

GDK 232.315

Prispelo / Received: 28. 05. 1999
Sprejeto / Accepted: 23. 08. 1999

Izvimi znanstveni članek
Original scientific paper

VLOGA FITINSKE KISLINE PRI SHRANJEVANJU ŽELODA GRADNA (*QUERCUS PETRAEA* (MATT.) LIEBL.)

Sašo ŽITNIK*, Hojka KRAIGHER**

Izvleček

Cilj raziskave je razviti nove postopke daljšega shranjevanja gradnovega želoda, ki bi bili poceni in praktični, saj je z zdaj znanimi metodami zaradi rekalcitrantnosti želoda možno shranjevati le nekaj mesecev. Raziskovanje sloni na hipotezi, da je vitalnost želoda po daljšem shranjevanju v pozitivni korelaciji z vsebnostjo fitinske kisline v njem, kar je v pozitivni korelaciji z vsebnostjo razpoložljivega fosforja v tleh. Poskus je zastavljen kot študija enega primera na dveh izbranih ploskvah, poraslih z gradnom. Ploskvi se bistveno razlikujeta po vsebnosti celotnega fosforja v listih, kar smo uporabili kot kazalec razpoložljivega fosforja v tleh. Želod smo nabrali na ploskvah oktobra 1997. Nato je bil shranjen 9 mesecev, do avgusta 1998. Pred shranjevanjem in nato vsake tri mesece smo opravili naslednje analize: vlažnost in kalivost želoda, vsebnost hranil (P, K, Ca, Mg) in vsebnost fitinske kisline. Pokazalo se je, da je na ploskvi z večjo vsebnostjo celotnega fosforja v listih tudi večja vsebnost celotnega fosforja v želodu. Na tej ploskvi je tudi večja vsebnost fitinske kisline v želodu, hkrati pa je večja njegova kalivost. Vendar so razlike opazne samo na začetku shranjevanja, nato postopoma izginejo. Rezultati kažejo, da bi lahko obstajala pozitivna korelacija med vitalnostjo želoda po daljšem času shranjevanja, vsebnostjo fitinske kisline v njem in vsebnostjo fosforja v tleh, vendar dosedanja rezultati niso pokazali statistično značilnih razlik.

Ključne besede: semenarstvo, želod, graden, *Quercus petraea* ((Matt.) Liebl.),
shranjevanje, fitinska kislina, fosfor, kalivost

THE ROLE OF PHYTIC ACID IN STORAGE OF ACORNS OF SESSILE OAK (*QUERCUS PETRAEA* (MATT.) LIEBL.)

Abstract

The aim of the research is to develop new cheap and practical methods for long-term storage of acorns of sessile oak, because today it is possible to store them only for few months (recalcitrant seeds). The research is based on the hypothesis, that the vitality of acorns after long-term storage is in positive correlation with the content of phytic acid in them, which is in positive correlation with the content of available phosphorus in soil. The experiment is established as a case study on two plots of sessile oak, which essentially differ in the content of phosphorus in leaves, which is used as an indicator of available phosphorus in soil. The acorns were collected in October 1997 and stored for 9 months until August 1998. Before the storage and every three months the following analysis were done: germination and moisture, nutrients (P, K, Ca, Mg) and phytic acid content in acorns. The results show that the plot, which has higher content of phosphorus in leaves, has also a higher content of phosphorus and phytic acid in acorns and the germination is better. The differences can be observed only at the beginning of the storage, later on they disappear. The results show that there could be a positive correlation between the vitality of acorns after long-term storage, the content of phytic acid in them and the content of phosphorus in soil. However, the data are not yet sufficient to prove statistical significant differences.

Key words: seed trade, seed, acorns, sessile oak, *Quercus petraea* ((Matt.) Liebl.),
storage, phytic acid, phosphorus, germination

* univ. dipl. inž. gozd., Gozdarski inštitut Slovenije, Večna pot 2, 1000 Ljubljana, SVN
** doc. dr., Gozdarski inštitut Slovenije, Večna pot 2, 1000 Ljubljana, SVN

