

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA LESARSTVO

Aljaž SITAR

**ZAČETEK KAMBIJEVE AKTIVNOSTI IN NASTANEK RANEGA
LESA PRI BUKVI (*Fagus sylvatica* L.) IZ DVEH RASTIŠČ V RASTNI
SEZONI 2008**

DIPLOMSKO DELO
Visokošolski strokovni študij

**BEGINNING OF CAMBIAL ACTIVITY AND EARLY WOOD
FORMATION IN BEECH (*Fagus sylvatica* L.) FROM TWO FOREST
SITES IN GROWING SEASON 2008**

GRADUATION THESIS
Higher Professional Studies

Ljubljana, 2009

Diplomsko delo je zaključek Visokošolskega strokovnega 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 in za recenzenta prof. dr. Primoža Ovna.

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik:

Član:

Član:

Datum zagovora:

Naloga je rezultat lastnega raziskovalnega dela.

Aljaž SITAR

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

ŠD Vs
DK UDK 630*811.13:630*176.1 (*Fagus sylvatica* L.)
KG *Fagus sylvatica* L./bukev/Panška reka/Menina planina/ksilogeneza/nastanek lesa/kambijeve aktivnost/diferenciacija
AV SITAR, Aljaž
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 ZAČETEK KAMBIJEVE AKTIVNOSTI IN NASTANEK RANEGA LESA PRI BUKVI (*Fagus sylvatica* L.) IZ DVEH RASTIŠČ V RASTNI SEZONI 2008
TD Diplomsko delo (Visokošolski strokovni študij)
OP IX, 64 str., 6 pregl., 29 sl., 25 vir.
IJ sl
JI sl/en
AI Raziskali smo začetek aktivnosti v kambijevi coni navadne bukve (*Fagus sylvatica* L.) na 2 rastiščih: Panška reka (400 m n.m.v.) in Menina planina (1200 m n.m.v.). Na 6 drevesih z vsakega rastišča smo spremljali začetek diferenciacije celic in nastajanje ranega lesa ksilemske branike 2008. V tedenskih intervalih, od 17. marca do 23. junija (Panška reka) oz. od 18. aprila do 18. julija (Menina planina), smo iz rastočih dreves odvezemali mikro izvrtke tkiv lesa, kambija in skorje. Z rotacijskim mikrotomom smo pripravili histološke rezine, jih obarvali z barviloma safranin in astra modro ter analizirali s svetlobnim mikroskopom in sistemom za analizo slike. Na mikroskopskih preparatih tkiv smo prešteli število slojev celic v kambijevi coni in merili širino tekoče ksilemske branike. Dormantna kambijeva cona dreves z obeh rastišč je bila široka od 4 do 5 slojev celic. Pri prvih testnih drevesih s Panške reke so se celične delitve v kambijevi coni začele med 14. in 24. aprilom, na Menini planini pa med 9. in 16. majem. Na obeh rastiščih smo že teden dni po aktivaciji zasledili prve celice v fazi postkambijske rasti, sinteza sekundarne celične stene pa se je pričela teden do 2 kasneje. Prva dokončno diferencirana vlakna s popolnoma izoblikovano celično steno smo na obeh rastiščih zasledili 5-6 tednov po aktivaciji kambijeve cone. Kambijeva cona je bila na rastišču Panška reka najširša (10 - 14 slojev celic) med 2. in 16. junijem, na Menini planini pa se število celic po aktivaciji ni bistveno spreminjalo in je variiralo med 8 in 10 celicami v radialnem nizu. Do konca eksperimenta nismo opazili novo nastalih celic kasnega lesa. Ugotovili smo, da so tako med drevesi in med rastiščema obstajale razlike v dinamiki nastajanja lesa in v širini ksilemske branike.

KEY WORDS DOCUMENTATION

DN Vs
DC UDC 630*811.13:630*176.1 (*Fagus sylvatica* L.)
CX *Fagus sylvatica* L./beech/ Panška reka/Menina planina /xylogenesis/wood formation/cambial activity/differentiation
AU SITAR, Aljaž
AA ČUFAR, Katarina (supervisor)/GRIČAR, Jožica (co-supervisor)/OVEN, Primož (reviewer)
PP SI-1000 Ljubljana, Rožna dolina, c.VIII/34
PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Wood Science and Technology
PY 2009
TI BEGINNING OF CAMBIAL ACTIVITY AND EARLY WOOD FORMATION IN BEECH (*Fagus sylvatica* L.) FROM TWO FOREST SITES IN GROWING SEASON 2008
DT Graduation Thesis (Higher professional studies)
NO IX, 64 p., 6 tab., 29 fig., 25 ref.
LA sl
AL sl/en
AB The beginning of seasonal activity in the cambial zone of beech (*Fagus sylvatica* L.) was investigated on 2 forest sites: Panška reka (400 m a.s.l.) and Menina planina (1,200 m a.s.l.). The beginning of cell differentiations and early wood formation in xylem tree-ring 2008 were observed. From each forest site, micro samples of wood, cambial zone and bark were removed from 6 living trees at weekly intervals, from March 17 to June 23 (Panška reka), and from April 18 to July 18 (Menina planina). Histological sections were prepared on a rotary microtome. They were stained with safranin and astra blue and analysed with a light microscope and with an image analysis system. On microscopic slides of tissues the cells in cambial zone were counted, and the widths of current xylem increment measured. The dormant cambial zone contained 4-5 layers of cells. In Panška reka the first divisions in the cambial zone began from April 14-24, on Menina planina from May 9-16. On both sites the first cells in post cambial growth were observed 1 week after activation of cambial zone, while secondary wall formation began 2 weeks later. The first completely differentiated fibres with completely formed cell walls were observed on both plots 5-6 weeks after activation of cambial zone. The widest cambial zone (10-14 cell layers) on Panška reka was observed from June 2-16. On Menina planina the cambial zone was constant after activation; it was from 8-10 cell layers wide, measured in radial direction. At the end of experiment no cells of late wood were tracked. Differences in wood formation dynamics and width of xylem tree-rings were found among trees and forest sites.

KAZALO VSEBINE

	str.
Ključna dokumentacijska informacija (KDI)	III
Key Words Documentation (KWD)	IV
Kazalo vsebine	V
Kazalo preglednic	VII
Kazalo slik	VIII
Kazalo prilog	IX
Okrajšave in simboli	IX
Slovarček	IX
1 UVOD	1
2 PREGLED OBJAV	2
2.1 OPIS BUKVE	2
2.1.1 Opis lesa bukve	3
2.1.2 Anatomijski opis bukve	3
2.2 RAZŠIRJENOST BUKVE	5
2.3 KAMBIJ PRI BUKVI	8
2.3.1 Kambij in kambijeva cona	8
2.3.2 Celične delitve v kambijevi coni	8
2.3.3 Aktivnost kambijeve cone	10
2.3.4 Nastajanje lesa	11
2.3.5 Nastajanje lesa pri bukvi	14
2.3.6 Nastajanje lesa, dendrokronologija in fenologija	16
2.3.7 Mikroskopske tehnike za raziskavo lesa	17
3 MATERIAL IN METODE	19
3.1 OPIS RASTIŠČA IN TESTNIH DREVES	19
3.2 OPIS ODVZEMA VZORCEV TKIV	21
3.3 PRIPRAVA VZORCEV	23
3.4 PRIPRAVA REZIN Z ROTACIJSKIM MIKROTOMOM ZA SVETLOBNO MIKROSKOPIJO	24
3.5 ANALIZA SLIKE	29
4 REZULTATI	32
4.1 KAMBIJEVA AKTIVNOST PRI BUKVI NA PANŠKI REKI IN NA MENINI PLANINI V RASTNI SEZONI 2008	32
4.1.1 Panška reka	32
4.1.2 Menina planina	35
4.2 NASTAJANJE KSILEMSKE BRANIKE IN DIFERENCIACIJA CELIC V ZAČETKU VEGETACIJSKE DOBE 2008	38
4.2.1 Panška reka	38
4.2.2 Menina planina	45
4.3 PRIMERJAVA REZULTATOV NA PANŠKI REKI IN MENINI PLANINI	51
4.3.1 Primerjava aktivnosti kambijeve cone na rastišču Panška reka in Menina planina	51
4.3.2 Primerjava prirastka ksilemske branike na rastišču Panška reka in Menina planina	53
5 RAZPRAVA	56

6	SKLEPI	59
7	POVZETEK	60
8	VIRI	62
	ZAHVALA	

KAZALO PREGLEDNIC

	str.
Preglednica 1: Odvzem mikro-vzorcev pri šestih bukvah s Panške reke v letu 2008.	22
Preglednica 2: Odvzem mikro-vzorcev pri šestih bukvah z Menine planine v letu 2008.	22
Preglednica 3: Prikaz korakov dehidracije mikro vzorčkov z etanolom in bio-clearom ter prepajanje s parafinom (Rossi in sod., 2006).	25
Preglednica 4: Postopek odstranjevanja parafina pred barvanjem.	28
Preglednica 5: Diferenciacija prvih (inicialnih) vlaken pri izbranih drevesih s Panške reke, v rastni sezoni 2008. Barve prikazujejo, kdaj smo zaznali prisotnost določene komponente v celičnih stenah vlaken: reaktivacija kambijeve cone (zelena), pričetek odlaganja sekundarne celične stene (modra), pričetek odlaganja lignina v celičnih stenah (oranžna), zaključek diferenciacije prvih celic (rdeča).	42
Preglednica 6: Diferenciacija prvih (inicialnih) vlaken v izbranih drevesih z Menine planine, v rastni sezoni 2008. Barve prikazujejo, kdaj smo zaznali prisotnost določene komponente v celičnih stenah vlaken: reaktivacija kambijeve cone (zelena), pričetek odlaganja sekundarne celične stene (modra), pričetek odlaganja lignina v celičnih stenah (oranžna), zaključek diferenciacije prvih celic (rdeča).	48

KAZALO SLIK

	str.
Slika 1: A – Bukov poganjek z listi; B – Deblo bukve z značilno gladko skorjo.	2
Slika 2: Mikroskopska slika lesa bukve: (P) prečni, (R) radialni in (T) tangencialni prerez	5
Slika 3: Areal razširjenost bukve v Sloveniji.	7
Slika 4: Razširjenost bukve (<i>Fagus sylvatica</i> L.) po Evropi.	7
Slika 5: Prečni prerez kambijeve cone pri bukvi v dormantni dobi. Vidna je dormantna kambijeva cona (KC), ki šteje 4 do 6 celic, del popolnoma formirane ksilemske branike (SK) in del nekolabiranga floema (SF). Daljica: 100 µm	8
Slika 6: Prečni prerez nastajajoče ksilemske branike s celicami v različnih fazah difeneciacije: del nekolabiranega floema (NF), kambijeva cona (KC), postkambialna rast (PK), modro obarvane celice z nelignificiranimi stenami (SC), rdeče obarvane celice z lignificiranimi celičnimi stenami (ZC).	14
Slika 7: Grafični prikaz lokaciji obeh bukovih rastišč. Rumeni čepek označuje rastišče Panške reke, rdeči pa rastišče na Menini planini.	19
Slika 8: A - Rastišče in izbrana drevesa na Panški reki; B – Krošnja drevesa katerega smo vključili eksperiment.	20
Slika 9: A - Rastišče in izbrana drevesa na Menini planini; B – Izbrano drevo številka 1.	21
Slika 10: A – Specialno orodje za odvzem mikro vzorcev Trephor; B – Dleto in kladivo, ki ju poleg Trephorja potrebujemo, za odvzem mikro vzorcev.	21
Slika 11: Plastična posodica za fiksiranje mikro vzorce s tekočino FAA.	24
Slika 12: A - Preparator za prepajanje tkiv Leica TP 1020, v katerem izvajamo postopek dehidracije z etanolom in bio-clearom ter prepajanje s parafinom; B – Košara preparatorja Leica TP 1020, v kateri so zložene označene kasete z mikro vzorčki.	25
Slika 13: A - Grelna plošča parafinskega dispenzerja Leica EG 1120; B - Ogrevalna pinceta Leica EG F za obračanje vzorčkov; C – Pripravljen pravilno orientiran vzoreček (kot 45° glede na robove kasete), vklopljen v parafin, za rezanje na polavtomatskim rotacijskim mikrotomom Leica RM 2245.	26
Slika 14: A - Polavtomatski rotacijski mikrotom Leica RM 2245; B – Osnovna sestavna dela mikrotoma sta nizko profilni jekleni nož Feather N34H (N) in vpenjalna glava za kasete (G) z v parafin vklopljenim vzorcem (V).	27
Slika 15: A - Vodna kopel Leica HI 1210 s temperaturo 40 °C; B – Način lovljenja rezine v vodni kopeli Leica HI 1210, kjer se rezino "ujame" na objektno stekelce.	28
Slika 16: A - Mikroskop Nikon Eclipse E800 z digitalno kamero Nikon-DS F:1; B- Digitalna kamera Nikon-DS F:1, s katero s pomočjo računalnika, merimo preparate.	30
Slika 17: Način merjenja širine nastajajoče branike v treh radialnih nizih (LX1 – LX2 – LX3) in kambijeve cone (KC1 – KC2 – KC3).	31
Slika 18: Število celic v kambijevi coni pri posameznih drevesih z rastišča Panška reka, ter povprečje za 6 dreves v rastni sezoni 2008.	33
Slika 19: Spreminjanje širine kambijeve cone v drevesih na rastišču Panška reka tekom vegetacijske dobe 2008. A – dormantna kambijeva cona (KC) (14.4.2008 – 105 dan v letu) sestavljena iz 4 do 5 celic v radialnem nizu. B - aktivna KC in del prirasle ksilemske branike (PR) (21.4.2008 – 112. dan v letu); C - kambijeva cona (KC) z maksimalnim številom celic v radialnem nizu (9.6.2008 – 161. dan v letu). Daljica 100 µm	34
Slika 20: Širina kambijeve cone pri posameznih drevesih z rastišča Menina planina, ter povprečje za 6 dreves v rastni sezoni 2008.	36
Slika 21: Spreminjanje širine kambijeve cone v drevesih z rastišča Menina planina tekom vegetacijske dobe 2008. A - dormantna kambijeva cona (KC) (9.5.2008 – 130. dan	

v letu) sestavljena iz 4 do 5 celic v radialnem nizu. B - aktivna KC in del prirasle ksilemske branike (PR) (26.5.2008 – 147. dan v letu); C - kambijeva cona (KC) z maksimalnim številom celic v radialnem nizu (27.6.2008 – 179. dan v letu).	
Daljica 100 µm	37
Slika 22: Širina ksilemske branike 2008 pri posameznih drevesih, ter krivulja s povprečnimi vrednostmi z rastišča Panška reka.	40
Slika 23: Nastajajoča ksilemska branika v drevesu št. 6 z rastišča Panška reka v rastni sezoni 2008. S pomočjo selektivnega obarvanja s safraninom in astra modrim je mogoče spremljati faze diferenciacije v ksilemskem tkivu.	44
Slika 24: Širina ksilemske branike 2008 pri posameznih drevesih, ter krivulja s povprečnimi vrednostmi z rastišča Menina planina.	46
Slika 25: Nastajajoča branika ob posameznih datumih za drevo št. 2 z rastišča Menina planina.	50
Slika 26: Povprečno število celic v kambijevi coni na Panški reki in Menini planini.	52
Slika 27: Povprečen prirastek ksilemske branike na Panški reki in Menini planini.	53
Slika 28: Ksilemski prirastek na Menini planini in Panški reki po 42 dneh vegetacije.	54
Slika 29: Primerjava nastajajočih ksilemskih branik z rastišča Panška reka in Menina planina na dan 26. maj 2008 (147 dan v letu). A in B – Nastajajoča branika pri drevesu št. 4 s Panške reke s celicami v postkambijski rasti (PR), ter celicami v fazi odlaganja sekundarne celične stene (SL) posneta v svetlem polju (A) in v polarizirani svetlobi (B). C – Aktivna kambijeva cona (KC) in celice v fazi postkambialne rasti (PR) pri drevesu št. 1 na dan 26. maj 2008 (147. dan v letu) na rastišču Menina planina.	
Daljica 100 µm	55

1 UVOD

Bukev (*Fagus sylvatica*) je naša najpomembnejša drevesna in lesna vrsta. Kljub njeni razširjenosti in pomenu je proces nastajanja lesa pri bukvi še vedno malo raziskan. Raziskave aktivnosti kambijeve cone ter nastajanje ksilema pri bukvi potekajo v Katedri za tehnologijo lesa, Oddelka za lesarstvo, šele nekaj let. Pri bukvi z rastišča Panška reka pri Ljubljani, so bile v letu 2006 opravljene podrobne analize nastajanja lesa (Prislan, 2007, Čufar in sod., 2008). Tovrstne raziskave enega leta niso dovolj reprezentativne, zato jih je treba nadaljevati več let. Bukev uspeva na zelo različnih rastiščih, od z minerali bogatih ravninskih delov, na gričevnatih in hribovitih pobočjih Slovenije pa vse do kamnitih in ob pomanjkanju sveže, rodovitne prsti strmih delov Alpskega in Dinarskega gorstva vse do gozdne meje (1700 m n.m.). Glede na to, da rast bukve na visokih nadmorskih višinah v Alpah uravnavajo drugi dejavniki kot na nižjih nadmorskih višinah (Di Filippo in sod., 2007), je potrebno razširiti raziskave tudi na več različnih rastišč.

V zadnjih nekaj letih je bilo v Sloveniji opravljenih veliko raziskav o vplivu klimatskih in ekoloških dejavnikov na ksilogenezo, vendar so obravnavali predvsem iglavce (Gričar, 2007) in v manjši meri difuzno porozne listavce, ki rastejo v urbanem okolju (Marion in sod., 2007). Eden izmed vzrokov za obširno obravnavo te teme so pričujoče podnebne spremembe. Rastni pogoji na rastiščih različnih nadmorskih višin se posledično spreminjajo ter posredno oz. neposredno vplivajo na reaktivacijo kambijeve cone in na dinamiko nastanka ter posledično količino in kvaliteto lesa pri bukvi.

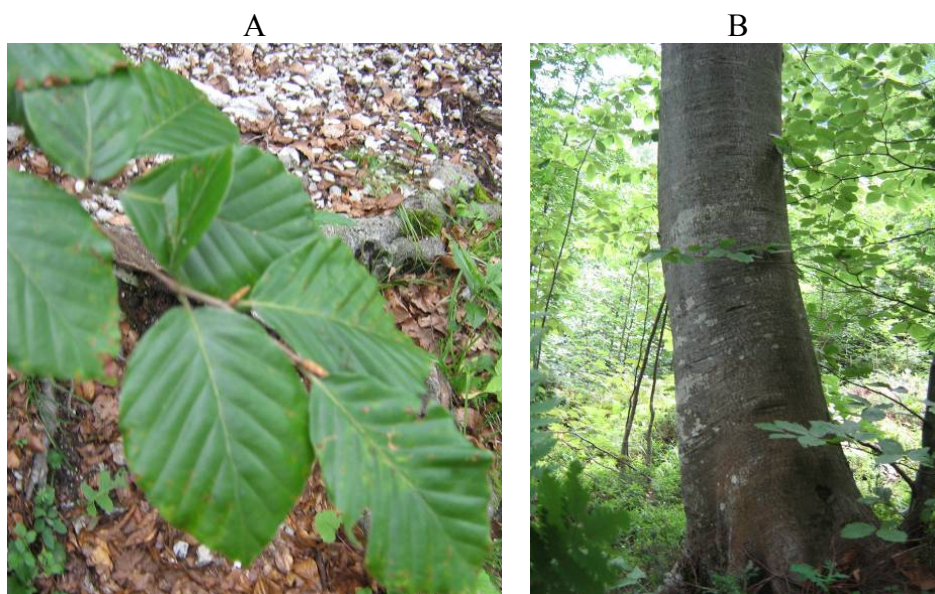
Cilji pričujoče diplomske naloge so bili:

- a) ugotoviti začetek kambijeve aktivnosti pri odraslih bukvah na Panški reki pri Ljubljani (pribl. 400 m. n.m.) in na Menini planini (pribl. 1200 m. n.m.) v rastni sezoni 2008,
- b) določiti maksimalno širino kambijeve cone v odvisnosti od nadmorske višine ter spremljati širino kambijeve cone tekom vegetacije,
- c) spremljati nastajanje ksilemske branike ter faze diferenciacije,
- d) uporabiti, razvijati in izboljševati metodo odvzema in prepajanja mikro vzorcev in priprave mikroskopskih preparatov z rotacijskim mikrotomom.

2 PREGLED OBJAV

2.1 OPIS BUKVE

Bukev (*Fagus sylvatica* L.) ja naše najbolj razširjeno listopadno drevo in naša najpomembnejša lesna vrsta. Drevo dosega višine do 40 m in ima praviloma veliko, zaobljeno in gosto krošnjo. Spada v družino bukovk (Fagaceae). Ima razvejan in srednje globok koreninski sistem. Deblo je navadno ravno in s premerom do 1 m. Skorja mladih dreves je tanka, siva in gladka. Tudi starejša drevesa imajo gladko skorjo, le izjemoma je v spodnjih delih debla nekoliko razpokana in razbrazdana (Slika 1B). Bukovi poganjki so rjavkasti, goli in bleščeči, brsti pa so rjavi, podolgovato zašiljeni in do 3 cm dolgi ter od vejic odklonjeni za kot 45°. Bukovi listi so dvoredno nameščeni, enostavni, eliptični in podolgovato jajčasti (Slika 1A). Za njih je značilno, da so 6-10 cm dolgi, 3-7 cm široki in imajo 5-9 stranskih žil. Na zgornji strani lista so temno zeleni in bleščeči, na spodnji pa svetlejši. Mladi listi so dlakavi, starejši pa obdržijo dlačice samo po listnem robu. Cvetovi so enospolni. Moške mačice so okrogle in visijo na 2-5cm dolgem peclju. Ženski cvetovi so v paru v ovoju na koncu nekoliko debelejših pecljev. Vsak pestič ima jajčasto plodnico in tri rumene in rdečkaste brazde. Iz vsake plodnice se razvije do 1,5 cm dolg, trirob rjav orešek oziroma žir, po dva žira ležita skupaj v oleseneli, trdo zaprti skledici ali bukvi, ki je pokrita s kaveljčastimi bodicami. Plod je žir skupaj z bukvice. Skledica se jeseni v času zrelosti odpre s štirimi lupinami (Brus, 2004).



