

O “ANALIZI KRVI” ŠUMSKOG DRVEĆA ÜBER “BLUTANALYSE” VON WALDBÄUMEN

V. M. GLAVAČ*

SAŽETAK: U ovoj su radnji prikazane metode za dobivanje ksilemovog soka. Posebno je detaljno opisana metoda “potiskivanja vodom”, pomoću koje se mogu ekstrahirati veće količine ksilemovog soka u svako doba godine iz svih dijelova stabla. Na taj način se mogu u deblu transportirane tvari podvrći temeljitim i svestranim kemijskim analizama. Izražena je nada da će takvim istraživanjima iznaći specifična “krvna slika” glavnih vrsta šumskog drveća, ocjenjivati vitalnost stabala i sastojina, odnosno razlikovati “zdravo” od “bolesnog”. U tom su kontekstu spomenuti rezultati istraživanja u bukovim sastojinama pokrajine Hessen (BRD) i obješnjeni neki fenomeni na primjeru magnezija, aluminija i cisteina. Na kraju je naglašeno značenje Fiziologije šumskog drveća za proučavanje propadanje šuma.

Ključne riječi: bukva (*Fagus sylvatica*), propadanje šuma, kemijska analiza ksilemovog soka, sezonske promjene koncentracija, magnezij, aluminij, cistein.

UVOD

Unutarnji optok tvari je osobina svih više organiziranih živih bića. Zbog toga je struktura i funkcija provodnih sustava, kao i kvalitetna analiza transportiranih tvari predmet opsežnih bioloških istraživanja. U svim disciplinama biologije, od medicine do botanike, posjeduju takva proučavanja dugu tradiciju, budući da su važan preduvjet za razumijevanje životnih procesa, unutarnje organizacije te životvornih mijena tvari i energije.

Saznanja biljne fiziologije o unutarnjoj cirkulaciji različitih kemijskih spojeva temelje se uglavnom na istraživanjima zeljastog bilja, pa se ne mogu u potpunosti primijeniti na šumsko drveće, prije svega što uzrasla stabla

– posjeduju posve drukčiji odnos primarnog i sekundarnog provodnog tkiva, budući da ovo posljednje tvori daleko najveći dio njihovog transportnog sistema;

– moraju savladati ekstremno dugi put hranjivih tvari od korijena do krošnje i obratno. Kod jednog 30 m visokog stabla bukve može se npr. računati da jedna molekula vode putuje, ukoliko negdje ne ostane trajno ili privremeno pohranjena, najmanje tri tjedna od mje-

sta usisa u korijenu do mjesta transpiracije u listu (v. Vakeren et al. 1988);

– mogu uskladištiti velike količine vode i prehrambenih tvari u deblu i na taj način postići izvjesnu neovisnost od nepovoljnih vanjskih uvjeta, te

– za vrijeme svog dugog života nagomilavaju toksične tvari (koje najčešće radijalnim transportom premeštaju u srž i kroz to ih učine neškodljivima, v. Hagemeyer et al. 1992, Hagemeyer & Weinland 1996).

Iako je naše znanje o strukturi i funkciji sekundarnog ksilema od vremena prvih opisa Hartiga (1881) silno napredovalo i danas već pojašnjava mnoge pojave u elektronmikroskopskim detaljima, ostala su još mnoga važna pitanja neriješena. To se poglavito odnosi na poznavanje kemijskog sastava ksilemovog soka (“xylem sap”) pojedinih vrsta drveća pod različitim stanišnim uvjetima, na mobilizaciju i dinamiku transportnih tvari, aksijalne i radijalne promjene koncentracije tijekom dana i različitih godišnjih doba. Još se uvijek premalo zna o mjestu i načinu nastanka transportnih molekula, njihovoj građi, funkciji, mobilnosti, odredištu, razgradnji, pregradnji, njihovom stalnom ili privremenom udruživanju u molekularne komplekse, njihovoj ulozi u procesima izmjene tvari i protoku energije, te njihovom

Prof. dr. sc. Vjekoslav Mladen Glavač, Universität Kassel,
Rubensstraße 2, D 51557 Kassel

konačnom izlučivanju ili ponovnom uključivanju u kružne tokove.

