

Analize de anatomie cantitativă a lemnului pentru fag și stejar: protocol de lucru și perspective

Știrbu Marian-Ionuț, Roibu Cătălin-Constantin, Mursa Andrei, Andriescu Cosmin-Mihai, Cotos Mihai-Gabriel, Asandei Maria-Ecaterina, Sfeclă Victor, Roibu Ana-Maria, Iosifescu Vasile, Grati Vladislav, Popa Ionel

Știrbu M.-I., Roibu C.-C., Mursa A., Andriescu C.-M., Cotos M.-G., Asandei M.-E., Sfeclă V., Roibu A.-M., Iosifescu V., Grati V., Popa I., 2024. Quantitative wood anatomy analyses for beech and oak: workflow protocol and perspectives. *Bucov. For.* 24(2): 177-190

Abstract. Analysing the variability in the anatomical structure of trees is crucial for understanding wood adaptation to environmental conditions. Annual tree rings serve as vital data sources for studying climate variability. Once formed, the anatomical structure of wood remains stable, allowing its characteristics to provide intra-annual resolution insights into auxological growth processes within the context of climate change. However, significant methodological challenges persist in sample preparation and the generation of anatomical parameter time series. This study addresses these challenges by presenting various methodological approaches in quantitative wood anatomy, with a specific focus on the collection, processing, and analysis of beech and oak samples. The study concludes in a unified methodology applicable across the fields of ecophysiology and quantitative wood anatomy. Furthermore, it supports the advancement of pioneering dendrochronological research employing cellular parameters of beech and oak wood.

Keywords: quantitative wood anatomy, European beech, Pedunculate oak, wood anatomical traits, workflow protocol.

Authors. Știrbu Marian-Ionuț, Roibu Cătălin-Constantin, Andrei Mursa (andrei.mursa@usm.ro), Andriescu Cosmin-Mihai, Cotos Mihai-Gabriel, Asandei Maria-Ecaterina, Sfeclă Victor, Iosifescu Vasile, Grati Vladislav - "Ștefan cel Mare" University of Suceava, Forestry Faculty, 13 Universității, 720229 Suceava, Romania; Roibu Ana-Maria - Faculty of Silviculture and Forest Engineering, Transilvania University of Brașov and "Ștefan cel Mare" University of Suceava, Forestry Faculty, 13 Universității, 720229 Suceava, Romania; Popa Ionel - "Marin Drăcea" National Research-Development Institute in Forestry, Station Câmpulung Moldovenesc, 73bis, Calea Bucovinei, 725100 Câmpulung Moldovenesc, Romania and Mountain Economy Center, Petreni Street 49, 725700, Vatra Dornei, România.

Manuscript received May 28, 2024; revised November 24, 2024; accepted December 29, 2024; online first December 31, 2024.

Introducere

Inelele anuale ale arborilor, prin parametrii specifici reprezintă una din cele mai utilizate surse de date indirecte pentru studierea dina-

micii climatului (von Arx și Carrer 2014). Aceasta se datorează faptului că factorii climatici influențează procesele de creștere ale arborilor și lasă amprente permanente în structura anatomică a inelelor anuale (Wegner

et al. 2013). Spre deosebire de alte surse de date indirecte, cum ar fi sedimentele lacurilor, carote de gheață sau straturile de polen, inelele anuale prezintă o rezoluție temporală mult mai ridicată, cel puțin anuală (Björklund et al. 2017, 2020, Fonti et al. 2010) și permit surprinderea fidelă a fluctuațiilor de scurtă durată ale climatului. Totodată, s-a arătat că structura anatomică a lemnului reacționează prompt la schimbările de mediu și se adaptează într-un timp foarte scurt pentru a maximiza funcția de susținere și de conducere (Schweingruber 1993, Fonti et al. 2010). Prin analiza parametrilor celulari se poate cuantifica efectul factorilor climatici asupra structurii anatomice a lemnului la o rezoluție temporală mare (Björklund et al. 2020, Fonti et al. 2010, Pritzkow et al. 2014, Wegner et al. 2013). Legătura dintre caracteristicile dimensionale ale parametrilor celulari și rolurile mecanice și de conducere specifice permit extragerea de informații suplimentare cu privire la impactul factorilor climatici asupra proceselor auxologice ale arborilor, oferind o dimensiune eco-fiziologică interpretării rezultatelor (Carrer et al. 2018, Fonti et al. 2010, Wegner et al. 2013). Importanța acestor informații climatice stocate în interiorul structurii lemnului arborilor a trezit un interes tot mai mare în ultima perioadă în rândul cercetătorilor (Björklund et al. 2017, Fonti et al. 2010). Cu toate acestea, datorită dificultăților întâmpinate în prelucrarea și analiza probelor de creștere în vederea obținerii informațiilor specifice, numărul de publicații științifice în domeniul anatomiei cantitative este relativ scăzut. Acest lucru indică necesitatea unor abordări metodologice detaliate care să faciliteze prelucrarea și analiza probelor de lemn. Prin urmare, obiectivele acestei note de cercetare sunt: i) prezentarea unei metodologii unitare specifice pentru prelucrarea și analiza imaginilor din domeniul anatomiei cantitative a lemnului de foioase cu distribuția porilor inelară (stejar (*Quercus robur* L.)) și difuză (fag (*Fagus sylvatica* L.)); ii) realizarea seriilor dendrocronologice folosind parametrii celulari ai lemnului de stejar și fag.

Material și metode

Localizarea cercetărilor

Studiul s-a realizat în patru locații distincte din România (figura 1), extrase din rețeaua de serii dendrocronologice de fag și stejar constituită în cadrul proiectului FaStClim. Fiecare locație este reprezentativă pentru condițiile de vegetație specifice pădurilor de foioase și de amestec aflate într-un climat temperat continental cu tendințe excesive.

Selecția siturilor s-a bazat pe corelația medie a seriilor individuale de creștere, astfel a fost selectat situl cu cea mai mare corelație, respectiv situl cu cea mai redusă corelație internă. În interiorul sitului, au fost selectate primele 7 probe care aveau cea mai mare corelație cu seria medie. Astfel au fost selectate siturile (tabelul 1) pentru fag: Slătioara - Suceava (SLTA) situată în zona nord-estică a țării, cunoscut pentru pădurile sale seculare, se află într-un climat temperat-continental umed, cu precipitații anuale de aproximativ 800-1.200 mm și temperaturi medii anuale de 6-8°C. Zona este caracterizată de soluri districambosol, bine drenate și Răducăneni - Iași (RADN) localizat în partea centrală a Moldovei; este cea mai estică locație, caracterizată de un climat temperat-continental moderat, cu precipitații anuale de 550-700 mm și temperaturi medii de 9-10°C. Solurile sunt preponderent cernoziomuri și soluri aluvionare. Pentru stejar au fost selectate siturile: Braniște (BRNA), situat în județul Neamț, într-o arie protejată ce conservă stejari seculari cu vârste de peste 170 de ani. Zona are un climat temperat-continental de tranziție, cu precipitații anuale între 600-800 mm și temperaturi medii anuale de 8-9°C. Aici, solurile predominante sunt brun-roșcate și fertile. Al doilea sit selectat pentru stejari este la Hanu Conachi (HACO), situat în județul Galați. Acesta poate fi considerat reprezentativ pentru sudul Moldovei, având un climat temperat-continental influențat de proximitatea Dunării. Precipitațiile anuale sunt mai scăzute, între 450 și 600 mm, iar temperaturile medii

