Građa iglica alepskog bora (Pinus halepensis Mill.) tijekom razvoja

Škoro, Marin

Undergraduate thesis / Završni rad

2016

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Department of biology / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Odjel za biologiju**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:181:602979

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

ODJEL ZA BIOLOGIJU
Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Repository / Repozitorij:

Repository of Department of biology, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek

zir.nsk.hr

dabar
DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Odjel za biologiju

Preddiplomski studij biologije

Marin Škoro

Građa iglica alepskog bora (*Pinus halepensis* Mill.) tijekom razvoja

Završni rad

Mentor: prof. dr. sc. Vera Cesar

Osijek, 2016. godina

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku Odjel za biologiju

Završni rad

Znanstveno područje: Prirodne znanosti

Znanstveno polje: Biologija

Građa iglica alepskog bora (*Pinus halepensis* Mill.) tijekom razvoja

Marin Škoro

Rad je izrađen u: Laboratoriju za staničnu i molekularnu biologiju biljaka na Odjelu za biologiju, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Mentor: prof. dr. sc. Vera Cesar

Neposredni voditelj: dr. sc. Lidija Begović

Kratak sažetak završnog rada: Alepski bor (*Pinus halepensis* Mill.) je crnogorična vrsta koja naseljava vrlo nepovoljna staništa i zbog toga je razvila različite prilagodbe koje joj omogućavaju život u takvim uvjetima. U ovome radu istraživani su omjeri površina žila, smolenica i mezofila u odnosu na ukupnu površinu prereza iglica kod prošlogodišnjih i ovogodišnjih iglica alepskog bora. Također je istraživana prisutnost škroba, celuloze i lignina u prerezima prošlogodišnjih i ovogodišnjih iglica. Udio žila i smolenica bio je veći kod prošlogodišnjih iglica, dok je udio mezofila bio veći kod ovogodišnjih iglica. Više škrobnih zrnaca je uočeno kod prošlogodišnjih iglica, dok razlike u prisutnosti lignina i celuloze nisu uočene. Ovakve varijacije u morfologiji iglica kroz vrijeme i prostor mogu se opisati kao plastičnost listova, čime se iglice prilagođavaju na varijacije u okolišnim čimbenicima.

Broj stranica: 18

Broj slika: 7

Broj tablica: 1

Broj literaturnih navoda: 24

Jezik izvornika: hrvatski

Ključne riječi: Alepski bor, poprečni prerez, površina mezofila, površina žile, površina smolenice, škrob, lignin, celuloza

Rad je pohranjen u: knjižnici Odjela za biologiju Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku i u Nacionalnoj sveučilišnoj knjižnici u Zagrebu, u elektroničkom obliku, te je objavljen na web stranici Odjela za biologiju

BASIC DOCUMENTATION CARD

Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Department of Biology

Bachelor's Thesis

Scientific Area: Natural Sciences

Scientific Field: Biology

Needle anatomy of Aleppo pine (*Pinus halepensis* Mill.) during development

Marin Škoro

Thesis performed at: Plant Molecular and Cellular Biology Laboratory, Department of Biology, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek

Supervisor: PhD Vera Cesar, full professor

Assistant in charge: PhD Lidija Begović

Short abstract: Aleppo pine (*Pinus halepensis* Mill.) is coniferous species that populates unfavorable habitats. Therefore, it developed a variety of adaptations to environmental conditions. In this work, the proportions of vascular bundles, resin ducts and mesophyll surfaces were compared to the total surface of the cross-section of previous and current year needles. The presence of starch, cellulose and lignin in the cross-section were also studied. The proportion of vascular bundles and resin ducts was higher in previous year needles, while the ratio of mesophyll was higher in current year needles. More starch grains were observed in previous year needles however, the difference in the presence of lignin and cellulose was not found. Such variations in needles morphology through time and space could be described as foliar plasticity, which allows needles to adapt to variations in environmental factors.

Number of pages: 18

Number of figures: 7

Number of tables: 1

Number of references: 24

Original in: Croatian

Key words: Aleppo pine, cross-section, mesophyll area, vascular area, resin area, starch, lignin, cellulose

Thesis deposited in Library of Department of Biology, J. J. Strossmayer University of Osijek and in National University Library in Zagreb in electronic form. It is also available on the web site of Department of Biology, J.J. Strossmayer University of Osijek.

Sadržaj

1. Uvod 1

1.1. Karakteristike vrste 1

1.2. Nalazišta alepskog bora (*Pinus halepensis* Mill.) u Hrvatskoj 1

1.3. Unutrašnja građa iglice alepskog bora (*Pinus halepensis* Mill.) 2

2. Cilj rada 4

3. Materijal i metode 5

3.1. Biljni materijal i uzorkovanje 5

3.2. Fiksiranje i uklapanje tkiva za svjetlosnu mikroskopiju 5

3.3. Bojanje i mjerenje 6

3.4. Dokazivanje škroba 6

3.5. Dokazivanje lignina i celuloze 7

4. Rezultati 8

4.1. Usporedba građe ovogodišnjih i prošlogodišnjih iglica 8

4.2. Rezultati mjerenja 8

4.3. Lokalizacija škroba 9

4.4. Lokalizacija lignina i celuloze 10

5. Diskusija 12

6. Zaključak 15

7. Literatura 16

1. Uvod

1.1. Karakteristike vrste

Alepski bor (*Pinus halepensis* Mill.) je zimzeleno stablo iz porodice borovki (*Pinaceae*). Može narasti do 20 metara visine. Deblo i grane su zakrivljene, a krošnja je nepravilna, okruglasta ili piramidalna (slika 1) . Korijenov sustav je jak i dobro razgranat. Kora debla je u mladosti glatka i srebrnastosiva, a kasnije postaje crvenkastosmeđa i ispucana. Listovi su igličasti, plavkastozelene boje, duljine 6 do 15 centimetara i skupljeni po dva (ili rjeđe po 3). Cvjetovi su jednospolni, cvatu u travnju i svibnju. Muški cvjetovi su crvenosmeđi i valjkasti, dok se ženski nalaze na drškama dugim 1 do 2 centimetra i rastu na ovogodišnjim izbojima. Češeri su viseći, jajastog oblika duljine 5 do 10 centimetara. U mladosti su zeleni, a starenjem postaju smeđi.



