

GDK: 811.13+811.18+811.281+812.14:174.7 *Picea abies* --016(045)

Prispelo / Received: 21. 12. 2004
Sprejeto / Accepted: 28.1.2005

Izvirni znanstveni članek
Original scientific paper

ODZIV KAMBIJA NAVADNE SMREKE (*Picea abies*) NA OGREVANJE IN HLAJENJE DEBLA

Jožica Gričar¹, Martin Zupančič¹, Katarina Čufar², Primož Oven³

Izvleček

Proučili smo vpliv eksperimentalnega ogrevanja in hlajenja dela debla navadne smreke (*Picea abies*) na kambijevo aktivnost in celično diferenciacijo. Poskusa sta potekala 30 dni; ogrevanje od 29.3.2004 do 3.5.2004, hlajenje pa od 14.6.2004 do 20.7.2004. Vzorce floema, kambija in ksilema smo iz dreves odvzeli vsakih 10 dni, pripravili prečne prereze tkiv in preparate opazovali s svetlobnim mikroskopom. Lokalno ogrevanje je po 10 dneh induciralo delitveno aktivnost kambija na floemsko stran, po 20 dneh pa tudi na ksilemsko. Po 30 dneh je pri ogrevanem vzorcu nastalo do 15 celic ranega lesa. V tem času se je redna delitvena aktivnost kambija pri kontrolnem drevesu šele začela. Odziv kambija na hlajenje debla je bil manj izrazit. Anatomiških razlik med kontrolnim in hlajenim vzorcem po 10 in 20 dneh ni bilo. Po 30 dneh je pri hlajenem vzorcu začel nastajati kasni les, pri kontrolnem drevesu pa šele prehodni rani-kasni les. S poskusom smo demonstrirali, da je mogoče pri smreki z umetnim ogrevanjem in hlajenjem debla vplivati na ksilo- in floemogenezo.

Ključne besede: navadna smreka (*Picea abies*), kambij, celična diferenciacija, ksilem, floem, ogrevanje, hlajenje, svetlobna mikroskopija

RESPONSE OF CAMBIUM IN NORWAY SPRUCE (*Picea abies*) TO HEATING AND COOLING OF STEM

Abstract

The effect of experimental heating and cooling in a part of the stem of Norway spruce (*Picea abies*) on cambial activity and cell differentiation was studied. Experiments were performed for 30 days; heating from 29 March 2004 until 3 May 2004 and cooling from 14 June, 2004 until 20 July 2004. Samples of phloem, cambium and xylem were taken from trees every 10 days, transverse sections of tissue were prepared and observed under light microscope. After 10 days, localized heating reactivated cambial cell division on the phloem side and after 20 days on the xylem side as well. After 30 days up to 15 early wood cells were formed in the heat-treated sample. Regular cambial activity in the control tree only started after 30 days. Cambial response to the cooling of the stem was less conspicuous. No anatomical differences were detected between the control and cool-treated samples after 10 and 20 days. After 30 days, late wood already started to form in the cool-treated sample and only transition early-late wood in the control tree. Our experiments demonstrated that it is possible to influence xyl- and phloemogenesis in Norway spruce by experimental heating and cooling of the stem.

Key words: Norway spruce (*Picea abies*), cambium, cell differentiation, xylem, phloem, heating, cooling, light microscopy

¹ univ. dipl. inž. les., BF, Oddelek za lesarstvo, Rožna dolina c. VIII/34, 1000 Ljubljana, SLO

² prof.dr., BF, Oddelek za lesarstvo, Rožna dolina c. VIII/34, 1000 Ljubljana, SLO

³ doc.dr., BF, Oddelek za lesarstvo, Rožna dolina c. VIII/34, 1000 Ljubljana, SLO, primoz.oven@bf.uni-lj.si

VSEBINA
CONTENTS

1	UVOD.....	137
	INTRODUCTION	
2	MATERIAL IN METODE.....	138
	MATERIAL AND METHODS	
3	REZULTATI.....	139
	RESULTS	
4	DISKUSIJA.....	143
	DISCUSSION	
5	SUMMARY.....	144
6	VIRI.....	145
	REFERENCES	
	ZAHVALA.....	146
	ACKNOWLEDGEMENTS	

