

NASTAJANJE SEKUNDARNE CELIČNE STENE IN LIGNIFIKACIJA TRAHEID KASNEGA LESA OB KAMBIJU PRI NAVADNI JELKI (*Abies alba*) V DORMANTNEM OBDOBJU

Jožica Gričar, Katarina Čufar

Oddelek za lesarstvo, Biotehniška fakulteta, Univerza v Ljubljani

jozica.gricar@bf.uni-lj.si
katarina.cufar@bf.uni-lj.si

Povzetek

Namen študije je bil proučiti proces diferenciacije terminalnih traheid kasnega lesa ob kambiju v dormantnem obdobju pri 10 navidezno zdravih odraslih jelkah (*Abies alba*) s pomočjo svetlobne mikroskopije, transmisijske elektronske mikroskopije in UV-mikrospektrofotometrije. Vzorci lesa in kambija so bili odvzeti iz živih dreves v oktobru, novembru in marcu. Kambijeva celična delitvena aktivnost se je pri vseh drevesih zaključila v oktobru, medtem ko je proces diferenciacije v najmlajših traheidah ob kambiju pri drevesih s širšimi branikami še vedno potekal. Sloj S3 sekundarne celične stene ter bradavičasti sloj nista bila oblikovana in notranji deli srednjega sloja S2 sekundarne celične stene še niso bili lignificirani. Štiri tedne kasneje, v novembru, so bile pri vseh drevesih celične stene terminalnih traheid kasnega lesa ob kambiju dokončno oblikovane in lignificirane. Na ultrastrukturni ravni ni bilo opaziti nobenih razlik med novembrskimi ter marčevskimi vzorci. Celična delitvena aktivnost kambija ter diferenciacija sta se pri drevesih s širšimi branikami zaključili kasneje, kot pri drevesih z ožjimi branikami. V vseh proučenih drevesih se je proces diferenciacije v terminalnih traheidah kasnega lesa zaključil pred zimo.

Ključne besede: navadna jelka (*Abies alba*), traheide kasnega lesa, celična stena, diferenciacija, lignifikacija, dormanca, svetlobna mikroskopija, UV-mikrospektrofotometrija, transmisijska elektronska mikroskopija, kalijev permanganat

Abstract

Secondary Cell Wall Formation and Lignification of Latewood Tracheids near Cambium in Silver Fir (*Abies alba*) during Dormant Period – The aim of this study was to investigate the process of differentiation of terminal latewood tracheids near the cambium in silver firs (*Abies alba*) during dormant period. Samples of wood and cambium were taken from 10 apparently healthy mature trees in the middle of October, November and March. According to light microscopy, transmission electron microscopy and UV-microspectrophotometry, cambial cell-divisional activity was completed in all investigated trees in October, whereas process of differentiation was still ongoing in the youngest tracheids close to the cambium in trees with broader annual xylem growth rings. Layer S3 of the secondary cell wall and warty layer were not formed and inner parts of S2 layer of secondary cell wall were not yet lignified. Only four weeks later, in November, the cell wall formation and the lignification of terminal latewood tracheids close to the cambium were completed in all trees. No alterations were observed at the ultrastructural level between November and March samples. The cambial cell-divisional activity and also differentiation ended later in trees with broader annual xylem growth rings. However, differentiation of terminal latewood tracheids in all investigated trees was completed before winter.

Key words: silver fir (*Abies alba*), latewood tracheids, cell wall, differentiation, lignification, dormancy, light microscopy, UV-microspectrophotometry, transmission electron microscopy, potassium permanganate

