (Slika 12). Za analizo slike smo uporabili mikroskopiranje v svetlem polju ob uporabi različnih filtrov, npr. filter za polarizirano svetlobo, ki omogoča lažje prepoznavanje različnih faz diferenciacije. Največkrat uporabljeni objektivi so bili z 2x, 4x, 10x in 20x povečavo, na voljo pa smo imeli tudi 40x in 60x povečavo. Preko digitalne kamere, ki je bila nameščena na vrhu mikroskopa in je bila povezana z računalnikom, smo na zaslonu opazovali živo sliko. Pri merjenju nam je bila v veliko pomoč premična objektna miza mikroskopa, saj nam je omogočala premikanje preparatov v poljuben položaj. S spremembo položaja objektna mize se je hkrati spremenila slika na zaslonu. Program NIS elements BR3 nam je omogočal, da smo s funkcijo štetja prešteli celice v kambijeви coni, ko pa smo merili širino kambijeve cone ali branike, smo preklopili na funkcijo merjenja. Ob menjavi objektiva na mikroskopu smo morali nastaviti tudi pravilno kalibracijo za izbran objektiv, nato smo lahko začeli z merjenjem. Tako smo zagotovili pravilne dimenzije meritev v μm . Meritve, ki smo jih dobili, smo s pomočjo funkcije export shranili v obliki *.xls datoteke in jo ustrezno poimenovali. Datoteka je bila imenovana glede na datum odvzema, kaj smo merili oz. šteli in kraj odvzema. Primer: ime 3_1_8_MCC_me pomeni, (3) da so odvzeli mikroizvrtek na tretjem drevesu, (1_8) pomeni datum 1.8.2008, (MCC) pomeni, da smo merili širino kambijeve cone in (me) pomeni, da je bil mikroizvrtek odvzet na Menini planini. Vse dobljene podatke smo shranili v Microsoft Excel, kjer smo podatke uredili v obliki preglednice.



Slika 12: Svetlobni mikroskop z digitalno kamero, ki je nameščena na vrhu mikroskopa

3.6 HISTOMETRIČNE ANALIZE

Izdelane preparate smo po datumih zložili v škatle za shranjevanje trajnih preparatov. Preparate z Menine planine smo shranili v eno, preparate iz Panške reke pa v drugo škatlo. Preden smo začeli meriti, smo pod mikroskopom pogledali rezine in izbrali najprimernejšo rezino za merjenje. Histometrične preiskave so zajemale štetje celic v kambijevi coni (Slika 13), merjenje širine kambijeve cone in merjenje širine branike tekočega leta 2008. S pomočjo rdečega obarvanja s safraninom in modrega obarvanja z astra modrim smo spremljali tudi diferenciacijo celic. Rdeče obarvano tkivo predstavlja popolnoma zaključeno diferenciacijo trahej in vlaken. To pomeni, da se je lignin inkrustriral v celično steno. Modro obarvano tkivo pa predstavlja tkiva, v katerih je prisotna samo celuloza in hemiceluloza.



Slika 13: Prečni prerez bukovine (*Fagus sylvatica* L.) kambijeve cona (KC) in ksilemske celice v postkambialni rasti PR. Daljica 100 μ m

4 REZULTATI IN DISKUSIJA

4.1 AKTIVNOST KAMBIJEVE CONE V DRUGI POLOVICI RASTNE SEZONE 2008

Na preparatih mikroizvrtkov smo najprej določili kambijevo cono. V kambijeви coni hkrati nastajajo celice ksilema in celice floema, razločevanje med kambijevimi inicialkami in njihovimi neposrednimi derivati pa je skoraj nemogoče.

Celice kambijeve cone so bile radialno sploščene in štirikotne oblike, celične stene pa so bile tanke in obarvane modro. Celice v postkambijski rasti so nekoliko bolj okrogle oblike, celične stene so bolj debele in se še debelijo, celice pa začnejo dobivati svojo pravo obliko in funkcijo. Ko celične stene olesenijo se obarvajo rdeče.

4.1.1 Panška reka

Aktivna kambijeva cona dreves, ki smo jih opazovali, je imela glede na kraj in datum odvzema mikroizvrtkov različno število celic v radialnem nizu. Iz slike (Slika 15) lahko vidimo, da je bilo v kambijevi coni pri šestih drevesih iz Panške reke na začetku opazovanja 7.7.2008 (dan 189) od 7 do 9 slojev celic, nato pa je do 21.7.2008 (dan 203) število še rahlo naraslo do približno 8 do 11 slojev celic. Po tem datumu je število celic v kambijevi coni bolj ali manj stalno upadalo do povprečno 5 do 7 slojev celic, ki smo jih zabeležili 8.9.2008 (dan 252).

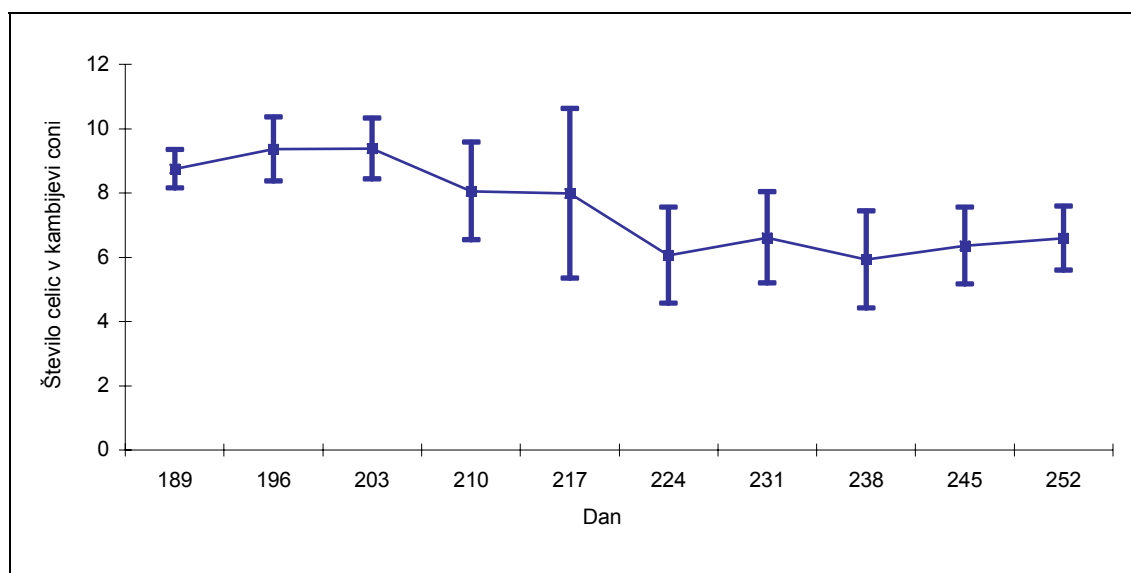
Vrednosti pri različnih drevesih so nekoliko odstopale. Drevesi 4 in drevo 6 odstopata od ostalih dreves. Postkambijska rast nazadnje nastalih celic je pri teh drevesih potekala bistveno dlje kot pri ostalih drevesih. To je najverjetneje posledica zelo intenzivne kambijeve aktivnosti med vegetacijsko dobo, saj so celične delitve v kambijevi coni potekale bistveno hitreje kot diferenciacija novo nastalih ksilemskih celic, zato je število celic v kambijevi coni naraslo.

Kambijeva aktivnost naj bi se zaključila takrat, ko prenehajo nastajati nove ksilemske in floemske celice. Pod svetlobnim mikroskopom je v tej fazi mogoče jasno opaziti mejo med

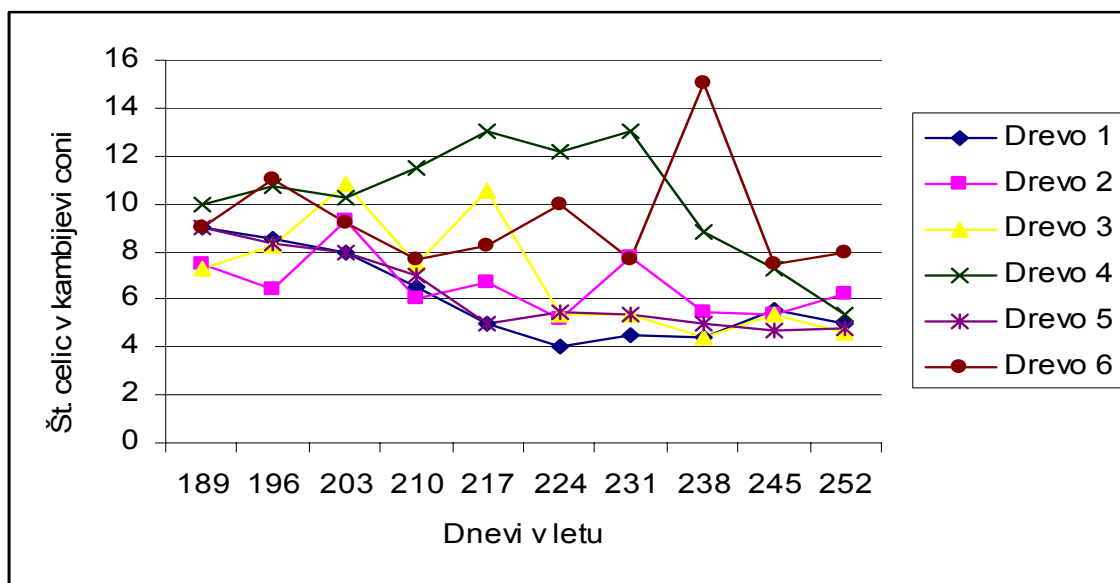
sploščenimi celicami kambijeve cone in celicami v fazi odlaganja sekundarne celične stene.

Pri drevesih 1 in 3 se je kambijeva aktivnost zaključila v tednu med 28.7.2008 in 4.8.2008 (dan 210 do 217), pri drevesih 2 in 4 med 18.8.2008 in 25.8.2008 (dan 231 do 235), pri drevesu 5 so se celične delitve ustavile do 7.7.2008 (dne 189), pri drevesu 6 pa v tednu med 21.7.2008 in 28.7.2008 (dan 203 do 210).

Slika 14 prikazuje povprečno število slojev celic v kambijevi coni pri šestih drevesih iz rastišča Panška reka.