1 UVOD INTRODUCTION

Za drevesne vrste zmernege pasu je značilno periodično menjavanje obdobji aktivnosti in dormance vaskularnega kambija. Kambijeva meristemska aktivnost se v normalnih razmerah navadno konča pozno poleti in se ponovno začne spomladi z delitvami kambijevih celic. Zunanji dejavniki (temperatura, padavine, radiacija, dolžina dneva itd.) vplivajo na rast in razvoj dreves z uravnavanjem začetka oziroma zaključka razvojnih procesov ter z vplivanjem na stopnjo in obseg rasti (DENNE / DODD 1981, LARSON 1994, SAVIDGE 1996, 2000, KOZLOWSKY / PALLARDY 1997, LACHAUD *et al.* 1999, WODZICKI 2001, LARCHER 2003). Dormanca je začasna, endogeno in eksogeno uravnavana prekinitev rasti (LARCHER 2003). Mitotska aktivnost meristema se v tem obdobju močno upočasni, največkrat pa popolnoma zaustavi. Dormanco je mogoče razdeliti na tri različne faze. Predormanco sproži skrajševanje dolžine dneva ter zniževanje temperatur. Prava dormanca ali endodormanca se pojavi novembra ali decembra. V tem obdobju se rastline ne odzivajo več na občasne otoplitve. Sledi obdobje ekodormance, kjer z daljšanjem dolžine dneva ter dvigovanjem temperature začne naraščati tudi koncentracija rastlinskih hormonov v drevesu (KOZLOWSKY / PALLARDY 1997, LARCHER 2003). Z izpostavitvijo mladih poganjkov ali delov drevesa nadzorovanim razmeram je mogoče pridobiti dodatne informacije o dejavnikih, ki vplivajo na kambijevo delovanje ter celično diferenciacijo (BARNETT / MILLER 1994, ORIBE / KUBO 1997, ORIBE *et al.* 2001, ORIBE / FUNADA / KUBO 2003, 2004). Oribe in sodelavci (ORIBE / KUBO 1997, ORIBE *et al.* 2001, ORIBE / FUNADA / KUBO 2003, 2004) so zasledili razlike v odzivu dormantnega kambija pri različnih vrstah iglavcev na lokalno ogrevanih deblih. Pri macesnu *Larix leptolepis* ogrevanje ni pospešilo delitev v kambiju pred redno kambijevo aktivnostjo, ki se je pojavila šele po aktivaciji popkov. Nasprotno je ogrevanje pri kriptomeriji *Cryptomeria japonica* vzpodbudilo kambijevo delitveno aktivnost, odziv kambija pa je naraščal s prehajanjem iz zimskega v pomladno obdobje. Odziv kambija je bil tik pod krošnjo drevesa večji kot na bazi. Pri jelki *Abies sacchalensis* je ogrevanje vzpodbudilo kambijevo delitveno aktivnost, vendar so se delitve v še vedno ogrevanem kambiju po nekaj dneh ustavile, medtem ko se proces celične diferenciacije sploh ni začel (ORIBE / FUNADA / KUBO 2003, 2004).

Namen naše študije je bil proučiti odziv dormantnega kambija na lokalno povišano temperaturo (23-25°C) ter odziv aktivnega kambija na nižano temperaturo (9-11°C). Oba poskusa smo zastavili na delu debla navadne smreke (*Picea abies*) in ju izvajali 30 dni. Iz vzorcev, odvzetih vsakih 10 dni, smo pripravili preparate prečnih prerezov in jih proučili pod svetlobnim mikroskopom.

2 MATERIAL IN METODE MATERIAL AND METHODS

Za poskus smo izbrali tri zdrave navadne smreke (*Picea abies*) na južnem pobočju Rožnika (315 m.n.m.) v Ljubljani, ki so bile med seboj oddaljene največ 10 metrov. Premer vseh dreves je bil približno 35 cm. Eno drevo smo ogrevali, drugo hladili, tretje pa je bilo kontrolno drevo.

Prvo drevo smo začeli ogrevati 29.3.2004, pred začetkom redne kambijeve aktivnosti, in poizkus zaključili 3.5.2004. Del debla drevesa smo ogrevali s samoregulirnim grelnim kablom (FSM-17, 17W/+5°C, 11W/25°C, 230V) dolžine 15 metrov. Spodnji del ogrevanega debla je bil od tal oddaljen 70 cm, zgornji pa 170 cm. Grelni kabel smo torej ovili okrog debla drevesa na dolžini 1 metra. Od skorje je bil oddaljen 2 cm. Ta del debla smo zatem ovili z izolacijskim materialom. Razdalja med skorjo in izolacijo je bila 4 cm. Temperaturo v prostoru med izolacijo in skorjo smo dnevno nadzorovali s termometrijskim senzorjem. Želena temperaturo 23-25°C smo nastavili s temperaturnim regulatorjem ITR 0-60°C s tipalom.

