

VPLIV INTERPRETACIJE STATUSA DROBNIH KORENIN NA OCENO DOLGOŽIVOSTI DROBNIH KORENIN BUKVE (*FAGUS SYLVATICA* L.)

Influence of fine root status interpretation on estimates of root longevity of European beech (*Fagus sylvatica* L.)

Povzetek: Minirizotroni so akrilne prozorne cevi, primerne za dolgotrajno in situ spremljanje drobnih korenin rastlin v tleh. V minirizotronih so drobne korenine redno fotografirane, na slikah pa okularno določen njihov status. Korenine klasificiramo na žive, mrtve in izginule. Ta delitev korenin je osnova za nadaljnjo statistično obdelavo podatkov za izračun dolgoživosti korenin. Značilno za metodo minirizotronov je veliko število s posnetkov izginulih korenin, zaradi herbivorov, preraščanj drugih korenin, nejasnih posnetkov ali drugih neznanih vzrokov. Zaradi tega je skupina izginulih korenin zelo pomembna za interpretacijo rezultatov ugotavljanja dolgoživosti. Analizirali smo izbrane posnetke drobnih korenin, katere smo tri leta snemali v minirizotronih ob eni provenienci bukve (*Fagus sylvatica* L.) v mednarodnem provenienčnem poskusu na Kamen - skem hribu. V prispevku obravnavamo preliminarne rezultate izbora zaporednih slikanj korenin in ugotavljamo potencialno veliko vlogo določevanja statusa opazovanih korenin na oceno njihove dolgoživosti.

Ključne besede: bukev, dolgoživost drobnih korenin, *Fagus sylvatica*, minirizotroni, preživetvena analiza Kaplan-Meier

Abstract: Minirhizotrons, transparent acrylic tubes inserted in the soil, are well suited for long term, non destructive observations of fine roots. In minirhizotrons, fine roots are regularly photographed and on images root status is visually evaluated. This evaluation gives background for further statistical assessment and estimation of root longevity. It is inherent in the minirhizotron technique that there will be large numbers of roots disappearing from images due to various reasons. We evaluated selected pictures from minirhizotrons, installed at one provenance at the international European beech (*Fagus sylvatica* L.) provenance trial on Kamenski hrib. In our preliminary results we demonstrate a potentially big impact of early root status evaluation on their longevity estimates.

Keywords: European beech, *Fagus sylvatica*, fine root longevity, Kaplan-Meier survival analysis, minirhizotron

UVOD

Drobne korenine (korenine s premeri < 1 mm) imajo v primerjavi s svojo dimenzijo za rastlino velik pomen pri pridobivanju vode in hranil iz tal. Dolgo je veljalo, da zaradi svoje kratke življenjske dobe rastlina v njihovo izgradnjo investira tudi do 33 % lastne neto primarne pro-

dukcije (Jackson in sod., 1997), ob predpostavljajanju, da je povprečna dolgoživost drobnih korenin približno 1 leto. Če korenine živijo dlje, to seveda močno spremeni red velikosti vpliva drobnih korenin na krogotok ogljika v tleh. Dominantne teorije (Hendrick in sod., 1996) predpostavljajo, da so v revnih ekosistemih korenine dolgožive, medtem ko so v s hranili bogatih tleh kratkožive. Rezultati raziskav v zadnjem času nakazujejo na veliko dolgoživost korenin (Tierney in sod., 2002).

* Gozdarski inštitut Slovenije, Večna pot 2, 1000 Ljubljana, e-pošta: peter.zeleznik@gozdis.si