Slika 1. Habitus alepskog bora (*Pinus halepensis* Mill.)
(izvor:http://www.projectnoah.org/spottings/9131377)

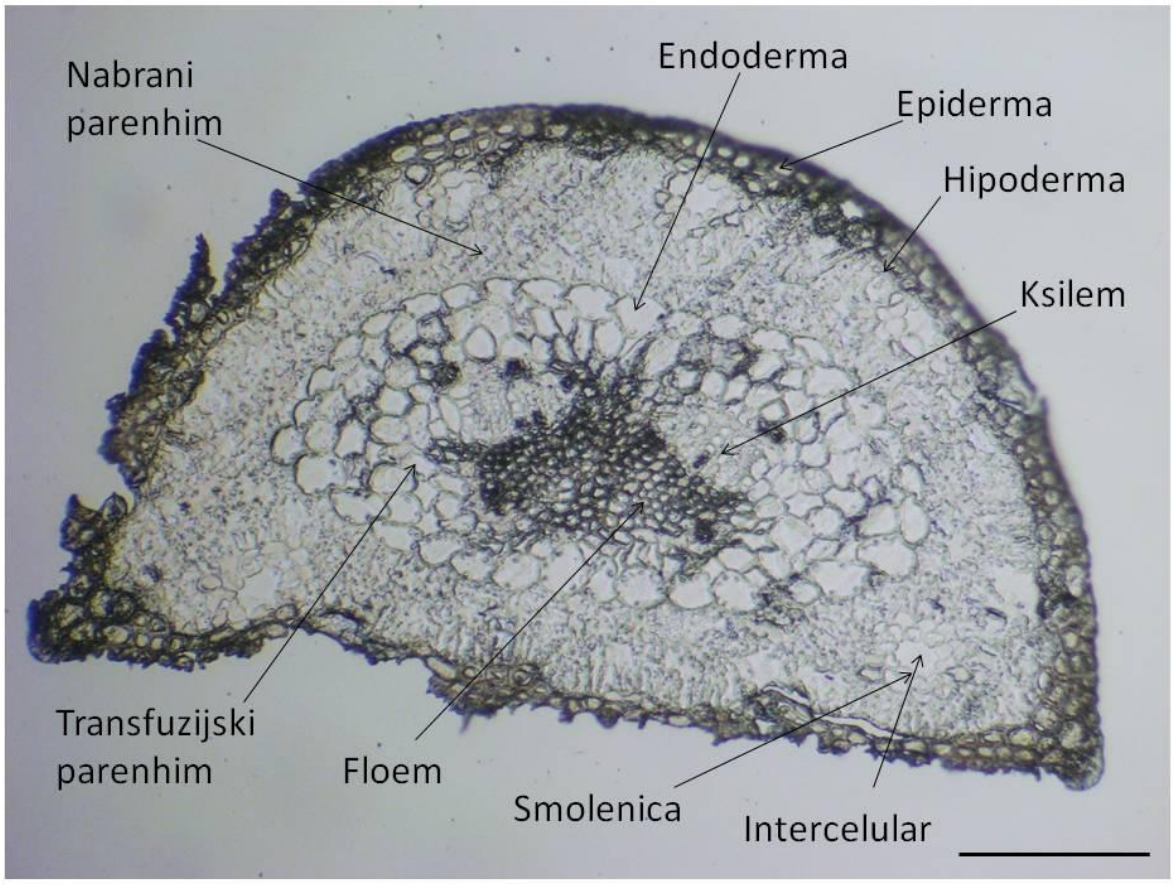
1.2. Nalazišta alepskog bora (*Pinus halepensis* Mill.) u Hrvatskoj

Alepski bor rasprostranjen je na čitavom području Mediterana. Na sredozemnim obalama Europe nalazi se u jugoistočnoj Španjolskoj, južnoj Francuskoj, Italiji, obalnom i otočnom dijelu Hrvatske i Grčke. Ukupno alepski bor pokriva oko 3 milijuna

ha površine. U obalnom području Hrvatske, prema stanju iz 1984. godine, računa se da ima oko 40000 ha površine pod alepskim borom. U Hrvatskoj dolazi na dalmatinskim otocima južnije od Krapnja, a obalom južnije od Splita. Može se reći da je samonikao u Dalmaciji gdje je unesen prije više od tisuću godina (Prgin, 2005). Uz Krapanj, autohtonih nalazišta ima na Braču, Hvaru, Korčuli, Mljetu i Pelješcu. Uspijeva dobro u semiaridnim i subhumidnim područjima s mediteranskom klimom, a na vrste tala je indiferentan. Često se uzgaja u kulturama, parkovima i nasadima uzduž cijelog priobalnog područja Hrvatske, uključujući Istru i kvarnerske otoke. Alepskim borom uspješno su izvršena pošumljavanja degradiranog krša. Najvažnija osobina alepskog bora je ta što odbacuje veliku količinu iglica koje popunjavaju škrape i površinsku skelet, i čijom se transformacijom stvara humus i šumsko tlo.