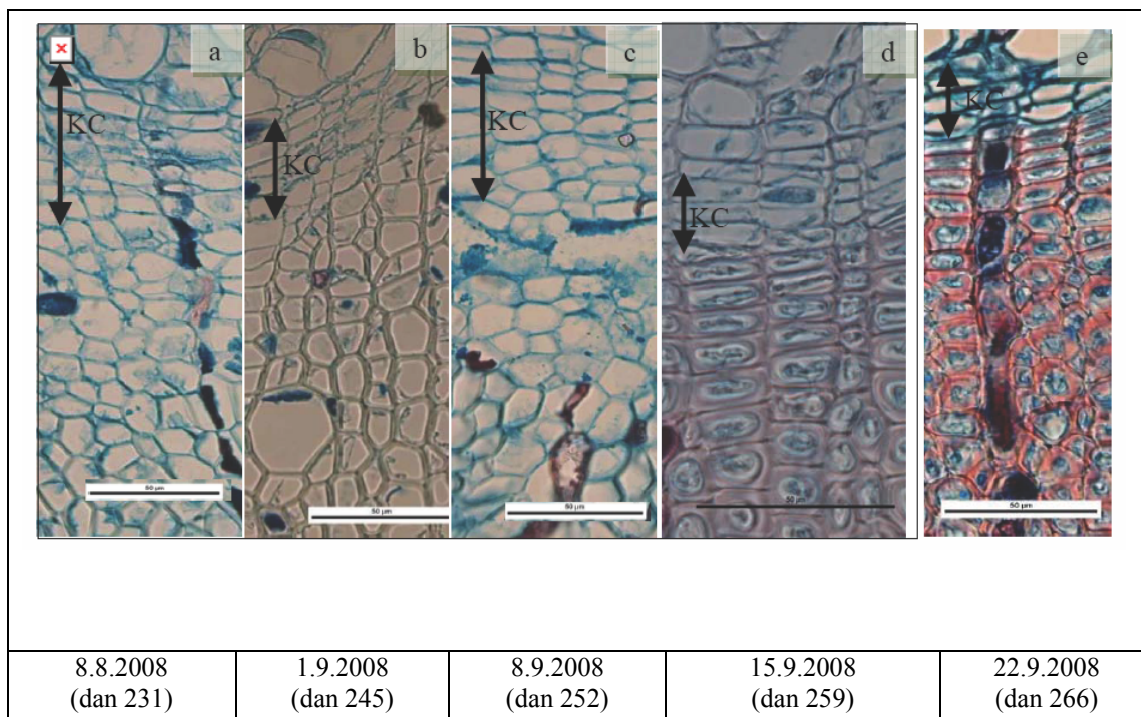


Slika 14: Povprečno število slojev celic v kambijevi coni pri šestih bukvah iz rastišča Panška reka v zadnjem delu rastne sezone 2008 in $\pm 95\%$ interval zaupanja



Slika 15: Število celic v kambijevi coni pri šestih bukvah s Panške reke v rastni sezoni 2008

Iz slike zgoraj lahko vidimo, da se število celic v kambijevi coni spreminja tudi po zaključku kambijeve aktivnosti, kar je posledica razlik po obodu debla.



Slika 16: Spremljanje širine kambijeve cone pri bukvi številka 6 z rastišča Panška reka v drugi polovici rastne sezone 2008

Na sliki (Slika 16) je prikazanih pet prečnih prerezov pri bukvi številka 6 z rastišča Panška reka v drugi polovici rastne sezone 2008. Prikazani so prečni prerezi A, B, C, D in E po

posameznih opazovanih dnevih. Pri prečnem prerezu A je kambijeva cona (KC) sestavljena le iz okoli 9 slojev celic, datuma 8.8.2008, dne 231 je kambijeva cona še aktivna, nazadnje nastale celice v novonastali braniki pa še niso diferencirane, celične stene pa so še vedno dokaj tanke. Pri prečnem prerezu B se je kambijeva aktivnost že zaključila, v kambijevi coni pa smo našli od 8 do 9 slojev celic in že diferencirane nazadnje nastale celice v novonastali braniki. Pri prečnem prerezu C je kambijeva cona na datum 8.9.2008 dan 252 štela okoli 8 plasti celic, celice so že dokončno diferencirane, celične stene pa še niso olesenele. Pri prečnem prerezu D je (15.9.2008, dne 259) kambijeva cona že zelo ozka in šteje le od 5 do 6 plasti celic, ima pa že olesenele celične stene v nazadnje nastalih celicah v novonastali braniki. Pri prečnem prerezu E je kambijeva cona široka le okoli 5 slojev celic v radialnem nizu, ksilemska branika pa je že popolnoma olesenela. Merilne črte predstavljajo 50 μ m, slikano pri 40 kratni povečavi.

4.1.2 Menina planina

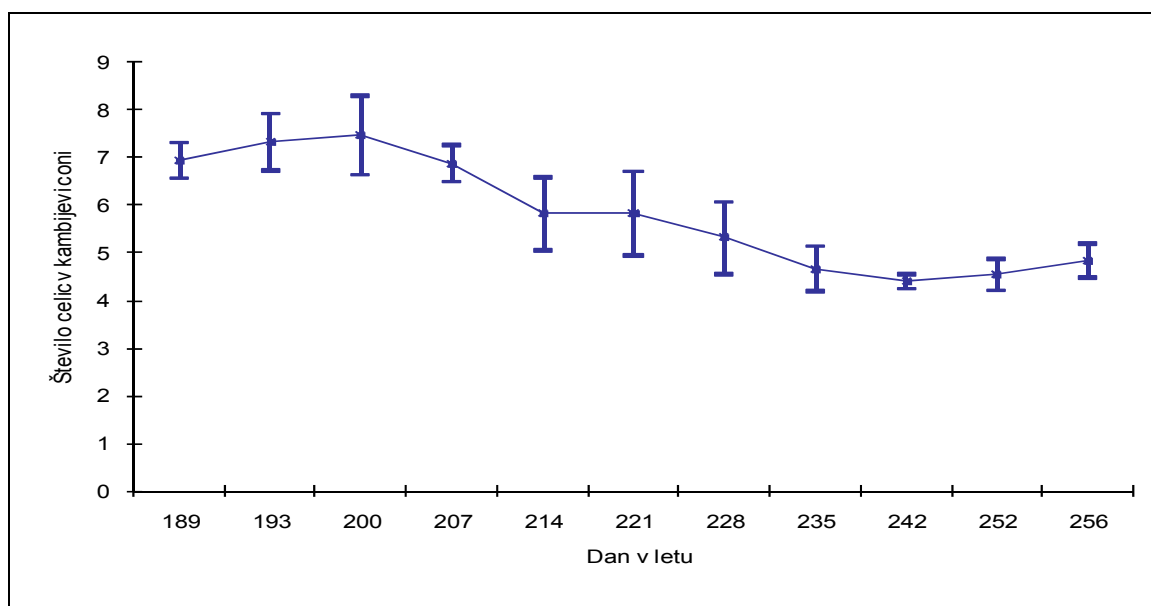
Slika 18 prikazuje izmerjene vrednosti števila plasti celic v kambijevi coni tekom opazovanega obdobja pri vseh šestih drevesih z Menine planine. Na dan pričetka opazovanja 7.7.08 (dan 189) je število plasti celic v radialnem nizu variiralo med 7 in 8. Do 22.8.2008 (dan 235) se je število plasti celic v radialnem nizu pri večini dreves zmanjšalo ter na ta datum doseglo najnižjo vrednost, okoli 4 plasti celic.

Število slojev celic v kambijevi coni se pri večini dreves prične manjšati med 18.7.2008 (dne 200) in 25.7.2008 (dne 207). Na sliki (Slika 18) je razvidno, da pri nekaterih drevesih pride do ponovnega povečanja števila plasti v kambijevi coni, na primer: pri drevesu 4 se prične število manjšati 18.7.2008 (dan 200), vendar med 25.7.2008 (dan 207) in 1.8.2008 (dan 214) nekoliko naraste, pri drevesu 5 se je število celic pričelo manjšati med 11.7.2008 (dan 193) in 18.7.2008 (dan 200), vendar se med 18.7.2008 (dne 200) in 25.7.2008 (dne 207) ponovno poveča ter do 1.8.2008 (dne 214) zopet pade na povprečno 5,3 sloje celic, vendar je potem do 15.8.2008 (dne 228) število celic ponovno naraslo na povprečno 7 slojev celic v kambijevi coni, v nadaljevanju pa se izmerjene vrednosti gibljejo podobno

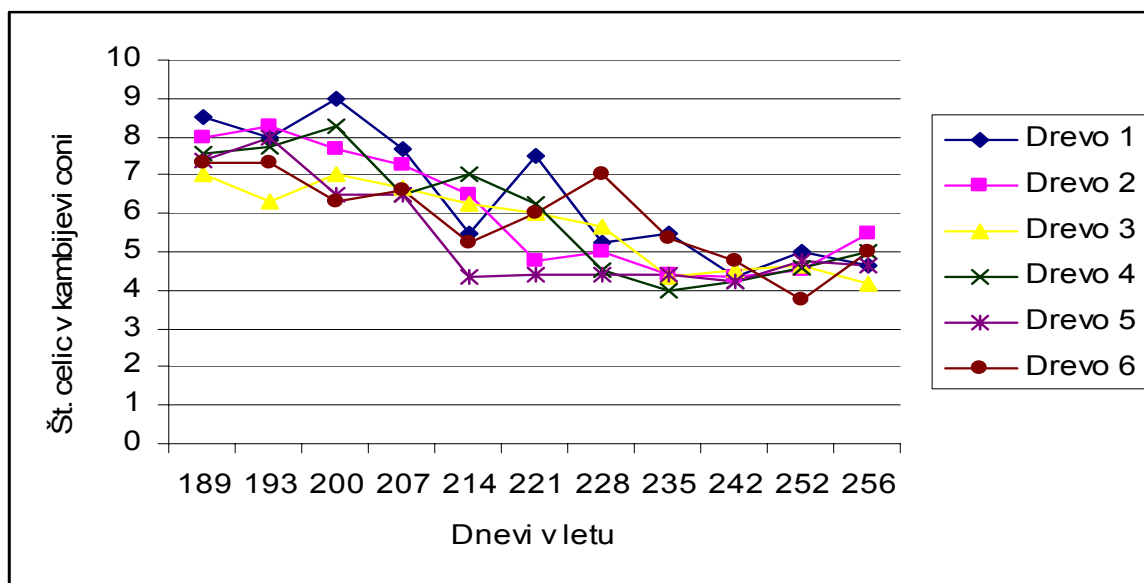
kot vrednosti ostalih dreves. Tovrstna odstopanja širine kambijeve cone so posledica razlik po obodu debla, kljub temu pa povprečna krivulja (Slika 17) kaže padajoči trend.