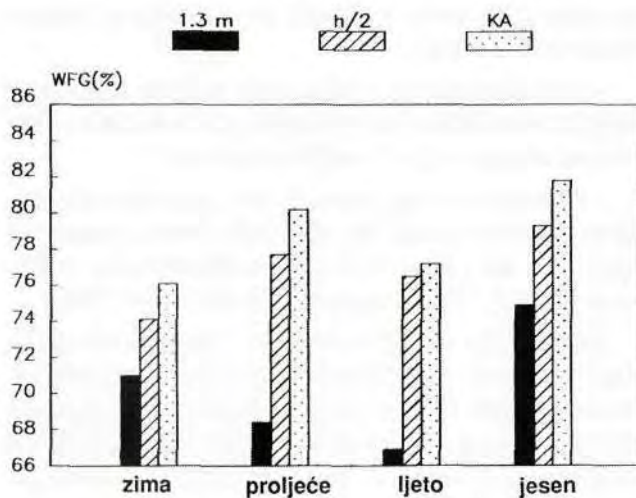
Sticanje takvih saznanja može se smatrati jednom od glavnih zadaća Fiziologije šumskog drveća. Za naš poziv (kao i za sve ljubitelje prirode) važno je razumjeti – pa makar i u osnovnim crtama – njihov unutarnji život, budući da su oni glavni predmet naše struke i "stari, dobri prijatelji" koje dnevno susrećemo. Osim toga postoji i nada, koja će možda još dugo ostati naučna utopija, da će se takvim analizama iznaći specifična "krvna slika" glavnih vrsta drveća, te da će se jednog dana rutinskim analizama moći predvidjeti koja sastojina ima preduvjete da ostane "zdrava" a koja je na putu da postane "bolesna", i što je još važnije, da će se sa znalčkom raščlambom "krvne slike" moći razjasniti osnovni uzroci sušenja i propadanja šumskih sastojina.

Sastavni dio takvih analiza bit će i "mjerenje tlaka", tj mjerenje usisne snage pojedinih organa, te brzine i količine protoka ksilemovog soka u deblu. Prvo spomenuto mjeri se već desetljećima prijenosnom "tlačnom bombom", a drugo, danas već usavršenim termoelektričnim uređajima (v. Čermak et al. 1973, 1991). Naravno da je visoko uzraslo stablo, razapeto između velikog podtlaka atmosfere i manjeg podtlaka tla posebno osjetljivo na povremeno nedovoljnu opskrbu vode. Pri prenapetom unutarnjem gradientu vodnog potencijala troše se unutarnje rezerve, a kad i to ne pokriva gubitke transpiracijom, dolazi u provodnim žilama do zračnih embolija (koje se za vrijeme sušnih razdoblja mo-

povratnog sušenja najviših grana u krošnji i ostalih simptoma oštećenja. Zbog toga je problem sušenja drveća, posebice u nizinskim šumama i klimatski prelaznim područjima (submediteranska/planinska klima), prvenstveno problem opskrbe vodom, budući da su odrasla stabla nesposobna za brzu prilagodbu korijenovog sistema (v. Prpić et al. 1977, 1988, 1994). Ali na žalost, kako znamo, nije sve, budući da i u područjima bez ekstremnih promjena vodnog režima dolazi do masovnog sušenja stabala.