1.3. Unutrašnja građa iglice alepskog bora (*Pinus halepensis* Mill.)

Iglice nekih četinjača, kao što su npr. borovi (*Pinus* sp.) imaju poseban oblik bifacijalnog ili izolateralnog lista. Iglica alepskog bora je na prerezu polukružnog oblika, kao što možemo vidjeti na slici 2. Gornja strana lista je ravna, dok je donja konveksna. Iglicu izvana obavija jednoslojna epiderma. Karakteristika epiderme su jako lignificirane stijenke, reducirani lumen, ograđene jažice, debela kutikula i puči kseromorfnog tipa koje su uvučene u jamice ispod razine epiderme, a raspoređene su u nizovima. Ispod epiderme je smještena hipoderma građena od sklerenhimskih stanica od jednog sloja, osim na uglovima gdje je više slojeva koji daju čvrstoću listu. U sredini iglice su dvije kolateralne žile: ksilem je okrenut prema gornjoj strani, a floem prema donjoj strani lista. Žile su okružene staničjem građenim od neživih stanica s dvostruko ograđenim jažicama. Njihova uloga je primanje vode iz ksilema. Tu se nalaze i žive parenhimske stanice preko kojih asimilati dolaze do floema. Žile i transfuzijsko staničje obavijeni su jednoslojnom endodermom koja je građena od stanica s zadebljanim, lignificiranim stijenkama. Između endoderme i hipoderme smješten je mezofil. Stijenke stanica u mezofilu su nabrane prema unutra i imaju tanku celuloznu stijenku čime se uvelike povećava asimilacijska površina. Između stanica nabranog parenhima su shizogeni intercelulari, kroz koje prolaze smolni kanali. Smolni kanali se pružaju uzduž iglice, ne granaju se nego završavaju slijepo. Oko njih se nalazi žljezdani epitel, a oko njega pak stanice likovnice (Bačić, 2003, Lepedeuš i Cesar, 2010).



Slika 2. Poprečni prerez iglice alepskog bora (*Pinus halepensis* Mill.). Bar=200 μm

2. Cilj rada

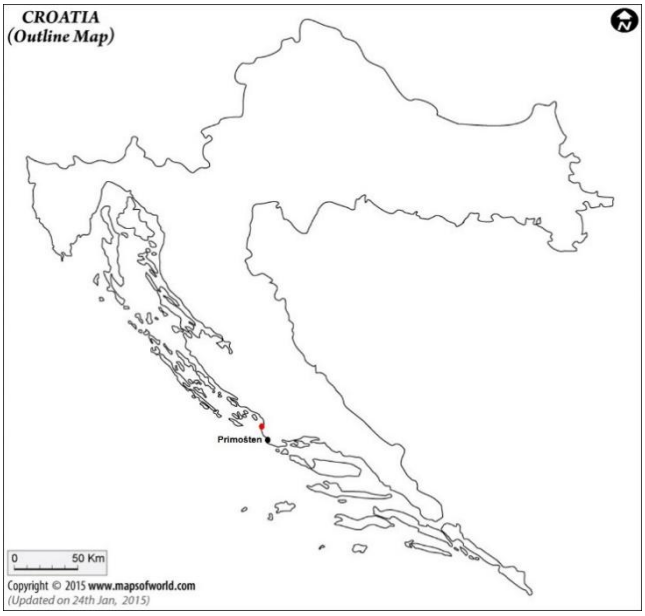
Ciljevi ovog rada su:

1. Odrediti razlike u veličini mezofila, centralnog cilindra i smolenica i utvrditi razlike u udjelima koje oni zauzimaju u odnosu na ukupnu površinu poprečnog prereza iglice kod prošlogodišnjih i ovogodišnjih iglica alepskog bora
2. Utvrditi razlike u prisutnosti škroba kod prošlogodišnjih i ovogodišnjih iglica alepskog bora
3. Utvrditi razlike u prisutnosti lignina i celuloze u stanicama prošlogodišnjih i ovogodišnjih iglica alepskog bora

3. Materijal i metode

3.1. Biljni materijal i uzorkovanje

Biljni materijal uključivao je uzorke ovogodišnjih i prošlogodišnjih iglica alepskog bora (*Pinus halepensis* Mill.). Uzorci su prikupljeni u lipnju 2015. godine na području udaljenom 25 km od Primoštena (43° 36` 23" 15° 55` 20"). Mjesto uzorkovanja označeno je na slici 3.



Slika 3. Mjesto uzorkovanja označeno je crvenom bojom na karti (izvor www.mapsoftheworld.com)

3.2. Fiksiranje i uklapanje tkiva za svjetlosnu mikroskopiju

Svaki uzorak iglice ručno je izrezan žiletom na manje dijelove (5 mm) i fiksiran u 6%-tnoj otopini glutaraldehida (Grade II, Sigma) u fosfatnom puferu koji je sadržavao natrij dihidrogen fosfat (NaH_2PO_4 x $2H_2O$) 7,64 g/L i dinatrij hidrogen fosfat (Na_2HPO_4 x $2H_2O$) 8,899 g/L pomiješanih u jednakom omjeru (v/v). Uzorci su dehidrirani u seriji alkohola prema sljedećem protokolu u tablici 1.

Tablica 1. Postupak dehidracije biljnog materijala

Alkohol	**Vrijeme**
100% 2-metoksietanol	2 x 2 sata
96 % etanol	2 x 1 sat
100 % n-propanol	2 x 1 sat
100 % n-butanol	2 x 1 sat

Nakon dehidracije uzorci su uklopljeni u termoplastičnu smolu (Leica Historesin Embedding Kit) prema uputama proizvođača. Nakon uklapanja, tkivo je izvađeno iz kapsulica otapanjem u vodi, zalijepljeno na drvene blokiće (2x2 cm) koristeći super ljepilo i ostavljeno na sušenju preko noći. Svi uzorci su izrezani staklenim nožem na debljinu od 3 μm koristeći rotacioni mikrotoma Leica RM2155.

