

MENDELOVA UNIVERZITA V BRNĚ

Lesnická a dřevařská fakulta

Ústav nauky o dřevě

**Analýza tvorby dřeva buku lesního (*Fagus sylvatica* L.)
na buněčné úrovni**

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Brno 2017

Jakub Mikel

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem práci Analýza tvorby buku lesního (*Fagus sylvatica* L.) na buněčné úrovni vypracoval samostatně a veškeré použité prameny a informace uvádím v seznamu použité literatury. Souhlasím, aby moje práce byla zveřejněna v souladu s § 47 b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a v souladu s platnou Směrnicí o zveřejňování vysokoškolských závěrečných prací. Jsem si vědom, že se na moji práci vztahuje zákon č. 121/2000 Sb., autorský zákon, a že Mendelova univerzita v Brně má právo na uzavření licenční smlouvy a užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona. Dále se zavazuji, že před sepsáním licenční smlouvy o využití díla jinou osobou (subjektem) si vyžádám písemné stanovisko univerzity, že předmětná licenční smlouva není v rozporu s oprávněnými zájmy univerzity, a zavazuji se uhradit případný příspěvek na úhradu nákladů spojených se vznikem díla, a to až do jejich skutečné výše.

V Brně dne 2017

.....

Jakub Mikel

Poděkování

V první řadě bych chtěl poděkovat vedoucímu mé bakalářské práce panu doc. Ing. Vladimíru Grycovi, Ph.D. za vstřícnost, praktické rady a připomínky během výzkumu a psaní. Dále můj dík patří Dr. Kyriaki Giagli, která mi věnovala spoustu času a předala mi spoustu cenných rad při zpracování a vyhodnocování vzorků. Také bych chtěl poděkovat za pomoc panu Ing. Hanuši Vavrčíkovi, Ph.D., který mi byl nápomocen při zpracování výsledných dat. V neposlední řadě bych chtěl poděkovat Štěpánu Sýkorovi za spolupráci při práci v laboratořích.

Abstrakt

Jakub Mikel: Analýza tvorby dřeva buku lesního (*Fagus sylvatica* L.) na buněčné úrovni.

Bakalářská práce se zabývá analýzou tvorby dřeva buku lesního (*Fagus sylvatica* L.) na buněčné úrovni. Byly odebírány vzorky ze 3 mladých stromů, v pravidelných týdenních intervalech ve dvou po sobě jdoucích vegetačních obdobích, a to roku 2013 a 2014 za pomoci přístroje trephor. Z mikrovývrtů byly zhotoveny trvalé mikroskopické preparáty, které byly pozorovány pomocí světelného mikroskopu.

Tato práce zkoumá kambiální aktivitu a proces tvorby dřeva v průběhu vegetačních období (březen–listopad). Pomocí světelného mikroskopu byl zaznamenán začátek kambiální aktivity, její maximální činnost a ukončování. Dále byl sledován průběh diferenciacce buněk v jednotlivých fázích: radiálního rozšiřování, tvorba sekundární buněčné stěny a lignifikace. Naměřené hodnoty radiálního přírůstu byly za pomoci Gompertzovi funkce proloženy křivkou, která nám stanovila optimální model radiálního přírůstu v průběhu vegetačního období. Ze získaných dat byl následně určen datum maximální denního přírůstu a průměrný přírůst za den. Pozorování kambiální činnosti a následné diferenciacce buněk ve vztahu ke klimatickým podmínkám nám usnadní pochopení spojitosti mezi tvorbou dřeva, jeho výslednou stavbou a vlivem okolního prostředí. Získané výsledky byly porovnány s odbornou literaturou zabývající se podobnou problematikou.

Klíčová slova: buk lesní (*Fagus sylvatica* L.), trephor, mikrovývrt, světelný mikroskop, kambium, letokruh

Abstrakt

Jakub Mikel: Analysis of wood of european beech buk lesní (*Fagus sylvatica* L.) at the cellural level.

The bachelor thesis describes the analysis of the wood creation of the european beech wood (*Fagus sylvatica* L.) at the cellular level. The samples of three young trees were taken at weekly intervals, for two consecutive vegetation periods in 2013 and 2014. Subscriptions took place between 2013 and 2014, using the trephor. Permanent microscopic preparations were made from mikrocores and were observed using a light microscope.

This work explores the cambial activity and the proces of wood formation during the year season (from March to April). By using the light microscope, the beginning of cambial activity, it's maximum activity and termination was recorded. Furthemore, the course of the cell differentiation in individual phases (radial expansion, the sekundary wall formation and lignification) were observed. Measured values of radial expansion were interleaved by the curve of the Gompertz function, which set the optimal model of radial increase during the year season. The date of maximum daily gain and average increase per day was determined from obtained data. Observing the cambial activity and the cell diferentiation in relation to climatic conditions will help us to understand the link between the wood formation and the influenc of the environment. The obtained results were compared with the professional literature.

Key words: european beech (*Fagus sylvatica* L.), trephor, mikrocores, light microscop, cambium, growth-ring

Obsah

1.	Úvod.....	8
2.	Literární přehled.....	9
2.1	Charakteristika buku lesního (<i>Fagus sylvatica</i> L.).....	9
2.2	Makroskopická stavba listnatých dřevin	9
2.2.1	Letokruh.....	9
2.2.2	Běl	10
2.2.3	Jádro	10
2.2.4	Vyzrálé dřevo	11
2.2.5	Makroskopická stavba dřeva Buku lesního (<i>Fagus sylvatica</i>)	11
2.3	Mikroskopická stavba listnatých dřevin	12
2.3.1	Cévy	12
2.3.2	Tracheidy (cévice)	13
2.3.3	Libriformní vlákna.....	13
2.3.4	Parenchymatické buňky	13
2.3.5	Dřeňové paprsky	14
2.3.6	Axiální dřevní parenchym	14
2.3.7	Mikroskopická stavba dřeva buku lesního (<i>Fagus sylvatica</i>)	15
2.4	Struktura a chemické složení buněčné stěny	16
2.4.1	Struktura buněčné stěny.....	16
2.4.2	Chemické složení buněčné stěny	17
2.5	Činnost kambia	19
2.6	Diferenciace elementů dřeva.....	20
2.7	Analýza tvorby dřeva (xylogeneze)	21
3.	Metodika	22
3.1	Popis výzkumné plochy	22

3.2	Klimatické podmínky ve sledovaných letech	22
3.3	Odběr mikro vývrtů	23
3.4	Zpracování odebraných mikro vývrtů	24
3.5	Dehydratace mikrovývrtů.....	25
3.6	Zalévání do parafínu	26
3.7	Krájení vzorku na mikrotonu	27
3.8	Výroba trvalých vzorků	28
3.9	Analýza trvalých vzorků	30
3.10	Analýza dat za pomocí Gompertzovy funkce.....	31
4.	Výsledky	32
4.1	Analýza kambiální aktivity	32
4.1.1	Vzorníkový strom B1	32
4.1.2	Vzorníkový strom B2	32
4.1.3	Vzorníkový strom B3	33
4.2	Analýza procesu diferenciacce	35
4.2.1	Vzorníkový strom B1	35
4.2.2	Vzorníkový strom B2	37
4.2.3	Vzorníkový strom B3	39
	Analýza radiálního přírůstu pomocí Gompertzovy funkce.....	41
5.	Diskuze	44
6.	Závěr	48
7.	Summary	48
8.	Citovaná literatura.....	50
9.	Seznam obrázků	52
10.	Seznam tabulek	54

1. Úvod

Dřevo, jakožto živý materiál, který nám poskytuje příroda, je skvělým pomocníkem v životě člověka. Jeho široká rozmanitost vlastností, je člověkem využívána už od pradávna, ať už jako zdroj energie na vytápění či ke tvorbě nářadí, stavbě domů nebo vytváření umění. A právě široká využitelnost a skvělé mechanické i fyzikální vlastnosti je důvodem pro člověka, zdokonalovat se ve zpracování dřeva a dozvědět se o něm co nejvíce. S každým dalším rozbořem a výzkumem je člověk blíže k porozumění tohoto složitého materiálu ať už po chemické, mikroskopické nebo makroskopické stránce. Tento heterogenní materiál obsahuje celou řadu buněk lišící se od sebe svými funkcemi, které svým zastoupením ve dřevě ovlivňují jeho vlastnosti.

Zdrojem dřeva jsou lesy, které nejen že poskytují tuto surovinu, ale ovlivňují i klimatické podmínky na naší planetě, tvoří takzvané "plíce planety". Proto a mnoho dalšího je důležité umět se starat o lesy a růst stromů. Je nutné si uvědomit vztah mezi stromem a okolím v kterém roste, neboť materiálové vlastnosti daného dřeva jsou závislé na průběhu jeho růstu, a tedy i oblasti kde se nacházel.

Na našem území ČR se nachází celá řada druhů dřevin, avšak tato práce se bude týkat jedné, a to buku lesního. Jedná se o velice rozšířenou listnatou dřevinu, která má široké využití. Dřevo buku se využívá např. v nábytkářském průmyslu na výrobu nábytku, ohýbaných prvků, lamelových křesel ale taky výroba rukojetí nářadí a sportovní vybavení. Získává se z něj dýha jak krájená (dekorativní) tak i loupaná na technické překližky.

Zmíněná práce analyzuje tvorbu dřeva na buněčné úrovni. Pozorováním průběhu činnosti kambia a následné lignifikace v určitých klimatických podmínkách nám pomůže pochopit vztah mezi růstem a stavbou dřeva, které se získá z dané lokality.

2. Literární přehled

2.1 Charakteristika buku lesního (*Fagus sylvatica* L.)

Buk lesní je strom listnatý, opadavý s mohutným válcovitým kmenem. Průměrně se tato dřevina dožívá 200–400 let a dosahuje výšky 40–50 metrů. Koruna stromů se zde vyskytuje kulovitá (u stromu rostoucího v prostoru), nebo metlovitá (strom rostoucí v porostu) (Úřadíček et al., 2001). V dospělosti bývá koruna nasazená vysoko s ostrým úhlem větvení (Chmelař, 1990). Kořenový systém má typ srdčitý, díky kterému není náchylný na vývraty a bývá pevně ukotven v zemi (Úřadíček et al., 2001).

Buk se nejčastěji vyskytuje v nadmořské výšce 300–1000 m n.m. při zastoupením v České republice 7,21 %. Jedná se o jednu z nejdůležitějších hospodářských dřevin v ČR. Ovšem dříve se jednalo o naši přirozeně nejrozšířenější dřevinu se zastoupením 40 %. Dnes se v porostech nejčastěji mísí s dubem (v nížinách), jedlí (v pahorkatinách) a původní bukoviny z části nahrazují borovice a smrky.

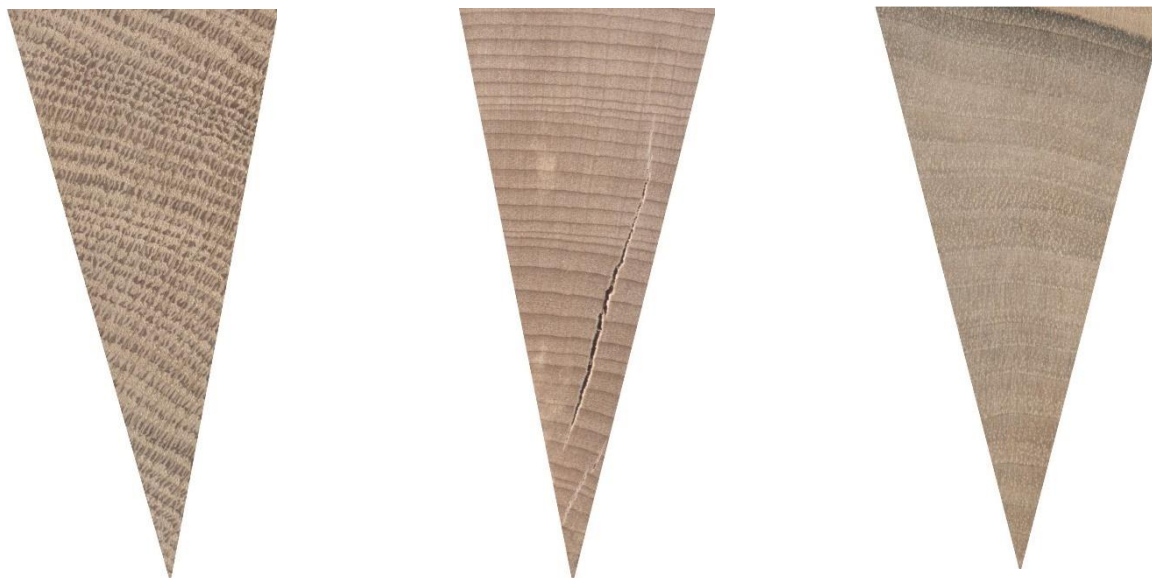
Buku vyhovuje mírné oceánské klima. Ideální podmínky pro růst jsou dobře provzdušněné půdy bohaté na minerály, humus a dostatečnou vlhkost. Avšak nezvládá vyskyt záplav či pravidelně velkou vlhkost půdy (Uhlířová et al.,). Optimální teploty pro buk mezi nejteplejším a nejchladnějším měsícem jsou 15–25 °C. Přičemž v nejchladnějším měsíci v roce by se teploty měly pohybovat okolo 0 °C. Buku nevyhovují pozdní mrazy, a tedy se nehodí do mrazových oblastí (Chmelař 1990).

2.2 Makroskopická stavba listnatých dřevin

2.2.1 Letokruh

Díky činnosti dělivého pletiva – kambia se tvoří každé vegetační období radiální přírůstek dřeva, tento přírůstek nazýváme letokruh. Letokruhy se skládají ze dvou částí, které jsou barevně rozlišeny. Jedná se o světlejší jarní dřevo, které vzniká na začátku vegetačního období a tmavší letní dřevo (Požgaj et al., 1997). Listnaté dřeviny, které se u nás vyskytují, rozdělujeme dle rozložení letokruhu do tří skupin – kruhovitě pórovité, roztroušeně pórovité a polokruhovitě pórovitá (obr č. 1) (Šlezingerová & Gandelová, 2002). U roztroušeně pórovitých dřevin je rozpoznání hranice letokruhu obtížné, avšak u některé druhů listnáčů z téhle skupiny lze hranici letokruhu rozlišit. Do téhle skupiny patří i Buk Lesní (Šlezingerová & Gandelová, 2012). Díky roztroušeným úzkým mikroporům po letokruhu, které nejsou makroskopicky zřetelné, nelze

rozlišit pouhým okem letní a jarní dřevo. Šířka letokruhu nezávisí jen na druhu dřeviny, její stáří a přírůstkové vlastnosti ale i na lokalitě kde se daný strom nacházel, tedy postavení dřeviny v porostu a klimatických podmínkách (Zobel & Sprague, 1986).



Obrázek 1: Makroskopická stavba letokruhu listnatých dřevin: kruhovitě pórovité, roztroušeně pórovité, polokruhovitě pórovité (Anatomická stavba dřeva – lexikon dřev 2002)

2.2.2 Běl

Dle (Šlezingerová & Gandelová, 2002) je běl definována jako část kmene živého stromu, ve které se nachází živé buňky obsahující zásobní látky. Dále je charakterizována výskytem vodivých elementů, umožňující vedení vody s minerály z kořenů k listům. Díky vodivé funkci je značná i větší vlhkost této části kmene. Po skácení je barva běle světle žlutá a po postupném vysychání se jeho barva mění. Do nepříznivé vlastnosti běle patří především snadné napadení hmyzem a náchylnost ke hnilobě (Šlezingerová & Gandelová, 2012). Zástupci, patřící do bělových dřevin mají různou šířku běle (Bamber, 1987). 1997).