Minirizotroni, transparentne akrilne cevi, vstavljene v zemljo, so namenjene opazovanju drobnih korenin in situ. Še posebej so primerne za študije dolgoživosti drobnih korenin. Korenine so slikane v rednih presledkih in na slikah razvrščene v skupine kot žive, mrtve in izginule korenine. Analiza preživetja po metodi Kaplan in Meier (1958), pogosto uporabljena statistična metoda za izračunavanje dolgoživosti drobnih korenin (Majdi in sod., 2001; Tierney in sod., 2001; Majdi in sod., 2005; Strand, Pritchard in sod., 2008), deli vse opazovane korenine v dve skupini: »izločene« in »vključene«. Kot izločene označimo vse korenine, ki so še vedno žive na koncu opazovalnega obdobja in pa korenine, prisotne na posnetkih ob začetku snemanja. Kot »vključene« pa se označijo vse korenine, ki so med opazovanjem odmrle. Poseben problem predstavlja posebna skupina korenin, ki med opazovanjem zaradi različnih razlogov s slik izginejo, zaradi česar ne vemo, kakšna je njihova usoda (Slika 1). Izginule korenine so lahko mrtve in razgrajene, v tem primeru bi bilo korektno, da jih štejemo med »vključene«. Vendar pa so izginule korenine lahko še vedno žive in so samo izginile iz vidnega polja zaradi mikropremikov talnih delcev oz. korenin samih ali prerasčanja sosednjih korenin. V tem primeru bi jih lahko šteli v skupino »izločenih« (B0rja in sod., 2009).

Za potrebe prihodnjih raziskav življenjske dobe drobnih korenin smo preizkusili vpliv naše odločitve, kako razvrstiti izginule korenine, na izračun dolgoživosti korenin, po vzoru raziskovalcev iz Skandinavije (B0rja in sod., 2009).

MATERIAL IN METODE

Za ugotavljanje dolgoživosti korenin bukve (*Fagus sylvatica* L.) smo na ploskvah treh izbranih provenienc bukve v mednarodnem provenienčnem poskusu na Kamenskem hribu v letu 2006 vstavili 15 minirizotronske cevi. Cevi so bile v smeri juga vstavljene pod kotom 600 do matične

podlage. Na vsaki ploskvi smo namestili 5 minirizotronov, in sicer jugovzhodno od izbranih drevesc, približno 15 cm do 30 cm od debelc. S snemanji smo začeli eno leto po vstavljanju, s tem smo omogočili stabilizacijo cevi in korenin. V vsaki cevi opravljamo dve snemanji, in sicer v smeri vzhoda in zahoda.

S snemanji smo začeli junija 2007 v 14-dnevnih intervalih, v kolikor so vremenske razmere to dopuščale. Zadnji posnetki v letu 2007 so bili narejeni decembra. Preliminarna analiza posnetkov je pokazala, da lahko povečamo čas med snemanji, saj so bile spremembe na koreninah opazne v daljših periodah, kot so bile uporabljene pri naših opazovanjih. Ker za osnovo ocenjevanja razvoja korenin uporabljamo njihovo število, smo v skladu z izsledki drugih raziskovalcev (Johnson in sod., 2001) zmanjšali frekvenco snemanja na 4 tedne. Leta 2008 smo s snemanji začeli v januarju 2008 in zaključili novembra 2008, v letu 2009 pa smo snemanja izvajali od marca do konca novembra.

Za zajemanje slik se uporablja minirizotronska kamera proizvajalca Bartz (Bartz Technology Corporation, Santa Barbara, CA, USA) s pripadajočim programom za zajemanje slik BTC I-Cap in prenosnim računalnikom za shranjevanje slik.

Za analizo digitalnih posnetkov v našem primeru uporabljamo program Winrhizo Tron MF podjetja Regent Instruments (Canada). Vsaka posamezna vidna korenina na posnetkih med analizo dobi svojo številko, tako da ji lahko sledimo čez vse obdobje snemanj. Vsaki korenini se manualno s pomočjo računalniške miške določi premer in dolžino. Bele in rjave korenine različnih odtenkov štejemo pod »žive« korenine. »Mrtve« korenine so na pogled črne, zgrbančene in iz njih čez daljše časovno obdobje ne izraščajo nove korenine. Korenine, ki so s slik izginile, se označijo kot »izginule« in jih lahko iz analize izključimo v skupino »izločene korenine« ali pa jih v analizo vključimo v skupino »mrtve - vključene korenine«.



Slika 1: Primer izginulih korenin; na levi sliki vidni beli mikorizirani koreninski vršički, ki pa na desni niso več prisotni (časovna razlika med slikama je 4 tedne)

Pri dodatnih označevanjih živih, mrtvih in izginulih korenin se je pokazala pomanjkljivost uporabljenega programskega paketa, zato v tem prispevku prikazujemo samo izbor analiziranih slik 548 korenin, analiziranih v minirizotronih ob provenienci P64.