3.3. Bojanje i mjerenje

Uzorci iglica obojeni su 0,05% otopinom toluidin plavo u benzoatnom puferu (10 mM benzoatna kiselina, 10 mM natrijev benzoat, pH= 4,4) u trajanju od 5 minuta i isprani tekućom vodom do odbojenja pozadine, te potom isprani u destiliranoj vodi. Za mjerenje dimenzija ukupne površine prereza, površine žila i površine smolenica te opsega prereza, opsega žila i opsega smolenica korištena je digitalna mikroskopska kamera Moticam 350 pri povećanju od 100 puta i program Motic Images Plus 2.0ML.
Za mjerenje postotka mezofila u prerezu iglice bilo je potrebno izračunati površinu mezofila. Površina mezofila je dobivena oduzimanjem površina žila i smolenica od površina prereza.

3.4. Dokazivanje škroba

Za potrebe dokazivanja škrobnih zrnaca u stanicama prereza korištena je Lugolova otopina. Lugolova otopina je otopina joda u kalijevom jodidu (I_2-KI). U prisutnosti

škroba ona mijenja boju iz žučkaste u tamnoplavu. Lančasta molekula škroba je uvinuta u spiralu. Karakteristično obojenje s I_2-KI posljedica je ulaganja molekularnog joda u spiralu, što uzrokuje snažnu apsorpciju dugovalnog zračenja pa se pojavljuje plavoljubičasto obojenje kompleksa škroba s jodom. Za fotografiranje prereza korišten je digitalni fotoaparat Olympus μ1040.

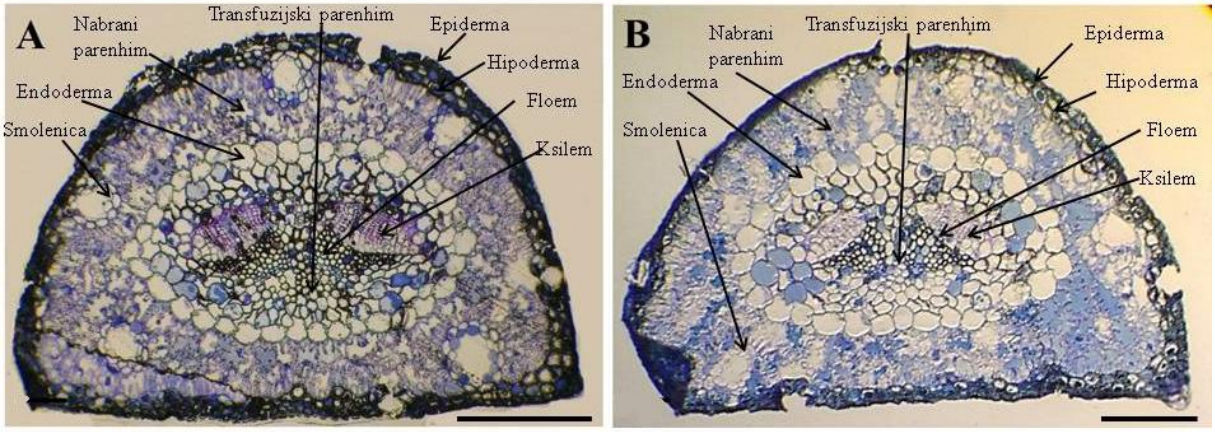
3.5. Dokazivanje lignina i celuloze

Iglice bora, prethodno fiksirane u 6% glutaraldehidu, uklopljene su u srčiku bazge te su napravljeni ručni prerezi žiletom. Prerezi su bojani 1 minutu u otopini 1% safranina u 50% etanolu, isprani destiliranom vodom i zatim bojani 1 minutu u 1% otopini alcian plavo 8GS s dodatkom 0,05% octene kiselini i 0,04% formaldehida (Marjamaa i sur., 2003). Nakon ponovnog ispiranja destiliranom vodom, prerezi su stavljeni u kapljicu vode na predmetnicu te su zatim promatrani pod mikroskopom i fotografirani.

4. Rezultati

4.1. Usporedba građe ovogodišnjih i prošlogodišnjih iglica

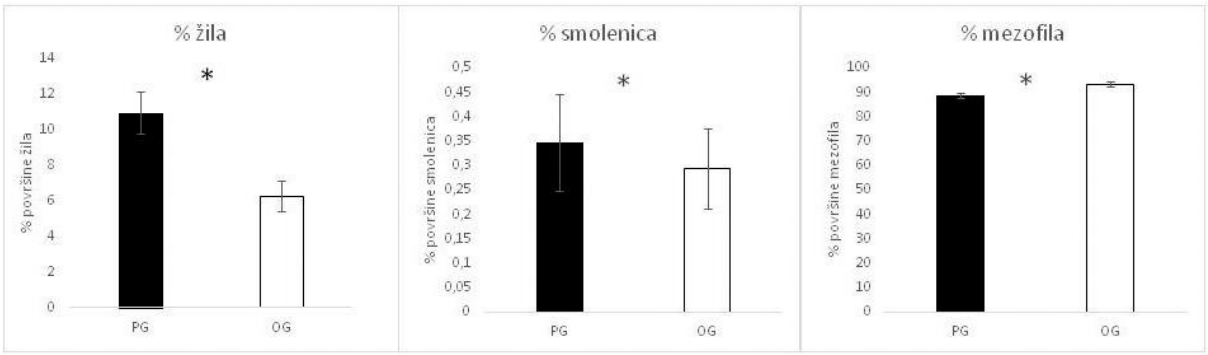
Vidljive su razlike u veličini samih prereza iglica bora. Prosječna površina prošlogodišnjih iglica bila je za oko 1,3 puta veća u odnosu na ovogodišnje iglice. Površina smolenica kod prošlogodišnjih iglica veća je za 1,6 puta od smolenica ovogodišnjih iglica. Također, na poprečnom prerezu može se uočiti da su elementi floema i ksilema veći kod prošlogodišnjih iglica (slika 4). Sloj transfuzijskog parenhima veći je kod prošlogodišnjih iglica (slika 4A), dok sloj nabranog parenhima zauzima veću površinu na poprečnom prerezu kod ovogodišnjih iglica (slika 4B).