VSEBINA
CONTENTS

1	UVOD	
	INTRODUCTION.....	57
2	HIPOTEZA IN NAČRT RAZISKAVE	
	THE HYPOTHESES AND THE SCHEME OF THE RESEARCH.....	62
3	MATERIAL IN METODE	
	MATERIAL AND METHODS	63
4	REZULTATI	
	RESULTS.....	69
5	RAZPRAVA	
	DISCUSSION	72
6	ZAKLJUČEK	
	CONCLUSION.....	77
7	POVZETEK	78
8	SUMMARY	80
9	VIRI	
	REFERENCES.....	83
10	ZAHVALA	
	ACKNOWLEDGEMENTS	87

1 UVOD

INTRODUCTION

1.1 PROBLEMATIKA SHRANJEVANJA ŽELODA

THE PROBLEMS OF STORING OF ACORNS

Na 55 % celotne gozdne površine v Sloveniji rastejo hrasti (SMOLEJ 1995a). Štirje avtohtoni hrasti (graden - *Quercus petraea* (Mattuschka) Liebl., dob - *Q. robur* L., cer - *Q. cerris* L. in puhovec - *Q. pubescens* Wild.) sestavljajo kot primešane ali glavne drevesne vrste 5 rastlinskih združb in predstavljajo 8 % celotne lesne zaloge (Program razvoja gozdov v Sloveniji 1996). Hrastovi gozdovi rastejo v nižinah in v gričevnatem svetu, kjer je delež gozdov zelo majhen in je gostota poseljenosti velika. V teh razmerah so ekološke in socialne funkcije gozdov zelo pomembne. Zaradi človekovega vpliva so hrastovi gozdovi od vseh najbolj spremenjeni v Sloveniji. Hkrati pa nanje negativno vplivata tudi onesnaževanje in nižanje podtalnice (SMOLEJ et al. 1998). Najpomembnejša hrasta sta graden in dob. Razširjena sta v osrednji Evropi, pri čemer dob raste tudi daleč v celinskih predelih vzhodne Evrope, kjer gradna ni (Šumarska enciklopedija 1983). Dob uspeva predvsem v občasno poplavljenih nižinah, medtem ko graden v višjem gričevnatem svetu. Obe vrsti sta mogočni drevesi, predvsem dob, ki lahko doseže višino do 50 m, starost do 2000 let in premer debla do 6 m (LANZARA / PIZZETTI 1984). Graden in predvsem dob imata visokokakovosten les, ki na trgu lahko doseže zelo visoke cene (VUKIČEVIĆ 1987). Pri pridobivanju želoda je problematično, da oba polno obrodita le vsakih 6 - 8 let in da je možno uspešno shranjevati želod le nekaj mesecev do naslednje pomladi (REGENT 1980).

Delež listavcev v obnovi sestojev s sadnjo se v Sloveniji iz leta v leto povečuje. V preteklosti so med sadikami skoraj popolnoma prevladovali iglavci, predvsem smreka. V letu 1998 pa je znašal delež listavcev med sadikami 48 %, hrasti skupno 9 % oziroma 152.000 sadik (Poročilo ZGS o gozdovih za leto 1998), medtem ko so srednjeročni plani porabe hrastovih sadik dosti večji, okoli 600.000 sadik ali 4 % vseh sadik listavcev (GRECS 1996). V Sloveniji imamo 11 semenskih sestojev za graden s skupno površino 36,79 ha in 6 semenskih sestojev za dob s skupno površino 37,54 ha (PAVLE 1997). Ker pa graden in dob ne cvetita oziroma ne obrodita vsako leto, lahko postane preskrba z njunim želodom in sadikami problematična. Periodičnost cvetenja je različna med

vrstami in znotraj njih, razlike pa so posebno velike pri listavcih (KRAIGHER 1996). V nekaterih primerih je mogočr problem rešiti tako, da s sadnjo počakamo, dokler ne zagotovimo sadik. Obstaja tudi možnost, da shranimo rezervne količine želoda, nabranega v letih obilnega obroda, in ga uporabimo v letih, ko obrodi slabo. Shranjevanje želoda je pomembno tudi za ohranjanje gozdnih genskih virov. Začasno lahko shranimo želod posameznih provenienc, ki so v naravnem okolju ogrožene in tako preprečimo trajno izgubo za gozdni genski fond. Shranjevanje želoda je tudi pri nas vse pomembnejše, čeprav je, drugače kot semena iglavcev, zelo težavno.