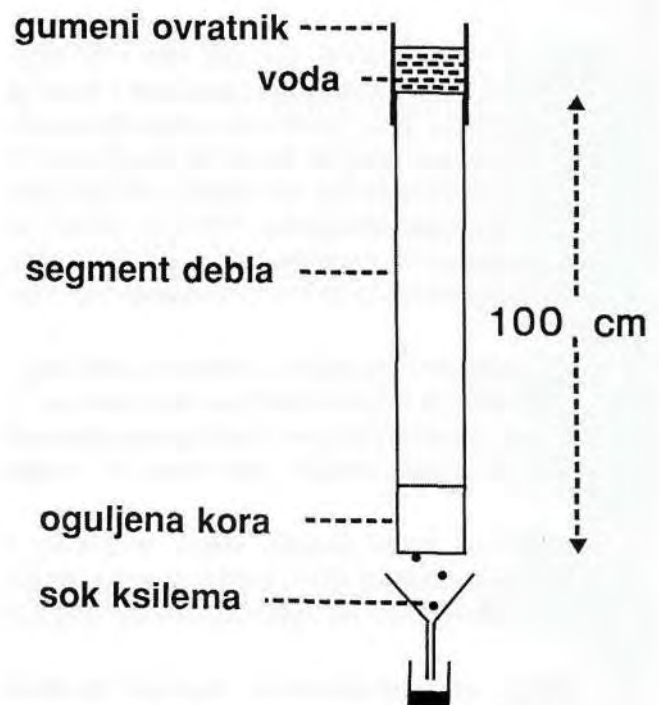
Ekstrakcija ksilemovog soka

Do nedavna se mogao dobivati ksilemov sok samo u rano proljeće, kad neposredno prije listanja negativni tlak poprimi pozitivne vrijednosti i to uslijed biofizički još uvijek ne potpuno objašnjenog pritiska korijenja ("root pressure", "Wurzeldruck"; "korijen crpi vodu a transpiracije nema"). On iznosi najčešće nešto manje od 1 atm. i to – kako je već rečeno – samo u onom kratkom ranoproljetnom razdoblju kad ozlijeđeno deblo "krvari". Pomoću liječničkih injekcija mogu se tada dobiti dovoljne količine soka za kemijske analize. S jednim takvim čavličem ili šilom probuši se kora i prodre u prve godove. Iгла se ubuši, vreteno injekcije izvuče i u tom položaju pričvrsti, pri čemu u cjevčici nastane podtlak. Za nekoliko sati ili najkasnije za dan-dva biva cilindar napunjen sokom (Essiamah 1982).



Graf 1: Zasićenje bjelike bukve vodom ("Wasserfüllungsgrad" u %) u prsnoj visini (WFG - 1.3 m), sredini debla (h/2) i neposredno ispod krošnje (KA) u različitoj godišnjoj dobi (n=390) (Glavač et al. 1990 a)

gu i čuti uz pomoć jednostavnih slušnih pomagala). Posebno je zanimljivo da one ne nastaju prvo u krošnji, nego u donjim dijelovima debla, gdje je i najveća potrošnja unutarnjih rezervi (v. graf 1). Tek onda, kad su rezerve "odozdo prema gore" potrošene, dolazi do ne-



Graf. 2: Metoda ekstrakcije ksilemovog soka (Glavač et al. 1989)

U drugo doba godine, kad postoji usisni podtlak, mogu se samo sa tanjih grana ili tankog korijenja istis-

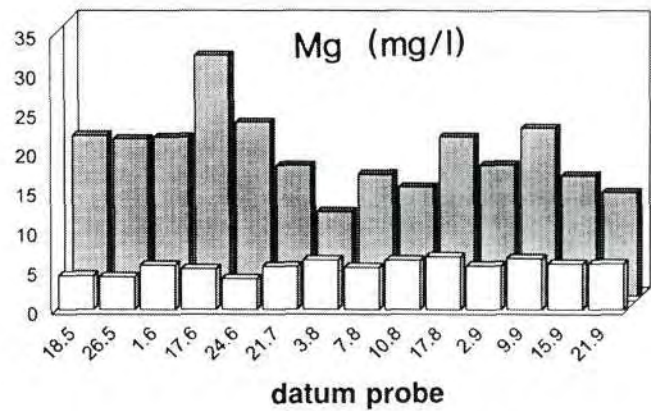
nuti manje količine ksilemovog soka tlačnom bombom ili metodom Bollarda, koje su najčešće onečišćene sadržajem živih stanica na mjestu prereza. Takvo nezadovoljavajuće dobivanje proba bila je i glavna prepreka jednoj sveobuhvatnoj kemijskoj analizi.