Slika 4. Poprečni prerez prošlogodišnje (A) i ovogodišnje (B) iglice alepskog bora obojane toluidin plavim. Bar=200 μm

4.2. Rezultati mjerenja

Statistički značajne razlike između prošlogodišnjih i ovogodišnjih iglica su uočene kod rezultata mjerenja površine žila, smolenica i mezofila u odnosu na ukupnu površinu prereza iglice (slika 5). Postotni udio žila u kod prošlogodišnjih iglica iznosio je oko 11%, a kod ovogodišnjih iglica žile zauzimaju oko 6% ukupne površine (slika 5).

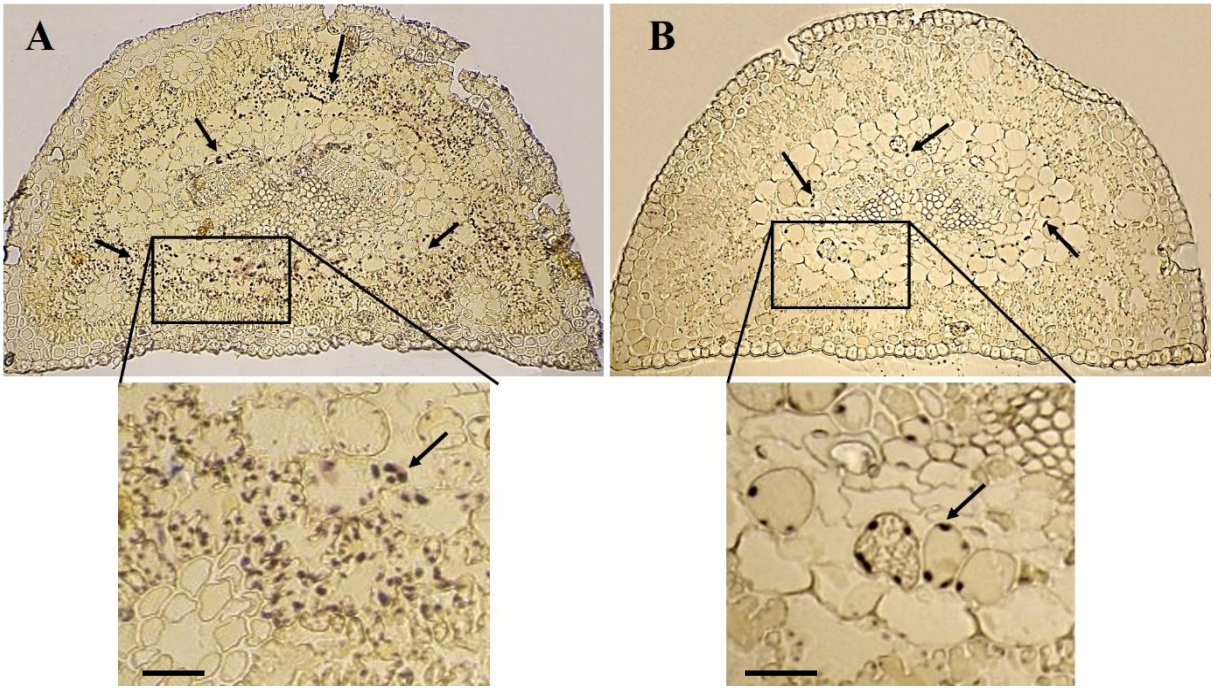


Slika 5. Grafički prikaz rezultata mjerenja postotnog udjela žila, smolenica i mezofila u prerezu kod prošlogodišnjih (PG) i ovogodišnjih (OG) iglica. Stupci predstavljaju srednju vrijednost ± standardna devijacija (SD). Zvjezdica označava postojanje statistički značajne razlike $p \leq 0,05$.

Smolenice kod prošlogodišnjih iglica zauzimaju oko 0,35% ukupne površine, dok je udio mezofila u ukupnoj površini kod prošlogodišnjih iglica približno 89%. Postotni udio smolenica kod ovogodišnji iglica iznosi oko 0,3% ukupne površine, a udio mezofila u ukupnoj površini ovogodišnjih iglica iznosi nešto više od 93% (slika 5).