1 UVOD

Na zgradbo in lastnosti lesa vplivajo genetski in antropogeni dejavniki ter okolje, znotraj katerih nastaja lesno tkivo. Anatomska zgradba lesa iglavcev je enostavnejša od zgradbe lesa listavcev. Pri iglavcih več kot 90% lesnega tkiva predstavljajo aksialne traheide, ki nastanejo s periklinimi delitvami celic vaskularnega kambija, t.j. kambijevih inicialk ter njihovih neposrednih derivatov, v obdobju kambijeve celične delitvene aktivnosti. V procesu diferenciacije se traheide specializirajo za mehansko in prevajalno vlogo v lesnem tkivu. Proces diferenciacije vključuje postkambialno rast, kjer celica dobi končno velikost in obliko. Sledi odlaganje trislojne (S1, S2, S3) sekundarne celične stene. Ta se v naslednji fazi lignificira, ko ligninske hidrofobne molekule zapolnijo prazne prostore med polisaharidnim matriksom in dajo celični steni ustrezno trdnost. Proces maturacije traheid se zaključi z avtolizo celične protoplazme (Wardrop, 1965; Denne in Dodd, 1981; Fujita in Harada, 1991; Savidge, 1996, 2000; Torelli, 2000; Wodzicki, 2000; Plomion in sod., 2001). Dormantno obdobje se prične po prenehanju kambijeve celične delitvene aktivnosti. V tem obdobju proces diferenciacije v najmlajših traheidah, ki so nastale malo pred prenehanjem kambijeve celične delitvene aktivnosti, še vedno poteka. V številnih študijah poročajo, da so pri različnih iglavcih na začetku dormantnega obdobja ob kambiju zasledili nepopolno diferencirane traheide kasnega lesa, vendar sam proces podrobneje ni bil raziskan (Murmanis in Sachs, 1969; Nix in Villiers, 1985; Donaldson, 1991, 1992, 2001; Gindl in sod., 2001; Schmitt in sod., 2003; Gričar in sod., 2003).

Cilj pričujoče študije je bil raziskati proces diferenciacije v terminalnih traheidah kasnega lesa ob kambiju, pri navadni jelki (*Abies alba*) tekom dormantnem obdobju. Prikazani so rezultati opazovanj s pomočjo svetlobne mikroskopije (SM), transmisijske elektronske mikroskopije (TEM) ter UV-mikrospektrofotometrije (UMSP).