Do konca vzorčenja, 12.9.2008 (dan 256), se je pri vseh drevesih število plasti celic v kambijevi coni gibalo med 4 in 6. Pri večini dreves, razen pri drevesu 6, pa smo takšno širino opazili že 15.8.2008 (dne 228). Kambijeva cona ima v času mirovanja povprečno 5 slojev celic.

Do 7.7.2008 (dan 189) se je kambijeva aktivnost že zaključila pri drevesih 1 in 2, teden kasneje 11.7.2008 (dan 193) pa pri drevesu 3 in 6. Pri drevesih 4 in 5 so se celične delitve zaključile v tednu med 18.7.2008 (dnem 200) in 25.8.2008 (dnem 207).

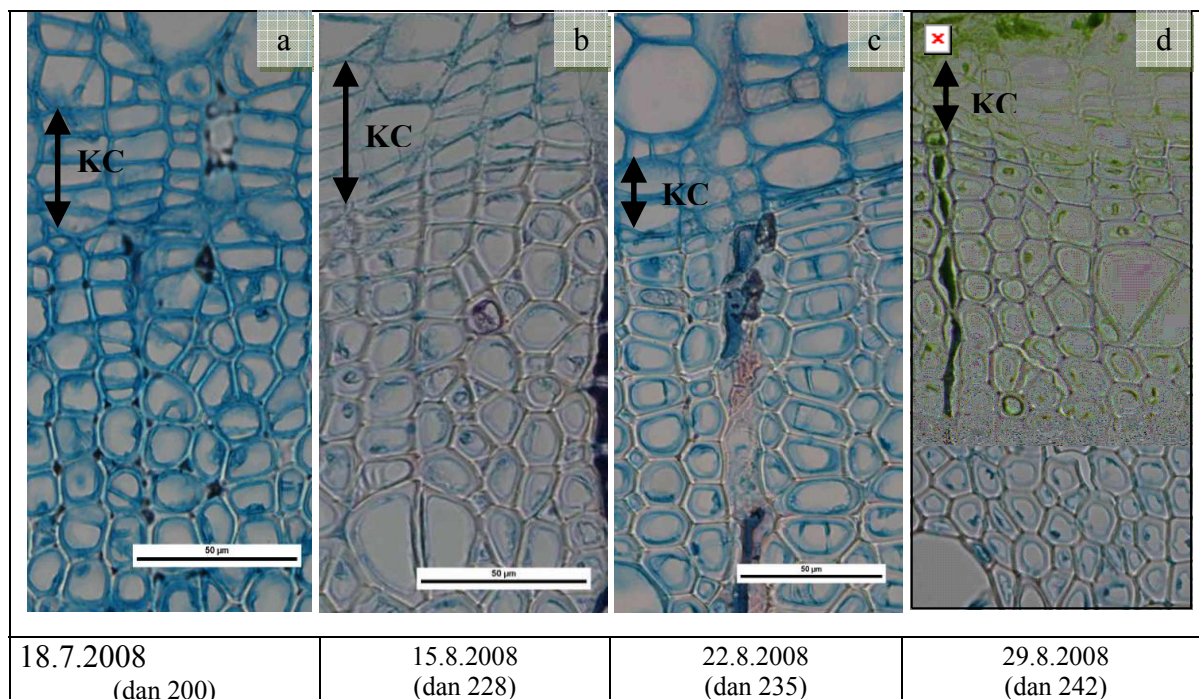


Slika 17: Povprečno število slojev celic v kambijevi coni pri šestih bukvah z rastišča Menina planina v rastni sezoni 2008 in $\pm 95\%$ interval zaupanja



Slika 18: Število celic v kambijevi coni pri šestih bukvah z Menine planine v rastni sezoni 2008

Iz slike zgoraj lahko vidimo, da se število celic v kambijevi coni spreminja tudi po zaključku kambijeve aktivnosti, kar je posledica razlik po obodu debla.



Slika 19: Spremljanje širine kambijeve cone pri bukvi številka 2 z rastišča Menina planina, v drugi polovici rastne sezone 2008.

Na sliki (Slika 19) je prikazanih pet prečnih prerezov pri bukvi številka 2 z rastišča Menina planina v drugi polovici rastne sezone 2008. Prikazani so prečni prerezi A, B, C in D po posameznih opazovanih dnevih. Pri prečnem prerezu A je kambijeva cona (KC) sestavljena le iz okoli 5 slojev celic, na dan 18.7.2008, dne 200 ni več aktivna, nazadnje nastale celice v novonastali braniki pa lahko vidimo, da so že delno diferencirane. Pri prečnem prerezu B smo v kambijevi coni našli od 5 do 6 slojev celic in že diferencirane nazadnje nastale celice v novonastali braniki (15.8.2008, dne 228). Pri prečnem prerezu C je kambijeva cona na datum 22.8.2008 (dan 235) štela le 4 do 5 plasti celic, celice so že dokončno diferencirane. Pri prečnem prerezu D je (29.8.2008, dne 242) kambijeva cona ozka in šteje le od 4 do 5 plasti celic, ima pa že olesenele celične stene v nazadnje nastalih celicah v novonastali braniki. Merilne črte predstavljajo 50 μm .

4.2 NASTAJANJE KSILEMSKE BRANIKE IN DIFERENCIACIJA CELIC V DRUGI POLOVICI RASTNE SEZONE 2008

Poleg širine kambijeve cone smo spremljali tudi naraščanje širine nastajajoče ksilemske branike v drugi polovici rastne sezone 2008 pri šestih drevesih z rastišča Panška reka in šestih drevesih z rastišča Menina planina. Pri izbranih drevesih smo definirali tudi faze nastanka ksilemske branike.

Za morfološko razlikovanje tkiva v različnih fazah diferenciacije smo si pomagali z obarvanjem preparatov z barvili astra modro in safranin ter z opazovanjem pod polarizirano svetlobo.

Celice so sprva obdajale primarne celične stene iz celuloze in hemiceluloz, ki so se obarvale z barvilom astra modro. Ko je bila površinska rast zaključena, se je na primarno steno v centripetalni smeri odložila večslojna in toga sekundarna celična stena. Odlaganju celuloze in hemiceluloz je sledila lignifikacija (Gričar, 2006, Prislan, 2007, Prislan in sod., 2008, Čufar in sod., 2008 b). Na trajnih preparatih se je dokončno oblikovana celična stena obarvala rdeče, kar je posledica reakcije med barvilom safranin in polifenolnimi komponentami lignina v celični steni.

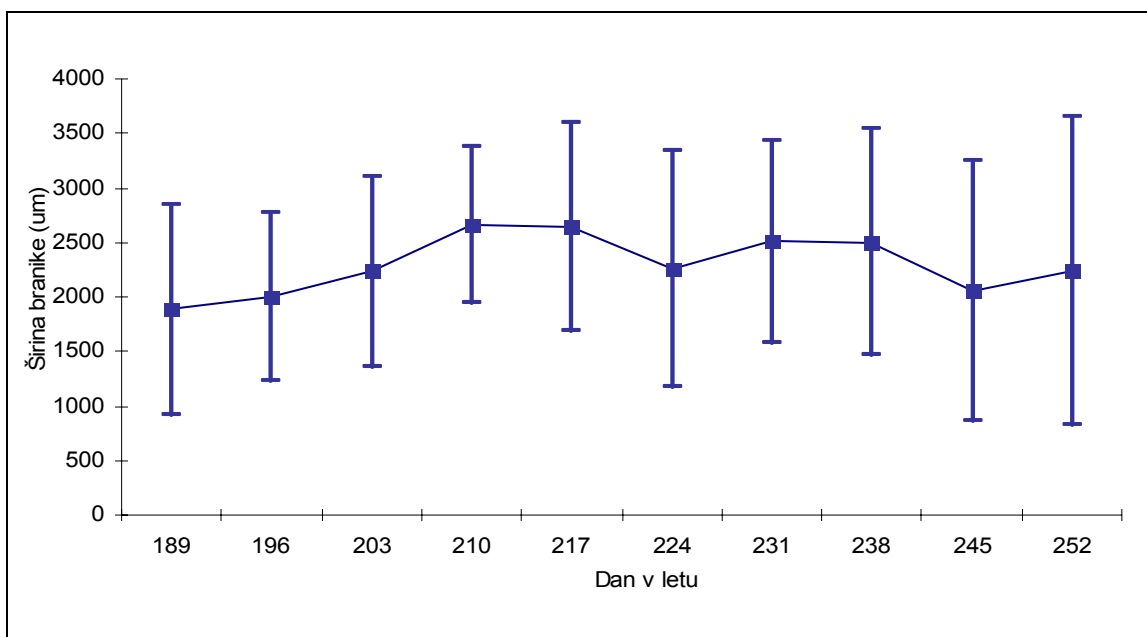
4.2.1 Panška reka

4.2.1.1 Nastajanje ksilemske branike

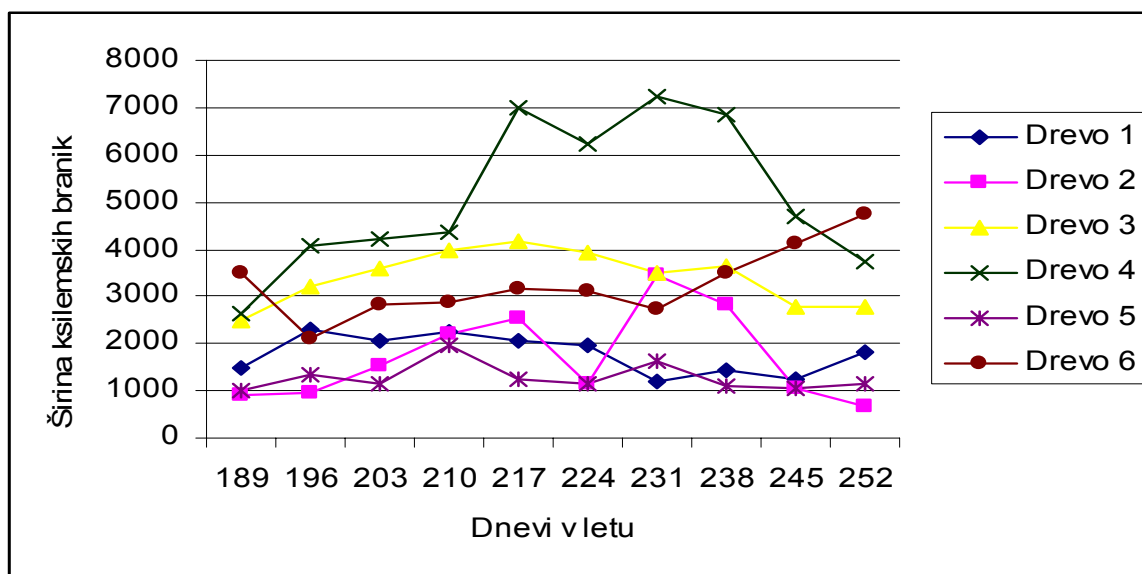
Na sliki (Slika 21) je prikazano priraščanje ksilemskih branik izbranih dreves na rastišču Panška reka v drugem delu rastne sezone. Z merjenjem smo pričeli 7.7.2008 (dan 189), zaključili pa 8.9.2008 (dan 252). Povprečna širina ksilemskih branik je prikazana na sliki (Slika 20).