4.3. Lokalizacija škroba

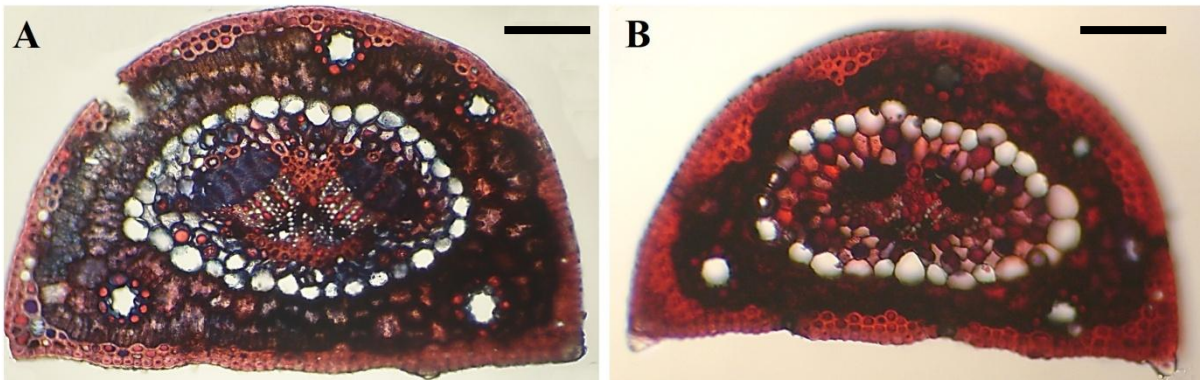
Više škrobnih zrnaca možemo uočiti u prošlogodišnjim iglicama (slika 6A). Najveća gustoća škrobnih zrnaca u prošlogodišnjim iglicama je u području nabranog parenhima i transfuzijskog parenhima uz provodne elemente ksilema i floema (slika 6A, insert). U ovogodišnjim iglicama (slika 6B) možemo također uočiti škrobna zrnca, ali u manjem broju u odnosu na prošlogodišnje iglice. Škrobna zrnaca u ovogodišnjim iglicama većinom su lokalizirana u transfuzijskom parenhimu (slika 6B, umetnuto).



Slika 6. Lokalizacija škroba u (A) prošlogodišnjim i (B) ovogodišnjim iglicama alepskog bora. Strelice označavanju škrobna zrnca nakon reakcije s Lugolovom otopinom. Bar=15 μm

4.4. Lokalizacija lignina i celuloze

Lokalizaciju i prisutnost lignina i celuloze u prošlogodišnjim i ovogodišnjim iglicama alepskog bora dokazali smo bojanjem safraninom i alcian plavim. Lignin (crveno) se uočava u epidermi, hipodermi, ksilemu te smolenicama u oba tipa iglica (slika 7). Celuloza (plavo) uočava se većinom u floemu i smolenicama te u nabranom parenhimu kod oba tipa iglica. Prema obojenosti stanica, celuloza je podjednako zastupljena u ovogodišnjim i prošlogodišnjim iglicama.



Slika 7. Lokalizacija lignina i celuloze u ovogodišnjim (A) i prošlogodišnjim (B) iglicama alepskog bora. Lignin (crveno) nalazi se u stanicama epiderme, hipoderme, stanicama likovnicama koje su u sastavu smolenica, stanicama ksilema i stanicama transfuzijskog parenhima. Celuloza (plavo) nalazi se u stanicama nabranog parenhima, stanicama floema i žljezdanim stanicama smolenica. Bar=200 μm

5. Diskusija

Alepski bor (*Pinus halepensis* Mill.) je crnogorična vrsta, što znači da ne odbacuje svoje iglice svake godine nego ih zadržava tijekom duljeg razdoblja. Tijekom starenja mijenja se veličina stanica u iglicama kao i sastav i količina različitih tvari u iglicama. U ovom radu usporedili smo anatomske karakteristike prošlogodišnjih i ovogodišnjih iglica alepskog bora kao i razlike u lokalizaciji i prisutnosti škroba, lignina i celuloze.

Uspoređujući prereze prošlogodišnjih i ovogodišnjih iglica vidljive su anatomske razlike između iglica (slika 4). Prošlogodišnje iglice imale su veću srednju vrijednost površine samog prereza od ovogodišnjih iglica. Smolenice prošlogodišnjih iglica su veće od smolenica ovogodišnjih iglica, kao i elementi floema i ksilema. Sloj transfuzijskog parenhima je veći kod prošlogodišnjih iglica, a sloj nabranog parenhima je pak veći kod ovogodišnjih iglica. U radu smo također usporedili razlike u površini koje zauzimaju žile, smolenice i mezofil u odnosu na ukupnu površinu samog prereza ovogodišnjih i prošlogodišnjih iglica. Rezultati su pokazali da je najveća razlika između prošlogodišnjih i ovogodišnjih iglica u postotnom udjelu žila koji je kod prošlogodišnjih iglica gotovo dva puta veći od postotnog udjela žila kod ovogodišnjih iglica (slika 5). Veličina traheida i njihova distribucija su važni parametri koji su pod utjecajem intenziteta osvijetljenosti. Iglice koje su više na suncu imaju više i veće traheide od iglica koje su u sjeni (Protz i sur., 2000). Veće i brojnije traheide su povezane s većom provodljivosti vode, jer se vodna provodljivost povećava s povećanjem promjera kanala traheida (Tyree i Zimmermann, 2002). Također, postotni udio smolenica u prošlogodišnjim iglicama je veći od udjela smolenica u ovogodišnjim iglicama (slika 5) i iznosi oko 0,05%.

Nasuprot tomu, udjel mezofila u prošlogodišnjih iglica je manji (oko 4%) od udjela mezofila u ovogodišnjim iglicama (slike 4 i 5). Iglice golosjemenjača imaju posebnu anatomsku strukturu koju karakterizira velik udio centralnog cilindra kojeg čine vaskularno tkivo i pripadajuće mehaničko tkivo te epidermalnog i hipodermalnog sloja. Ovisno o svjetlosnom utjecaju na udjele centralnog cilindra i mehaničke stanice, udio mezofila se mijenja različito kod različitih vrsta golosjemenjača (Niinemets, 2007). Kod mnogih vrsta dolazi do smanjenja udjela epiderme i povećanja debljine iglice, što rezultira većim udjelom mezofila i fotosintetskim kapacitetom (Niinemets, 1999). Fotosintetski kapacitet iglica također raste zajedno s rastom omjera površine iglica prema volumenu (Roderick i sur., 1999). Tu su važne biomehaničke karakteristike