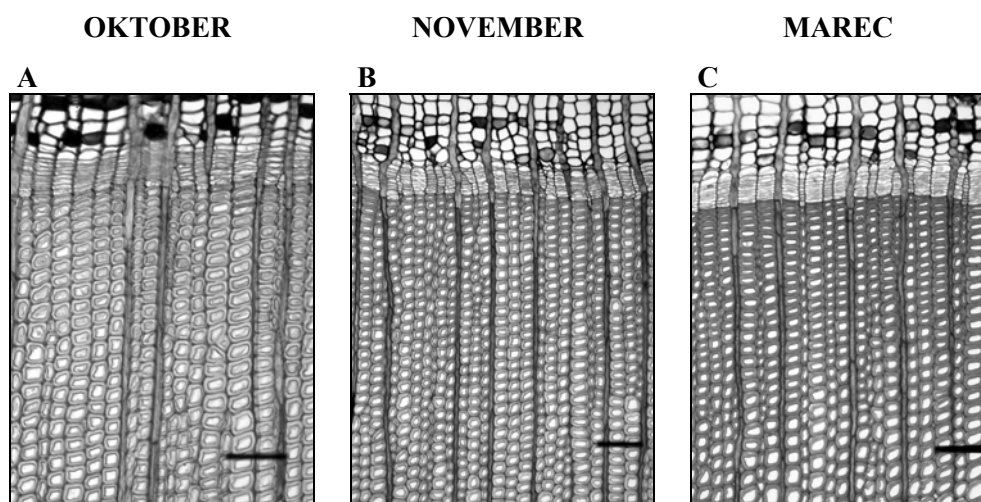
2 MATERIAL IN METODE

Za vzorčna drevesa smo izbrali 10 navidezno zdravih odraslih jelk, starih približno 150 let, iz dinarsko jelovo-bukovega gozda na Ravniku pri Planini (500-700 m n.v.). Vzorce kambija in ksilema smo odvzeli v prsni višini (1,3 m nad zemljo) iz živih dreves 17. oktobra 2001, 14. novembra 2001 in 8. marca 2002. Takoj po odvzemu smo material fiksirali v FAA (mešanica formalina, oetne kisline in alkohola) in ga nato v laboratoriju dehidrirali v etanolu. Za SM smo z mikrotomom LEICA SM 2000R pripravili 20 μm debele preparate prečnih prerezov ter jih obarvali z barvili safranin in astra modro, ki različno obarvata celice v različnih fazah nastajanja sekundarne celične stene in lignifikacije. Z barvilom astra modro se obarva predvsem celuloza, medtem ko se s safraninom rdeče obarva lignin. Preparate smo vklopili v Euparal ter jih opazovali pod svetlobnim mikroskopom Nikon Eclipse E800 LM. Nediferencirane celice smo določili po modro obarvanih celičnih stenah ter protoplazmi v celičnih lumnih. Rdeče obarvane celične stene ter prazni lumni so bili značilni za popolnoma diferencirane traheide. Na osnovi opazovanj pod svetlobnim mikroskopom smo izbrali dve drevesi z nediferenciranimi traheidami kasnega lesa ob kambiju in jih pripravili za podrobnejše raziskave s TEM ter UMSP. V ta namen smo vzorce dodatno dehidrirali v acetonu ter jih vklopili v epoksidno smolo po modificiranem postopku, kot ga opisuje Spurr (1969). Za TEM smo na ultramikrotomu Ultracut S z diamantnim nožem pripravili ultra tanke rezine prečnih prerezov debeline 80-100 nm, jih položili na mrežice prevlečene z bakrom ter jih kontrastirali s kalijevim permanganatom (Donaldson, 1992), pri čemer so se lignificirana, elektronsko gostejša področja celične stene kontrastirala temneje, nelignificirana pa so ostala svetla. Preparate smo opazovali s transmisijskim elektronskim mikroskopom PHILIPS CM 12 TEM pri pospeševalni napetosti 40 ali 60 kV. Za UMSP analize smo na ultramikrotomu Ultracut S z diamantni nožem pripravili poltanke rezine prečnih prerezov debeline 1 μm , jih neobarvane položili na kvarčna objektna stekla, dodali kapljico glicerina, ki ne absorbira UV-svetlobe ter jih pokrili s kvarčnim krovnim steklom. UV-absorpcijske spektre smo merili z mikrospektrofotometrom Zeiss UMSP 80. Analize rezin smo opravili s točkastimi meritvami (velikost točke je bila 1 μm^2) z uporabo programa LAMWIN[®] (Zeiss). Spektre smo merili v območju valovnih dolžin 240-400 nm. Grafi prikazujejo območje valovnih dolžin 240-340 nm. Za vsako točko so bile meritve avtomatsko 50 krat ponovljene na 2 nm. Spektre smo merili v tangencialnih celičnih stenah 10

traheid ob kambiju na oktobrskih, novembrskih ter marčevskih preparatih. UV absorbanco smo določili v zunanjem področju sekundarne celične stene (ob združeni srednji lameli), notranjem področju (ob lumnu) ter v osrednjem delu sekundarne celične stene.

3 REZULTATI IN DISKUSIJA

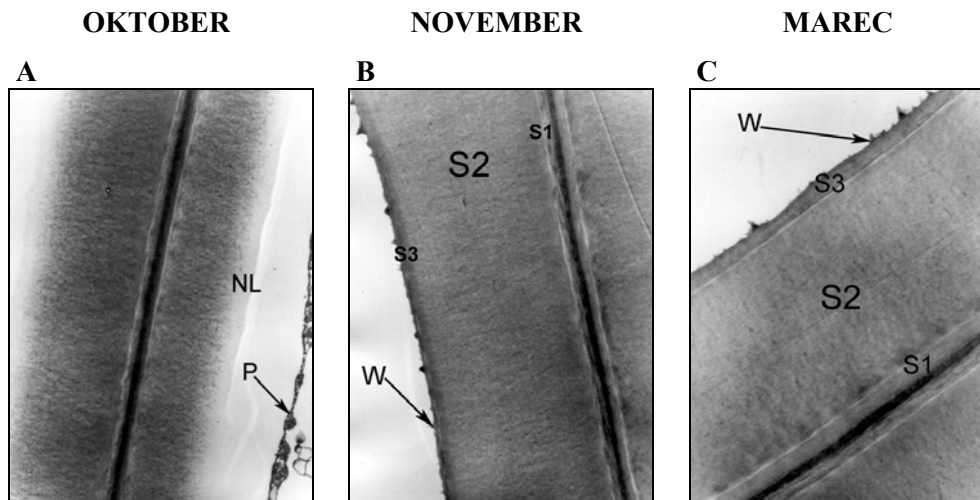
Z opazovanjem preparatov prečnega prereza s SM smo ugotovili, da se je kambijeva celična delitvena aktivnost pri vseh proučenih drevesih zaključila do odvzema vzorcev 17. oktobra (slika 1A), kar smo določili na osnovi izgleda kambijevih celic. Vse kambijeve celice v istem radialnem nizu so imele primerljivo majhne radialne dimenzije in celic, ki bi se nahajale v zgodnjih fazah diferenciacije (npr. postkambialni rasti), ni bilo zaslediti. Pri jelkah s širšimi branikami smo ob kambiju zasledili nepopolno diferencirane terminalne traheide kasnega lesa ob kambiju. Njihove celične stene so bile modro obarvane, v lumnih pa je bila prisotna protoplazma, kar kaže, da proces diferenciacije še ni bil zaključen. Pri jelkah z ožjimi branikami so bile celične stene terminalnih traheid kasnega lesa v oktobru obarvane rdeče, v lumnih pa nismo opazili protoplazme. Sklepali smo, da so bile traheide popolnoma diferencirane. Štiri tedne kasneje, 14. novembra se je pri vseh drevesih proces diferenciacije v terminalnih traheidah kasnega lesa ob kambiju že zaključil (slika 1B). V marcu je bil izgled terminalnih traheid kasnega lesa ob kambiju enak kot v novembru (slika 1C), kar potrjuje, da se je diferenciacija zaključila že do novembrskega odvzema vzorcev.