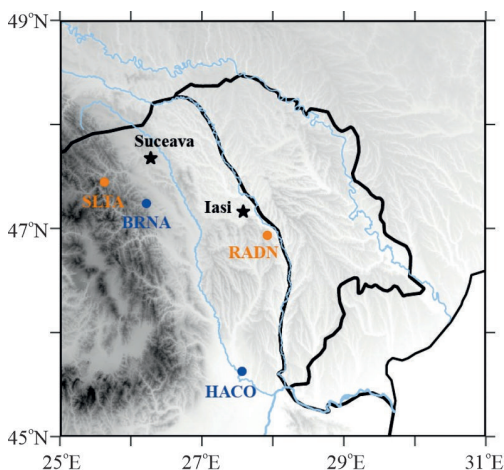


Figura 1 Localizarea cercetărilor. Cu portocaliu sunt reprezentate locațiile pentru fag, iar cu albastru pentru stejar. Cu steluță sunt evidențiate două orașe importante (Suceava și Iași) din apropierea studiului

Study area. The locations for beech are represented in orange, and for oak, are in blue. Two important cities (Suceava and Iași) near the study area are highlighted with a star

Tabel 1 Localizarea seriilor de creștere pentru fag și stejar
Location of growth series for beech and oak

Nr. crt.	Cod	Nume sit	Lati-tudine (°N)	Longi-tudine (°E)	Altitudine (m)
1	SLTA	Codrii Seculari Slătioara	47,45	25,63	1114
2	RADN	Răducăneni	46,93	27,92	416
3	BRNA	Braniște	47,24	26,22	552
4	HACO	Hanu Conachi	45,68	27,57	32

anuale sunt de circa 10-11°C. Solurile din zona din care s-au colectat probele de lemn sunt preponderent nisipoase, iar pentru întreaga zonă există tendințe de deșertificare.

Protocol unitar de lucru privind anatomia cantitativă

Prelevarea probelor de lemn

Cele mai folosite probe de lemn pentru anatomia cantitativă a inelului anual sunt carotele extrase cu burghiul Pressler. În general, în studiul parametrilor anatomici se urmărește ca probele să prezinte un diametru cât mai mare

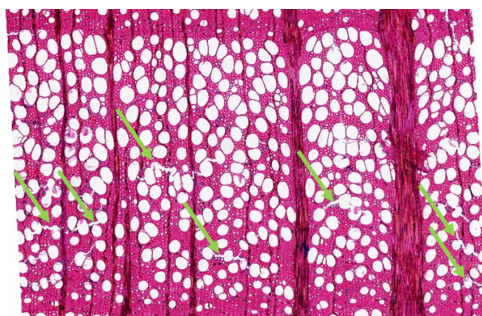


Figura 2 Exemple de microfisuri datorate folosirii unui burghiu neascuțit
Examples of microcracks due to the use of a blunt borer

pentru a avea material suficient pentru realizarea microsecțiunilor și evitarea artefactelor posibil a apărea în procesul de tăiere. Cu toate acestea, datorită durității lemnului de foioase și limitărilor tehnice privind prelevarea carotelor cu diametre mari, probele de creștere cel mai uzual folosite sunt reprezentate de carotele cu diametrul de 5,5 mm.

Prelevarea probelor se realizează folosind burghiul Pressler din arbori, dominanți și fără defecte vizibile. În procesul de extragere a carotelor destinate analizei anatomiei cantitative a lemnului, se acordă o atenție deosebită detaliilor care influențează semnificativ calitatea probelor. În primul rând burghiul folosit trebuie să fie ascuțit pentru a se evita microfisurile (figura 2) care pot apărea în interiorul carotelor în momentul colectării probelor. Aceste microfisuri, deși invizibile cu ochiul liber, în procesul de realizare a microsecțiunilor pot avea drept efect ruperea acestora. Un alt detaliu foarte important la extragerea probelor care trebuie urmărit este asigurarea perpendicularității burghiului cu axul longitudinal al arborilor și orientarea acestuia spre măduva arborilor. Pentru aceasta se recomandă folosirea unor pieptare specifice (figura 3a) care asigură atât o susținere eficientă a burghiului în momentul pătrunderii acestuia în arbore (figura 3b), cât și menținerea perpendicularității acestuia.

Pentru ușurarea procesului de extragere a carotelor, se recomandă folosirea unei mașini de găurit/înșurubat cu acumulator. Pentru aceasta se va folosi un adaptor special pentru

burghiu care se montează în mandrina bormașinii. Extracția carotelor se realizează urmărind același protocol ca în cazul extragerii manuale, dar procesul este mult mai rapid și ușor, iar pieptarul nu mai este necesar deoarece bormașina este folosită în locul acestuia (figura 4).

Un detaliu foarte important de urmărit în alegerea mașinii de găurit cu care realizează extragerea carotelor este ca turația mandrinei în timpul introducerii burghiului să fie foarte redusă, iar cuplul mecanic să fie de peste 120 Nm. Aceste cerințe sunt necesare pentru a preveni deteriorarea prematură a burghiului (cauzată de încălzirea acestuia prin frecarea produsă în timpul introducerii acestuia în lemn). Totodată, prin introducerea mai lentă a burghiului, se asigură și o calitate superioară a probelor de creștere. Carotele se extrag din burghiu cu ajutorul teije extractoare, folosind mânerul burghiului rotindu-l în sens invers, pentru a desprinde carota din arbore. Ulterior, burghiul este îndepărtat din arbore cu ajutorul mașinii de înșurubat. Depozitarea carotelor se poate realiza în două moduri (figura 5), urmând protocolul lui (Gärtner și Schweingruber 2013) în tuburi de hârtie sau prin utilizarea unor plăci de policarbonat care să prezinte fante speciale de ventilare. Avantajul utilizării acestor suporturi pentru probe este dat de rigiditatea ridicată a acestora, care asigură protecția carotelor, posibilitatea lipirii etichetelor pe care se notează informațiile referitoare la localizarea suprafețelor de cercetare, caracteristicile fiecărui arbore, etc. Totodată, datorită capacității mari de depozitare (10-15 carote) acestea sunt mult mai ușor de gestionat ulterior în procesul de arhivare.

Pregătirea carotelor de creștere

Pregătirea carotelor constă în îndreptarea prin tăiere sau șlefuire a părții superioare, în vederea evidențierii limitelor inelelor anuale pentru măsurarea lățimii acestora. În cazul șlefuirii se utilizează benzi abrazive cu granulații diferite, pornind cu granulația 80 și finalizând cu granulația 600. Șlefuirea probelor presupune lipirea acestora pe suporturi speciali din lemn, ceea ce

reprezintă un dezavantaj major, deoarece nu mai pot fi utilizate pentru alte analize specifice (anatomie calitativă, izotopi stabili, etc). Prin urmare, șlefuirea probelor poate fi înlocuită prin utilizarea unui microtom pentru carote (Gärtner și Nievergelt 2010) (figurile 6a, 6b) procesul fiind mai rapid și mai eficient. Astfel, carotele se montează în suportul microtomului cu o atenție sporită asupra orientării fibrelor, asigurând perpendicularitatea acestora pe planul de tăiere. Tăierea carotelor se realizează cu lame de cutter de bună calitate (de exemplu NT Cutter). Inițial se folosește o parte folosită a lamei pentru îndreptarea carotelor, iar când se ajunge la adâncimea de tăiere dorită se mută poziția lamei la o parte neutilizată a acesteia pentru a se realiza o ultimă tăiere. Acest ultim pas asigură obținerea unei suprafețe perfect plane, fără imperfecțiuni.