Na začetku merjenja, 7.7.2008 (dan 189), je širina ksilemskih branik izbranih dreves variirala med 1000 μm in 3500 μm (v povprečju 2010 μm). V nadaljevanju spremljanja razvoja ksilemskih branik smo opazili, da širina le teh narašča do 4.8.2008 (dne 217). Od tega datuma naprej ni bilo več mogoče opaziti bistvenih povečanj v širini ksilemske branike. Na sliki 20 so med 4.8.2008 (dnem 217) in 8.9.2008 (dnem 252) sicer opazna odstopanja: npr. 11.8.2008 (dne 224) je povprečna širina ksilemske branike znašala 2917,6 μm , 25.8.2008 (dne 238) je bila široka 3226,9 μm , 8.9.2008 (dne 252) pa 2483,8 μm . Povprečna vrednost za to obdobje znaša 2882 μm . Glede na to, da v tem obdobju kambijeve cona miruje, so odstopanja v širini ksilemske branike posledica razlik po obodu debla.

V proučevanem obdobju smo opazili, da se priraščanje ksilemske branike pri vzorčnih drevesih razlikuje (Slika 21). Najbolj odstopata drevo 4 in drevo 6, kjer je končna širina branike kar 2–krat večja od ostalih dreves in dosežeta vrednost tudi več kot 7000 μm .



Slika 20: Povprečna širina ksilemskih branik preiskovanih bukev z rastišča Panjska reka v rastni sezoni 2008 in $\pm 95\%$ interval zaupanja



Slika 21: Prikazane širine ksilemskih branik od šestih bukev z rastišča Panjska reka

4.2.1.2 Diferenciacija ksilemskih celic

Novonastale celice v ksilemski braniki so bile obdane le s tanko, nelignificirano primarno celično steno, ki je bila obarvana modro. Tanka primarna celična stena se je v nadaljevanju svoje rasti z odlaganjem slojevite sekundarne celične stene pričela vidno debeliti.

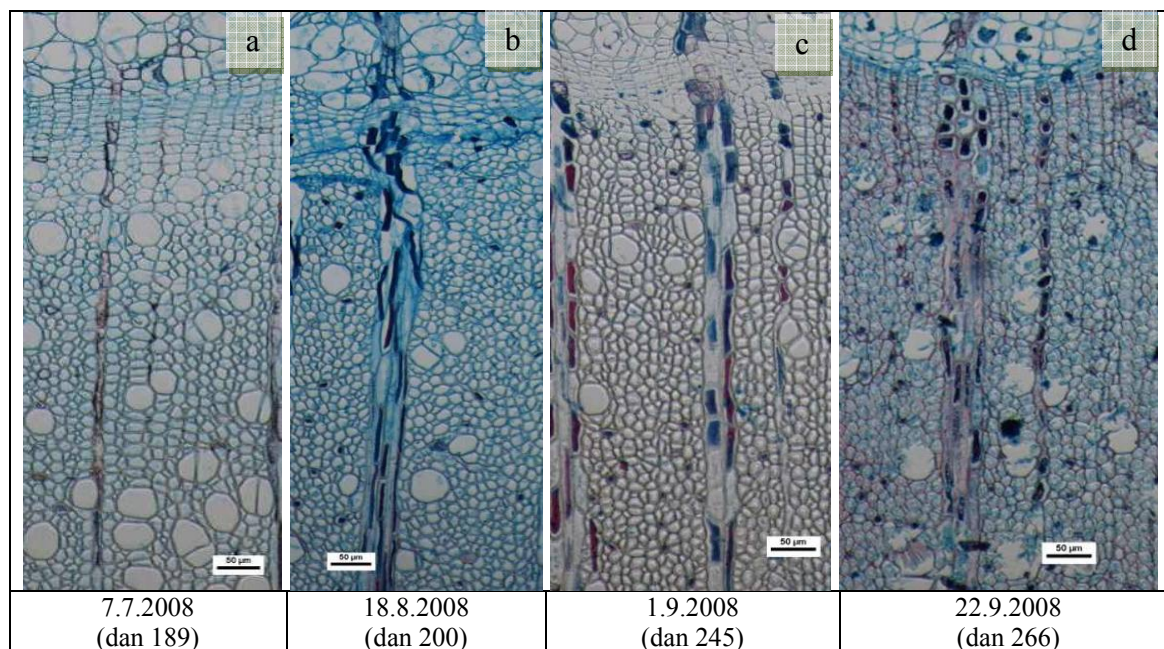
Lignifikacija celičnih sten se je pričela, ko so se pričele modro obarvane celične stene barvati rdeče. Za nedokončno diferencirane ksilemske celice je značilen modro obarvani notranji sloj celične stene (ob lumnu) ter ostanki citoplazme v lumnu. Po zaključku diferenciacije so bile celične stene obarvane rdeče, lumni pa prazni.

Na začetku našega opazovanja, 7.7.2008 so imele ksilemske branike približno polovico celic že dokončno diferenciranih.

V preglednici (Preglednica 3) so prikazane širine novonastalih ksilemskih branik po posameznih drevesih ob zaključku debeljenja oziroma diferenciacije celic in zaključek kambijeve aktivnosti v primerjavi z zaključkom diferenciacije. Tako lahko vidimo, da se je diferenciacija celic pri drevesih zaključila v obdobju od 11.8.2008 do 8.9.2008 (od dne 224 do dne 252), širina novonastalih ksilemskih branik pa je v povprečju znašala 2380 μm . Kambijeva aktivnost se je zaključila od 1 do 5 tednov pred zaključkom diferenciacije, kar v povprečju znaša 2,8 tedna pred zaključkom diferenciacije celic.

Preglednica 3: Prikazana primerjava datumov zaključka debeljenja celičnih sten in zaključka kambijeve aktivnosti pri preiskovanih bukvah na rastišču Panška reka. Prikazane so tudi širine novonastale ksilemske branike ob zaključku diferenciacije.

Drevo	Zaključek debeljenja (diferenciacije celic)	Zaključek kambijeve aktivnosti	Širina novonastale ksilemske branike ob zaključku diferenciacije
1	18.08.2008 (dan 231)	2 tedna pred zaključkom diferenciacije (4.8.2008, dan 217)	1198 μm (dan 231)
2	01.09.2008 (dan 245)	1 teden pred zaključkom diferenciacije (25.8.2008, dan 238)	1067 μm (dan 245)
3	25.08.2008 (dan 238)	3 teden pred zaključkom diferenciacije (4.8.2008, dan 217)	3663 μm (dan 238)
4	08.09.2008 (dan 252)	2 tedna pred zaključkom diferenciacije (25.8.2008, dan 238)	3722 μm (dan 252)
5	11.08.2008 (dan 224)	5 tednov pred zaključkom diferenciacije (7.7.2008, dan 189)	1129 μm (dan 224)
6	25.08.2008 (dan 238)	4 tedne pred zaključkom diferenciacije (28.7.2008, dan 210)	3500 μm (dan 238)
povprečje		2,8 tednov pred zaključkom diferenciacije	2380 μm



Slika 22: Diferenciacija tkiva v terminalnem delu branike pri bukvi številka 6 z rastišča Panška reka v drugi polovici rastne sezone 2008.

4.2.1.2.1 Priraščanje ksilemske branike

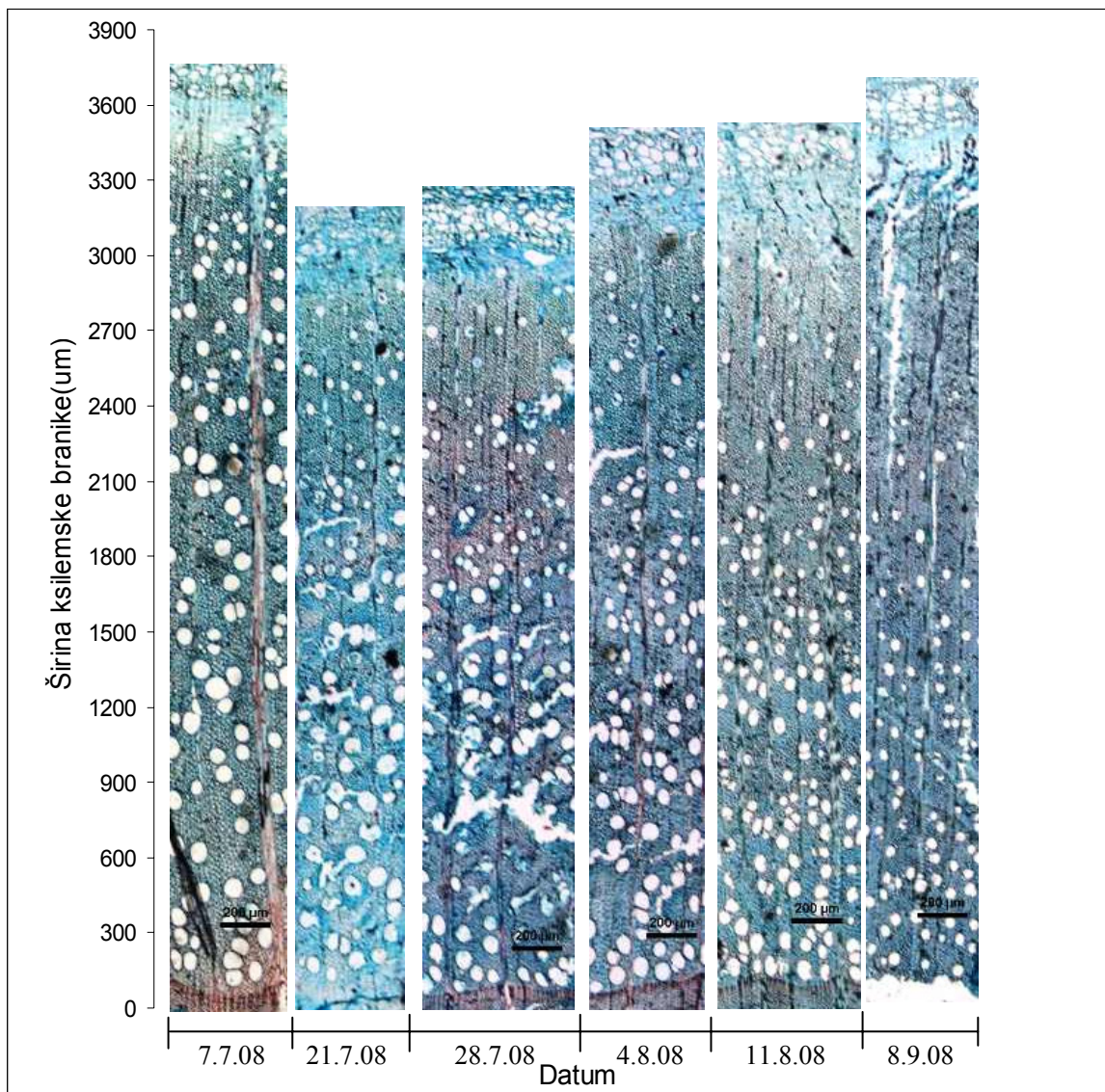
Na sliki (Slika 23) je prikazano priraščanje ksilemske branike pri drevesu 6 z rastišča Panška reka, v drugi polovici rastne sezone 2008. S pomočjo svetlobnega mikroskopa in sistema za analizo slike smo izmerili širino novonastale ksilemske branike ter spremljali faze diferenciacije ksilemskega tkiva.

