

GDK: 811.18:174.7 *Abies alba* Mill.+176.1 *Fagus sylvatica* L.**NASTANEK LESA PRI BELI JELKI (*Abies alba* Mill.) IN NAVADNI BUKVI (*Fagus sylvatica* L.) – DIFERENCIACIJA TERMINALNIH CELIC V KSILEMSKI BRANIKI**Jožica GRIČAR¹, Peter PRISLAN², Gerald KOCH³, Katarina ČUFAR⁴

Izvleček

Podajamo pregled raziskav nastanka lesa v Sloveniji in rezultate raziskav diferenciacije zadnjih nastalih celic v ksilemski braniki bele jelke (*Abies alba*) in navadne bukve (*Fagus sylvatica*). Raziskave smo opravili na vzorcih intaktnih tkiv (lesa, kambija, skorje), odvzetih iz odraslih gozdnih dreves v vegetacijski dobi 2003 oz. 2006. Vzorce smo pripravili za svetlobno mikroskopijo in UV-mikrospektrofotometrijo. Rezultati kažejo, da se je pri jelkah kambijeva delitvena aktivnost zaključila med 20.8. in 3.9.2003. Tedaj je kambijeva cona vsebovala 7-10 plasti celic, novo nastala ksilemska branika pa je imela do 15 plasti nediferenciranih traheid. Proces oblikovanja terminalnih celic kasnega lesa je potekal 5-7 tednov. Pri bukvah se je kambijeva delitvena aktivnost zaključila med 25. 7. in 8. 8. 2006. Kambijeva cona je tedaj vsebovala 5-6 plasti celic, v novo nastali ksilemski braniki pa je bilo okoli 30 plasti nediferenciranih vlaken. Njihova diferenciacija se je zaključila po 4-5 tednih. Predstavljamo tudi razlike v sestavi lignina in intenzivnosti lignifikacije med vrstama. Rezultati so med drugim pomembni za razumevanje fiziologije in produktivnosti gozdnih dreves ter lastnosti lesa kot materiala.

Ključne besede: bela jelka (*Abies alba* Mill.), navadna bukev (*Fagus sylvatica* L.), nastajanje lesa, diferenciacija, svetlobna mikroskopija, UV mikrospektrofotometrija

WOOD FORMATION IN SILVER FIR (*Abies alba* Mill.) AND COMMON BEECH (*Fagus sylvatica* L.) - DIFFERENTIATION OF TERMINAL CELLS IN THE XYLEM GROWTH RING

Abstract

Recent studies on wood formation in Slovenia and the present study on differentiation of last formed cells in the xylem growth rings of silver fir (*Abies alba*) and common beech (*Fagus sylvatica*) were overviewed. Intact tissue samples containing xylem, cambium and phloem from mature living trees during the 2003 (fir) and 2006 (beech) vegetation periods were collected. Light microscopy and UV-microspectrophotometry were used for analyses. In silver fir, cell divisions in the cambium stopped between 20 August and 3 September 2003. At that time, the cambium consisted of 7-10 layers of cells and the last formed xylem growth ring contained 15 layers of undifferentiated tracheids. The differentiation of terminal tracheids was completed after 5-7 weeks. In beech, the cambial divisions stopped between 25 July and 8 August 2006, when the cambium contained 5-6 layers of cells and the last formed xylem growth ring had 30 layers of undifferentiated fibres. The differentiation of terminal fibres was completed after 4-5 weeks. The differences in composition of lignin and the degree of lignification between species were presented. The presented studies are important for the understanding of tree physiology and productivity, and wood properties.

Key words: silver fir (*Abies alba* Mill.), common beech (*Fagus sylvatica* L.), wood formation, differentiation, light microscopy, UV – microspectrophotometry

**UVOD
INTRODUCTION**

V zadnjih letih naraščata pomen in obseg raziskav nastanka lesa, ki so potrebne za boljše poznavanje fiziologije in produktivnosti dreves, za razumevanje vpliva klimatskih sprememb na rast in preživetje dreves, za trajnostno gospodarjenje z gozdovi ter za obvladovanje kakovosti lesa (pregled v GRIČAR 2006, 2007).

Les nastaja z aditivnimi delitvami kambijevih celic. Ta proces je pri drevesih v zmerni klimi omejen na dokaj kratko obdobje; približno od konca aprila do začetka septembra. Delitvam sledi proces diferenciacije, kjer novo nastale celice

pridobijo končno velikost, obliko in lastnosti. Diferenciacija vključuje površinsko rast celice, odlaganje celične stene in njeno lignifikacijo ter pri traheidah oz. vlaknih in trahejah še programirano celično smrt (LARSON 1994). Diferenciacija v splošnem traja od nekaj dni do nekaj tednov, zato se ta proces v zadnjih (terminalnih) celicah v braniki zaključi kasneje kot delitve v kambiju.

Les je sestavljen predvsem iz odmrlih celic, z olesenelimi celičnimi stenami in praznimi lumeni. Deleži in razporedi celičnih sten vplivajo na gostoto in homogenost lesa, ki sta bistveni za lastnosti in rabo lesa (PANSKIN / DE ZEEUW 1980).