Velike količine ksilemovog soka iz svih dijelova stabla mogu se u svako doba godine ekstrahirati vodom (Glavač et al. 1989). Stablo se mora u tu svrhu oboriti – radi se dakle o jednoj "destruktivnoj" metodi – i raspiliti na 1 m do 1.3 m duge segmente, koji se neposredno nakon toga prenesu u laboratorij. Pojedeni dijelovi, sa čije se donje strane odstrani oko 5 cm sebeli prsten kore (zbog mogućeg onečišćenja floemom), uspravno se pričvrste. Sa gornje strane se navuče ili načini nepropusni gumeni ovratnik u koji se ulije oko 300 ml pitke vode. U istom času počinje u donjem dijelu isticati sok iz kapilarnog sistema. Prva se farckija od oko 100 ml odbacuje zbog mogućeg onečišćenja razgnječenim stanicama na prerezu, a 100 do 200 ml čistog ekstrakta sačuva se za analize. Cijela procedura traje oko 2 sata (v. graf. 2). Probe, razdijeljene u manje plastične posude, duboko se zalede, tako da se analize mogu vršiti u većim serijama.

Na taj su način istražene bukove šume u okolici Kassela u pokrajini Hessen. U dvije srednjedobne sastojine, od ranog proljeća do kasne jeseni, obaralo se je u razmacima od 14 dana po pet stabala i ekstrahirao sok ksilema iz različitih dijelova debla. Osim toga izvršena su u istim ili susjednim sastojinama različite pedološka, ekofizička, klimatska i druga ekosustavska istraživanja, koja su korištena za terensku nastavu, a istovremeno su bila i predmet za izradu većeg broja disertacija i završnih studijskih radova.

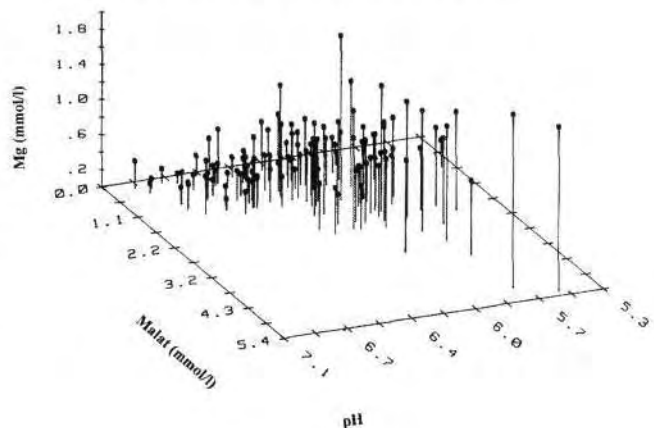
Rezultati

U skoku ksilema bukve pridolaze stotine različitih anorganskih i organskih spojeva, čije se koncentracije znakovito mijenjaju tijekom vegetacijskog razdoblja. Od mineralnih elemenata nalaze se ovdje hranidbeni makroelementi (dušik, fosfor, sumpor, kalij, kalcij, magnezij), hranidbeni mikroelementi (bor, klor, molibden, bakar, željezo, mangan i cink), te manjevrijedni ili toksični elementi (aluminij, natrij, kobalt, silicij, kadmij, olovo i dr.) djelomično kao ioni, a djelomično kao sastavni ili pridruženi članovi molekularnih kompleksa. U usporedbi s vodenom fazom tla iznenađuju njihove visoke koncentracije (v. graf. 3). No ipak najveći dio u soku rastopljenih tvari čine organski spojevi. Oni se sastoje od kiselina, prije svega jabučne i malonske, nadalje od aminokiselina od kojih su najčešće zastupljeni asparagin, glutamin i cistein (ovdje samo manjim dijelom sastavni dio glutaciona, koji inače dominira kod drugog bilja, (v. Schupp et al. 1991), zatim od šećera i dr.



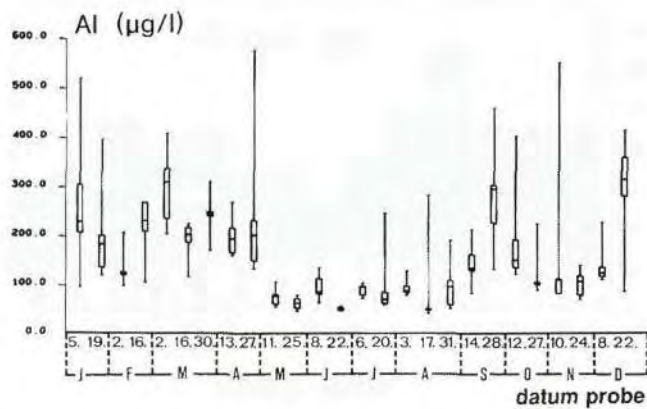
Graf. 3: Koncentracije magnezija u ksilemovom soku korijenja bukve (tamni stupci u pozadini) i uravnoteženih otopina tla (ESS, "Equilibrium Soil Solution"), koji to korijenje neposredno okružuje (bijeli stupci), za vrijeme jednog vegetacijskog razdoblja (N=70+70) (Schell 1996)