Obținerea microsecțiunilor la fag

Pentru probele provenite de la speciile de foioasele cu distribuția porilor difuză este necesară realizarea microsecțiunilor atât pentru analiza fibrelor cât și pentru analiza vaselor, datorită dimensiunilor mici ale acestora. În cazul probelor de foioasele cu distribuția inelară a porilor, microsecțiunile sunt necesare doar în situația în care se urmărește analiza fibrelor, procedeu fiind identic. Probele de lemn sunt secționate în bucăți de 4-5 cm lungime cu cel puțin 1-2 inele anuale suprapunere între două secțiuni adiacente (figura 7). În cazul speciilor cu lemn tare, precum fagul sau stejarul, se recomandă fierberea probelor în vederea înmuierii lemnului, facilitându-se astfel obținerea microsecțiunilor. Timpul de fierbere a probelor poate varia de la 10 minute și o oră, în funcție de duritatea acestora și se stabilește în fiecare caz în parte. Pentru realizarea microsecțiunilor (figura 8) se recomandă folosirea unui microtom rotativ datorită preciziei ridicate a acestuia comparativ cu alte tipuri de microtoame (de exemplu, liniar). În vederea secționării, fiecare bucată de carotă se va monta într-un suport special (figura 9). La fel ca în cazul îndreptării acestora, orientarea fibrelor este deosebit de



Figura 3 a. Pieptar folosit pentru asigurarea stabilității și menținerii orientării burghiului. b. Utilizarea pieptarului
a. Starter used for ensuring the stability and maintaining the orientation of the borer
b. Use of the breastplate



Figura 4 Utilizarea bormașinii drept pieptar și pentru înfiletarea mecanizată a burghiului
Using the drill as a starter and for the mechanized threading of the borer



Figura 5 Containere pentru probe (15 tuburi de hârtie și o placă de policarbonat cu 15 canale)
Containers for samples (15 paper tubes and a polycarbonate plate with 15 channels)

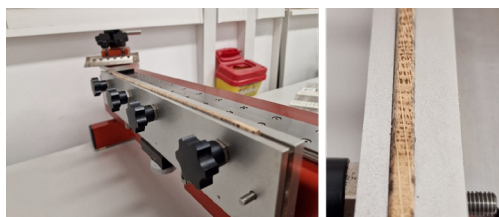


Figura 6 a. Probă montată în microtom. b. Carotă îndreptată, cu suprafața plană pentru analiză
Sample mounted in the microtome. b. Prepared core, with a flat surface for analysis



Figura 7 Secționarea probelor în segmente de 4-5cm lungime
Sectioning the samples into segments of 4-5 cm in length

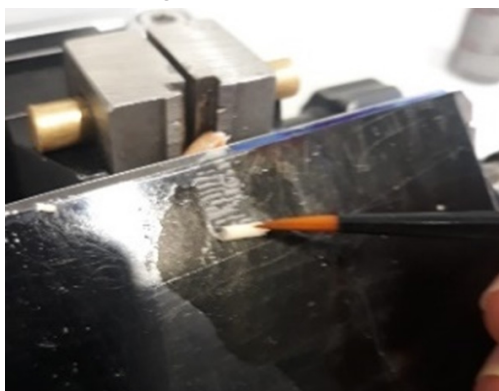


Figura 8 Realizarea microsecțiunilor
Cutting the microsections

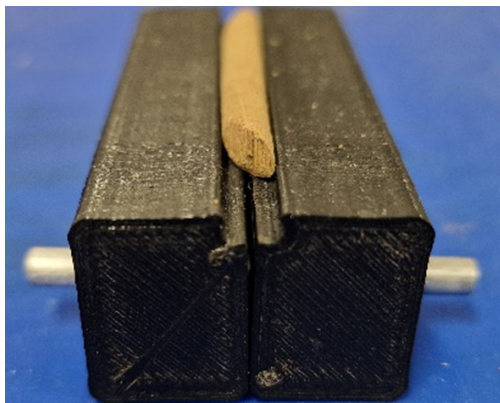


Figura 9 Bucată de carotă fixată în suportul microtomului rotativ
Core piece fixed in the rotary microtome holder

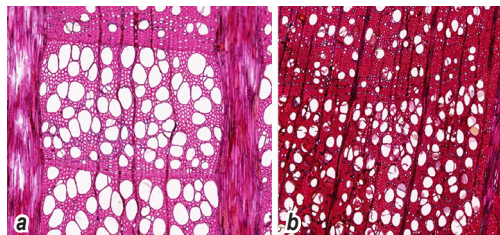


Figura 10 Microsecțiune de: a. 10-12 µm vs. b. 20 µm grosime
Microsection of: a. 10-12 µm vs. b. 20 µm thickness



Figura 11 Preparat microscopic pregătit pentru uscare
Mounted slide ready for drying



Figura 12 Procesul de evidențiere a vaselor la foiașele cu distribuția porilor inelară. a. Colorarea lemnului cu amestec de safranină și astra-blue. b. Aplicarea prafului de cretă în interiorul vaselor
The process of highlighting vessels in hardwoods with ring-porous distribution. a. Wood staining with a mixture of safranin and Astra-blue. b. Applying chalk powder inside the vessels.

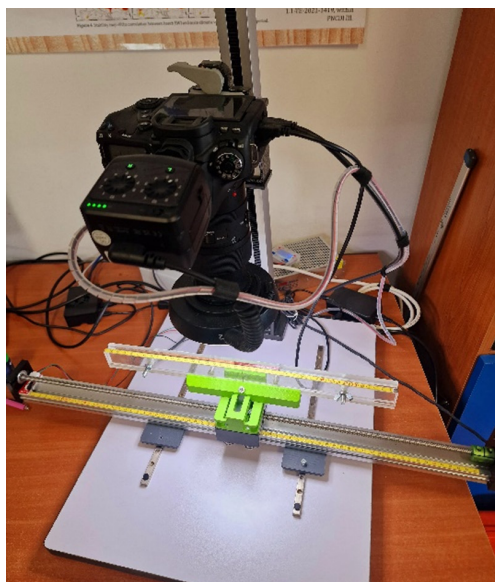


Figura 13 Capturing - Preluarea imaginilor la probele cu distribuția porilor inelară
Capturing – Image acquisition of samples with ring-porous distribution.

importantă în timpul fixării probelor în suport. Suprafața plană obținută din îndreptarea carotelor se poate folosi drept reper pentru asigurarea perpendicularității fibrelor pe planul de tăiere. În cazul în care se constată că fibra a fost răsucită, ajustările se vor realiza individual pentru fiecare segment al carotei. Grosimea

microsecțiunilor trebuie aleasă între 10 și 20 μm pentru obținerea celor mai bune rezultate (von Arx et al. 2016).