V preteklih letih so soavtorji tega prispevka sodelovali pri raziskavah nastanka lesa, ki so bile večinoma opravljene na

¹ dr. J. G., Gozdarski inštitut Slovenije, Večna pot 2, SI-1000 Ljubljana SLO

² P. P., dipl.inž.les., BF, Oddelek za lesarstvo, Rožna dolina C. VIII/34, SI-1000 Ljubljana SLO

³ prof. dr. G. K., Johann Heinrich von Thünen- Institute (VTI) and University of Hamburg, Leuschnerstr. 91, D-21031 Hamburg, Germany

⁴ prof. dr. K. Č., BF, Oddelek za lesarstvo, Rožna dolina C. VIII/34, SI-1000 Ljubljana SLO

beli jelki (*Abies alba* Mill.), navadni smreki (*Picea abies* (L.) Karst.), alepskem boru (*Pinus halepensis* Mill.), navadni bukvi (*Fagus sylvatica* L.), ostrolistnem javorju (*Acer platanoides* L.) in dobu (*Quercus robur* L.). V nadaljevanju se bomo osredotočili na pregled raziskav pri beli jelki, ki je pomembna predstavnik naših iglavcev, in pri navadni bukvi, ki je z vidika lesne zaloge in pomena za industrijo postala ena izmed naših vodilnih drevesnih vrst.

Ugotovljeno je bilo, da je za raziskave nastanka lesa uporabna metoda intaktnih vzorcev, mikro izvrtkov ali metoda pining (npr. GRIČAR / OVEN / ČUFAR 2006, GRIČAR *et al.* 2007a, MARION / GRIČAR / OVEN 2007). Svetlobna mikroskopija (SM), UV-mikrospektrofotometrija (UMSP) in transmisijaska elektronska mikroskopija (TEM) omogočajo spremljanje razvoja novonastalih celic in celičnih sten (SCHMITT *et al.* 2003, GRIČAR / ČUFAR 2004, GRIČAR *et al.* 2005a, PRISLAN *et al.* 2008 v tisku). Dinamika nastajanja lesa je bila različna pri različno vitalnih drevesih (SCHMITT *et al.* 2003) in pri različnih drevesnih vrstah (GRIČAR / OVEN / ČUFAR 2005, GRIČAR 2007, PRISLAN 2007, ČUFAR *et al.* 2008, ČUFAR / PRISLAN / GRIČAR 2008). Diferenciacija zadnjih celic v braniki se je nadaljevala še več tednov po zaključku delovanja kambija (GRIČAR / ČUFAR / SCHMITT 2003, GRIČAR / STRAŽE / ČUFAR 2003, GRIČAR / ČUFAR 2004). Dinamika in trajanje nastajanja lesa v naši zmerni klimi sta izpostavljena precej drugačnim zakonitostim kot na primer pri borih iz sredozemskih semiaridnih rastišč južne Španije (DE LUIS *et al.* 2007). Na nastajanje in kakovost lesa je mogoče vplivati, kot so to potrdili kontrolirani eksperimenti ogrevanja in hlajenja kambija odraslih dreves (GRIČAR *et al.* 2004, 2005b, 2006, 2007b). Raziskave so pokazale, da lahko hkrati s spremljanjem nastanka lesa spremljamo tudi nastajanje sekundarnega floema (KRŽE / GRIČAR / ČUFAR 2007, GRIČAR / ČUFAR 2008, GRIČAR *et al.* 2009 v tisku). Sekundarni floem je tkivo skorje, ki bo v prihodnosti verjetno postala še pomembnejša kot obnovljiv vir s širokim diapazonom možnih uporab.

Kljub naštetemu so procesi nastanka lesa še vedno premalo raziskani, saj so za procese, ki so omejeni na kratko obdobje v posameznem letu pri sicer dolgoživih drevesih, potrebne eksperimentalno zahtevne in dolgotrajne raziskave. Take raziskave zahtevajo spremljanje velikih odraslih dreves iz gozdnih sestojev, kar pomeni obsežno terensko delo za odvoz vzorcev v enakomernih časovnih presledkih med vegetacijsko dobo. Nadalje je treba tkiva v laboratoriju primerno pripraviti za zahtevne mikroskopske analize.

V pričujočem prispevku želimo predstaviti nastajanje terminalnih celic v braniki bele jelke in navadne bukve, kot ga lahko spremljamo s svetlobno mikroskopijo in UV- mikrospektrofotometrijo.

Cilji prispevka so pri beli jelki in navadni bukvi primerjati:

- čas zaključka kambijeve aktivnosti,
- trajanje diferenciacije zadnjih nastalih lesnih celic in
- vsebnost in sestavo lignina v združeni srednji lameli in sekundarni steni v zrelih lesnih celicah.

MATERIALI IN METODE MATERIALS AND METHODS

TESTNA DREVEVA TEST TREES

Za vzorčna drevesa smo izbrali 6 navidezno zdravih odraslih belih jelk (*Abies alba* Mill.), v nadaljevanju jelk, starih približno 150 let, iz dinarsko jelovo-bukovega gozda na Ravniku pri Planini (500-700 m n.v.) in 6 navadnih bukev (*Fagus sylvatica* L.), v nadaljevanju bukev, starih nad 100 let z rastišča Panška reka v bližini Ljubljane (400 m n.v.). Vzorce intaktnih tkiv lesa (zunanje branike), kambija in skorje (okvirne dimenzije 10 x 10 x 30 mm) smo s pomočjo olfa-noža, zelo ostrega dleta in kladiva odvzeli na prsni višini dreves v tedenških presledkih od začetka aprila do konca septembra 2003 (jelka) in 2006 (bukve). Takoj po odvzemu smo vzorce fiksirali v FAA (raztopina formalina, etanola in očetne kisline) in jih po enem tednu dehidrirali v etanolni vrsti (30 % in 50 %) ter jih shranili v 70-odstotni raztopini etanola. Vzorce smo kasneje z britvico v radialni smeri (v smeri lesnih trakov) razdelili na dva vzporedna bloka in enega uporabili za pripravo preparatov za SM, enega pa smo vklopili v epoksi smolo za UMSP, kot je opisano v nadaljevanju.

