

ANATOMSKI PRISTOP K IDENTIFIKACIJI KORENIN PRAVEGA KOSTANJA (*CASTANEA SATIVA* MILL.) IN GRADNA (*QUERCUS PETRAEA* (MATT.) LIEBL.)

ANATOMICAL APPROACH TO IDENTIFICATION OF ROOTS OF SWEET CHESTNUT (*CASTANEA SATIVA* MILL.) AND SESSILE OAK (*QUERCUS PETRAEA* (MATT.) LIEBL.)

Tanja MRAK^{1*} & Jožica GRIČAR¹

IZVLEČEK

Anatomski pristop k identifikaciji korenin pravega kostanja (*Castanea sativa* Mill.) in gradna (*Quercus petraea* (Matt.) Liebl.)

Ločevanje korenin po vrstah v mešanih sestojih nam omogoča, da razjasnimo vlogo, ki jo igra posamezna vrsta pri procesih v tleh. Najhitrejše in najcenejše metode za določevanje korenin so morfološke in anatomske, pri čemer pa mora biti morfološka določitev vsaj na začetku podprta z anatomsko preverbo. V članku opisujemo anatomske lastnosti korenin (< 5 mm v premeru) pravega kostanja in gradna, ki se v gozdnih združbah pogosto pojavljata skupaj. Velik del anatomskih znakov v lesu korenin se prekriva, najverjetneje zaradi dokaj ozke filogenetske sorodnosti rodov *Castanea* in *Quercus*. V nekaterih primerih so imele korenine gradna v lesu prisotna širša območja brez trahej, ki jih pri pravem kostanju nismo zasledili. Širina trakov, ki je pomemben ločevalni znak v lesu debla, v koreninah obravnavanih vrst ni bila uporabna, saj široki trakovi, ki jih najdemo v lesu debla pri hrastih, v koreninah še niso bili razviti. V koreninah pravega kostanja pa smo zasledili poleg enorednih tudi deloma dvo- in tro-redne trakove, za razliko od strogo enorednih v lesu debla. Glede na skorjo lahko korenine ločimo med sabo po pojavljanju sklereid, ki so bile v koreninah gradna prisotne že v koreninah, debelih samo 1 mm, v koreninah pravega kostanja pa jih nismo zasledili. Prizmatski kristali, ki obdajajo sklerenhim v skorji, so bili pri gradnu za razliko od pravega kostanja neenakomernih velikosti.

Ključne besede: korenine lesnatih rastlin, anatomija rastlin, identifikacija, *Fagaceae*, mešani gozdovi, graden, pravi kostanj

ABSTRACT

Anatomical approach to identification of roots of sweet chestnut (*Castanea sativa* Mill.) and sessile oak (*Quercus petraea* (Matt.) Liebl.)

To enable analysis of role that is played by each plant species in belowground processes, roots must be identified among species. Morphological and anatomical methods enable fast and cheap identification of plant roots, but morphological determination should be supported by the anatomical one, at least at the beginning. The contribution describes anatomical features of sweet chestnut's and sessile oak's roots (< 5mm in diameter), that are commonly occurring together in forest communities. The majority of anatomical features are shared between both species, probably due to relatively close phylogenetic relationship of genera *Castanea* and *Quercus*. In some cases, wide areas devoted of vessels can be observed in roots of sessile oak that are not encountered in sweet chestnut. Width of rays, an important identification character in stem wood, was not found useful for identification of roots of the selected species. In roots of sessile oak, wide rays that are observed in stem wood were not developed yet. In roots of sweet chestnut, partially two- to three-cells wide rays were present, while exclusively one cell wide rays are characteristic of stem wood. In bark, roots can be identified based on occurrence of sclereids: in roots of sessile oak, sclereids were present already in roots of 1 mm in diameter, while they were absent from bark of sweet chestnut. Unequally sized prismatic crystals, that surround the sclerenchyma in bark, were characteristic of sessile oak, while they were more or less of the same size in sweet chestnut.

Keywords: woody plant roots, plant anatomy, identification, *Fagaceae*, mixed forests, sessile oak, sweet chestnut

¹ Gozdarski inštitut Slovenije, Večna pot 2, 1000 Ljubljana, *tanja.mrak@gozdis.si

1 UVOD

V slovenskem prostoru v gozdnih združbah pogosto najdemo kombinacije pravega kostanja (*Castanea sativa* Mill.) in ene od vrst hrasta (*Quercus petraea* (Matt.) Liebl., *Q. robur* L. ali *Q. cerris* L.), kot je razvidno iz

Preglednice 1. Razen v združbi *Vaccino myrtilli-Pinetum sylvestris* Kobenza 1930 ima v drevesni plasti večjo pogostnost ena od vrst hrasta.

Preglednica 1: Gozdne združbe, v katerih se pojavlja kombinacija pravega kostanja z eno od vrst hrasta (povzeto po MARINČEK & ČARNI 2002).