2.2.3 Jádro

Jádro je část kmene typická svým tmavším zbarvením, která je z fyziologicky nečinná, jde tedy o mrtvé pletivo tvořící neživé buňky. Jádrové dřevo se tvoří procesem stárnutí, kdy dochází k odumírání parenchymu (Higuchi, 1985). Neprůchodnost vodivých cest (cévy, cévice) je způsobena ucpáním dvojteček, thylamy a jádrovými látkami (Šlezingerová & Gandelová, 2002). Jedná se tedy o mrtvou část kmene, která nemá vodivou funkci, ale funkci mechanickou, tedy zvyšuje stabilitu kmene. Jádru taktéž vykazuje vyšší odolnost proti houbám a hmyzu, což je dáno fenolickými látkami a terpeny (Šlezingerová & Gandelová, 2012). U některých listnáčů (bříza, javor, buk atd.), u kterých se nevyskytuje pravé jádro, se díky

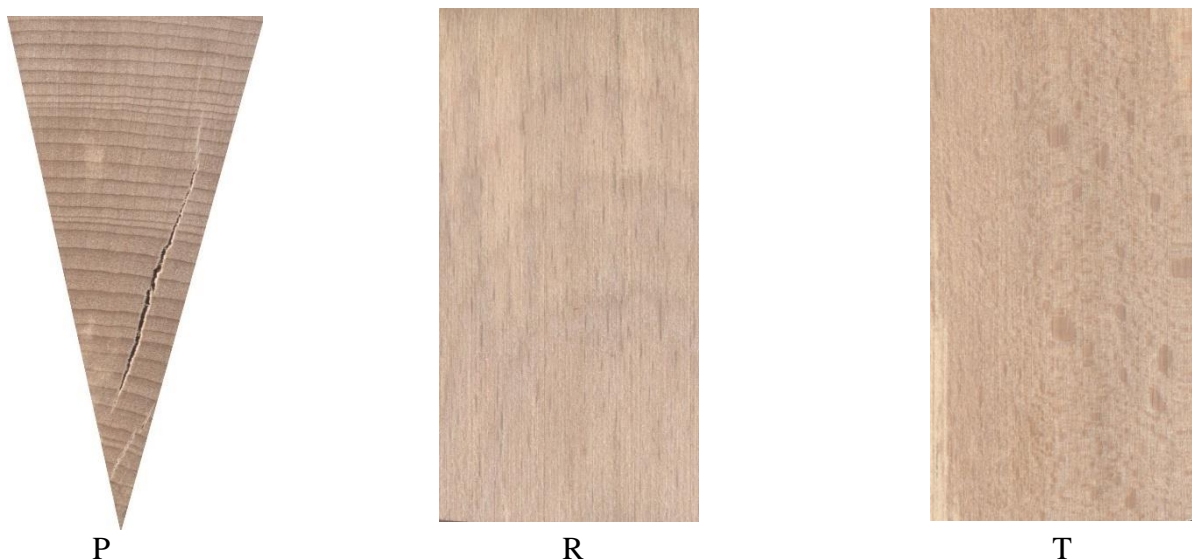
fyziologickým procesům (za vlivu biotických a abiotických činitelů) vyskytuje jádro nepravé. Takto vzniklé nepravé jádro je typické svým nepravidelným tvarem a tmavošedým zabarvením (Gandelová, 2009). Nepravé jádro můžeme dle tvaru rozdělit na okrouhlý jednoduchý, okrouhlý dvojitý, hvězdicovitý, paprskovitý či plamencový (Gandelová, 2009). (Nečesaný, 1958) tvrdí, že nejčastější příčina vzniku nepravého jádra je poranění kmene stromu, díky kterému dochází ke vnikání vzduchu do kmene. Takto je zapříčiněn vznik zdravého nepravého jádra, avšak nepravé jádro nezdravé způsobují dřevokazné houby (Požgaj et al., 1997). Gandelová, (2009) označuje takto vzniklé jádro jako vadu dřeva.

2.2.4 Vyvrálé dřevo

U některých listnatých dřevin, kam nepochybně patří i buk, lze ihned po skácení pozorovat světlejší centrální část dřeva neboli vyvrálé dřevo. Díky nižšímu obsahu vody oproti běli je vyvrálé dřevo barevně odlišeno světlejší odstínem. Po vyschnutí kmene dochází ke ztrátě barevného rozdílu (Wagenfuhr, 1989). Dle Šlezingerová & Gandelová, (2012) pro praktické určování dřeva nemá vyvrálé dřevo význam.

2.2.5 Makroskopická stavba dřeva Buku lesního (*Fagus sylvatica*)

Dřevo buku lesního nemá vylišeno jádro a běl a zařazujeme ho do roztroušeně pórovitých dřevin. Díky roztroušeně pórovité stavbě, nelze rozlišit v letokruhu letní a jarní dřevo. Dřevo je typické svou narůžovělou barvou a výraznými dřevnými paprsky, které jsou zřetelné na všech řezech (Šlezingerová & Gandelová, 2012). Dřevné paprsky na tangenciálním řezu jsou v podobě svislých načervenalých páscích, avšak na radiálním řezu se vyskytují jako zřetelná zrcátka. V příčném řezu můžeme pozorovat dřevné paprsky jako husté pásy probíhající kolmo na letokruhy (Grosser, 1977). Bukové dřevo, se svou hodnotou hustoty $685 \text{ kg} \cdot \text{m}^3$ a tvrdosti 61MPa (při nulové vlhkosti) spadá do středně těžkých a středně tvrdých dřevin (Šlezingerová & Gandelová, 2012). Jeho příjemný vzhled a dobré vlastnosti našli uplatnění v řadě odvětví dřevozpracujícího průmyslu. Nejvíce byl využíván k výrobě ohýbaného nábytku (židle Thonet), dále je využíván ve výrobě dýh, překližek, parket, pražců i k chemickému zpracování. Jeho širokospektrální využitelnost patří bezpochyby do kladných vlastností, avšak k jeho negativním vlastnostem patří malá trvanlivost a odolnost vůči houbám a hmyzu (Šlezingerová, 1999).



Obrázek 2: Makroskopická stavba základních řezů dřeva buku. P – příčný řez, R – radiální řez, T – tangenciální řez (Anatomická stavba dřeva - lexikon dřev 2002)

2.3 Mikroskopická stavba listnatých dřevin

2.3.1 Cévy

Cévy jsou vodivé elementy typické pouze pro listnaté dřeviny, u jehličnatých dřevin se tento druh buněk nevyskytuje. Jsou to tvarem připomínající kapiláry, které se skládají z vertikálně uložených tzv. cévkatých článků. Cévy zpravidla nepřesahují 10 mm, avšak u některých dřevin cévy dosahují i větší délky (např. Buk 0,8 - 2 metry). Tento fakt je využíván především při impregnaci, kdy u buku zvyšuje jeho propustnost v podélném směru (Požgaj et al., 1997). Články cév jsou ve srovnání s tracheidami kratší a dosahují větších průměrů. (Taiz & Zeiger, 2002). Cévní články v řadě nad sebou na sebe plynule navazují pomocí tzv. perforací, které vznikly rozrušením příčné buněčné stěny cévních článků v průběhu diferenciaci (Šlezingerová & Gandelová, 2012). Jednoduchá perforace se vyznačuje pouze prstencem na vnitřním obvodu cévy a volným prostorem uvnitř. Pokud v místech rozrušené buněčné stěny zůstane řada přeprádek, nazýváme perforaci jako složenou. (Šlezingerová & Gandelová, 2002). U buku se vyskytuje jak jednoduchá, tak i složená perforace. Pro větší pevnost dřeva, se můžou na stěnách cév vyskytovat jednoduché či spirálovité ztlustěny (Matovič, 1988). Cévy lze rozlišit i dle velikosti. Objevují se zde široké cévy, které jsou viditelné i pouhým okem mající příčný rozměr (0,2 - 0,4 mm). Tenčí cévy neboli mikropóry nacházející se v letním dřevě mají šířku jen do (0,03 - 0,04 mm). U listnatých dřevin můžeme pozorovat na příčném řezu různé uskupení a velikost cév, dle kterých můžeme tyto dřeviny

rozdělit do tří skupin, a to s kruhovitě pórovitou, roztroušeně pórovitou a polokruhovitě pórovitou stavbou. Roztroušeně pórovité dřeviny obsahují ve svém dřevě cévy o šířce v rozpětí 0,02 - 0,15 mm.

2.3.2 Tracheidy (cévice)

Tracheidy neboli cévice se ve dřevě listnáčů vyskytují ve třech formách (Požgaj et al., 1997). První z nich jsou cévovité tracheidy, které tvoří přechod mezi cévami listnáčů a tracheidami jehličnanů. Jsou to uzavřené buňky protáhlého tvaru s dvojtečkami na stěnách. Ve dřevě slouží k vedení vody s rozpuštěnými minerálními látkami. Dalším typem jsou vláknité tracheidy, které představují přechod mezi tracheidou a libriformním vláknem. Hlavní rozdíl mezi nimi je přítomnost dvojteček, ovšem v menším množství než u cévovitých tracheid (Matovič, 1988). Hlavním úkolem vláknitých tracheid je funkce mechanická, avšak mohou mít i funkci zásobní a vodivou (Požgaj et al., 1997). Posledním typem tracheid jsou takzvané vazicentrické, které se vyskytují v blízkosti cév. Jsou to krátké uzavřené buňky, které nemají schopnost vytvářet axiální vodivé cesty, ale mohou se podílet na vodivé funkci. (Požgaj et al., 1997)

2.3.3 Libriformní vlákna

Libriformní vlákna neboli dřevní sklerenchymatická vlákna tvoří hlavní podíl v dřevní hmotě listnáčů (Šlezingerová & Gandelová, 2012). Jsou to axiálně uložené protáhlé buňky, jež splňují mechanickou funkci ve dřevě. Rozměry a tloušťka buněčných stěn libriformních vláken je závislá na druhu dřeva. Například dřevo Lípy (*Tilia cordata*) obsahuje podíle libriformních vláken 36%, buk (*Fagus sylvatica*) 37 - 44 % a dřevo Javoru (*Acer platanoides*) až 78 % (Požgaj et al., 1997). U buku můžeme pozorovat zoubkované konce vláken, díky kterým dosahují pevnější spojení (Wagenfuhr, 1989). Pro mikroskopické určování našich dřev nemají velký význam (Šlezingerová & Gandelová, 2012)

2.3.4 Parenchymatické buňky

Parenchymatické buňky tvoří radiální parenchym takzvané dřeňové paprsky a axiální (podélný) dřevní parenchym (Šlezingerová & Gandelová, 2012). Buňky parenchymu mají rozmanité tvary (hranolovité, krychlovité, větvenovité) a ve dřevě listnatých dřevin se vyskytují ve větším zastoupením než ve dřevě jehličnatých dřevin. Jejich podíl u listnatých dřevin se pohybuje okolo 8–35 % z celkového objemu dřeva (Požgaj et al., 1997). Dále se může ve dřevě vyskytovat i takzvaný traumatický parenchym, který se vytváří díky poranění kambia (zejména hmyzem) (Šlezingerová & Gandelová, 2012). Takto vzniklý parenchym následně zavalí

poraněné zóny, které se projeví jako dřevné skvrny. Nejčastější výskyt zmiňovaných dřevných skvrn můžeme pozorovat u dřevin hrušeň, vrba, olše a bříza (Matovič, 1988). Parenchymatické buňky mají funkci zásobní a vodivou. Převážně ukládají sacharidy, bílkoviny a škoryby, které následně rozvádějí nebo při nedostatku uvolňují (Požgaj et al., 1997).

2.3.5 Dřevné paprsky

Pokud hovoříme o dřevných paprcích, mluvíme o velkých seskupení parenchymatických buněk, které jsou orientovány kolmo k ose kmene. Ve dřevě listnáčů se vyskytují ve větším zastoupení a morfologicky rozmanitější oproti jehličnanům (Šlezingerová & Gandelová, 2012). Dle tvaru rozdělujeme dřevné paprsky do dvou základních typů, a to jsou homogenní a heterogenní dřevné paprsky. Heterogenní dřevné paprsky jsou tvořeny stojatými i ležatými parenchymatickými buňkami. Nejčastěji jsou ležaté buňky uloženy ve středu dřevného paprsku a na okrajích se vyskytují buňky stojaté nebo čtvercové. Avšak na stavbě homogenního dřevného paprsku se podílí jen jeden druh buněk, a to jen stojaté, anebo ležaté (Gandelová, 2009). Dále Gandelové (2009) lze dřevné paprsky rozdělit podle styku s cévami na kontaktní, kontaktně izolační a izolační. Kontaktní dřevné paprsky komunikují s cévami pomocí teček, oproti tomu izolační dřevné paprsky nejsou v kontaktu s cévami vůbec a nejčastěji vznikají u dřevin s nepravými dřevnými paprsky (dub, habr, olše). Kontaktně izolační představují spojení dvou předchozích typů neboli některé parenchymatické buňky jsou spojeny s cévami a některé nejsou (Požgaj et al., 1997). Odlišnost vícevrstvého dřevného paprsku od jednovrstvého spočívá v počtu vrstev buněk, které leží vedle sebe. Vrstevnatost (šířka) a výška dřevných paprsků se nejlépe určuje na tangenciálním řezu. Většina listnatých dřevin má dřevné paprsky široké více než jedna buňka. Vrstevnatost, výška a typ dřevného paprsku je jedním z hlavních diagnostických znaků listnatých dřevin (Matovič, 1988).

2.3.6 Axiální dřevní parenchym

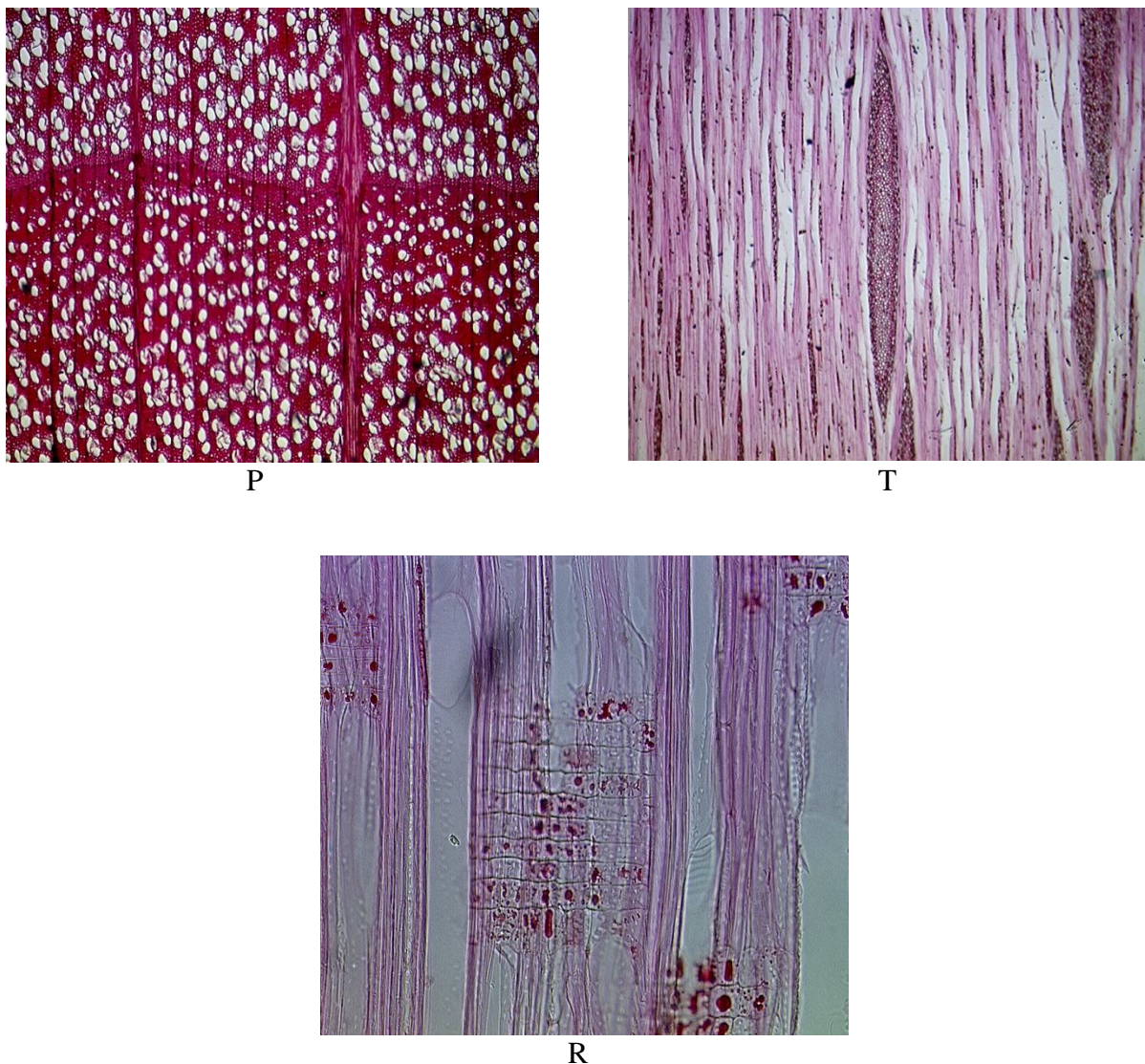
Podélný (axiální) dřevní parenchym je tvořen parenchymatickými buňkami, které jsou seskupeny rovnoběžně s osou kmene a jejich primární funkce je funkce zásobní, kterou vykonává v bělovém dřevě nebo v obvodových částí kmene (Wagenfuhr, 1989). V listnatých dřevinách se axiální parenchym vyskytuje ve větším množství (10 % objemu dřeva) než ve dřevě jehličnatých dřevin a vytváří různé seskupení či tvary (Chovanec et al., 1977). Parenchym je tvořen čtvercovými, vřetenovitými nebo obdélníkovými parenchymatickými buňkami. Na stěnách buněk jsou jednoduché ztenčeniny, které jsou slabě ztloustlé. Navzájem se propojují s dřevnými paprsky pomocí teček (Wagenfuhr, 1989).