SVETLOBNA MIKROSKOPIJA LIGHT MICROSCOPY

Iz jelovih vzorcev smo z drsnim mikrotomom Leica SM 2000R pripravili 20 µm debele rezine prečnih prereзов. Preparate bukovih vzorcev smo pripravili z novejšo metodo s pomočjo rotacijskega mikrotoma Leica RM 2245. V ta namen smo vzorce obrezali na dimenzije 2 x 2 x 5 mm³, jih dehidrirali in jih vklopili v parafin s pomočjo komore za preparacijo tkiv Leica TP 1020 in z rotacijskim mikrotomom narezali 10

µm debele rezine prečnih prerezov. V tem primeru so bili preparati bistveno tanjši in kvalitetnejši. Vse rezine smo obarvali z barvili safranin in astra modro in jih vklopili v evparal. Tako pripravljene trajne preparate smo opazovali s svetlobnim mikroskopom Nikon Eclipse E800 (svetlo poljska in polarizacijska tehnika). Štetje celic in meritve dimenzij tkiv smo opravili s sistemom za analizo slike Lucia G 4.8, fotografiranje pa smo opravili z digitalnim fotoaparatom Nikon Coolpix E995 in video kamero Nikon DS-Fi1.

UV-MIKROSPEKTROFOTOMETRIJA

UV- MICROSCPECTOPHOTOMETRY

Vzporedne vzorce tkiv smo obrezali na dimenzije 1 x 1 x 5 mm³, jih dehidrirali v acetonu in jih vklopili v epoksidno smolo po recepturi, kot jo je predlagal Spurr (SPURR 1969). Površino vklopljenih vzorcev smo obrezali tako, da je velikost rezalne površine znašala približno 0,5 mm². Z mikrotomom Ultracut E (Richert-Jung) in diamantnim nožem smo za vsak vzorec izdelali po dve poltanki rezini (1 µm). Eno smo položili na običajno objektno steklo ter jo obarvali z barvilom toluidin modro. Slike, posnete s svetlobnim mikroskopom, so rabile za boljšo orientacijo na UMSP ter za meritve debeline celične stene vlaken in trahej s programom Analysis. Drugo rezino smo položili na kvarčna stekla, nanjo kanili kapljico glicerina, ki ne absorbira UV svetlobe (mešanica glicerina in vode z lomnim količnikom $n_D = 1,46$), ter jih pokrili s kvarčnim krovnim steklom.

Meritve smo opravili z UV-mikrospektrofotometrom (UMSP 80, Zeiss), opremljenim z imerzijskim ultrafluralnim objektivom 23:1 in skenirno mizo, ki skupaj s programom APAMOS® (Automatic-Photometric Analysis of Microscopic Objects by Scanning, Zeiss) omogoča izdelavo topokemijskih slik pri konstantni valovni dolžini. Za ugotavljanje porazdelitve lignina v tkivu jelke smo izbrali valovno dolžino 280 nm, pri bukvi pa valovno dolžino 278 nm, kjer je bil po predhodnih raziskavah ugotovljen lokalni maksimum UV spektra pri vlaknih bukovine največji (KOCH / KLEIST 2001, KOCH / GRÜNWALD 2004, RODER / KOCH / SIXTA 2004).

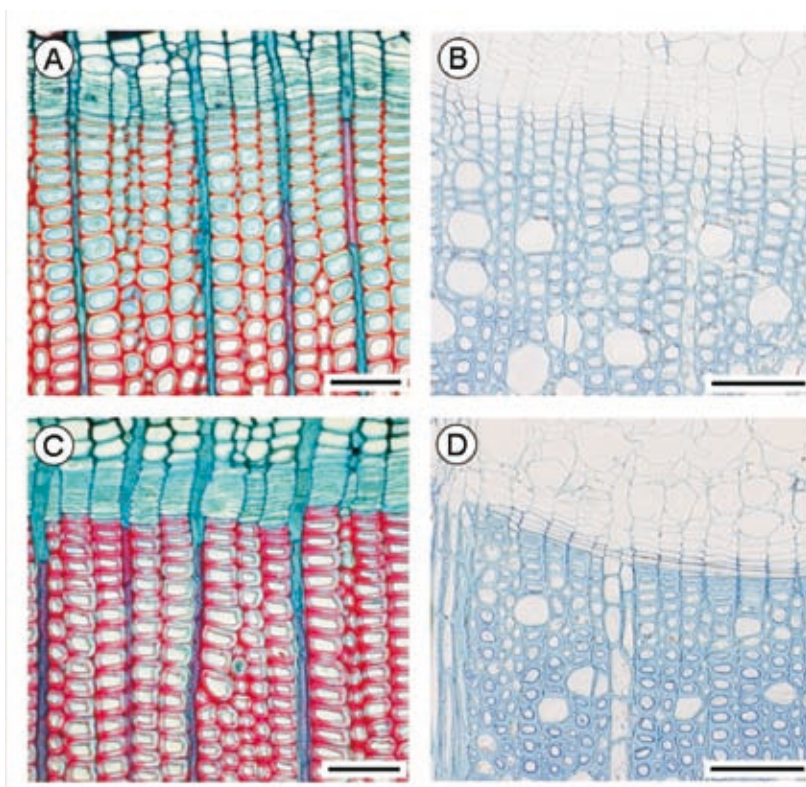
Z UMSP smo opravili tudi konvencionalne točkovne meritve (velikost točke 1 µm²) pri valovnih dolžinah od 240 nm do 400 nm. Za vizualizacijo in vrednotenje smo uporabili program LAMBDA SCAN® (Zeiss).