Združba	Pojavlanje vrst hrasta in pravega kostanja v drevesni plasti (vrstni red po pojavljanju)	Pojavlanje vrst hrasta in/ali pravega kostanja v grmovni plasti
<i>Carici umbrosae-Quercetum petraeae</i> Poldini in Marinček 1994	<i>Q. petraea</i>	<i>C. sativa</i>
<i>Piceo abietis-Quercetum roboris</i> (M.Wraber 1966) Marinček 1994	<i>Q. robur, C. sativa</i>	
<i>Vaccino myrtilli-Carpinetum betuli</i> (M.Wraber 1969) Marinček 1994	<i>Q. petraea, C. sativa</i>	
<i>Vicio oroboidi-Fagetum</i> (I.Hrovat 1938) Pocs et Borhidi in Borhidi 1960	<i>Q. petraea, C. sativa</i>	
<i>Seslerio autumnalis-Fagetum</i> (Ht.) M. Wraber ex Borhidi 1963	<i>Q. cerris, C. sativa</i>	
<i>Melampyro vulgati-Quercetum petraeae</i> Puncer et Zupančič 1979	<i>Q. petraea, C. sativa</i>	
<i>Blechno-Fagetum</i> (Tüxen & Oberd. 1958) Rivas-Martinez 1962	<i>Q. petraea, C. sativa</i>	
<i>Castaneo sativae-Fagetum</i> (M.Wraber 1955) Marinček & Zupančič 1995	<i>Q. petraea, C. sativa</i>	
<i>Seslerio autumnalis-Quercetum petraea</i> Poldini (1964) 1982	<i>Q. petraea</i>	<i>C. sativa, Q. petraea</i>
<i>Vaccino myrtilli-Pinetum sylvestris</i> Kobenza 1930	<i>C. sativa, Q. petraea</i>	
<i>Galio rotundifolii-Pinetum sylvestris</i> Zupančič et Čarni ex Čarni et al. 1992	<i>Q. petraea</i>	<i>C. sativa, Q. petraea</i>

Tako rod *Castanea* kot tudi *Quercus* uvrščamo v družino Fagaceae, predstavniki teh dveh rodov so skupaj z rodом *Fagus* ključne vrste gozdnih ekosistemov v Evropi, Aziji in Severni Ameriki, kjer gradijo obširne gozdove in ustvarjajo pogoje za obstoj ostalih organizmov, s čimer močno prispevajo k biotski raznovrstnosti kopenskih ekosistemov severne poloble. Poleg tega so vrste iz teh rodov ekonomsko zanimive kot vir lesa in hrane (KREMER s sod. 2012). Družina Fagaceae naj bi se v terciarju izjemno hitro diferencirala v različne rodove, kar otežuje filogenetske analize na osnovi kloroplastne in jedrne DNK (KREMER s sod. 2007). Klasifikacija znotraj družine na podlagi razmnoževalnih struktur (tip cveta v povezavi z načinom opráševanja – vetrocvetke/žužkocvetke, tip plodu, tip kupule - skledice) se je na podlagi novejših filogenetskih raziskav izkazala za težavno, saj naj bi bile tako vetrocvetke kot žužkocvetke znotraj družine polifiletske (KREMER s sod. 2012). Primerjalne analize genoma so potrdile filogenetske analize, da so hrasti bolj sorodni kostanjem kot pa bukvam (KREMER s sod. 2012), saj naj bi

se rod *Fagus* odcepil že prej v evoluciji družine iz skupnega prednika (KREMER s sod. 2007).

Predstavniki družine Fagaceae imajo na svojih drobnih koreninah razvito ektomikorizo (SMITH & READ 2008). Z vidika delovanja združb je dogajanje pod zemljo ključnega pomena. Pod zemljo se odvijajo interakcije z mikoriznimi in patogenimi glivami, bakterijami v rizosferi, talnimi nevretenčarji, poteka kompeticija med koreninami različnih vrst za vodo in hrana, kar vse pogojuje obstoj in uspeh določene vrste, še posebej v stresnih razmerah. Vrste, ki so dominantne nad zemljo, niso nujno dominantne tudi pod zemljo (PALMER s sod. 2008). Da bi lahko razjasnili zapletene procese v tleh, je nujno potrebno razlikovanje med posameznimi vrstami tudi glede na njihove podzemne dele (REWALD s sod. 2012, PALMER s sod. 2008), kar je posebej zahtevno v mešanih sestojih.

Metod za identifikacijo podzemnih delov je več, od morfoloških, anatomskih, molekularnih in spektroskopskih (glej REWALD s sod. 2012). Najbolj cenovno dostopna in časovno nezahtevna izmed navedenih

metod sta morfološki in anatomski pristop. Ker so morfološki znaki relativno neizraziti, ter vsaj nekateri (npr. razrast korenin, število koreninskih vršičkov) zelo podvrženi vplivom okolja, je vsaj na začetku potrebno preverjati morfološko identifikacijo tudi z anatomsko. Načeloma velja, da anatomske znaki omogočajo identifikacijo do ravni rodu.

Zgoraj navedeni primeri pojavljanja hrasta in pravega kostanja v isti združbi bi zaradi sorodnosti obeh taksonov lahko predstavljali težavo, v kolikor bi želeli za identifikacijo uporabiti anatomske metode. Če podrobneje pogledamo zgradbo lesa in skorje v deblu pri vrsti *Castanea sativa* in vrstah iz rodu *Quercus*, najdemo mnogo podobnosti. Les debla je tako pri pravem kostanju kot pri listopadnih vrstah hrastov venčasto porozen, traheje v kasnem lesu so razporejene v radialnih, poševnih in dendritičnih vzorcih. Traheje imajo enostavne perforacije. Piknje so razporejene izmenično. Piknje v križnih poljih so povečane in različnih oblik, kar je sicer značilnost cele družine Fagaceae. V trahejah zasledimo tankostene tile. Osni parenhim je apotrahealni difuzni v agregatih. Trakovi so homocelularni, širina trakov pa je značilna na ravni rodu.

Pravi kostanj ima tako izključno enoredne trakove, vrste iz rodu *Quercus* pa kombinacijo enorednih in širokih trakov. V lesu vrst iz rodu *Quercus* se pojavljajo prizmatski kristali. V skorji pri obeh rodovih zasledimo tangencialne pasove sklerenhima, ki pa so pogosto prekinjeni ali rudimentarni oz. jih nadomestijo veliki skupki sklerenhima. Trakovi v skorji so pogosto močno sklerotizirani (SCHWEINGRUBER s sod. 2011).

