

ANNA BIENIASZ, MIRELA TULIK

Strefa twardzieli w drewnie i proces jej powstawania

Heartwood zone and its formation process

ABSTRACT

Bieniasz A., Tulik M. 2020. Strefa twardzieli w drewnie i proces jej powstawania. Sylwan 164 (6): 474-481. DOI: <https://doi.org/10.26202/sylvan.2020065>.

This paper reviews the literature on heartwood and its formation process. The factors involved in the process of heartwood formation are described, with particular attention paid to molecular, intercellular, organismal and environmental ones. The spatial distribution of heartwood along longitudinal and radial axes of the stem as well as biochemical changes in the heartwood and durability of this zone are also presented. Based on the literature data, it turns out that the heartwood formation is neither clearly studied, nor fully understood. It seems that this part of wood can not only play a significant role from the point of view of tree biomechanics, but also is of great importance in their immune responses. In the era of observed dying processes of forest-forming trees, knowledge about the role of heartwood in these responses seems desirable.

KEY WORDS

parenchyma cells, programmed cell death, sapwood, tyloses, aspiration, extracts, heartwood formation

ADDRESSES

Anna Bieniasz – e-mail: anna.bieniasz@wl.sggw.pl

Mirela Tulik – e-mail: mirela.tulik@wl.sggw.pl

Samodzielny Zakład Botaniki Leśnej, SGGW w Warszawie; ul. Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa

Wstęp

Drewno jest najbogatszą biomasą wytwarzaną przez rośliny i w największym stopniu „pochłaniającą” CO₂ z atmosfery. U roślin drzewiastych stanowi główną część pnia, składającą się zwykle z części bielastej i twardzielowej. Pełni funkcję przewodzącą i wzmacniającą. Drewno charakteryzuje się budową niejednorodną i anizotropową, a jego formowanie, będące przykładem programowanej śmierci komórki (ang. programmed cell death – PCD), rozpoczyna się wraz z podziałem komórek inicjalnych kambium waskularnego. Następnie ma miejsce wzrost pochodnych kambialnych, tj. macierzystych komórek drewna, które w kolejnej fazie rozwojowej tworzą wtórną ścianę komórkową, czemu towarzyszy lignifikacja ścian, a następnie autoliza protoplastu. Finalnie zachodzi formowanie twardzieli (twardzielowanie, proces twardzielowania), uznawane za wtórny proces różnicowania się drewna [Kampe, Magel 2013; Zheng-Hua, Zhong 2015].

Według definicji IAWA twardziel jest wewnętrzną warstwą drewna, która w rosnącym drzewie nie zawiera już żywych komórek i jest pozbawiona materiału zapasowego (np. skrobi) bądź został on zamieniony na substancje (ekstrakty) twardzielowe [Multilingual... 1964]. Jest to strefa drewna, która wśród przedstawicieli flory rodzimej występuje u sosny, modrzewia, cisa, dębu, jesionu, wiązu i wierzy (z zabarwioną twardziela) oraz świerka i jodły (z niezabarwioną twardziela)

[Kokociński 2005]. Objętość twardzieli jest kumulatywna, w przeciwieństwie do bielu, którego objętość jest sumą nowych przyrostów rocznych, pomniejszoną o straty części bielu włączonej do twardzieli. Dlatego też udział twardzieli zwiększa się wraz z wiekiem [Sellin 1996; Taylor i in. 2002]. Twardziel intryguje swoją barwą (niezwykle charakterystyczną dla drewna tropikalnego), różniącą się od bielu u większości gatunków, dodatkowo chemizmem ścian komórkowych, nierównomiernym rozmieszczeniem w pniu, nieregularnością występowania, a także skomplikowanym i niewystarczająco poznany procesem tworzenia oraz jego regulacji, zwłaszcza na poziomie molekularnym.

Celem pracy jest przedstawienie na podstawie literatury stanu wiedzy na temat twardzieli i procesu jej powstawania.