Slika 1: A – Bukov poganjek z listi; B – Deblo bukve z značilno gladko skorjo.

2.1.1 Opis lesa bukve

Les bukve je rdečkastobel, normalno brez obarvane jedrovine (beljava in jedrovina se barvno ne ločita). Pri starejših drevesih se na prečnem prerezu pogosto pojavlja nepravilno oblikovan, rdečerjav diskoloriran les, ki ga imenujemo rdeče srce. Za rdeče srce je značilna močna otiljenost trahej. Branike so s prostim očesom razločno vidne. Kasni les, z manj trahejami, je nekoliko temnejši od ranega. Traheje so v prečni smeri razporejene difuzno. Traheje imajo tangencialni premer pod 100 μm in so na prečnem prerezu vidne z lupo. Zelo značilni so številni široki trakovi, ki so na tangencialni površini vidni kot rdečkasta vretenca, na radialni pa kot očitna, do več milimetrov visoka zrcala, ki zelo vplivajo na videz lesa. Bukovina nima specifičnega vonja ali okusa (Čufar, 2006).

2.1.2 Anatomijski opis bukve

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

Osnovno tkivo pri bukvi predstavljajo traheide z obokanimi piknjami, ki opravljajo mehansko nalogo in sodelujejo pri prevajanju vode. Piknje služijo izmenjavi snovi med celicami in prevajanju vode, saj tu celična stena ni odebeljena. Poleg vlaknastih traheid prevajajo vode tudi traheje, ki v prečnem premeru merijo pod 100 μm . V anatomiji je uveljavljeno, da premer trahej merimo na prečnem prerezu v tangencialni smeri (Čufar, 2006). Praviloma je tangencialni premer manjši od radialnega, zato ker imajo traheje značilno ovalno obliko. Povprečni tangencialni premeri trahej pri bukvi so 45–60–80 μm , gostota trahej znotraj prirastne cone pa znaša 80-125-160 celic na mm^2 (Richter in Dallwitz, 2005).

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 bukve sestavljeno pretežno iz libriformskih vlaknen, ob trahejah pa se nahajajo tudi vlaknaste traheide. V nalogi smo za celice osnovnega tkiva uporabljali izraz vlakna.

Trahejni členi so v aksialni smeri med sabo povezani z lestvičastimi ali enostavnimi perforacijami in so pogosto zatiljeni. Po prečnem prerezu so traheje razporejene difuzno, posamezno ali pa v manjših skupkih po 2-3 traheje (Čufar, 2006). Intervaskularne piknje so nasprotno in/ali lestvičaste. Tangencialni premeri trahej in njihovo število na enoto površine v procesu nastajanja branike variira, tako da lahko razlikujemo rani in kasni les. V splošnem ni natančno definirano, kateri del tkiva v braniki pripada ranemu in kateri kasnemu lesu.

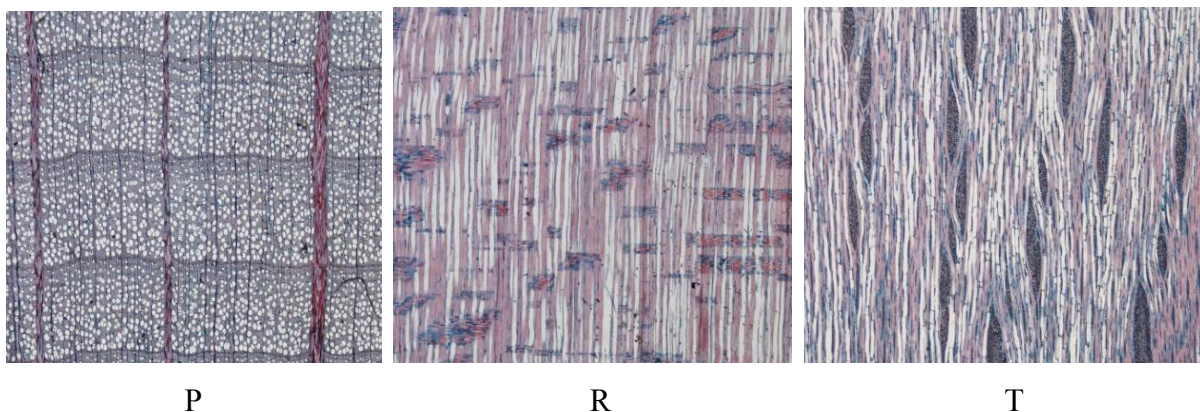
V splošnem velja, da je pri iglavcih širina kasnega lesa bolj ali manj konstantna ne glede na širino branike. Tako je v ozki braniki odstotni delež kasnega lesa praviloma velik, v široki pa majhen. Delež kasnega lesa je v tesni povezavi z gostoto lesa, saj večji delež kasnega lesa vpliva na večjo gostoto lesa. Gostota je premo sorazmerna s trdnostjo lesa. Zveze med širino branike, deležem ranega oz. kasnega lesa in lesnimi lastnostmi pri difuzno poroznih listavcih (v našem primeru bukvi), niso mogli dokazati (Čufar, 2006).

Trakovno tkivo je pri bukvi sestavljeno iz parenhimskih celic. Les bukve ima dve vrsti trakov. Eni so 2 do 4 redni in nizki, drugi so nad 10 (do 25) redni in visoki nad 1 mm. Trakovno tkivo pri bukvi je heterogeno tipa III (osrednji del iz ležečih celic, na robovih po ena vrsta kvadratastih celic). Trakovi in traheje so med seboj povezane z velikimi in ovalnimi piknjami. V prečnem prerezu lahko vidimo, da se širši trakovi ob letnici kolenčasto razširijo. Trakovi so v osrednjem delu branike bočno stisnjeni zaradi tlaka, ki je posledica površinske rasti trahej (Mellerowicz in sod., 2001). Obenem pa je apikalno intruzivna rast vlaken intenzivnejša v osrednjem delu branike. Ob letnici pa ta tlak popusti in trakovi se razširijo (Torelli, 1998).

Aksialni parenhim pri bukvi je praviloma apotrahealen (ni v stiku s trahejami). Razporejen je difuzno ali difuzno v agregatih (Čufar, 2006). Primarna naloga celic aksialnega

parenhima je skladiščenje in prevajanje ogljikovih hidratov. Parenhimske celice ostanejo žive, dokler so del beljave, kar pri bukvi lahko traja več deset let (Torelli, 2003).

Znaki, ki nakazujejo evolucijsko primitivnost bukovega lesa, so: trahejni členi relativno dolgi, zašiljeni, pogosto z lestvičastimi perforacijami. Osnovno tkivo je iz vlaken z razločnimi obokanimi piknjami, ki skupaj s trahejami prevajajo vodo. Aksialni parenhim je razporejen apotrahealno in dokaj redek. Trakovi so v prečnem prerezu ob letnici razširjeni (Čufar, 2006).



Slika 2: Mikroskopska slika lesa bukve: (P) prečni, (R) radialni in (T) tangencialni prerez.

2.2 RAZŠIRJENOST BUKVE

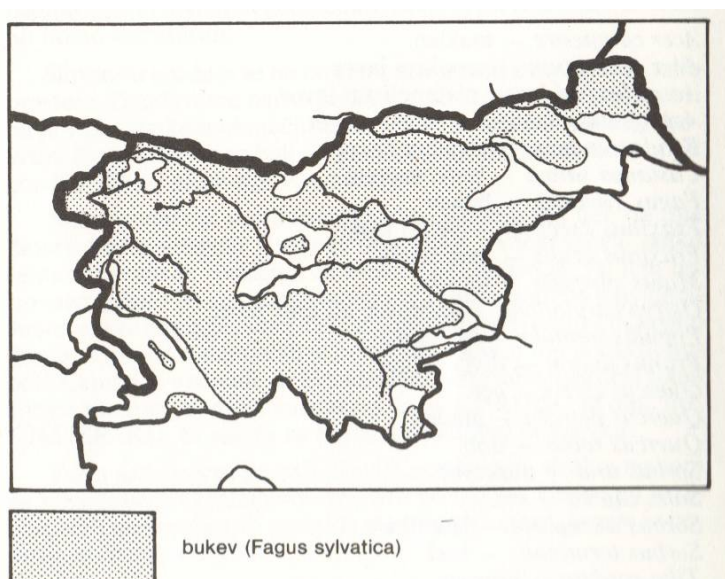
Bukev je razširjena po vsej Sloveniji, saj glede na potencialno-naravno rastlinstvo obsegajo bukovi gozdovi približno 70% celotne površine slovenskih gozdov (Slika 3) (Marinček, 1988). Navadna bukev je graditeljica ali spremljevalka mnogih fiziognomsko zelo različnih rastlinskih združb. Tako med gozdnimi tipi v Sloveniji prevladujejo različni bukovi (56,3%) in jelovo- bukovi (13,8%) gozdovi (Brus, 2004).

Najdemo jo na zelo različnih rastiščih, od z minerali bogatih ravninskih delov Slovenije, na gričevnatih in hribovitih pobočjih osrednje Slovenije (Predalpsko in Dinarsko območje) pa vse do kamnitih in ob pomanjkanju sveže, rodovitne prsti strmih delov Alpskega in Dinarskega gorstva (Alpsko in Dinarsko območje), kjer uspeva prav pod robom gozdne meje (do 1700 m n.m.). Redkeje pa jo najdemo na področjih Pomurja in Podravja ter v

Primorju, saj ji ne odgovarjajo poplavljeni nižavja panonskega sveta in suha rastišča sredozemskega sveta. Najraje ima globoka, zračna, sveža in s kalcijem bogata humozna tla, kjer je zračna vlaga velika in padavine obilne. Manjka tam, kjer je padavin manj kot 600-700 mm (Kotar in Brus, 1999). Razmeroma dobro prenaša zimski mraz, mlada drevesa pa so zelo občutljiva za spomladansko slano in daljšo sušo (Marinček, 1987).

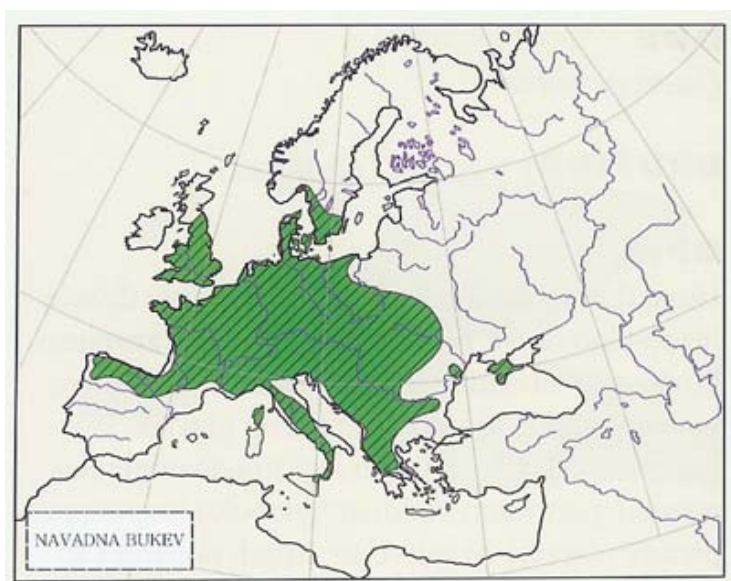
Navadna bukev je sencovzdržna drevesna vrsta, kar ji omogoča dolgo preživetje v senci in kasneje ob zadostni svetlobi, npr. zaradi poseka sosednjih dreves, normalno nadaljuje z rastjo. Zlasti mlada drevesa lahko desetletja čakajo v senci na ugodnejše pogoje. Glede toplote je zahtevna in potrebuje za dobro uspevanje najmanj 5 mesecev dolgo vegetacijsko dobo. Je subatlantska drevesna vrsta in ima rada vlago, sušno in hladno kontinentalno podnebje pa ji ne ustreza preveč. Bukov pa ima tudi izredno veliko ekološko prilagodljivost, kar ji omogoča, da uspeva na najrazličnejši geološki matični podlagi, v vseh legah in nadmorskih višinah prav do gozdne meje. Je pa tudi sociabilna drevesna vrsta, saj bukev sestavlja mnoge gozdne meje z macesni (*Larix decidua* Mill.) in smrekami (*Picea abies* L.) v dinarskem in predalpskem svetu. Slabo prenaša mestno okolje, zlasti zbita tla, sol in industrijske pline (Brus, 2004, Marinček, 1987).

Rast bukve je razmeroma hitra, v mladosti pa je pogosto upočasnjena, če je mlado drevo zasenčeno. Priraščanje lesa je odvisno od rodovitnosti rastišča, tako priraščajo bukovi 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. Od klimatskih dejavnikov bukvi pri nas najpogosteje škodujejo pozne pozebe, ki ogrožajo predvsem bukova mladja (Kotar in Brus, 1999).



Slika 3: Areal razširjenost bukve v Sloveniji (Marinček, 1987).

Bukev je naravno razširjena v večini srednje in zahodne Evrope (Slika 4), na severu jo najdemo v južni Angliji in na južnem koncu Skandinavije. Raste tudi po južnoevropskih gorovjih, na primer v Pirenejih, Korziki, osrednjih Apeninih in Dinarskem gorovju. Na vzhodu raste vse do Ukrajine, na jugovzhodu pa še na Balkanskem polotoku do severne Grčije, medtem ko v Alpah uspeva do 1700 m, v Apeninih pa do 1950 m nadmorske višine (Brus, 2004).



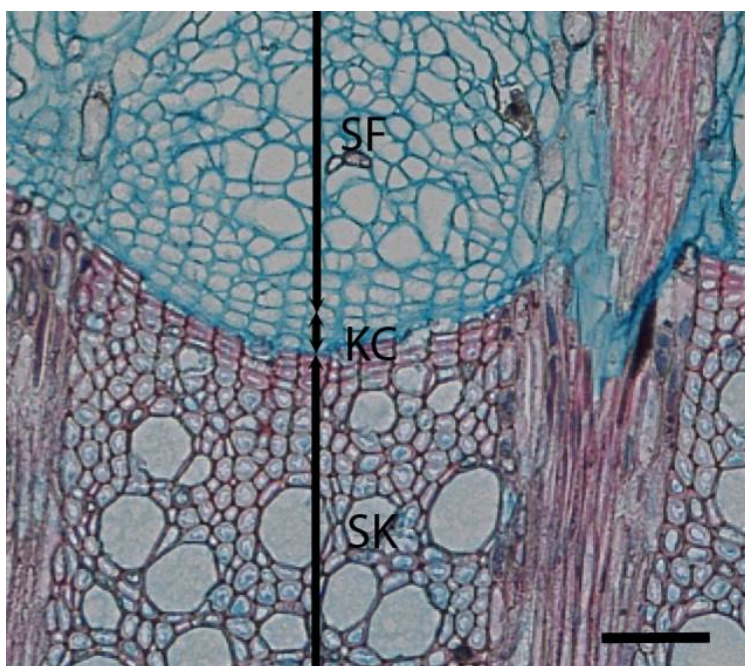
Slika 4: Razširjenost bukve (*Fagus sylvatica* L.) po Evropi (Brus, 2004).

2.3 KAMBIJ PRI BUKVI

2.3.1 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 (Čufar, 2006).

Kambij predstavlja v strogem pomenu besede eno celico debelo plast vretenastih in trakovnih inicialk. Ker se kambijeve inicialke v praksi težko loči od njihovih neposrednih derivatov v lesu in skorji, pogosto uporabimo izraz kambijeva cona, s katerim poimenujemo pas diferencirajočih se celic med ksilemom in floemom, skupaj s kambijevimi inicialkami (Čufar, 2006).



Slika 5: Prečni prerez kambijeve cone pri bukvi v dormantni dobi. Vidna je dormantna kambijeva cona (KC), ki šteje 4 do 6 celic, del popolnoma formirane ksilemske branike (SK) in del nekolabiranga floema (SF).
Daljica: 100 μ m

2.3.2 Celične delitve v kambijevi coni

Enoslojno tkivo kambija sestavljata dva morfološko različna tipa celic: aksialno podaljšane vretenaste (fuziformne) kambijeve inicialke in kratke precej izodiametrične trakovne inicialke. Kambijeve inicialke so žive celice s tanko primarno celično steno. Dolžina

vretenastih inicialk je pri primitivnejših listavcih, kot je bukev, med 1000 in 2000 μm , pri najnaprednejših pa med 300 in 600 μm . Z delitvijo inicialke nastaneta dve identični hčerinski celici, kjer ena obdrži meristemski značaj, druga pa se pred diferenciacijo v odraslo celico ksilema ali floema še nekajkrat deli. Iz vretenastih kambijevih inicialk nastane sistem aksialnih, iz trakovnih inicialk pa sistem radialnih celic v ksilemu in floemu. Iz iste fuziformne inicialke lahko nastanejo pri bukvi trije tipi ksilemskih celic: trahejni členi, vlakna in aksialni parenhim, medtem ko iz trakovnih inicialk nastanejo celice trakov (Čufar, 2006).

Nastanek sekundarnega ksilema poteka v dveh korakih. Prvi vključuje mitotske delitve celic kambijeve cone, drugi pa diferenciacijo novo nastalih celic. V kompleksnem procesu diferenciacije iz tankostenih derivatov kambijeve cone nastanejo zrele funkcionalne celice, ki opravljajo prevodno in mehansko nalogo (Samuels in sod., 2006). To velja za vlakna in trahejne člene, medtem ko parenhimske celice skladiščijo in prevajajo ogljikove hidrate (Panshin in De Zeeuw, 1980).

Celice kambijeve cone inicialke se delijo v različnih smereh. Tako ločimo radialne delitve (antikline), tangencialne delitve (periklinie) in psevdotransverzalne delitve v radialni ravnini oz. pravokotno na površino debla, ki proizvajajo nove celice s katerimi se povečuje obseg kambijeve cone, in delitve v tangencialno aksialni ravnini (perikline), ki proizvajajo celice vzporedno s površino debla. Radialne delitve so multiplikativne, kar pomeni, da se množi število celice kambijeve cone. Posledica je povečanje površine oz. obsega kambijeve cone. Perikline delitve pa so aditivne, kjer nastajajo nove celice lesa ali floema oz. ličja. Posledično se s tem povečuje premer debla (Čufar, 2006).

Proizvajanje sekundarnih prevodnih tkiv sestavlja približno 90% vseh mitoz (Lachaud in sod., 1999). Nove trakovne inicialke nastanejo z antiklino delitvijo fuziformnih inicialk (Plomion in sod., 2001). Razmerje med fuziformnimi in trakovnimi inicialkami je odvisno od starosti kambija in od drevesne vrste (Lachaud in sod., 1999).

2.3.3 Aktivnost kambijeve cone

Delovanje kambijeve cone je periodično. V našem zmernem podnebjju kambieva cona pozimi praviloma miruje. Obdobje, ko kambieva cona miruje, imenujemo dormantno obdobje. Število celic v dormantni kambijevi coni je odvisno od različnih dejavnikov: drevesne vrste, starosti drevesa, vitalnosti, rastnosti, idr. (Gričar, 2006). V naših klimatskih razmerah kambieva cona vsako leto proizvede po en prirastni plašč – braniko. Širina in anatomska zgradba branike sta odvisni predvsem od klime (količine padavin in temperature) tekočega leta, ki vpliva tudi na dolžino poganjkov, količino rezervnih snovi, semenje in rast korenin. V širini in strukturi branike se odražajo tudi gozdarski posegi (gnojenje, posek sosednji dreves), onesnaženje okolja, vpliv škodljivcev, itd. (Čufar, 2006).

Reaktivacija kambijeve cone se začne spomladi s ponovno delitvijo kambijevih inicialk in njenih neposrednih derivatov. Glavni signal za reaktivacijo kambijeve cone ob postopni otoplitvi dajo fitohormoni, predvsem avksini in giberelini, ki se tvorijo v razvijajočih se popkih in listih. S celičnimi delitvami se širina kambijeve cone poveča (Gričar, 2006).

Število celic v kambijevi coni tekom vegetacije nakazuje ravnovesje med stopnjo produkcije ter stopnjo diferenciacije kambijevih derivatov v odrasle celice ksilema in floema. Na začetku rastne sezone potekajo delitve celic hitreje kot diferenciacija, zato se širina kambijeve cone poveča. Dokler se ohranja ravnovesje med stopnjo celičnih delitev ter stopnjo diferenciacije, je širina kambijeve cone bolj ali manj konstantna. Ko je stopnja diferenciacije hitrejša od stopnje delitev, se prične kambieva cona ožiti. Slednjič celične delitve popolnoma izostanejo (cit. po Prislan, 2007).

Kambieva cona je aktivna v času vegetacijske dobe, ki po grobi oceni na nižjih rastiščih v osrednji Sloveniji traja od sredine aprila do konca avgusta. Na višku vegetacijske dobe, ko so delitve najbolj intenzivne, je kambieva cona najširša, najožja pa v času mirovanja. Tedaj je npr. pri bukvi široka od 3 do 6 celic, značilnih kvadratastih oblik z nekoliko debelejšo celično steno kot jo imajo s celicame v aktivni kambijevi coni (Prislan, 2007). Na višku vegetacijske dobe njena širina naraste nad 10 celic (posebno pri hitro rastočih

drevesih). V juliju, na višku vegetacijskega obdobja, je kambijeva cona širša in jo je težko natančno omejiti. Vidne so celice v fazi površinske rasti in različnih fazah delitve celične stene. Kambijeva cona je v oktobru ožja, celice v lesu, ki mejijo nanjo, pa so tipična vlakna kasnega lesa z debelo in olesenelo celično steno. Znano je tudi, da se kambijeva cona spomladi pri difuzno poroznih listavcih najprej aktivira v bližina krošnje. V spodnjem delu debla se kambijeva cona aktivira kasneje, zaradi velike oddaljenosti od krošnje in slabe oskrbljenosti s hrano ter hormoni proizvajajo manj lesa. Pri venčasto poroznih listavcih naj bi bila ta reaktivacija bolj usklajena oz. sorazmerna po deblu. Kljub temu so raziskave večinoma omejene na prsno višino debla (Čufar, 2006).

Prislan (2007) v svojem diplomskem delu povzema, da so Schmitt in sodelavci (2000) na bukovih drevesih, ki so rasla v bližini Hamburga, ugotovili, da se kambijeva cona pri difuzno poroznih bukvah aktivira najprej v bližini krošnje, nazadnje pa na bazi drevesa. Razlog naj bi bil v bazipetalnem širjenju avksina – glavnega stimulatorja kambijeve cone – iz brstov, kjer se sintetizira, po deblu navzdol. Schmitt in sodelavci (2000) so ugotovili tudi, da je razlika v času aktivacije kambijeve cone v zgornjem in spodnjem delu debla skoraj 15 dni.