Določevalni ključi za les, ki so pripravljene na podlagi analiz lesa v deblu, za korenine niso uporabni, saj se les v koreninah v nekaterih lastnostih razlikuje od lesa v deblu. Poleg tega imamo pri koreninah pogosto opravka z drobnimi koreninami (korenine, tanjše od 2 mm), ki v skrajnem primeru sploh niso olesenele ali pa je delež olesenelega tkiva zelo majhen. Določevalni ključi za les so praviloma pripravljene za zrel (adultni) les (npr. TORELLI 1991), ki se bistveno razlikuje od mladostnega (juvenilnega) lesa, tako da le-ti niso najboljša izbira za anatomijo drobnih korenin.

Cilj naše raziskave je bil, da ugotovimo, ali lahko na anatomske ravni ločimo korenine hrasta gradna (*Q. petraea*) in pravega kostanja (*C. sativa*). Osredotočili smo se na korenine, tanjše od 5 mm.

2 MATERIAL IN METODE

Vzorci korenin smo nabrali med februarjem 2014 in oktobrom 2015 na različnih lokacijah po Sloveniji. Vzorčili smo v površinski plasti tal do globine 15 cm tako, da smo sledili debelejši korenini, za katero je bila jasno razvidna povezava z deblom. Za vsako od obeh vrst smo nabrali po štiri vzorce korenin. Nabrane vzorce smo takoj prenesli v laboratorij in jih do nadaljnje obdelave za največ dva dni shranili v hladilniku. Iz nabranih vzorcev smo izbrali dele korenin z debelino 5, 3 in 1 mm, jih narezali na največ 5 mm dolge kose ter fiksirali v mešanici etanola, očetne kisline in formalina. Fiksirali smo tudi najbolj distalne dele drobnih korenin, pri čemer pa smo le-te pustili v večjih šopih, da bi preprečili izgube med obdelavo vzorcev. Po dehidra-

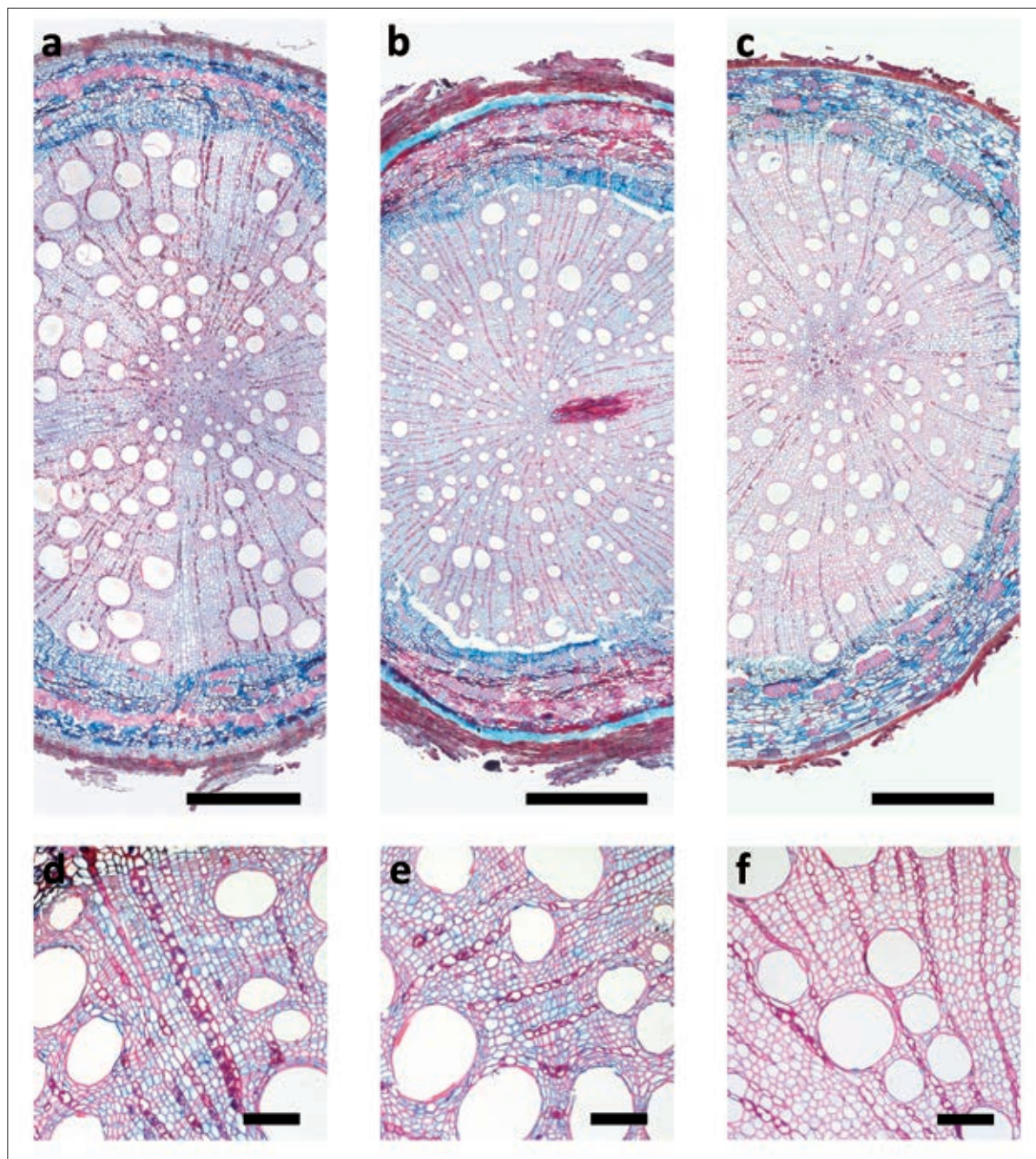
ciji v etanolni seriji smo korenine vklopili v parafin ter s pomočjo rotacijskega mikrotoma Leica RM2245 pripravili vzdolžne in prečne prereze debeline 10 μ m oz. 5 μ m v primeru distalnih drobnih korenin. Rezine smo obarvali z mešanico barvil safranin in astra modro ter vklopili v Euparal (Roth). Mikroskopske preparate smo opazovali pod presežno svetlobo s svetlobnim mikroskopom Zeiss Axio Imager Z2 (Carl Zeiss), za opazovanje kristalov pa smo uporabili diferenčni interferenčni kontrast. Opazovali smo anatomske lastnosti primarnega ksilema, sekundarnega ksilema in skorje. Na prečnih prerezi smo izvedli tudi meritve tangencialnega premera trahej, za kar smo uporabili program ZEN 2012 (Carl Zeiss Microscopy, 2011).