Del debla drugega drevesa smo začeli ohlajati 14.6.2004, na višku kambijeve aktivnosti. Poskus je potekal do 20.7.2004. Za hlajenje smo uporabili pretočni hladilni sistem. Sestavljen je bil iz hladilnega agregata (hladilna moč sistema 720 W pri -10°C, električna moč 800 W-230V, hladilni plin R404 A), ki je hladil tekočino v rezervoarju (volumen 20 l). Obtočna črpalka je poganjala hladilno tekočino po bakreni cevi, ki je hladila del debla. Spodnji del hlajenega debla je bil tudi pri tem poskusu od tal oddaljen 70 cm, zgornji pa 170 cm. Bakreno cev smo torej ovili okrog debla drevesa na dolžini 1 metra. Med skorjo in bakreno cev smo namestili 2 cm široke distančnike. Podobno kot v prvem poskusu smo tudi tokrat ta del debla temperaturno izolirali in dnevno nadzorovali temperaturo med izolacijo in skorjo. Želena temperaturo 9-11°C med skorjo in izolacijo smo nastavili brezstopenjsko s pomočjo kapilarnega termostata.

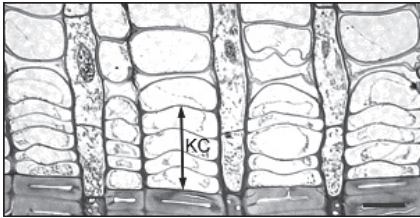
Vzorci floema, kambija in ksilema smo odvzeli 1,3 m nad tlemi na začetku eksperimenta ter nato vsakih 10 dni. Po vsakem odvzemu smo grelni oziroma hladilni sistem namestili nazaj na drevo in ga ponovno izolirali. Vsakič smo odvzeli tudi vzorec tkiv na kontrolnem drevesu. Vzorce smo takoj po odvzemu fiksirali v FAA (25 ml 37% formalin, 450 ml 50% etanol in 25 ml 100% očetna kislina). Po enem tednu je sledila dehidracija vzorcev v etanolu (30%, 50%, 70%). Trajne preparate prečnih prereзов normalnih debelin 25 µm smo brez nadaljnje obdelave vzorcev pripravili na mikrotomu Leica SM 2000R in obarvali z barviloma safranin in astra modro. Za poltanke trajne preparate prečnih prereзов debeline

1 µm je bilo potrebno vzorce nadalje dehidrirati v etanolu (95%, 100%) in acetonu (100%) ter vklopiti v epoksidno smolo po modificiranem postopku, kot ga opisuje Spurr (SPURR 1969). Vzorce smo pripravili z diamantnim nožem na ultramikrotomu Ultracut S in jih obarvali z barvilom toluidin modro. Preparate smo proučili pod svetlobnim mikroskopom Nikon Eclipse E 800.