Slika 1: Prečni preparati traheid kasnega lesa pri navadni jelki pod svetlobnim mikroskopom. A - Celične stene terminalnih traheid kasnega lesa ob kambiju pri jelkah s širšimi branikami v oktobru niso popolnoma diferencirane. V lumnih je prisotna protoplazma. B – Proces diferenciacije terminalnih traheid kasnega lesa ob kambiju je pri vseh jelkah zaključen. C - Popolnoma diferencirane terminalne traheide kasnega lesa ob kambiju v marcu. Stanje celic je podobno kot v novembru. Daljica = 100 μm .

Kontrastiranje ultratankih preparatov za TEM s kalijevim permanganatom smo izkoristili za kvalitativne raziskave razlik v porazdelitvi lignina v celičnih stenah terminalnih traheid kasnega lesa na ultrastrukturni ravni. Kalijev permanganat se uporablja za dokazovanje prisotnosti in porazdelitve lignina v celični steni. Lignificirana področja celične stene se temneje obarvajo, nelignificirana področja ostanejo svetla. Intenziteta kontrasta sovпада z vsebnostjo lignina v posameznem sloju celične stene (Bland in sod., 1971; Kutscha in Schwarzmann, 1975; Donaldson, 1992; Schmitt in sod., 2003; Schmitt in Mecher, 2003). Naši rezultati kažejo, da pri jelkah s širšimi branikami sekundarna celična stena terminalnih traheid kasnega lesa v oktobru še ni bila v celoti oblikovana in lignificirana, saj so po kontrastiranju s kalijevim permanganatom notranji deli celične stene ostali svetli (slika 2A). Sloja S1 in S2 sekundarne celične stene sta že nastala, medtem ko sloj S3 sekundarne celične stene ter bradavičasti sloj še nista bila vidna. Združena srednja lamela, sloj S1 sekundarne celične stene ter