Główne funkcje komórek mięksiszowych drewna

Przyjmuje się, że obumieranie komórek mięksiszowych jest wynikiem, a nie przyczyną formowania twardzieli [Bamber 1976]. Komórki te, zarówno jako żywe, jak i martwe, pełnią różne role, gwarantujące funkcjonowanie złożonych organizmów, jakimi są drzewa. W największym stopniu przypominają one niezróżnicowane komórki powstałe w wyniku podziału komórek merystematycznych [Morris 2016]. Biologiczny sens obecności żywych komórek mięksiszowych w drewnie roślin drzewiastych polega na tym, że jako jedyne żyjące komórki w bielu umożliwiają one kontakt symplasty (połączonych ze sobą protoplastów, tj. żywej części komórek) z apoplastem (zespółem ścian komórkowych), tworząc wysoce zorganizowaną, trójwymiarową sieć zapewniającą żywe kontinuum pomiędzy włóknami a komórkami przewodzącymi wodę. Komórki te odpowiadają też za magazynowanie substancji zapasowych, transport i sekrecję związaną z twardzielowaniem [Hillis 1987; Magel 2000; Nakaba i in. 2012; Tulik, Mysłow 2015]. W środkowej i wewnętrznej strefie bielu lipidy i węglowodany występujące w komórkach mięksiszowych dostarczają węgiel do syntezy ekstraktów twardzielowych, głównie substancji fenolowych [Hillis 1987; Magel i in. 1994; Kampe, Magel 2013]. Ponadto komórki mięksiszowe mają zdolność odróżnicowania się, przez co mogą uczestniczyć w reakcjach obronnych drzewa [Morris 2016].

Czynniki warunkujące proces twardzielowania działające na poziomie molekularnym, komórkowym i organizmalnym

Formowanie twardzieli związane jest ze śmiercią komórek mięksiszowych drewna, które w tzw. strefie przejściowej (ang. transition zone, intermediate wood), jeszcze jako żywe, przeprowadzają szereg reakcji metabolicznych, w wyniku których powstają wtórne metabolity, takie jak skondensowane taniny, terpeny, flawonoidy czy stilbeny [Yang i in. 2004]. Wydaje się, że strefa przejściowa odgrywa kluczową rolę w procesie transformacji bielu w twardziel [Nobuchi i in. 1984; Magel 2000]. Obserwuje się tam wzmożoną aktywność enzymów uczestniczących w reakcjach powstawania metabolitów wtórnych, co wskazuje na genetyczne mechanizmy regulujące proces powstawania twardzieli [Beritognolo i in. 2002]. Potwierdzony został udział co najmniej dwóch grup genów uczestniczących w kontroli syntezy flawonoidów. Pierwsza grupa obejmuje geny kodujące enzymy katalizujące reakcje biochemiczne, natomiast druga – geny kodujące białka regulujące ekspresję genów strukturalnych [Koes i in. 1994].

Początkowo sugerowano, że twardziel tworzy się w odpowiedzi na odkładanie się toksycznych produktów ubocznych metabolizmu [Stewart 1966]. Uznano, że toksyny mogą powodować śmierć komórek mięksiszowych. Przypuszczano także, że wysoka koncentracja CO₂ w drewnie sprzyja tworzeniu substancji twardzielowych [Carrodus 1971]. Jednak formowanie *in situ* nowych związków chemicznych na granicy bielu i twardzieli, obserwowanie różnych wzorów twardzieli,

jak i jej niska toksyczność u niektórych gatunków sugeruje, że twardziel nie magazynuje odpadowych produktów metabolizmu [Bamber, Fukazawa 1985]. Podważono też teorię, według której niska zawartość tlenu prowadziłaby do zaburzeń procesu oddychania komórek miękiszowych na granicy bielu i twardzieli, czego następstwem byłaby śmierć komórek miękiszowych [Spicer, Holbrook 2007]. Bamber [1976] zasugerował, że dośrodkowe (tj. w kierunku rdzenia) przemieszczanie się substancji indukujących twardzielowanie stymuluje ten proces. Sugerowano także, że na produkcję ekstraktów twardzielowych ma wpływ etylen – fitohormon, który może być produkowany przez każdą tkankę roślinną w małych ilościach i który odpowiada za dojrzewanie owoców czy starzenie liści i kwiatów [Hillis 1987; Taylor i in. 2002]. Większą produkcję etylenu w strefie przejściowej, tj. między białem a twardzielią, zaobserwowano w okresie spoczynku zimowego u wielu gatunków, ale zależność między produkcją etylenu a ilością i jakością ekstraktów twardzielowych nie jest znana.