3 REZULTATI

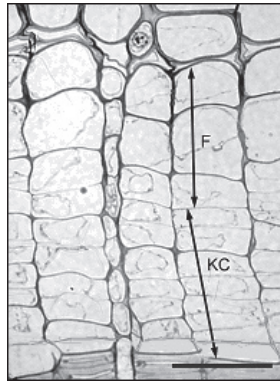
RESULTS

Del debla drevesa smo začeli ogrevati pred začetkom redne kambijeve aktivnosti, t.j. v obdobju kambijevega mirovanja. Na dan začetka poskusa 29. 3. 2004 v kambiju nismo zasledili celičnih delitev, ne pri drevesu namenjenemu grelnemu eksperimentu, kot tudi ne pri kontrolnem drevesu. Dormantna kambijeva cona je bila sestavljena iz približno 4 do 5 plasti ozkih celic (slika 1). Po 10 dneh ogrevanja smo na vzorcu, odvzetem na ogrevanem delu debla, zasledili začetek delitev v kambiju, vendar le na floemski strani. Floemski prirastek so predstavljale 3 plasti sitastih celic ranega floema. Kambijeva cona je bila široka 7 do 8 plasti celic (slika 2). Na vzorcu, odvzetem iz kontrolnega drevesa, v tem času ni bilo zaslediti nobene kambijeve aktivnosti. Po 20 dneh ogrevanja se je kambijeva aktivnost začela tudi na ksilemski strani. Kambij ogrevanega vzorca je bil sestavljen iz 7 do 8 plasti celic, tekoči floemski prirastek iz 3 do 4 plasti sitastih celic in tekoči ksilemski prirastek iz 3 do 5 plasti traheid ranega lesa v fazi postkambialne rasti (slika 3). Pri kontrolnem drevesu je bil kambij še vedno dormanten in širok do 5 plasti celic. Po 30 dneh ogrevanja, 3. 5. 2004, je pri ogrevanem vzorcu nastalo do 15 plasti celic ranega lesa (slika 4). V fazi postkambialne rasti je bilo 5 do 6 plasti celic, v fazi odlaganja sekundarne celične stene in lignifikacije pa 7 do 9 plasti celic (slika 5). Popolnoma oblikovanih traheid nismo zasledili, vendar pa so bile najstarejše traheide v ksilemski braniki tekočega leta, ob kasnem lesu branike prejšnjega leta, v zaključnih fazah procesa diferenciacije. Floemski prirastek je bil sestavljen iz 5 do 6 plasti sitastih celic, ob kambijevih celicah je bil že viden tangencialni pas aksialnega parenhima, ki razmejuje sitaste celice ranega in kasnega floema. V istem času se je redna kambijeva aktivnost začela tudi pri kontrolnem drevesu. Kambijeva cona je bila široka 7 do 8 plasti celic, rani floem so sestavljale 3 plasti sitastih celic ksilema 3 plasti radialno rastočih traheid ranega lesa (slika 5).



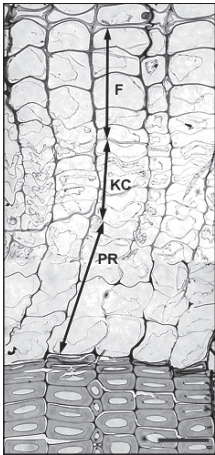
Slika 1: Dormanten kambij, sestavljen iz 4 do 5 plasti kambijevih celic (KC) (daljica = 50 μm)

Figure 1: Dormant cambium consisting of 4 to 5 layers of cambial cells (KC) (Scale bars = 50 μm)



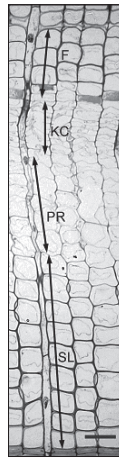
Slika 2: Floemske celice (F), nastale po 10 dneh ogrevanja; KC – kambijeve celice (daljica = 50 μm)

Figure 2: Phloem cells (F) formed after 10 days of heating; KC – cambial cells (Scale bars = 50 μm)



Slika 3: Floemske (F) in ksilemske celice v postkambialni rasti (PR), nastale po 20 dneh ogrevanja; KC – kambijeve celice (daljica = 50 μm)

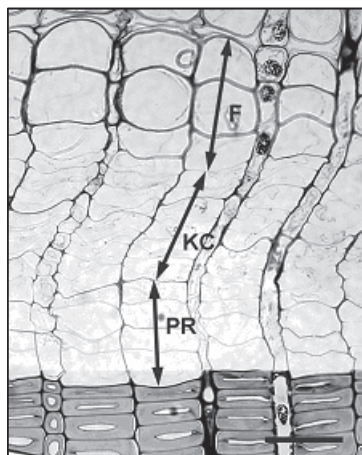
Figure 3: Phloem (F) and xylem cells in postcambial growth (PR) formed after 20 days of heating; KC – cambial cells (Scale bars = 50 μm)



Slika 4: Floemske (F) in ksilemske celice v postkambialni rasti (PR) ter fazi odlaganja sekundarne celične stene in lignifikacije (SL), nastale po 30 dneh ogrevanja; KC – kambijeve celice (daljica = 50 μm)