Iz slike (Slika 23) lahko vidimo, da je 7.7.2008 (dan 189) ksilemska branika v primerjavi z naslednjimi datumi relativno široka (približno 3500 μm), kar je posledica nihanj po obodu drevesa. Opazne so tudi že traheje z manjšimi premeri, kar pomeni, da je kasni les pričel nastajati že pred 7.7.2008. Dne 21.7.2008 je ksilemska branika merila 2816 μm . Pod kambijevo cono so bila modro obarvana vlakna in traheje kasnega lesa v fazi postkambialne rasti. Do 8.9.2008 ne opazimo bistvenih sprememb in sicer kambijeva cona je v tem obdobju še zelo široka (med 8 in 10 celic v radialnem nizu), postkambialna rast v novo nastalih lesnih celicah pa še vedno poteka. Opazno je tudi, da je kasni les branike pri tem drevesu zelo izrazit (v skoraj 50% širine branike so prisotne traheje z nekoliko manjšim premerom). Celične delitve se končajo relativno pozno, okoli 25.8.2008. Popolnoma diferencirana branika pa je bila opazna šele med 15.9.2008 in 22.9.2008.

Iz slike (grafa) (Slika 23) in preglednice (Preglednica 4) je razvidno priraščanje ksilemske branike v opazovanem obdobju pri drevesu 6.

Preglednica 4: Po datumih prikazane širine ksilemskih branik in število plasti celic v kambijevi coni pri drevesu 6 z rastišča Panška reka.

Datum	Dan	Širina ksilemske branik	Število plasti celic v kambijevi coni
07.07.2008	189	3502 μm	9
21.07.2008	203	2816 μm	9-10
28.07.2008	210	2890 μm	7-8
04.08.2008	217	3153 μm	8-9
11.08.2008	224	3133 μm	10
08.09.2008	252	4750 μm	8



Slika 23: Priraščanje ksilemske branike pri bukvi številka 6 z rastišča Panška reka v rastni sezoni 2008. Vodoravno prikazani datumi vzorčenja in navpično prikazana širina ksilemske branike v μm . Merilne črte prikazujejo velikost $200 \mu\text{m}$.

Spreminjanje širine ksilemske branike lahko pripišemo variiranju po obodu debla, kar pomeni, da ksilemska branika na določenem mestu lahko širša ali ožja od dejanske vrednosti. To je lahko posledica raznih napak v deblu, npr. poškodbe in podobno.

4.2.2 Menina planina

4.2.2.1 Nastajanje ksilemske branike

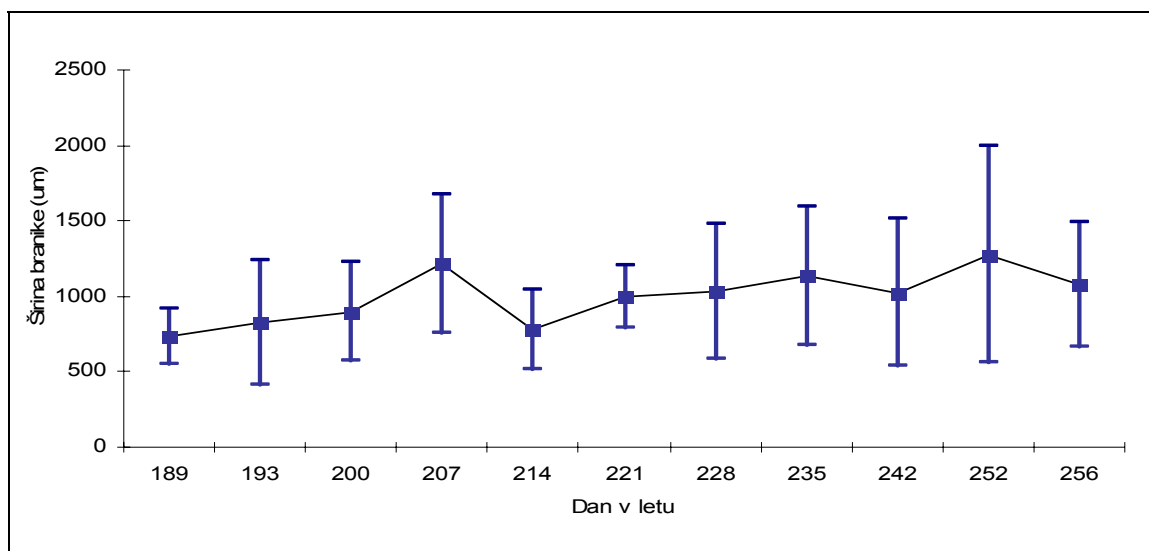
Slika 25 prikazuje izmerjene prirastke ksilemskih branik v šestih izbranih drevesih z rastišča Menina planina. Z merjenjem smo pričeli 7.7.2008 (dne 189), zaključili pa 12.9.2008 (dne 256). Povprečne širine nastajajočih ksilemskih branik v zaključnem obdobju vegetacijske dobe so prikazane na sliki (Slika 24).

Na začetku merjenja, 7.7.2008 (dne 189), je bila širina ksilemskih branik med 500 μm in 1100 μm (povprečno 734 μm). V nadaljevanju spremljanja razvoja ksilemskih branik smo opazili, da širina le-teh narašča in doseže 25.7.2008 (dne 207) širino v povprečju 999 μm (med 750 μm in 1600 μm).

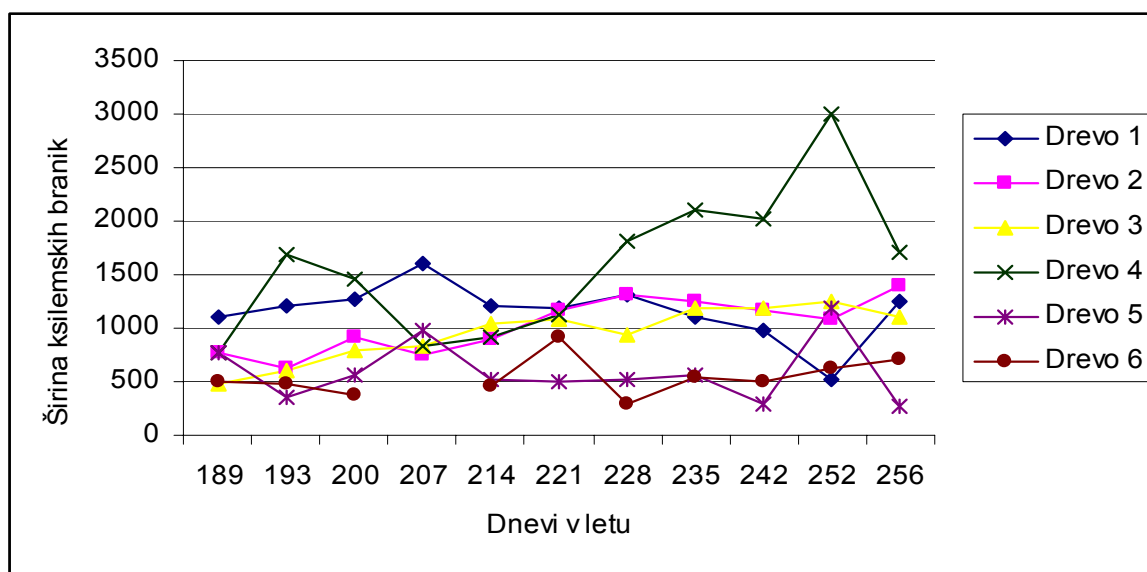
Kasneje bistvenih sprememb v širini ksilemske branike ne opazimo. Povprečna širina branike v obdobju med 1.8.2008 (dan 214) in 12.9.2008 (dan 256) variira med 848 μm in 1130 μm (povprečno 1054 μm). Priraščanje ksilemskih branik je potekalo med drevesi precej podobno, nekaj odstopanj pa smo opazili zgolj pri drevesu 4. Povprečno širino ksilemskih branik po posameznih obdobjih lahko podrobneje vidimo v preglednici (Preglednica 5).

Preglednica 5: Povprečna širina ksilemske branike pri preiskovanih bukvah z rastišča Menina planina

Datum	Dan	Povprečna širina ksilemske branike
07.07.2008	189	734 μm
11.07.2008	193	824 μm
18.07.2008	200	900 μm
25.07.2008	207	999 μm
01.08.2008	214	848 μm
08.08.2008	221	997 μm
15.08.2008	228	1031 μm
22.08.2008	235	1130 μm
29.08.2008	242	1024 μm
08.09.2008	252	1278 μm
12.09.2008	256	1073 μm



Slika 24: Povprečna širina ksilemskih branik pri preiskovanih bukvah z rastišča Menina planina v rastni sezoni 2008 in $\pm 95\%$ interval zaupanja



Slika 25: Prikazane širine ksilemskih branik pri preiskovanih bukvah z rastišča Menina planina

Iz slike zgoraj lahko vidimo, da se širina ksilemskih branik spreminja tudi po zaključku kambijeve aktivnosti, kar je posledica razlik po obodu debla, lahko zaradi napak v deblu (poškodb, reakcijskega lesa ...).