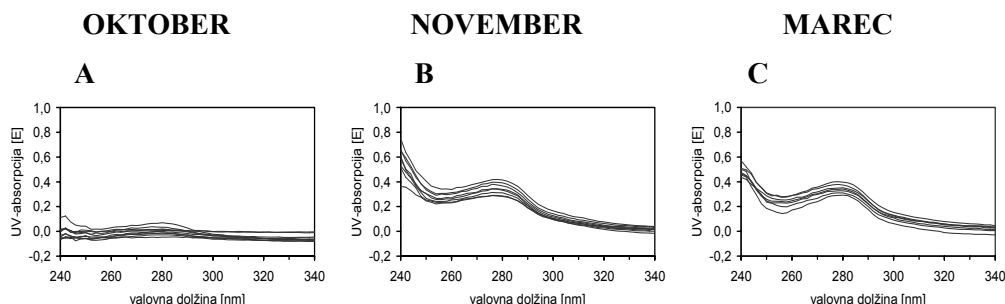
zunanj del sloja S2 so se s kalijevim permanganatom temneje obarvali, medtem ko so notranji deli sloja S2 po kontrastiranju ostali svetli, kar kaže na to, da se proces lignifikacije v teh področjih celične stene še ni začel. Pri jelkah z ožjimi branikami so bile celične stene terminalnih traheid kasnega lesa v oktobru popolnoma diferencirane. Vsi sloji so bili dokončno oblikovani in lignificirani, vključno s slojem S3 ter bradavičastim slojem. Pri novembrskih vzorcih je bil pri jelkah z ožjimi in širšimi branikami proces diferenciacije v terminalnih traheidah kasnega lesa ob kambiju zaključen (slika 2B). Ultrastruktura večplastne celične stene je bila dobro vidna. Celična stena je bila zgrajena iz srednje lamele, primarne stene ter slojevite sekundarne celične stene, ki jo sestavljajo zunanji sloj S1, srednji sloj S2, ki volumsko predstavlja največji delež celotne celične stene, ter notranji sloj S3. Za navadno jelko in tudi nekatere druge vrste iglavcev je značilen bradavičasti sloj ob lumnu (slika 2A,B) (Wardrop, 1965; Fengel in Wegener, 1989; Fujita in Harada, 1991). Celotna trislojna sekundarna celična stena je bila temno obarvana, ravno tako bradavičasti sloj. Pri marčevskih preparatih je bilo stanje podobno kot pri novembrskih (slika 3C).



Slika 2: Prečni prerezi celičnih sten traheid kasnega lesa ob kambiju pri navadni jelki pod TEM. A - Nediferencirane celične stene terminalnih traheid kasnega lesa ob kambiju pri jelkah s širšimi branikami v oktobru. Sekundarna celična stena ni dokončno oblikovana, notranji sloji so nelignificirani (NL). V lumnu so vidni ostanki protoplazme (P). B – V novembru so oblikovani in lignificirani vsi sloji sekundarne celične stene terminalnih traheid kasnega lesa ob kambiju pri vseh jelkah, vključno s S3 slojem ter bradavičastim slojem (W). C - Popolnoma oblikovana celična stena terminalnih traheid kasnega lesa ob kambiju v marcu. Povečava:9300 x (A, B), 14800 x (C).

UMSP se uporablja za semikvantitativno določevanje porazdelitve lignina znotraj slojevite sekundarne celične stene. Lignin iglavcev je v glavnem sestavljen iz gvajacilnih enot z značilnim UV-absorpcijskim maksimumom pri 280 nm. Intenziteta absorpcije zavisi od koncentracije lignina v posameznem območju celične stene (Scott in sod., 1969; Fukuzawa in Imagawa, 1981; Fengel in Wegener, 1989; Fukuzawa, 1992; Koch in Kleist, 2001; Koch in Grünwald, 2003). Slika 3 kaže nekaj primerov spektrov izmerjenih v notranjem področju (ob lumnu), zunanem področju (ob združenih srednji lameli) ter v osrednjem delu sekundarne celične stene pri terminalnih traheidah kasnega lesa ob kambiju v oktobru, novembru in marcu. V zunanjih področjih sekundarne celične stene smo na oktobrskih preparatih izmerili absorpcijske vrednosti v območju $\log ab_{280nm}$ 0,2-0,3. Strukturno zunanji del sekundarne celične stene vključuje sloj S1 ter zunanji del sloja S2. Absorpcijske vrednosti tega področja sekundarne celične stene so nekoliko nižje, kot je to značilno za sekundarno celično steno traheid pri smreki, kjer je bila absorpcija pri 280 nm med 0,35-0,54 (Koch in Kleist, 2001). Absorpcijske vrednosti v območju $\log ab_{280nm}$ 0,0-0,2 smo izmerili v sredini sekundarne celične stene (sloj S2). Meritve v notranjem delu sekundarne celične stene, ki sestoji iz notranjega S2 sloja ter sloja S3, če je že oblikovan, so pokazale absorbenco nižjo kot $\log ab_{280nm}$ 0,1 (slika 3A). Metoda UMSP je

potrdila ugotovitve pod TEM, da se proces lignifikacije v tem področju celične stene še ni pričel. Pri novembrskih UV-spektrih so bile vrednosti v vseh treh področjih sekundarne celične stene med 0,3-0,4 (slika 3B), podobno kot pri smreki (Koch in Kleist, 2001). UV-mikrospektrofotometrične analize niso pokazale nobenih razlik v absorpcijskih vrednostih med novembrskimi ter marčevskimi vzorci (slika 3A,B).