Kemijski milje ksilemovog soka bukve bitno se razlikuje od kemijskog miljea vode u tlu. On je u provodnom sustavu bukve najviše uvjetovan jabučnim kiselinom (malatom). Usporedo s porastom njene koncentracije, snizuje se pH ksilemovog soka, no za razliku od tla, ovdje postoji negativna korelacija između pH i koncentracije "bazičnih" elemenata (kalcija, magnezija, kalija i natrija); drugim riječima, što je pH niži, to je njihov sadržaj viši (v. graf. 4). Ta se pojava može protumačiti uključivanjem bazičnih iona u elektrostatski uravnoteženije molekularne komplekse. U tom kontekstu posebnosti ksilemovog soka neka bude još spomenuta pojava peroksidaze (v. Polle & Glavač 1993), kojoj se kod bilja pripisuje obrambena funkcija (slična onoj koju u krvi obavljaju bijela krvna zrnca).



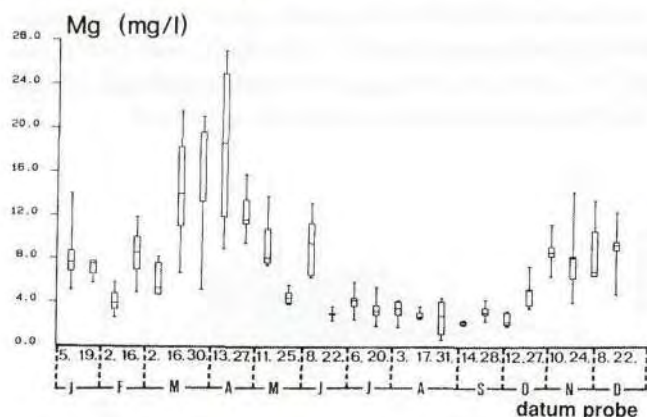
Graf. 4: Medusobna ovisnost koncentracija malata (jabučne kiseline), magnezija i pH vrijednosti u soku ksilema bukve (n=133) (Schell 1996)

Jedan mali uvid u vrlo složene životne procese bukve možemo dobiti studijem sezonalnih promjena sadržaja hranidbenih elemenata u soku ksilema. U ovom kratkom prikazu meka nam za to posluže magnezij i aluminij. Prvi je – kako znamo – sastavni dio klorofila, ribosoma i struktura stanične jezgre, odnosno jedan od



Graf. 5: Sezonalne promjene sveukupne koncentracije magnezija u soku ksilema najdonjih dijelova debla bukve u jednoj 42-godišnjoj sastojini. Za 26 probnih termina prikazane su maksimalne, minimalne i srednje vrijednosti te 75% i 25% kvantile (n=130) (Glavač et al. 1990 b)

najvažnijih bioelemenata; stabilizira biološke membrane, veže ATP na enzime, aktivira fosfokinaze, dekarboksilaze i hidrokinaze, pojačava aktivitet RuBP-karboksilaze, djeluje na sintezu proteina i utječe na oko 300 različitih reakcija enzima. Drugi element djeluje izuzetno štetno. Aluminij smanjuje primanje fosfora, magnezija i kalcija u korijenju, snižava djelotvornost ATP-a i kroz to energetske promjene, nakuplja se u staničnim jezgrama gdje na sebe veže fosfate nukleinskih kiselina, negativno utječe na DNA-replikaciju, smanjuje plastičnost staničnih membrana i dr.