3 IZSLEDKI IN RAZPRAVA

Anatomske lastnosti korenin obeh vrst za vzorce, debelejše od 1 mm navajamo v nadaljevanju, predstavljene pa so tudi na Sliki 1 in 2. Korenin, tanjših od 1 mm na podlagi anatomije med sabo nismo uspeli ločiti, zato njihovih lastnosti nismo opisali.

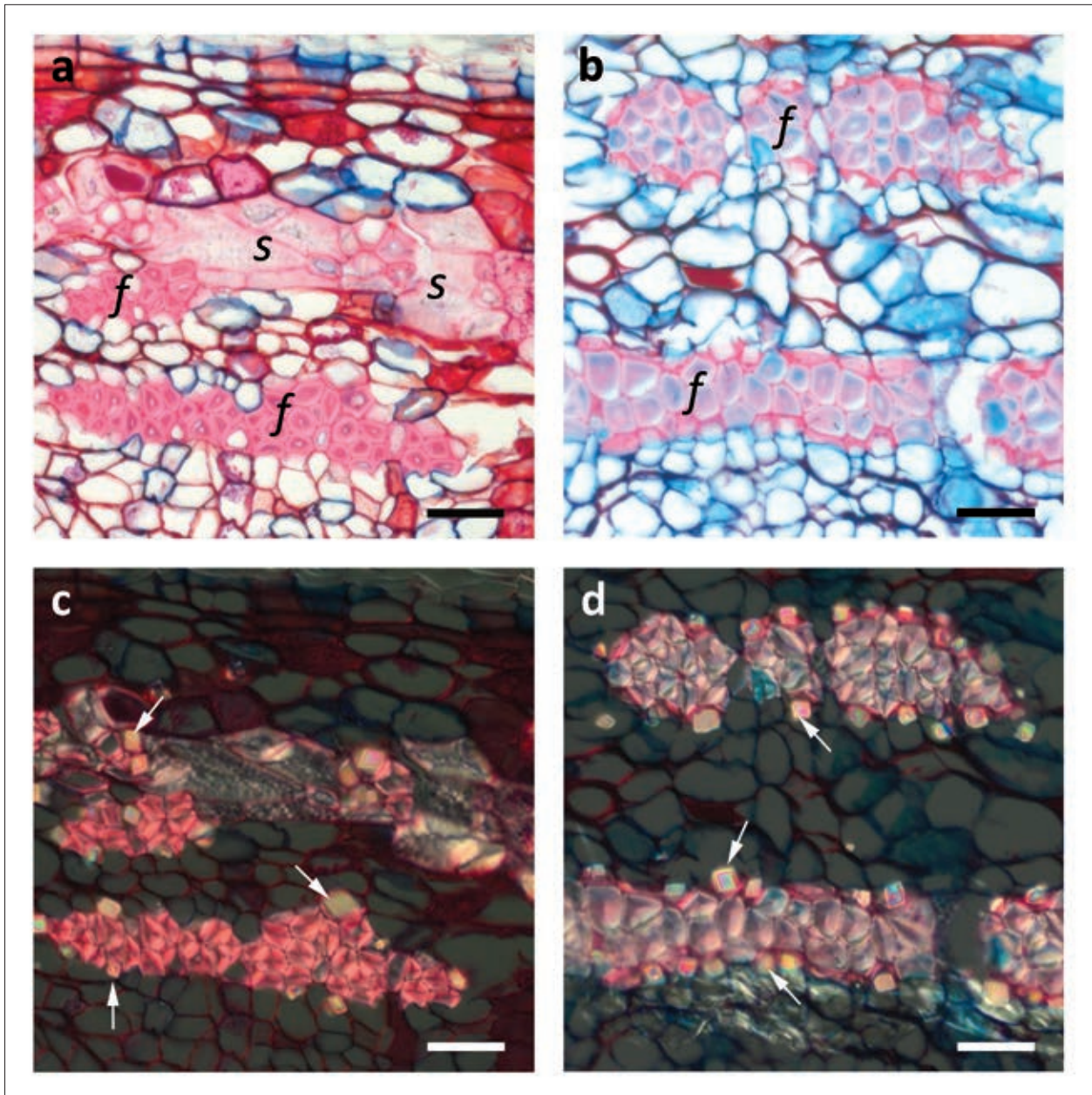
3.1 Primarni ksilem

Pri obeh vrstah je bil primarni ksilem poliarhni. Število protoksilemskih skupin je bilo znotraj vrste spremenljivo, kar naj bi bilo povezano s položajem korenine v koreninskem sistemu (HISHI & TAKEDA 2005).