Podle seskupení parenchymatických buněk v rámci letokruhu a kontaktu s cévami se

axiální parenchym rozděluje do dvou skupin. Dřevní parenchym spojen s cévami označujeme jako paratracheální, a naopak apotracheální parenchym je ten co ve styku s cévami není, přičemž v rámci těchto skupin se vylišují ještě další podskupiny (Gandelová, 2009). Dále lze rozdělit paratracheální dřevní parenchym na skupinový, vazicentrický, vazicentrický křídlový, vazicentrický splývavý, křídlovitě splývavý, jednostraný a svazkový. Apotracheální dřevní parenchym rozděluje na rozptýlený, rozptýleně nakupený, tangenciálně síťovitý až žebříčkovitý, svazkový a hraniční. Nejlépe je patrné seskupení axiálního parenchymu na příčných řezech, neboť dochází k příčnému přerušení buněk (Gandelová, 2009).

2.3.7 Mikroskopická stavba dřeva buku lesního (*Fagus sylvatica*)

Mikroskopická stavba buku lesního (*Fagus sylvatica*) je značně rozmanitá, neboť obsahuje všechny typy buněk, které se u listnaté dřeviny mohou objevit (Nečesaný, 1958). Jednotlivé anatomické elementy buku lesního mají následující procentuální zastoupení: libriformní vlákna a cévice 37,4 %, cévy 27 %, dřeňové paprsky 27 % a dřevní parenchym 4,6 % (Balabán, 1955). Vodivá funkce ve dřevě buku je zprostředkována především cévami (částečně i cévicemi), které jsou skvěle přizpůsobené k vedení vody s minerálními látkami podél osy kmene. Cévy buku jsou hustě uspořádané a mohou se objevovat v radiálních skupinách po čtyřech. Délka těchto elementů se u buku pohybuje od 0,8–2 m (Požgaj et al., 1997). Perforace cév buku lesního se vyskytuje jak jednoduchá, tak i žebříčková. V jarním dřevě se tvoří širší cévy s jednoduchou perforací a v pozdním dřevě se vytváří užší cévy s žebříčkovou perforací (Šlezingerová & Gandelová, 2012). Pokud se ve dřevě objevuje nepravé jádro, mohou se v cévách vyskytovat thyly a jádrové látky. Dřevo buku dále obsahuje všechny tři druhy cévic neboli tracheid (cévovité, vláknité, vazicentrické) (Gandelová, 2009). Dřevní parenchym doprovází cévy a cévice a je rozptýlen mezi dřevními vlákny. Ve dřevě buku se nachází jak axiální parenchym paratracheální, tak i axiální parenchym apotracheální (Balabán, 1955). Na mechanické funkci se nejvíce podílí dřevní sklerenchymatická vlákna neboli libriformní vlákna. Velikost libriformních vláken je závislá na svém postavení v letokruhu, místa na kmeni či stáří dřeviny (Gandelová, 2009). Struktura, tloušťka buněčných stěn i celkový podíl libriformních vláken ve dřevě ovlivňuje jeho hustotu a mechanické vlastnosti (Regináč, 1978). Dřeňové paprsky, které se ve dřevě buku vyskytují jsou široké, heterogenní a jednovrstevné, ovšem v menším počtu se objevují i mnohovrstevné. Typické pro dřeňové paprsky buku je rozšíření na přechodu letokruhu (Gandelová, 2009).



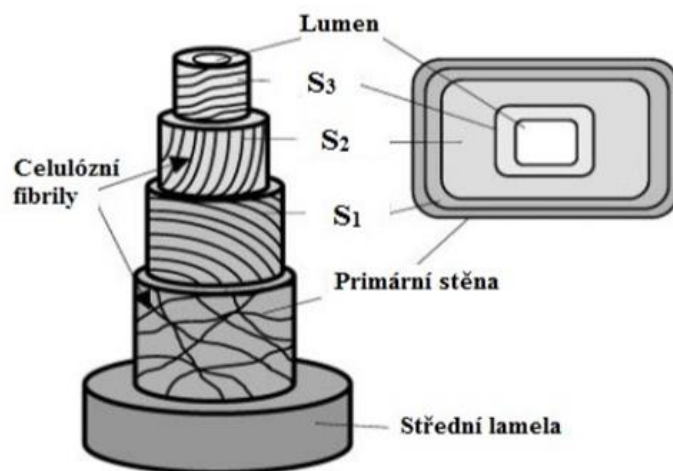
Obrázek 3: Mikroskopická stavba základních řezů dřeva buku. P – příčný, T – tengenciální, R – radiální (Anatomická stavba dřeva – lexikon dřeva 2002)

2.4 Struktura a chemické složení buněčné stěny

2.4.1 Struktura buněčné stěny

Požgaj et al. (1997) uvádí, že pomocí příčného řezu, můžeme rozpoznat několik vrstev buněčné stěny, které se liší strukturou i chemickým složením. Gandelová (2009) uvádí jednotlivé vrstvy – střední lamela (SL), primární stěna (P), složená sekundární stěna (S1, S2, S3) (viz obr. 4). Dále se vyskytuje bradavičnatá vrstva (S4), taktéž označována W vrstva, která pokrývá ze strany lumenu vrstvu S3 (Gandelová, 2009). Díky buněčnému dělení (cytokineze) vzniká buněčná stěna. Jako první viditelná struktura je plazmatická destička, která odděluje dceřiné protoplasty a následně v procesu diferenciaci se mění na střední lamelu (SL). Střední lamelu tvoří především hemicelulózy, pektiny a v pozdější fázi značně lignifikuje

(Gandelová, 2009). V poloze lamely v tangenciálním a radiální směru se vyskytují rozdíly jak v tloušťce, tak i v chemickém složení. Střední lamela je tlustší, více lignifikovaná a mechanicky pevnější v radiálním směru, než ve směru tangenciálním (Požgaj et al., 1997). Primární stěna (P) je po chemické stránce takřka stejná jako střední lamela, avšak vyskytuje se u ní ještě glykoprotein. Po strukturální stránce se však liší. Měkká hmota, skládající se z pektinu a hemicelulóz, které propojuje fibrily celulózy je základní hmotou primární stěny. Orientace fibril v primární stěně je odlišná. Fibrily mají odklon k podélné ose buňky 0-90 % (Požgaj et al., 1997). Jakmile dosáhne buňka konečných rozměrů, začne se ukládat mezi celulózy lignin. Sekundární buněčná stěna (S) se začíná vytvářet ve fázi dozrávání buněk, a to přikládáním nových vrstev (lamel) na již existující strukturu. Díky tomuto procesu dochází k tloušťnutí buněčné stěny směrem dovnitř (Procházka, 2006). Na rozdíl od primární stěny má rovnoběžnou orientaci celulózových fibril. Skládá se ze tří základních vrstev S1 – venkovní, S2 – střední a S3 – vnitřní. Každá z vrstev se od sebe liší tloušťkou, strukturou a částečně i chemickým složením, díky čemuž mají velký vliv na mechanické vlastnosti dřeva (Požgaj et al., 1997).



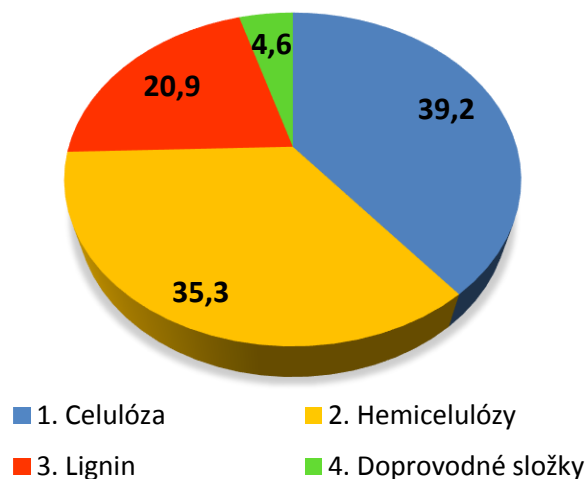
Obrázek 4: Trojrozměrná struktura sekundární buněčné stěny (Plomion et al., 2001).

2.4.2 Chemické složení buněčné stěny

Ve dřevě se z chemického hlediska vyskytují složky hlavní (90–97%), jde o látky organického typu a složky vedlejší (3-10%) anorganické i organické. Mezi hlavní složky patří celulóza (43–50 % u listnatého dřeva). Jedná se o polysacharid, jenž se skládá z β -D-glukopyranosových jednotek spojených v poloze 1 a 4. Řetězce celulózy jsou pospojovány napříč vedlejšími vodíkovými vazbami, díky kterým má dřevo rozlišné fyzikální i mechanické vlastnosti v různých směrech. Celulózové řetězce jsou základní složkou primární i sekundární

stěny, kdy tvoří kostru buněčné stěny. Dalším důležitým sacharidem, který ve dřevě najdeme, je hemicelulózy. Je to polysacharid, který obaluje řetězce celulózy a představuje tak přechod mezi celulózu a ligninem. Pokud bychom porovnali celulózu a hemicelulózy zjistíme, že hemicelulóza vytváří menší řetězce a má menší relativní molekulovou hmotnost. Průměrně dřevo obsahuje 20-30 % hemicelulóz, přičemž výskyt u listnatých dřevin je vyšší (buk 23–35%) (Požgaj et al., 1997). U buku můžeme pozorovat značné propojení mezi hemicelulózu a celulózu, kdy nejsme schopni izolovat celulózu bez znečištění hemicelulózu (Jánkovský, 1999). Dle hlavních komponentů lze rozdělit hemicelulózu do tří skupin (xylány, galaktány, manány) (Požgaj et al., 1997).

Poslední hlavní složkou není sacharid, ale trojdimenzionální řetězově rozvětvený amorfni polymer, jenž se nazývá lignin (Požgaj et al., 1997). Zastává 20-30 % z hmotnosti dřeva a díky jeho schopnosti dřevnatění buněčných stěn, dodává buňkám, a tedy i dřevu mechanickou pevnost (Chovanec et al., 1977). Šlezingerová & Gandelová, (2002) uvádějí že největší zastoupení ligninu je ve střední lamele a primární buněčné stěně. Pokud bychom průřez buněčnou stěnou brali z chemického hlediska, zjistíme, že od okraje směrem do středu lumenu ubývá ligninu, tedy amorfni části a stává se více krystalickou neboli přibývá množství celulózy a hemicelulózy. Lignin je termoplastický, čehož se využívá při plastifikaci (Požgaj et al., 1997). V poslední řadě se ve dřevě vyskytují látky doprovodné, jejichž zastoupení ve dřevě je 3–10 %. Jsou to látky jak organické, tak i anorganické.



Obrázek 5: Zastoupení chemických látek ve dřevě buku upraveno dle (Blažejce, 1975)

2.5 Činnost kambia

Zvětšení průměru stromů neboli přírůst dřevní hmoty vzniká v určitých částech stromu tzv. v meristémech (Gričar, 2012). Meristémy mají dělivou schopnost po celou dobu jejich životnosti, neboť se skládají z aktivně se dělících, nediferencujících buněk. Druhy dělivého meristému můžeme rozdělit do dvou skupin na primární a sekundární (laterální), (Berg, 2008). Sekundární meristém zapříčiňuje radiální růst dřevin, který poskytuje nárůst objemu sekundárního vodivého systému a mechanického pletiva. Činností kambia, jež můžeme rozdělit na korkové a vaskulární je uskutečněn radiální přírůst. Kambium je zóna živých buněk dělivých pletiv, kde vzniká směrem ke dřeni sekundární dřevo a sekundární lýko, tvořeno směrem k obvodu kmene (Matovič, 1975). Roční radiální přírůstky dřeva neboli letokruhy jsou způsobeny periodickou činností kambia. Druh dřeviny i období během růstu ovlivňuje počet buněk v kambialní zóně. Během ustálené aktivity v období vegetačního klidu se pohybuje počet kambialních buněk v 5-6 vrstvách v radiálním směru (Gričar & Čufar, 2008). Základní dva typy kambialních iniciál jsou vřetenovité iniciály a iniciály dřeňových paprsků. Vřetenovité kambialní iniciály vykazují rozměrovou i tvarovou různorodost závislou na druhu dřeviny. Vřetenovité iniciály tvoří axiálně orientované buňky protáhlého tvaru, které jsou na průřezu mnohoúhelníkového nebo obdélníkovitého tvaru. Na obou koncích jsou tyto buňky zakončeny šikmo nebo střechovitě (Plomion et al., 2001). Vřetenové kambialní iniciály s rostoucím věkem zvětšují svou délku, přičemž se jejich rozměr pohybuje v rozmezí 0,14 -1,62 mm. Iniciály dřeňových paprsků mají podobnou buněčnou strukturu jako předešlý typ, která se podobá parenchymatickým buňkám. Iniciály dřeňových paprsků vznikají příčným dělením a postranním oddělením z vřetenovitých iniciál. (Chovanec et al., 1977).

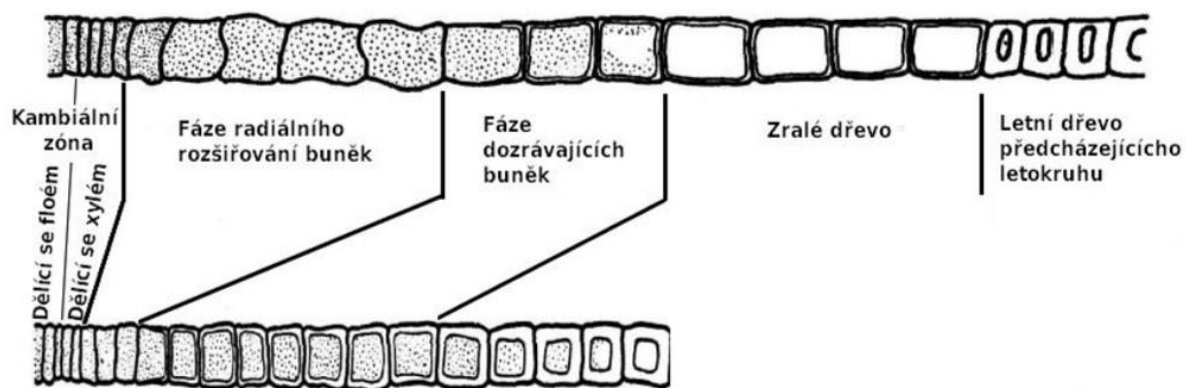
Tvar i počet buněk kambia se v průběhu celého roku mění. Samuels, (2006) vypořádal, že aktivita kambia u dřevin nacházejících se v mírném pásmu začíná od jara a končí na začátku podzimu. Na začátku vegetačního období je aktivita pozvolná a postupně graduje, kdy maximální aktivita začíná v polovině června a končí polovině srpna. V období maximální aktivity kambia se vytvoří až 75 % z celkového přírůstku. Poté aktivita postupně ustává, až počet buněk kambia dosáhne přibližně stejného počtu jako u latentního kambia. (Larcher, 2003). Aktivita kambia závis především na stanovišti, kde se dřevina nachází, druhu dřeviny a klimatických podmínkách v určitém vegetačním stupni (Gryc, 2012). Jelikož je xylém ve kmeni v nadbytku oproti floému, lze usoudit, že dělivá činnost kambia je intenzivnější na straně xylému než na straně floému. Ovšem tento případ platí jen za normálních podmínek. Pokud je

strom vystaven stresu či nepříznivým podmínkám, tvorba xylému se snižuje a poměr mezi floémem a xylémem se zmenšuje (Gričar, 2009).

2.6 Diferenciace elementů dřeva

Diferenciaci můžeme chápat, jako získávání rozdílné struktury, funkcí a kompletaci rostlinného těla (Procházka, 1998). Jakmile kambiální iniciála oddělí mateřskou buňku, začne se radiálně rozšiřovat a přestává být součástí kambiální zóny. Po ukončení procesu diferenciace, se výsledné buňky liší od kambiálních iniciál strukturou či svou funkcí (Savidge, 1996).

V první fázi po dělení přichází na řadu plošný růst buněk, kdy nabývají konečného tvaru a rozměru, přičemž jsou buňky stále živé a jejich stěny se skládají ze střední lamely a primární buněčné stěny. V druhé fázi dochází buňka do fáze dozrávání, kdy se vytváří sekundární buněčná stěna a jednotlivé vrstvy (S1, S2, S3). Systém ukládá lamely krystalické celulózy a dochází k upevnění tvaru buněk. V poslední fázi nastává proces dřevnatění neboli lignifikace (Fengel a Wegener 1989). Buňky vytvořené z vřetenových kambiálních iniciál, jako jsou dřevní vlákna cévy a cévice (orientované axiálně s osou kmene) jsou po lignifikaci mrtvé. Avšak buňky vytvořené z iniciál dřeňových paprsků (orientované kolmo k ose kmene) zachovávají životnost po lignifikaci i několik let (Požgaj et al., 1997). Wodzicki, (1971) znázornil diferenciaci anatomických elementů schematicky na obr.6.