STATISTIČNA ANALIZA

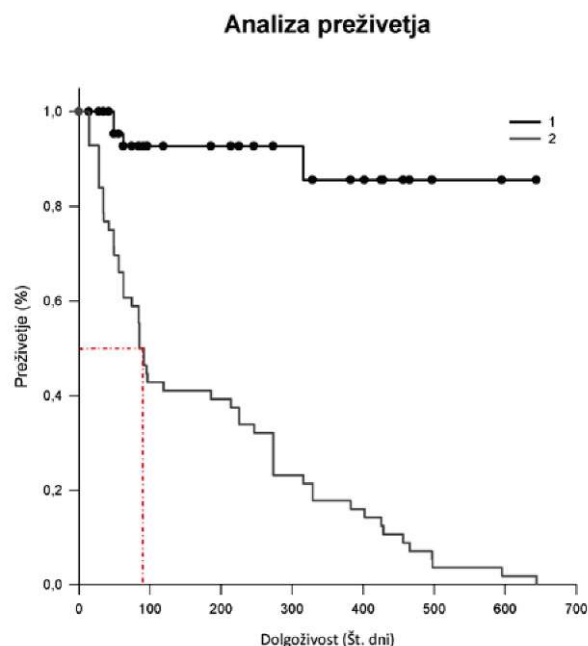
Za izračun dolgoživosti se opažene korenine klasificirajo po predlogi Isabelle B0rja s sod. (2009): (1) žive že ob prvem snemanju, (2) prvič opažene v kasnejših snemanjih, (3) mrtve pred zadnjim snemanjem, (4) žive ob zadnjem snemanju, (5) izginule med snemanji. Vse korenine z lastnostma (1) in (4) so bile označene kot »izločene« (censored), korenine z lastnostmi (2) in (3) so bile označene kot »vključene« (non-censored). V analizi smo izginule korenine enkrat šteli med izločene in drugič med neizločene. Življenjska doba vsake drobne korenine, skupaj z zgoraj omenjeno klasifikacijo, predstavlja vhodne podatke za analizo preživetja (Kaplan in Meier 1958).

REZULTATI

Podatki za prikaz so bili pridobljeni z analizo izbora slik iz minirizotronske cevi provenience P64 (Nizbor, Češka republika).

Na posnetkih smo v obdobju 2007-2009 določili 548 korenin. Od teh je bilo 15 % korenin takoj izločenih iz analize, saj so bile prisotne v slikah pred začetkom poskusa. 85 % korenin se je pojavilo med poskusom, od teh jih je bilo 40 % živih in prisotnih ob koncu snemanj, zaradi česar smo jih prav tako izločili iz analize. 42 % opazovanih korenin je v času poskusa izginilo s slik, njihove usode ni mogoče natančno ugotoviti. Za 3 % korenin lahko trdimo, da so odmrle (Preglednica 1).

Z analizo preživetja po metodi Kaplan in Meier (1958) pri pristopu z iz analize izključenimi izginulimi koreninami nismo uspeli izračunati podatka o povprečni življenjski dobi drobnih korenin. Število vključenih korenin je bilo premajhno.



Slika 2: Graf s krivuljama preživetja: krivulja 1 predstavlja rezultat analize z izključenimi izginulimi koreninami, krivulja 2 pa rezultat analize z vključenimi izginulimi koreninami - rdeča črtkana črta označuje povprečno dolgoživost drobnih korenin.

Z vključenimi izginulimi koreninami pa smo prišli do rezultata (preglednica 2): ugotovili smo, da korenine bukke provenience P64 povprečno živijo 91 dni. Za to oceno je značilna tudi zelo majhna standardna napaka.

DISKUSIJA

Na slikah iz minirizotronov je zelo težko ali celo nemogoče zagotovo določiti, ali so iz slik izginule korenine mrtve (razgrajene ali požrte), ali pa so žive, a nevidne zaradi pre-

Preglednica 1: Število vključenih korenin, opazovanih v minirizotronih po izločitvi ali vključitvi izginulih korenin.