Slika 1: a) - c) Izseki iz prečnih prerezov 3 mm debelih korenin, merilce 0.5 mm - a) *Quercus petraea*, razvidna širša območja brez trahej ter bolj ali manj sklenjen sklerenhimatski obroč v skorji; b) *Q. petraea* - netipična korenina, kjer širša območja brez trahej niso razvita, premer trahej pa je manjši; c) *Castanea sativa* - razvidne manjše skupine vlaken v skorji, ki omogočajo razlikovanje od netipične korenine hrasta na sliki b. d) - e) Sekundarni ksilem, merilce 100 μ m. d) Podrobnejši pogled na območje brez trahej pri vrsti *Q. petraea*. Razviden je dvoredni trak in več enorednih trakov. e) Enoredni trakovi pri vrsti *Q. petraea*. c) Enoredni in deloma dvoredni trakovi pri vrsti *C. sativa*.

Figure 1: a) - c) Cross sections of 3 mm roots, bar = 0.5 mm. a) *Quercus petraea*, wider areas devoted of vessels visible, and more or less continuous sclerenchymatous band in bark; b) *Q. petraea* - atypical root where wider areas devoted of vessels are not developed, as well as vessels are of smaller diameter; c) *Castanea sativa* - smaller groups of fibres in bark evident that enable differentiation from atypical root of sessile oak in Figure b. d) - e) Secondary xylem, bar = 100 μ m. d) Detailed view of area devoted of vessels in *Q. petraea*. One biseriate and more uniseriate rays evident. e) Uniseriate rays in *Q. petraea*. c) Uniseriate and partially biseriate rays in *C. sativa*.



Slika 2: a) Prečni prerez skozi skorjo korenine pri vrsti *Quercus petraea*: f – vlakna, s – sklereide. Sliki a) odgovarja slika c), ki je posneta pod diferenčnim interferenčnim kontrastom, na kateri so razvidni prizmatski kristali (puščice) različnih velikosti, ki obdajajo skupine vlaken in sklereid. b) Prečni prerez skozi skorjo pri vrsti *Castanea sativa*: f – vlakna. Sliki b) odgovarja slika d), posneta pod diferenčnim interferenčnim kontrastom, na kateri so razvidni prizmatski kristali (puščice) enakomerne velikosti, ki obdajajo skupine vlaken. Velikost merila je 40 µm.

Figure 2: Cross sections through bark of *Quercus petraea* (a, c) and *Castanea sativa* (b, d) roots; f – fibres, s – sclereids, arrows – prismatic crystals. Figures c) and d) are taken under differential interference contrast: c) Prismatic crystals of unequal sizes around groups of fibres and sclereids. d) Prismatic crystals of equal sizes around groups of fibres. Bars = 40 µm.

3.2 Sekundarni ksilem

3.2.1 Branike

Tako pri pravem kostanju kot tudi pri gradnu branik nismo zaznali v nobenem primeru. Na pojavljanje slabo razvidnih branik v lesu korenin sta opozorila že DENNE & GASSON (2008), ki sta za macesen tako v mladostnem kot v zrelem lesu korenin opazila, da je kasni les odsoten ali pa ga je malo, branike so bile nepravilne ali odsotne, poleg tega je bilo težko ločiti prave letne branike od nepravih. MRAK & GRIČAR (2016) sta pri osmih analiziranih vrstah listavcev odsotnost branik v koreninah zabeležili pri gradnu, pravem kostanju in črnem topolu. Slaba izrazitost branik v koreninah bi lahko bila posledica manjše spremenljivosti razmer v tleh (FITTER 2002), oz. odsotnosti eksogenih dejavnikov (svetloba, nihanja temperature) ter hormonalne regulacije (TROCKENBRODT 1995).

3.2.2 Poroznost

Pri pravem kostanju je bila v vseh primerih opazna difuzno porozna struktura lesa, medtem ko smo pri vzorcih gradna opazili bodisi difuzno porozno bodisi polvenčasto porozno strukturo. TROCKENBRODT s sod. (2001) je pri gorskem brestu, katerega les debela je sicer venčasto porozen, opazil, da se vzorec poroznosti lesa v koreninah spreminja z oddaljenostjo od debela, pri čemer je bil les korenin, ki so bile najbolj oddaljene od debela, difuzno porozen, tistih bližje deblu pa polvenčasto porozen.

3.2.3 Značilnosti trahej

Pri vzorcih pravega kostanja so se traheje pojavljale posamično, občasno smo zasledili tudi pare trahej, razporejene tangencialno. Vzorec razporeditve je bil nerazločen do neizrazito poševen. Pri gradnu so se traheje pojavljale posamično, poševni vzorec razporeditve je bil bolj izrazit kot pri pravem kostanju, a ne v vseh primerih. Odstopanj pri perforacijah nismo zasledili. Til pri proučevanih vzorcih nismo zasledili, razen pri enem vzorcu pravega kostanja, kjer so bile opažene spremembe tkiva, podobne tistim, ki jih opisujeta KUTSHERA & LICHTENEGGER (2002) za okužbo z glivo kostanjevega raka *Cryphonectria parasitica* (Murr.). Srednje vrednosti tangencialnih premerov trahej za različne debeline korenin obeh vrst so podane v Preglednici 2. Literature, ki bi obravnavala premer trahej v koreninah, močno primanjkuje. Veljalo naj bi, da premer trahej narašča v bazipetalni smeri, tj. od listov proti koreninam (ALONI 2015), kar pomeni, da bi moral biti premer trahej v koreninah večji

kot v deblu. GEBAUER & VOLAŘÍK (2013) sta ugotovila, da se v premer trahej v 3 in 5 mm debelih koreninah puhastega hrasta in doba povečuje z globino tal. Če bi želeli uporabiti premer trahej kot razlikovalni znak med vrstami, bi bila potrebna velika previdnost pri interpretaciji, saj naj bi na premer trahej poleg globine tal vplivali tudi drugi dejavniki, kot je sušni stres in zimsko zmrzovanje tal (GEBAUER & VOLAŘÍK 2013).