2.3.4 Nastajanje lesa

Na rast lesa in tvorbe letne prirastne plasti vplivajo hormoni (asimlati oz. sladkorji), ki nadzorujejo tudi razmerje med ranim in kasnim lesom. Na nastanek ranega in kasnega lesa naj bi vplivala razpoložljiva količina rastnih hormonov in hrane – produktov fotosinteze. Najlažje nastajanje ranega in kasnega lesa razložimo na primeru iglavcev, saj je tam situacija enostavnejša. Tam se traheide ranega in kasnega lesa razlikujejo po debelini celične stene in po radialnem premeru. Dokazano je, da rastni hormoni vplivajo na radialno dimenzijo, medtem ko razpoložljiva hrana vpliva na debelino celične stene. Oba parametra se medsebojno ne povezujeta. Mehanizem nastajanja je podoben tudi pri listavcih, samo da se anatomske razlike med ranim in kasnim lesom drugačne. Tu so v prečnem prerezu razporejene traheje (najznačilnejši element listavcev) raztreseno (difuzno), pol-venčasto ali venčasto. Pri difuzno poroznih vrstah so traheje približno enako velike in enakomerno razporejene po braniki (javor, bukev, jelša). Pri pol-venčasto poroznih vrstah so traheje

ranega lesa bodisi znatno večje kot v kasnem lesu (navadni oreh) ali pa so mnogo številčnejše od trahej v kasnem lesu (češnja). Pri venčasto- poroznih vrstah pa so treheje ranega lesa znatno večje od trahej kasnega lesa (hrast, jesen, brest, robinja in domači kostanj) (cit. po Čufar, 2006).

Nastanek nove celice v splošnem sestoji iz naslednjih faz: delitev, determinacija in diferenciacija. V fazi delitve pride do delitve celičnega jedra, organelov in oblikovanja nove celične stene. V fazi determinacije se določi tip celice (npr.: vlakno, trahejni člen). V fazi diferenciacije pa se realizira rast in razvoj celice, do njene končne oblike (Čufar, 2006). Determinacija se prične že v kambijevi coni in je del oz. prvi korak diferenciacije celic.

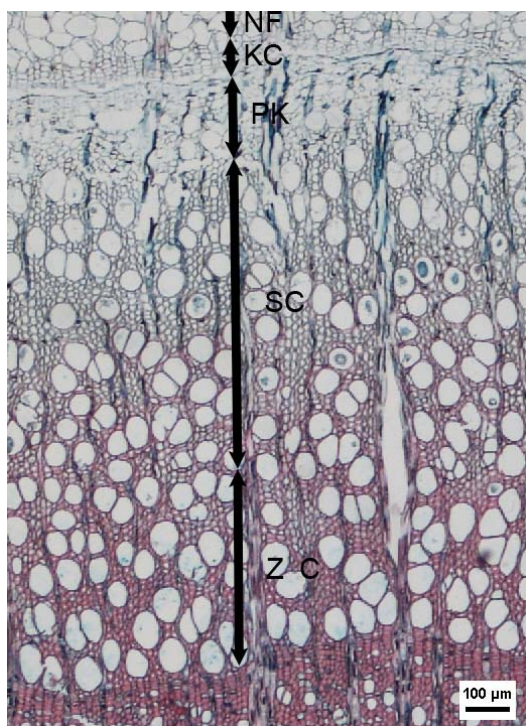
Diferenciacija vlaken in trahej je sestavljena iz štirih glavnih korakov: rast celice (v literaturi pogosto imenovana tudi postkambijska rast), ki ji sledi postopno odlaganje večslojne sekundarne celične stene, lignifikacija in celična smrt. Derivati kambijeve cone, obdani s tanko primarno celično steno, rastejo v vseh smereh, da dosežejo končno velikost. Ko je rast celice zaključena, se prične sinteza večslojne sekundarne celične stene, ki jo usmerjajo geni vpleteni v biosintezo štirih glavnih komponent celične stene: polisaharidov (celuloza, hemiceluloze), lignina, proteinov in drugih topnih (stilbeni, flavonoidi, tanini in terpeni) in netopnih (pektini) komponent (Plomion in sod, 2001).

Prislan (2007) v svojem delu navaja, da se postkambijska rast trahejnih členov kaže predvsem v površinski rasti, njegov premer se v primerjavi s premerom fuziformne inicialke lahko poveča do 50-krat. Dolžina trahejnega člena pa ostane navadno enaka dolžini fuziformne kambijeve inicialke oz. se podaljša le za okoli 15 % (Panshin in De Zeeuw, 1980). Trahejni členi rastejo v radialni in tangencialni smeri, zaradi česar pride do bočnega razmaka okoliškega tkiva (Mellerowicz in sod., 2001). Povečanje celice je v veliki meri odvisno od raztegljivosti primarne celične stene, od osmotskih razmerij v celici ter razpoložljivosti z vodo. Gonilna sila za povečanje trahej je turgor. Rast se lahko prične takoj, ko je primarna stena, zaradi procesov presnove v celici, zmehčana. Dörffling (1986) in Catesson (1989) menita, da raztegljivost primarne celične stene usmerja avksin. Zaradi raztegovanja celice se turgor in potencial vode zmanjšata, posledično v celico vdre voda,

zato se le-ta še dodatno razširi. Za vzdrževanje zadostnega turgorja je potrebna zadostna količina vode in prisotnost osmotsko učinkovitih snovi (cit. po Prislan, 2007).

Prislan (2007) omenja tudi, da je v fazi debelitve celične stene 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 ostalemu tkivu. Murakami in sod. (1999) je pri topolu zasledil, da se sinteza sekundarne celične stene prične najprej pri trahejah in v elementih, ki le-te obdajajo (cit. po Mellerowicz in sod., 2001). Do podobne ugotovitve so prišli tudi Marion in sodelavci (2007), ki so proučevali nastanek lesa ostrolistnega javora (*Acer platanooides*). Sass (1993) navaja, da lignifikacija celične stene v trahejah poteka prej kot v okoliškem tkivu, za vzrok pa navaja potrebo po čim prejšnjem začetku prevajanja vode.

Slika 6 prikazuje prečni prerez nastajajoče ksilemske branike s celicami v različnih fazah difereniacije, aktivno kambijevo cono (KC) in del novo priraslega nekolabiranega floema (NF). Vretenaste kambijeve inicialke v radialni smeri proizvajajo celice najrazličnejših oblik in dimenzij, ki imajo tanko celično steno in so v postkambijski rasti (PK). Sledijo jim celice v fazi diferenciacije z nelignificiranimi celičnimi stenami in oblikovanje sekundarne celične stene (SC). V naslednji fazi se lepo vidi postopek odlaganja lignina, saj celice prehajajo iz modrega obarvanja (obarvanje z Astra modrim – vezava barvila s celulozo) v rdečo barvo (obarvanje s Safraninom – vezava barvila z ligninom). Vidne pa so že odrasle celice kambijeve cone ksilema, ki so že do končno lignificirane in obarvane rdeče (ZC). Morda vsebina lumnov vlaken v SC nizu predstavlja citoplazmo.



Slika 6: Prečni prerez nastajajoče ksilemske branike s celicami v različnih fazah difeneciacije: del nekolabiranega floema (NF), kambijeva cona (KC), postkambialna rast (PK), modro obarvane celice z nelignificiranimi stenami (SC), rdeče obarvane celice z lignificiranimi celičnimi stenami (ZC).

2.3.5 Nastajanje lesa pri bukvi

Nastanek lesa pri bukvi v Sloveniji je bil doslej raziskan le na rastišču Panške reke v rastni sezoni 2006 (Prislan, 2007; Čufar in sod., 2008). Prislan je v diplomskem delu preučeval začetek in konec delitvene aktivnosti kambijeve cone in spremljal širino kambijeve cone tekom celotne vegetacijske dobe 2006, na šestih odraslih drevesih. Poleg tega je spremljal proces nastajanja lesa, ter določil faze diferenciacije posameznih ksilemskih celic. Priraščanje branike v lesu je ovrednotil s pomočjo Gompertzove funkcije.

Prislan (2007) je ugotovil, da je bilo v dormantni kambijevi coni v radialnem nizu od 3 do 5 celic. Celična delitvena aktivnost v kambijevi coni se je pri vseh šestih proučevanih drevesih pričela med 18. in 24. aprilom 2006. V tem času je bilo mogoče zaslediti tudi prva vlakna, traheje in aksialni parenhim v postkambijski rasti. Število celic v kambijevi coni se je prvi teden po reaktivaciji povečalo na maksimalno vrednost od 10 do 13. V istem tednu se je pričela tudi sinteza sekundarne celične stene pri prvih vlaknih. Prva dokončno

diferencirana vlakna so zasledili v tednu med 13. in 20. junijem 2006 oz. 5 tednov po njihovem nastanku. Do 20. junija 2006 je bilo v kambijeви coni konstantno okoli 10 slojev celic, od tega dne naprej pa je število celic začelo postopoma padati in se je koncu avgusta ponovno zmanjšalo na 3 do 6 plasti celic. Med 9. in 16. avgustom je bila branika že popolnoma izoblikovana, potekala je le še diferenciacija zadnjih nastalih celic. Na dan 22. avgusta 2006 se je pri opazovanju s svetlobnim mikroskopom zdelo, da se je sinteza sekundarne celične stene in lignifikacija pri večini dreves že v celoti zaključila, konec avgusta pa pri vseh. Proučevanje tkiv s tehnikami kot je UV-mikrospektrofotometrija (UMSP) in transmissijska elektronska mikroskopija nakazuje, da diferenciacija lahko traja nekoliko dlje (Prislan in Čufar, osebna komunikacija).

Ugotovljeno je bilo, da se je razvoj ksilemske branike med drevesi razlikoval, kar je bilo razvidno iz grafov, kjer so bili rezultati prikazani z Gompertzovo funkcijo (Prislan, 2007). Z uporabo Gompertzove funkcije je bilo ocenjeno, da je bila končna (povprečna) širina ksilemske branike 2006 šestih dreves $2552,2 \mu\text{m}$, kar le za $14 \mu\text{m}$ odstopalo od dejanske izmerjene in izračunane vrednosti, ki je znašala $2537,6 \mu\text{m}$. Čas, ki je bil potreben za nastanek glavnine ksilemske branike, pa je v povprečju znašal 100 dni. Opazne so bile razlike med drevesi. Najkrajši potreben čas za nastanek branike 2006 je znašal 77 dni, najdaljši pa 132 dni.

Prislan (2007) je ugotovil, da je bil ksilemski prirastek najintenzivnejši med 23. in 30. majem 2006, ko je na dan nastalo do $37 \mu\text{m}$ ksilemske branike. Povprečna hitrost nastajanja ksilemske branike skozi celotno rastno sezono pa je v povprečju znašala $25,52 \mu\text{m}$ na dan.

Ker je bilo doslej nastajanje lesa pri bukvi raziskano le na rastišču Panške reke v rastni sezoni 2006, se pojavlja vprašanje koliko bi bili rezultati reprezentativni za druga rastišča in koledarska leta. Da bi pridobili dodatne informacije o rasti bukve in nastajanju njenega lesa, so v Katedri za tehnologijo lesa želeli raziskave razširiti še na druga rastišča.

2.3.6 Nastajanje lesa, dendrokronologija in fenologija

Študije nastajanja lesa na celičnem nivoju so povezane s fenologijo in pomembne za dendrokronologijo. Dendrokronologija je znanstvena disciplina, ki temelji na preučevanju branik. Najpogosteje vključuje merjenje širine branik. Ključni korak dendrokronologije je postopek datiranja, to je ugotovitve koledarskega leta, ko je posamezna branika nastala. To pogosto uporabijo za razlage dogajanj v letu, ko je branika nastala. Dendrokronologija temelji na opazovanju značilnega sosledja širin branik nastalih v različnih letih, natančneje njihovega povečanja ali zmanjšanja glede na predhodno leto. Pomaga nam ugotoviti, v katerem letu je nastala posamezna branika in kako je drevo raslo (Čufar, 2006). Na nastanek branike namreč vplivajo različni notranji in zunanji dejavniki.

Ker se širine in zgradba branik od leta do leta razlikujejo, nam raziskave nastajanja lesa pomagajo bolje spoznati vpliv zunanjih in notranjih dejavnikov, ki vplivajo na drevo v času aktivnosti kambijeve cone.

Čufar in sod. (2008) navajajo, da je pomembna povezava med dendrokronološkimi in fenološkimi raziskavami in nastankom lesa na celičnem nivoju, ter da te zveze pri bukvi, še niso bile dovolj raziskane. Čufar in sod. (2008) so za bukve na Panški reki nastajanje lesa v rastni sezoni 2006 postavili v širši časovni okvir ob primerjavi z dolgoletnimi fenološkimi podatki in zaporedji širin branik raziskanih dreves za obdobje približno 100 let. Fenološki podatki so v tem primeru vključevali podatke o razvijanju prvih listov in podatke o splošnem rumenjenju listov pri bukvi iz Ljubljane za zadnjih 60 let. Ugotovili so, da se je kambijeva cona pri bukvah aktivirala skoraj istočasno, ko je prišlo do olistanja dreves. V letu 2006 so se drevesa olistala 16. aprila, aktivacija kambijeve cone na prsni višini pa je nastopila 18. aprila. Na osnovi podatkov za zadnjih 60 let so ugotovili, da imajo na začetek olistanja negativen vpliv nizke temperature v marcu in aprilu. Ugodne razmere za rumenenje listov so bile v mesecu juliju, zaradi večjih količin padavin in milejših temperatur. Negativno pa so na rumenenje listov vplivale izjemno majhne količine padavin v septembru, kar je privedlo do rumenjenja listov. Ugotovili so tudi, da so na debelino prirastka ksilemske branike negativno vplivale nizke marčevske in visoke avgustovske temperature. Ugodno pa so na rast vplivale nadpovprečne padavine in podpovprečne

temperature v mesecu maju in juliju. Prav tako je bil ugoden vpliv na rast ksilemske branike zaznan zaradi velikih količin padavin v avgustu prejšnje rastne sezone in višjih temperatur v mesecu novembru.

Ker se datum olistanja od leta do leta nekoliko spreminja, lahko iz fenoloških podatkov, ki jih v Ljubljani že od leta 1960 spremlja Agencija Republike Slovenije za okolje (Čepinšek in Zrnec 2005). Na podlagi teh podatkov bi lahko ocenili, kako se je v istem obdobju spreminjal čas aktiviranja kambijeve cone.

Zaradi velike prilagodljivosti, velike zmožnosti rasti na različnih rastiščih in razmeroma dolge življenjske dobe je bukev zelo primerna za dendrokronološke raziskave in sestavo kronologij širin branik in za proučevanje odnosov med rastjo bukve in klimatskimi dejavniki. Dendrokronologija nam lahko pomaga tudi pri predvidevanju in oceni prihodnjih tveganj kot posledice klimatskih sprememb. Večina dendrokronoloških raziskav temelji na analizi in meritvi širin branik, v katerih se odražajo negativni in pozitivni vplivi okolja na rast dreves v tekoči in prejšnji rastni sezoni. Z denzitometričnimi meritvami lesa lahko dobimo nekoliko boljše informacije o zvezi med nastajanjem lesa in klimo, kot takrat kadar merimo samo širine branik. Analize na celičnem nivoju so še bolj natančne.

2.3.7 Mikroskopske tehnike za raziskavo lesa

Prislan (2007) je za spremljanje dinamike aktivnosti kambijeve cone in nastajanja branike uporabil metodo odvzema intaktnih tkiv iz odraslih dreves. Vzorce so odvezemali v prsni višini (1,3 m nad tlemi) s pomočjo dleta in kladiva po celotnemu obodu drevesa in z minimalnim razmakom 10 cm med posameznimi vzorci, saj so se tako izognili kalusnemu tkivu in poranitvenemu lesu, ki sta nastala kot posledica odziva kambijeve cone na ranitev. Vzorci so zajemali celoten nekolabirani floem, del kolabiranega floema, kambijvo cono, celotno ksilemsko braniko tekočega leta, ter del branike iz rastne sezone 2005. Za omenjeno metodo so potrebovali olfa nož, široko in ozko dleto ter kladivo. Odvzema vzorcev po takem postopku ima prednosti in slabosti. Metoda omogoča izdelavo zelo kvalitetnih preparatov, saj je velikost in kvaliteta vzorca velika, to pa je ključno za izdelavo dobrega preparata. Celice so pri odvzemu intaktnih tkiv zelo malo poškodovane, zato je

metoda primerna za zelo podrobno preučevanja celic v lesu ali skorji (npr. za elektronsko mikroskopiranje). Ker pa so vzorci veliki (30*10*10 mm) je poškodba, ki jo zadamo drevesu, zelo velika, zlasti če je vzorčenje tedensko. Preučevana drevesa je bilo zaradi velikih poškodb po končanem eksperimentu v letu 2006 potrebno podreti (Čufar, osebna komunikacija). Iz vzorcev intaktnih tkiv lahko izdelamo trajne preparate za svetlobno mikroskopijo ali za opazovanje z elektronskim mikroskopom (transmisijski in vrstični mikroskop).

Velike poškodbe na drevesu so glavna slabost metode vzorčenja intaktnih tkiv. Tako kot pri vseh vzorčenjih iz živih organizmov, si želimo čim manj destruktivne metode, zato laboratoriji posvetijo veliko časa razvoju in izboljšavam različnih metod odvzema tkiv. Metoda odvzema mikro izvrtkov oz. mikro vzorčenje je mnogo manj destruktivna za drevo (Rossi in sod., 2006) in se zdi zato bolj primerna za večletne raziskave na istem drevesu. Glavna pomanjkljivost te metode pa je, da iz drevesa odvezamemo zelo ozke izvrtke (premer 2-3 mm in dolžina pribl. 1,5 cm), zato je nevarnost porušitve tkiv ob odvzemu iz drevesa večja. Vzorec je na sploh bolj občutljiv, zato zahteva nekoliko drugačno delo pri vklapljanju izvrtkov in rezanju preparatov. Ker je bila metoda mikro vzorčenja na Katedri za tehnologijo prvič uporabljena pri bukvi za raziskave v tem delu, smo odvzem in pripravo preparatov vseskozi izboljševali.

3 MATERIAL IN METODE

3.1 OPIS RASTIŠČA IN TESTNIH DREVES

Sezonsko dinamiko kambijeve cone in njeno reaktivacijo smo proučevali pri odraslih bukvah (*Fagus sylvatica* L.) iz privatnega gozda na Panški reki pri Ljubljani (N 46° 0' 16.33", L 14° 40' 26.59") in iz privatnega gozda na Menini planini (N 46° 16' 32.82", L 14° 49' 21.42") (Slika 7).



Slika 7: Grafični prikaz lokaciji obeh bukovih rastišč. Rumeni čepek označuje rastišče Panške reke, rdeči pa rastišče na Menini planini.

Gozd na Panški reki spada v KO 1776 Lipoglav in se nahaja pod vasjo Javor oz. blizu začetka označene poti »Pot na Pance«. Bukve rastejo v sestoju *Blechno fagetum* na nadmorski višini približno 400 m na pobočju, ki ga obkroža jasa, nastala zaradi podrtja dreves med snegolomom leta 1999, ko je bilo zaradi plitvih tal izrваниh veliko dreves (bukev). Med ostalimi, še stoječimi bukvami, smo izbrali šest dreves, starih okoli 100 let s premerom v prsni višini okoli 50 cm. Drevesa na deblu in koreninah pa niso imela vidnih mehanskih poškodb. Eksperiment predstavlja nadaljevanje spremljanja sezonske dinamike kambija v letu 2006 (Prislan, 2007, Čufar s sod., 2008), vendar so zanj izbrana nova drevesa iz istega sestoja.

A

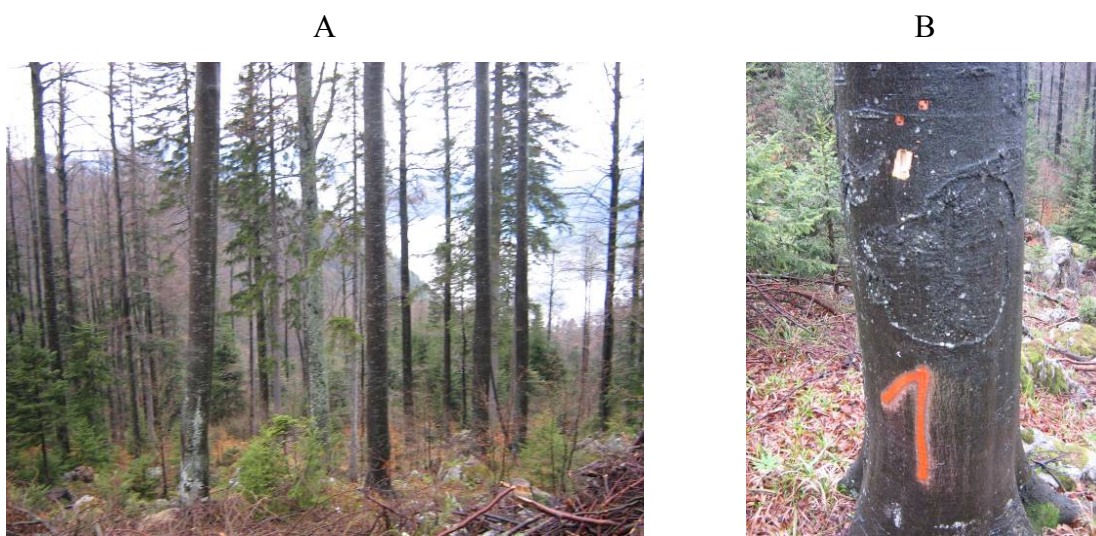


B



Slika 8: A - Rastišče in izbrana drevesa na Panški reki; B – Krošnja drevesa katerega smo vključili eksperiment.