Limitarea grosimii între 10-12 μm facilitează și măsurarea ulterioară a fibrelor, proces care nu ar mai fi posibil atunci când se utilizează secțiuni cu grosimi mai mari (figurile 10a, 10b). Odată aleasă grosimea dorită, aceasta trebuie menținută pentru toate microsecțiunile pentru asigurarea comparabilității datelor. Umectarea constantă cu apă a lemnului folosind o pensulă, facilitează tăierea microsecțiunilor și transferul acestora de pe suportul lamei microtomului pe lamele de sticlă.

După obținerea microsecțiunilor, acestea se clătesc cu apă distilată pentru a elimina impuritățile rezultate în timpul tăierii. Înainte de colorare, deshidratare și montare, se recomandă tratarea microsecțiunilor cu o soluție pe bază de clor timp de 2-3 minute, pentru a facilita procesul de colorare (Gärtner și Schweingruber 2013). Colorarea se efectuează utilizând un amestec de safranină și astra-blue în proporție de 1:1. Soluția se aplică astfel încât să acopere complet microsecțiunile și se lasă să acționeze timp de cel puțin 10 minute. După colorare, microsecțiunile se clătesc cu apă distilată. Procesul de deshidratare se realizează prin imersarea microsecțiunilor în băi succesive de alcool cu concentrații crescătoare: 50%, 96% și 100%. Pentru montare, se poate utiliza balsamul de Canada sau Euparal. Rășina de tip Euparal este recomandată datorită vâscozității mai reduse, fapt care facilitează lucrul și curățarea preparatelor după întărire, precum și eliminarea necesității folosirii xilenului, un solvent toxic. În cazul montării cu balsam de Canada, preparatele microscopice trebuie uscate într-o etuvă la 60°C, timp de 12-24 de ore. Lamele se așează între două folii termorezistente (figura 11), iar deasupra se adaugă magneti pentru a le menține perfect plane (Gärtner și Schweingruber 2013, von Arx et al. 2016). Când se utilizează Euparal, uscarea are loc similar, dar la temperatura camerei.

Înainte de scanarea preparatelor microscopice se recomandă curățarea atentă a acestora de orice fir de praf sau exces de agent de montare

rămas pe suprafața lamei după procesul de uscare (Gärtner și Schweingruber 2013, von Arx et al. 2016). Obținerea imaginilor de calitate, într-un timp foarte scurt, se realizează utilizând un slide-scanner. Pentru aceasta se poate folosi slide-scanner-ul Zeiss Axioscan 7 existent în dotarea Laboratorului de Biometrie Forestiera din cadrul Facultății de Silvicultura din Suceava (biometrie.usv.ro). Acest echipament prezintă numeroase avantaje, precum: modalități diferite de focus, un program performant de imagistica, capacitate de scanare a 100 lame, avantaje care permit reducerea substanțială a timpului și dificultății de preluare și îmbinare manuală a imaginilor, comparativ cu varianta manuală.

Prelucrarea probelor de stejar

În cazul probelor extrase din specii cu distribuție inelară ale porilor (Ex. stejar), datorită dimensiunilor mari a vaselor din lemnul timpuriu, procesul de prelucrare a carotelor este simplificat. Prelucrarea carotelor constă în îndreptarea acestora folosind microtomul pentru carote, dar cu o mai mare atenție la tăietura finală pentru asigurarea unei suprafețe perfect plane. Ulterior, carotele necesită o colorare în vederea asigurării contrastului între elementele de conducere și restul elementelor lemnoase. Deși în literatura de specialitate se recomandă folosirea unor carioci permanente pentru această operațiune, pe baza propriilor experiențe, cele mai bune rezultate s-au obținut folosind același amestec de safranină și astra-blue. Amestecul se aplică pe carote folosind o pensulă (figura 12 a). După uscare este recomandată frecarea suprafeței plane cu o lână fină de oțel pentru eliminarea tîlelor din interiorul vaselor care fac ca vasele să pară divizate, obținându-se rezultate eronate. La final, în vederea creșterii contrastului, se aplică pudră de cretă pe toată lungimea probei (figura 12 b).

Pentru obținerea imaginilor panoramice ale carotei se poate utiliza un ansamblu format dintr-un aparat de fotografiat dotat cu un obiectiv macro (100 mm, f 2.8) care preia imagini adiacente cu o suprapunere prestabilă în-

tre acestea (figura 13). Unirea imaginilor într-o singură panoramică se realizează în programul PTGui v12.26 (www.ptgui.com) (von Arx 2017). În funcție de lungimea carotei, rezultă 2-4 imagini panoramice pentru fiecare carotă, spre deosebire de situația în care se creează microsecțiuni, caz în care sunt necesare între 20 și 60 de imagini panoramice succesive. Pentru analiza vaselor din lemnul târziu și mai ales a fibrelor, această metodologie de prelucrare a probelor nu mai este valabilă și, este necesară realizarea microsecțiunilor urmând protocolul descris mai sus la speciile cu distribuția porilor difuză.

Măsurarea parametrilor celulari

Datorită numărului mare de probe, inele anuale și parametri anatomici studiați, precum și a cerințelor în ceea ce privește rezultatele analizei imaginilor, aceasta se realizează în programul ROXAS (von Arx și Carrer 2014) care are drept suport de lucru programul Image-Pro Plus (Media Cybernetics, USA). În comparație cu alte programe de analiză a parametrilor anatomici, acesta este special adaptat pentru a oferi o analiză automată, care reușește, atunci când microsecțiunile sunt de o calitate bună, să limiteze foarte mult editarea manuală.

În vederea analizei imaginilor, datorită limitărilor programului, acestea trebuie tăiate la o dimensiune de maxim 32,768 de pixeli în oricare direcție. Totodată, lățimea imaginilor finale care vor fi analizate trebuie să fie constantă pentru asigurarea comparabilității datelor obținute. Tăierea imaginilor la dimensiunile corespunzătoare se poate realiza în programul de prelucrare a imaginilor specific slide-scanner-ului sau cu ajutorul programului IrfanView (www.irfanview.com). Acesta permite orientarea lemnului târziu în partea de jos a imaginii, conform cerințelor pentru analiza în programul ROXAS, fără a le modifica dimensiunile sau calitatea. În vederea realizării configurațiilor specifice care vor fi utilizate la măsurarea parametrilor anatomici în programului ROXAS, recomandăm citirea cu atenție a manualului acestuia.

Fluxul de lucru pentru analiza cantitativă a parametrilor anatomici se realizează în 3 etape: (i) Analiza automată, (ii) Editarea manuală și (iii) Obținerea datelor. Analiza automată presupune recunoașterea automată a elementelor anatomice pe baza contrastului, mărimii și formei, în limitele impuse de configurație. Ulterior, fiecare imagine trebuie deschisă individual pentru editarea manuală. Aceasta presupune filtrarea celulelor pentru îndepărtarea celor identificate greșit (goluri din interiorul razelor, părți rupte ale microsecțiunii, sau orice alte elemente identificate greșit) în timpul analizei automate. Tot în cadrul acestei etape se vor trasa manual limitele inelelor anuale, deoarece la foioase, programul nu le poate identifica automat. Verificarea delimitării corecte, precum și măsurarea corespunzătoare a lățimii acestora presupune o etapă de interdatare (figura 14) între seria obținută în ROXAS cu seria de referință a carotei obținută prin procedee clasice ale dendrocronologiei. În cazul în care se constată diferențe se vor actualiza anii din imagini conform seriei dendrocronologice.