4.2.2.2 Diferenciacija ksilemskih celic

Diferenciacijo ksilemskih celic smo v istem obdobju opazovali tudi pri šestih drevesih z rastišča Menina planina. Opazovanje diferenciacije ksilemskih celic je potekalo od 7.7.2008 (dne 189) do 12.9.2008 (dne 256).

V preglednici (Preglednica 6) je prikazan zaključek diferenciacije celičnih sten in širina popolnoma oblikovane ksilemske branike po posameznih drevesih. Vidimo lahko, da se je diferenciacija celičnih sten pri večini dreves zaključila v obdobju do 22.08.2008 (dan 235). V povprečju se je diferenciacija celičnih sten zaključila 5 tednov po zaključku kambijeve aktivnosti.

Preglednica 6: Prikazan zaključek diferenciacije celičnih sten in širina ksilemske branike pri preiskovanih bukvah ob zaključku diferenciacije celičnih sten.

Drevo	Zaključek diferenciacije celičnih sten	Širina ksilemske branike ob zaključku diferenciacije celičnih sten
1	22.08.2008 (dan 235), 6 tednov po zaključku kambijeve aktivnosti	1114 μm (dan 235)
2	22.08.2008 (dan 235), 7 tednov po zaključku kambijeve aktivnosti	1256 μm (dan 235)
3	22.08.2008 (dan 235), 6 tednov po zaključku kambijeve aktivnosti	1187 μm (dan 235)
4	29.08.2008 (dan 242), 5 tednov po zaključku kambijeve aktivnosti	2022 μm (dan 235)
5	08.08.2008 (dan 221), 2 tedna po zaključku kambijeve aktivnosti	500 μm (dan 221)
6	22.08.2008 (dan 235), 4 tedne po zaključku kambijeve aktivnosti	545 μm (dan 235)
povprečje	5 tednov po zaključku kambijeve aktivnosti	1104 μm

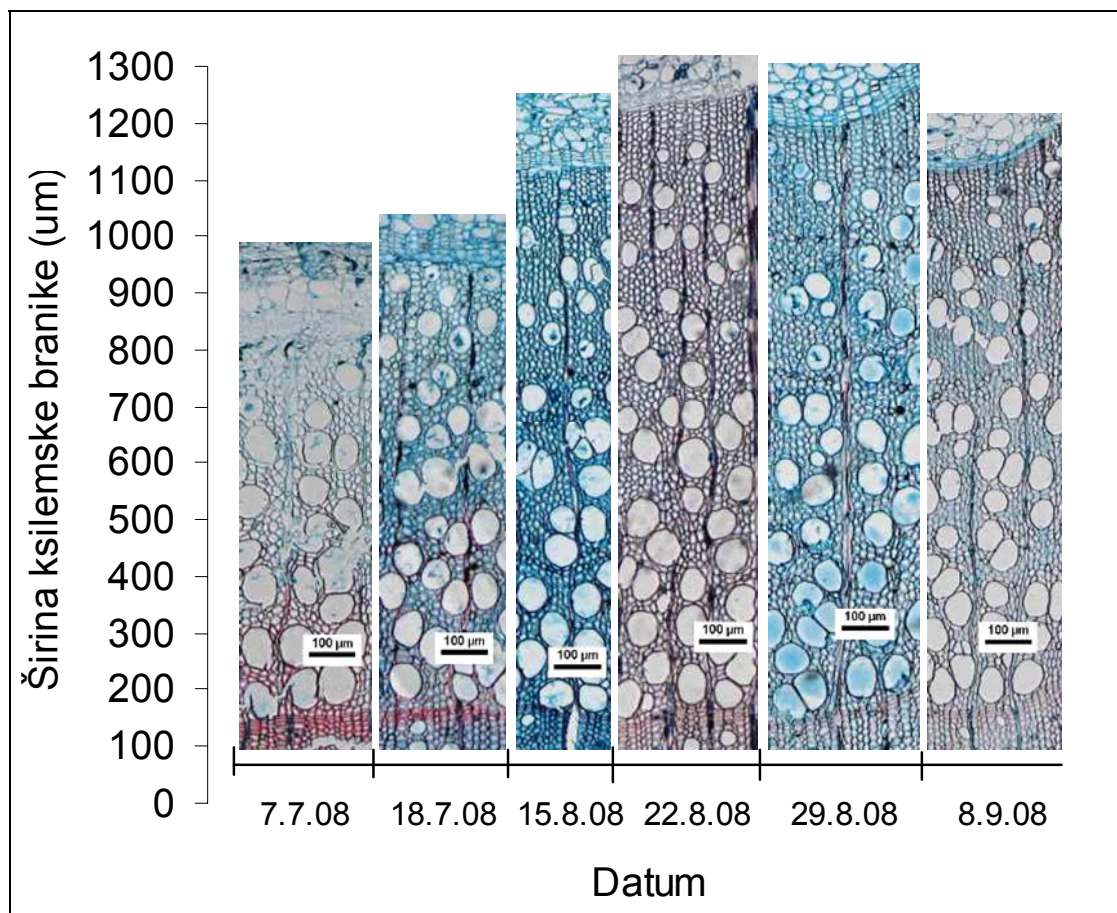
4.2.2.3 Priraščanje ksilemske branike

Na sliki 26 je prikazano priraščanje ksilemske branike pri drevesu 2 z rastišča Menina planina v drugi polovici rastne sezone 2008. S pomočjo sistema za analizo slike smo izmerili širino novonastale ksilemske branike ter spremljali faze diferenciacije. Modro obarvano tkivo prikazuje kambijevo cono in nelignificirane celice ksilemske branike, rdeče obarvano tkivo pa prikazuje popolnoma lignificirane celične stene.

V preglednici (Preglednica 7) je prikazana širina ksilemske branike in število plasti celic v kambijeви coni po posameznih obdobjih pri drevesu 2. Iz slike 26 lahko vidimo, da se na začetku opazovanja (7.7.2008) velikost celic (trahej) v ksilemski braniki ni spremenila, kar pomeni, da se rast kasnega lesa še ni pričela, kambijeva aktivnost pa se je do tedaj že zaključila. Naslednji teden (18.7.2008) smo že opazili spremembo v premeru trahej, kar nakazuje začetek rasti kasnega lesa. Pod kambijevo cono lahko vidimo modro obarvane celice ksilemske branike v fazi postkambialne rasti. Dne 15.8.2008 je ksilemska branika že skoraj popolnoma olesenela, le sloj celic pod kambijevo cono je še modro obarvan, kar pomeni, da se ta sloj celic še ni lignificiral. V obdobju med 22.8.2008 in 8.9.2008 imajo nazadnje nastale celice ksilema že odebeljene in rdeče obarvane celične stene, kar pomeni, da se je diferenciacija že zaključila.

Preglednica 7: Po datumih prikazane širine ksilemskih branik in število plasti celic v kambijeви coni pri bukvi številka 2 z rastišča Menina planina.

Datum	Dan	Širina ksilemske branik	Število plasti celic v kambijeви coni
07.07.2008	189	773 μm	8
18.07.2008	200	921 μm	7 - 8
15.08.2008	228	1308 μm	5
22.08.2008	235	1256 μm	4 - 5
29.08.2008	242	1164 μm	4 - 5
08.09.2008	252	1076 μm	4 - 5



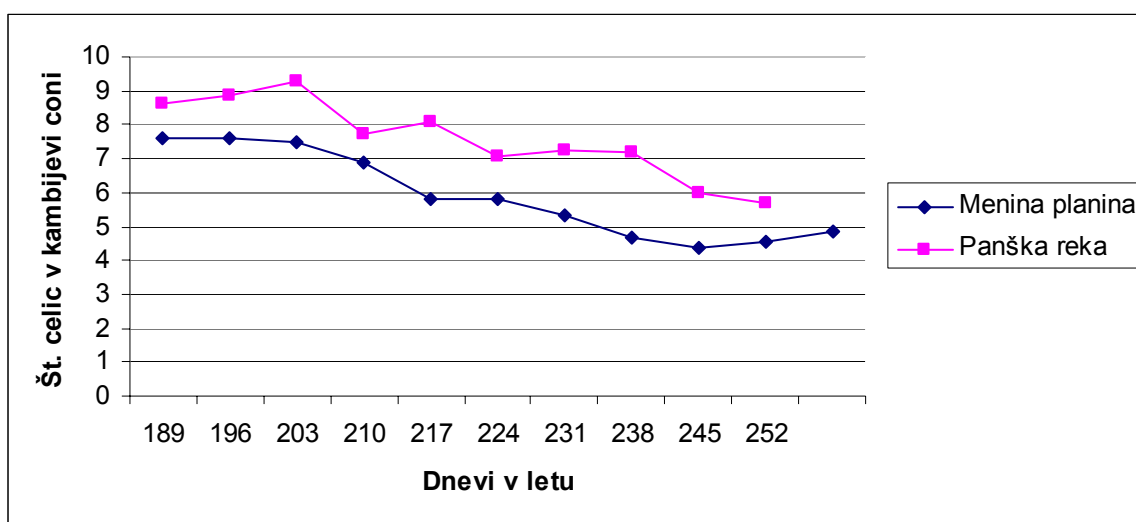
Slika 26: Priraščanje ksilemske branike pri bukvi številka 2 z rastišča Menina planina v rastni sezoni 2008

4.3 PRIMERJAVA REZULTATOV TESTNIH DREVES Z RASTIŠČ PANŠKA REKA IN MENINA PLANINA

4.3.1 Primerjava aktivnosti kambijeve cone na rastišču Panška reka in Menina planina

Aktivnost kambijeve cone pri bukvah se je med rastiščema Panška reka in Menina planina razlikovala. Kambijeva aktivnost se je na rastišču Panška reka pričela prej in končala kasneje kot na rastišču Menina planina. Število plasti celic v radialnem nizu je bilo pri drevesih z rastišča Panška reka v splošnem vsaj za dve plasti večje kot na Menini planini. Na sliki (Slika 27) vidimo krivulji, ki prikazujeta variiranje števila plasti celic v kambijevi coni na obeh rastiščih. Največja razlika se kaže v številu plasti celic v radialnem nizu, krivulji pa imata približno enak naklon.

Tudi trajanje in zaključek aktivnosti kambijeve cone sta se razlikovala med rastiščema. Kambijeva aktivnost je na Panški reki trajala od tri do sedem tednov dlje kot pri drevesih z rastišča Menina planina. Prvi zaključek kambijeve cone smo na obeh rastiščih zabeležili 7.7.2008 (dne 189). Zadnji zaključek kambijeve aktivnosti smo na Menini planini opazili že 25.7.2008 (na dan 207), na Panški reki pa šele 25.8.2008 (dne 238), to je kar en mesec pozneje.