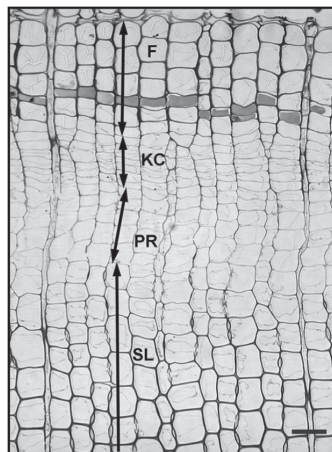
Figure 4: Phloem (F) and xylem cells in postcambial growth (PR) and phase of secondary cell wall formation and lignification (SL) formed after 30 days of heating; KC – cambial cells (Scale bars = 50 μm)

S poskusom ohlajanja dela debla smreke smo začeli 14.6.2004, na višku kambijeve aktivnosti. Na vzorcih, odvzetih na dan začetka eksperimenta, je bila kambijeve cona široka 8 do 10 plasti celic (slika 6). Nastali floemski prirastek so sestavljale 3 do 4 plasti sitastih celic ranega floema, sledil je tangencialni pas aksialnega parenhima ter 1 do 2 plasti sitastih celic kasnega floema. V ksilemski braniki tekočega leta je bilo v fazi postkambialne rasti 6 do 8 plasti celic, v fazi odlaganja sekundarne celične stene ter lignifikacije pa 9 do 10 plasti celic. Popolnoma oblikovanih je bilo 3 do 5 plasti traheid ranega lesa. Po 10 in 20 dnevih eksperimenta med kontrolnim in hlajenim vzorcem na anatomskem nivoju nismo zasledili nobenih razlik (slika 7 A, B). Kambij je štel 6 do 7 plasti celic, v fazi postkambialne rasti je bilo 5 do 6 plasti celic ranega lesa. Po 30 dneh hlajenja, 20.7.2004, smo opazili prve spremembe pri hlajenem vzorcu, in sicer na ksilemski strani (slika 8 A). Začel je nastajati kasni les. Radialne dimenzije traheid ob kambijevi coni so bile majhne, v fazi postkambialne rasti sta bili največ 2 plasti celic. Kambijeve cona je bila široka do 5 plasti celic (slika 8 B). Na vzorcu, odvzetem pri kontrolnem drevesu, je širšo kambijeve cono sestavljalo okrog 10 plasti celic. Na ksilemsko stran so še vedno nastajale celice ranega oziroma prehodnega lesa (slika 8 C). V fazi postkambialne rasti je bilo 6 do 7 celic. Na floemski strani tudi po 30 dneh na mikroskopskem nivoju nismo opazili nobenih razlik med hlajenim in nehlajenim vzorcem.



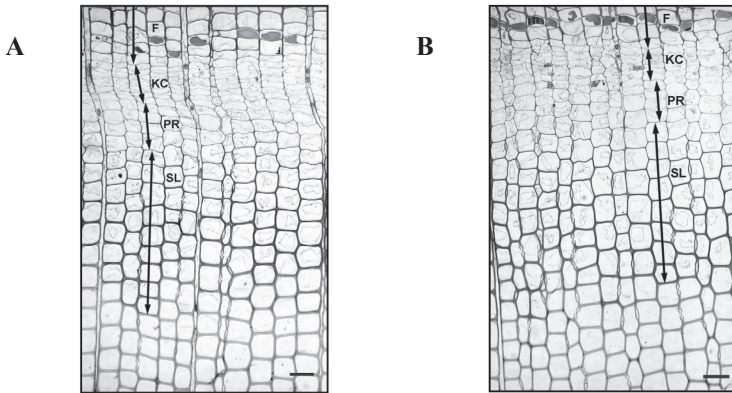
Slika 5: Začetek redne kambijeve aktivnosti pri kontrolnem drevesu po 30 dneh; F – floemske celice, KC – kambijeve celice, PR – ksilemske celice v postkambialni rasti (daljica = 50 μm)

Figure 5: Beginning of regular cambial activity in control tree after 30 days; F – phloem cells, KC – cambial cells, PR – xylem cells in postcambial growth (Scale bars = 50 μm)