Obrázek 6: Schéma diferenciace tracheid jarního (A) a letního (B) dřeva jehličnanů (Wodzicki, 1971)

2.7 Analýza tvorby dřeva (xylogeneze)

Analýza týkající se činnosti kambia a diferenciaci buněk je u listnatých dřevin s roztroušeně pórovitou stavbou velmi náročná. Tento fakt je zapříčiněn jejich složitější anatomickou stavbou, například oproti jehličnanům, které byly takto častěji zkoumané. Ovšem už proběhla řada výzkumů kambiální aktivity u roztroušeně a kruhovitě pórovitých dřevin. Například Horáček et al., (2003) na výzkumné lokalitě nedaleko Lednice nad Moravou analyzoval kambiální aktivitu dubu letního (*Quercus robur* L.). Dále se analýzou tvorby dřeva buku lesního zabýval Ondrouch (2012), která probíhala na výzkumné ploše Rájec – Domanka. Pozorování kambiální aktivity a tvorby dřeva jehličnanů, konkrétně jedle bělokoré (*Abies alba* Mill.) a smrku ztepilého (*Picea abies* (L.) karts.) prováděla Gričar (2007). Výzkum byl prováděn v lokalitě Ravnik ve Slovinsku, tedy v mírném pásu. Ve Slovinsku prováděli svůj výzkum i Čufar a Prisljan (2008), kteří zkoumali diferenciaci xylému buku lesního (*Fagus sylvatica* L.).

Vyhodnocení radiálního přírůstu xylému se nejčastěji používají tři metody. Jednou z metod je takzvaný pinning, který pracuje na principu vpichů ostrým nástrojem do kmene stromu. U druhé metody se používá dendrometr, který je upevněn na stromě a měří jeho průměr. Poslední a dle Makiena et al., (2008) tou nejspolehlivější metodou je tzv. microcoring, při které se periodicky odebírají vzorky (mikrovývrty), jež jsou následně laboratorně zkoumány (Plomion et al., 2001). Poslední zmiňovaná metoda byla použita i v této práci.

Horáček et al. (2003) pomocí této metody určil začátek kambiální aktivity u dubu letního (*Quercus robur* L.) na 27. 4., kdy průměrná teplota vzduchu nebyla nižší jak 8 °C. Faistavr (2012) ve své práci uvádí, že při aktivaci kambiální aktivity se teplota pohybovala okolo 8 °C. Tento fakt potvrzuje i Gričar (2007), která uvádí minimální teplotu, pro zahájení kambiální aktivity 5–8 °C. Maximální počet buněk při plně aktivované kambiální zóně dosahoval hodnoty 7–10 kambiálních buněk, přičemž délka kambiální aktivity trvala v průměru 100 dní (Čufar et al., 2008). Konec kambiální aktivity byl zaznamenán v období na přelomu července a srpna (Čufar et al., 2008), (Faistaver, 2012), (Ondrouch B. T., 2013).

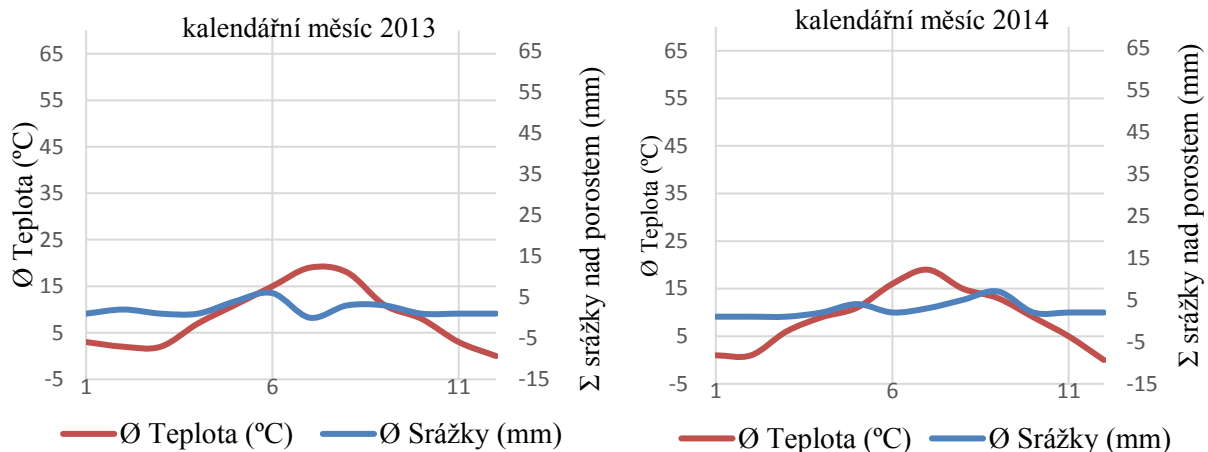
3. Metodika

3.1 Popis výzkumné plochy

Výzkumná plocha nacházející se v Jihomoravském kraji v oblasti Dražanská vrchovina se nazývá Rájec–Němčice. Nachází se v lokalitě se souřadnicemi 49° 26 '29,946 "N, 16° 42' 06,237" " s nadmořskou výškou 600 m n. m. Věk zkoumaných stromů v daném porostu se pohyboval kolem 45 let. Z typologického hlediska se jedná o porost typu 5S1 – neboli svěží jedlová bučina šťavelová (Plíva, 1987). V roce 2013 a 2014 se průměrná teplota na výzkumné ploše pohybovala v rozmezí 7,2 - 9,2 °C. Průměrný úhrn srážek za rok 2013 a 2014 vyskytující se v dané lokalitě dosáhl hodnoty 2,77 mm.

3.2 Klimatické podmínky ve sledovaných letech

Na výzkumné ploše Rájec – Němčice v roce 2013 a 2014 probíhalo měření průměrné denní teploty a srážek nad porostem. Průměrná teplota v roce 2013 dosáhla hodnoty 7,1 °C, přičemž průměrné srážky nad porostem byly 2,3 mm. V roce 2014 byla naměřena průměrná denní teplota 8,4 °C s průměrným úhrnem srážek 2,6 mm. Grafické znázornění průběhu klimatických podmínek zobrazuje obr. 7. Z grafu lze vyčíst, že na začátku vegetačního období 2013 (70. – 95. den v roce) byl zaznamenán značný pokles teploty, kdy se průměrná týdenní teplota pohybovala kolem 1 °C. Zatímco v roce 2014 byla na začátku vegetačního období naměřena průměrná teplota 7,5 °C. Nejteplejší období bylo v roce 2013 zaznamenáno od 18. 7. do 9. 8., kdy průměrná teplota dosáhla hodnoty 22,1 °C při průměrném úhrnu srážek 1,6 mm. V následující období 2014 bylo nejteplejší období naměřeno od 13. 7. (194. den v roce) do 30. 7. (211. den v roce). Průměrná teplota dosáhla hodnoty 20,1 °C při průměrném úhrnu srážek 2,3 mm.



Obrázek 7: Klimatogram znázorňující klimatické podmínky: červená linie značí průběžnou teplotu a modrá linie úhrn srážek nad porostem.

3.3 Odběr mikro vývrtů

K odběru vzorků byly určeny 3 mladší stromy buku lesního (*Fagus sylvatica* L.) ve věku 35 let, na kterých jsem pomocí nástroje s názvem Trepbor (viz obr.7) prováděl pravidelné mikro vývrty. Dané stromy jsme označili b1, b2 a b3. Odběr vzorků byl realizován v týdenních intervalech v průběhu dvou po sobě jdoucích vegetačních obdobích roku 2013 a 2014. Přičemž zahájení odběru bylo vždy prováděno na začátku vegetačního období daného roku, kdy začíná buněčná aktivita a to 13. března. Poslední odebraný vzorek byl odebrán 21.listopadu daného roku, kdy aktivita buněk ustává. Nástroj Trepbor se skládá ze dvou ramen sloužících k otáčení pro vyvrtání vzorku, duté řezací hlavy, která je 15 mm dlouhá a dutiny, do které se odebírá vzorek. Tento nástroj nám umožňuje odběr mikro vývrtů o průměru 2 mm a délce zhruba 10 mm. Takto odebraný vzorek obsahoval část kůry, lýko, kambium a xylém. Trepbor se používá za pomoci gumového kladívka, kdy se přiložil řezací hlavou kolmo k ose kmene a pomocí gumového kladívka zatluče. Poté se párkrát otočilo nástrojem a vývrt se dostal do dutiny, z které ho opatrně vyjmeme pinzetou. Mikro vývrty byly prováděny na kmenu ve výšce zhruba 1,3 m nad zemí spirálovitě po obvodu kmene. Vždy byly odebrány dva vzorky, abychom měli v případě porušení vzorku jeden náhradní. Pokud se na místě odběru nachází silnější kůra, je zapotřebí část této kůry odstranit, aby byl vývrt dostatečně hluboký (ROSI et al., 2006), avšak nesmí dojít k porušení floému či kambia. Každý další odběr byl prováděn nejméně 2,5 cm od předcházejícího vývrtu, jelikož by mohlo dojít k narušení stavby pletiv. Pro zachování vzorků, hned po vyjmutí z Trepboru jsem si přichystal plastové kazetky, které byly popsány daným

datem a číslem stromu. Aby byl zachován stav vzorku z období odběru, musíme vzorek zakonzervovat pomocí fixačního roztoku FAA, díky kterému ukončíme veškeré životní buněčné procesy (Gryc et al., 2011). Proto byly popsáné kazetky se vzorky uložit do plastových uzavíratelných krabiček s roztokem FAA, který obsahuje na 100 ml objemu 90 ml 50-70 % etanolu, 5 ml ledové kyseliny octové a 5 ml formaldehydu. Posledním krokem byl transport zakonzervovaných vzorků do laboratoře anatomie dřeva Ústavu nauky o dřevě, kde práce pokračovala.



Obrázek 8: Trephor – nástroj na odběr mikrovývrtů

3.4 Zpracování odebraných mikro vývrtů

V první části, před jakoukoliv manipulací se vzorky se opsalo datum a číslo stromu z kazetky na uzavíratelnou, plastovou zkumavku. Do připravené zkumavky byl vložen jeden ze dvou vzorků a následně pomocí pipety zalit 30 % etanolem. Takto uložený vzorek byl uschován do přepravky a sloužil jako rezervní. Poté byl vyjmut druhý vzorek z kazetky na sací papír. Především je důležité zmínit, že se vzorky je nutné pracovat s maximální opatrností, proto byla pro manipulaci se vzorky použita pinzeta a uchopeny byly vždy za dřevní část tak, aby nedošlo k porušení oblasti okolo floému a kambia. Dále bylo nutné daný vzorek natočit tak, aby bylo možné tužkou označit příčný řez, který se odlišuje tmavším zabarvením. Označení provádíme měkkou tužkou, v podobě malé čárky na dřevní části (xylenu). Pokud se vyskytoval vzorek s příliš dlouhou částí xylému, je možné tuto část zkrátit za pomoci žiletky. Takto označený vzorek byl vrácen do kazetky a kazetka vložena do 50 % etanolu k dalšímu zpracování.



Obrázek 9: Mikrovývrty v kazetkách popsanych dle data odběru vložených do ethanolu.

3.5 Dehydratace mikrovývrťů

Dalším krokem v přípravě vzorků, byla takzvaná dehydratace, díky etanolové řadě, kterou byly vzorky vystaveny. Jednalo se o řadu nádob, v kterých byl různě koncentrovaný etanol a 100 % xylol. Do těchto nádob byly postupně vkládány plastové kazetky se vzorky. Aby byla snadnější manipulace s kazetkami, byly kazetky nejdříve umístěny do nerezového zásobníku a ten se následně umisťoval do nádob s tekutinou. Z toho první dvě obsahují 70 % etanol, druhé dvě 90 % etanol, poté následuje jedna nádoba s 95 % etanolem a 100 % etanolem. Jako poslední přicházejí 3 nádoby se 100 % xylemem. Vzorky byly v každé z těchto nádob uloženy 120 minut a během této doby jsem docílil vytěsnění vody ze vzorků. Poté následovala impregnace parafínem. Obrázek 10: Tkáňový procesor



Obrázek 11: Tkáňový procesor

3.6 Zalévání do parafínu

Po impregnaci přicházela výroba parafinových bločků, za pomoci přístroje LEICA EG 1120 (*obr. 10*). Díky zahřívání zásobníku na parafín, který byl nastaven na teplotu 65 °C, získal parafín správnou konzistenci k dalšímu použití. Dále byl tento přístroj vybaven elektricky zahřívanou pinzetou LEICA EG F pro manipulaci se vzorky a vyhřátou pracovní deskou. V první řadě se přichystaly ocelové vaničky a položily na vyhřátou desku, aby byly dostatečně zahřáté. Poté se přemístily vzorky ze sušárny na vyhřátou plochu přístroje, aby nedošlo k zatuhnutí parafínu. Do připravené vaničky se zakápla zhruba 3 mm vrstva parafínu a následně byl označený mikro vývrt pomocí pinzety přemístěn do této vaničky. Vzorek se natočil příčnou (označenou) stranou k sobě z mého pohledu a celý mikrovývrt natočili úhlopříčně přes vaničku, tak aby floém byl v levém horním rohu. Přičemž celou dobu bylo se vzorkem manipulováno pomocí nahřívání pinzety. Jakmile byl vzorek správně umístěn, přemístili jsme vaničku se vzorkem do Petriho misky se studenou vodou, která sloužila k ochlazení parafínu, avšak vaničku jsme ve vodě ponechali jen pár sekund, aby parafín nezatuhnul úplně, jinak by nedošlo ke spojení následující vrstvy parafínu. Mezitím se na vyhřívající desku položila prázdná Petriho miska, která sloužila jako podložka, aby nedošlo k zahřívání vaničky. Na tuto petriho misku byla umístěna vanička se vzorkem a byla doplněna parafínem po okraj. Pro možnou identifikaci vzorku, byla na vrch vaničky umístěna část kazetky s popisem a zalita parafínem. Tím byl proces zalévání ukončen, už jen zbývalo přemístit zalité vzorky do lednice, kde se ponechali zhruba 20 minut. Po vytažení z lednice byl parafín ztuhnutý a se vzorky se mohlo dále pracovat. Následovalo vylopnutí z kovové vaničky za pomoci preparační jehly. Vzniklé parafinové bločky měly příliš velkou plochu, neboť se tam nacházelo zbytečně mnoho parafínu. Proto jsme pomocí zalamovacího nože odřízli přebytečný parafín tak, aby vniklá plocha byla zhruba 1 cm². Na takto upravených vzorcích byly před samotným krájením nejprve odkryta vrchní vrstva parafínu a částečně i vzorku, aby bylo možné následně zvýšit jeho vlhkost. Tento proces byl prováděn za účelem snížení odporu při krájení, což se docílilo namočením vzorků do destilované vody na dobu 2 dnů.



Obrázek 12: Z prava: pinzeta Leica EG Fa disperzor Leica EG 1120

3.7 Krájení vzorku na mikrotomu

Dostatečně vlhké vzorky byly připraveny ke krájení pomocí rotačního mikrotomu LEICA RM 2245 (*obr. 11*). Výsledné řezy měly tloušťku 8-10 μm . Nejprve se do upevňovacího zařízení vložila kazetka s parafinovým bločkem tak, aby dřevní část (xylém) byla orientována ve spodní části. Díky tomu čepel přístroje jako první zařezávala do dřeva, a poté do floému. Rychlým otáčením klikou mikrotomu byl vytvořen souvislý pásek řezů. Z pásku řezů byly vybrány 4-5 nejlépe vypadající. Před krájením dalšího vzorku bylo nutné posouvat krájecí čepel, abychom se vyhnuli deformaci řezů o otupenou část čepele. Vzniklý pásek řezů byl pomocí preparační jehly přemístěn do kádinky s vlažnou vodou, kde došlo k vyrovnání řezů. Mezitím se nachystalo podložní sklíčko, které se popsalo dle kazetky (datum a číslo stromu) a natřelo tenkou vrstvou lepidla Albumine Mallo, které se skládá z glycerínu a bílku. Poté za pomoci podložního sklíčka byl pásek řezů přesunut do vodní lázně LEICA HI 1210, která měla teplotu 42°C. Teplá voda způsobuje, že řezy se rozprostřou na hladině a parafín se rovnoměrně rozloží. Po uplynutí krátké doby byly řezy z vodní lázně vytaženy a umístěny na podložní sklíčko s lepidlem. To se provádělo samotným podložním sklíčkem, kdy se řezy podebraly ze spodu a opatrným táhlým pohybem vzhůru přilnuly na sklíčko. Až bylo takto nachystáno dostatečné množství preparátů, byly vloženy do sušárny na dobu jedné hodiny. Teplota v sušárně byla nastavena na 60°C.



Obrázek 13: Zprava: rotační mikrotom Leica RM 2235 a vodní lázeň Leica RM 2235.