Różnicowanie komórek miękiszowych obejmuje te same fazy rozwojowe, które wyróżnia się w schemacie różnicowania cewek czy naczyń [Tulik, Myśków 2015]. Cewki, naczynia i włókna są najkrócej żyjącymi elementami drewna – czas ich różnicowania wynosi od kilkunastu dni do około dwóch miesięcy [Bollhöner i in. 2012]. Z kolei długość życia komórek miękiszowych jest liczona w latach – komórki te mogą żyć od 2 do 200 lat, przy czym czas ten zależy od gatunku i kształtowany jest przez warunki środowiskowe [Spicer, Holbrook 2007]. Dla scenariusza życia i śmierci komórek miękiszowych kluczowa jest tzw. informacja pozycyjna i kontakt z krótko żyjącymi elementami przewodzącymi drewna (cewkami, członami naczyniowymi) [Nakaba i in. 2006]. W promieniu drzewnym wyróżnia się zwykle komórki kontaktowe, które mają kontakt z elementem przewodzącym i zlokalizowane są na krawędziach promienia, w przeciwieństwie do komórek izolowanych – bez kontaktu z elementem przewodzącym, występujące wewnątrz. Wykazano, że komórki kontaktowe żyją krócej od komórek izolowanych [Nakaba i in. 2006, 2012]. Ponadto proces odkładania ich wtórnej ściany komórkowej, jak i jej lignifikacja zachodzą odmiennie w porównaniu do komórek izolowanych [Nobuchi i in. 1984; Murakami i in. 1999; Nakaba i in. 2006]. W oparciu o wyniki badań drewna topoli (*Populus maximowiczii* Henry) stwierdzono, że ściany wtórne komórek kontaktowych są formowane niemal w tym samym czasie co u przylegających naczyń, a lignifikacja ścian obu typów komórek zachodzi wcześniej niż u komórek izolowanych i włókien drzewnych [Murakami i in. 1999]. Wcześniejsza śmierć komórek miękiszu na krawędziach promienia mogłaby wskazywać na brak ich udziału w syntezie ekstraktów twardzieli [Nobuchi i in. 1984]. Tymczasem uważa się, że przesunięte w czasie tworzenie wtórnych ścian komórkowych oraz ich lignifikacja sprzyjają transportowi substancji wzdłuż promienia. Komórki miękiszowe drewna zwykle mają wtórną ścianę komórkową, chociaż badacze zwracają uwagę na fakt, że nie ma ona kompletnej struktury laminarnej, jaka występuje w ścianach elementów przewodzących i włókien, dlatego bywa też nazywana zgrubioną pierwotną ścianą komórkową [Panshin, de Zeeuw 1980; Morris 2016].

Blokada naczyń przez wcistki i gumy jest zjawiskiem, które pojawia się wraz z wiekiem, i uznawane jest za towarzyszące procesowi twardzielowania [Micco i in. 2016]. W bielu pojawienie się tych struktur jest także reakcją na zapowietrzenie naczyń. Wcistki często występują w naczyniach drewna wielu rodzajów okrytozalążkowych, u których występuje liczny miękisz przynacyniowy, takich jak topole, orzechy, dęby, robinie, morwy, sumaki i surmie, a u wielu rodzajów nie występują w ogóle [Pallardy 2008]. Takie wypełnienie światła naczyń ogranicza rozprzestrzenianie się patogenów. Wcistki występują głównie w naczyniach, jednak bywają obecne w cewkach drzew iglastych i liściastych, a także we włóknach u liściastych [Gottwald 1972; Peters 1974; Micco i in. 2016].

U iglastych podczas procesu twardzielowania obserwuje się natomiast zamknięcie wlotu do jamki (tzw. aspirację, ang. aspiration). Zjawisko to zachodzi, gdy torus przemieszcza się na jedną stronę ściany komórkowej, blokując przy tym przepływ wody [Panshin, de Zeeuw 1980]. Przyjmuje się, że jest to spowodowane różnicą wilgotności bezwzględnej drewna – w twardzieli wilgotność jest znacznie mniejsza niż w bielu [Fujii i in. 1997]. W twardzieli jamki mogą też być inkrustowane ekstraktami, co może utrudnić rozprzestrzenianie się patogenów odpowiadających za rozkład drewna [Krahmer, Côté 1963; Panshin, de Zeeuw 1980; Taylor i in. 2002].