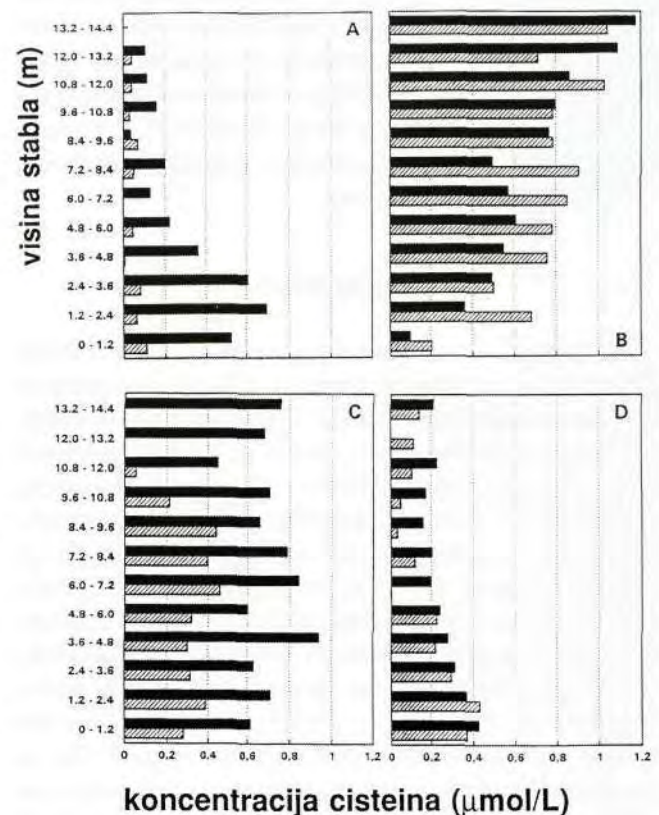
Graf. 6: Sezonalne promjene sveukupne koncentracije aluminija u soku ksilema najdonjih dijelova debla bukve u jednoj 42-godišnjoj sastojini. Za 26 probnih termina prikazane su maksimalne, minimalne i srednje vrijednosti te 75% i 25% kvantile (n=130) (Glavač et al. 1992)

Promjene koncentracija oba elementa u soku ksilema studirane su u najdonjim dijelovima debala (0.3 - 1.3 m) jedne 42 godišnje bukove sastojine (v. graf. 5 i 6). Kod magnezija je jasno izražena faza proljetne mobilizacije, koja je u srednjeeuropskom sredogorju počinje sredinom ožujka a doseže vrhunac sredinom travnja s vrijednostima nešto manjim od 30 mg/l. Nakon toga slijedi "ljetna depresija"; u srpnju, kolovozu i rujnu smanji se ukupni sadržaj magnezija na 3 do 4 mg/l. Znakovite je onda ponovni porast ujesen s vrijednostima

od 8 do 10 mg/l, koji se najvećim dijelom može protumačiti bazipatalnom cirkulacijom u floemu kore i ponovnom obogaćivanju ksilema putem drvnih zraka (Glavač et al. 1990, b, c). Kod aluminija, čije se totalne koncentracije kreću između 50 i 600 µg/l, senzacionalne su promjene nešto slabije izražene (Glavač et al. 1992). Za ocjenu štetnog djelovanja aluminija u procesima izmjene tvari, potrebno je važno poznavanje molekularne građe njegovih spojeva, budući da nisu svi jednako djelotvorni (Michalás et al. 1992). Takva su istraživanja buduća zadaća Analitičke kemije i Fiziologije šumskog drveća.

Slična istraživanja sezonalnih promjena koncentracija izvršena su i sa drugim hranidbenim i toksičnim elementima (Glavač et al. 1990 b, c, d., Glavač & Jochheim 1993, Renneberg et al. 1994, Glavač & Tesche 1996).

Na 7. grafikonu prikazan je mogući aksialni raspored koncentracija pojedinih sastojaka ksilemovog soka bukve na primjeru cisteina, aminokiseline koja sadrži sumpor. U tu su svrhu oborena po dva stabla u različitim godišnjim dobima. U veljači i studenom smanjuje se koncentracija cisteina od pridanka prema vrhu. U travnju, za vrijeme proljetne mobilizacije, dolazi do naglog porasta njegovog sadržaja, pri čemu je značajan postepeni porast u obrnutom smjeru (maksimalno 1.2



Graf. 7: Aksialne koncentracije cisteina (mmol/l) u soku ksilema bukavih debala; koncentracije prikazane su na osnovi 2 stabla (crni i šrafirani stupci) i 4 termina, A: veljača, B: travanj, C: kolovoz, D: studeni (N=2+2+2+2) (Renneberg et al. 1994).