Sezonsko dinamiko kambijeve cone in njeno reaktivacijo smo proučevali na šest odraslih bukvah (*Fagus sylvatica* L.) na Menini planini pri Gornjem Gradu (N 46° 16' 32.82", L 14° 49' 21.42"). Bukve rastejo v sestoju *Abieti fagetum prealpinum typicum*, na nadmorski višini približno 1200 m. Na rastišču prevladuje jelovo-bukov tip gozda. Drevesa rastejo na pobočju, katerega naklon znaša približno 17 stopinj. Tla, na katerih rastejo drevesa, so pokrita s prstjo, pod katero prevladuje apnenčasta kamnina. Izbrana drevesa so bila stara okoli 100 let in so imela premer v prsni višini okoli 50 cm, na deblu in koreninah pa niso imela vidnih mehanskih poškodb. Dodatno rastišče predstavlja nadgradnjo raziskav o nastanku lesa pri bukvi, ki poteka v okviru doktorske študije P. Prislana.



Slika 9: A - Rastišče in izbrana drevesa na Menini planini; B – Izbrano drevo številka 1.

3.2 OPIS ODVZEMA VZORCEV TKIV

Za raziskave sezonske dinamike kambijeve cone in njeno reaktiviranje smo uporabili metodo odvzema majhnih vzorcev (t.i. mikro vzorčenje). Vzorci so zajemali del floema, kambijeve cone in del ksilemskega tkiva, ki smo jih odvzeli iz živih dreves s pomočjo specialnega orodja Trephor (Slika 10A), ki ga je razvila italijanska skupina raziskovalcev iz Padove (Rossi in sod., 2006). Z njim so lahko enostavno v rastni sezoni tedensko opravili odvzem majhnih vzorcev kambijeve cone in ksilemskega tkiva, ne da bi preveč poškodovali drevo.



Slika 10: A – Specialno orodje za odvzem mikro vzorcev Trephor; B – Dleto in kladivo, ki ju poleg Trephorja potrebujemo, za odvzem mikro vzorcev.

Odvzem vzorcev iz živih dreves je potekal v okviru doktorske naloge mladega raziskovalca Petra Prislana, univ. dipl. ing. les. Vzorčenje je potekalo v začetku vegetacijskega obdobja v letu 2008, od 17. marca do 16. junija na vseh šestih drevesih s Panške reke in od 18. aprila do 27. junija na vseh šestih drevesih z Menine planine. V preglednicah (Preglednica 1 in Preglednica 2) so navedeni datumi odvzema vzorcev z obeh rastišč.

Preglednica 1: Odvzem mikro-vzorcev pri šestih bukvah s Panške reke v letu 2008.

Odvzem	Datum	Dan v letu
1	17.3.2008	77
2	25.3.2008	85
3	31.3.2008	91
4	7.4.2008	98
5	14.4.2008	105
6	21.4.2008	112
7	28.4.2008	119
8	5.5.2008	126
9	12.5.2008	133
10	19.5.2008	140
11	26.5.2008	147
12	2.6.2008	154
13	9.6.2008	161
14	16.6.2008	168

Preglednica 2: Odvzem mikro-vzorcev pri šestih bukvah z Menine planine v letu 2008.

Odvzem	Datum	Dan v letu
1	18.4.2008	109
2	25.4.2008	116
3	5.5.2008	126
4	9.5.2008	130
5	16.5.2008	137
6	26.5.2008	147
7	30.5.2008	151
8	6.6.2008	158
9	13.6.2008	165
10	20.6.2008	172
11	27.6.2008	179

Za odvzem mikro vzorčkov smo uporabili široko dleto, Trephor ter kladivo (Slika 10b). Najprej smo na pribl. 1,3 m nad tlemi z ostrim širokim dletom na deblu drevesa v prečni

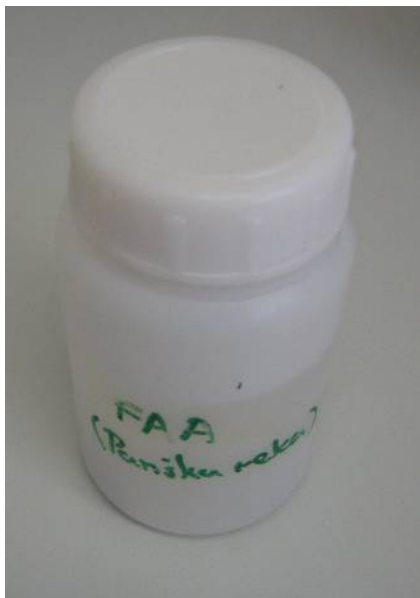
smeri odstranili zunanji del skorje, ki je vsebovala periderm in kolabirani floem, in pri tem pazili, da nismo poškodovali kambijeve cone. Zatem smo konico Trephorja s pomočjo kladiva zabili pravokotno na deblo drevesa do globine 15 mm. Potem smo Trephor rahlo zavrteli v desno in nato v levo ter ga z rahlimi krožnimi gibi izvleki iz debla drevesa. Na ta način smo lahko lažje in previdneje odstranili vzorec iz drevesa. Predvsem v prvi fazi vegetacijske dobe, kjer je število nediferenciranih ksilemskih celic ter celic kambijeve cone veliko in je tkivo nežno, smo morali med odvzemom posebej paziti, da tkiva ne bi poškodovali. Na koncu smo z ozko palčko previdno odstranili vzorec iz Trephorja. Takoj po odvzemu iz drevesa so vzorce shranili v plastično kaseto na katero smo napisali številko drevesa in datum odvzema vzorčka, to pa smo vložili v plastično posodo (Slika 11) s fiksacijsko tekočino FAA (500 ml FAA vsebuje: 25 ml 37 % formalina, 450 ml 50 % etanola, in 25 ml 100% očetne kisline). Pri vsakem drevesu smo vzeli po 2 ali 3 mikro vzorce.

Odvzeti vzorec (okvirnih dimenzij, premer 3 mm, dolžina ca. 20 mm) je zajemal del kolabiranega floema, nekolabirani floem, kambijvo cono, celotno ksilemsko braniko tekočega leta ter del branike iz rastne sezone 2007. Vzorce smo jemali približno v prsni višini (1,3 m nad tlemi) po celotnemu obodu drevesa. Razmak med posameznimi mesti odvzema je znašal vsaj 10 cm. Tako smo se izognili kalusnemu tkivu in poranitvenemu lesu, ki nastane kot odziv kambijeve cone na mehanske poškodbe pri predhodno odvzetih sosednjih vzorcih.

3.3 PRIPRAVA VZORCEV

Mikro vzorce smo en teden hranili v fiksacijskem sredstvu FAA (raztopina formalina, očetne kisline in etanola) (Slika 11), nato pa smo jih sprali z 50% etanolom in vložili v 70% etanol, kjer smo jih hranili, dokler se ni nabralo približno 50 vzorcev za prepajanje s parafinom. Pred prepajanjem smo vse vzorčke pregledali in ocenili kateri od 2-3 vzorcev se zdi najboljši za pripravo preparatov. Izbrani vzorec smo nadalje obdelali, ostale pa smo shranili v plastični posodici in v etanolu. Nato smo mikro vzorce dodatno obrezali. Tako smo najprej z britvico odstranili odvečni ksilem (predhodne branike) in floem (odstranili smo čim več kolabiranega floema) ter nato s svinčnikom označili prečni prerez vzorčka. Po

končani obdelavi pa smo vzorček namestili v kaseto, na katero smo napisali številko drevesa in datum odvzema.

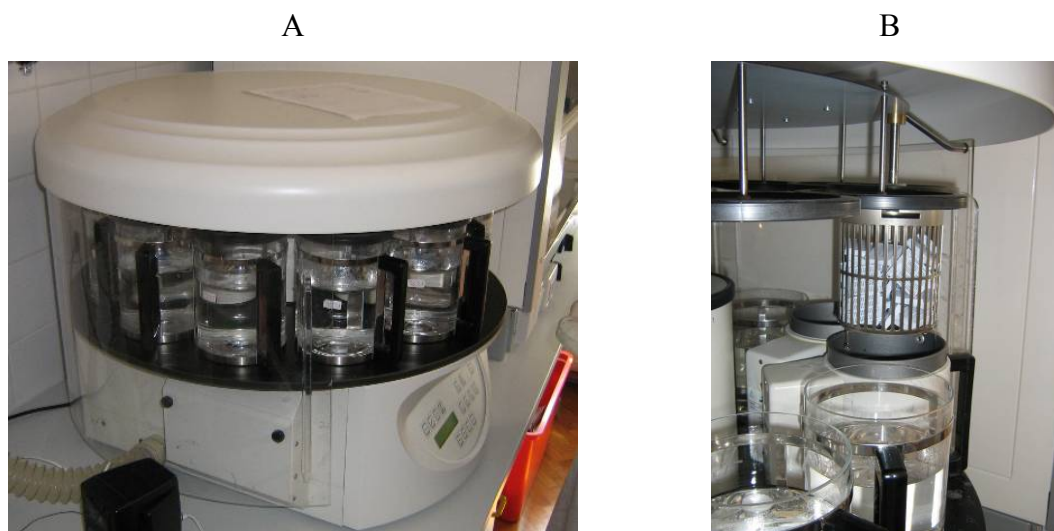


Slika 11: Plastična posodica za fiksiranje mikro vzorce s tekočino FAA.

3.4 PRIPRAVA REZIN Z ROTACIJSKIM MIKROTOMOM ZA SVETLOBNO MIKROSKOPIJO

Trajne anatomske preparate za histometrično preiskavo smo izdelali z rotacijskim mikrotomom po navodilih Petra Prislana in ERASMUS študentke Christine Martino v laboratoriju na Katedri za tehnologijo lesa. Pred pričetkom rezanja je potrebno mikro vzorce prepojit s parafinom. Vsak posamezni vzorec se je nahajal v označeni kaseti. Potem smo kasete zložili v posodo tkivnega preparatorja Leica TP 1020 (Slika 12) in pričeli s postopkom dehidracije z etanolom in bio-clearom (komercialno ime za topilo na osnovi D-limonena) ter prepajanjem vzorcev s parafinom. Preparator ima 12 reagenčnih posod z različnimi raztopinami, program in mehanizem preparatorja pa omogoča avtomatsko prestavljanje vzorcev iz ene reagenčne raztopine v drugo (Slika 12). V prvih sedmih reagenčnih posodah so kasete dehidrirali v različnih koncentracijah etanola različno dolgo. Pričeli so s 70 % etanolom ter nadaljevali z 90 %, 95 % in 100 % etanolom. V prvi in drugi reagenčni posodi je bil čas dehidracije 2 uri, v nadaljnjih pa 1,5 ure. V

naslednjih treh posodah so kasete z vzorci dehidrirali po 1,5 ur v 100% bio-clearu. V zadnjih dveh posodah pa je po 2 uri potekalo prepajanje s parafinom (Preglednica 3).

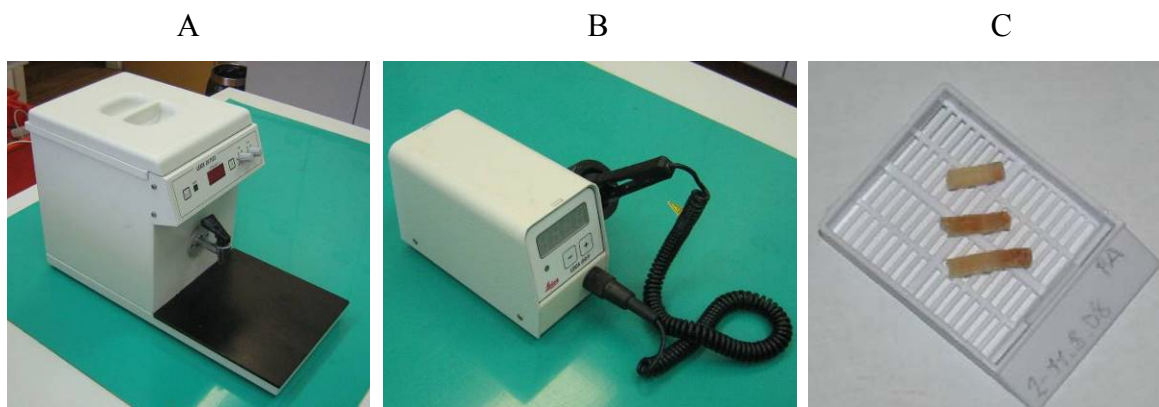


Slika 12: A - Preparator za prepajanje tkiv Leica TP 1020, v katerem izvajamo postopek dehidracije z etanolom in bio-clearom ter prepajanje s parafinom; B – Košara preparatorja Leica TP 1020, v kateri so zložene označene kasete z mikro vzorčki.

Preglednica 3: Prikaz korakov dehidracije mikro vzorčkov z etanolom in bio-clearom ter prepajanje s parafinom (Rossi in sod., 2006).

Raztopina	Čas(min)
Etanol 70%	120
Etanol 70%	120
Etanol 90%	90
Etanol 90%	90
Etanol 95%	90
Etanol 100%	90
Etanol 100%	90
Bio-clear	90
Bio-clear	90
Bio-clear	90
Parafin	120
Parafin	120

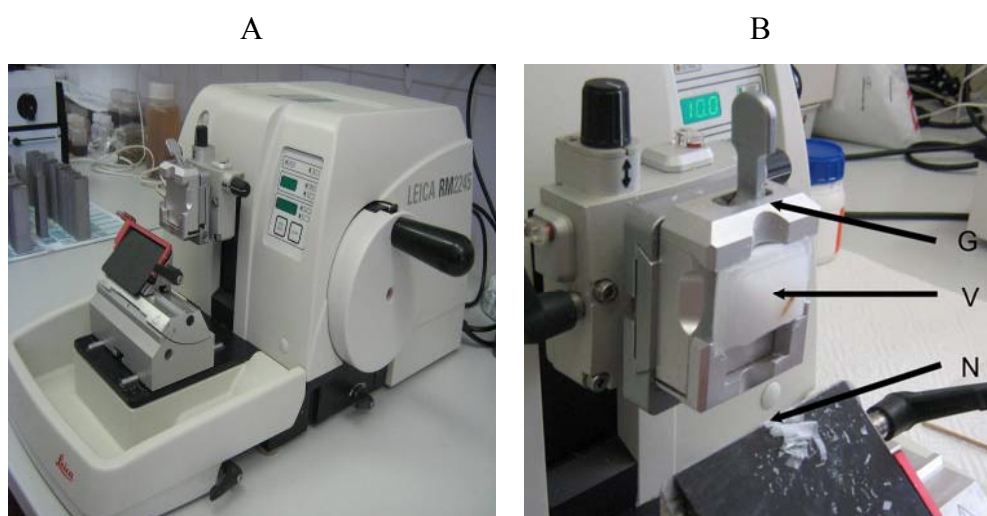
Ko je bil postopek prepajanja zaključen, smo pripravili parafinske bloke s tkivi. Kasete z vzorci smo postavili na grelno ploščo parafinskega dispenzorja Leica EG 1120 (Slika 13). Parafin se je pri tem v kaseti stalil. Kaseto smo nato odprli in obdržali tisto polovico kasete, na kateri je bila s svinčnikom napisana oznaka vzorca. Vzorček, ki bil že s svinčnikom orientiran v radialni smeri, smo postavili v kovinsko posodico s parafinom (pod kotom 45° glede na robove kasete) in ga zalili s staljenim parafinom (58°C), s čemer smo skušali preprečiti nastajanje mehurčkov. Posodico smo postavili v petrijevko z mrzlo vodo in z ogrevano pinceto Leica EG F (Slika 13) držali vzorec na mestu toliko časa, da se je parafin nekoliko strdil (robovi so postali belkasti). V naslednjem koraku smo postavili na posodico označeno polovico kasete, dolili parafin in jo postavili na mizo za toliko časa, da se je parafin na sobni temperaturi strdil. Vzorce smo nato postavili v hladilnik za približno 30 min, da smo nato lahko odstranili parafinske bloke iz posodic.



Slika 13: A - Grelna plošča parafinskega dispenzerja Leica EG 1120; B - Ogrevalna pinceta Leica EG F za obračanje vzorčkov; C – Pripravljen pravilno orientiran vzoreček (kot 45° glede na robove kasete), vklopljen v parafin, za rezanje na polavtomatskim rotacijskim mikrotomom Leica RM 2245.

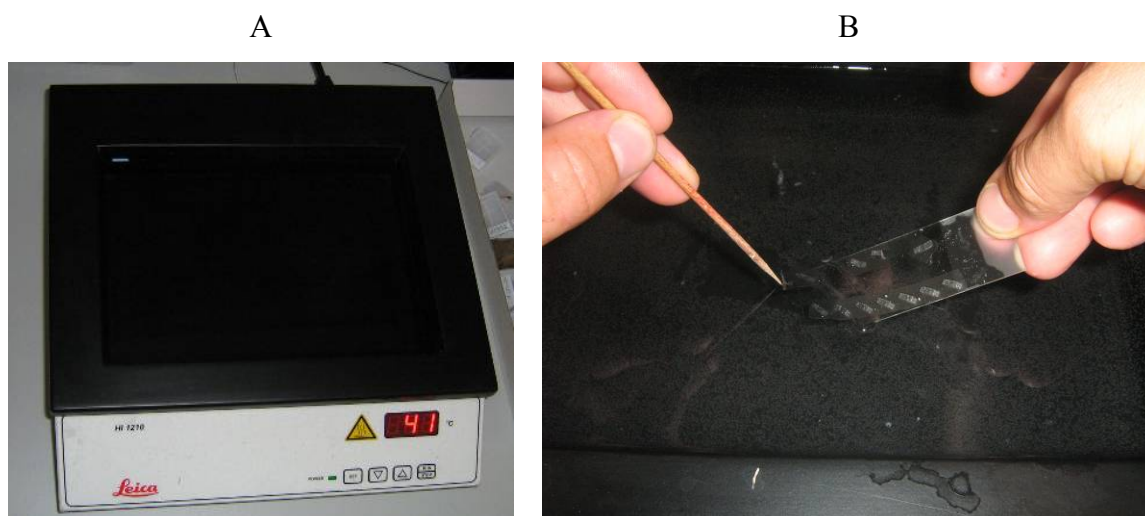
Ohlajenim vzorčkom je bilo nato potrebno prikrojiti ploskve. Odvečen parafin na robovih vzorčka je bilo potrebno s tehničnim nožem (olfa nož) odrezati. Odrezali smo toliko odvečnega parafina, da je bil vzoreček varno fiksiran v parafinu. Potem smo ploskev na bloku vzorca v parafinu, namenjeno za rezanje, izravnali. To smo storili s polavtomatskim rotacijskim mikrotomom Leica RM 2245 (Slika 14 A). Nato smo vzorce za približno pol ure namočili v mrzlo vodo, da se je ksilemsko tkivo nekoliko zmehčalo.

Rezanje preparatov prečnih prerezov tkiv je potekalo s polavtomatskim rotacijskim mikrotomom Leica RM 2245. Uporabljali smo nizkoprofilne jeklene nože za rezanje trših tkiv Feather N34H za enkratno uporabo. Za učinkovito porabo celotnega rezila posameznega noža ter kvalitetno rezanje preparatov smo nož postopoma premikali za dolžino vzorca, saj se je nož že po nekaj rezih skrhal. Za rezanje smo najprej uporabili del noža ob desnem robu, ter nato nadaljevali po celotni širini rezila tako, da smo del obrabljenega noža vedno odmaknili in nadaljevali na neobrabljenem delu.



Slika 14: A - Polavtomatski rotacijski mikrotom Leica RM 2245; B – Osnovna sestavna dela mikrotoma sta nizko profilni jekleni nož Feather N34H (N) in vpenjalna glava za kasete (G) z v parafin vklapljenim vzorcem (V).

Na mikrotomu smo nastavili debelino rezin na 10 μm . Odrezane rezine v parafinu smo s pomočjo dveh rahlo vlažnih (zaradi boljšega oprijema rezine) lesenih paličic postavili v posodo s hladno vodo. Tu smo tudi odstranili strgane in neuporabne vzorčke. Nato smo jih s pomočjo objektnega stekelca prestavili v vodo ogreto na 40 $^{\circ}\text{C}$, ki je bila v vodni kopeli Leica HI 1210, kakor prikazuje (Slika 15 B). Zaradi toplote so se prej nagubane rezine nekoliko raztegnile. Rezine smo nato pobrali iz vode z objektnim steklom, ki je bil premazan z albuminom, s čemer so povečali oprijem rezin na objektnem stekelcu. Albumin smo na urno stekelce nanесли s kapalko. Zadostovala je že majhna količina, ki smo jo z rahlim potegom palca na roki razmazali po objektnem stekelcu. Objektna stekla smo nato položili v pečico na 70 $^{\circ}\text{C}$ za približno 30 min.



Slika 15: A - Vodna kopel Leica HI 1210 s temperaturo 40 °C; B – Način lovljenja rezine v vodni kopeli Leica HI 1210, kjer se rezino "ujame" na objektno stekelce.

Pred začetkom barvanja preparatov smo morali preparate očistiti, tako da smo odstranili parafin. Podobno kot pri vklapljanju v parafin smo preparate najprej za določen čas izpostavili 100% raztopini bio-cleara in 95% raztopini etanola (Preglednica 4).

Preglednica 4: Postopek odstranjevanja parafina pred barvanjem.

Raztopina	Čas (min)
Bio-cleara	15-20
Bio-cleara	15-20
Etanol 95%	15-20
Etanol 95%	15-20
Etanol 95%	15-20
Safranin	120

Ko smo preparate očistili, smo se lotili barvanja le teh. Najprej smo preparate obarvali s safraninom (0,5 %, v 95 % etanolu), barvanje je trajalo 2 uri. Safranin je rdeče obarval polifenolne komponente, v našem primeru predvsem lignin. Po pretečenem času smo barvilo iz preparata sprali s 95 % etanolom. Sledilo je obarvanje z astra modrim (0,5 %, v 95 % etanolu), ki obarva celulozne komponente celične stene. Zaradi agresivnosti barvila,

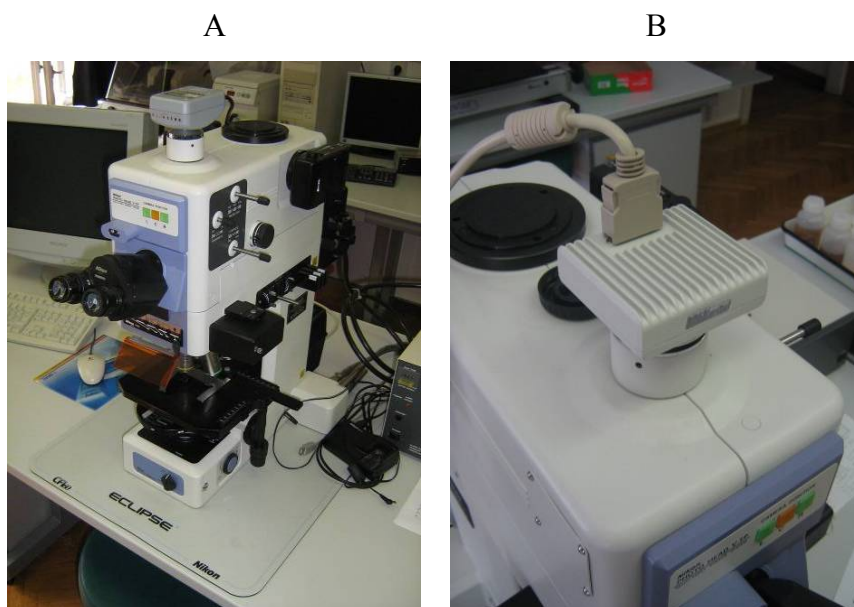
smo preparate barvali le 3-5 minut. Nazadnje je spet sledilo izpiranje s 95 % etanolom, dokler nismo odstranili vsega odvečnega barvila.