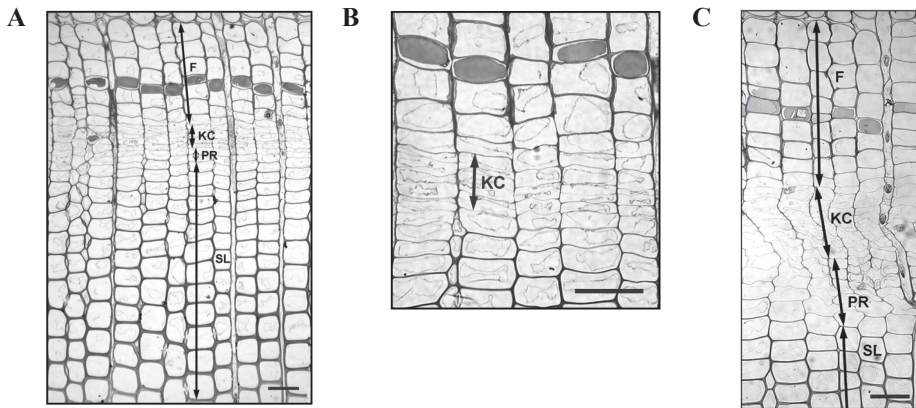
Slika 6: Stanje v floemu (F), kambiju (KC) in ksilemu (PR, SL) pred začetkom izvajanja hlajenja (daljica = 50 μm)

Figure 6: Situation in the phloem (F), cambium (KC) and xylem (PR, SL) before cooling (Scale bars = 50 μm)



Slika 7: Po 20 dneh hlajenja ni bilo opaziti nobenih razlik na anatomskem nivoju med kontrolnim (A) in hlajenim (B) vzorcem; F – floemske celice, KC – kambijeve celice, PR – ksilemske celice v postkambialni rasti, SL – ksilemske celice v fazi odlaganja sekundarne celične stene in lignifikacije (daljica = 50 µm)

Figure 7: After 20 days of cooling, no differences at anatomical level were observed between non-treated (A) and treated samples (B); F – phloem cells, KC – cambial cells, PR – xylem cells in postcambial growth, SL – xylem cells in phase of secondary cell wall formation and lignification (Scale bars = 50 µm)



Slika 8: Nastanek kasnega lesa (PR, SL) po 30 dneh hlajenja (A). Kambijeva cona široka le 5 plasti kambijevih celic (KC) (B). Rani oziroma prehodni les (PR, SL) nastal pri kontrolnem drevesu (C); F – floemske celice (daljica = 50 µm)

Figure 8: Formation of late wood (PR, SL) after 30 days of cooling (A). Cambial zone up to 5 layers of cambial cells (KC) wide (B). Early wood or transition wood (PR, SL) formed in control tree (C); F – phloem cells (Scale bars = 50 µm)

4 DISKUSIJA DISCUSSION

Naši rezultati so pokazali, da je s temperaturo mogoče vplivati na redno kambijevo aktivnost smreke. Ogrevanje debla v zaključni fazi (ekodormanci) dormantnega obdobja je povzročilo zgodnejšo reaktivacijo kambija ter stimuliralo proces celične diferenciacije. Kambijeva aktivnost se je začela najprej na floemski strani, kar je v skladu z opazovanji drugih raziskovalcev (ORIBE / KUBO 1997, ORIBE *et al.* 2001, ORIBE / FUNADA / KUBO 2003, 2004). Floemska stran se na ogrevanje hitreje odzove, kar bi bilo mogoče razložiti s histokemičnega, strukturnega ali molekulskega stališča (ORIBE *et al.* 2001). Kljub temu pa po Larsonu (1994) med kambijevimi celicami ni nobene značilne ultrastrukturne razlike. Dormantne kambijeve celice ne vsebujejo rezervnega škroba ne na floemski ne na ksilemski strani (LARSON 1994). Vendarle pa bi bilo mogoče zgodnejše delitve na floemski strani pojasniti z občutljivostjo kambija na gradient eksogenih dejavnikov (temperatura, dolžina dneva itd.) iz floemske proti ksilemski strani (ORIBE *et al.* 2001). Oribe in sod. (2001) so predvidevali dve glavni smeri translokacije ogljikovih hidratov iz skladiščnih celic, ki potekata pri ogrevanju. Eno pot naj bi predstavljalo gibanje hranilnih snovi v radialni smeri iz floemskih parenhimskih celic do kambijevih celic. Druga pot naj bi bila v tangencialni smeri iz trakovnih parenhimskih celic do kambijevih celic. Iz tega so avtorji sklepali, da bi bile lahko kambijeve celice na floemski strani bolj oskrbljene s hranilnim snovmi, saj so v neposredni bližini floemskih parenhimskih celic. Zaradi večje oskrbe naj bi se ponovne delitve kambijevih celic začele najprej na floemski in šele nekoliko kasneje na ksilemski strani (ORIBE *et al.* 2001).