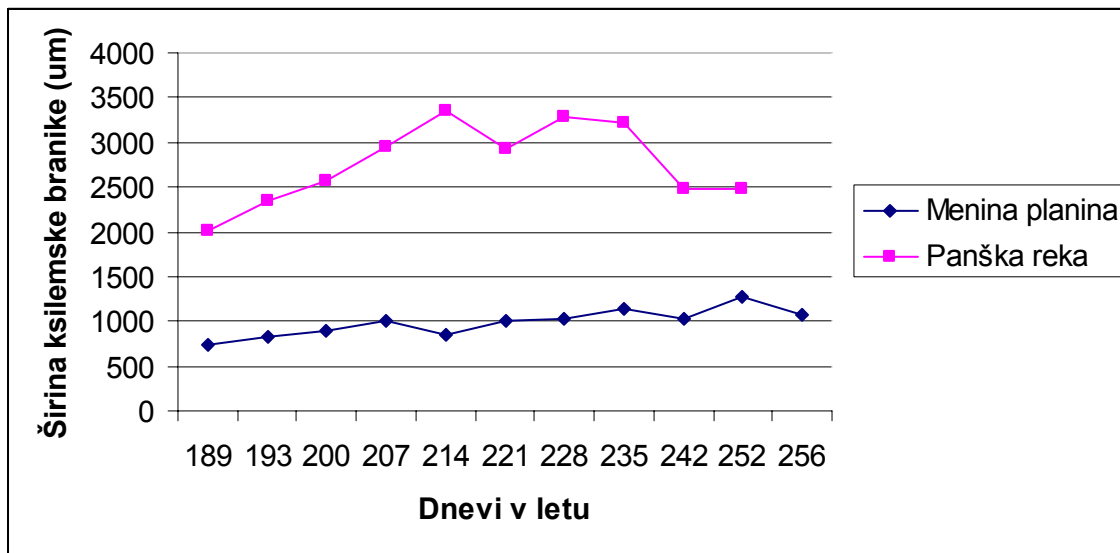
Slika 27: Povprečno število celic v kambijevi coni pri preiskovanih bukvah s Panške reke in Menine planine

4.3.2 Primerjava prirastka ksilemske branike med rastiščema na Panški reki in Menini planini

Na sliki (Slika 28) lahko vidimo, da se povprečna širina ksilemske branike med rastiščema Menina planina in Panška reka zelo razlikuje. Povprečna širina ksilemske branike je na rastišču Menina planina na začetku našega opazovanja 7.7.2008 (dne 189) merila 734 μm , na rastišču Panška reka pa kar 2010 μm . Na koncu opazovanja je povprečna širina ksilemske branike z rastišča Menina planina znašala 1073 μm , povprečna širina ksilemske branike z rastišča Panška reka pa je znašala povprečno 2491 μm .

Pri opazovanju priraščanja ksilemske branike lahko vidimo, da njena rast na Menini planini poteka počasneje, njen prirastek pa je največji v prvih treh tednih opazovanja.

Medtem ko je rast ksilemske branike na Panški reki bolj intenzivna in traja nekoliko dlje v primerjavi z rastjo na Menini planini.



Slika 28: Povprečna širina ksilemske branike pri preiskovanih bukvah z rastišč Menina planina in Panška reka

Primerjali smo tudi potek diferenciacije ksilemskih celic pri testnih drevesih z obeh rastišč. Opazili smo, da je diferenciacija ksilemskih celic pri drevesih iz rastišča Panška reka potekala veliko hitreje, kakor pri drevesih z rastišča Menina planina.

Na Panški reki je bistveno kasneje prišlo do zaključka kambijeve aktivnosti kot na Menini planini, kjer se je kambijeva aktivnost zaključila že v začetnih obdobjih našega opazovanja. To nam kažejo izmerjene vrednosti in anatomska opazovanja razvoja celic, na podlagi katerih smo ugotovili, da se kambijeva aktivnost na Panški reki zaključi v obdobju od 28.7.2008 (dan 210) do 25.8.2008 (dan 238), na Menini planini pa v obdobju od 7.7.2008 (dan 189) do 25.7.2008 (dan 207).

Do olesenitve celičnih sten je prišlo tako na Panški reki kot na Menini planini v približno istem obdobju. Na Panški reki olesenelost celičnih sten nastopi v obdobju od 11.8.2008 (dan 224) do 8.9.2008 (dan 252), na Menini planini pa v obdobju od 8.8.2008 (dan 221) do 29.8.2008 (dan 242).

To pomeni, da je prišlo na Panški reki do olesenitve celičnih sten relativno hitreje, glede na zaključek kambijeve aktivnosti, kot na Menini planini. Iz izmerjenih vrednosti namreč vidimo, da so na Panški reki celične stene olesenele v povprečju 2 do 3 tedne po zaključku kambijeve aktivnosti, medtem ko je na Menini planini do zaključka olesenitve prišlo v povprečju 5 tednov po zaključku kambijeve aktivnosti. Podrobnejši prikaz zaključka kambijeve aktivnosti in dokončne lignifikacije celičnih sten po posameznih drevesih in obdobjih na Panški reki in Menini planini lahko vidimo v preglednicah (Preglednica 8 in Preglednica 9).

Pri drevesih z rastišča Panška reka je čas diferenciacije nazadnje nastalih celic nekoliko krajši, saj je razlika med časom zaključka kambijeve aktivnosti in časom, ko celične stene popolnoma olesenijo največ pet tednov. Pri drevesu 5 je razlika pet tednov. Pri drevesu 6 je štiri tedne, pri drevesih 2 in 4 je razlika en teden, pri drevesu 3 tri tedne in pri drevesu 1 dva tedna.

Če primerjamo čas zaključka kambijeve aktivnosti in čas, ko je lignifikacija v ksilemskih celicah popolnoma zaključena, opazimo, da je ta časovni zamik veliko večji pri drevesih z rastišča Menina planina. Pri drevesih s tega rastišča opazimo, da je razlika v času, ko se delitve celic in terminalne celice lesa popolnoma olesenijo, od dveh pa do sedmih tednov. Samo pri drevesu 5 je razlika dva tedna. Pri drevesu 1 in 2 je razlika sedem tednov, pri drevesu 4 je razlika pet tednov, pri drevesih 3 in 6 pa šest tednov.

Panška reka													
Datum	Dan v letu	Konec aktivnosti v kambijevi coni						Dokončna lignifikacija celičnih sten					
		Drevo						Drevo					
		1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
7.7.2008	189												
14.7.2008	196												
21.7.2008	203												
28.7.2008	210												
4.8.2008	217												
11.8.2008	224												
18.8.2008	231												
25.8.2008	238												
1.9.2008	245												
8.9.2008	252												

Menina planina													
Datum	Dan v letu	Konec aktivnosti v kambijevi coni						Dokončna lignifikacija celičnih sten					
		Drevo						Drevo					
		1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
7.7.2008	189												
11.7.2008	193												
18.7.2008	200												
25.7.2008	207												
1.8.2008	214												
8.8.2008	221												
15.8.2008	228												
22.8.2008	235												
29.8.2008	242												
8.9.2008	252												
12.9.2008	256												

5 SKLEPI

Število celic v radialni vrsti kambijeve cone je na dan vzorčenja 7.7.2008 (dan 189) variiralo med 8 in 10 slojev na rastišču Panška reka, ter me 7 in 8 slojev na Menini planini. Širina kambijeve cone se je na Panški reki pričela manjšati dva tedna po pričetku opazovanja, na Menini planini pa je bil rahel padec v širini kambijeve cone opazen že teden po pričetku vzorčenja. Do zaključka kambijeve aktivnosti je na Panški reki prišlo kasneje kot na Menini planini. Ugotovili smo, da se je kambijeva aktivnost na Panški reki zaključila od 28.7.2008 (dan 210) do 25.8.2008 (dan 238), na Menini planini pa od 7.7.2008 (dan 189) do 25.7.2008 (dan 207).

Tudi povprečna širina ksilemske branike se je med rastiščema Panška reka in Menina planina zelo razlikovala. Povprečna širina ksilemske branike na rastišču Panška reka je na začetku našega opazovanja 7.7.2008 (dne 189) merila 2010 μm , na rastišču Menina planina pa 734 μm . Povprečna širina ksilemske branike z rastišča Panška reka je na koncu opazovanja 8.9.2008 (dne 252) znašala povprečno 2491 μm . Na Menini planini pa je 12.9.2008 (dne 256) povprečna širina ksilemske branike znašala 1073 μm . Opazili smo, da rast ksilemske branike na Menini planini poteka počasneje, njen prirastek pa je največji v prvih treh tednih opazovanja. Medtem ko je rast ksilemske branike na Panški reki bolj intenzivna in traja nekoliko dlje (približno dva tedna) v primerjavi z rastjo na Menini planini. Opazili smo tudi, da je diferenciacija nazadnje nastalih ksilemskih celic pri drevesih z rastišča Panška reka potekala veliko hitreje, kakor pri drevesih z rastišča Menina planina.

Proces lignifikacije celičnih sten v nazadnje nastalih celicah se na rastiščih Panška reka in Menina planina prične približno v istem obdobju. Na Panški reki smo pričetek lignifikacije celičnih sten opazili v obdobju od 11.8.2008 (dan 224) do 8.9.2008 (dan 252), na Menini planini pa v obdobju med 8.8.2008 (dan 221) in 29.8.2008 (dan 242), kar pomeni, da se je na Panški reki lignifikacija celičnih sten pričela hitreje. Iz izmerjenih vrednosti namreč vidimo, da so se na Panški reki celične stene lignificirale v povprečju 2 do 3 tedne po zaključku kambijeve aktivnosti, medtem ko je na Menini planini do zaključka lignifikacije prišlo v povprečju 5 tednov po zaključku kambijeve aktivnosti.

6 POVZETEK

Bukev (*Fagus sylvatica* L.) je med gospodarsko najpomembnejšimi lesnimi vrstami v Sloveniji. Kvaliteta bukovine je tesno povezana z anatomsko zgradbo lesa, ta pa je odvisna od procesov, ki se odvijajo med nastankom lesa. Te procese vodijo notranji in zunanji dejavniki, ki še niso povsem raziskani. Diplomaska naloga je nadaljevanje raziskav o kambijevi coni ter nastajanju ksilema pri bukvi, ki so bile opravljene v letu 2006 na rastišču Panška reka. Cilj diplomske naloge je bil raziskati kambijevo aktivnost in nastajanje ksilemske branike v drugi polovici rastne sezone 2008 pri 6-ih bukvah s Panške reke (450 m n. m. v.) in Menine planine (1100 m n. m. v.). Določili smo faze nastajanja ksilemske branike in opisali potek diferenciacije celic kasnega lesa ter ugotovili konec kambijeve aktivnosti. Raziskali smo tudi število celic in širino plasti celic v kambiju v obdobju nastajanja kasnega lesa ter primerjali nastajanje lesa in čas zaključka kambijeve aktivnosti na dveh rastiščih.