În urma analizei în programul ROXAS (figura 14) se obține câte un fișier Excel pentru fiecare imagine, iar integrarea datelor se realizează folosind funcția de sumarizare. Primul set de date oferă informații despre parametrii medii celulari la nivelul fiecărui inel anual:

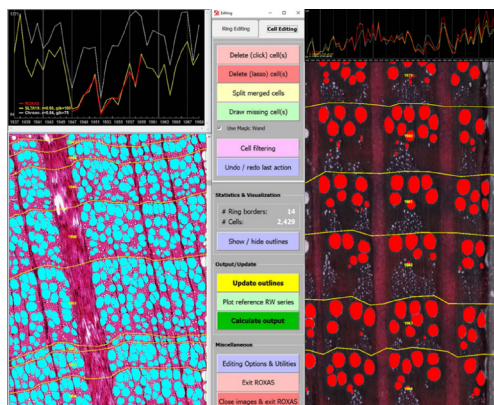


Figura 14 Proces de analiza și editare a probelor de fag și stejar în ROXAS
Analysis and editing process of beech and oak samples in ROXAS

numărul de celule, suprafața și lățimea inelelor anuale, dimensiunile lumenului vaselor, etc. În baza acestor date primare sunt calculați peste 50 parametri derivați, cum ar fi: densitatea de celule (numărul de celule raportat la unitatea de suprafață), indicele de grupare a vaselor, diametrul hidraulic mediu, etc. În urma analizei se obțin date referitoare la fiecare celulă în parte, fiind măsurate caracteristicile dimensionale ale acesteia, dar și poziția fiecărei celule în interiorul inelului, ceea ce permite divizarea teoretică a inelului în mai multe sectoare în vederea creșterii rezoluției temporale. Analize similare pot fi realizate și pentru examinarea fibrelor, dar utilizând configurații adaptate la dimensiunile mai reduse ale elementelor studiate.

Toate seriile cronologice bazate pe parametrii celulari obținute în acest studiu, au fost stan-

dardizate pentru a elimina trendul general indus de vârsta și dimensiunile arborilor (Carrer et al. 2014, Enquist 2002) folosind o funcție spline cubică de 100 ani (Cook și Kairiukstis, 1990) (tabelul 2, figurile 16, 17). Indicii de creștere au fost calculați ca raport între valorile măsurate și cele teoretice, iar cronologia medie (cronologia standard) a fost obținută utilizând o medie bi-ponderală (Cook și Peters 1997, Fritts 1976). Atât pentru cronologiile brute, cât și pentru cele standardizate, au fost calculați următorii parametri statistici: lungimea medie a segmentului (MSL), valori medii (VM), abaterea standard (SD), autocorelația de ordin 1 (AR(1)), corelația cu seria medie (CwM), corelația dintre serii (rbar), semnalul populațional comun (EPS), raportul semnal-zgomot (SNR) și sensibilitatea medie (MS).

Tabelul 2 Parametrii statistici ai seriilor anatomice pentru fag și stejar (MSL- lungimea medie a segmentului, VM- valori medii, SD- abaterea standard, AR(1)-autocorelația de ordin 1, CwM – corelația cu seria medie, rbar – corelația dintre serii, EPS- semnalul populațional comun, SNR – raportul semnal-zgomot, MS – sensibilitatea medie)

Statistical parameters of anatomical series for beech and oak (MSL – mean segment length, VM – mean values, SD – standard deviation, AR(1) – first-order autocorrelation, CwM – correlation with the mean series, rbar – correlation between series, EPS – common population signal, SNR – signal-to-noise ratio, MS – mean sensitivity)

Specia	Site	Parametrul celular	Nr. carote	Interval	Seria brută		Seria dendrocronologică					
					MSL±SD (ani)	VM±SD	AR(1)	CwM	rbar	EPS	SNR	MS
FAG	RADN	CNo	7	1890-2021	113,71±18,98	571,47±84,10	0,54	0,65	0,46	0,86	6,02	0,25
				1853-2021	135,29±24,70	422,36±87,19	0,66	0,55	0,34	0,78	3,58	0,20
	RADN	MLA	7	1890-2021	113,71±18,98	2428,27±177,26	0,47	0,68	0,45	0,85	5,74	0,08
				1853-2021	135,29±24,70	2502,45±267,85	0,50	0,43	0,22	0,66	1,96	0,05
	RADN	Dh	7	1890-2021	113,71±18,98	62,51±2,59	0,47	0,67	0,49	0,87	6,65	0,04
				1853-2021	135,29±24,70	65,1±3,74	0,53	0,43	0,26	0,71	2,40	0,02
	RADN	Kh	7	1890-2021	113,71±18,98	1,56±0,32	0,48	0,67	0,50	0,88	7,09	0,37
				1853-2021	135,29±24,7	1,27±0,32	0,66	0,50	0,34	0,78	3,60	0,24
	RADN	RVGI	7	1890-2021	113,71±18,98	1,55±0,10	0,63	0,44	0,26	0,71	2,48	0,05
				1853-2021	135,29±24,7	1,86±0,39	0,60	0,20	0,18	0,61	1,58	0,04
STE-JAR	BRNA	CNo	7	1807-2020	171,86±31,57	29,55±6,81	0,66	0,23	0,19	0,62	1,61	0,09
				1922-2020	94,29±3,15	26,64±2,28	0,64	0,35	0,44	0,85	5,47	0,15
	BRNA	MLA	7	1807-2020	171,86±31,57	52774,73±3382,88	0,58	0,34	0,22	0,67	2,00	0,07
				1922-2020	94,29±3,15	37823,58±3038,87	0,52	0,36	0,28	0,73	2,70	0,10
	BRNA	Dh	7	1807-2020	171,86±31,57	292,69±10,64	0,63	0,33	0,22	0,66	1,95	0,02
				1922-2020	94,29±3,15	265,52±13,37	0,65	0,56	0,46	0,86	5,98	0,04
	BRNA	Kh	7	1807-2020	171,86±31,57	33,84±9,02	0,55	0,38	0,25	0,70	2,27	0,10
				1922-2020	94,29±3,15	18,03±4,04	0,68	0,56	0,50	0,88	7,09	0,17
	BRNA	RVGI	7	1807-2020	171,86±31,57	1,38±0,12	0,19	0,02	-0,01	-0,05	-0,05	0,01
				1922-2020	94,29±3,15	1,33±0,09	0,09	0,09	0,04	0,24	0,31	0,03