Pri kriptomeriji *Cryptomeria japonica* je odziv kambija na ogrevanje naraščal od decembra do marca. Decembra niso zasledili kambijeve reaktivacije na bazi drevesa, kar potrjuje vpliv drugih dejavnikov na kambijevo dormanco, poleg temperature (ORIBE / KUBO 1997). Pri macesnu *Larix leptolepis* povišane temperature niso izzvale kambijeve aktivnosti. Avtorja sta sklepala, da nizke temperature ne predstavljajo edinega omejujočega dejavnika za kambijevo aktivnost pri tej drevesni vrsti, za katero je značilno, da jeseni odvzre iglice. Nadaljnja opazovanja so pokazala, da se je normalna kambijeva aktivnost začela šele po aktivaciji popkov najprej pod krošnjo in se potem širila bazipetalno vzdolž debla (ORIBE / KUBO 1997). Kaže, da pri zimzelenih iglavih ogrevanje v fazi domnevne ekodormance zadostuje za začetek kambijeve aktivnosti ter celične diferenciacije. Kambijeve delitve se tako lahko začnejo neodvisno od rasti novih poganjkov ali razvoja popkov, kar se zgodi spomladi ob dviganju temperature.

Kambija in derivatov so se na ohlajanje dela debela odzvali šele po 30 dneh; odziv je bil viden zlasti na ksilemski strani. Ohlajanje je povzročilo zgodnejše nastajanje kasnega lesa. Ravno tako se je zmanjšalo število celic v kambiju na 4 do 5 celic, kar je bilo sicer značilno za dormanten kambij. Iz tega lahko sklepamo, da se je kambijeva aktivnost zaradi ohlajanja zaključila prej kot običajno. Naše raziskave in raziskave drugih znanstvenikov potrjujejo, da so zunanji eksogeni dejavniki za procese ksilo- in floemogeneze zelo pomembni, vsekakor pa na njih vplivajo tudi endogeni dejavniki, kot so rastlinski hormoni, sladkorji idr. (KOZLOWSKY / PALLARDY 1997, KRABEL 2000, ORIBE / FUNADA / KUBO 2003) Obseg celičnih delitev v kambiju naj bi bil med drugim odvisen od oskrbe celic s saharozo iz skladiščnih tkiv. Po tej teoriji bi lahko bila vzrok hitrega prenehanja celičnih delitev v kambiju pri ogrevanju jelke *Abies balsamea* nezadostna oskrba kambija s saharozo. Drugi razlog za prenehanje celičnih delitev ter procesa celične diferenciacije naj bi bilo pomanjkanje avksina (ORIBE / FUNADA / KUBO 2003). Vsekakor je potrebno v nadaljnjih študijah raziskati, kako lokalno ogrevanje ali hlajenje debela vpliva na premestitev ogljikovih hidratov, rastnih spodbujevalcev in inhibitorjev v tretiranih tkivih.

5 SUMMARY

External and internal factors regulate the growth and development of plants by initiating or terminating developmental processes and by affecting the rate and extent of growth. Cambial meristematic activity in conifers from the temperate climatic zone is normally stopped in late summer and is resumed in spring with cell divisions in the cambium. To identify factors that regulate cambial activity, shoots, stem cuttings or local regions of intact stems have been exposed to controlled conditions favourable for cambial growth. The purpose of our research was to evaluate the response of dormant cambium in a stem portion of Norway spruce (*Picea abies*) to applied heat of 23-25°C for 30 days, between 29 March 2004 and 3 May 2004. Moreover, the response of active cambium to cooling (9-11°C) was observed for 30 days period between 14 June 2004 and 20 July 2004. Samples from the control tree and experimental trees growing in urban forest Rožnik, Ljubljana were taken every 10 days. Blocks of intact tissue, containing inner phloem, cambium and outer xylem taken from the breast height of the stems (1.3 m above ground) were immediately fixed in FAA (formaldehyde-alcohol-acetic acid solution) and dehydrated in graded series of ethanol. Permanent transverse sections were prepared for light microscopy. Our experiment on intact stems demonstrated that application of temperature may cause alterations in regular cambial activity. Localized heating of 10 days reactivated cambial

cell divisions on the phloem side and after 20 days on the xylem side as well. In the control tree, regular cambial activity started after 30 days. Meanwhile, in the heat-treated sample up to 15 early wood cells were formed. Cambial response to the drop in temperature was visible on the xylem side after 30 days. After 10 and 20 days, no differences at the anatomical level were detected between the control and cool-treated samples. The part of the stem of Norway spruce which had been exposed to cooling showed earlier formation of the late wood. In addition, the number of cells in the cambium decreased to 4 or 5 cells, which was typical for dormant cambium. On the phloem side, no anatomical alterations were observed between the treated and non-treated samples. Low temperatures presumably shorten cambial activity. Our experiments demonstrated that it is possible to influence xylo- and phloemogenesis in Norway spruce.