Preglednica 2: Srednje vrednosti tangencialnega premera trahej v μm (+/- std. napaka) za različno debelo korenine.

Debelina korenine	<i>C. sativa</i>	<i>Q. petraea</i>
1 mm	54,8 +/- 0,72	58,5 +/- 0,86
3 mm	57,5 +/- 0,74	64,3 +/- 0,99
5 mm	71,3 +/- 1,00	58,2 +/- 0,92

3.2.4 Trakovi

Višino trakov je pri tako tankih koreninah težko ugotavljati, saj tangencialne prereze, na katerih je meritev možna, dobimo le na majhnem delu preparata. Kjer so bile meritve možne, smo pri pravem kostanju namerili višine trakov manj kot 1 mm, medtem ko so bili pri gradnu občasno višji od 1 mm. Trakovi so bili pri pravem kostanju večinoma enoredni, toda na nekaterih delih so se razširili v dvoredne ali izjemoma v troredne, kar smo opazili pri vseh obravnavanih debelinah korenin pri vseh vzorcih. Glede na to, da so trakovi v lesu debela pravega kostanja izključno enoredni (TORELLI 1991), je morda pojavljanje dvo- in trorednih trakov ena od značilnosti juvenilnega stanja lesa korenin, kar bi veljalo preveriti tudi pri lesu tanjših vej, ki je prav tako juvenilen. Trakovi pri gradnu so bili pri večini vzorcev enoredni, v nekaj primerih pa smo zasledili tudi razširitev enorednih trakov v dvo- do štiri-redne. Široki trakovi, ki so značilni za les v deblu, v lesu korenin niso bili razviti. V nekaterih primerih smo nad protoksilemskimi poli opazili široka območja brez trahej, kjer bi se lahko naknadno diferencirali široki trakovi. Praviloma so imeli vzorci s širokimi območji brez trahej nad protoksilemskimi poli večji premer trahej, ki so bile razporejene diagonalno, vzorci brez širokih območij pa so imeli manjši premer trahej z enakomerno razporeditvijo trahej brez posebnega vzorca. GEBAUER & VOLAŘÍK (2013) navajata, da je več širokih območij brez trahej v koreninah hrastov, ki rastejo bliže površju tal.

3.2.5 Piknje

Pri obeh vrstah so bile piknje izmenične, piknje v križnih poljih pa skalariformne.

3.2.6 Osni parenhim

Brez posebnosti (kvalitativne lastnosti iste kot pri lesu debla).

3.3 Skorja

3.3.1 Sekundarni floem

Brez posebnosti (kvalitativne lastnosti iste kot pri skorji debla).

3.3.2 Vlakna

Vlakna se pri obeh vrstah pojavljala v tangencialno razporejenih skupinah v sekundarnem floemu in periciklu, pri pravem kostanju je bilo opazno izrazito manjšanje skupin z oddaljenostjo od kambija.

3.3.3 Sklereide

Sklereide smo zasledili samo pri vzorcih gradna, kjer so se pojavljale skupaj z vlakni in tvorile sklerenhimatski obroč. Pojavljanje sklereid v skorji debla pri dobu, ter njihovo odsotnost pri pravem kostanju navaja tudi WHITMORE (1963). Sklereide so se pri gradnu pojavljale tudi že v koreninah, debelih 1 mm, a v manjšem številu kot pri debelejših koreninah. Podoben trend so opazili tudi pri koreninah doba, kjer se je število sklereid zmanjševalo z oddaljenostjo korenin od debla oz. s starostjo korenine, prav tako pa so sklereide povezovalе skupine vlaken v sklerenhimatski obroč (TROCKENBRODT 1995).

3.3.4 Pericikel

Pericikel je tkivo, ki je primarnega izvora, a se ohrani še nekaj časa v obdobju sekundarne rasti korenine, proliferira in tvori tkivo, ki spominja na primarno skorjo (korteks) (EVERT & EICHHORN 2013). Celice pericikla so bile pri pravem kostanju v prečnem prerezu velike in podaljšane, razen okoli skupin vlaken, kjer so bile majhne in kroglaste. Pri gradnu so bile celice pericikla večinoma izodiametrične, na obrobju pa stisnjene ob periderm.

3.3.5 Kristali

Razlik v razporeditvi in tipu kristalov med obema vrstama nismo zasledili. Prizmatski kristali so se pojavljali okoli tangencialnih skupin vlaken oz. sklerenhimata, s tem da so bili pri pravem kostanju bolj ali manj homogene velikosti, pri gradnu pa različnih velikosti. Druže so se pojavljale v majhnih količinah v periciklu in občasno v sekundarnem floemu, ki je že izgubil prevodno funkcijo. Za dob TROCKENBRODT (1995) navaja prisotnost prizmatskih kristalov na notranjem in zunanem robu vlaken v sekundarnem floemu, druž pa v parenhimatskih celicah sekundarnega floema.

3.3.6 Periderm

Korenine z majhnim premerom imajo običajno razvit samo en periderm (MRAK & GRIČAR 2016), debelejšje korenine oz. korenine bližje deblu pa naj bi imele ritidom razvit le na glavni korenini blizu površja tal, stranske korenine pa naj ga sploh ne bi imele (TROCKENBRODT 1995). Pri pravem kostanju so bile osrednje celice periderma večinoma napolnjene s polifenoli, pri gradnu pa zunanje, drugih razlik nismo zasledili.