Slika 3: UV-absorpcijski spektri izmerjeni v notranjih področjih (ob lumnu) sekundarne celične stene terminalnih traheid kasnega lesa ob kambiju pri navadni jelki. Meritve v oktobru so pokazale absorbanco nižjo kot $\log \text{abs}_{280\text{nm}} 0,1$ (A). Absorpcijske vrednosti pri valovni dolžini 280 nm so pri novembrskih (B) in marčevskih (C) vzorci podobne, med 0,3-0,4.

Na oktobrskih preparatih je lepo razvidno, da lignifikacija vedno sledi odlaganju polisaharidov (slika 2A, 3A). Proces lignifikacije celičnih sten pri iglavcih in listavcih poteka na podoben način, zato se je uveljavil splošen koncept. Po tem konceptu lignifikacija vedno sledi odlaganju polisaharidov in poteka v treh značilnih stopnjah. Najprej se prične v celičnih vogalih ter združeni srednji lameli, po tem ko se oblikuje S1 sloj sekundarne stene. V naslednji stopnji poteka proces lignifikacije počasneje in istočasno se oblikuje srednji sloj S2 sekundarne stene. Glavnina lignina se odloži po odložitvi polisaharidov v sloju S3. Lignifikacija sekundarne stene se prične v zunanjem sloju S1 in se centripetalno širi proti lumnu. Lignifikacija srednjega sloja S2 ni zaključena pred pričetkom odlaganja notranjega sloja S3 sekundarne stene (Wardrop, 1965; Kutscha in Schwarzmann, 1975, Saka in Thomas, 1982; Donaldson, 1991, 1992, 2001; Terashima in Fukushima, 1988; Fukushima in Terashima, 1991; Terashima, 2000; Brändström, 2001; Schmitt in Mecher, 2003). V literaturi je nekaj nejasnosti o tem, ali je sloj S3 sekundarne stene visoko lignificiran ali ne. Sloj S3 je večkrat bil omenjen kot visoko lignificiran, po splošnem mnenju, naj bi bilo to odvisno od drevesne vrste (Donaldson, 1987, 2001).

Različne uporabljene metode so pokazale podobne rezultate. Kambijeva celična delitvena aktivnost ter proces diferenciacije sta se kasneje zaključila pri drevesih, ki imajo širše branike oz. produktivnejši kambij. Nastajanje notranjih delov sekundarne celične stene ter lignifikacija sta pri drevesih s širšimi branikami v oktobru še vedno potekala. Proces diferenciacije terminalnih traheid kasnega lesa se je pri vseh drevesih zaključil v pozni jeseni, zato nismo opazili nobenih razlik v zgradbi terminalnih traheid kasnega lesa ob kambiju med novembrskimi ter marčevskimi preparati.

Naši rezultati se razlikujejo od opažanj nekaterih drugih avtorjev. Murmanis in Sachs (1969) sta poročala o prisotnosti protoplazme v lumnih v enem ali več tangencialnih nizih terminalnih traheid kasnega lesa bora *Pinus strobus* v septembru, oktobru in januarju. Donaldson (1991, 1992) je zasledil, da se pri večini vzorcev lesa bora *Pinus radiata* proces lignifikacije sekundarnih celičnih sten traheid kasnega lesa ni zaključil do poznega zimskega obdobja. Nix in Villiers (1985) sta na vzorcih odvzetih v novembru in marcu merila dvojne debeline celičnih sten traheid kasnega lesa pri dveh borih *Pinus taeda* ter *Pinus elliotii* in ugotovila, da so bile debeline celičnih sten izmerjene v marcu večje kot v novembru, kar naj bi nakazovalo, da v novembru proces diferenciacije še ni bil zaključen. Tako Donaldson (1992) kot Nix in Villiers (1985) so sklepali, da se proces diferenciacije traheid kasnega lesa, ki je poleg notranjih dejavnikov podvržen tudi zunanjim vplivom okolja, morda nadaljuje med

zimskim obdobjem ali pa se prekine in nadaljuje nekje v marcu naslednje leto ter se zaključi preden nastanejo prve celice branike tekočega leta. Tega v naši študiji nismo mogli potrditi, saj se je proces diferenciacije terminalnih traheid kasnega lesa ob kambiju pri vseh proučevanih drevesih zaključil pred zimo.