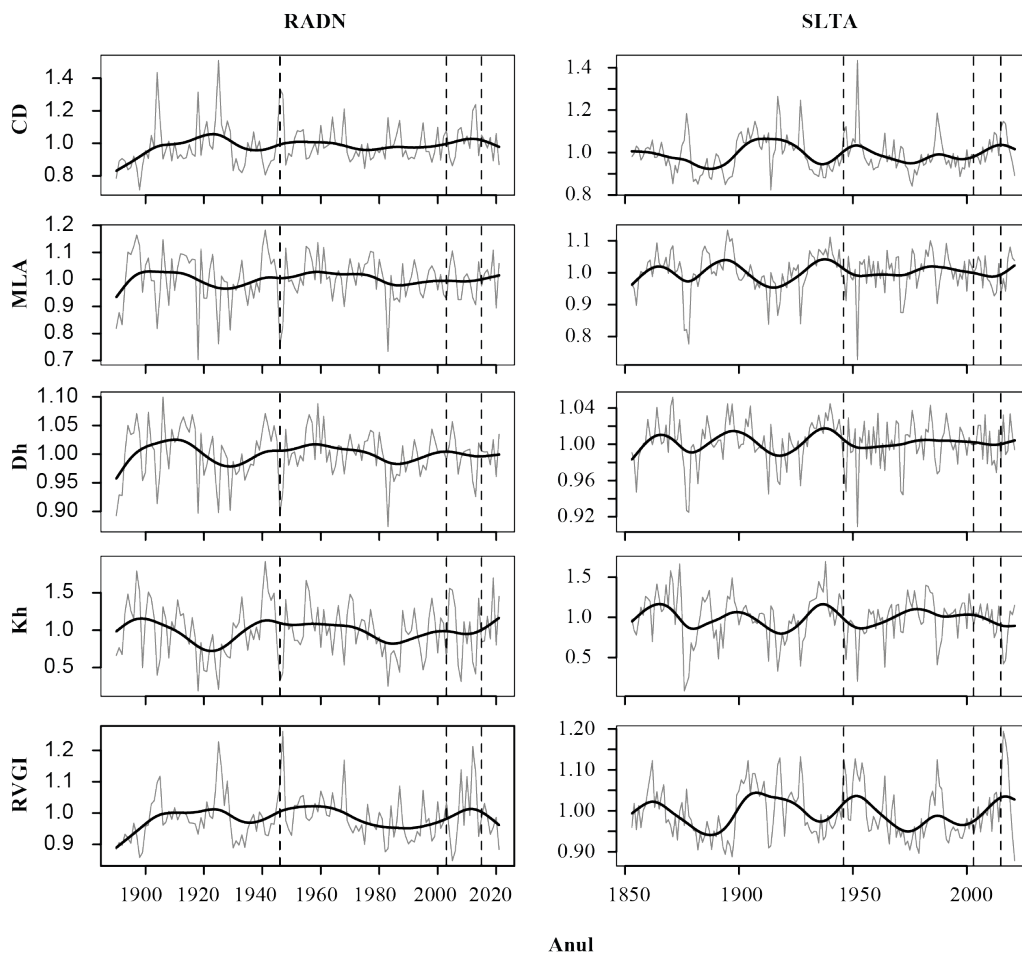


Figura 15 Seriile dendrocronologice ale parametrilor celulari pentru fag (linia subțire– seriile de indici, linia groasă – filtru gaussian de 31 ani)
Dendrochronological series based on cellular parameters for beech (thin line – tree ring index series, thick line– 31-year low-pass filter)

Rezultate

Realizarea seriilor dendrocronologice folosind parametrii celulari ai lemnului de stejar și fag

Realizarea seriilor de timp folosind parametrii celulari ai lemnului constituie o abordare nouă în cercetarea silvică internațională. Cunoașterea modului în care se formează lemnul precum și adaptarea arborilor la condițiile de mediu asigură o abordare complexă a mecanismelor de gospodărire a pădurilor într-un climat în schimbare. În cadrul prezentei lucrări au fost

analizate din punct de vedere al anatomiei lemnului câte 14 probe din fiecare specie, folosind cupluri aflate în condiții de optim și condiții limitative pentru fiecare specie. Aceste probe au fost analizate conform protocolului de laborator specific anatomiei lemnului, prezentat mai sus. După prelucrarea imaginilor în programul Roxas, pentru analizele în cadrul proiectului FaStClim au fost selectați următorii parametri anatomici: numărul de celule (CNo), suprafața lumenului celular (MLA), diametrul hidraulic (Dh), conductanța hidraulică potențială (Kh), gruparea vaselor (RVGI).

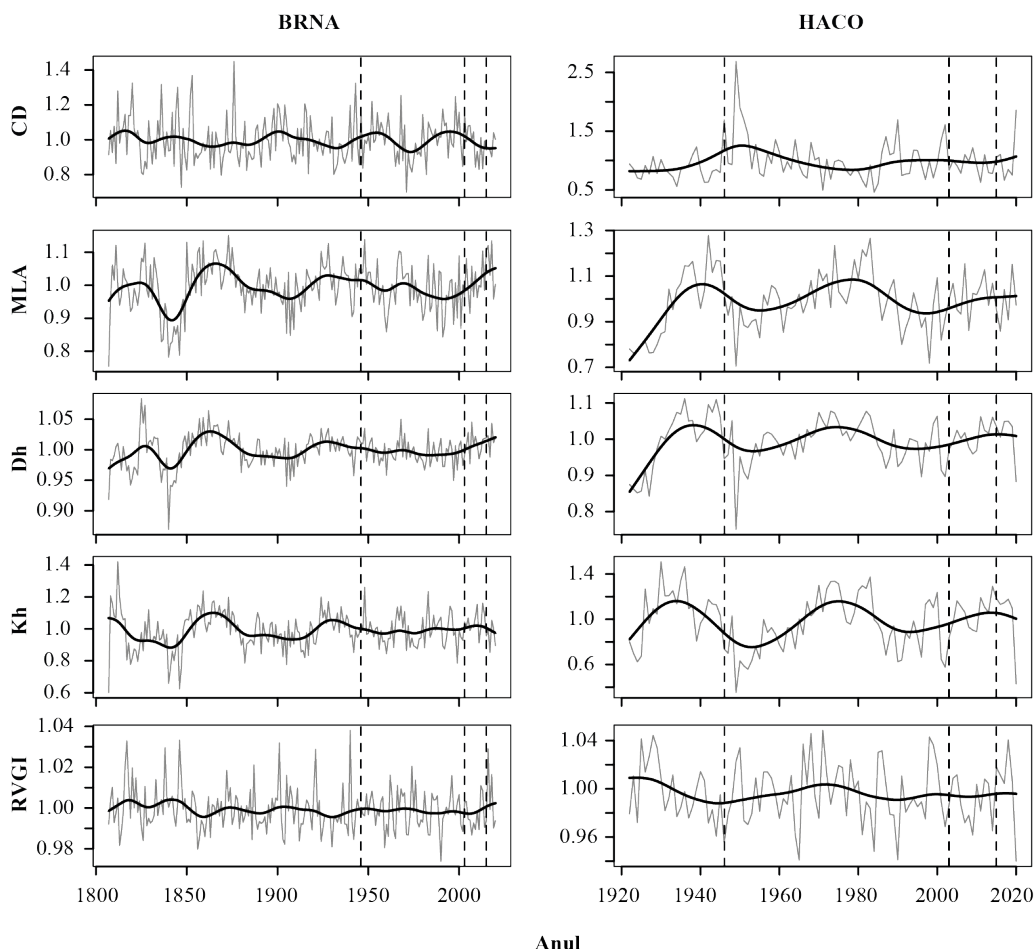


Figura 16 Seriile dendrocronologice ale parametrilor celulari pentru stejar (linia subțire– seriile de indici, linia groasă – filtru gaussian de 31 ani)
Dendrochronological series based on cellular parameters for oak (thin line – tree ring index series, thick line– 31-year low-pass filter)