REZULTATI IN DISKUSIJA

RESULTS AND DISCUSSION

Pri jelkah se je kambijeva delitvena aktivnost v letu 2003 zaključila v drugi polovici avgusta (20.8.-3.9.2003), pri bukvah v letu 2006 pa približno tri tedne prej (25.7-8.8.2006). Dormantni kambij je pri jelkah štel 7-10 plasti celic, pri bukvah pa 5-6 (slika 1). Večje število celic pri jelki v primerjavi z bukvi bi lahko pripisali razliki med drevesnima vrstama in različni starosti dreves. Zadnje nastale lesne celice neposredno ob kambiju so bile v fazi oblikovanja sekundarne celične stene in lignifikacije. Celične stene so bile izrazito tanjše od starejših zrelih celic. Zunanji deli celične stene so bili v fazi lignifikacije, notranji pa v fazi oblikovanja slojev sekundarne celične stene. V lumnih je bil protoplast. Pri jelki smo ob zaključku kambijeve aktivnosti zabeležili do 15 plasti nediferenciranih traheid, pri bukvi pa okoli 30 plasti vlaken. Proces oblikovanja terminalnih celic kasnega lesa je pri jelki potekal 5-7 tednov, pri bukvi pa nekoliko manj; 4-5 tednov (slika 1). Četudi je bilo pri jelki po koncu kambijeve aktivnosti številčno manj celic v fazi maturacije, pa je njihov razvoj potekal dlje kot pri bukvi. To bi lahko pojasnili z različno debelino in kemijsko zgradbo celičnih sten traheid pri jelki in vlaken pri bukvi ter s klimatskimi razmerami (zlasti temperaturami) v obdobju oblikovanja celic ter razlikami med vrstama.

Številne raziskave na iglavcih iz zmernege pasu so pokazale, da so se delitve v kambiju zaključile do konca avgusta (ANTONOVA / STASOVA 1993, ROSSI *et al.* 2006, GRIČAR 2007). GRIČAR *et al.* (2005a) so ugotovili, da je zaključek diferenciacije terminalnih traheid kasnega lesa pri jelki odvisen od trajanja kambijeve aktivnosti. Pri drevesih z ozkimi branikami se je razvoj zadnjih nastalih celic zaključil prej kot pri drevesih s širokimi branikami. VAN DEN WERF, SASS-KLAASSEN in MOHREN (2007) so pri navadni bukvi in robu na Nizozemskem kambijevo aktivnost zasledili tudi septembra. Podobno so ugotovili tudi SCHMITT / MOLLER / ECKSTEIN (2000) na bukvi v severni Nemčiji ter MARION / GRIČAR / OVEN (2007) na ostrolistnih javorjih v Ljubljani. GRIČAR (2008) je pri gradnih v Ljubljani leta 2007 zabeležila konec kambijeve aktivnosti v sredini avgusta, zadnje nastale celice pa so za popoln razvoj potrebovale 4-5 tednov. Pri ostrolistnem javorju, javorolistni platani in navadnem divjem kostanju so bile ksilemske branike 2006 popolnoma oblikovane do 4 tedne po zaključku delitev kambijevih



Slika 1: Prečni prerezi za svetlobno mikroskopijo: nepopolno oblikovane terminalne traheide pri beli jelki (A); in vlakna pri navadni bukvi (B) ter popolnoma oblikovana ksilemska branika pri beli jelki (C) in navadni bukvi (D). Daljica = 100 μm .

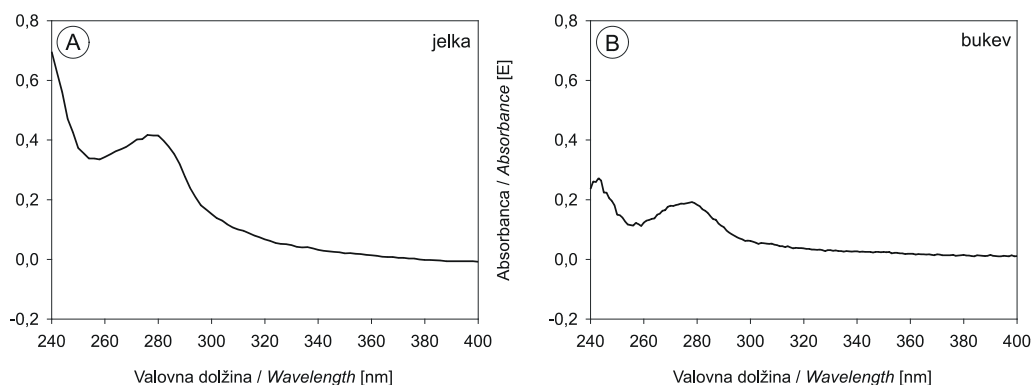
Fig. 1: Cross-sections for light microscopy: incompletely developed terminal tracheids in silver fir (A) and fibres in common beech (B), and fully formed xylem growth ring in silver fir (C) and common beech (D). Scale bar = 100 μm .

celic (MARION 2007). Razlogi za razlike v zaključkih kambijeve aktivnosti ter celične diferenciacije so številni; npr. drevna vrsta, rastišče, leto vzorčenja, starost in cenotski status dreves.