Zahvala

Delo je bilo opravljeno na Katedri za tehnologijo lesa Oddelka za lesarstvo Biotehniške fakultete v Ljubljani, v Laboratoriju za histologijo in elektronsko mikroskopijo Oddelka za biologijo Biotehniške fakultete v Ljubljani ter na Oddelku za lesno biologijo na Univerzi v Hamburgu. Martinu Zupančiču z Oddelka za lesarstvo, prof. dr. Jasni Štrus in sodelavcem z Oddelka za biologijo ter dr. Uwe Schmitu in sodelavcem s hamburške univerze se za pomoč lepo zahvaljujema. Hvala Skladu kmetijskih zemljišč in gozdom, ki je omogočil delo na terenu. Raziskava je vključena v projekt projektne skupine lesarstvo.

Literatura

- Bland, D. E., R. C. Foster, A. F. Logan (1971). The mechanism of permanganate and osmium tetroxide fixation and the distribution of lignin in the cell wall of *Pinus radiata*, *Holzforschung*, **25**, 5: 137-143.
- Brändström, J. (2001). Micro- and ultrastructural aspects of Norway spruce tracheids: a review, *IAWA Journal*, **22** (4): 333-353.
- Chaffey, N. (1999). Cambium: old challenges – new opportunities. *Trees*, **13**: 138-151.
- Denne, M. P., R. S. Dodd (1981). The environmental control of xylem differentiation. V Barnett, J. R.(ur.) Xylem Cell development, Castle House Publications LTD, 236-255.
- Donaldson, L. A. (1987). S₃ lignin concentration in radiata pine tracheids, *Wood Science and Technology*, **21**: 227-234.
- Donaldson, L. A. (1991). Seasonal changes in lignin distribution during tracheid development in *Pinus radiata*, *Wood Science and Technology*, **25**: 15-24.
- Donaldson, L. A. (1992). Lignin distribution during latewood formation in *Pinus radiata*. *IAWA Bulletin n.s.*, **12** (4): 381-387.
- Donaldson, L. A. (2001). Lignification and lignin topochemistry – an ultrastructural view. *Phytochemistry*, **57**, 859-873.
- Fengel, D., G. Wegener (1989). Wood: chemistry, ultrastructure, reactions. Walter de Gruyter, Berlin.
- Fujita, M., H. Harada (1991). Ultrastructure and formation of wood cell wall. V: David, N.-S.Hon, N. Shiraiishi (ur.) Wood and cellulosic chemistry, Marcel Dekker Inc., New York, 3-58.
- Fukushima, K., N. Terashima (1991). Heterogeneity in formation of lignin. XIV: Formation and structure of lignin in differentiating xylem of *Ginkgo biloba*. *Holzforschung*, **45** (2), 87-94.
- Fukazawa, K. (1992). Ultraviolet microscopy. V: Methods in lignin chemistry. V Lin, S. Y.,C. W. Dence (ur.). Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, 133-145.
- Fukuzawa, K., H. Imagawa (1981). Quantitative analysis of lignin using an UV microscopic image analyser. Variation within one growth increment. *Wood Science and Technology*, **15**: 45-55.
- Gindl, W., M. Grabner, R. Wimmer (2001). Effects of altitude on tracheid differentiation and lignification of Norway spruce. *Can. J. Bot.*, **79**, 815-821.
- Gričar, J., A. Straže, K. Čufar (2003). Differentiation of the last formed tracheids in wood of silver firs (*Abies alba*) having various cambial productivity. *Zbornik gozdarstva in lesarstva (Research Reports Forestry and Wood Science and Technology)*, **70**, 87-100.
- Koch, G., G. Kleist (2001). Application of scanning UV microspectrophotometry to localise lignins and phenolic extractives in plant cell walls. *Holzforschung*, **55**, 563-567.
- Koch, G., C. Grünwald (2003). Application of UV microspectrophotometry for the topochemical detection of lignin and phenolic extractives in wood fibre cell walls. EU COST E20 Book (v tisku).
- Kutscha, N. P., J. M. Schwarzmann (1975). The lignification sequence in normal wood of balsam fir, *Holzforschung*, **29** (3), 79-84.
- Murmanis, L., I. Sachs (1969). Seasonal development of secondary xylem in *Pinus strobus* L, *Wood Science and Technology*, **3**, 177-193.