Niektórzy badacze twierdzą, że twardzielowanie jest procesem regulującym odpowiednią ilość bielu, w celu zachowania strukturalnego i mechanicznego wsparcia, transportu wody, gromadzenia materiałów zapasowych i odpowiedniego zmniejszenia zapotrzebowania energetycznego na utrzymanie żywych komórek miękiszowych w strefie bielu [Bamber 1976; Berthier i in. 2001; Taylor i in. 2002; Spicer 2005].

Od momentu rozpoczęcia twardzielowania proces ten jest kontynuowany przez całe późniejsze życie drzewa. U modrzewi twardziel pojawia się w wieku około 15 lat [Pâques 2001], a u niektórych gatunków eukaliptusów już w wieku 2-6 lat [Dadswell, Hillis 1962]. U jesionu twardzielowanie rozpoczyna się między 60 a 70 rokiem życia, a u sosny – w wieku 15-20 lat [Dadswell, Hillis 1962].

Twardziel zaczyna się formować w pniu na wysokości 1-3 m od gruntu, a następnie jej udział zmniejsza się w kierunku korony i podstawy [Pallardy 2008]. W badaniach sosen kalifornijskich (*Pinus radiata* D. Don) wykazano, że ilość twardzieli w pniu jest największa przy podstawie i na wysokości pierśnicy [Wilkes 1991]. Podobne wyniki uzyskano w najnowszych badaniach długości życia komórek miękiszowych sosny – największą liczbę słojów rocznych stanowiących twardziel obserwowano na wysokości 1,3-3,33 m, a zmniejszała się ona w kierunku korony i podstawy pnia [Tulik i in. 2019]. Ponadto w pracy tej stwierdzono, że twardziel nie jest rozmieszczona równomiernie, przeciwnie do bielu, którego liczba słojów rocznych maleje w kierunku do korony. Twardziel jest wytwarzana także w korzeniach niektórych gatunków drzew, ale tylko w regionie bliskim pnia [Hillis 1987].

Uwarunkowania środowiskowe procesu twardzielowania

Drzewa w sposób naturalny podlegają wpływowi czynników środowiskowych, co znajduje odzwierciedlenie w procesach rozwojowych ich komórek. Badania Wodzickiego [1971] dotyczące różnicowania się słoja rocznego u sosny wykazały, że intensywność wzrostu promieniowego powstającej cewki zależy od temperatury i wynosi od 1 do 4 $\mu\text{m}/\text{dobę}$.

Temperatura powietrza ma również wpływ na czas rozpoczęcia się procesu twardzielowania [Hägglund 1935 za Dadswell, Hillis 1962]. U sosen rosnących na południu Szwecji proces ten rozpoczyna się, gdy drzewa osiągną wiek 25 lat, w środkowej części kraju – 40, a w północnej – 70 lat.

Ilość bielu i twardzieli zależy od takich czynników jak gatunek drzewa, jego klasa biosocjalna, siedliskowy typ lasu czy właściwości gleby [Bamber, Fukazawa 1985; Taylor i in. 2002; Wang i in. 2010]. U świerków rosnących na uboższym siedlisku wykazano większy udział twardzieli [Jakubowski, Koszewski 2004]. Podobną zależność zaobserwowano w przypadku badań sosny [Jakubowski i in. 2015]. Pozycja drzewa w drzewostanie również determinuje udział twardzieli w drewnie – u drzew przygluszonych jest on znacznie większy niż u drzew dominujących w tym samym wieku [Sellin 1994]. W badaniach sosny kanaryjskiej (*Pinus canariensis* C. Smith) przedstawiono negatywne skorelowanie zagęszczenia drzew z szerokością bielu i twardzieli [Climent i in. 1993]. Jak wykazał Pazdrowski [2004], zabiegi hodowlane także wpływają na ilość

tworzonego bielu i twardzieli w pniu drzewa. W pniach podkrzesywanych sosen udział twardzieli był większy [Pazdrowski 2004]. W badaniach daglezi wykazano, że różnica udziału twardzieli w drzewach różnych klas wieku (V i VI) nie była istotna, podobnie jak u drzew wzrastających w zwarciu umiarkowanym bądź przerywanym [Wąsik 2007]. Nie stwierdzono też istotnych korelacji pomiędzy udziałem twardzieli a parametrami koron drzew.