3.8 Výroba trvalých vzorků

Po vytažení ze sušárny byly vzorky připraveny k dalšímu zpracování. Jednalo se o výrobu mikroskopických preparátů (viz obr. 10). Cílem této operace byl za pomoci chemických látek odstranit parafin z buněk a následně pomocí podvojného barvení odlišit lignifikované a nelignifikované buňky xylému. Časy a druh látek můžete vidět v tabulce č. 2. Jako první byly do plastových zásobníků přemístěny řezy na podložních sklíčkách, přičemž se do jednoho zásobníku vlezlo až 12 podložních sklíček. Poté se zásobník postupně vkládal do řady chemických látek. Nejprve se vložil do plastového kontejneru s Bioclirem, kde byly ponechány 20 minut. Poté se vložili do dalšího kontejneru s Bioclirem na stejnou dobu. Za pomoci Biocliaru docílíme odstranění parafinu z buněk vzorku. Jako dalším byly dva kontejnery s 96 % etanolem, přičemž v každém z nich byl zásobník ponechán po dobu 15 minut. Pak přicházelo na řadu barvení. Zásobník se vzorky se vložil do kontejneru se Safraninem a Astra blue. Tento plastový kontejner obsahoval 120 mg Astra Blue, 50 mg Safraninu, 2 ml kyseliny octové a 100 ml destilované vody. Barviva Safranin a Astra blue způsobují podvojně barvení, kdy Astra blue obarvuje nelignifikované buňky xylému do modra a safranin obarvuje lignifikované buňky xylému do červena. Po barvení ještě přišel na řadu propláchnutí pomocí 96 % etanolu. Po vyjmutí z etanolu byly vzorky umístěny na petriho misku, kde okapali od přebytečné látky a byly připraveny k dalšímu zpracování (viz. Obr 15). Přehled použitých látek a doba použití (viz tab.1). Po okapání bylo potřeba vzorek zakrýt pomocí krycího sklíčka a montovacího média. Jako lepicí médium bylo použito Euparal, který jsme pomocí kapátka nanесли na připravené

podložní sklíčko s řezy. Po nanesení pár kapek euparalu bylo přiloženo tenké krycí sklíčko, které bylo pomocí preparační jehly a pinzety pomalu přikládáno a následně zatíženo pomocí magnetky a kovové desky na které byly preparáty umístěny. Po zaschnutí lepidla byly vytvořeny trvalé preparáty (obr. 15) připravené k pozorování pod mikroskopem.

Tabulka 1: přehled chemických látek a jejich použití

Chemická látka	Čas (minuty)
Bioclear	20
Bioclear	20
Etanol 96 %	15
Etanol 96 %	15
Safranin + Astra blue	10
Etanol 96 %	Proplach
Etanol 96 %	Proplach



Obrázek 14: Pracoviště a nutné potřeby pro podvojně barvení

3.9 Analýza trvalých vzorků

K analýze trvalých preparátů byl využit světelný mikroskop Leica DM2000, který umožňuje pozorovat daný vzorek s možným zvětšením ($40\times$ až $400\times$) a využitím polarizačního filtru. Mikroskop dále obsahoval kameru Leica DFC290, díky které mohl být přenesen obraz do počítače a následně vyfocen a zaměřen pomocí programu Image-J. Program Image-J pomáhá zachytit daný obraz a následně zaměřit v 2 D rovině potřebný prostor. Výsledné hodnoty byly přepsány do programu Microsoft Office Excel 2007, kde byly podrobeny dalšímu zpracování.



Obrázek 15: Světelný mikroskop Leica DM 2000

Analýza se týkala kambiální, xylémové i floémové diferenciované části vzorku v daném vegetačním období. Přičemž šlo o zaznamenání počtu buněk v kambiální zóně a rozměr (v μm) určitých fázích radiálního růstu. U kambia šlo především o pozorování jejího počátku a následné aktivity (CC). Buňky floému vykazují růst odstředivě a byly měřeny rozměry jak brzkého floému (EP) tak i pozdního (LP). Dále mohl být pozorován výskyt axiálního parenchymu. V xylémové části byly měřeny jednotlivé fáze růstu dle diferenciacce buněk. Ve směru dostředivém byly rozeznávány a měřeny stádia růstu postkambiálního (PC), sekundárního tloušťnutí buněčné stěny (SW) a konečná fáze už zcela lignifikovaných buněk

(MT). Posledním měřením byl celkový radiální přírůst (TOTAL). Samotné měření probíhalo vždy na třech náhodně vybraných místech, kdy se výsledná zapisovaná hodnota zprůměrovala z měřených třech hodnot. U první části měřených vzorku jsme především pozorovali činnost kambia, tedy její začátek a následné pokračování. Tento proces byl určen rozšiřujícím se radiálním rozměrem a zvyšujícím se počtem buněk. V téhle části neprobíhalo měření, ale pouze zaznamenání počtu buněk kambia. Avšak opět proběhlo počítání ve třech různých řadách. Počáteční aktivita kambiální zóny byla rozpoznána dle zvětšujícího se radiálního rozměru buňky a zvyšování jejich počtu. V oblasti lýka bylo rozlišovány oblasti brzkého a pozdního floému jejichž rozměr byl zaznamenán opět ve 3 náhodně vybraných a dobře čitelných místech. U fáze PC tedy post kambiální se buňky postupně odlišují radiálním rozšiřováním. Přechod mezi PC a SW tedy sekundárním tloušťnutím buněčné stěny byl rozlišen za pomoci polarizačního filtru (viz obr. 12). Jelikož sekundární stěna díky obalováním krystalickou celulózu pod polarizovaným světlem zářila. Lignifikované dospělé buňky (MT) byly určeny dle odlišného zbarvení, neboť použité barvivo Safranin zabarvil pouze lignifikované buňky, a to do červené barvy, přičemž barvivo Astra blue buňky SW do modra. Posledním krokem měření byl takzvaný TOTAL, kdy byl zaměřen pomocí programu celkový rozměr radiálního přírůstu (PC, SW, MT). Získané data byla roztríděna do tabulky, kde byla připravena k dalšímu zpracování.

3.10 Analýza dat za pomocí Gompertzovy funkce

Pomocí Gompertzovy funkce (viz obr. 14) byl analyzován průběh radiálního přírůstu v průběhu daného vegetačního období. Využití této matematické funkce spočíval v proložení naměřených hodnot radiálního přírůstu vyrovnávací křivkou, díky které byl vytvořen optimální vzor radiálního přírůstu xylému za vegetační období. Mezi potřebná data patřil celkový radiální přírůst (TOTAL), datum odběru a den v roce, která byla zadána do programu. K použití Gompertzovy funkce byl využit program Sigma Plot 11.2.0, Table Curve 2 D v5.01, který vytyčil průběh křivky. Výsledné grafické znázornění se skládalo ze získaných hodnot na ose y, časových hodnot na ose x a proloženou křivku těmito hodnotami.

$$y = A \exp[- \exp (b- kt)]$$

4. Výsledky

4.1 Analýza kambiální aktivity

4.1.1 Vzorníkový strom B1

Vyhodnocení roku 2013

První navýšení počtu buněk v kambiální zóně začalo 11. 4. (101. DOY), kdy z původních 3 buněk došlo k navýšení na 4–5 buněk. Průměrná týdenní teplota byla naměřena 6,4 °C. V předcházejícím týdnu byla zaznamenána průměrná teplota -1 °C. Poté pozvolna narůstal počet buněk, až do dne, kdy stoupl na 9-10 buněk. V tento den, 27. 6. (178. DOY), byla tedy zaznamenána maximální dělivá aktivita, při průměrném týdenním úhrnu srážek nad porostem 23,4 mm. Následoval úbytek buněk v kambiální zóně až se zastavil v průměru na 4 buňkách. Úplné zastavení činnosti kambia nastalo 15. 8. (227. DOY), přičemž celková kambiální aktivita trvala 126 dní.

Vyhodnocení roku 2014

V klidovém stavu byl počet buněk v latentní fázi v rozpětí 4–5 buněk. Kambiální aktivita začala 3. 4. 2014 (93. DOY), přičemž průměrná týdenní teplota v předcházející týden byla 8,7 °C. Maximální kambiální aktivita byla zaznamenána od 29. 5. (150. DOY), kdy počet buněk stoupl na 8. Ve dnech nejvyšší aktivity se stoupla průměrná týdenní teplota na 17,9 °C, přičemž průměrné týdenní srážky nad porostem dosáhly hodnoty 0,6 mm. Pokles kambiální aktivity začal 5. čer., kdy počet buněk klesl na 6 a postupně dál klesal až na hodnotu 4–5 buněk, což se rovná počtu buněk v latentní fázi na začátku vegetačního období. Úplné zastavení činnosti kambia nastalo 28. 8. (261. DOY). Délka kambiální aktivity trvala 168 dní.

4.1.2 Vzorníkový strom B2

Vyhodnocení roku 2013

Začátek kambiální aktivity byl v roce 2013 byl pozorován 11. 4. (101. DOY). V předcházející týden byla naměřena průměrná denní teplota -1 °C s minimálním množstvím srážek. V klidovém stavu kambiální zóna obsahovala 3 buňky a po její aktivaci došlo k navýšení na 5 buněk. Poté bylo pozorováno lehké radiální rozšiřování kambiální zóny. Maximální počet buněk byl zaznamenán 13. 6. (164. DOY), při průměrné týdenní teplotě

12,35 °C s množstvím srážek 5,2 mm. Při maximální aktivitě se v kambiální zóně nacházelo 7 buněk. Od 20. černa přišel pokles a úplné zastavení kambiální aktivity došlo 22.8 (234. DOY), kdy se v kambiální zóně nacházely 4 buňky. V době ukončení aktivity byla naměřena průměrná týdenní teplota 16,08 °C, s průměrným množstvím srážek 1,2 mm. Délka kambiální aktivity u tohoto stromu trvala 133 dní

Vyhodnocení roku 2014

Zvyšování počtu kambiálních buněk u stromu č. 2 bylo zaznamenáno 10. 4. (100. DOY), kdy se z původních 5 buněk navýšil počet na 6. Průměrná týdenní teplota vzduchu uplynulého týdne byla naměřena 5 °C, s průměrných srážkami nad porostem 2,2 mm. Maximální dělivá aktivita proběhla dne 12.6 (163. DOY), přičemž průměrní týdenní teplota vzduchu stoupla na 12,6 °C a nulových srážkách nad porostem. V tento den se navýšil počet buněk na 9 a od tohoto dne už jen postupně klesal. Úplné ukončení kambiální aktivity bylo zaznamenáno 25. 9. (268. DOY), kdy se hodnota ustálila na 4-5 buňkách. Při deaktivaci kambiální aktivity byla naměřena průměrná týdenní teplota 11,2 °C, s průměrným úhrnem srážek nad porostem 5 mm. Počet buněk se navýšil od doby jeho aktivace po jeho maximální rozměr o 4 buňky, přičemž délka kambiální aktivity trvala 168 dní.

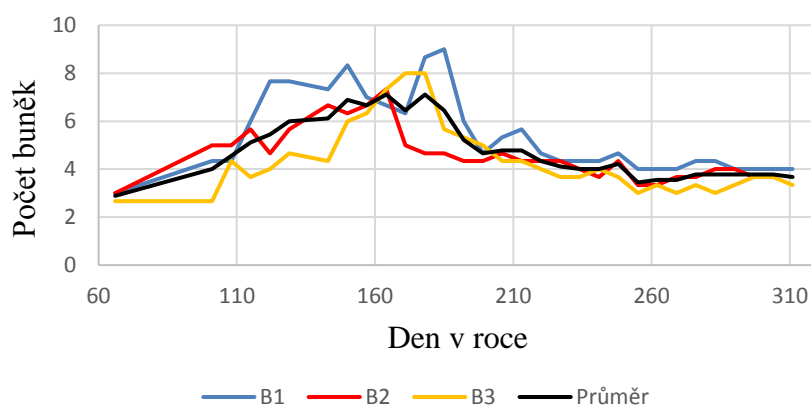
4.1.3 Vzorníkový strom B3

Vyhodnocení roku 2013

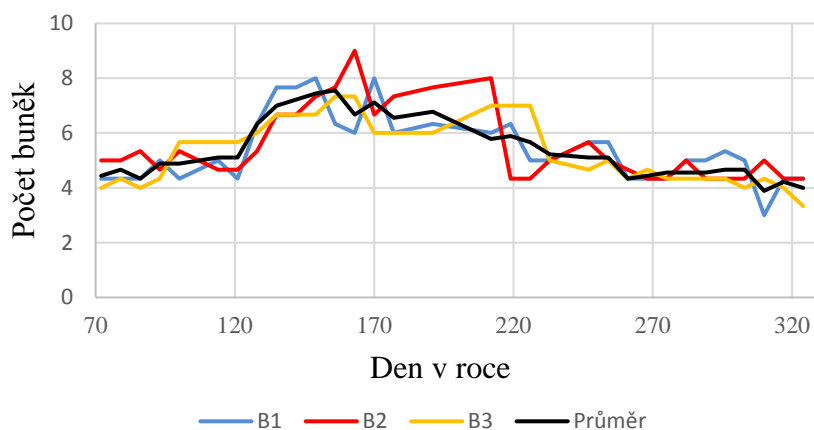
Navýšení počtu buněk bylo pozorováno 18. 4. (108. DOY), kdy došlo k navýšení počtu buněk v kambiální zóně na 4-5 buněk. V klidovém stavu měla kambiální zóna 2-3 buňky. V předcházející týden byla naměřena průměrná teplota 6,6 °C. Při aktivaci byla naměřena průměrná denní teplota 15,1 °C a nulové množství srážek. Do 6. června se počet buněk postupně navyšoval až dosáhl svého maxima 8 buněk v kambiální zóně, a to 13. 6. (164. DOY). V době maximální dělivé aktivity byla naměřena průměrná týdenní teplota 16,35 °C a průměrný úhrn srážek 3 mm. Úplné zastavení kambiální aktivity došlo 29.8. (241 DOY). Při ukončení aktivity se v kambiální zóně nacházelo 3-4 buňky. V den deaktivace kambiální aktivity byla naměřen pokles průměrné týdenní teploty na 13,6 °C s průměrným množstvím srážek nad porostem 8,2 mm. Celková kambiální aktivita u tohoto stromu trvala 133 dní.

Vyhodnocení roku 2014

U prvních odebraných vzorku se v kambiální zóně vyskytovaly 4 buňky. První navýšení počtu buněk, tedy začátek kambiální aktivity byl zaznamenán 10. 4. (100. DOY). V předcházející týden byla průměrná týdenní teplota 9,8 °C se srážkami nad porostem 0,6 mm. V tento den se navýšil počet buněk o 2, tedy stoupl na 6. Poté se počet buněk postupně navyšoval. Nejvyšší počet buněk, a tedy maximální kambiální aktivita byla zaznamenána 5. 6. (156. DOY), kdy počet buněk stoupl na 8. V době maximální aktivity došlo k navýšení průměrné týdenní teploty vzduchu na 12,4 °C. Ve dne 18.9 (261. DOY) aktivita kambia ustala za průměrné teploty vzduchu 13,9 °C a vyšším průměrným týdenním úhrnem srážek 14 mm. Délka kambiální aktivity trvala 161 dní.