4 ZAKLJUČKI

Anatomija korenin je med vrstama zelo podobna. Glede na anatomske znake v lesu je v primerih, kjer so pri gradnu prisotna širša območja brez trahej, možno ločevanje od pravega kostanja. Širina trakov, ki je pomemben ločevalni znak pri lesu debla, v koreninah obravnavanih vrst ni bila uporabna, saj široki trakovi, ki jih najdemo v lesu debla pri hrastih, v koreninah še niso bili razviti, pri koreninah pravega kostanja pa smo zasledili poleg enorednih tudi deloma dvo- in troredne trakove, za razliko od strogo enorednih pri lesu v deblu. Glede na skorjo lahko korenine obeh vrst loči-

mo med sabo po pojavljanju sklereid, ki so bile v koreninah gradna prisotne že pri koreninah, debelih samo 1 mm, pri koreninah pravega kostanja pa jih nismo zasledili. Prizmatski kristali, ki obdajajo sklerenhim v skorji, so bili pri gradnu za razliko od pravega kostanja neenakomernih velikosti. Korenin, tanjših od 1 mm, nismo uspeli ločiti med sabo. Anatomske znaki, ki smo jih navedli za graden, so uporabni tudi za določevanje ostalih avtohtonih listopadnih vrst hrasta, saj v večini primerov anatomske znaki omogočajo ločevanje samo na ravni rodu.

5 SUMMARY

In forest communities, oaks often occur in combination with sweet chestnut (see Table 1 for forest communities with both tree genera that can be found in Slovenia). As functioning of forest communities is very much dependent on functioning of its belowground components (roots in interaction with mycorrhizal and pathogenic fungi, rhizosphere bacteria, soil invertebrates, competition between roots for water and nutrients,...), identification of roots is necessary to clarify belowground relationships between species. It is not necessary that species that is dominating aboveground is also dominating belowground. Separation between species can be problematic in mixed stands, especially where phylogenetically closely related taxa occur together. Oaks and chestnuts both belong to Fagaceae family and besides sharing many similarities in wood structure, they are also both ectomycorrhizal. The presented work was aimed to find out if it is possible to distinguish roots of sessile oak from sweet chestnut based on anatomical characteristics of roots that are thinner than 5 mm in diameter.

Samples of roots were collected from superficial soil layers of up to 15 cm in depth, by following the thick root clearly connected to the stem of a tree. For each species, four samples of roots were collected; pieces of thickness 5, 3 and 1 mm and the most distal fine roots were cut and fixed in formalin-acetic acid-ethanol fixative. Samples were embedded into paraffin and cut on rotary microtome to obtain longitudinal and cross sections. Sections were stained with mixture of safranin and astra blue and anatomical characteristics of primary xylem, secondary xylem and bark observed under Zeiss Axio Imager Z2 (Carl Zeiss) microscope in transmitted light. For observation of crystals, differential interference contrast was used. In cross sections tangential diameters of vessels were measured with ZEN 2012 (Carl Zeiss Microscopy) software.

Samples thinner than 1 mm in diameter did not have enough anatomical characteristics to enable successful separation between both species. For samples 1 mm in diameter and above, separation between species was successful and therefore anatomical characteristics described as follows. Primary xylem was polyarch in both species, with variable number of protoxylem groups intraspecifically. In secondary xylem, growth rings were not observed in either of species, porosity pattern was diffuse in sweet chestnut and diffuse to semi-ring porous in sessile oak. In sweet chestnut, vessels were positioned solitarily and occasionally in tangential pairs, without any pattern

or with inconspicuously oblique arrangement. In sessile oak, vessels were arranged solitarily, with more conspicuous oblique pattern of arrangement than in sweet chestnut. Deviations in vessel perforations were not detected. Tyloses were not observed in either of species, except in one sample of *C. sativa*, which was presumably infected with *Cryphonectria parasitica* pathogen. Mean tangential diameters of vessels for both species are given in Table 2. However, due to environmental factors that may affect the vessel diameter (soil depth, freezing, drought), the separation between species based on vessel diameter appears not to be very reliable. Height of rays is difficult to measure in such thin roots, as perfect tangential views are obtained on only small part of each section. Where measurements were possible, height of rays below 1 mm were recorded for sweet chestnut and occasionally higher than 1 mm in sessile oak. Rays were mainly one cell wide in sweet chestnut (as it is typical for stem wood), but in some parts they were also two- to three-cells wide. In sessile oak, wide rays that are typical for stem wood were not observed, rays were mainly one cell wide, widening to two- to four-cells in some areas. In some samples, wide areas devoted of vessels were observed above protoxylem poles in sessile oak. In these areas, wide rays could be initiated in later ontogenetic stages. Intervascular pits, vessel-ray pits and axial parenchyma did not show any deviation from stem wood. In bark, differences in secondary phloem between species were not observed. Fibres were present in both species in tangential groups in secondary phloem and pericycle, in sweet chestnut the size of fibre groups was diminishing with distance from cambium. In sessile oak, fibre groups were accompanied by sclereids, forming together a sclerenchymatous band. Sclereids were observed in roots as thin as 1 mm, but in smaller quantities than in thicker roots. Cells of pericycle were large and elongated in sweet chestnut, except around fibre groups where they were small and spherical. In sessile oak, cells of pericycle were isodiametric, peripherally compressed against the periderm. Type and arrangement of crystals was the same for both species, prismatic crystals were observed around sclerenchyma and small amount of druses in pericycle and in non-conducting secondary phloem. However, in sessile oak, the prismatic crystals were of various sizes, while in sweet chestnut, they were more or less of the same size. In sweet chestnut, central layers of periderm cells were filled with polyphenolics, while in sessile oak, polyphenolics were observed in outer periderm layers.