Uwarunkowanie genetyczne i wiek zdają się mieć większy przewidywany efekt na objętość twardzieli niż żywotność drzewa, choć ta ostatnia cecha także stanowiła przedmiot rozważań. Na podstawie badań drzewostanów sosny wydmowej (*Pinus contorta* Dougl. ex Loud.) stwierdzono, że mniej żywotne drzewa mają większą objętość twardzieli niż bardziej żywotne [Kaufmann, Watkins 1990]. Wykazano, że znaczna defoliacja przekłada się na zwiększenie udziału twardzieli kosztem zmniejszenia udziału bielu [Margolis i in. 1988]. U świerków, które z powodu luźniejszej więźby szybciej rosły na plantacji, stwierdzono więcej słoików w strefie twardzieli oraz jej większą powierzchnię [Yang, Hazenberg 1992]. Odmienne wyniki dały badania twardzieli u daglezi [de Kort 1993]. Mniej żywotne drzewa miały więcej twardzieli niż te zdrowsze, a mniejsza zawartość bielu była rekompensowana większym udziałem drewna wczesnego w kilku ostatnich słoikach rocznych. Jak wskazuje autor, kwestia formowania twardzieli u drzew o różnym poziomie zdrowotności pozostaje do głębszego zbadania.

W literaturze zauważalny jest brak spójności co do sezonowości powstawania twardzieli. Jedni badacze twierdzą, że jest to okres zimowego spoczynku [Shain, Mackay 1973], inni uważają, że właśnie podczas zimy twardzielowanie ustaje, a najintensywniej zachodzi jesienią [Kampe, Magel 2013]. Wskazywano też, że nie ma określonego czasu formowania twardzieli [Bergström 2003]. W badaniach drewna modrzewi japońskich (*Larix kaempferi* Lamb. Carr.) rosnących w Japonii wykazano, że poszczególne etapy twardzielowania są rozłożone w czasie: śmierć komórek miękiszu promieniowego miała miejsce pomiędzy kwietniem a lipcem, kiedy kambium było najbardziej aktywne, a kumulacja ekstraktów twardzielowych zachodziła późną jesienią i wczesną zimą [Nakada, Fukatsu 2012].

Właściwości części twardzielowej

Obecność ekstraktów twardzielowych generuje szereg właściwości charakterystycznych tylko dla tej części drewna. Twardziel, pomimo braku żywych komórek uruchamiających dynamiczne mechanizmy obronne, ma udział w reakcjach odpornościowych drzew. Zalicza się do nich sam proces przemiany bielu w twardziel, podczas którego jeszcze żywe komórki miękiszowe przechodzą chemiczne przemiany, które prowadzą do impregnacji ich ścian komórkowych ekstraktami toksycznymi dla mikroorganizmów [Spicer 2005; Spicer, Holbrook 2007]. Lignifikacja ścian komórkowych miękiszu, poza wsparciem biomechanicznym, tworzy skuteczną barierę przed wnikającymi mikroorganizmami.

Przez brak lub niedostępność pożądaných substancji odżywczych (np. skrobi) twardziel jest najczęściej mniej atrakcyjna dla patogenów niż biel [Scheffer, Cowling 1966]. Ponadto toksyczne ekstrakty twardzielowe, do syntezy których zostały wykorzystane wspomniane substancje zapasowe, warunkują trwałość drewna [Scheffer, Cowling 1966; Bamber, Fukazawa 1985; Hillis 1987]. Naturalna trwałość bielu jest raczej niska, a twardziel niektórych gatunków może być bardzo odporna na biologiczny rozkład z powodu obecności ekstraktów twardzielowych [Scheffer, Cowling 1966; Taylor i in. 2002; Kampe, Magel 2013]. Gierlinger [2003], na podstawie badań różnych gatunków modrzewia – *Larix kaempferi* Lamb., *Larix decidua* × *L. kaempferi* i *L. decidua* Mill. – wskazał na powiązanie wysokiej koncentracji związków fenolowych (zaliczanych do ekstraktów twardzielowych) z większą trwałością drewna. W przypadku robinii akacjowej (*Robinia*

pseudoacacia L.) również zaobserwowano taką zależność [Dünisch i in. 2010]. Jednak badania prowadzone na drewnie modrzewia syberyjskiego (*Larix sibirica* Ledeb.) wskazują, że obecność najliczniejszych ekstraktów twardzielowych (arabinogalaktanów) nie wpływa na odporność na rozkład drewna [Venäläinen 2006]. Istnieje również pogląd, że koncentracja ekstraktów w twardzieli niekoniecznie wiąże się z naturalną trwałością tej strefy [Hillis 1987].