Obrázek 16: Počet buněk v kambiální zóně za rok 2013



Obrázek 17: Počet buněk v kambiální zóně za rok 2014

4.2 Analýza procesu diferenciacie

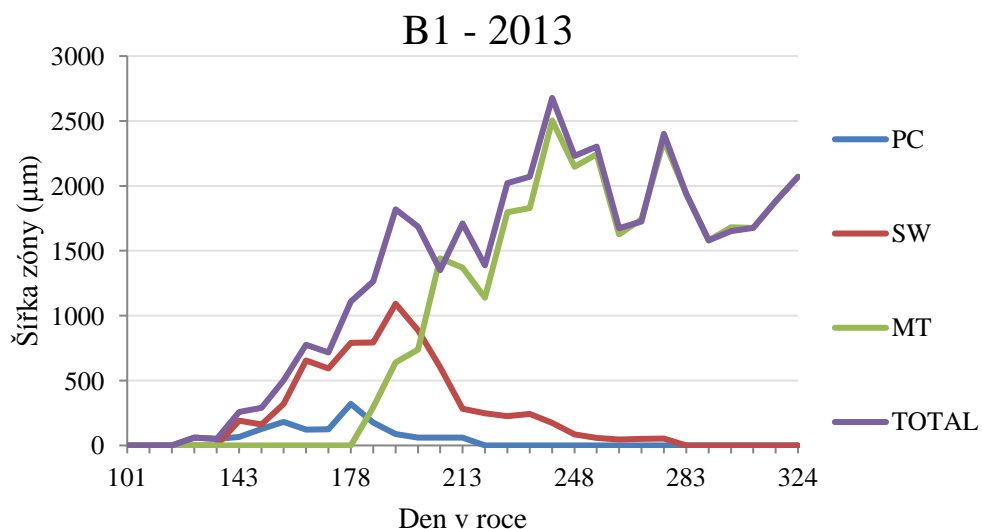
4.2.1 Vzorníkový strom B1

Vyhodnocení roku 2013

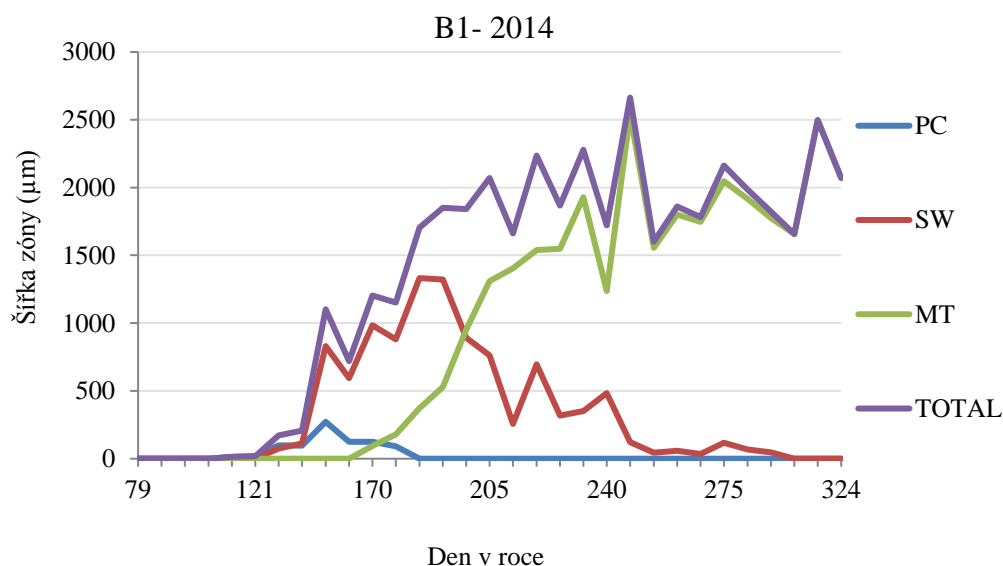
V roce 2013 se u vzorníkového stromu B1 začala fáze radiálního rozšiřování 2. 5. (122. DOY) s průměrnou týdenní teplotou 13,5 °C. Rozměrem první postkambiální zóny byl 60,61 µm. Po pozvolném zvětšování, dosáhla oblast radiálního rozšiřování svého maximálního rozměru, a to 319,91 µm. Největší rozměr byl pozorován 27. 6. (178. DOY). V tomtéž období probíhala i maximální kambiální aktivita. Na začátku srpna 1. 8. (213. DOY) byla postkambiální fáze u konce. Ještě při fázi radiálního rozšiřování se začala vytvářet sekundární buněčná stěna. Oblast měřila 192,1 µm a byla zaznamenána 23. 5. (143. DOY). První lignifikované elementy se vyskytly 4. 7. (185. DOY) s šířkou zóny 294 µm, za průměrné týdenní teploty 13,2 °C. Kompletní lignifikace letokruhu byla dosažena 3. 10. (276. DOY) s rozměrem 2348,9 µm.

Vyhodnocení roku 2014

První buňky ve fázi radiálního rozšiřování se v roce 2014 objevily 24. 4. (114. DOY), přičemž průměrná týdenní teplota dosáhla hodnoty 5,5 °C. Poté rozměr postkambiální zóny postupně narůstal až do 5. 6. (156 DOY), kdy dosáhl svého maxima, a to 272 µm. Tedy v době, kdy probíhala maximální kambiální aktivita. Od 12. června se šířka zóny snižovala až do 26. 6. (177. DOY), kdy fáze rozšiřování byla u konce. Tvorba sekundární buněčné stěny začala 8. 5. (128. DOY), přičemž zóna měřila 74,26 µm. V době zahájení tvorby sekundární buněčné stěny byla naměřena průměrná týdenní teplota předcházejícího týdne 12,2 °C. Lignifikace elementů dřeva začala 19. 6 (170. DOY), s průměrnou týdenní teplotou 15°C. První lignifikovaná zóna měřila 92,72 µm. Plně lignifikované buňky byly zaznamenány 23. 10. (296. DOY) s rozměrem 1776,08 µm.



Obrázek 18: Tvorba dřeva zachycená v průběhu vegetačního období kdy : PC - fáze postkambiálního růstů, SW - fáze tvorby sekundární buněčné stěny, MT - lignifikované buňky a TOTAL - Celkový radiální přírůst.



Obrázek 19: Tvorba dřeva zachycená v průběhu vegetačního období kdy : PC - fáze postkambiálního růstů, SW - fáze tvorby sekundární buněčné stěny, MT - lignifikované buňky a TOTAL - Celkový radiální přírůst.

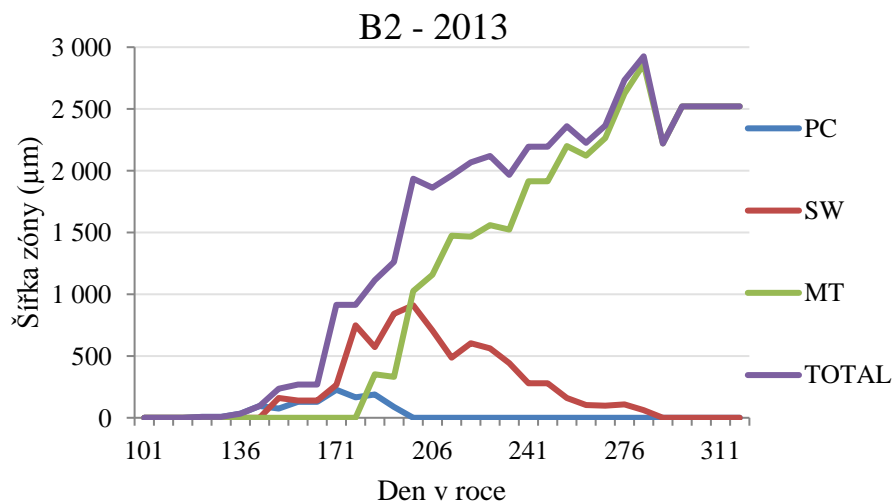
4.2.2 Vzorníkový strom B2

Vyhodnocení roku 2013

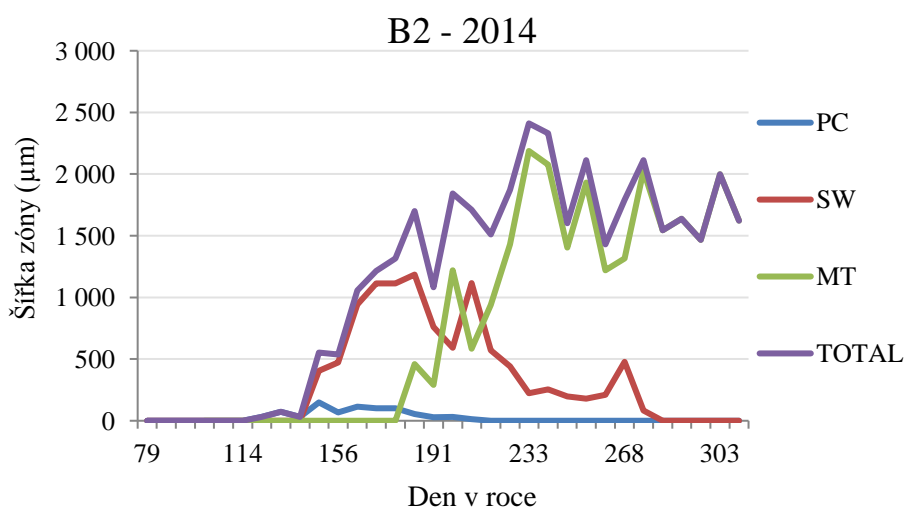
V roce 2013 se první buňky ve fázi radiálního rozšiřování u tohoto stromu objevili 26. 4. (115. DOY) při průměrné týdenní teplotě 10,3 °C. Následoval pozvolný nárůst rozměru postkambiální zóny, až do 13. 6. (164. DOY), kdy dosáhla svého maxima, za průměrné týdenní teploty 14 °C. Maximální fáze radiálního rozšiřování měřila 226,62 µm. První známky sekundární buněčné stěny byly zaznamenány 23. 5. (143. DOY) přičemž průměrná teplota v uplynulém týdnu dosáhla hodnoty 13,4 °C. Začátek lignifikace byl pozorován 27. 6. (178. DOY) s šířkou zóny 351 µm. Zóna lignifikovaných elementů se postupně zvětšovala až do 10. 10. (283. DOY), kdy dosáhl letokruh plné lignifikace. Celková šířka plně lignifikovaného letokruhu byla 2220,8 µm.

Vyhodnocení roku 2014

U vzorníkového stromu B.2 byly první buňky radiálního rozšiřování zaznamenány 1. 5. (121. DOY) s rozměrem 31,44 µm. Při zahájení postkambiální fáze dosáhla teplota v předcházejícím týdnu hodnoty 11,5 °C. Poté došlo k postupnému navýšení rozměru až do 29. 5. (149. DOY), kdy dosáhl svého maxima, a to 148,91 µm. V téže době se začala tvořit sekundární buněčná stěna, při průměrné týdenní teplotě 16,2 °C. První zaměřená zóna měřila 404,69 µm. Lignifikace cév byla zaznamenána 3. 7. (184. DOY), přičemž průměrná týdenní teplota dosáhla hodnoty 14,2°C. Poté zóna lignifikovaných cév postupně rostla, až do 2. 10. (275. DOY), kdy letokruh dosáhl plné lignifikace. Kompletně lignifikovaný letokruh měřil 2028,52 µm.



Obrázek 20: Tvorba dřeva zachycená v průběhu vegetačního období kdy: PC - fáze postkambiálního růstů, SW - fáze tvorby sekundární buněčné stěny, MT - lignifikované buňky a TOTAL - Celkový radiální přírůst.



Obrázek 21: Tvorba dřeva zachycená v průběhu vegetačního období kdy: PC - fáze postkambiálního růstů, SW - fáze tvorby sekundární buněčné stěny, MT - lignifikované buňky a TOTAL - Celkový radiální přírůst.

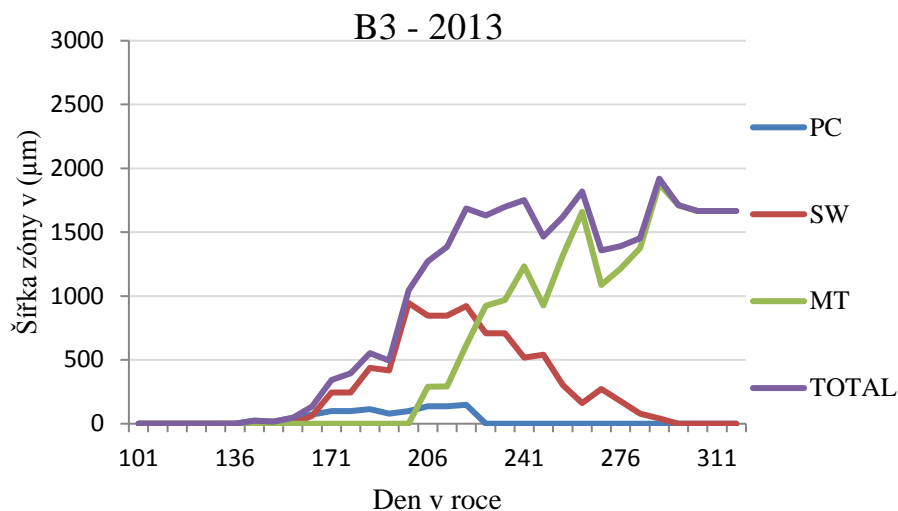
4.2.3 Vzorníkový strom B3

Vyhodnocení roku 2013

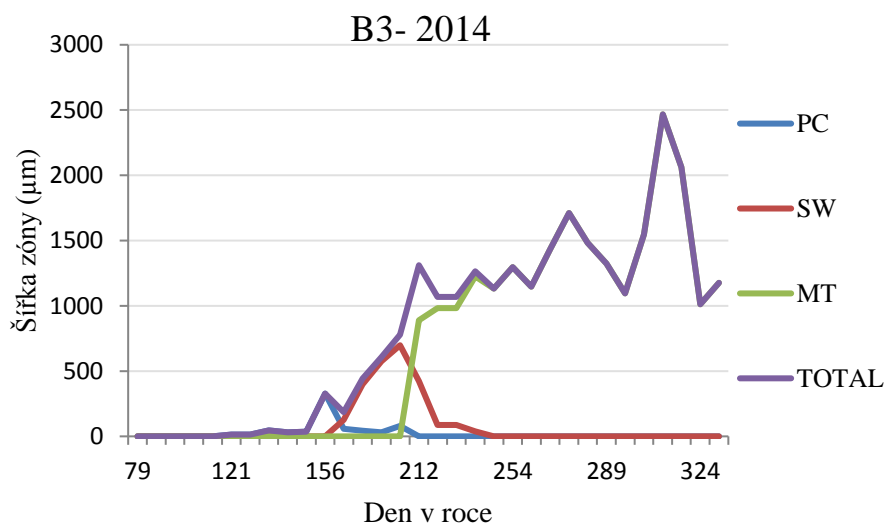
První fáze radiálního rozšiřování byla zaznamenána 16. 5. (136. DOY) s šířkou zóny 23,57 μm , přičemž průměrná teplota v uplynulý týden byla 12 °C. Po pozvolném navyšování své šířky, dosáhla zóna postkambiálního dělení svého maxima, a to dne 1. 8. (213. DOY). Tentýž den byl fáze radiálního rozšiřování ukončena, při průměrné týdenní teplotě 22 °C. Tvorba sekundární buněčné stěny byla zachycena 5. 6. (156. DOY), přičemž průměrný týdenní teplota dosáhla hodnoty 9,8 °C. První zóna s lignifikovanými buňkami se vyskytla 18. 7. (199 DOY). Při tomto období dosáhla průměrná týdenní teplota hodnoty 16 °C. Plně lignifikovaný letokruh byl zaměřen 17. 10. (290. DOY) o šířce 1710,2 μm .

Vyhodnocení roku 2014

V roce 2014 u vzorníkového stromu B3 začala fáze diferenciacie buněk 24. 4. (114. DOY), přičemž průměrná teplota v předcházející týden byla 5 °C. Fáze radiálního rozšiřování se postupně zvětšovala, až do 29. 5. (149. DOY), kdy dosáhla svého maxima. Maximální rozměr zmiňované fáze měřil 327,81 μm a byl vytvořen za průměrné týdenní teploty 15,6 °C. Konec radiálního rozšiřování byl zaznamenán 26. 6. (177. DOY). První známky tvorby sekundární buněčné stěny se datují ke dni 5. 6. (156. DOY), kdy byla zároveň naměřena maximální kambiální aktivita. Tato zóna měřila 127,64 μm , přičemž v následujících týdnech se její rozměr pozvolna zvětšoval. Poté se objevily první lignifikované buňky. První zaměřená zóna lignifikovaných elementů byla pozorována 10. 7. (191. DOY) za průměrné týdenní teploty 18 °C. Kompletně lignifikovaný letokruh je datován ke dni 21. 8. (233. DOY) s rozměrem 1133,26 μm .



Obrázek 22: Tvorba dřeva zachycená v průběhu vegetačního období kdy: PC - fáze postkambiálního růstu, SW - fáze tvorby sekundární buněčné stěny, MT - lignifikované buňky a TOTAL - Celkový radiální přírůst.

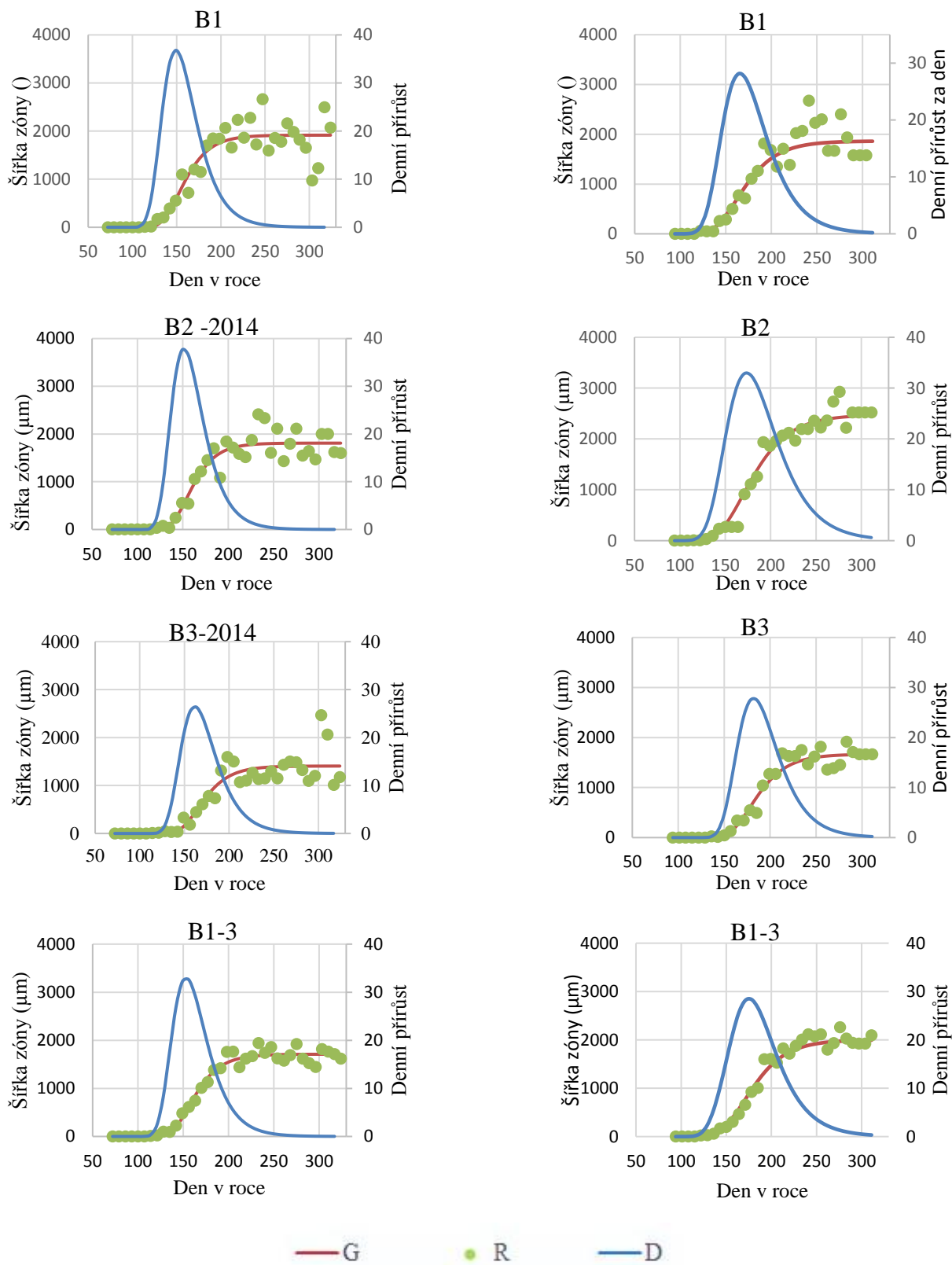


Obrázek 23: Obrázek 24: Tvorba dřeva zachycená v průběhu vegetačního období kdy: PC - fáze postkambiálního růstu, SW - fáze tvorby sekundární buněčné stěny, MT - lignifikované buňky a TOTAL - Celkový radiální přírůst.