Z UV-spektrofotometrijskim točkovnim merjenjem smo merili absorpcijske vrednosti lignina v popolnoma oblikovanih terminalnih lesnih celicah v območju združene srednje lamele ter sekundarne celične stene. UV absorpcijski maksimum je odvisen od strukturne zgradbe lignina (KOCH / KLEIST 2001). Zaradi različnih razmerij gvajacilnih in siringilpropanskih enot se lignin pri iglavcih in listavcih ločita. Lignin iglavcev je sestavljen pretežno iz gvajacilnih enot z absorpcijskim maksimumom pri 280 nm, lignin listavcev pa iz gvajacilnih in siringilnih enot v različnih razmerjih z ozirom na različna morfološka področja celične stene z absorpcijskim maksimumom pri nekoliko manjših valovnih dolžinah; 270-278 nm (FENGEL / WEGENER 1989, SAKAKIBARA 1991). V sekundarni steni vlaken in parenhimskih celic listavcev je delež siringilnih enot večji kot gvajacilnih, pri trahejah pa manjši (KOCH / KLEIST 2001).

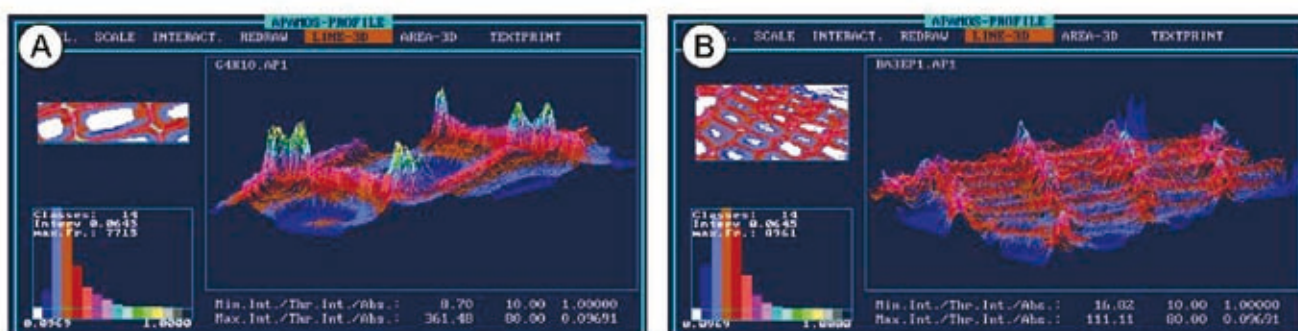
Absorpcijski maksimum v sekundarni celični steni zrelih traheid kasnega lesa je pri jelki znašal abs_{280} 0,4 (slika 2), kar je v skladu z opazovanji KOCHA in KLEISTA pri smreki (2001). Pri bukvi so se absorpcijske vrednosti pri 278 nm med različnimi tipi zrelih celic razlikovale; vrednosti so bile v sekundarni celični steni pri trahejah večje (abs_{278} 0,29) kot pri vlaknih in parenhimskih celicah (abs_{278} 0,19). V vlaknih neposredno ob kambiju so bile absorpcijske vrednosti še nekoliko večje, zlasti v združeni srednji lameli (abs_{278} 0,29-0,35).

S skenirno napravo smo merili UV absorpcijske vrednosti majhnih območij celičnih sten pri konstantni valovni dolžini, s čimer smo dobili porazdelitev lignina v celičnih stenah lesnih celic. Dobljene podatke lahko s programom APAMOS prikažemo kot dvo- ali tri-dimenzionalne slike. S pomočjo barvne lestvice, ki prikazuje različne absorpcijske vrednosti v posameznih območjih celične stene, lahko razberemo vsebnost lignina v posameznih morfoloških območjih celične stene. Vsebnosti lignina so bile v celičnih vogalih in združeni srednji lameli večje kot v sekundarni celični steni, kar je značilno za vse lesne celice (Slika 3).



Slika 2: UV-absorpcijska spektra, izmerjena v sekundarni celični steni traheid pri beli jelki (A) in vlakni pri navadni bukvi (B)

Fig. 2: UV-absorption spectra measured in secondary cell wall of tracheids in silver fir (A) and fibres in common beech (B).