Seriile analizate prezintă vârste medii cuprinse între 113 ± 19 ani (RADN) și 135 ± 25 ani (SLTA), cu maximumul de 131 ani (RADN) și 168 ani (SLTA). În ceea ce privește numărul vaselor analizate (CNo) se observă că în cazul fagului de la RADN acesta este semnificativ mai mare decât în cazul SLTA, pe când suprafața medie a lumenului este mai mare în cazul fagului de la SLTA, comparativ cu fagul de la RADN. Astfel, putem preciza ca strategia de creștere a fagului din zonele de limită este de produce un număr mai mare de vase, dar cu suprafață mai mică, având în acest fel o conductanță hidraulică po-

tențială (Kh) mai mare, ceea ce este în acord cu studiul anterior (Arnič et al. 2022, 2021, Diaconu et al. 2016, Eilmann et al. 2014, Oladi et al. 2014). Restul parametrilor anatomici analizați păstrează aceeași tendință cu valori mai mari în zona de optim, comparativ cu zona limitativă. În cazul stejarului, seriile realizate acoperă intervalul 1807-2020 (BRNA) și 1922-2020 (HACO), vârstele medii fiind de 171 ± 32 ani (BRNA), respectiv 94 ± 3 ani (HACO). Referitor la caracteristicile medii ale parametrilor analizați se observă că în cazul stejarului din zona de optim (BRNA), acesta produce un număr mai

mare de vase (CNo), comparativ cu stejarul de la HACO. Această tendință se păstrează și pentru restul parametrilor analizați, mai evidentă în cazul MLA și Kh.

Valorile autocorelației de ordin I - AR(1) indică influența condițiilor climatice din anul anterior asupra formării acestora, având valori mai mari pentru cronologiile aflate în condiții limitative, indiferent de specia analizată. Aceasta se datorează faptului că la speciile cu distribuția porilor inelară și difuză, mai multe inele anuale sunt responsabile de transportul sevei brute, iar inelul anului prezent are doar un rol parțial în transportul total al apei (Arnić et al. 2021, Gasson, 1985). În ceea ce privește corelația cu seria medie, se păstrează același tipar, seriile aflate în condiții limitative prezintă o variabilitate mai redusă a parametrilor celulari analizați. În cazul stejarului, variația parametrilor anatomici este mult mai mare (corelație cu media mai redusă), ceea ce induce o variabilitate mult mai mare a lățimii lemnului timpuriu indicând că se acordă mai multă prioritate transportului de apă decât funcțiilor mecanice care devin mai puțin importante la arborii bătrâni (Arnić et al. 2021, RV Rao et al. 1997). După standardizarea seriilor, se observă că nivelul corelației dintre seriile (rbar) și semnul populational comun (EPS) este mai mare în zonele limitative, comparativ cu cele aflate în zonele de optim, indiferent de speciile studiate. Acest rezultat poate fi explicat de faptul că mecanismele biologice ale formării lemnului sunt puternic influențate de condițiile climatice.

Concluzii

Deși anatomia cantitativă a lemnului este un domeniu aflat încă la început, potențialul său justifică o atenție sporită și o dezvoltare a cercetărilor. Este important ca metodologia utilizată în acest domeniu să fie perfecționată, în direcția simplificării proceselor de prelucrare, reducând atât timpul necesar, cât și dificultatea de obținere a datelor primare. Capacitatea acestei metodologii de a extrage informații suplimentare din inelele anuale, oferind comple-

tări valoroase față de parametrii convenționali, coroborat cu integrarea explicațiilor fiziologice privind răspunsul proceselor de creștere la variabilitatea climatică, confirmă potențialul anatomiei cantitative a lemnului. Aceste elemente de anatomie cantitativă sunt importante pentru evaluarea și înțelegerea rezilienței arborilor la schimbările climatice.

Lucrarea prezintă principalele etape metodologice pentru colectarea și prelucrarea probelor de foioase cu distribuția porilor difuză și inelară, în vederea analizelor de anatomie cantitativă. Protocolul descris contribuie la standardizarea procesului de prelucrare și analiză de anatomie cantitativă a probelor de lemn pentru fag și stejar, oferind un ghid care permite reducerea erorilor și asigurarea de rezultate reproductibile. Prin adaptarea procedurilor pentru diversele particularități anatomice ale celor două specii, acest protocol devine un instrument necesar pentru cercetările viitoare în domeniul anatomiei lemnului.

Utilizarea echipamentelor avansate, precum slide-scanner-ul și programul ROXAS, demonstrează importanța adoptării tehnologiilor moderne în analiza cantitativă a lemnului. Aceste instrumente accelerează procesul, reduc erorile și oferă date de o calitate superioară.

Acest protocol, optimizat pentru fag și stejar, poate fi adaptat și pentru alte specii lemnoase, foioase sau rășinoase, fiind relevant pentru o gamă largă de studii dendrocronologice și eco-anatomice.

Ca urmare a rezultatelor obținute se poate concluziona faptul că stejarii aflați în zone cu un nivel optim de aprovizionare cu apă produc mai multe elemente anatomice de conducere a sevei brute, și cu suprafețe aproape duble, comparativ cu stejarii care vegetează în condiții limitative. Strategiile de diviziune și diferențiere celulară sunt diferite la nivel specific (fag și stejar). Parametrii statistici ai seriile standardizate arată o sensibilitate mai mare a fagului, comparativ cu stejarul, ceea ce implică o vulnerabilitate mai mare a fagului la condiții climatice extreme.

Cu toate că aspectele metodologice prezentate în acest protocol de lucru reduc considerabil timpul și dificultatea în obținerea datelor în domeniul anatomiei cantitative a lemnului, dezvoltarea unor metode mai eficiente și mai rapide de prelevare și analiză a probelor de lemn, respectiv urmărirea adaptării și dezvoltării altor etape din acest proces rămân direcții de cercetare deschise.

Mulțumiri

Această publicație a fost susținută printr-un grant al Ministerului Cercetării, Inovării și Digitalizării, CNCS - UEFISCDI, proiectul cu numărul PN-III-P1-1.1-TE-2021-1419, în cadrul PNCDI III.

Popa Ionel a fost susținut financiar de proiectul PN23090201 - „Fundamente științifice noi pentru dezvoltarea soluțiilor, modelelor și metodelor integrate specifice unui management forestier inteligent climatic, sustenabil și adaptat sistemului socio-economic” finanțat de Ministerul Cercetării, Inovării și Digitalizării.