iglica. Tvrđe iglice, osim veće otpornosti na mehaničke stresove, imaju veću učinkovitost skupljanja svjetla. Nasuprot tomu, fleksibilnije iglice bi trebale imati manji udio mehaničkog tkiva i prema tome veći udio fotosintetskog mezofila. Slično su pokazali i rezultati ovog istraživanja (slike 4 i 5). Takvi specifični obrasci ulaganja u mezofil naspram strukturalnog tkiva mogu značajno promijeniti fotosintetski aklimatizacijski kapacitet (Niinemets, 2007). Smanjenje fotosintetskog područja možda doprinosi smanjenju stope rasta u starijih drveća (Apple i sur., 2002). Također, povećanje lisne gustoće dovodi do smanjenja asimilativnih struktura u listovima i opsežnih promjena u anatomiji listova (Niinemets, 1999). Razina fotosinteze lišća i sadržaj dušika po jedinici površine rastu zajedno s povećanjem debljine lišća i suhom tvari lišća po jednici površine (*leaf dry mass per unit area* – LMA), ali to također pokazuje da se ti odnosi kritično mijenjaju zbog varijabilnosti gustoće listova, budući da gustoća i debljina listova nisu međuovisni te obje imaju bitnu ulogu u određivanju LMA-a u drvenastih vrsta. Povećanje debljine i gustoće rezultira većim LMA-om i akumulacijom fotosintetskih spojeva po jedinici površine, ali su fotosintetski spojevi manje učinkovito korišteni u listovima s većom gustoćom, vjerojatno zbog veće difuzne rezistencije u tim listovima (Niinemets, 1999.)

Škrob je glavni skladišni ugljikohidrat kod viših biljaka s mnogim važnim funkcijama. U fotosintetizirajućim iglicama škrob se akumulira tijekom dana te se remobilizira noću za potrebe respiracije (Geigenberger, 2011). Starije iglice dulje vremena provode procese fotosinteze pa se više škroba, odnosno konačnog produkta fotosinteze akumulira u stanicama iglica u obliku škrobnih zrnaca što je u suglasnosti s rezultatima ovog istraživanja. Najviše škrobnih zrnaca, u ovogodišnjim i prošlogodišnjim iglicama alepskog bora, uočeno je uz stanice u kojima nastaje većina samog škroba, a to su stanice nabranog parenhima (slika 6). Smanjenje asimilacije fotosintetskog ugljika zatvaranjem puči tijekom sušnih uvjeta (Reddy i sur., 2004) utječe na metabolički balans u biljkama. Topivi šećeri su metaboliti na koje najviše utječe suša, oni se povećavaju zbog hidrolize škroba ili zbog smanjenja proizvodnje škroba (Chaves i Olivera, 2004). Kao posljedica zatvaranja puči može doći do potpune inhibicije asimilacije ugljika, čime se povećava rizik od oksidativnog stresa (Alexou, 2013). Pokazano je da alepski bor minimalizira oksidativni stres smanjujući razinu pigmenata u iglicama (Alonso i sur., 2001).

Također s vremenom stanične stijenke stanica iglica postaju sve deblje zato što se u njih ulažu različiti sekundarni metaboliti. Jedan od njih je lignin, heterogeni aromatski biopolimer, koji je nepropusan za vodu, daje čvrstoću samoj iglici te služi kao mehanička barijera patogenim organizmima. Glavna faza lignifikacije počinje nakon izbijanja pupova (Polle i sur., 1994, 1997). Sadržaj lignina u lignificiranim staničnim stijenkama golosjemenjača iznosi 25-30% suhe tvari (Miidla, 1989), što povećava otpornost staničnih stijenki prema deformacijama (Boudet i sur., 1995). Vrlo lignificirana tkiva mogu smanjiti fotosintetsku učinkovitost iglica, ali zauzvrat mogu pružiti veću strukturalnu cjelovitost i povećati dugovječnost iglica (Apple i sur., 2002). Lokalizacija lignina u prerezima ovogodišnjih i prošlogodišnjih iglica u našem radu pokazuje veću zastupljenost lignina u sloju epiderme i hipoderme i kod prošlogodišnjih i kod ovogodišnjih iglica alepskog bora (slika 7), dok je celuloza lokalizirana u floemu i parenhimu. U istraživanju Soukupová i sur. (2000) nisu uočene razlike u zastupljenosti lignina i celuloze kod iglica različitih starosti. Autori objašnjavaju da je slična zastupljenost lignina u iglicama različite starosti posljedica potpune lignifikacije jednogodišnjih iglica u vrijeme njihova sakupljanja (kraj kolovoza) (Soukupová i sur., 2000). Potpuna lignifikacija i sazrijevanje ovogodišnjih iglica krajem kolovoza zabilježeno je i kod Polle i sur. (1994). Starenjem iglica bora povećava se i kutikula. To je sloj na samoj površini iglica, iznad epidermalnih stanica, koji ima ulogu u zadržavanju vode i zaštiti od bakterija i gljivica. Njena debljina, osim starosti iglice, ovisi i o različitim ekološkim čimbenicima (Taiz i Zeigler, 2002).

Ovakve varijacije u morfologiji i fiziološkim funkcijama listova kroz prostor i vrijeme u jednoj jedinki definiraju se kao plastičnost listova. Plastičnost listova je široko rasprostranjena među vaskularnim biljkama te ona pruža adaptivne strategije za suočavanje s varijacijama okolišnih čimbenika. Listovi na suncu i u sjeni su najbolji primjer plastičnosti listova. Listovi koji su izloženi suncu imaju višu maksimalnu razinu fotosinteze (A_{max}), održavanje razine respiracije i sadržaj dušika na određenim područjima od listova koji su u sjeni (Givnish, 1988). U teoriji su ova svojstva povezana s povećavanjem prihoda ugljika tijekom fotosinteze u uvjetima jake osvijetljenosti (Greenwood, 2009). Istraživanja na sadnicama četinjača daju kontradiktorne podatke o fotosintetskim svojstvima listova na suncu i u sjeni. Neka kažu da je fotosintetski kapacitet veći kod listova u sjeni, neka da je veći kod listova izloženih suncu a neka da nema razlike.