Slika 3: 3D profila celičnih sten popolnoma oblikovanih traheid kasnega lesa pri beli jelki (A) ter vlakni pri navadni bukvi (B)

Fig. 3: 3D profiles of cell walls of fully developed late wood tracheids in silver fir (A) and fibres in common beech (B)

ZAKLJUČKI CONCLUSIONS

- Kambijeva delitvena aktivnost se je pri jelkah v letu 2003 zaključila približno tri tedne kasneje kot pri bukvah v letu 2006.
- Dormantni kambij je pri jelki štel več celic (7-10 plasti) kot pri bukvi (5-6 plasti).
- Ob koncu delitev je bilo pri jelki številčno manj nedokončano oblikovanih slojev terminalnih celic (okoli 15 plasti) kot pa pri bukvi (do 30 plasti vlaken).
- Proces diferenciacije zadnjih nastalih celic kasnega lesa je pri jelkah potekal dlje (5-7 tednov) kot pri bukvah (3-4 dne).
- Absorpcijski maksimumi so bili v sekundarni steni traheid pri jelki v splošnem večji (okoli abs_{280} 0,4) kot pa pri trahejah (abs_{278} 0,29) ter vlaknih in parenhimskih celicah (abs_{278} 0,19) pri bukvi.
- Pri bukvi so imela vlakna neposredno ob kambiju nekoliko večje absorpcijske vrednosti kot preostala vlakna.

SUMMARY

Recent investigations as to wood formation by the authors of this article and the present formation of last formed (terminal) cells in the xylem growth rings of silver fir (*Abies alba* Mill.) and common beech (*Fagus sylvatica* L.) investigated with light microscopy and UV-microspectrophotometry were overviewed.

Wood formation was investigated in silver fir (*Abies alba*), Norway spruce (*Picea abies*), Aleppo pine (*Pinus halepensis*), common beech (*Fagus sylvatica*), Norway maple (*Acer platanoides*) and pedunculate oak (*Quercus robur*). It has been shown that the intact tissue sampling, micro coring, and pinning are useful sampling procedures for the studies of wood formation at the cellular level (e.g. GRIČAR / OVEN / ČUFAR 2006, GRIČAR et al. 2007a, MARION / GRIČAR / OVEN 2007). Light microscopy, UV-microspectrophotometry and transmission electron microscopy were successfully used to follow the development of newly formed cells (SCHMITT et al. 2003, GRIČAR / ČUFAR 2004, GRIČAR

et al. 2005a, PRISLAN et al. 2008 in print). The dynamics of wood formation was different in trees (silver firs) of different vitality (SCHMITT et al. 2003) and in different tree species like silver fir, Norway spruce, and common beech (GRIČAR / OVEN / ČUFAR 2005, GRIČAR 2007, PRISLAN 2007, ČUFAR et al. 2008, ČUFAR / PRISLAN / GRIČAR 2008). The differentiation of the last formed (terminal) cells in the xylem growth ring of silver fir continued for several weeks after the cessation of cell divisions in the cambium (GRIČAR / ČUFAR / SCHMITT 2003, GRIČAR / STRAŽE / ČUFAR 2003, GRIČAR / ČUFAR 2004). The dynamics and duration of wood formation in our temperate climate differ from those in trees (Aleppo pine) of semiarid Mediterranean sites in southern Spain (DE LUIS et al. 2007). It is possible to influence wood formation and the quality of wood by heating and cooling the cambium as shown in controlled experiments on mature Norway spruce trees (GRIČAR et al. 2004, 2005b, 2006, 2007b). The tissue samples collected to study wood formation normally contain secondary phloem as well. The structure of phloem and the dynamics of its formation provide useful information on factors affecting tree growth, too (KRŽE / GRIČAR / ČUFAR 2007, GRIČAR / ČUFAR 2008, GRIČAR et al. 2009 in print).

The presented studies are important for the understanding of tree physiology and productivity and wood properties, but the processes of wood formation are still not completely understood. It is necessary to continue long term experiments on mature trees of different species and from different locations.

In this study, the formation of last formed (terminal) cells in the xylem growth rings of silver fir and common beech was presented in detail. The objective of the study was to define: (1) the time of cessation of cambial activity, (2) the duration of differentiation of last formed cells, and (3) the degree of lignification and composition of lignin in compound middle lamella and secondary cell wall in mature cells of fir and beech wood.

To this purpose, intact tissue samples containing xylem, cambium and phloem from mature silver firs during the 2003 and common beech trees during the 2006 vegetation periods were collected. Approximately 150 years old silver firs grew at Ravnik approximately 50 km SW from Ljubljana, Slovenia, elevation 500-700 m, and over 100 years old common beech at Panška reka 10 km east from Ljubljana, elevation 400 m.

Light microscopy (LM) and UV-microspectrophotometry (UMSP) were used for analyses. Microscopic sections for LM prepared with a sliding (silver fir) or rotary microtome (common beech) were 20 or 10 µm thick and stained with astra

blue and safranin. The sections for UMSP were 1 µm thick, not stained and were cut with ultratome from tissues embedded in epoxy resin following the procedure after Spurr.

In silver fir, the cambial divisions stopped between 20 August and 3 September 2003, which is later than in common beech, where they stopped between 25 July and 8 August 2006. At that time, the cambium of silver fir contained 7-10 layers of cells and in common beech 5-6. The last formed xylem growth rings in silver fir contained 15 layers of undifferentiated tracheids and in common beech up to 30 layers of undifferentiated fibres. The differentiation of terminal tracheids in silver fir was completed after 5-7 weeks and in terminal fibres of common beech after 4-5 weeks. The absorption maxima in secondary cell wall of silver fir wood were detected at 280 nm and in common beech at 278 nm. The absorption values in fir tracheids (approx. abs_{280} 0.4) were higher than in beech vessels (abs_{278} 0.29), fibres and parenchyma cells (abs_{278} 0.19). The beech fibres near the cambium had slightly higher absorption values than the rest of the fibres.