Rezine na objektnem steklu smo nazadnje prepojili z vklopnim medijem Euparal, prekrili s krovnim steklom, odstranili mehurčke, ujete v vklopnem mediju, ter preparate obtežili z 200 g težkimi kovinskimi utežmi ter jih pustili obtežene vsaj 24 ur, da se je Euparal strdil. Vsak preparat smo sproti označili z ustrezno oznako, ki je vsebovala številko drevesa ter datum odvzema.

3.5 ANALIZA SLIKE

Vse izdelane preparate smo analizirali s pomočjo svetlobnega mikroskopa Nikon Eclipse E800 (Slika 16), digitalne kamere (Nikon-DS Fi1), osebnega računalnika in računalniškega programa LUCIA G 4.8. Za analizo slike smo uporabili mikroskopiranje v svetlem polju, po potrebi pa tudi v polarizirani svetlobi, za določanje začetka odlaganja sekundarne celične stene. Največkrat smo uporabljali objektivne z 2x, 4x, 10x in 20x povečavo. Sliko smo opazovali na zaslonu osebne računalnika. V veliko pomoč posebej pri merjenju je bila premična objektna miza mikroskopa, ki omogoča obračanje preparatov v poljuben položaj. Položaj slike na zaslonu lahko uravnavamo tudi s položajem oz. zasukom digitalne kamere, ki je nameščena na vrhu mikroskopa (Slika 16). Za boljše »branje« slik nam določene možnosti ponuja tudi program LUCIA G 4.8., kjer lahko uravnavamo delež rdeče, zelene in modre barve, svetlost ter kontrast. Ta program, poleg že omenjenih funkcij, z ustrezno opremo (digitalno kamero) omogoča prenos »žive« slike iz mikroskopa na zaslon računalnika. To pomeni, da se v primeru premika objektna mize ustrezno spremeni tudi slika na zaslonu. Program LUCIA G 4.8 smo uporabili za merjenje razdalj na preparatu, ki smo ga opazovali pod mikroskopom. Vsakokrat, ko smo spremenili povečavo, smo izbrali ustrezno kalibracijo za preračun povečave, nakar smo lahko pričeli s štetjem celic in merjenjem razdalj itd. S kalibracijo smo zagotovili, da so bile meritve enote v skladu s standardnim merskim sistemom (mm, μm). Vse izvedene meritve smo shranili v obliki *.txt datoteke ter jo ustrezno poimenovali. Ime datoteke je bilo sestavljeno iz datuma odvzema, številke drevesa, mesta meritve v braniki, ter vrste meritve. Ime

»4_17_3_08_PA_CCC« na primer pomeni, da je bil vzorec odvzet iz drevesa 4, 17 marca 2008, na rastišču Panška reka.

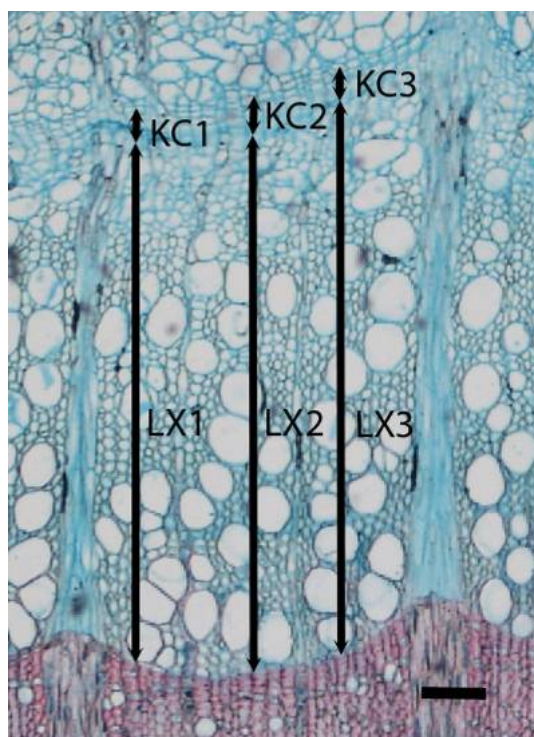


Slika 16: A - Mikroskop Nikon Eclipse E800 z digitalno kamero Nikon-DS F:1; B- Digitalna kamera Nikon-DS F:1, s katero s pomočjo računalnika, merimo preparate.

Po končani izdelavi preparatov, smo najprej izbrali najboljše preparate za analizo, slabe pa smo izločili. Za vsak odvzem smo imeli več preparatov, zato smo za merjenje lahko izbrali najprimernejše rezine iz vsakega odvzetega dneva. Dobre preparate pa smo po posameznem drevesu datumsko uredili. To nam je v nadaljevanju merjenja omogočilo hitrejše delo.

Na preučevanem preparatu smo merili število celic kambijeve cone, na dan vzorčenja. Poleg štetja celic kambijeve cone pa smo merili tudi njeno širino. Dodatno pa smo merili tudi širino novo nastalega lesa. Dobljene podatke smo izvozili v program Microsoft Excel, jih analizirali in statistično obdelali.

Pri izbranih preparatih smo za posamezni mesec opazovali tudi širino posameznih faz diferenciacije. Odlaganje sekundarne celične stene smo določili z opazovanjem tkiv pod polarizirano svetlobo, indikator pa je bilo tudi obarvanje z barvili safranin in astra modro. V modro obarvanih tkivih je bila prisotna zgolj celuloza in hemiceluloze, popolnoma rdeče obarvane celične stene pa so nakazovale, da se je lignin inkrustriral v steno trahej in vlaken.



Slika 17: Način merjenja širine nastajajoče branike v treh radialnih nizih (LX1 – LX2 – LX3) in kambijeve cone (KC1 – KC2 – KC3).

4 REZULTATI

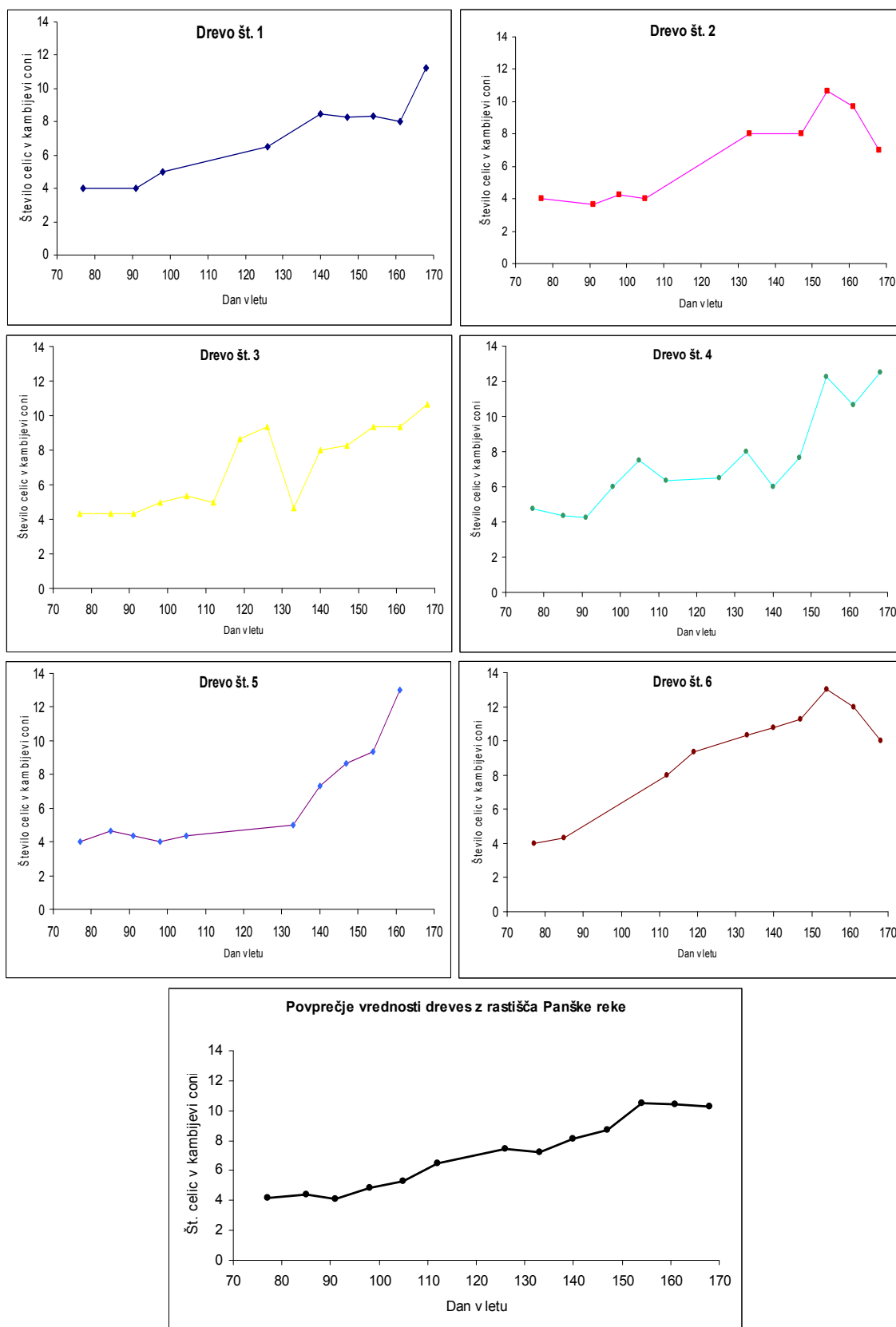
4.1 KAMBIJEVA AKTIVNOST PRI BUKVI NA PANŠKI REKI IN NA MENINI PLANINI V RASTNI SEZONI 2008

4.1.1 Panška reka

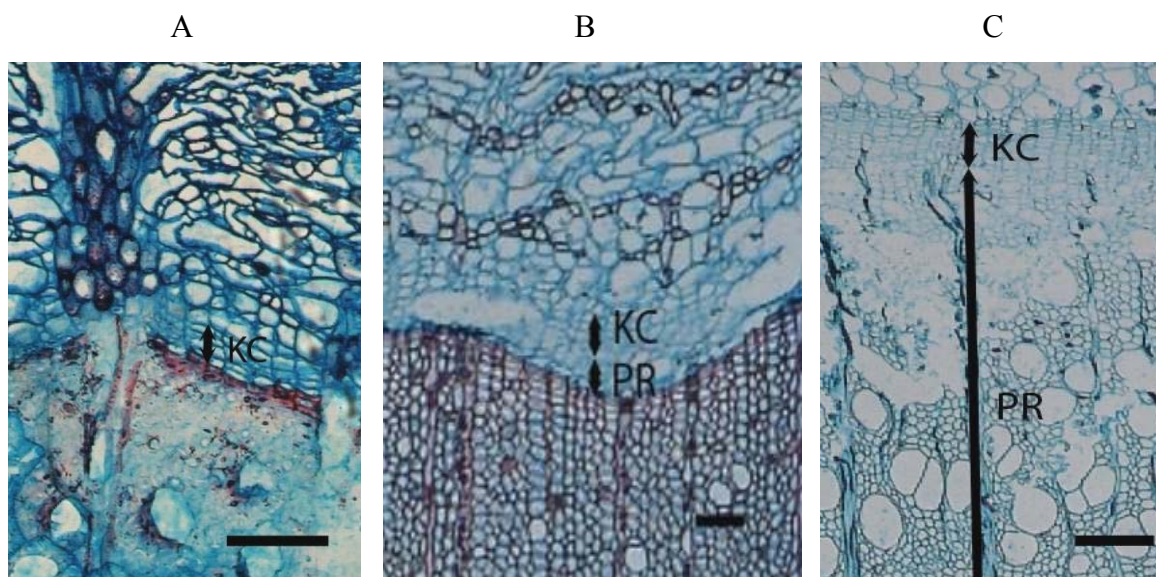
Slika 18 prikazuje število celic v kambijevi coni pri 6 drevesih s Panške reke od 17.3.2008 (77. dan v letu) do 16.6.2008 (168. dan v letu). Razvidno je, kako se je število celic v kambijevi coni spreminjalo pri posameznem drevesu, prikazane pa so tudi povprečne vrednosti vseh 6 dreves za omenjeno rastišče. Kambijeva cona je bila v času od 17.3.2008 do 14.4.2008 (77. do 105. dan v letu) sestavljena iz 4 do 5 slojev celic z majhnimi radialnimi dimenzijami in nekoliko odebeljenimi celičnimi stenami. Širina dormantne kambijeve cone pa je znašala od 49 do 55 μm . Zgoraj opisani znaki so kazali na to, da je bila kambijeva cona v tem obdobju neaktivna (dormantna).

Povečanje števila celic v kambijevi coni smo pri odvzetih vzorcih zaznali med 14. in 24. aprilom 2008 (105. do 112. dan v letu), ko je v povprečju vsebovala od 6 do 8 celic v radialnem nizu. Povečanje števila celic v kambijevi coni nakazuje, da je prišlo do njene reaktivacije. Delitve so se najprej pričele v drevesih št. 4 in 6, med 14. in 21. aprilom 2008 (105. do 112. dan v letu), saj smo v tem tednu zasledili prve celične delitve v kambijevi coni. Tako smo 21. aprila 2008 že opazili prve novo nastale ksilemske celice. Pri drevesih 1 in 3 so se delitve v kambijevi coni pričele teden kasneje, med 21. in 28. aprilom 2008 (112. do 119. dan v letu). Pri drevesih 2 in 5, so se delitve celic v kambijevi coni pričele najkasneje, med 5. in 12. majem 2008 (126. do 133. dan v letu).

V prvi polovici rastne sezone je kambijeva cona maksimalno število celic doseglo med 2. in 9. junijem (154. do 161. dan v letu), ali 8 tednov po njeni reaktivaciji. V radialni vrsti smo v tem obdobju opazili od 10 do 14 celic. Pri drevesih 2, 4 in 6 je kambijeva cona vsebovala maksimalno število celic že 2. junija, pri drevesih 1, 3 in 5 pa šele 16. junija.



Slika 18: Število celic v kambijevi coni pri posameznih drevesih z rastišča Panška reka, ter povprečje za 6 dreves v rastni sezoni 2008.



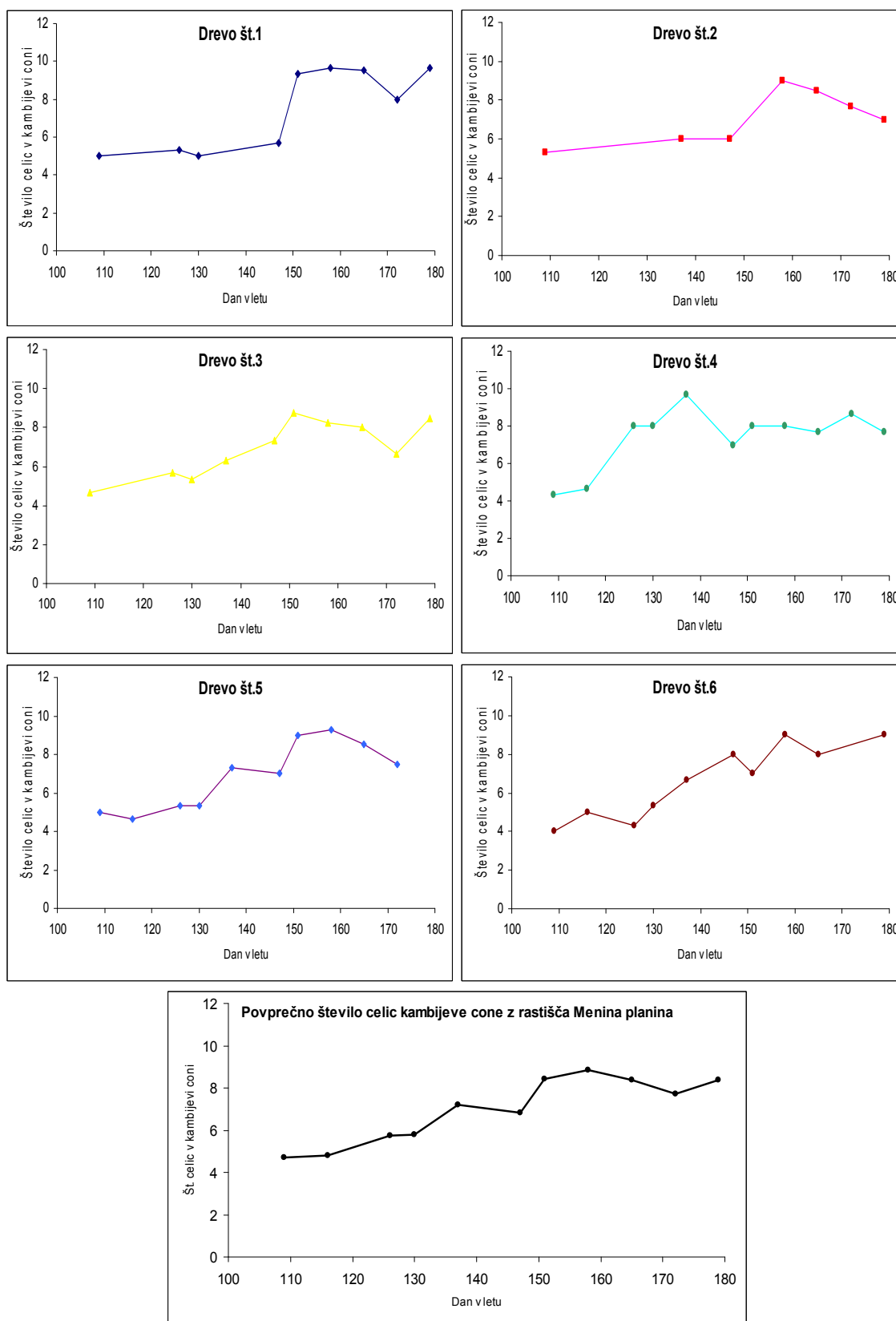
Slika 19: Spreminjanje širine kambijeve cone v drevesih na rastišču Panjska reka tekom vegetacijske dobe 2008. A – dormantna kambijeva cona (KC) (14.4.2008 – 105 dan v letu) sestavljena iz 4 do 5 celic v radialnem nizu. B - aktivna KC in del prirasle ksilemske branike (PR) (21.4.2008 – 112. dan v letu); C - kambijeva cona (KC) z maksimalnim številom celic v radialnem nizu (9.6.2008 – 161. dan v letu). Daljica 100 µm

4.1.2 Menina planina

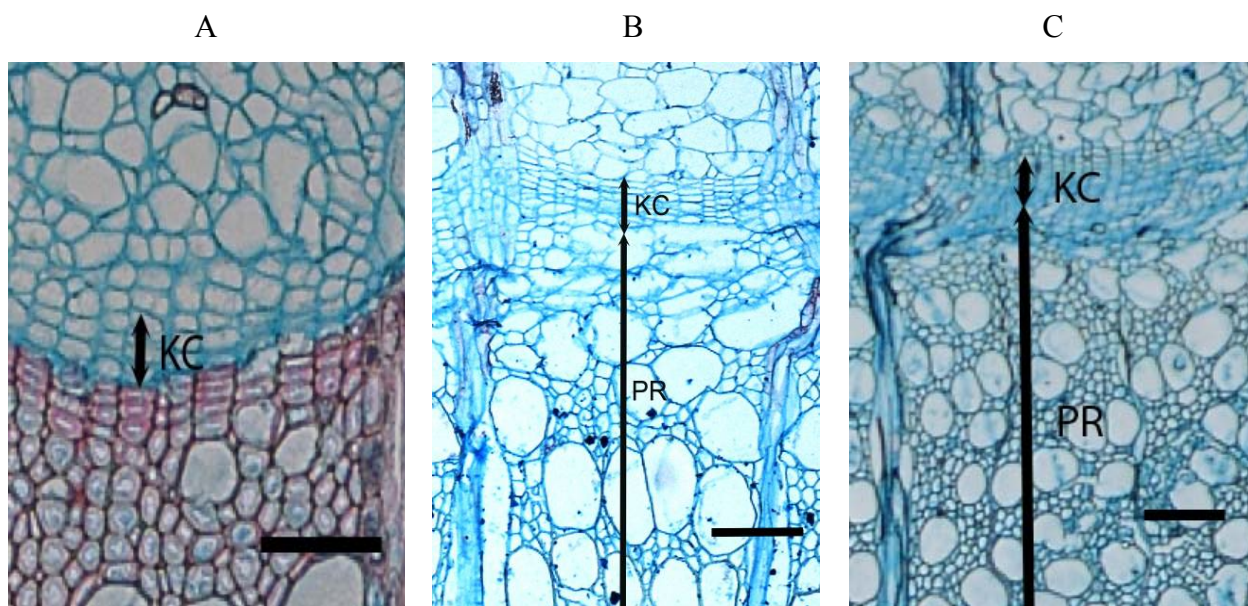
Slika 20 prikazuje število celic v kambijevi coni pri 6 drevesih z Menine planine od 18. aprila 2008 (109. dan v letu) do 27. junija 2008 (179. dan v letu). Na sliki je vidno, kako se je število celic v kambijevi coni spreminjalo pri posameznem drevesu in povprečje pri vseh 6 drevesih. Kambijeva cona je bila v času od 18. aprila 2008 do 9. maja 2008 (109. do 130. dan v letu) sestavljena iz 4 do 5 slojev celic z majhnimi radialnimi dimenzijami in nekoliko odebeljenimi celičnimi stenami. Širina dormantne kambijeve cone pa je znašala od 49 do 60 μm . Zgoraj opisani znaki so kazali na to, da je bila kambijeva cona v tem obdobju neaktivna (dormantna).