V tedenskih intervalih smo z Trephorjem odvzemali mikroizvrtke bukev. Vzorčenje je potekalo na živih drevesih, vzorci pa so bili odvzeti v prsni višini od 7. julija 2008 do 8. septembra 2008 na Panški reki in od 7. julija do 12. septembra 2008 na Menini planini. Odvzete vzorce smo takoj shranili v fiksacijsko tekočino FAA in jih nato en teden dehidrirali v etanolni vrsti (30 %, 50 % in 70 %), potem smo jih obrezali in vklopili v parafin. Z rotacijskim mikrotomom Leica RM2245 smo pripravili histološke rezine prečnih prerezov debeline 10 µm, ki smo jih obarvali z barviloma safranin in astra modro ter jih vklopili v euparal. Opazovanje ter analize trajnih preparatov smo opravili s pomočjo svetlobnega mikroskopa Nikon Eclipse E 800, digitalne kamere Nikon-DS Fi1 in osebnega računalnika programa za analizo slike LUCIA G 4.8. Merili smo širino ksilemske branike in širino kambijeve cone, v kateri smo prešteli tudi število plasti celic. Meritve smo opravili vsaj v treh radialnih nizih. Podatke, ki smo jih dobili, smo izvozili v program Microsoft Excel, kjer smo jih analizirali in statistično obdelali. Iz podatkov, ki smo jih dobili, smo določili zaključek kambijeve aktivnosti in diferenciacijo ksilemskih celic pri bukvah z obeh rastišč.

Število celic v radialni vrsti kambijeve cone je na dan vzorčenja 7.7.2008 (dan 189) variiralo med 8 in 10 slojev na rastišču Panška reka, ter med 7 in 8 slojev na Menini planini. Širina kambijeve cone se je na Panški reki pričela manjšati dva tedna po pričetku opazovanja, na Menini planini pa je bil rahel padec v širini kambijeve cone opazen že teden po pričetku vzorčenja. Do zaključka kambijeve aktivnosti je na Panški reki prišlo kasneje kot na Menini planini. Ugotovili smo, da se je kambijeva aktivnost na Panški reki zaključila od 28.7.2008 (dan 210) do 25.8.2008 (dan 238), na Menini planini pa od 7.7.2008 (dan 189) do 25.7.2008 (dan 207).

Tudi povprečna širina ksilemske branike se je med rastiščema Panška reka in Menina planina zelo razlikovala. Povprečna širina ksilemske branike je na rastišču Panška reka je na začetku našega opazovanja 7.7.2008 (dne 189) merila 2010 μm , na rastišču Menina planina pa 734 μm . Povprečna širina ksilemske branike z rastišča Panška reka je na koncu opazovanja 8.9.2008 (dne 252) znašala povprečno 2491 μm , na Menini planini pa je 12.9.2008 (dne 256) povprečna širina ksilemske branike znašala 1073 μm . Opazili smo, da rast ksilemske branike na Menini planini poteka počasneje, njen prirastek pa je največji v prvih treh tednih opazovanja, med tem ko je rast ksilemske branike na Panški reki bolj intenzivna in traja nekoliko dlje (približno dva tedna dlje) v primerjavi z rastjo na Menini planini.

Opazili smo tudi, da je diferenciacija nazadnje nastalih ksilemskih celic pri drevesih z rastišča Panška reka potekala veliko hitreje, kakor pri drevesih z rastišča Menina planina.

Proces lignifikacije celičnih sten v nazadnje nastalih celicah se na rastiščih Panška reka in Menina planina prične približno v istem obdobju. Na Panški reki smo pričetek lignifikacije celičnih sten opazili v obdobju od 11.8.2008 (dan 224) do 8.9.2008 (dan 252), na Menini planini pa v obdobju med 8.8.2008 (dan 221) in 29.8.2008 (dan 242), kar pomeni, da se je na Panški reki lignifikacija celičnih sten pričela hitreje. Izmerjene vrednosti namreč kažejo, da so se na Panški reki celične stene lignificirale v povprečju 2 do 3 tedne po zaključku kambijeve aktivnosti, medtem ko je na Menini planini do zaključka lignifikacije prišlo v povprečju 5 tednov po zaključku kambijeve aktivnosti.

7 VIRI

- Berdajs E. 2008. Dendroklimatološka analiza rasti bukve na treh rastiščih v Sloveniji. Univerzitetna diplomska naloga. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za gozdarstvo in obnovljive vire: 93 str.
- Brus R. 2004. Drevesne vrste na Slovenskem. Ljubljana, Mladinska knjiga: 399 str.
- Brus R. 2005. Dendrologija za gozdarje. Univerzitetni učbenik. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za gozdarstvo in obnovljive gozdne vire: 408 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. 2008a. Tree-ring variation, wood formation and phenology of beech (*Fagus sylvatica*) from a representative site in Slovenia, SE Central Europe. *Trees - Structure and Function*, 22: 749–758
- Čufar K., Prislan P., Gričar J. 2008b. Cambial activity and wood formation in beech (*Fagus sylvatica*) during the 2006 growth season. *Wood Research*, 53: 1-12
- Čufar K., De Luis M., Berdajs E., Prislan P. 2008c. Main patterns of variability in beech tree-ring chronologies from different sites in Slovenia and their relation to climate. *Zbornik gozdarstva in lesarstva*, 87: 123-134
- Di Filippo A., Biondi F., Čufar K., De Luis M., Grabner M., Maugerio M., Presutti Saba E., Schirone B., Piovesan G. 2007. Bioclimatology of beech (*Fagus sylvatica* L.) in the Eastern Alps: spatial and altitudinal climatic signals identified through a tree-ring network. *Journal of Biogeography*, 34, 11: 1873-1892.
- Gričar J. 2006. Vpliv temperature in padavin na ksilogenezo pri jelki (*Abies alba*) in smreki (*Picea abies*). Doktorska disertacija. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za lesarstvo: 181 str.
- Gričar J. 2007. Ksilo- in floemogeneza pri beli jelki (*Abies alba* Mill.) in navadni smreki (*Picea abies* (L.) Karst). Ljubljana, Gozdarski inštitut Slovenije: 106 str.
- Gričar J., Oven P., Čufar K. 2006. Vpliv eksogenih in endogenih dejavnikov na ksilogenezo. *Les*, 58, 5: 152-157.
- Kotar M., Brus R. 1999. Naše drevesne vrste. Ljubljana, Slovenska matica: 319 str.

- Lachaud S., Catesson A.-M., Bonnemain J.-L. 1999. Structure and functions of the vascular cambium. *Life Sciences*, 322: 633-650
- Marion L., Gričar J., Oven P. 2007. Wood formation in urban Norway maple trees studied by the micro-coring method. *Dendrochronologia*, 25, 2: 97-102
- Oven P. 1993. Anatomija skorje in njen odziv na mehanska poškodovanja pri zdravih in prizadetih jelkah (*Abies alba* Mill.). Magistrsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za lesarstvo: 97 str.
- 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., Gričar J., Koch G., Schmitt U., Čufar K. 2008. Mikroskopske tehnike za študij nastanka lesa pri bukvi. *Zbornik gozdarstva in lesarstva*, 87: 113-122
- Prislan P., Koch G., Čufar K., Gričar J., Schmitt U. 2009. Topochemical investigations of cell walls in developing xylem of beech (*Fagus sylvatica* L.). *Holzforschung*, 63,: 482-490
- Richter H.G., Dallwitz M.J., 2005. Commercial timbers: descriptions, illustrations, identification, and information retrieval. In English, French, German, and Spanish. Računalniški program.
- Sass U. 1993. Die Gefäße der Buche als ökologische Variable – Bildanalytische Erfassung, dendroklimatologische Prüfung, ökologische Bewertung. Doktorska disertacija. Hamburg, Universität Hamburg: 172 str.
- Schmitt U., Möller R., Eckstein D. 2000. Seasonal wood formation dynamics of beech (*Fagus sylvatica* L.) and black locust (*Robinia pseudoacacia* L.) as determined by the "pinning" technique. *Journal of Applied Botany*, 74: 10-16
- Schweingruber F.H. 1990. Microscopic wood anatomy. Birmensdorf, Eidgenössische Anstalt für das Forstliche Versuchswesen: 226 str.
- Sitar A. 2009. Začetek kambijeve aktivnosti in nastanek ranega lesa pri bukvi (*Fagus sylvatica* L.) iz dveh rastišč v rastni sezoni 2008. Diplomsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za lesarstvo: 65 str.
- Torelli N. 1998. Zunajkambijska rast celic v lesu dvokaličnic. *Les*, 50, 10: 293-298
- Torelli N. 1998. Evolucija lesnih rastlin (II.). *Les*, 50, 9: 249-257
- Trephor tool. 2009. University of Padova. <http://www.tesaf.unipd.it/Sanvito/trephorEN.asp> (15 avg. 2009)

Werf van der G.W., Sass-Klaassen U. 2006. The impact of the summer drought in 2003 on the intraannual growth pattern and vessel size of Beech (*Fagus sylvatica*) and Oak (*Quercus robur*) in The Netherlands. *Dendrochronologia*, 25, 2: 103-112

ZAHVALA

Želim se zahvaliti moji mentorici prof. dr. Katarini Čufar za mentorstvo, vodenje in prijazno pomoč pri izdelavi moje diplomske naloge.

Za vso pomoč pri ustvarjanju diplomske naloge bi se lepo zahvalil tudi mlademu raziskovalcu Petru Prislanu, ki mi je priskrbel mikro izvrtke in mi pomagal z različnimi nasveti.

Zahvaljujem se tudi somentorici dr. Jožici Gričar in prof. dr. Primožu Ovnu za recenzijo diplomske naloge.

Zahvaljujem pa se tudi vsem zaposlenim na katedri za tehnologijo lesa za razne nasvete in pomoč pri delu.

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA LESARSTVO

Dejan POVŠE

**ZAKLJUČEK KAMBIJEVE AKTIVNOSTI V RASTNI
SEZONI 2008 PRI BUKVAH Z DVEH RASTIŠČ**

DIPLOMSKO DELO

Visokošolski strokovni študij

Ljubljana, 2009