The authors would like to acknowledge the Slovenian Research Agency for its financial support within the framework of the young researcher's programme, and the P4-0015 and P4-0107 programmes. The investigations were conducted at the Department of Wood Science and Technology and at the Department of Biology (both Biotechnical Faculty, University of Ljubljana), and at the University of Hamburg and Johann Heinrich von Thünen Institute. We thank Marko Beber, Peter Cunder, Luka Krže, Tanja Potsch, dr. Jasna Štrus, dr. Magda Tušek Žnidarič, and Martin Zupančič for their great help and support during different phases of the work.

ZAHVALA

Avtorji se zahvaljujejo Javni agenciji za raziskovalno dejavnost republike Slovenije (ARRS) za finančno podporo v okviru programov Lesarstvo P4-0015 in Gozdna biologija, ekologija in tehnologija P4-0107 ter programov za usposabljanje mladih raziskovalcev. Raziskave so bile opravljene na Katedri za tehnologijo lesa Oddelka za lesarstvo in v Laboratoriju za histologijo in elektronsko mikroskopijo Oddelka za biologijo (Biotehniška fakulteta Univerza v Ljubljani) ter na Oddelku za lesno biologijo (Univerza v Hamburgu in Inštitut Johann Heinrich von Thünen). Pri različnih fazah raziskav so nam pomagali Marko Beber, Peter Cunder, Luka Krže, Tanja Potsch, dr. Jasna Štrus, dr. Magda Tušek Žnidarič, in Martin Zupančič. Za pomoč se jim iskreno zahvaljujemo.