μmol/l). Samo se u kolovozu ne može nazrijeti aksijalni gradient koncentracija, iako njegov sadržaj ostaje relativno visok (Rennenberg et al. 1994).

Zaključna napomena

U mnogim dijelovima naše domovine dolazi do sušenja stabala i propadanja cijelih šumskih sastojina. Najugroženija su – kako znamo – starija stabla naših najvrijednijih vrsta, jele, hrasta lužnjaka i kitnjaka. Radi se o postepenom propadanju golemog prirodnog bogatstva i, ako se taj trend nastavi, o posljedicama koje mogu bitno izmijeniti izgled našeg životnog prostora i naše životne prilike. Zbog toga je pored fonomenološkog

praćenja propadanja šuma, koja se u Hrvatskoj sustavno provode od 1987. godine, potrebno intenzivirati svestrano istraživanje šumskih ekosustava i na osnovi ovih spoznaja učiniti sve za njihovo očuvanje. Zbog toga treba investirati u obnovu šumarske znanosti i šumarske operative. Treba bolje i suvremenije opremiti postojeće institute i osnovati nove, u kojima bi i jedan za Fiziologiju šumskog drveća našao svoje mjesto. Treba uložiti više sredstava u izobrazbu mladih znanstvenika i stručnjaka. Treba stvoriti povoljnije financijske i tehničke uvjete za šumarsku struku. U zadnjih 150 godina davalo je hrvatsko šumarstvo daleko više nego što je dobivalo. Sada je vrijeme – po uzoru na ostale zemlje Srednje Europe – da se i financijski podupre rad na očuvanju općekorisnih funkcija šume.

LITERATURA

- Čermak J., Deml M., Penka M. (1973): A new method of sap-flow rate determination in trees. *Biol. Plant.* 15, 171-178
- Čermak J., Kučera J., Stepankova M. (1991): Water consumption of full-grown oak (*Quercus robur* L.) in a floodplain forest after the secession of flooding. Penka M., Vyskot M., Klimo E., Vasiček F. (Eds): *Floodplain Forest Ecosystem*, Elsevier, Amsterdam, Vol. 2, 397-417.
- Essiamah S. K. (1982): Frühjahrsaktivitäten bei einheimischen Laubbäumen. Diss. Univ. Göttingen, 123 S.
- Glavač V., Koenies H., Joacheim H., Ebben U. (1989): Mineralstoffe im Xylemsaft der Buche und ihre jahreszeitlichen Konzentrationsveränderungen entlang der Stammhöhe. *Angew. Botanik* 63, 471-486.
- Glavač V., Koenies H., Ebben U. (1990 a): Auswirkung sommerlicher Trockenheit auf die Splintholz-Wassergehalte im Stammkörper der Buche (*Fagus sylvatica* L.). *Holz als Roh- und Werkstoff* 48, 437-441.
- Glavač V., Koenies H., Ebben U. (1990 b): Seasonal variations in mineral concentrations in the trunk xylem sap of beech (*Fagus sylvatica* L.) in a 42-year-old beech forest stand. *New Phytol.* 116, 47-54.
- Glavač V., Koenies H., Ebben U. (1990 c): Seasonal variation of calcium, magnesium, potassium, and manganese contents in xylem sap of beech (*Fagus sylvatica* L.) in a 35-year-old limestone beech forest. *Trees*, 4, 75-80.
- Glavač V., Koenies H., Ebben U. (1990 d): Seasonal Variations of Cadmium Concentrations in the Trunk Xylem Sap of Beech Trees (*Fagus sylvatica* L.) *Agnew. Bot.* 64, 357-364.
- Glavač V., Michalas F., Ebben U., Jochheim H., Koenies H., Parlar H. (1992): Seasonal Variation and Axial Distribution of Aluminium Concentrations in Trunk Xylem Sap of Adult Beech Trees (*Fagus sylvatica* L.) *Agnew. Botanik* 66, 58-62.
- Glavač V., Jochheim H. (1993): A contribution to understanding the internal nitrogen budget of beech (*Fagus sylvatica* L.). *Trees* 7, 237-241.
- Glavač V., Tesche M. (1996): Xylem transport and mineral mobilization. In: *Rennenberg H., Eschrich W., Ziegler H. (Eds): Trees – Contributions to Modern Tree Physiology*. SPB Acad. Publ., The Hague in press.
- Hagemeyer J., Lülfsmann A., Perk M., Breckle S.-W. (1992): Are there seasonal variations of trace element concentrations (Cd, Pb, Zn) in wood of *Fagus treea* in Germany. *Vegetatio* 101, 55-63.
- Hagemeyer J., Weinand Th. (1996): Radial distributions of Pb in stems of young Norway spruce trees grown in Pb-contaminated soil. *Tree Physiology* 16, 591-594.
- Michalas F., Glavač V., Parlar H. (1992): The detection of aluminium complexes in forrest soil solutions and beech xylem saps. *Fresenius J. Anal. Chemie* 343, 308-312.
- Polle A., Glavač V. (1993): Seasonal changes in the axial distribution of peroxidase activity in the xylem sap of beech (*Fagus sylvatica* L.) trees. *Tree Physiology* 13, 409-413.
- Prpić B., Rauš D., Matic S. (1977): Posljedice narušavanja ekološke ravnoteže nizinskih šumskih e-