6 VIRI REFERENCES

- BARNETT J.R. / MILLER H. 1994. The effect of applied heat on graft union formation in dormant *Picea sitchensis* (Bong.) Carr. *Journal of Experimental Botany*, 45, 270: 135-143
- DENNE M.P. / DODD R.S. 1981. The environmental control of xylem differentiation. In: Barnett JR, ed. *Xylem Cell development*. Castle House Publications LTD.: 236-255
- KOZLOWSKY T.T. / PALLARDY S.G. 1997. *Growth control in woody plants*. Academic Press, Inc: 641 str.
- KRABEL D. 2000. Influence of sucrose on cambial activity. V: *Cell and Molecular Biology of Wood Formation*. Savidge R.A., Barnett J.R., Napier R. (eds.). BIOS Scientific Publishers Limited, Oxford, UK: 113-125
- LACHAUD S. / CATESSON A.M. / BONNEMAIN J.L. 1999. Structure and functions of the vascular cambium. *Life Sciences*, 322:-633-650
- LARCHER W. 2003. *Physiological plant ecology. Ecophysiology and stress physiology of functional groups*. Fourth edition. Springer – Verlag Berlin Heidelberg: 513 str.
- LARSON P.R. 1994. *The vascular cambium*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg: 725 str.
- ORIBE Y. / KUBO T. 1997. Effect of heat on cambial reactivation during winter dormancy in evergreen and deciduous conifers. *Tree Physiology*, 17: 81-87
- ORIBE Y. / FUNADA R. / SHIBAGAKI M. / KUBO T. 2001. Cambial reactivation in locally heated stems of the evergreen conifer *Abies sachalinensis* (Schmidt) Masters. *Planta*, 212: 684-691
- ORIBE Y. / FUNADA R. / KUBO T. 2003. Relationships between cambial activity, cell differentiation and the localization of starch in storage tissues around the cambium in locally heated stems of *Abies sachalinensis* (Schmidt) Masters. *Trees*, 17: 185-192
- ORIBE Y. / FUNADA R. / KUBO T. 2004. Cambial activity in locally heated stems of evergreen and deciduous conifers during winter cambial dormancy. *International Symposium on Wood Sciences. Proceedings, October 24-29, 2004, Montpelier, France: 47*

- SAVIDGE R.A. 1996. Xylogenesis, genetic and environmental regulation – a review. *IAWA Journal*, 17, 3: 269-310
- SAVIDGE R.A. 2000. Intrinsic regulation of cambial growth. *Journal of Plant Growth Regulation*, 20: 52-77
- SPURR A.R. 1969. A low viscosity embedding medium for electron microscopy. *J. Ultrastructural Research* 26: 31-43
- WODZICKI T.J. 2001. Natural factors affecting wood structure. *Wood Science and Technology*, 35: 5-26

ZAHVALA

ACKNOWLEDGEMENTS

Delo je bilo financirano s strani COST Akcije E28, EU projekta PINE (V. FP Contract No.: EVK2-CT-2002-00136) ter Ministrstva za šolstvo, znanost in šport Republike Slovenije. Za pomoč pri postavitvi eksperimentov se zahvaljujemo sodelavcema Katedre za tehnologijo lesa, Oddelka za lesarstvo, Biotehniške fakultete Maksu Mereli, univ. dipl. inž. les. ter Petru Cundru, inž. les.. Zahvaljujemo se prof. dr. Jasni Štrus z Oddelka za biologijo, Biotehniške fakultete ter njenim sodelavcem za pomoč pri vklapljanju vzorcev v epoksidno smolo v njihovih laboratorijih. Hvala doc. dr. Tomu Levaniču in Gozdarskemu Inštitutu Slovenije, da so nam omogočili delo na terenu.