- Nix, L.E., K. Villiers (1985). Tracheid differentiation in southern pines during the dormant season, *Wood and Fibre Science*, **17**, 3, 397-403.
- Plomion, C., G. Leprovost, A. Stokes (2001). Wood formation in trees, *Plant Physiology*, **127**, 1513-1523.
- Saka, S., R. J. Thomas (1982). A study of lignification in loblolly pine tracheids by the SEM-EDXA technique, *Wood Science and Technology*, **16**, 167-179.
- 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.
- Schmitt, U., C. Grünwald, J. Gričar, G. Koch, K. Čufar (2003). Wall structure of terminal latewood tracheids of healthy and declining silver fir trees in the Dinaric region, Slovenia, *IAWA Journal*, **24** (1), 41-51.
- Schmitt, U., E. Mecher (2003). Section staining with potassium permanganate for transmission electron microscopy: a useful tool for lignin localisation. EU COST E20 Book (v tisku).
- Scott, J. A. N., A. R. Procter, B. J. Fergus, D. A. I. Goring (1969). The application of ultraviolet microscopy to the distribution of lignin in wood. Description and validity of the technique, *Wood Science and Technology*, **3**, 73-92.
- Spurr, A. R. (1969). A low viscosity embedding medium for electron microscopy, *J. Ultrastructural Research*, **26**, 31-43.
- Terashima, N, K. Fukushima (1988). Heterogeneity in formation of lignin. XI: An autographic study of heterogeneous formation and structure of pine lignin, *Wood Science and Technology* **22**:259-270.
- Terashima, N. (2000). Formation and ultrastructure of lignified plant cell walls. V Kim, Y. S. (ur.), New horizons in wood anatomy. Proceedings of the 4th. Pacific Regional Wood Anatomy Conference. Chonnam National University Press, Kwangju, Korea South, 169-180.
- Torelli, N. (2000). Ksilogeneza. *Les*, **52** (10), 325-335.
- Torelli, N., W. C. Shortle, K. Cufar, F. Ferlin, K. T. Smith (1999). Detecting changes in tree health and productivity of silver fir in Slovenia, *European Journal of Forest Pathology*, **29**, 187-197.
- Wardrop, A. B. (1965). Cellular differentiation in xylem. V: Cellular ultrastructure of woody plants. V Cote, W. A. (ur.) Proceedings of the Advanced Science Seminar, Pinebrook Conference Center, Upper Saranac Lake, New York; September 1964, Syracuse University Press, Syracuse, New York, 61-97.
- Wodzicki, T. J. (2001). Natural factors affecting wood structure, *Wood Science and Technology*, **35**, 5-26.

Predstavitev avtoric

Jožica Gričar je zaposlena kot mlada raziskovalka na Katedri za tehnologijo lesa na Oddelku za lesarstvo Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani. Podiplomski študij na Oddelku za lesarstvo je vpisala v študijskem letu 2001/2002. Njeno raziskovalno delo poteka v okviru raziskovalnega programa programske skupine lesarstvo ter Evropskega projekta v okviru 5. okvirnega programa EU - Predicting Impacts on Natural Ecotones (contract no. EVK2-CT-2002-00136). Tematika raziskovalnega dela je povezana s kambijevo celično delitveno aktivnostjo ter procesom ksilogeneze pri navadni jelki in navadni smreki. Kot asistentka sodeluje pri vajah iz Anatomije lesa na univerzitetnem in visokem strokovnem študiju lesarstva. Njena mentorica je prof. dr. Katarina Čufar, izredna profesorica na Oddelku za lesarstvo Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani. Predava na univerzitetnem in visokem strokovnem študiju lesarstva, univerzitetnem študiju gozdarstva ter podiplomskem študiju lesarstva.