VIRI

REFERENCES

- ANTONOVA, G.F. / STASOVA, V.V., 1993. Effects of environmental factors on wood formation in Scots pine stems. *Trees* 7: 214-219.
- ČUFAR, K. / PRISLAN, P. / GRIČAR, J., 2008. Cambial activity and wood formation in beech (*Fagus sylvatica*) during the 2006 growth season. *Wood Research*, 53 (4): 2008.
- ČUFAR, K. / PRISLAN, P. / DE LUIS, M. / GRIČAR, J., 2008. Tree-ring variation, wood formation and phenology of beech (*Fagus sylvatica*) from a representative site in Slovenia, SE Central Europe. *Trees*, 22 (6): 749-758.
- DE LUIS, M. / GRIČAR, J. / ČUFAR, K. / RAVENTÓS BONVEHI, J., 2007. Seasonal dynamics of wood formation in *Pinus halepensis* from dry and semi-arid ecosystems in Spain. *IAWA Journal*, 28 (4): 389-404.
- FENGEL D. / WEGENER G., 1989. *Wood: chemistry, ultrastructure, reactions*. Berlin, Walter de Gruyter: 613 str.
- GRIČAR, J., 2006. Vpliv temperature in padavin na ksilogenezo pri jelki (*Abies alba*) in smreki (*Picea abies*). Doktorska disertacija. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za lesarstvo, 181 s.
- GRIČAR, J., 2007. Ksilo- in floemogeneza pri beli jelki (*Abies alba* Mill.) in navadni smreki (*Picea abies* (L.) Karst.). Ljubljana, Gozdarski inštitut Slovenije, 106 s.
- GRIČAR, J., 2008. Cambial activity and wood formation in experimentally controlled heated and cooled stem portions of sessile oak during the growing season of 2007. *News of forest history*, 5 (39): 94.
- GRIČAR, J. / ČUFAR, K. / SCHMITT, U., 2003. Diferenciacija terminalnih traheid kasnega lesa pri navadni jelki v dormantnem obdobju. *Les* 55 (12): 412-415.
- GRIČAR, J. / STRAŽE, A. / ČUFAR, K., 2003. Differentiation of last formed tracheids in wood of silver firs (*Abies alba*) having various cambial productivity = Diferenciacija zadnjih nastalih traheid v lesu jelk (*Abies alba*) z različno produktivnim kambijem. *Zbornik gozdarstva in lesarstva*, 70: 87-100.
- GRIČAR, J. / ČUFAR, K., 2004. Uporaba transmisijske elektronske mikroskopije ter UV-mikrospektrofotometrije za določanje lignina v celični steni iglavcev. *Zbornik gozdarstva in lesarstva*, 73: 89 - 104.
- GRIČAR, J. / ČUFAR, K., 2004. Nastajanje sekundarne celične stene in lignifikacija traheid kasnega lesa ob kambiju pri navadni jelki (*Abies alba*) v dormantnem obdobju. V: KLANJŠEK, M. (ur.), JEGLIČ, P. (ur.), ZORKO, A. (ur.), ŠETINC, M. (ur.). *Znanstveno delo podiplomskih študentov v Sloveniji - "publish or perish!" : knjiga povzetkov*. Ljubljana: Društvo mladih raziskovalcev Slovenije, s. 25-26.
- GRIČAR, J. / ZUPANČIČ, M. / ČUFAR, K. / OVEN, P., 2004. Odziv kambija navadne smreke (*Picea abies*) na ogrevanje in hlajenje debla = Response of cambium in Norway spruce (*Picea abies*) to heating and cooling of stem. *Zbornik gozdarstva in lesarstva*, 75: 135-146.
- GRIČAR, J. / OVEN, P. / ČUFAR, K., 2005. Sezonska dinamika ksilogeneze in floemogeneze pri navadni jelki (*Abies alba* Mill.). *Zbornik gozdarstva in lesarstva*, 78: 57-68.
- GRIČAR, J. / ČUFAR, K. / OVEN, P. / SCHMITT, U., 2005a. Differentiation of terminal latewood tracheids in silver fir trees during autumn. *Annals of Botany*, 95: 959-965.
- GRIČAR, J. / ZUPANČIČ, M. / ČUFAR, K. / OVEN, P., 2005b. Odziv kambija navadne smreke (*Picea abies*) na ogrevanje in hlajenje debla. *Zbornik gozdarstva in lesarstva*, 75: 13-146.
- GRIČAR, J. / OVEN, P. / ČUFAR, K., 2006. Metode za raziskave sezonske dinamike kambijeve aktivnosti. *Les*, 58: 272-277.
- GRIČAR, J. / ZUPANČIČ, M. / ČUFAR, K. / KOCH, G. / SCHMITT, U. / OVEN, P., 2006. Effect of Local Heating and Cooling on Cambial Activity and Cell Differentiation in the Stem of Norway Spruce (*Picea abies*). *Annals of Botany*, 97 (6): 943-951.
- GRIČAR, J. / ZUPANČIČ, M. / ČUFAR, K. / OVEN, P., 2007a. Wood formation in Norway spruce studied by pinning technique and intact tissue sampling method. *Wood research*, 52 (2): 1-9.
- GRIČAR, J. / ZUPANČIČ, M. / ČUFAR, K. / OVEN, P., 2007b. 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.
- GRIČAR, J. / ČUFAR, K., 2008. Seasonal dynamics of phloem formation in silver fir and Norway spruce as affected by drought. *Russian Journal of Plant Physiology* 55 (4): 538-543.
- GRIČAR, J. / KRŽE, L. / ČUFAR, K., 2009. Number of cells in xylem, phloem and dormant cambium in silver fir (*Abies alba* Mill.) trees of different vitality. *IAWA Journal*, in print.
- KOCH, G. / KLEIST, G., 2001. Application of Scanning UV Microspectrophotometry to Localise Lignins and Phenolic Extractives in Plant Cell Walls. *Holzforschung*, 55: 563-567.
- KOCH, G. / GRÜNWARD, C., 2004. Application of UV microspectrophotometry for the topochemical detection of lignin and phenolic extractives in wood fibre cell walls. V: *Wood fibre cell walls: methods to study their formation, structure and properties* (Ured: Schmitt, U., et al.). Uppsala, Sweden: Swedish University of Agricultural Sciences, 119 - 129.
- KRŽE, L. / GRIČAR, J. / ČUFAR, K., 2007. Razmerje med ksilemskim in floemskim prirastkom pri jelki (*Abies alba* Mill.). *Zbornik gozdarstva in lesarstva*, 84: 3-10.
- LARSON, P.R. 1994. *The vascular cambium*. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg: 725 s.
- MARION, L., 2007. Sezonska aktivnost kambija in njegov odziv na mehanske poškodbe pri mestnem drevju. Doktorska disertacija. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za gozdarstvo in obnovljive vire, 182 s.
- MARION, L. / GRIČAR, J. / OVEN, P., 2007. Wood formation in urban Norway maple trees studied by the micro-coring method *Dendrochronologia*, 25: 97-102.
- PANSHIN, A.J. / DE ZEEUW, C. 1980. *Textbook of wood technology*. Fourth edition. New York, McGraw-Hill: 722 s.
- 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 s.
- PRISLAN, P. / GRIČAR, J. / KOCH, G. / SCHMITT, U. / ČUFAR, K., 2008. Mikroskopske tehnike za študij nastanka lesa pri bukvi. *Zbornik gozdarstva in lesarstva*, v tisku.
- RODER, T. / KOCH, G. / SIXTA, H., 2004. Application of confocal Raman spectroscopy for the topochemical distribution of lignin and cellulose in plant cell walls of beech wood (*Fagus sylvatica* L.) compared to UV microspectrophotometry. *Holzforschung*, 58: 480-482.
- ROSSI, S. / DESLAURIERS, A. / ANFODILLO, T., 2006. Assessment of cambial activity and xylogenesis by microsampling tree species: an example at the alpine timberline. *IAWA Journal*, 27: 383-394.
- SAKAKIBARA, A., 1991. *Chemistry of lignin*. V: David N.-S.Hon, Shiraiishi N. (eds.) *Wood and cellulosic chemistry*. Marcel Dekker Inc., New York: 113-175.
- 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.
- SCHMITT, U. / GRÜNWARD, C. / GRIČAR, J. / KOCH, G. / ČUFAR, K., 2003. Wall structure of terminal latewood tracheids of healthy and declining silver fir trees in the Dinaric region, Slovenia. *IAWA Journal*, 24: 41-51.
- SPURR, A. R., 1969. A low viscosity embedding medium for electron microscopy. *Journal of Ultrastructural Research*, 26: 31 - 43.
- WERF VAN DER, G. W. V. D. / SASS-KLAASSEN, U. / MOHREN, G. M. J., 2007. The impact of the 2003 summer drought on the intra-annual growth pattern of beech (*Fagus sylvatica* L.) and oak (*Quercus robur* L.) on a dry site in the Netherlands. *Dendrochronologia*, 25: 103-112.