Povečanje števila celic v kambijevi coni smo pri odvzetih vzorcih zaznali med 9. in 16. majem 2008 (130. do 137. dan v letu), ko je v povprečju vsebovala od 8 do 11 celic v radialni vrsti. Naglo povečanje števila celic v kambijevi coni nakazuje, da je takrat prišlo do reaktivacije. Delitve so se najprej pričele v drevesu št. 4, med 9. in 16. maja 2008 (130. do 137. dan v letu), saj smo v tem tednu zasledili prve celične delitve v kambijevi coni. Tako smo 16. maja 2008 že opazili prve novo nastale ksilemske celice. Pri ostalih drevesih so se delitve v kambijevi coni pričele teden kasneje in sicer med 16. in 26. majem 2008 (137. do 147. dan v letu). Pri vseh drevesih se je število celic v kambijevi coni povečalo od 6 do 8 celic v radialni vrsti.

Število celic v kambijevi coni se je po aktivaciji v naslednjih tednih povečalo. Med obdobjem od 9. do 16. maja 2008 (130. do 137. dan v letu) je vsebovala od 6 do 9 celic v radialnem nizu. V naslednjih tednih pa se povprečno število ni bistveno spreminjalo, in je variiralo med 8 do 9 celic v radialnem nizu (Slika 21).



Slika 20: Širina kambijeve cone pri posameznih drevesih z rastišča Menina planina, ter povprečje za 6 dreves v rastni sezoni 2008.



Slika 21: Spreminjanje širine kambijeve cone v drevesih z rastišča Menina planina tekom vegetacijske dobe 2008. A - dormantna kambijeva cona (KC) (9.5.2008 – 130. dan v letu) sestavljena iz 4 do 5 celic v radialnem nizu. B - aktivna KC in del prirasle ksilemske branike (PR) (26.5.2008 – 147. dan v letu); C - kambijeva cona (KC) z maksimalnim številom celic v radialnem nizu (27.6.2008 – 179. dan v letu). Daljica 100 µm

4.2 NASTAJANJE KSILEMSKE BRANIKE IN DIFERENCIACIJA CELIC V ZAČETKU VEGETACIJSKE DOBE 2008

4.2.1 Panška reka

4.2.1.1 Nastajanje ksilemske branike

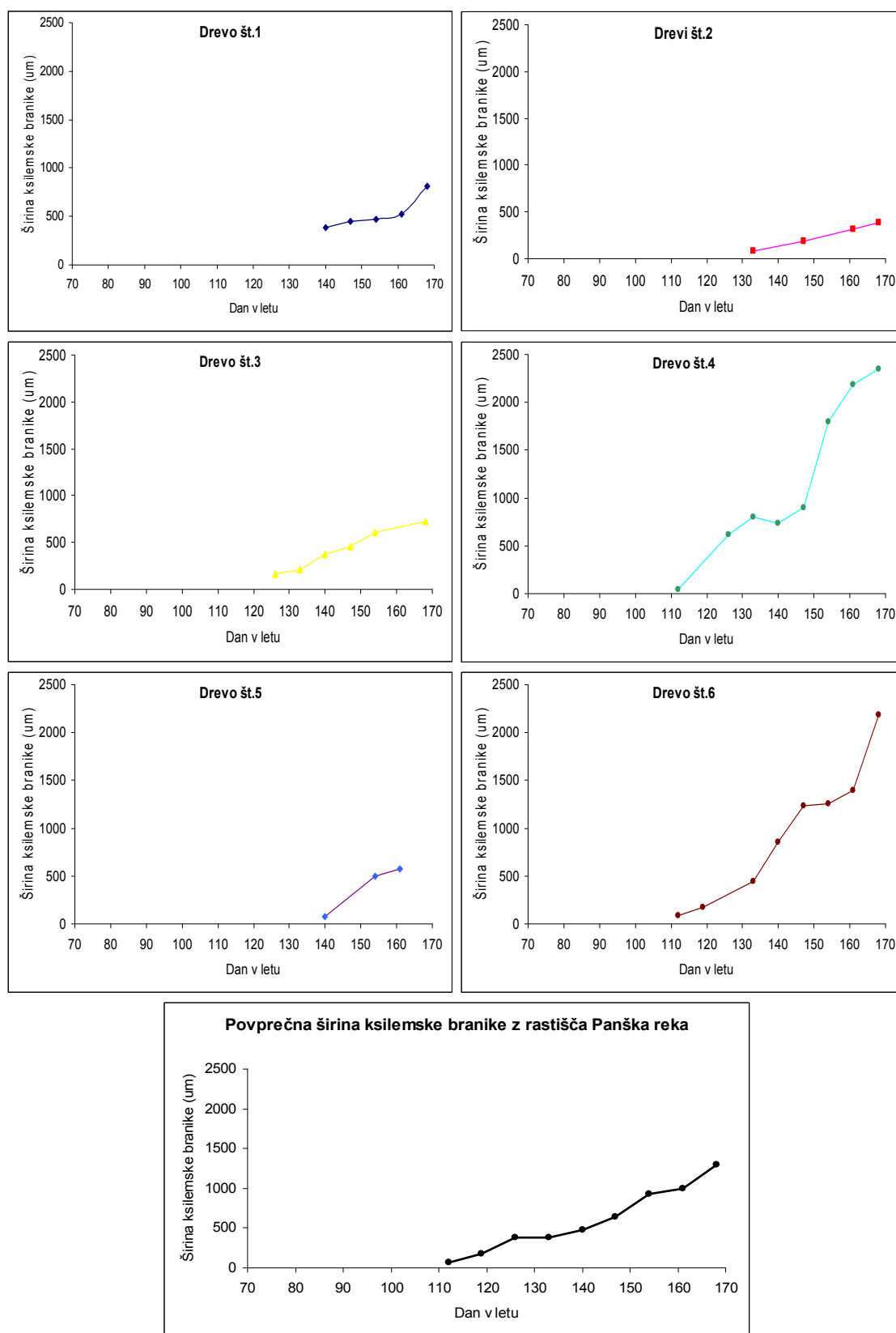
Slika 22 prikazuje priraščanje ksilemske branike pri 6 drevesih s Panške reke od začetka reaktivacije kambijeve cone do 16. junija 2008 (168. dan v letu). Na sliki je razvidno priraščanje vseh 6 dreves ter izračunane povprečne vrednosti.

V tednu po reaktivaciji kambijeve cone (med 14. in 21. aprilom 2008) so nastale prve ksilemske celice. Tako smo že 21. aprila 2008 (112. dan v letu) zabeležili povprečno širino ksilemske branike, ki je znašal 62 μm . Kambijeva cona je sprva počasneje dodajanje celice ksilemski braniki, kasneje pa se je priraščanje povečalo. Pri zadnjem analiziranem preparatu, dne 16. junija 2008 (168. dan v letu), je bila ksilemska branika v povprečju široka 1293 μm . Tedaj je bila kambijeva cona aktivna, ksilemska branika pa se je še vedno enakomerno povečevala.

Vsa vzorčna drevesa niso imela enake tendence povečevanja ksilemske branike. Iz grafov (Slika 22) je razvidna različna dinamika povečevanja ksilemske branike (različna oblika grafov) pri drevesih in tudi različna končna širina ksilemske branike pri zadnjem odvzemu vzorcev 16. junija 2008 (168. dan v letu). Pri tem najbolj odstopata drevesi št. 4 in 6, saj je njun ksilemski prirastek pri zadnjem vzorčenju skoraj šestkrat večji, kot je vrednost povprečnega ksilemskega prirastka pri drevesu št. 2 in skoraj dvakrat večji kot je vrednost povprečnega ksilemskega prirastka pri drevesih št. 1, 3 in 5. Izstopa prirastek drevesa št. 2, ki je 16. junija 2008 (168. dan v letu) znašal le 391 μm . To je kar štirikrat manj, kot je povprečni prirastek ksilemske branike z rastišča Panška reka.

Bukev je difuzno porozna vrsta, kjer so traheje približno enakih velikosti dokaj enakomerno razporejene po braniki. Vendarle pa imajo traheje kasnega lesa nekoliko

manjši premer, njihova razpršenost (število trahej na enoto površine) pa je nekoliko manjša kot v ranem lesu (Čufar, 2006). Iz omenjene trditve lahko glede na dobljene podatke sklepamo, da na koncu naše raziskave, na Panški reki drevesa še niso pričela oblikovati trahej kasnega lesa. Vendar velja omenjena trditev le za oceno, saj v diplomski nalogi nismo kvantitativno merili velikost trahej, ampak smo treheje opazovali le pod mikroskopom in le kvalitativno ocenili njihovo velikost.



Slika 22: Širina ksilemske branike 2008 pri posameznih drevesih, ter krivulja s povprečnimi vrednostmi z rastišča Panška reka.

4.2.1.2 Diferenciacija ksilemskih celic

Celične stene novo nastalih celic v ksilemski braniki, sprva obdaja primarna stena iz celuloze in hemiceluloz, ki se obarva modro. Ko je površinska rast zaključena, se na primarno steno v centripetalni smeri odloži večslojna in toga sekundarna celična stena, ki je sestavljena iz celuloze in hemiceluloz (Panshin in De Zeeuw, 1980, Gričar, 2006). Oblikovanje sekundarne stene lahko opazujemo pod polarizirano svetlobo. Ker so celulozne fibrile v sekundarni celični steni urejene in vzporedno usmerjene, se usmerjena svetloba iz polarizatorja odbije pod določenim kotom, kar zaznamo kot svetlo polje. V primarni steni, so mikrofibrile neurejene oziroma prepletene in naključno usmerjene, zato se svetloba, ki pade nanje, razprši, kar vidimo temno.

Pri testnem drevesu št. 6 se je sinteza sekundarne celične stene prvih vlaken, pričela že v tednu med 21. in 28. aprilom 2008 (112. do 119. dan v letu), teden dni po aktivaciji kambijeve cone. V tednu med 5. in 12. majem 2008 (126. do 130. dan v letu) se je pričel odlagati lignin, saj so bile nekatere celične stene že delno obarvane rdeče. Prva dokončno diferencirana vlakna, ki so imela dokončno rdeče obarvano celične stene in prazne lumne pa smo zasledili v tednu med 26. majem in 2. junijem 2008 (147. do 154. dan v letu) oz. 6 tednov po njihovem nastanku (Preglednica 5).

Pri testnem drevesu št. 4 se je sinteza sekundarne celične stene prvih vlaken, pričela že v tednu med 28. aprilom in 5. majem 2008 (119. do 126. dan v letu), oz. dva tedna po aktivaciji kambijeve cone. V tednu med 12. in 19. majem 2008 (133. do 140. dan v letu) se je pričel odlagati lignin. Prva dokončno diferencirana vlakna pa smo zasledili v istem tednu kot pri drevesu št. 6 oz. 6 tednov po njihovem nastanku.

Pri testnih drevesih št. 1 in 3 faze diferenciacije nastopijo v enakih časovnih intervalih. Sinteza sekundarne celične stene se je pričela v tednu med 5. in 12. majem 2008 (126. do 133. dan v letu), oz. dva tedna po aktivaciji kambijeve cone. Lignifikacija celic pa se je začela v tednu med 26. majem in 2. junijem 2008 (147. do 154. dan v letu). Prva dokončno diferencirana vlakna pa smo pri teh drevesih zasledili v tednu med 9. majem in 16. junijem 2008 (161. do 168. dan v letu), oz. 6 tednov po njihovem nastanku.

Najkasneje so vlakna diferencirala pri testnih drevesih št. 2 in 5. Sinteza sekundarne celične stene se je pričela v tednu med 19. in 25. majem 2008 (140. do 147. dan v letu), oz. dva tedna po aktivaciji kambijeve cone. Pri drevesu št. 2 se je lignifikacija celic začela v tednu med 9. in 16. junijem 2008 (161. do 168. dan v letu). Zrela vlakna pa smo zasledili v tednu med 16. majem in 23. junijem 2008 (168. do 175. dan v letu). Pri drevesu št. 5 pa se je lignifikacija celičnih sten začela v tednu med 26. majem in 2. junijem 2008 (147. do 154. dan v letu). Zrela vlakna pa smo zasledili v tednu med 9. majem in 16. junijem 2008 (161. do 168. dan v letu). Ugotovili smo, da je bil sam potek diferenciacije vlaken pri drevesu št. 5, hitrejši kot pri ostalih drevesih, pri katerih se je diferenciacija vlaken začela prej. Pri drevesu št. 2 se je diferenciacija zaključila v 5 tednih, pri drevesu št. 5 pa v 4 tednih po njihovem nastanku.

Preglednica 5: Diferenciacija prvih (inicialnih) vlaken pri izbranih drevesih s Panške reke, v rastni sezoni 2008. Barve prikazujejo, kdaj smo zaznali prisotnost določene komponente v celičnih stenah vlaken: reaktivacija kambijeve cone (zelena), pričetek odlaganja sekundarne celične stene (modra), pričetek odlaganja lignina v celičnih stenah (oranžna), zaključek diferenciacije prvih celic (rdeča).

Datum	Dan v letu	Številka testnega drevesa					
		1	2	3	4	5	6
17.3.2008	77						
25.3.2008	85						
31.3.2008	91						
7.4.2008	98						
14.4.2008	105						
21.4.2008	112						
28.4.2008	119						
5.5.2008	126						
12.5.2008	133						
19.5.2008	140						
26.5.2008	147						
2.6.2008	154						
9.6.2008	161						
16.6.2008	168						
23.6.2008	175						

4.2.1.3 Priraščanje ksilemske branike

Slika 23 prikazuje priraščanje ksilemske branike pri drevesu št. 6 s Panške reke, v prvi polovici rastne sezone. Kombinacija selektivnega obarvanja s safraninom in astra modrim ter polarizirane svetlobe omogoča spremljanje posameznih faz diferenciacije vlaken, trahej, aksialnega parenhima in trakov.

Pred reaktivacijo 14. aprila 2008 (105. dan v letu) je bila kambijeva cona sestavljena iz 4 do 5 celic v radialnem nizu. Celična stena celic kambijeve cone je obarvana modro, saj sestoji pretežno iz celuloznih in polioznih molekul. Kambijeva cona je v tem času dormantna.

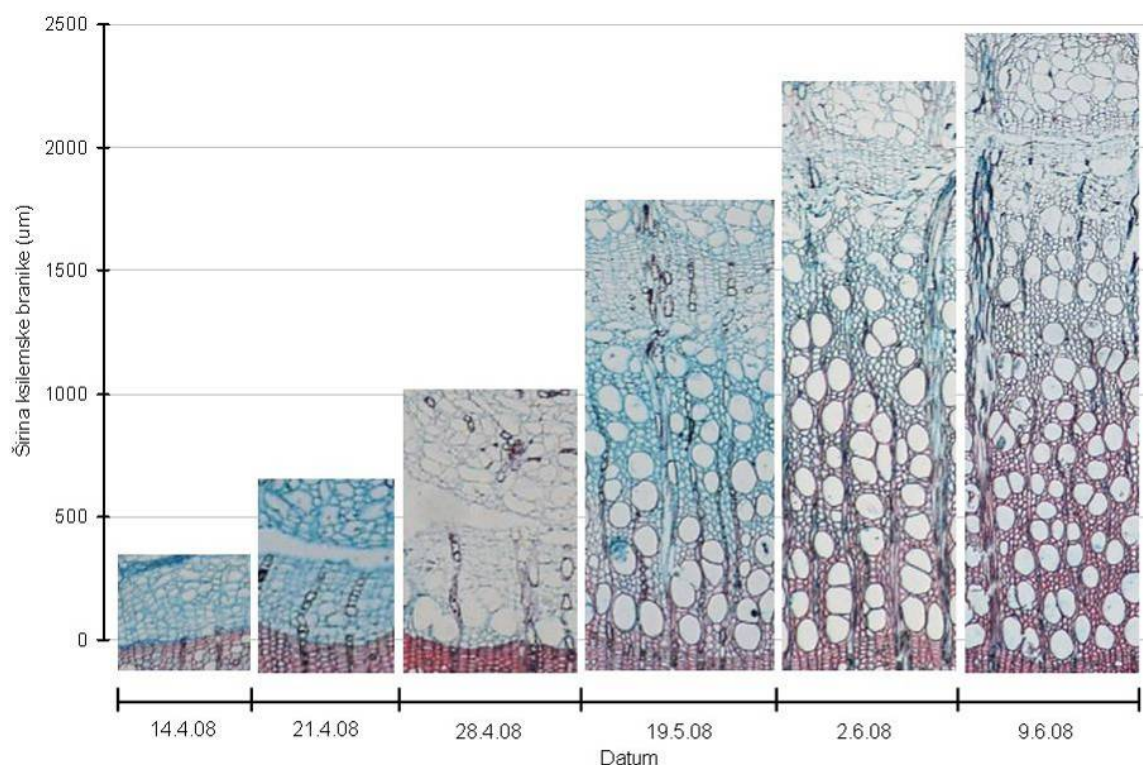
Teden kasneje, 21. aprila 2008 (112. dan v letu), se je število celic v kambijevi coni povečalo na 8 do 9 v radialnem nizu. Celične stene so v primerjavi z dormantno kambijevo cono nekoliko tanjše in imajo večji radialni premer, če smo jih primerjal s celicami kambijeve cone. Pod aktivno kambijevo cono so opazna prva vlakna in traheje v fazi postkambijske rasti. Pri slednjih se površinska rast na ta dan še ni zaključila, saj celične stene še niso bile dokončno lignificirane, traheje pa še niso bile dokončno izoblikovane, glede na velikost prejšnjih trahej.

Na dan 28. aprila 2008 (119. dan v letu) se je površinska rast prvih vlaken in trahej že zaključila, saj se velikost vlaken in trahej kvalitativno ni več spreminjala. Slednje so dosegle svojo končno radialno dimenzijo in merijo v povprečju okoli 100 μm . Pod polarizirano svetlobo se stene prvih nastalih celic že svetile kar je pomenilo pričetek sinteze sekundarne celične stene.

Na dan 19. maja 2008 (140. dan v letu) so se zunanja področja celičnih sten, tik ob letnici že obarvala rdeče. Rdeče obarvanje s safraninom priča o pričetku sinteze polifenolnih komponent celične stene oz. lignifikaciji.

Lignifikacija celičnih sten prvih nastalih celic se nadaljuje v centripetalni smeri. Notranji deli celične stene, tik ob lumnu, se 2. junija 2008 (154. dan v letu) še niso popolnoma lignificirali. Tu je bila kambijeva cona tudi najširša in je bila sestavljena iz 12 do 14 celic v radialnem nizu. Teden kasneje, 9. junija 2008 (161. dan v letu), pa so celične stene v celoti rdeče obarvane, kar pomeni, da se je lignifikacija zaključila. Lumni so prazni, saj v njih ni več prisotna citoplazma. Kambijeve cona vsebuje med 11 do 13 celic. Izoblikovan je velik del ksilemske branike, ki v povprečju meri 2187 μm . V tem obdobju je v ksilemski braniki mogoče opaziti vse faze diferenciacije.

Teden kasneje 16. junija 2008 (168. dan v letu), ob koncu eksperimenta, v nastali braniki, še nismo opazili celici kasnega lesa. Z opazovanjem celic v ksilemski braniki se velikost le teh ni več spreminjala.



Slika 23: Nastajajoča ksilemska branika v drevesu št. 6 z rastišča Panška reka v rastni sezoni 2008. S pomočjo selektivnega obarvanja s safraninom in astra modrim je mogoče spremljati faze diferenciacije v ksilemskem tkivu.

4.2.2 Menina planina

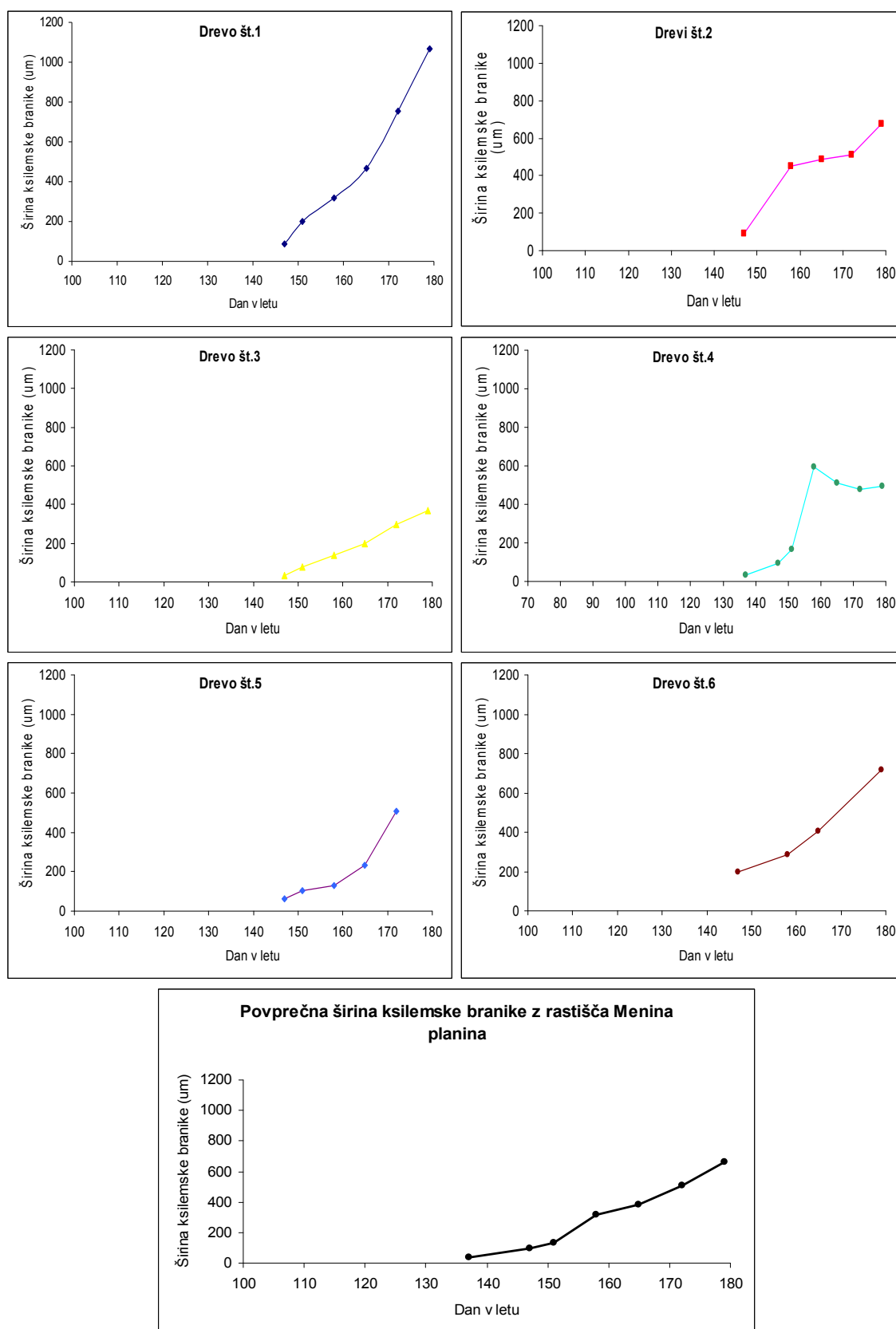
4.2.2.1 Nastajanje ksilemske branike

Slika 24 prikazuje priraščanje ksilemske branike pri 6 drevesih z Menine planine od začetka rekativacije kambijeve cone 9. maja. 2008 (130. dan v letu) do 27. junija. 2008 (179. dan v letu). Na sliki je vidno priraščanje pri vsakem od 6 dreves ter izračunane povprečne vrednosti.