Analýza radiálního přírůstu pomocí Gompertzovy funkce

Naměřené hodnoty radiálního přírůstu u zkoumaných stromů (B1, B2, B3) byly za pomoci Gompertzovy funkce proloženy křivkou. Díky této funkci byl vytvořen optimální model radiálního přírůstání za vegetační období. Optimální model radiálního přírůstu dle Gompertzovy funkce zobrazuje (obr. č. 22)

V roce 2014 bylo zahájeno radiální přírůstání u stromu B1 a B3 24. 4. (114. den v roce), avšak u stromu B2 začal o týden později 1. 5. (121. den v roce). V roce 2013 se začátek radiálního přírůstání objevil jako první u stromu B2, a to 26.4. (115. den v roce). U stromů B1 byl zaznamenán první radiální přírůst 2.5. (122. den v roce) a u stromu B3 až 16.5 (136. den v roce). Poté následoval razantní radiální rozšiřování, přičemž se v dalších týdnech vyskytly nejvyšší hodnoty denního přírůstu. V roce 2014 byl zaznamenán nejvyšší denní přírůst u stromů B1 a B2 ve dne 29. 5. (149. den v roce), kdy strom B1 měl hodnotu 36,78 μm a B2 37,56 μm . Strom B3 vykázal nejvyšší denní přírůst až 12. 6. (163. den v roce) s hodnotou 26,37 μm . V předcházejícím vegetačním období se maximální denní přírůst objevil u stromu B1 13. 6. (164. den v roce), u stromu B2 20. 6. (171. den v roce) a u stromu B3 4. 7. (185. den v roce). Nejvyšší rozměr dosáhl strom B3 o hodnotě 32,84 μm . Vzorníkový strom B1 měl hodnotu maximálního denního přírůstu 28,14 μm a strom B3 27,58 μm . Průměrný radiální přírůst za den ve vegetační období 2013 byl u vzorníkového stromů B1 8,3 μm , B2 10,98 μm a u stromu B3 7,42 μm . V roce 2014 byl průměrný radiální přírůst za den vypočítán u stromu B1 8,05 μm , u stromu B2 7,18 μm a u stromu B3 5,58 μm . Kompletně vytvořený letokruh v roce 2014, tedy maximální přírůst měřil u stromu B1 1914,21 μm , u stromu B2 1809,12 μm a u stromu B3 1405,25 μm , přičemž stromy B1 a B2 potřebovaly k vytvoření letokruhu 231 dní. Vzorníkový strom B3 potřeboval k vytvoření plně lignifikovaného letokruhu 238 dní. V roce 2013 byl počet dní nutných k vytvoření letokruhu u stromů B1, B2 a B3 217 dní. Maximální rozměr nabyly hodnoty u vzorníkového stromu B1 1859,59 μm , u stromu B2 2460,36 μm a u vzorníkového stromu B3 1662,68 μm . Naměřené hodnoty jsou shrnuty v tabulce č 22.

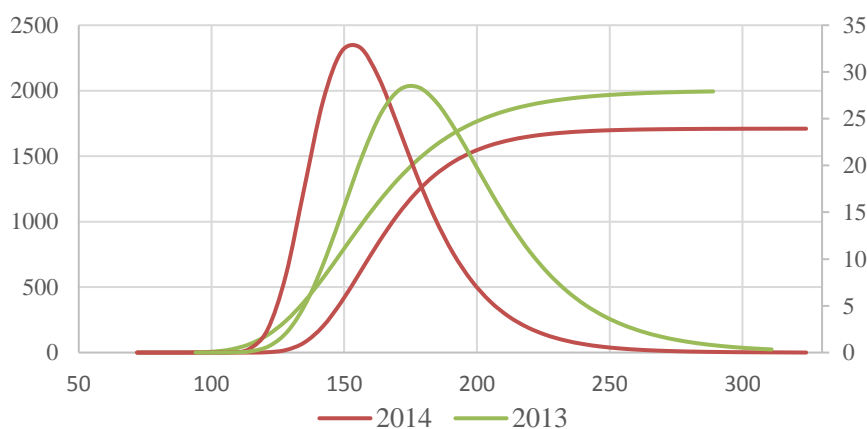


Obrázek 25: Aplikace Gompertzovy funkce: D – denní přírůst, G – Gompertzovu vyrovnávací křivku, R – reálné naměřené hodnoty radiálního přírůstu.

Tabulka 2: tabulka shrnující výsledné hodnoty, které byly získány za pomoci Gompertzovy funkce

Vzorník	Maximální přírůst xylému (μm)	Průměrný denní přírůst xylému (μm)	Maximální denní radiální přírůst (μm)	DOY	Počet dní potřebných k vytvoření letokruhu
2013					
B1	1859,59	8,3	28,14	164	161
B2	2460,36	10,98	32,84	171	168
B3	1662,68	7,42	27,58	185	154
Ø	1994,21	8,9	29,52		161
2014					
B1	1914,21	8,05	36,78	149	182
B2	1809,12	7,18	37,56	149	161
B3	1405,25	5,58	26,37	163	119
Ø	1709,53	6,94	33,57		154

Z tabulky lze vyčíst, že v roce 2014 měl největší maximální radiální přírůst za den vzorníkový strom B1 a v roce 2013 vzorníkový strom B2. Nejmenší hodnoty dosáhly strom B3, a to v obou vegetačních obdobích. V průměru dosáhly vzorníkové stromy větších hodnot v roce 2013. Avšak maximální denní přírůst vykazovaly vzorníkové stromy v roce 2014, přičemž nejvyšší hodnoty dosáhl vzorníkový strom B2. V roce 2014 se nejrychleji vytvořil letokruh u stromu B2 a B3. Vzorníkový strom B1 vykazoval nejdélejší dobu potřebnou k vytvoření letokruhu. V roce 2013 se vytvořil letokruh nejdříve u vzorníkových stromů B1 a B2. Srovnání průběhů radiálního přírůstání v po sobě jdoucích vegetačních období je graficky znázorněn v obr. 16.



Obrázek 26: Srovnání výsledných křivek průběhu radiálního přírůstu a přírůstu za den

5. Diskuze

Tato práce se zabývá analýzou tvorby buku lesního (*Fagus sylvatica*) na buněčné úrovni. Ze získaných dat byly určeny jednotlivé fáze kambialní aktivity, především její zahájení, které byl rozpoznán díky odlišnému tvaru buněk latentního kambia, od nabobtnalých buněk aktivního kambia. Latentní kambium u vzorků z roku 2014 obsahovalo 4–5 buněk, přičemž v předcházejícím roce se v zóně latentního kambia vyskytovaly v průměru 3 buňky. Podobnou hodnotu uvádí i (Čufar et al, 2008), jenž pozoroval 3–5 buněk nacházející se v latentní fázi kambia. Stejný počet buněk, jako byl zaměřen v roce 2014, uvádí i Ondrouch (2013), který analyzoval tvorbou dřeva buku lesního v lokalitě Rájec–Domanka. Na stejné výzkumné ploše prováděl svůj výzkum i Osička (2013), který zaznamenal 4–5 vrstev latentního kambia. Z výsledných dat je zřejmé, že počet buněk v latentní fázi v roce 2013/14 se shoduje s výsledky jiných autorů. Ovšem Gričar (2007), jenž se zabýval tvorbou dřeva jehličnanů jedle bělokoré (*Abies alba* Mill.) a smrku ztepilého (*Picea abies* (L.) karts.) uvádí v průměru 7–8 buněk nacházející se v durmantním stádiu. Vyšší počet buněk v dormantním stavu je nejspíše způsoben rozdílnou anatomickou stavbou jehličnanů a celkově vyšším počtem kambialních buněk, který se během vegetačního období v kambialní zóně nachází.

První známky kambialní aktivity byly v roce 2013 zaznamenány od 11.4. – 18. 4, při průměrné týdenní teplotě 9,5 °C, přičemž v předcházejícím týdnu byla zaznamenána průměrná teplota znatelně nižší (0,4 °C). V následující vegetačním vegetační období 2014 se první známky aktivity dělivého pletiva datují ke dnu 3. 4. - 10. 4, kdy průměrná teplota uplynulého týdne dosáhla hodnoty 9,9 °C. Znatelný rozdíl teplot před zahájením kambialní aktivity byl nejspíše příčinou opožděného startu, který se vyskytl v roce 2013. Gričar (2007) uvádí minimální teplotu pro aktivaci kambia 5 °C, po dobu několik po sobě jdoucích dnů. Její výzkum byl prováděn v oblasti Ravnik ve Slovinsku, tedy v mírném pásu, kde se nacházejí i naše zkoumané stromy. Fajstavr (2013) tento fakt potvrzuje ve své diplomové práci, v které zaznamenal zahájení kambialní aktivity při teplotě pohybující se v rozmezí 8,35–19,29 °C u mladých stromů a 5,34–8,85 °C u starého porostu buku lesního. Horáček et al., (2003) ve své práci zkoumal kambialní aktivitu a tvorbu dřeva dubu letního (*Quercus robur* L.). Výzkum probíhal v lužních lesích nacházející se blízko města Lednice na Moravě. Ze zjištěných dat určil začátek kambialní aktivity na konci měsíce dubna, při průměrné týdenní teplotě 8 °C. Ondrouch (2012) taktéž ve své práci zjistil, že teplota má vliv na činnost kambia, konkrétně na její zahájení. Ve své práci zkoumal tvorbu dřeva buku lesního v po sobě jdoucích dvou vegetačních

obdobích roku 2010 a 2011. U vzorků z roku 2011 zaznamenal zahájení kambiální aktivity dříve, než tomu bylo v předcházející období. Tento fakt zdůvodnil výskytem nižší teploty v dubnu roku 2010. Ze získaných informací lze usoudit, že klimatické podmínky, konkrétně teplota, mají vliv na zahájení kambiální aktivity.

Po postupném dělení kambia došlo k navýšování počtu jeho buněk, až do dosažení svého maximálního počtu. V roce 2013 byl maximální počet kambiálních buněk zaměřen 13. 6.–27. 6. a v roce 2014 o 1–2 týdny dříve (29. 5. do 12. 6.). Při své nejvyšší aktivitě buněk v roce 2013/2014 obsahovalo kambium 7–10 buněk. V době maximální kambiální aktivity, tedy koncem května a v měsíci červnu se vyskytovalo značné navýšení průměrné denní teploty (15 °C). Taktéž byl v uplynulých týdnech zaznamenán i znatelný úhrn srážek, a to v průměru 7–8 mm. Dále musíme vzít v potaz nejdelší den v roce, který se datuje ke dni 21. června. Fajstavr (2012) ve svém výzkumu došel k podobným výsledkům u mladšího porostu, kdy období maximální buněčné aktivity se takřka shodovalo. Maximální počet buněk se pohyboval od 10–11. Vyšší počet buněk v době maximální aktivity mohl být zapříčiněn větším výskytem srážek, jež dosahovali průměrné hodnoty až 30 mm. Gričar (2007) zabývající se kambiální aktivitou jehličnatých dřevin, ve svém výzkumu zjistila až dvojnásobné zvýšení počtu buněk během maximální kambiální aktivity, a to až 16 buněk. Vyšší počet buněk si lze vysvětlit odlišnou anatomickou stavbou jehličnatých dřevin oproti dřevinám listnatým, které mají značně složitější anatomickou stavbu. Čufar et al. (2008) analyzující kambiální aktivitu a tvorbu dřeva buku lesního ve Slovinsku uvedl maximální počet buněk v kambiální zóně, který byl zaznamenán na konci května o hodnotě 10–13 buněk. Po dosažení maximálního počtu buněk kambia následovala postupná deaktivace.

Ukončení dělivé činnosti kambia v roce 2013 byl pozorován od 15. 8. do 29. 8. Kambium v té době neprodukovalo žádné buňky a začalo se podobat buňkám latentního kambia. V předcházejících týdnech byla zaznamenána pokles průměrné týdenní teploty na 16,7 °C a minimální úhrn srážek nad porostem. Větší množství srážek se vyskytlo jen lokálně. V roce 2014 nastala ukončení činnosti kambia se pohybovala v rozmezí od 4. 9. - 25. 9. přičemž byl zaznamenán pokles průměrné teploty v uplynulém týdnu, a to 12, °C, minimálním množstvím srážek. Osička (2013) došel k závěru, že hlavní vliv na ukončení činnosti kambia má nižší vlhkost půdy. Což v našem případě mohlo být způsoben malým výskytem srážek nad porostem. Délka kambiální aktivity v roce 2013 byla znatelně kratší (126–133 dní), než tomu bylo v následujícím vegetačním období, kdy dělivá činnost kambia trvala (154–161 dní). Podobné hodnoty jako v roce 2013 uvádí i Ondrouch (2013), který ve své práci zjistil délku kambiální aktivity, jež se pohybovala v rozmezí 95–125 dní. Osička (2011) uvádí délku kambiální aktivity

u zkoumaných stromů buku lesního zhruba 112 dní, přičemž výzkum probíhal v nadmořské výšce 620 m n. m. v oblasti Rájec–Domanka. Oproti tomu Čufar a Prislán (2008) zjistili dobu kambialní aktivity 165 dní.

První známky postkambialního rozšiřování se objevily v roce 2013 v první půli měsíce května, avšak v roce 2014 se zóna radiálního rozšiřování objevila o týden dříve (24. 4.– 1. 5.), což může být způsobeno dřívějším zahájením kambialní aktivity a následným časovým posunem. Fáze radiálního rozšiřování odstartovala vždy 2–3 týdny po aktivaci kambia v roce 2013 i 2014, při průměrné týdenní teplotě okolo 12 °C. Fajstavr (2012) u starého i mladého bukového porostu zaznamenal začátek postkambialního růstu o týden dříve než u našich stromů, a to 1–2 týdny po zahájení kambialní aktivity. Vavrčík et al., (2013) vyzoroval začátek postkambialní fáze v období od 13. května do 20. května (3 týdny po aktivace kambia). Podobnou hodnotu udává i Osička (2013), který zaznamenal zahájení postkambialní fáze 2 týdny po aktivaci kambia.

Sekundární buněčné stěna se v roce 2013 začala nejdříve vytvářet u vzorníkových stromů B1 a B2, a to dne 23. 5., avšak u vzorníkového stromu B3 byla pozorována později (6. 6.). V nadcházejícím vegetačním období se sekundární buněčná stěna začala tvořit dříve, než tomu bylo v předcházející rok, a to dne 8. 5. – 29. 5., přičemž u vzorníkového stromu B3 se fáze taktéž vyskytla opožděně (5. 6.). Panshin a de Zeeuw, (1980) popisuje závislost činnosti kambia na endogenních vlastnostech, postavení v porostu a věku stromu. Opožděný start tvorby sekundární buněčné stěny u vzorníkového stromu B3 v roce 2013 i 2014 může být tedy způsoben endogenními faktory nebo i postavením stromu v porostu. Podobných časových hodnot dosáhl i Ondrouch (2012), který stanovil začátek tvorby sekundární buněčné stěny od 27. 5.–3. 6. a v následujícím roce o dva týdny dříve.