6. Zaključak

Alepski bor je vrsta koja raste na vrlo suhim područjima te prema tome ima različite prilagodbe na vrlo visoko sunčevo zračenje, nedostatak vode i tlo siromašno nutrijentima. Plastičnost listova omogućava prilagodbu na promjene u okolišnim uvjetima putem promjena u morfologiji listova i fiziološkim procesima koji se unutar njih odvijaju. Iglice alepskog bora pokazuju razlike kako u anatomiji tako i u prisutnosti spojeva kao što su škrob i lignin.

Iz dobivenih rezultata možemo izvesti sljedeće zaključke:

1. Postotni udio žila i smolenica veći je kod prošlogodišnji iglica, dok je postotni udio mezofila veći kod ovogodišnjih iglica.
2. Više škroba nalazi se u stanicama prošlogodišnjih iglica nego u stanicama ovogodišnjih iglica.
3. Lignin je lokaliziran u sloju epiderme i hipoderme kod oba tipa iglica, dok je celuloza podjednako zastupljena u floemu i parenhimu.

7. Literatura

Alexou M. 2013. Development-specific responses to drought stres sin Aleppo pine (*Pinus halepensis* Mill.) seedlings. *Tree Physiol* 33:1030-1042.

Alonso R, Elvira S, Castillo FS, Gimeno BS. 2001. Interactive effects of ozone and drought stress on pigments and activities of antioxidative enzymes in Pinus halepensis. *Plant Cell Environ* 24:905-916.

Apple M, Tiehotter K, Snow M, Young J, Soeldner A, Phillips D, Tingey D, Bond BJ. 2002. Needle anatomy changes with increasing tree age in Douglas-fir. *Tree Physiol* 22:129-136.

Bačić T 2003. *Morfologija i anatomija bilja*. Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Pedagoški fakultet, Osijek, 262-263 pp.

Boudet AM, Lapierre C, Grima-Pettenati J. 1995. Bio-chemistry and molecular biology of lignification. *New Phytol* 129:203-236.

Chaves MM, Oliveira MM. 2004. Mechanisms underlying plant resilience to water deficits: prospects for water-saving agriculture. *J Exp Bot* 55:2365-2384.

Geigenberger P. 2011. Regulation of Starch Biosynthesis in response to a fluctuating environment. *Plant Physiol* 155:1566-1577.

Givnish T. 1988. Adaptation to sun and shade: A whole plant perspective. *Australian journal of plant physiology* 15:63-92.

Greenwood MS, Day ME, Berlyn GP. 2009. Regulation of foliar plasticity in Confers: developmental and environmental factors. *Journal of sustainable forestry* 28:48-62.

Lepeduš H, Cesar V. 2010. Osnove biljne histologije i anatomije vegetativnih organa. Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera, Odjel za biologiju, Osijek, 103 pp.

Miidla H. 1989. The formation of lignin in wheat plants and its connection with mineral nutrition. *Plant Physiol* 845:11-23.

Marjamaa K, Lehtonen M, Lundell T, Toikka M, Saranpää P, Fagerstedt KV. 2003. Developmental lignification and seasonal variation in β-glucosidase and peroxidase

activities in xylem of Scots pine, Norway spruce and silver birch. *Tree physiol* 23:977-986.

Niinemets Ü. 1999. Research review: Components of leaf dry mass per are – thickness and density – alter leaf photosynthetic capacity in reverse directions in woody plants. *New Phytol* 144:35-47.

Niinemets Ü, Lukjanova A, Turnbull MH, Sparrow AD. 2007. Plasticity in mesophyll volume fraction modulates light-acclimation in needle photosynthesis in two pines. *Tree Physiol* 27:1137-1151.

Polle A, Otter T, Seifert F. 1994. Apoplastic peroxidases andlignification in needles of Norway spruce (*Picea abies* L.). *Plant Physiol* 106:53-60.

Polle A, Otter T, Sandermann J. 1997. Biochemistry and physiology of lignin synthesis. In *Trees-Contributions to Modern Tree Physiology*. Backhuys Publishers, Leiden, 455-475 pp.

Prgin D. 2005. Alepski bor *(Pinus halepensis* Mill.) prvorazredna vrsta za podizanje šuma na mediteranskom kršu. *Šumarski list* br. 1-2, 71-80.

Protz CG, Silins U, Lieffers VJ. 2000. Reduction in branch sapwood hydraulic permeability as a factor limiting survival of lower branches of lodgepole pine. *Can J For Res* 30:1088-1095.

Roderick ML, Berry SL, Saunders AR, Noble IR. 1999. On the relationship between the composition, morphology and function on leaves. *Funct Ecol* 13:696-710.

Reddy AR, Chaitanya KV, Munusamy Vivekanandan M. 2004. Drought-induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. *Plant Physiol* 161:1189-1202.

Soukupová J, Cvikrová M, Albrechtová J, Rock BN, Eder J. 2000. Histochemical and biochemical appeoaches to the study of phenolic compounds and peroxidases in needles of Norway spruce (*Picea abies* L.). *New Phytol* 146:403-414.

Taiz L, Zeiger E. 2002. *Plant Physiology* 3rd ed, Sinauer Associates, Sunderland, 690 pp.

Tyree MT, Zimmermann MH. 2002. Xylem structure and the ascent of sap. 2nd edn. Springer, Berlin, 283 pp.