Twardziel może ulec rozkładowi, czego konsekwencją jest drzewo „puste w środku”. Rozkładana twardziel (ang. heartrot) jest atakowana przez saprobionty, które wnikają do wnętrza drzewa przez rany [Shigo 1984]. Zewnętrzną część twardzieli przy podstawie pnia u większości gatunków uważa się za najbardziej odporną na rozkład [Scheffer, Cowling 1966; Taylor i in. 2002]. Fakt ten wynika z rozmieszczenia ekstraktów twardzielowych (zmniejszania się ich ilości w kierunku rdzenia i do korony drzew), a także z powodu degradacji polifenoli poprzez utlenianie, przy aktywności enzymów [Hillis 1987].

Podsumowanie

Powstawanie twardzieli wciąż pozostaje niedostatecznie poznanym procesem, zwłaszcza w aspekcie mechanizmów molekularnych i odpornościowych. Wydaje się, że możliwości sekwencjonowania genomu drzew nago- i okrytozalążkowych oraz identyfikacji genów śmierci zaangażowanych w proces różnicowania i dojrzewania drewna przyczynią się do lepszego poznania molekularnych mechanizmów procesu twardzielowania. Poszerzenie wiedzy z tego zakresu powinno wyjaśnić funkcjonowanie roślin drzewiastych w stanach patologicznych.

Literatura

- Bamber R. K. 1976. Heartwood, its function and formation. *Wood Science and Technology* 10: 1-8.
- Bamber R. K., Fukazawa K. 1985. Sapwood and heartwood: a review. *Forestry Abstracts* 46: 567-580.
- Bergström B. 2003. Chemical and structural changes during heartwood formation in *Pinus sylvestris*. *Forestry* 76: 45-53.
- Beritognolo I., Magel E., Abdel-Latif A., Charpentier J. P., Jay-Allemand C., Breton C. 2002. Expression of genes encoding chalcone synthase, flavanone 3-hydroxylase and dihydroflavonol 4-reductase correlates with flavanol accumulation during heartwood formation in *Juglans nigra*. *Tree Physiology* 22 (5): 291-300.
- Berthier S., Kokutse A., Stokes A., Fourcaud T. 2001. Irregular heartwood formation in maritime pine (*Pinus pinaster* Ait): Consequences for biomechanical and hydraulic tree functioning. *Annals of Botany* 87: 19-25.
- Bollhöner B., Prestele J., Tuominen H. 2012. Xylem cell death: emerging understanding of regulation and function. *Journal of Experimental Botany* 63 (3): 1081-1094.
- Carrodus B. B. 1971. Carbon dioxide and the formation of heartwood. *New Phytologist* 70: 939-943.
- Climent J., Gil L., Pardos J. 1993. Heartwood and sapwood development and its relationship to growth and environment in *Pinus canariensis* Chr. Sm. ex DC. *Forest Ecology and Management* 59: 165-174.
- Dadswell H. E., Hillis W. E. 1962. Wood. W: Hillis W. E. [red.]. *Wood extractives*. Academic Press, London, New York. 3-55.
- Dünisch O., Richter H. G., Koch G. 2010. Wood properties of juvenile and mature heartwood in *Robinia pseudoacacia* L. *Wood Science and Technology* 44: 301-313.
- Fujii T., Suzuki Y., Kuroda N. 1997. Bordered pit aspiration in the wood of *Cryptomeria japonica* in relation to air permeability. *IAWA Journal* 18 (1): 69-76.
- Gierlinger N., Jacques D., Grabner M., Wimmer R., Schwanninger M., Rozenberg P., Pâques L. 2003. Colour of larch heartwood and relationships to extractives and brown-rot decay resistance. *Trees* 18 (1): 102-108.
- Gottwald H. P. J. 1972. Tyloses in fibre tracheids. *Wood Science and Technology* 6: 121-127.
- Hägglund E. 1935. *Svensk Papperstidn.* 38: 454.
- Hillis W. E. 1987. *Heartwood and tree exudates*. Springer, New York.
- Jakubowski M., Kałuźniński D., Tomczak A., Jelonek T. 2015. Proportion of heartwood and sapwood in Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) stems grown in different site conditions. *Annals of Warsaw University of Life Sciences – SGGW, Forestry and Wood Technology*, 92: 122-126.
- Jakubowski M., Koszewski W. 2004. Proportion of sapwood and heartwood in stems of Norway spruce (*Picea abies* (L.) Karst.) in mountain sites conditions. *Annals of Warsaw Agricultural University, Forestry and Wood Technology* 55: 259-262.
- Kampe A., Magel E. 2013. *New Insights into Heartwood and Heartwood Formation*. W: Fromm J. [red.]. *Cellular Aspects of Wood Formation*. Plant Cell Monographs 20. Springer, Berlin-Heidelberg.