První lignifikované elementy dřeva se objevily v období 27. 6.–18. 7. (2013) při průměrné týdenní teplotě 20,7 °C. V roce 2014 start lignifikace proběhl o týden dříve (19. 6.–10. 7.), přičemž v předcházejícím týdnu byla zaznamenána průměrná teplota 18,6 °C. Fáze lignifikace začala v roce 2013 i 2014 zhruba 40 dní po zahájení tvorby sekundární buněčné stěny. Kompletní lignifikace letokruhu nastala v roce 2013 v první půli října s průměrným rozměrem lignifikované zóny 2092,7 μm. V následujícím vegetačním období (2014) byl kompletně lignifikovaný letokruh zaznamenán takřka ve shodné datum, a to u stromů B1 a B2 s průměrným rozměrem 1902 μm. Vzorníkový strom B3 dokončil lignifikaci elementů značně dříve (21. 8.) s nejmenším rozměrem 1133 μm. Tento fakt je nejspíš zapříčiněn ztelně kratším obdobím tvorby sekundární buněčné stěny, které trvalo jen 56 dní, tedy zhruba o polovinu kratší dobu, než se vyskytla u vzorníkových stromů B1 a B2. Oladi et al. (2010) zkoumající tvorbu

dřeva buku východního (630 m n. m.) pozoroval plně lignifikovaný letokruh na začátku října. Avšak Faistaver (2012) uvádí dokončení lignifikace letokruhu o měsíc později.

Dále byl zkoumaný radiální přírůst za vegetační období, který byl pomocí Gompertzovy funkce proložen křivkou, představující optimální model průběhu radiálního přirůstání. Z grafického znázornění je patrné, že v roce 2013 dosáhl maximální radiální rozměr vyšších hodnot oproti roku 2014, při průměrném denním přírůstu 9,2 μm . Avšak v roce 2014 se vyskytla největší maximální radiální přírůst (33,57 μm), kdežto v předcházejícím období dosáhla hodnota 29,5 μm . Maximální denní přírůst se v roce 2013 vyskytl později (13. 6. - 4. 7) oproti roku 2014 (29. 5. - 12. 6), přičemž v obou letech došlo k navýšení průměrné týdenní teploty na 16 °C. V to samé období vzorníkové stromy z roku 2013 i 2014 vykazovali maximální kambiální aktivitu. K vytvoření kompletního rozměru letokruhu bylo v roce 2013 potřeba 161 dní a v roce 2014 jen 154 dní. Tato hodnota je značně vyšší, než udává literatura. Například Čufar a Prislán (2008) uvádí, že k vytvoření většiny letokruhu bylo potřeba průměrně 100 dní, přičemž maximální radiální rozměr měřil 2552 μm . Podobných hodnot dosáhl i Faister (2012) při svém výzkumu, kdy k vytvoření letokruhu bylo potřeba 72– 100 dní. Je patrné, že zkoumané stromy potřebovali značně delší dobu k vytvoření letokruhu. Maximální radiální rozměr nově vytvořeného letokruhu se od sebe v letech 2013 a 2014 značně lišil. V roce 2013 nabyl průměrné hodnoty 1994 μm a v roce 2014 jen 1700 μm . Nižší hodnota v roce 2014 byla ovlivněna rozměrem zóny u stromu B3, který vykázal nejmenší hodnotu (1405 μm). Tento fakt je zapříčiněn celkově nižší buněčnou aktivitou i rozměry jednotlivých zón, které se během vegetačního období u vzorníkového stromu B3 vyskytovaly. Podobné hodnoty maximálního radiálního přírůstu, vyzoroval i Ondrouch (2013) a Osička (2013), jenž z výsledku Gompertzovy funkce zjistili rozměr nově vytvořeného letokruhu okolo 1800 μm .

V letech 2013 a 2014 vykázal nejmenší hodnoty maximálního radiálního přírůstu i rychlosti přirůstání strom B3, což může být způsobeno odlišnou vitalitou jedince, popřípadě postavením stromu v porostu, kdy mohlo docházet k zastiňování či nedostatku půdní vlhkosti.

6. Závěr

Byla analyzována činnost kambia buku a diferenciacie xylému buku lesního (*Fagus sylvatica* L.) v lokalitě Rájec–Němčice.

Je zřejmé, že aktivita v roce 2014 i 2013 byly zaznamenány v první půli měsíce dubna. Při aktivaci kambia se pohybovala průměrná týdenní teplota nad 8 °C. Maximální činnost kambia byla pozorována 3. - 4. týden v měsíci červnu roku 2013. V roce 2014 byla zaznamenána v první půli téhož měsíce. Průměrná délka kambiální aktivity byla v roce 2013 stanovena 130 dní. V roce 2014 průměrná délka činnosti kambia trvala 150 dní.

Dle Gompertzovi funkce byl stanoven maximální radiální přírůst, který v roce 2013 dosáhl průměrné hodnoty 1994 μm a v roce 2014 jen 1709 μm . Největší maximální denní přírůst byl v roce 2013, a to s hodnotou (8,9 μm). Doba potřebná k vytvoření finálního letokruhu byla stanovena 161 dní v roce 2013 a 154 dní v roce 2014.

V roce 2013 byla pozorován v průměru větší rozměr nově vytvořeného letokruhu, přičemž doba k vytvoření letokruhu byla takřka shodná, jako v roce 2014. V roce 2014 byl největší radiální denní přírůst (33 μm). Taktéž byl prokázán vliv klimatických podmínek na činnost a kambia a následné tvorby dřeva, avšak pro lepší pochopení tohoto vztahu by bylo vhodné ve výzkumu pokračovat i nadále.

7. Summary

The cambial activity and the xylem differentiation of European beech (*Fagus sylvatica* L.) were analyzed on research area Rájec – Němčice.

From obtained data is obvious, that the cambial activity in 2013 and 2014 was recorded in the first half of April. During the cambial activity, the average week temperature was over the 8 °C. The maximal cambial activity was observed from third to fourth week of the month June in 2013. In 2014 was the maximal cambial activity observed in the first half of the same month. Average length of cambial activity in 2013 was set on 130 days. In 2014 the average length of activity was 150 days.

The maximal radial increase in 2013 was set, by using the Gompertz function on average value 1994 μm and in 2014 this value was only 1709 μm . The biggest average daily increase was recorded in 2013 and it reached the value 8,9 μm , which is bigger value than in 2014.

The bigger dimension of the new created growth – ring was observed in 2013 and the time for full growth – ring creation was almost the same in both years. In 2014, the biggest daily radial increase was 33 μm . The influence of climatic conditions to cambial activity and wood formation was proved, but for better understanding of this relation is appropriate to continue in this research.

8. Citovaná literatura

- Balabán. (1955). *Nauka o dřevě. Č. 1, Anatomie dřeva*. Praha.
- Bamber. (1987). *Sapwood and Heartwood*.
- Berg. (2008). *Introductory Botany: Plants, People and the Eviromental*.
- Čufar et al, .. (2008). *Tree-ring variation, wood formation and pheology of beech (Fagus sylvatica L.) from a representative site in Slovenia, SE Cetral Europe*.
- Čufar, K. P. (2008). *Tree-ring variation, wood formation and pheology of beech (Fagus sylvatica L.) from a representative sice in Slovenia,.*
- Čundrelík. (2009). *Štruktúra dreva*. Zvolen.
- Dubovský. (1998). *Textúta, Štruktúra a užitkové vlastnosti dreva, návody na cvičenia*. Zvolen.
- Faistaver, M. (2012). *Analýza tvorby dřeva buku lesního (Fagus sylvatica L.) Nabuněčné úrovni ve vztahu k fenologickým pozorováním*.
- Faistavr. (2013). *Analýza tvorby dřeva buku lesního (Fagus sylvatica L.) na buněčné úrovni ve vztahu k fenologickým pzorováním*. Brno: Mendelova univerzita, Lesnická a dřevařská fakulta.
- Gandelová. (2009). *Nauka o dřevě*. Brno: Mendelova universita.
- Gričar. (2007). *Xylo- and phloemogenesis in silver fir (Abies alma Mill.) and norway spruce (Picea abies (L.) karst.)*.
- Gričar. (2009). *Number of cells in xylem, phloem and dormant cambium in silver fir (Abies alba), in trees of different vitality*. IAWA Journal.
- Gričar. (2012). *Cambial cell Production and Structure of Xylem and Phloem as an Indicator of Tree Vitality*.
- Gričar, & Čufar. (2008). *Seasonal dynamics of phloem and xylem formation in silver fir and Norway spruce as affected by drought*.
- Grosser. (1977). *Die Holzer Mitteleuropas: Ein mikrophotographischer Lehratlas*. Berlin.
- Gryc, V. (2012). *Monitoring of xylem formation in Picea abues under drought stress influence*. Dendrobiology.
- Higuchi. (1985). *Biosynthesis and biodegradation of wood components*. Elsevier.

- Chmelař. (1990). *Dendrologie s ekologií lesních dřevin 2. vydání*. Brno.
- Chovanec, Krutel, Hromada, Fuchsová, Čundrelík (1977). *Nauka o dreve I*. Zvolen.
- Jánkovský. (1999). *Chemie dřeva*. Praha.
- Matovič. (1975). *Činnost kambia a charakteristika jeho xylémových derivátů u Fraxinus angustifolia Vahl. A Fraxinus excelsior L.* Brno.
- Matovič. (1988). *Nauka o dřevě*. Brno: Vysoká škola zemědělská.
- Nečesaný. (1958). *Jádro buku, struktura, vznik a vývoj*. Bratislava.
- Oladi, Pourtahmasi, Eckstein, Brauning. (2010). *Seasonal dynamics of wood formation in Oriental beech (Fagus orientalis Lipsky) along an altitudinal gradient in the Hyrcanian forest*. .
- Ondrouch. (2013). *Monitoring tvorby dřeva buku lesního (Fagus sylvatica L.) na buněčné úrovni*. Brno: Mendelova univerzita, Lesnická a dřevařská fakulta .
- Osička. (2013). *Xylogeneze buku lesního (Fagus sylvatica L.) na Dražanské vrchovině*. Brno.
- Panshi, A. J. (1980). *Textbook of Wood Technology: Structure, Identification, Properties, and Uses of the Commercial Woods of the United states and Canada*. New York.
- Plomion et al. (2001). *Wood formation in trees. Plant Physiol.*
- Požgaj, Chovanec, Kurjatko, Babík. (1997). *Štruktura a vlastnosti dreva*. Bratislava.
- Procházka. (1998). *Fyziologie rostlin*. Praha.
- Procházka. (2006). *Botanika, Morfologie a fyziologie rostlin*. Brno.
- Račko, & Čundrelík. (2010). *Zrelé drevo ako lumutujúci faktor vzniku nepravého jadra buka (Fagus sylvatica L.)*. Zvolen.
- Regináč. (1978). *nauka o dreve II*. Zvolen.
- Samuels. (2006). *The cell biology of wood formation: from cambial divisions to mature secondary xylem*.
- Spicer, & Holbrook. (2007). *Parenchyma cell respiration and survival in secondary xylem: does metabolic activity decline with cell age?*
- Šlezingerová. (1999). *Stavba dřeva - cvičení*. Brno.
- Šlezingerová, & Gandelová. (2002). *Stavba dřeva*. Brno.

- Šlezingerová, & Gandelová. (2012). *Stavba dřeva - cvičení*. Brno.
- Taiz, & Zeiger. (2002). *Plant Physiology*. Sinauer Associates. Sunderland.
- Úřadíček, Maděra. (2001). *Dřeviny České republiky*. Písek.
- Vavřík, Gryc, Menšík, Baar . (2013). *Xylem formation in Fagus sylvatica during one growing season*.
- Wagenfuhr. (1989). *Anatomie des HOLzes unter besonderer Berücksichtigung der Holztechnik*.
- Wiedenhoef, & Miller. (2005). *Structure and function of wood. Handbook of wood chemistry and wood composites*.
- Wodzicki. (1971). *Mechanism of xylem differentiation in Pinus silvestris*.
- Zobel, & Sprague. (1986). *Juvenile Wood in Forest. Trees, Springer - Verlag*. Berlin.

9. Seznam obrázků

- Obrázek 1: Makroskopická stavba letokruhu listnatých dřevin: kruhovitě pórovité, roztroušeně pórovité, polokruhovitě pórovité (Anatomická stavba dřeva – lexikon dřev 2002) 10
- Obrázek 2: Makroskopická stavba základních řezů dřeva buku. P – příčný řez, R – radiální řez, T – tangenciální řez (Anatomická stavba dřeva - lexikon dřev 2002) 12
- Obrázek 3: Mikroskopická stavba základních řezů dřeva buku. P – příčný, T – tangenciální, R – radiální (Anatomická stavba dřeva – lexikon dřeva 2002) 16
- Obrázek 4: Trojrozměrná struktura sekundární buněčné stěny (Plomion et al., 2001)..... 17
- Obrázek 5: Zastoupení chemických látek ve dřevě buku upraveno dle (Blažeje, 1975) 18
- Obrázek 6: Schéma diferenciacie tracheid jarního (A) a letního (B) dřeva jehličnanů (Wodzicki, 1971)..... 20
- Obrázek 7: Grafické znázornění klimatických podmínek: červená linie značí průběžnou teplotu a modrá linie úhrn srážek nad porostem. 23
- Obrázek 8: Trephor – nástroj na odběr mikrovývrtů..... 24
- Obrázek 9: Mikrovývrty v kazetkách popsaných dle data odběru vložených do ethanolu..... 25
- rDalším krokem v přípravě vzorků, byla takzvaná dehydratace, díky etanolové řadě, kterou byly vzorky vystaveny. Jednalo se o řadu nádob, v kterých byl různě koncentrovaný etanol a

100 % xylen. Do těchto nádob byly postupně vkládány plastové kazetky se vzorky. Aby byla snadnější manipulace s kazetkami, byly kazetky nejdříve umístěny do nerezového zásobníku a ten se následně umíšťoval do nádob s tekutinou. Z toho první dvě obsahují 70 % etanol, druhé dvě 90 % etanol, poté následuje jedna nádoba s 95 % etanolem a 100 % etanolem. Jako poslední přicházejí 3 nádoby se 100 % xylenem. Vzorky byly v každé z těchto nádob uloženy 120 minut a během této doby jsem docílil vytěsnění vody ze vzorků. Poté následovala impregnace parafínem.

Obrázek 10: Tkáňový procesor 25

Obrázek 11: Tkáňový procesor 25

Obrázek 12: Z prava: pinzeta Leica EG Fa disperzor Leica EG 1120 27

Obrázek 13: Zprava: rotační mikrotom Leica RM 2235 a vodní lázeň Leica RM 2235. 28

Obrázek 14: Pracoviště a nutné potřeby pro podvojně barvení..... 29

Obrázek 15: Světelný mikroskop Leica DM 2000 30

Obrázek 16: Počet buněk v kambiální zóně za rok 2013 34

Obrázek 17: Počet buněk v kambiální zóně za rok 2014 34

Obrázek 18: Tvorba dřeva zachycená v průběhu vegetačního období kdy : PC - fáze postkambiálního růstů, SW - fáze tvorby sekundární buněčné stěny, MT - lignifikované buňky a TOTAL - Celkový radiální přírůst. 36

Obrázek 19: Tvorba dřeva zachycená v průběhu vegetačního období kdy : PC - fáze postkambiálního růstů, SW - fáze tvorby sekundární buněčné stěny, MT - lignifikované buňky a TOTAL - Celkový radiální přírůst. 36

Obrázek 20: Tvorba dřeva zachycená v průběhu vegetačního období kdy : PC - fáze postkambiálního růstů, SW - fáze tvorby sekundární buněčné stěny, MT - lignifikované buňky a TOTAL - Celkový radiální přírůst. 38

Obrázek 21: Tvorba dřeva zachycená v průběhu vegetačního období kdy : PC - fáze postkambiálního růstů, SW - fáze tvorby sekundární buněčné stěny, MT - lignifikované buňky a TOTAL - Celkový radiální přírůst. 38

Obrázek 22: Tvorba dřeva zachycená v průběhu vegetačního období kdy : PC - fáze postkambiálního růstů, SW - fáze tvorby sekundární buněčné stěny, MT - lignifikované buňky a TOTAL - Celkový radiální přírůst. 40

Obrázek 23: Obrázek 24: Tvorba dřeva zachycená v průběhu vegetačního období kdy : PC - fáze postkambiálního růstů, SW - fáze tvorby sekundární buněčné stěny, MT - lignifikované buňky a TOTAL - Celkový radiální přírůst. 40

Obrázek 25: Aplikace Gompertzovy funkce: D – denní přírůst, G – Gompertzovu vyrovnávací křivku, R – reálné naměřené hodnoty radiálního přírůstu. 42

Obrázek 26: Srovnání výsledných křivek průběhu radiálního přírůstu a přírůstu za den 43

10. Seznam tabulek

Tabulka 1: přehled chemických látek a jejich použití 29

Tabulka 2: tabulka shrnující výsledné hodnoty, které byly získány za pomoci Gompertzovy funkce 43