V tednu po reaktivaciji kambijeve cone (med 9. in 16. majem 2008) so se začele prve celične delitve. Tako je že 16. maja 2008 (137 dan v letu) zasledili prve celice ksilemske branike, saj je širina branike merila 33 μm . Kambijeva cona je sprva počasneje dodajala celice ksilemski braniki, kasneje pa se je priraščanje povečalo. Ksilemska branika je bila 27. junija 2008 (179. dan v letu) v povprečju široka 666 μm . V nadaljevanju se je povečevala enakomerneje.

Vsa vzorčna drevesa niso imela enake tendence povečevanja ksilemske branike. Iz grafov (Slika 24) je razvidna različna dinamika priraščanja (različna oblika grafov) in različna končna širina ksilemske branike med drevesi pri zadnjem odvzemu vzorcev 27. junija 2008 (179. dan v letu). Najbolj odstopa drevo št. 1, saj je povprečna širina nastajajoče branike pri zadnjem vzorčenju skoraj trikrat večja, kot je širina branike pri drevesu št. 3 in skoraj dvakrat večja kot pri drevesih št. 2, 3, 4 in 5. Omenimo naj še, da je pri drevesu št. 2 širina nastajajoče ksilemske branike, znašala 27. junija 2008 (179 dan v letu) 370 μm . To je dvakrat manj, kot je povprečna širina ksilemske branike z rastišča Menina planina, ki je znašal 666 μm .

Tudi na rastišču Menina planina smo opazili, da na koncu naše raziskave še nismo zasledili trahej kasnega lesa oz. prisotnosti kasnega lesa.



Slika 24: Širina ksilemske branike 2008 pri posameznih drevesih, ter krivulja s povprečnimi vrednostmi z rastišča Menina planina.

4.2.2.2 Diferenciacija ksilemskih celic

Na Menini planini se je pri prvih testnih drevesih pričela diferenciacija prvih celic v tednu med 26. in 30. majem 2008 (Preglednica 6).

Pri testnem drevesu št. 6 se je sinteza sekundarne celične stene prvih vlaken, pričela že v tednu med 26. in 30. majem 2008 (147. do 151. dan v letu). V tednu med 30. majem in 6. junijem 2008 (151. do 158. dan v letu) se je pričel odlagati lignin, saj so bile nekatere celične stene že delno obarvane rdeče. Prva dokončno diferencirana vlakna, ki so imela dokončno rdeče obarvano celično steno in prazne lumne, pa smo zasledili v tednu med 20. junijem in 27. julijem 2008 (172. do 179. dan v letu) oz. 6 tednov po njihovem nastanku.

Testni drevesi št. 1 in 4 sta imeli podoben potek diferenciacije vlaken. Sinteza sekundarne celične stene se je pričela v tednu med 26. in 30. majem 2008 (147. do 151. dan v letu), lignifikacija pa v tednu med 20. in 27. junijem 2008 (172. do 179. dan v letu). Prva dokončno diferencirana vlakna pa smo zasledili v tednu med 27. junijem in 7. julijem 2008 (179. do 189. dan v letu), oz. 6 tednov po njihovem nastanku.

Tudi za testni drevesi št. 2 in 3 je bil značilen enak potek diferenciacije vlaken. Sinteza sekundarne celične stene se je pričela v tednu med 30. majem. in 6. junijem 2008 (151. do 158. dan v letu). Le lignifikacija celic je bila pri omenjenih drevesih različna, saj se je pri drevesu 2 pričela v tednu med 13. in 20. junijem 2008 (165. do 172. dan v letu), pri drevesu 4 pa v tednu med 20. in 27. junijem 2008 (172. do 179. dan v letu). Prva dokončno diferencirana vlakna pa smo zasledili v tednu med 27. junijem in 7. julijem 2008 (179. do 189. dan v letu), oz. 5 tednov po njihovem nastanku.

Vlakna so se najkasneje diferencirala pri testnem drevesu št. 5. Sinteza sekundarne celične stene se je pričela v tednu med 30. majem in 6. junijem 2008 (151. do 158. dan v letu). Lignifikacija celic se je pričela v tednu med 7. in 11. julijem 2008 (189. do 193. dan v letu). Prva dokončno diferencirana vlakna pa smo zasledili v tednu med 11. in 18. julijem 2008 (193. do 200. dan v letu). Ugotovili pa smo, da je bil sam potek diferenciacije vlaken,

pri omenjenem drevesu najpočasnejši, saj se je diferenciacija vlaken zaključila šele v 7 tednih.

Preglednica 6: Diferenciacija prvih (inicialnih) vlaken v izbranih drevesih z Menine planine, v rastni sezoni 2008. Barve prikazujejo, kdaj smo zaznali prisotnost določene komponente v celičnih stenah vlaken: reaktivacija kambijeve cone (zelena), pričetek odlaganja sekundarne celične stene (modra), pričetek odlaganja lignina v celičnih stenah (oranžna), zaključek diferenciacija prvih celic (rdeča).

Datum	Dan v letu	Številka testnega drevesa					
		1	2	3	4	5	6
18.4.2008	109						
25.4.2008	116						
5.5.2008	126						
9.5.2008	130						
16.5.2008	137						
26.5.2008	147						
30.5.2008	151						
6.6.2008	158						
13.6.2008	165						
20.6.2008	172						
27.6.2008	179						
7.7.2008	189						
11.7.2008	193						
18.7.2008	200						

4.2.2.3 Priraščanje ksilemske branike

Slika 25 prikazuje priraščanje ksilemske branike pri drevesu št. 2 z Menine planine, v prvi polovici rastne sezone. Kombinacija selektivnega obarvanja s safraninom in astra modro ter polarizacijske svetlobe omogoča spremljanje posameznih faz diferenciacije vlaken, trahej, aksialnega parenhima in trakov.

Pred reaktivacijo 16. maja 2008 (137. dan v letu) je bila kambijeva cona sestavljena iz 4 do 5 celic v radialnem nizu. Celične stene celic kambijeve cone je obarvana modro, saj sestojijo pretežno iz celuloznih in polioznih molekul. Kambijeva cona je v tem času dormantna.

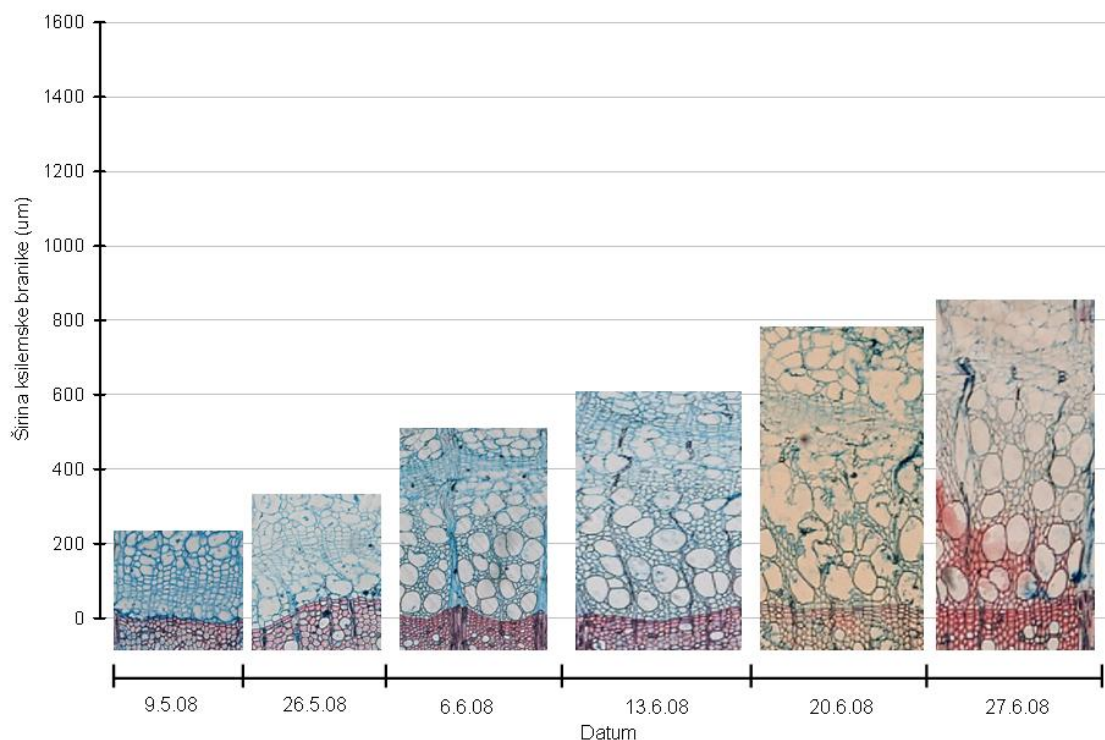
Teden kasneje, 26. maja 2008 (147. dan v letu), se je število celic v kambijevi coni povečalo na 6 do 7 v radialnem nizu. Celične stene so v primerjavi z dormantno kambijevo cono nekoliko tanjše in imajo večji radialni premer, če smo jih primerjali s celicami kambijeve cone. Pod aktivno kambijevo cono so opazna prva vlakna in traheje v fazi postkambijske rasti. Pri slednjih se površinska rast na ta dan še ni zaključila, saj celične stene še niso bile dokončno lignificirane, traheje pa še niso bile dokončno izoblikovane, glede na velikost prejšnjih trahej.

Na dan 6. junija 2008 (158. dan v letu) se je površinska rast prvih vlaken in trahej že zaključila, saj se velikost vlaken in trahej kvalitativno ni več spreminjala. Slednje so dosegle svojo končno radialno dimenzijo in so merile v povprečju okoli 100 µm. Tu je kambijeva cona tudi najširša in je sestavljena iz 8 do 10 celic v radialnem nizu. Pod polarizacijsko svetlobo so se prve nastale celice že svetile kar pomeni pričetek sinteze sekundarne celične stene.

Na dan 13. junija 2008 (165. dan v letu) so se zunanja področja celičnih sten, tik ob letnici že obarvala rdeče. Rdeče obarvanje s safraninu priča o pričetku sinteze polifenolnih komponent celične stene oz. lignifikaciji.

Lignifikacija celičnih sten prvih nastalih celic se nadaljuje v centripetalni smeri. Notranji deli celične stene, tik ob lumnu še 20. maja 2008 (172. dan v letu) niso popolnoma lignificirani. Teden kasneje 27. junija 2008 (179. dan v letu) pa so se prve celične stene v celoti rdeče obarvale, kar pomeni, da se je lignifikacija pri nekaterih celicah zaključila. Lumni so prazni, saj v njih ni več prisotna citoplazma. Kambijeve cona vsebuje med 7 do 8 celic. Izoblikovan je dovršen del ksilemske branike, ki v povprečju meri 675 μm . V tem obdobju je v ksilemski braniki mogoče opaziti vse faze diferenciacije.

Teden kasneje 27. junija 2008 (179. dan v letu), ob koncu eksperimenta, v nastali braniki, še nismo opazili celic kasnega lesa. Z opazovanjem celice po ksilemski braniki se velikost le teh ni več spreminjala.



Slika 25: Nastajajoča branika ob posameznih datumih za drevo št. 2 z rastišča Menina planina.

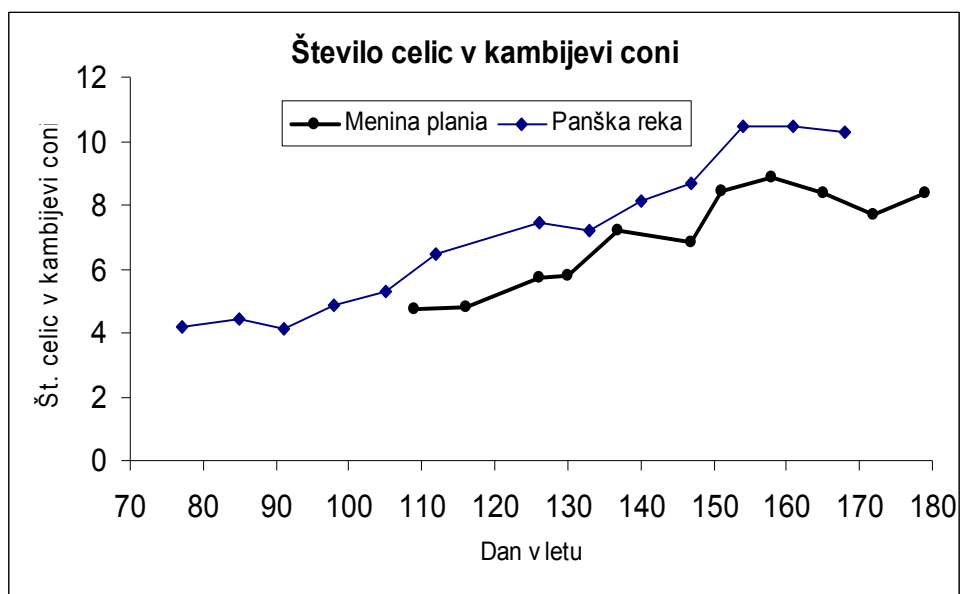
4.3 PRIMERJAVA REZULTATOV NA PANŠKI REKI IN MENINI PLANINI

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

Začetek aktivnosti kambijeve cone se je pri bukvah z rastišč Panška reka in Menina planina razlikoval. Aktivacija kambijeve cone na Menini planini je nastopila kasneje kot na Panški reki. Prvo aktivnost kambijeve cone smo pri drevesih s Panške reke zasledili 24. aprila 2008 (112. dan v letu), na Menini planini pa 16. maja 2008 (137. dan v letu), kar je 25 dni kasneje kot na Panški reki. Začetek celične delitvene aktivnosti kambijeve cone smo pri drevesih z rastišča Panška reka ocenili med 14. in 24. aprilom 2008 (105. do 112. dan v letu). Celične delitve v kambijevi coni na rastišču Menina planina pa smo zaznali med 9. in 16. majem 2008 (130. do 137. dan v letu).

Rastišči pa se nista razlikovali le po začetkih reaktivacije kambijevih con, ampak tudi po maksimalnem številu celic v radialni vrsti. Na rastišču Panška reka se je število kambijevih celic povečalo na 10 do 12 slojev, na rastišču Menina planina, pa le na 8 do 9 slojev. Število celic v kambijevi coni je ostalo do konca testnega obdobja nespremenjeno na obeh rastiščih.

Krivulji (Slika 26) nakazujeta enako tendenco povečevanja števila celic v kambijevi coni. Razlikujeta se v začetku kambijeve aktivnosti ter v maksimumu (maksimalnem številu celic v radialni vrsti), imata pa približno enak naklon.

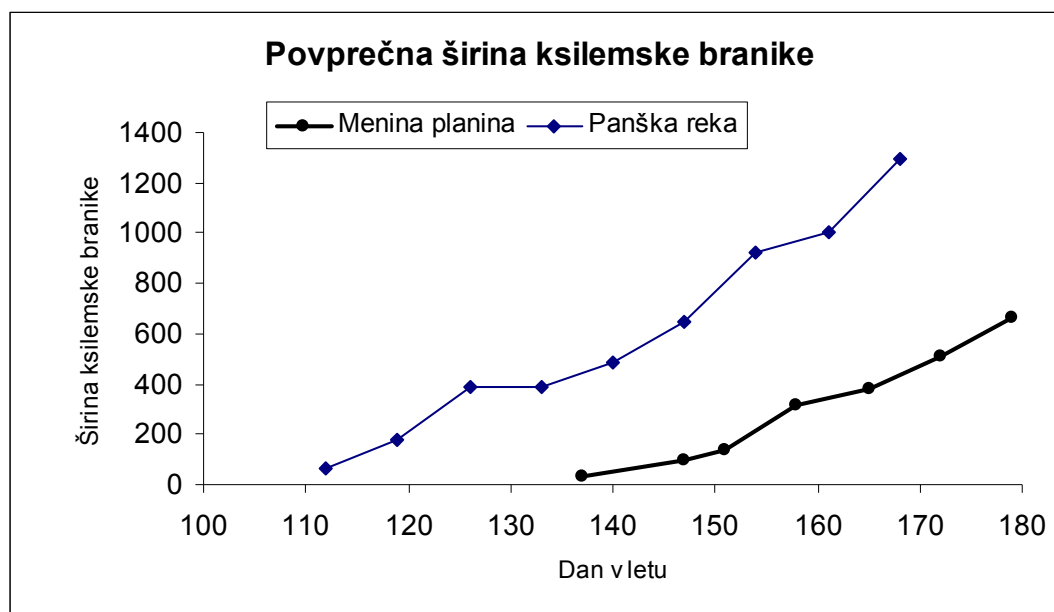


Slika 26: Povprečno število celic v kambijevi coni na Panški reki in Menini planini.

4.3.2 Primerjava prirastka ksilemske branike na rastišču Panška reka in Menina planina

Zaradi različnih časov reaktivacije kambijeve cone pri bukvi z rastišča Panška reka in Menina planina se je tudi formiranje ksilemske branike pričelo različno. Na obeh rastiščih je ksilemska branika začela nastajati nekaj dni po reaktivaciji kambijeve cone. Na rastišču Panška reka smo z meritvijo nastajajoče ksilemske branike lahko pričeli 21. aprila 2008 (112. dan v letu), na rastišču Menina planina pa 16. maja 2008 (137. dan v letu).

Pri nazadnje analiziranih vzorcih z datumom 16. junij 2008 (168. dan v letu) in 27. junij 2008 (179. dan v letu) smo opazili, da je bila povprečna širina ksilemske branike pri bukvah s Panške reke kar dvakrat večja (1293 μm) kot na Menini planini (666 μm) (Slika 27).

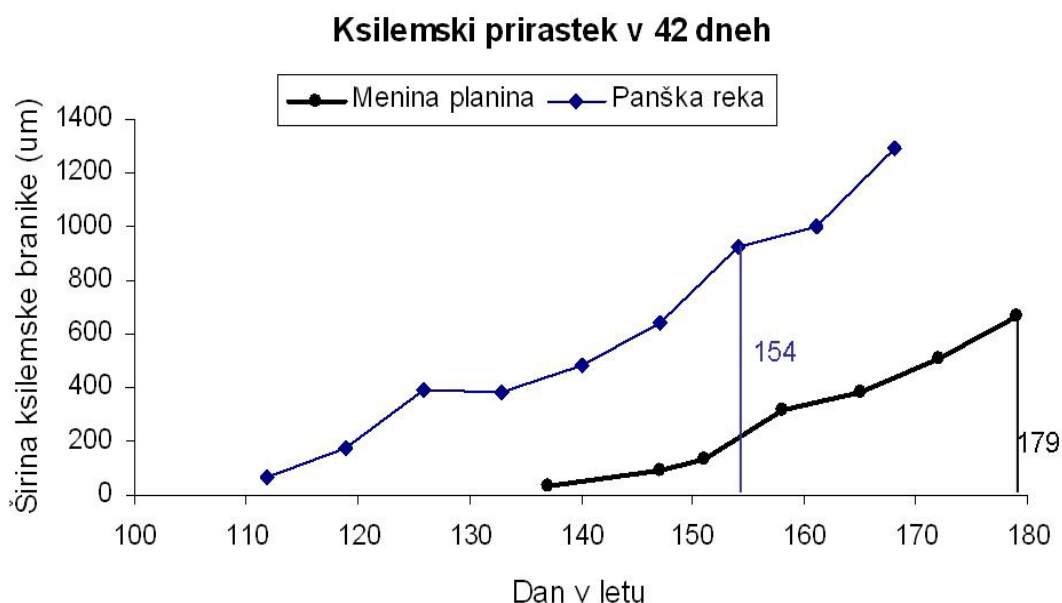


Slika 27: Povprečen prirastek ksilemske branike na Panški reki in Menini planini.

Če primerjamo obe krivulji ugotovimo, da je naklon krivulje na rastišču Menina planina manjši. Na Menini planini je bila širina ksilemske branike v enakem obdobju (42 vegetacijskih dni) kar za tretjino manjša kot na rastišču Panška reka (Slika 28). Na Menini

planini je povprečna širina nastajajoče ksilemske branike znašala 666 μm , na Panški reki pa 926 μm .

Za natančnejšo analizo strukture ksilemskega prirastka bi morali počakati na zaključek vegetacijske dobe, ko bi se ksilemska branika dokončno izoblikovala. Šele takrat bi ugotovili kolikšne bi bile razlike v letnem ksilemskem prirastku na različnih rastiščih.