- Kaufmann M. R., Watkins R. K. 1990. Characteristics of high-vigor and low-vigor lodgepole pine trees in old-growth stands. *Tree Physiology* 7 (1-4): 239-246.
- Koes R. E., Quattrocchio F., Mol J. N. M. 1994. The flavonoid biosynthetic-pathway in plants – function and evolution. *Bioessays* 16 (2): 123-132.
- Kokociński W. 2005. Anatomia drewna. Produkt, Poznań.
- de Kort I. 1993. Relationships between sapwood amount, latewood percentage, moisture content of Douglas-fir. *IAWA J.* 14: 413-427.
- Krahmer R. L., Côté W. A. 1963. Changes in coniferous wood cells associated with heartwood formation. *TAPPI* 46: 42-49.
- Magel E. 2000. Biochemistry and physiology of heart-wood formation. W: Savidge R., Barnett J., Napier R. [red.]. *Molecular and Cell Biology of Wood Formation*. BIOS Scientific Publishers, Oxford.
- Magel E., Jay-Allemand C., Ziegler H. 1994. Formation of heartwood substances in the stemwood of *Robinia pseudoacacia* L. II. Distribution of nonstructural carbohydrates and wood extractives across the trunk. *Trees* 8: 165-171.
- Margolis H., Gagnon R., Pothier D., Pineau M. 1988. The adjustment of growth, sapwood area, heartwood area, and sapwood saturated permeability of balsam fir after different intensities of pruning. *Canadian Journal of Forest Research* 18: 723-727.
- Micco V., Balzano A., Wheeler E., Baas P. 2016. Tyloses and gums: A review of structure, function and occurrence of vessel occlusions. *IAWA Journal* 37: 186-205.
- Morris H. R. 2016. The structure and function of ray and axial parenchyma in woody seed plants. *Praca doktorska. Fakultät für Naturwissenschaften, Universität Ulm.*
- Multilingual glossary of terms used in wood anatomy. 1964. IAWA, Verlagsanstalt Buchdruckerei Konkordia, Winterthur.
- Murakami Y., Funada R., Sano Y., Ohtani J. 1999. The differentiation of contact cells and isolation cells in the xylem ray parenchyma of *Populus maximowiczii*. *Annals of Botany* 84: 429-435.
- Nakaba S., Begum S., Yamagishi Y., Jin H. O., Kubo T., Funada R. 2012. Differences in the timing of cell death, differentiation and function among three different types of ray parenchyma cells in the hardwood *Populus sieboldii* × *P. grandidentata*. *Trees* 26: 743-750.
- Nakaba S., Sano Y., Kubo T. 2006. The positional distribution of cell death of ray parenchyma in a conifer, *Abies sachalinensis*. *Plant Cell Reports* 25: 1143-1148.
- Nakada R., Fukatsu E. 2012. Seasonal variation of heartwood formation in *Larix kaempferi*. *Tree Physiology* 32: 1497-1508.
- Nobuchi T., Sato T., Iwata R., Harada H. 1984. Season of heartwood formation and the related cytological structure of ray parenchyma cells in *Robinia pseudoacacia*. *Mokuzai Gakkaishi* 30: 636-638.
- Pallardy S. G. 2008. Sapwood and heartwood formation. W: Pallardy S. G. [red.]. *Physiology of woody plants*.
- Pâques L. E. 2001. Genetic control of heartwood content in larch. *Silvae Genetica* 50 (2): 69-75.
- Panshin A. J., De Zeeuw C. D. 1980. *Textbook of wood technology*. McGraw-Hill, New York.
- Pazdrowski W. 2004. Udział bielu i twardzieli w strzałach sosen. *Sylwan* 148 (3): 21-27. DOI: <https://doi.org/10.26202/sylwan.2004079>.
- Peters W. J. 1974. Tylosis Formation in Pinus Tracheids. *Botanical Gazette* 135 (2): 126-131.
- Scheffer T. C., Cowling E. B. 1966. Natural resistance of wood to microbial deterioration. *Annual Review of Phytopathology* 4: 147-170.
- Sellin A. 1996. Sapwood amount in *Picea abies* (L.) Karst. determined by tree and radial growth rate. *Holzforschung* 50 (4) 291-296.
- Sellin A. 1994. Sapwood-heartwood proportion related to tree diameter, age, and growth rate in *Picea abies*. *Canadian Journal of Forest Research* 24: 1022-1028.
- Shain L., Mackay J. F. G. 1973. Seasonal fluctuations in respiration of aging xylem in relation to heartwood formation in *Pinus radiata*. *Can. J. Bot.* 51: 737-741.
- Shigo A. L. 1984. Compartmentalisation: a conceptual framework for understanding how trees grow and defend themselves. *Annual Review Phytopathology* 22: 189-214.
- Spicer R. 2005. Senescence in secondary xylem: heartwood formation as an active developmental program. W: Holbrook N. M., Zwieniecki M. A. [red.]. *Vascular transport in plants*. Elsevier Academic, Amsterdam. 457-475.
- Spicer R., Holbrook N. M. 2007. Effects of carbon dioxide and oxygen on sapwood respiration in five temperate tree species. *Journal of Experimental Botany* 58 (6): 1313-1320.
- Stewart C. M. 1966. Excretion and heartwood formation in living trees. *Science* 153: 1068-1074.
- Taylor A. M., Gartner B. L., Morrell J. J. 2002. Heartwood formation and natural durability – a review. *Wood and Fiber Science* 34: 587-611.
- Tulik M., Jura-Morawiec J., Bieniasz A., Marciszewska K. 2019. How Long Do Wood Parenchyma Cells Live in the Stem of a Scots Pine (*Pinus sylvestris* L.)? Studies on Cell Nuclei Status along the Radial and Longitudinal Stem Axes. *Forests* 10 (11): 977.