To summarize, anatomical properties of bark, namely the presence of sclereids and size of prismatic crystals, are the most useful to distinguish roots of ses-

sile oak from sweet chestnut, while separation based on secondary xylem properties is not always possible.

ZAHVALA

Predstavljena primerjava med vrstama je nastala v okviru priprave atlasa korenin olesenelih rastlin (Atlas of Woody Plant Roots – Morphology and Anatomy with Special Emphasis on Fine Roots), ki ga je finančni projekt EUFORINNO 7. okvirnega programa

Evropske komisije (RegPot No. 315982) ter ARRS preko programske skupine P4-0107, vodja obeh je prof. dr. Hojka Kraigher. Hvala sodelavki Meliti Hrenko, ki je priskrbelo vzorce korenin iz SV Slovenije.

6 LITERATURA

- ALONI, R., 2015: *Ecophysiological implications of vascular differentiation and plant evolution*. Trees (Berlin) 29: 1-16.
- DENNE, P., & P. GASSON, 2008: *Ray structure in root- and stem-wood of Larix decidua: implications for root identification and function*. IAWA Journal (Leiden) 29: 17-23.
- EVERT, R.F. & S.E. EICHHORN, 2013: *Raven Biology of Plants*. 8th ed. W.H. Freeman and Company Publishers/Palgrave Macmillan. New York.
- FITTER, A., 2002: *Characteristics and Functions of Root Systems*. V: WAISEL, Y., A. ESHEL & U. KAFKAFI (ur.). *Plant Roots: The Hidden Half*. 3rd ed. Marcel Dekker. New York. pp. 15-32.
- GEBAUER, R. & D. VOLAŘÍK, 2013: *Root hydraulic conductivity and vessel structure modification with increasing soil depth of two oak species: Quercus pubescens and Quercus robur*. Trees (Berlin) 7: 523-531.
- HISHI, T. & H. TAKEDA, 2005: *Dynamics of heterorhizic root systems: protoxylem groups within the fine-root system of Chamaecyparis obtusa*. New Phytologist (London) 167: 509-521.
- KREMER, A., A.G. ABBOTT, J.E. CARLSON, P.S. MANOS, C. PLOMION, P. SISCO, M.E. STATON, S. UENO & G.G. VENDRAMIN, 2012: *Genomics of Fagaceae*. Tree Genetics & Genomes (Heidelberg) 8: 583-610.
- KREMER, A., M. CASASOLI, T. BARRENECHE, C. BODÉNÈS, P. SISCO, T. KUBISIAK, M. SCALFI, S. LEONARDI, E. BAKKER, J. BUIVEVELD, J. ROMERO-SEVERSON, K. ARUMUGANATHAN, J. DERORY, C. SCOTTI-SAINTAGNE, G. ROUSSEL, M.E. BERTOCCHI, C. LEXER, I. PORTH, F. HEBARD, C. CLARK, J. CARLSON, C. PLOMION, H.-P. KOELEWIJN & F. VILLANI, 2007: *Fagaceae Tress*. V: KOLE, C. (ur.). *Forest Trees. Genome Mapping and Molecular Breeding in Plants*. Vol. 7. Springer. Berlin, Heidelberg. pp. 161-187.
- KUTSCHERA, L. & E. LICHTENEGGER, 2002: *Wurzelatlas Mitteleuropäischer Waldbäume und Sträucher*. Stocker. Graz.
- MARINČEK, L. & A. ČARNI, 2002: *Komentar k vegetacijski karti gozdnih združb Slovenije v merilu 1:400.000*. Založba ZRC, ZRC SAZU. Ljubljana.
- MRAK, T. & J. GRIČAR, 2016: *Atlas of Woody Plant Roots. Morphology and Anatomy with Special Emphasis on Fine Roots*. Studia Forestalia Slovenica (Ljubljana) 147. Slovenian Forestry Institute, The Silva Slovenica Publishing Centre.
- PALMER, J.M., D.L. LINDNER & T.J. VOLK, 2008: *Ectomycorrhizal characterization of an American chestnut (Castanea dentata)-dominated community in Western Wisconsin*. Mycorrhiza (Berlin) 19: 27-36.
- REWALD, B., C. MEINEN, M. TROCKENBRODT, J.E. EPHRATH & S. RACHMILEVITCH, 2012: *Root taxa identification in plant mixtures – current techniques and future challenges*. Plant and Soil (Dordrecht) 359: 165-182.
- SCHWEINGRUBER, F.H., A. BÖRNER & E.-D. SCHULZE, 2011: *Atlas of Stem Anatomy in Herbs, Shrubs and Trees. Volume 1*. Springer. Berlin, Heidelberg.
- SMITH, S.E. & D.J. READ, 2008: *Mycorrhizal Symbiosis*. 3rd ed. Academic Press. San Diego, CA.
- TORELLI, N., 1991: *Makroskopska in mikroskopska identifikacija lesa*. Biotehniška fakulteta, Oddelek za lesarstvo. Ljubljana.

- TROCKENBRODT, M., 1995: *Structure and identification of root bark of Quercus robur L.* Trees (Berlin) 9: 341-347.
- TROCKENBRODT, M., H.G. RICHTER, Y. MÖLLER-LINDENHOF & D. DUJESIEFKEN, 2001: *Identifizierung von Baumwurzeln. Möglichkeiten der Bestimmung anhand der Holz- und Rindenstruktur.* Stadt und Grün (Berlin) 6: 430-434.
- WHITMORE, T.C., 1963: *Studies in Systematic Bark Morphology. IV. The Bark of Beech, Oak and Sweet Chestnut.* New Phytologist (London) 62: 161-169.