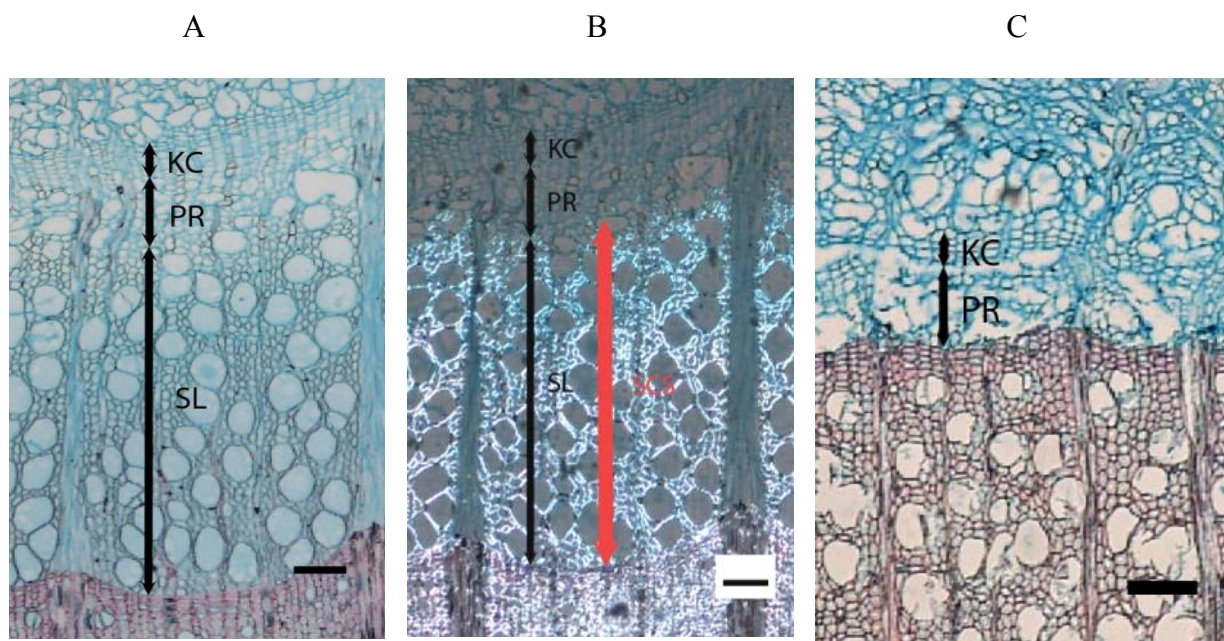
Slika 28: Ksilemski prirastek na Menini planini in Panški reki po 42 dneh vegetacije.

Poleg prirastka ksilemske branike, lahko primerjamo tudi potek diferenciacije pri bukvah z obeh rastišč (Slika 29). Tako lahko primerjamo ksilemski prirastek in anatomsko zgradbo testnih dreves z dveh rastišč, ki sta imeli na koncu testnega obdobja največji ksilemski prirastek. Ti drevesi izstopata po širini ksilemskega prirastka in sta na nek način vodilni na rastiščih kjer rasteta. Preparati so bili odvzeti 26. maja. 2008 (147. dan v letu). S primerjavo testnega drevesa št. 4 z rastišča Panška reka in testnega drevesa št. 1 z rastišča na Menini planini opazimo, največjo razliko v širini ksilemske branike.

Na rastišču Panška reka opazimo (Slika 29 A), da je kambijeve cona 26. maja. 2008 (147. dan v letu) delitveno aktivna, saj je široka in vsebuje od 7 do 8 celic. Novo nastalo braniko v tem obdobju sestavljajo modro obarvane celične stene vlaken in trahej v fazi površinske

rasti. S polarizirano svetlobo lahko zasledimo tudi prve celice z odlagajočo sekundarno celično steno (Slika 29 B). Tik ob braniki pa se nahajajo rdeče obarvane celice, kar pomeni da se je začel odlagati lignin.

Za razliko od testnega drevesa s široko braniko na rastišču Panška reka, ima testno drevo na rastišču Menina planina 26. maja 2008 (147 dan v letu) zelo ozko ksilemsko braniko (Slika 29 C). Vzrok je najverjetneje poznejša reaktivacija kambijeve cone. Na ta dan je bila kambijeva cona delitveno aktivna, vsebovala pa je od 5 do 6 celic. Pod njo se je nahajala nastajajoča ksilemska branika z modro obarvanimi vlakni v fazi postkambijske rasti. Pod polarizirano svetlobo se na ta dan celice še niso svetile, kar pomeni da se sinteza sekundarne stene še ni pričela.



Slika 29: Primerjava nastajajočih ksilemskih branik z rastišča Panška reka in Menina planina na dan 26. maj 2008 (147 dan v letu). A in B – Nastajajoča branika pri drevesu št. 4 s Panške reke s celicami v postkambijski rasti (PR), ter celicami v fazi odlaganja sekundarne celične stene (SL) posneta v svetlem polju (A) in v polarizirani svetlobi (B). C – Aktivna kambijeva cona (KC) in celice v fazi postkambialne rasti (PR) pri drevesu št. 1 na dan 26. maj 2008 (147. dan v letu) na rastišču Menina planina. Daljica 100 μ m

5 RAZPRAVA

Pričujoča diplomska naloga je nadaljevanje raziskav o kambijeви coni ter nastajanju ksilema pri bukvi v okviru doktorskega študija P. Prislana na Katedri za tehnologijo lesa. Podrobne raziskave so bile opravljene v letu 2006 na rastišču Panška reka pri Ljubljani. Tokrat smo raziskave razširili še na rastišče Menina planina, ki se nahaja na višini 1200 m n. m.

Iz mikro vzorčkov, ki smo jih odvzeli iz živih dreves s pomočjo specialnega orodja Trephor, smo s polavtomatskim rotacijskim mikrotomom Leica RM 2245 izdelali trajne mikroskopske preparate.

Metoda mikro vzorčenja je bila prvič uporabljena za odvzem tkiva pri bukvi, prej so za podobne raziskave uporabljali metodo odvzema intaktnih tkiv z dletom (Gričar, 2006, Prislani, 2007). Pri takšnem načinu odvzema vzorcev so dobili zelo kvalitetna preparate, žal pa so bile poškodbe na drevesih tako velike, da ni bilo mogoče izvesti večletnega vzorčenja. Metoda mikro vzorčenja je v našem eksperimentu zadostovala vsem našim potrebam za študijo nastajanja ksilemske branike in spremljanja kambijeve cone.

Pri odvzemu vzorcev je najbolj kritično obdobje na začetku vegetacije dobe (Gričar, 2006). Takrat je kambijeva cona široka s tankimi in občutljivimi celičnimi stenami in velikimi radialnimi dimenzijami, ki se pri odvzemu iz drevesa lahko poškodujejo. Težave pri odvzemu vzorcev smo zasledili tudi pri naši raziskavi. Nastale napake smo opazili šele po izdelavi prvih preparatov iz odvzetih vzorcev in opazovanju pod mikroskopom. Pri nekaterih odvzetih vzorcih, zlasti pri vzorcih odvzetih 21. in 24. aprila 2008 (112. do 119. dan v letu), je bilo tkivo raztrgano, stisnjeno ali porušeno. Zato smo spremenili način odvzema mikro izvrtkov. Da bi izboljšali kvaliteto odvzetih vzorcev smo zamenjali Trephor s premerom konice 1,9 mm s Trephorjem, ki ima premer konice 2,6 mm. S tem smo zagotovili večji premer vzorčkov, ki so bili zaradi večjih dimenzij mehansko bolj stabilni. Tako novi vzorčki niso bili več razpokani, stisnjeni ali porušeni.

Čufar (2006) navaja, da je kambij aktiven v času vegetacijske dobe, ki po grobi oceni na nižjih rastiščih v osrednji Sloveniji traja od konca aprila oz. začetka maja do konca avgusta oz. začetka septembra. Tudi Prislan (2007) je ugotovil, da se celice v kambijevi coni dreves s Panške reke pričnejo deliti med 18. in 24. aprilom 2006. Podobno se je kambijeva cona aktivirala na Panški reki v rastni sezoni 2008, med 14. in 21. aprilom (105. do 112. dan v letu).

Na rastišču Menine planine, se je kambijeva cona aktivirala kasneje kot na Panški reki. Prvo delitveno aktivnost smo zaznali med 9. in 16. majem 2008 (130. do 137. dan v letu), kar je 4 do 5 tednov kasneje kot na rastišču Panška reka.

Omeniti moramo, da se čas in dinamika delitev v kambijevi coni razlikuje med drevesi in na proučevanih rastiščih. Kambij se ni pri vseh drevesih na rastišču aktiviral naenkrat, pri nekaterih drevesih je do aktivacije prišlo en ali celo dva tedna kasneje.

Ugotovili smo, da je bil začetek razvoja prvih listov na obeh rastiščih v istem času kot je prišlo do aktivacije kambijeve cone. Tako so se na rastišču Panška reka drevesa osiljala v tednu med 14. in 21. aprilom (105. do 112. dan v letu), na Menini planini pa v tednu med 9. in 16. majem (130. do 137. dan v letu). Pri bukvi razvoj prvih listov namreč približno sovпада z aktivacijo kambija v prsni višini (Čufar in sod. 2008).

V letu 2006 je bil tedenski prirastek ksilemske branike pri bukvah s Panške reke sprva manjši, nato pa se je povečal in dosegel maksimum med 30. majem in 6. junijem. Po tem je pričel postopno upadati do trenutka, ko se celice v kambijevi coni začele deliti počasneje kot so se diferencirale novo nastale celice. Prislan (2007) je v svojem diplomskem delu o nastajanju lesa na Panški reki v letu 2006 prišel do podobnih ugotovitev. Prislan (2007) je tudi ugotovil, da ima kumulativna krivulja ksilemskega prirastka obliko črke S, ter da je za izravnavo podatkov primerna Gompertzova krivulja. V našem primeru izravnavo nismo mogli narediti, ker smo raziskali le prvi del rastne sezone in nastajanje branike v tem času, ob zadnjem vzorčenju pa še ni začel nastajati kasni les.

Ugotovili smo tudi, da so drevesa, ki so po aktivaciji imela širšo kambijevo cono (12-13 celic), imela večji ksilemski prirastek kot drevesa z manjšim številom celic (8-10). Ta drevesa so imela kar od 2 do 4 krat manjši ksilemski prirastek. Večji prirastek tekom rastne sezone je posledica večje delitvene aktivnosti celic v kambijeви coni. Pojav je bil izrazitejši na rastišču Panška reka, kjer so imela proučevana drevesa nasploh širše kambijeve cone.

Prva vlakna, traheje in aksialni parenhim v fazi postkambijalne rasti smo na obeh rastiščih zasledili v tednu dni po aktivaciji kambijeve cone, sinteza sekundarne celične stene pa se je pričela teden do 2 kasneje. Ugotovili smo tudi, da se je diferenciacija prvih celic (trahej) na obeh rastiščih končala v 5 do 6 tednih od njihovega nastanka. Te celice so imele dokončno lignificirane in zato rdeče obarvane celične stene in prazne lumne. Tudi Prislan (2007) je prva dokončno diferencirana vlakna zasledil 5 tednov po njihovem nastanku.

Opazili smo, da se celična stena trahej lignificira prej kot v vlaknih, kar je ugotovil tudi Prislan (2007). Do podobnih ugotovitev so prišli tudi Marion in sodelavci (2007), ki so proučevali nastanek lesa ostrolistnega javora (*Acer platanoides*). Sass (1993) ki je raziskovala les bukve navaja, da je vzrok hitrejše diferenciacije najverjetneje potreba po čim hitrejšem začetku prevajanja vode.

6 SKLEPI

Število celic v dormantni kambijevi coni je na obeh rastiščih v radialnem nizu znašalo od 4 do 5 slojev, ki smo so imela značilno kvadratasto obliko nekoliko debelejših celičnih sten v primerjavi s celicami v aktivni kambijevi coni. Prve celične delitvene aktivnosti v kambijevi coni so se pri proučevanih drevesih na rastišču Panška reka pričele med 14. in 24. aprilom 2008 (105. do 112. dan v letu), ko je v povprečju vsebovala od 6 do 8 celic v radialni vrsti. Na rastišču Menina planina so se prve celične delitvene aktivnosti v kambijevi coni pri proučevanih drevesih pričele med 9. in 16. majem 2008 (130. do 137. dan v letu), ko je v povprečju vsebovala od 8 do 11 celic v radialni vrsti.

Po reaktivaciji se je število celic kambijeve cone v radialnem nizu, med 2. in 9. junijem (154. do 161. dan v letu), pri bukvah na rastišču Panška reka povečalo na maksimalno vrednost od 10 do 14. Do 16. junija 2008 se je število celic v kambijevi coni konstantno gibalo med 10 do 13 slojev celic v radialnem nizu. Na rastišču Menina planina je maksimalno število celic v kambijevi coni znašalo v obdobju od 9. do 16. maja 2008 (130. do 137. dan v letu), od 6 do 9 celic. V naslednjih tednih pa se povprečno število ni bistveno spreminjalo.

Prva vlakna, traheje in aksialni parenhim v fazi postkambijske rasti smo na obeh rastiščih zasledili v tednu po aktivaciji kambijeve cone, sinteza sekundarne celične stene pa se je pričela teden do dva kasneje. Ugotovili smo tudi, da se je diferenciacija prvih celic (trahej) na obeh rastiščih končala v 5 do 6 tednih od njihovega nastanka. Na rastišču Panška reka se je sinteza sekundarne celične stene pričela že v tednu med 21. in 28. aprilom 2008 (112. do 119. dan v letu), prva dokončno diferencirana vlakna pa smo zasledili v tednu med 26. majem in 2. junijem 2008 (147. do 154. dan v letu) oz. 6 tednov po njihovem nastanku. Na rastišču Menina planina pa se je sinteza sekundarne celične stene pričela že v tednu med 26. in 30. majem 2008 (147. do 151. dan v letu), prva dokončno diferencirana vlakna pa smo zasledili v tednu med 20. junijem in 27. julijem 2008 (172. do 179. dan v letu) oz. 5 tednov po njihovem nastanku.

7 POVZETEK

Bukev (*Fagus sylvatica* L.) je naša najpomembnejša drevesna in lesna vrsta. Kljub njeni razširjenosti in pomenu je proces nastajanja lesa pri bukvi še vedno malo raziskan. Diplomaska naloga je nadaljevanje raziskav o kambijevi coni ter nastajanju ksilema pri bukvi, ki so bile opravljene v letu 2006 na rastišču Panška reka pri Ljubljani (Prislan, 2007, Čufar in sod., 2008). Cilj diplomske naloge je bil določiti reaktivacijo in maksimalno širino kambijeve cone v odvisnosti od nadmorske višine ter spremljanje širine kambijeve cone in števila kambijevih celic pri odraslih bukvah na Panški reki pri Ljubljani (pribl. 400 m. n.m.) in na Menini planini (pribl. 1200 m. n.m.) v rastni sezoni 2008. Spremljali smo tudi nastajanje ksilemske branike ter faze diferenciacije lesa.

Za raziskave smo uporabili metodo odvzema majhnih vzorcev (t.i. mikro vzorčenje). Na šestih navadnih bukvah s Panške reke, v bližini Ljubljane in na šestih navadnih bukvah z Menine planine smo v tedenskih intervalih odvezemali vzorce dimenzij (premer 3 mm, dolžina ca. 20 mm). Vzorčenje je potekalo v prsni višini odraslih, živih dreves med 17. marcem in 16. junijem 2008 na rastišču Panška reka in med 18. aprilom in 27. junijem 2008 na rastišču Menina planina. Vzorce smo na mestu odvzema shranili v fiksacijski tekočini FAA (raztopina formalina, očetne kisline in etanola), po enem tednu dehidrirali v etanolni vrsti (30, 50 in 70%) in vklopili v parafin. Histološke rezine prečnih prerezov (debeline 10 μ m) smo pripravili z rotacijskim mikrotomom Leica RM2245 z nizkoprofilnimi jeklenimi noži jih obarvali z barviloma safranin in astra modro ter jih trajno vklopili v Euparal. Vse potrebne analize in opazovanja preparatov smo opravili s pomočjo svetlobnega mikroskopa Nikon Eclipse E800, digitalne kamere (Nikon-DS Fi1), osebnega računalnika in računalniškega programa za analizo slike LUCIA G 4.8. Merili smo širino ksilemskega prirastka in širino kambijeve cone, v kateri smo prešteli tudi število plasti celic. Meritve smo vedno opravili v treh radialnih nizih. Dobljene podatke smo izvozili v program Microsoft Excel, jih analizirali in statistično obdelali. Iz dobljenih rezultatov smo določili začetek aktivnosti kambijeve cone na obeh rastiščih, spremljali nastajanje ksilemske branike in določili časovni interval med reaktivacijo kambijeve cone in prvimi dokončno diferenciranimi celicami.

Število celic v dormantni kambijevi coni je na obeh rastiščih v radialnem nizu znašalo od 4 do 5 slojev, ki smo so imela značilno kvadratasto obliko nekoliko debelejših celičnih sten v primerjavi s celicami v aktivni kambijevi coni. Prve celične delitvene aktivnosti v kambijevi coni so se pri proučevanih drevesih na rastišču Panška reka pričele med 14. in 24. aprilom 2008 (105. do 112. dan v letu), ko je v povprečju vsebovala od 6 do 8 celic v radialni vrsti. Na rastišču Menina planina so se prve celične delitvene aktivnosti v kambijevi coni pri proučevanih drevesih pričele med 9. in 16. majem 2008 (130. do 137. dan v letu), ko je v povprečju vsebovala od 8 do 11 celic v radialni vrsti.

Po reaktivaciji se je število celic kambijeve cone v radialnem nizu, med 2. in 9. junijem (154. do 161. dan v letu) pri bukvah, na rastišču Panška reka povečalo na maksimalno vrednost od 10 do 14. Do 16. junija 2008 se je število celic v kambijevi coni konstantno gibalo med 10 do 13 slojev celic v radialnem nizu. Na rastišču Menina planina je maksimalno število celic v kambijevi coni znašalo v obdobju od 9. do 16. maja 2008 (130. do 137. dan v letu), od 6 do 9 celic. V naslednjih tednih pa se povprečno število ni bistveno spreminjalo.

Prva vlakna, traheje in aksialni parenhim v fazi postkambijske rasti smo na obeh rastiščih zasledili v tednu po aktivaciji kambijeve cone, sinteza sekundarne celične stene pa se je pričela teden do 2 kasneje. Ugotovili smo tudi, da se je diferenciacija prvih celic (trahej) na obeh rastiščih končala v 5 do 6 tednih od njihovega nastanka. Na rastišču Panška reka se je sinteza sekundarne celične stene pričela že v tednu med 21. in 28. aprilom 2008 (112. do 119. dan v letu), prva dokončno diferencirana vlakna pa smo zasledili v tednu med 26. majem in 2. junijem 2008 (147. do 154. dan v letu) oz. 6 tednov po njihovem nastanku. Na rastišču Menina planina pa se je sinteza sekundarne celične stene pričela že v tednu med 26. in 30. majem 2008 (147. do 151. dan v letu), prva dokončno diferencirana vlakna pa smo zasledili v tednu med 20. junijem in 27. julijem 2008 (172. do 179. dan v letu) oz. 5 tednov po njihovem nastanku.

8 VIRI

- Brus R. 2004. Drevesne vrste na Slovenskem. Ljubljana, Mladinska knjiga: 399 str.
- Črepinšek Z., Zrnec C. 2005. Petinpetdeset let fenoloških opazovanj v Sloveniji, 1951–2005. *Acta agriculturae Slovenica*, 85, 2:283-297
- 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* L.) from a representative site in Slovenia, SE Central Europe. *Trees*, 22, 6: 749-758
- 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. Regular cambial activity and xylem and phloem formation in locally heated and cooled stem portions of Norway spruce. *Wood Science and Technology*, 41, 6:463-475
- 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.

- Lachaud S., Catesson A.-M., Bonnemain J.-L. 1999. Structure and functions of the vascular cambium. *Life Sciences*, 322: 633-650
- Marinček L. 1987. Bukovi gozdovi na Slovenskem. 1. natis. Ljubljana, Delavska enotnost: 153 str.
- Marion L., Gričar J., Oven P. 2007. Wood formation in urban Norway maple trees studies by the micro-coring method. *Dendrochronologia*, 25, 2:97-102
- Mellerowicz E.J., Baucher M., Sundberg B., Boerjan W. 2001. Unravelling cell wall formation in the woody dicot stem. *Plant Molecular Biology*, 47: 239-274
- Panshin A. J., De Zeeuw C. 1980. Textbook of wood technology. Fourth edition. New York, McGraw-Hill: 722 str.
- Plomion C., Leprovost G., Stokes A. 2001. Wood formation in trees. *Plant Physiology*, 127: 1513-1523
- 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.
- Richter H.G., Dallwitz M.J., 2005. Commercial timbers: descriptions, illustrations, identification, and information retrieval. In English, French, German, and Spanish. Računalniški program.
- Rossi S., Anfodillo T., Menardi R. 2006. Trephor: A new tool for sampling microcores from tree stems. *IAWA Journal*, 27: 89-97
- Samuels A.L., Kaneda M., Rensing K.H. 2006. The cell biology of wood formation: from cambial division to mature secondary xylem. Special Issue on Plant Cell Biology, 84: 631-639

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. Mikroskopische Holzanatomie. Birmensdorf, Eidgenössische Anstalt für das Forstliche Versuchswesen: 226 str.

Torelli N. 1998. Zunajkambijska rast celic v lesu dvokaličnic. Les, 50, 10: 293-298

Torelli N. 2003. Ojedritev – vloga in proces. Les, 55, 11: 368-379

Wagenführ R. 1996. Holzatlas. Leipzig, Fachbuchverlag: 688 str.

ZAHVALA

Iskreno se zahvaljujem prof. dr. Katarini Čufar za mentorstvo, pomoč in nasvete pri premagovanju najrazličnejših ovir na poti k izdelavi diplomske naloge.

Zahvaljujem se tudi mlademu raziskovalcu Petru Prislanu, univ. dipl. ing. les, ki mi je tekom diplomske naloge priskrbel mikro izvrtke, pomagal pri izdelavi preparatov in veliko pripomogel k izdelavi diplomske naloge z nasveti in napotki.

Lepa hvala tudi somentorici dr. Jožici Gričar in prof. dr. Primožu Ovnu za recenzijo diplomske naloge ter vsem zaposlenim v Katedri za tehnologijo lesa za vse nasvete in podporo pri delu.

PRILOGE

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA LESARSTVO

Aljaž SITAR

**ZAČETEK KAMBIJEVE AKTIVNOSTI IN
NASTANEK RANEGA LESA PRI BUKVI
(*Fagus sylvatica* L.) IZ DVEH RASTIŠČ
V RASTNI SEZONI 2008**

DIPLOMSKO DELO

Visokošolski strokovni študij

Ljubljana, 2009