- Tulik M., Myskow E. 2015. Rola śmierci komórek drewna w sukcesie ewolucyjnym roślin drzewiastych. Sylwan 159 (5): 392-402. DOI: <https://doi.org/10.26202/sylvan.2014119>.
- Venäläinen M., Harju A. M., Terziev N., Laakso T., Saranpää P. 2006. Decay resistance, extractive content, and water sorption capacity of Siberian larch (*Larix sibirica* Ledeb.) heartwood timber. *Holzforschung* 60 (1): 99-103.
- Wang X. C., Wang C. K., Zhang Q. Z., Quan X. K. 2010. Heartwood and sapwood allometry of seven Chinese temperate tree species. *Annals of Forest Science* 67: 410.
- Wąsik R. 2007. Variability of the share of heartwood on the stem cross-section of Douglas fir (*Pseudotsuga menziesii* var. *viridis* Franco) in Poland. *Acta Scientiarum Polonicum Silv. Colendar. Rat. Ind. Lignar.* 6 (4): 71-79.
- Wilkes J. 1991. Heartwood development and its relationship to growth in *Pinus radiata*. *Wood Science and Technology* 25: 85-90.
- Wodzicki T. J. 1971. Mechanism of xylem differentiation in *Pinus sylvestris* L. *Journal of Experimental Botany* 22 (72): 670.
- Yang J., Kamdem D. P., Keathley D. E., Han K. H. 2004. Seasonal changes in gene expression at the sapwood-heartwood transition zone of black locust (*Robinia pseudoacacia*) revealed by cDNA microarray analysis. *Tree Physiology* 24 (4): 461-474.
- Yang K. C., Hazenberg G. 1992. Impact of spacings on sapwood and heartwood thickness in *Picea mariana* and *Picea glauca*. *Wood and Fiber Science* 24: 330-336.
- Zheng-Hua Y., Zhong R. 2015. Molecular control of wood formation in trees. *Journal of Experimental Botany* 66 (14): 4119-4131.