P64	Brez izginulih korenin		Z vključenimi izginulimi koreninami	
	Vključene korenine (n)	Vključene korenine (%)	Vključene korenine (n)	Vključene korenine (%)
548	16	3	247	45

Preglednica 2: Življenjska doba drobnih korenin bukke (v dnevih) provenience P64; uporabljena je ocena Kaplan-Meier (1958), izginule korenine so vključene ali izključene iz analize.

	Izključene izginule korenine	Vključene izginule korenine + sn
Provenience P64	Premalo število vključenih korenin, dolgoživosti ni možno oceniti	91 ± 7

mika korenin, prekrivanja drugih korenin oz. prisotnosti kondenza ali biofilma na minirizotronskih ceveh. Odločitev, da izginule korenine štejemo med mrtve, vpliva na končno oceno dolgoživosti korenin in značilno skrajša čas, potreben za statistično značilen rezultat (B0rja in sod., 2009). Iz literature zasledimo, da vključevanje izginulih korenin v analizo preživetja podceni dolgoživost korenin za približno 50 %.

Odločitev za izločitev izginulih korenin iz nadaljnje analize se zdi statistično gledano tehtna, saj lahko drugače dobimo rezultate, ki močno podcenjujejo dolgoživost korenin. Praktične izkušnje, pridobljene med analizo velikega števila slik, prav tako podpirajo to trditev, čeprav z našimi preliminarimi rezultati tega še ne moremo podpreti.

ZAHVALA

Raziskava poteka v okviru programske skupine P4-0107 in projekta mladega raziskovalca (PŽ) pod mentorstvom prof. dr. Hojke Kraigher. Za pomoč pri uvajanju v metodo se zahvaljujemo dr. Isabelle B0rja, pri kateri se je izpopolnjeval P2 v okviru STSM v COST akciji E38. Za skrben pregled članka in se zahvaljujem prof. dr. Hojki Kraigher.

LITERATURA

1. **B0rja I., Lange H., Helmisaari H., Steffenrem A. (2009)** How to statistically treat disappeared fine roots for longevity estimates from minirhizotrons. V: International Symposium Root Research and Applications, RootRAP. Boku - Vienna, Austria
2. **Hendrick R., Pregitzer K. (1996)** Applications of minirhizotrons to understand root function in forests and other natural ecosystems. *Plant and Soil*, 185, 2: 293-304
3. **Jackson R. B., Mooney H. A., Schulze E. -D. (1997)** A global budget for fine root biomass, surface area, and nutrient contents. V: *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* 94: 7362-7366
4. **Johnson M. G., Tingey D. T., Phillips D. L., Storm M. J. (2001)** Advancing fine root research with minirhizotrons. *Environmental and Experimental Botany* 45, 3: 263-289
5. **Kaplan E. L., Meier P. (1958)** Nonparametric Estimation from Incomplete Observations. *Journal of the American Statistical Association*, 53, 282: 457-481
6. **Majdi H., Andersson P. (2005)** Fine Root Production and Turnover in a Norway Spruce Stand in Northern Sweden: Effects of Nitrogen and Water Manipulation. *Ecosystems*, 8, 2: 191-199
7. **Majdi H., Damm E., Nylund J. E. (2001)** Longevity of mycorrhizal roots depends on branching order and nutrient availability. *New Phytologist*, 150, 1: 195-202
8. **Strand A. E., Pritchard S. G., McCormack M. L., Davis M. A., Oren R. (2008)** Irreconcilable Differences: Fine-Root Life Spans and Soil Carbon Persistence. *Science*, 319, 5862: 456-458
9. **Tierney G. L., Fahey T. J. (2001)** Evaluating minirhizotron estimates of fine root longevity and production in the forest floor of a temperate broadleaf forest. *Plant and Soil*, 229, 2: 167-176
10. **Tierney G. L., Fahey T. J. (2002)** Fine root turnover in a northern hardwood forest: a direct comparison of the radiocarbon and minirhizotron methods. *Canadian Journal of Forest Research*, 32, 9: 1692-1697