Știrbu Marian-Ionuț, Roibu Cătălin-Constantin, Mursa Andrei și Andriescu Cosmin-Mihai au fost susținuți parțial printr-un grant al Ministerului Cercetării, Inovării și Digitalizării, în cadrul „Planului Național de Recuperare și Reziliență al României – Fondat de UE - Programul NextGenerationEU”, proiect „Compound extreme events from a long-term perspective and their impact on forest growth dynamics (CExForD)”, grant nr. 760074/23.05.2023, cod 287/30.11.2022, în cadrul Pilonului III, Componenta C9, Investiția 8.

Bibliografie

Arnič D., Gričar J., Jevšenak J., Božič G., von Arx G., Prislán P., 2021. Different Wood Anatomical and Growth Responses in European Beech (*Fagus sylvatica* L.) at Three Forest Sites in Slovenia. *Front Plant Sci* 12, 669229. <https://doi.org/10.3389/FPLS.2021.669229>/BIBTEX

Arnič D., Krajnc L., Gričar J., Prislán P., 2022. Relationships Between Wood-Anatomical Features and Resis-

tance Drilling Density in Norway Spruce and European Beech. *Front Plant Sci* 13. <https://doi.org/10.3389/FPLS.2022.872950/FULL>

Björklund J., Seftigen K., Fonti P., Nievergelt D., von Arx G., 2020. Dendroclimatic potential of dendroanatomy in temperature-sensitive *Pinus sylvestris*. *Dendrochronologia* (Verona) 60, 125673. <https://doi.org/10.1016/j.dendro.2020.125673>

Björklund J., Seftigen K., Schweingruber F., Fonti P., von Arx G., Bryukhanova M. V., Cuny H.E., Carrer M., Castagneri D., Frank D.C., 2017. Cell size and wall dimensions drive distinct variability of earlywood and latewood density in Northern Hemisphere conifers. *New Phytologist*. <https://doi.org/10.1111/nph.14639>

Carrer M., Unterholzner L., Castagneri D., 2018. Wood anatomical traits highlight complex temperature influence on *Pinus cembra* at high elevation in the Eastern Alps. *Int J Biometeorol* 62, 1745–1753. <https://doi.org/10.1007/s00484-018-1577-4>

Carrer M., von Arx G., Castagneri D., Petit G., 2014. Distilling allometric and environmental information from time series of conduit size: the standardization issue and its relationship to tree hydraulic architecture. *Tree Physiol* 35, 27–33. <https://doi.org/10.1093/treephys/tpu108>

Cook E.R., Kairiukstis L.A., 1990. Methods of dendrochronology: applications in the environmental sciences, *Methods of dendrochronology: applications in the environmental sciences*. Kluwer. <https://doi.org/10.2307/1551446>

Cook E.R., Peters K., 1997. Calculating unbiased tree-ring indices for the study of climatic and environmental change. *Holocene* 7, 361–370. <https://doi.org/10.1177/095968369700700314>

Diaconu D., Stangler D., Physiology, H.K.-T., 2016. Vessel plasticity of European beech in response to thinning and aspect. *Tree Physiology*, 36(10), 1260-1271.

Eilmann, B., Sterck, F., Wegner, L., de Vries, S. M., Von Arx, G., Mohren, G. M., ... & Sass-Klaassen, U. (2014). Wood structural differences between northern and southern beech provenances growing at a moderate site. *Tree physiology*, 34(8), 882-893.

Enquist B.J., 2002. Universal scaling in tree and vascular plant allometry: Toward a general quantitative theory linking plant form and function from cells to ecosystems, in: *Tree Physiology*. pp. 1045–1064. <https://doi.org/10.1093/treephys/22.15-16.1045>

Schweingruber F.H., 1993. Trees and Wood in Dendrochronology, *Journal of Chemical Information and Modeling*, 402 p, DOI:10.1007/978-3-642-77157-6

Fritts H.C., 1976. *Tree rings and climate*. Academic Press, London, 567 p, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-268450-0.X5001-0>.

Fritts H.C., 1976. *Tree rings and climate*. Academic Press, London, 567 p, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-268450-0.X5001-0>.

- Fonti P, von Arx G., Garcia-Gonzalez I., Eilmann B., Sass-Klaassen U., Gartner H., Eckstein D., 2010. Studying global change through investigation of the plastic responses of xylem anatomy in tree rings. *New Phytol* 185, 42–53. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2009.03030.x>
- Fonti P., Von Arx G., García-González I., Eilmann B., Sass-Klaassen U., Gärtner H., Eckstein D., Garcia-Gonzalez I., Eilmann B., Sass-Klaassen U., Gartner H., Eckstein D., 2010. Studying global change through investigation of the plastic responses of xylem anatomy in tree rings. *New Phytol* 185, 42–53. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2009.03030.x>
- Fritts H.C., 1976. *Tree rings and climate*. Academic Press, London, 582p
- Gärtner H., Nievergelt D., 2010. The core-microtome: A new tool for surface preparation on cores and time series analysis of varying cell parameters. *Dendrochronologia (Verona)* 28, 85–92. <https://doi.org/10.1016/J.DENDRO.2009.09.002>
- Gärtner H., Schweingruber F., 2013. *Microscopic preparation techniques for plant stem analysis* (Remagen: Verlag Dr. Kessel), 78 p, ISBN: 378-3-941300-76-7
- Gasson, P. (1985). Automatic measurement of vessel lumen area and diameter with particular reference to pedunculate oak and common beech. *IAWA Journal*, 6(3), 219-237.
- Oladi R., Bräuning A., Pourtahmasi K., 2014. “Plastic” and “static” behavior of vessel-anatomical features in Oriental beech (*Fagus orientalis Lipsky*) in view of xylem hydraulic conductivity. *Trees - Structure and Function* 28, 493–502. <https://doi.org/10.1007/S00468-013-0966-X>
- Pritzkow C., Heinrich I., Grudd H., Helle G., 2014. Relationship between wood anatomy, tree-ring widths and wood density of *Pinus sylvestris* L. and climate at high latitudes in northern Sweden. *Dendrochronologia (Verona)* 32, 295–302. <https://doi.org/10.1016/j.dendro.2014.07.003>
- Rao, R. V., Aebischer, D. P., & Denne, M. P. (1997). Late-wood density in relation to wood fibre diameter, wall thickness, and fibre and vessel percentages in *Quercus robur* L. *IAWA Journal*, 18(2), 127-138.
- von Arx G. 2017. Stitching distortion-free mosaic images for QWA using PTGui, 14p, https://roxas.wsl.ch/fileadmin/user_upload/WSL/Microsite/ROXAS/ptgui_quickguide.pdf.
- von Arx, G. Carrer, M. 2014. Roxas -A new tool to build centuries-long tracheid-lumen chronologies in conifers. *Dendrochronologia (Verona)* 32, 290–293. <https://doi.org/10.1016/j.dendro.2013.12.001>
- von Arx, G. Crivellaro, A. Prendin, A.L. Čufar, K., Carrer, M. 2016. Quantitative wood anatomy—practical guidelines. *Front Plant Sci* 7, 1–13. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00781>
- Wegner L., Eilmann, B. Sass-Klaassen, U. Von Arx, G., 2013. ROXAS - An efficient and accurate tool to detect vessels in diffuse-porous species. *IAWA J* 34, 425–432. <https://doi.org/10.1163/22941932-00000034>