- kosistema hidromelioracijskim zahvatima u površini buduće retencije Kupčina. Šumarski list 5-6.
- Prpić B., Komlenović N., Seletković Z. (1988): Propadanje šuma u Hrvatskoj. Šumarski list 5-6, 195-215.
- Prpić B., Rauš D., Vranković A., Matić S., Pranjić A., Meštović S. (1994): Utjecaj ekoloških i gospodarskih činilaca na sušenje hrasta lužnjaka u gospodarskoj jedinici Kalje Šumskog gospodarstva Sisak. Glasnik za šumske pokuse 30, 361-419.
- Rennenberg H., Schupp R., Glavač V., Jocheim H. (1994): Xylem sap composition of beech (*Fagus sylvatica* L.) trees: seasonal changes in the axial distribution of sulfur compounds. *Tree Physiology* 14, 541-548.
- Schell J. (1966): Vergleichende Untersuchung der Bodenwasser- und Xylemsaft-Mineralstoffgehalte im Wurzelraum von Altbuchen. Dissertation, Universität Kassel, Mscr., 172 S.
- Schupp R., Glavač V., Rennenberg H. (1991): Thiol composition of xylem sap of beech trees. *Phytochemistry* 30, 1415-1418.
- Vakeren J. H. A. v., Vissler H., Koops F. B. J. (1988): Investigating effects of air pollution by measuring the waterflow velocity in trees. Mathy P., ed.: *Air Pollution and Ecosystems*. Reidel, Dordrecht, 739-742.

ZUSAMMENFASSUNG: In dieser Arbeit wurden die Methoden zur Gewinnung der Xylemsäfte vorgestellt. Insbesondere wurde die Wasserverdrängungsmethode geschildert, mit welcher man aus allen Baumteilen größere Xylemsaftmengenextrahieren kann, und zwar zu jeder Jahreszeit. Wenn Probennahmen kontinuierlich erfolgen und extrahierte Xylemsäfte einer gründlichen und allumfassenden chemischen Analyse unterzogen werden, können die bauminternen Stoffflüsse mindestens in ihren Grundzügen erkundet werden. Es wurde auch die Hoffnung ausgesprochen, daß man mit dieser Vorgehensweise die artspezifische Eigenart derbauminternen Stoffflüsse eugründen kann, und daß nam nit sochen "Blutanalysen" die Vitalitätszustände erkennen und das "Gesunde" vom "Kranken" qualitativ und quantitativ unterscheiden könnte. In diesem Zusammenhang wurden die Ergebnisse der Xylemsaftanalysen in Buchenwaldbeständen Nordhessens geschildert und am Beispiel des Magnesiums und Aluminiums sowie einer erläutert. Zum Schluß wurde die Bedeutung der Baumphysiologie für die Waldschadenursachenforschung hervorgehoben.