Shranjevanje za eno zimo ni problematično, saj obstajajo številni uspešni načini (SUSZKA / TYLKOWSKI 1980, SUSZKA / MULLER / BONNET-MASIMBERT 1996). Shranjevanje, daljše od ene zime, pa je zelo negotovo. Zato v tem prispevku kot shranjevanje želoda vedno mislimo daljše shranjevanje.

1.2 DOSEDANJE RAZISKAVE SHRANJEVANJA ŽELODA A BRIEF REVIEW OF STUDIES IN STORING OF ACORNS

Daljše shranjevanje želoda gradna in doba je še vedno obsežen nerešen problem (NATZKE 1996). Pomemben napredek je bil napravljen v Korniku na Poljskem (SUSZKA / TYLKOWSKI 1980), kjer želod shranjujejo v sodih z drenažno cevjo, speljano z dna do vrha pokrova. Tako vzdržujejo ustrezno razmerje O₂ in CO₂ (O₂ zmanjšan na 11 % in CO₂ povečan na 7 %) in želod hranijo tri leta pri -2 °C, ne da bi mu kalivost padla pod 60 %. Toda takšno shranjevanje ni poceni in se ga uporablja le v posebnih primerih. Problem je predvsem v natančnem uravnavanju deleža CO₂, kajti njegova prevelika koncentracija bi zadušila seme. Hkrati je optimalni delež CO₂ odvisen tudi od temperature shranjevanja in vlažnosti želoda, saj je pri višji temperaturi in vlagi intenziteta dihanja želoda večja. Zaradi še vedno prisotne biološke dejavnosti v želodu in širjenja patogenih gliv, ki sta pri večji koncentraciji CO₂ le upočasnjeni, metoda ni primerna za shranjevanje, daljše od treh let.

Za uničevanje najnevarnejše patogene glive shranjenega želoda (*Ciboria batschiana* (Zopf.) Buchwald) so v Franciji razvili metodo termoterapije (DELATOUR / MORELET 1979), ki jo danes uporabljajo v večjem delu Evrope (STEINHOFF 1993). Pri

termoterapiji želod namakajo 2 $\frac{1}{2}$ ure v 41 °C topli vodi in tako glivo *Ciborio batschiano* je uspešno uničijo. Raziskave so pokazale, da je termoterapija uspešnejša od kemičnih sredstev (DELATOUR / MORELET 1979), ki lahko občutno zmanjšajo vitalnost želoda. Vendar izkušnje kažejo, da po uničenju primarnih patogenih gliv s termoterapijo želod okužijo sekundarne patogene glive in povzročajo škodo vskladiščnemu semenu (GUTHKE 1992). Zato danes v Evropi preučujejo možnosti za odpravo te sekundarne infekcije patogenih gliv z različnimi kemičnimi sredstvi (SUSZKA / MULLER / BONNET-MASIMBERT 1996), vendar do sedaj še niso odkrili učinkovite metode.

V Franciji poskušajo s postmaturacijo izboljšati vitalnost shranjenega želoda (BONNET-MASIMBERT / MULLER 1993). V večini primerov želod takoj po odpadanju še ni zrel. Dozori šele, ko preleži nekaj časa na tleh (FINCH-SAVAGE et al. 1993). Ugotovili so, da je želod, ki je pred shranjevanjem preležal na tleh do en mesec, imel od 25 do 30 % večjo kalivost kot tisti, ki je bil shranjen takoj po odpadanju (BONNET-MASIMBERT / MULLER 1993). Toda če želod preleži na tleh dalj časa, se poveča nevarnost okužbe s patogenimi glivami, zato je zaželeno, da pred shranjevanjem dozori v nadzorovanih razmerah. Tako dozorevanje (postmaturacijo) zdaj preučujejo v Franciji (MULLER, os. kom.).

Edina uspešna metoda za preprečevanje širjenja patogenih gliv in staranje želoda je shranjevanje pri temperaturah globoko pod 0 °C, vendar ga zaradi rekalцитrantnosti na ta način ni mogoče shranjevati. Pred kratkim je bilo opisano (SPETHMANN 1994) in praktično preizkušeno (GUTHKE 1992) shranjevanje pri nizkih temperaturah s poprežno utrditvijo želoda proti mrazu. Po tej metodi ga izpostavimo dnevnim spremembam temperature za okrog 5 °C, hkrati pa povprečno dnevno temperaturo postopoma znižujemo od 5 °C do -4 °C. Po določenem času je možno želod shraniti pri temperaturi -4 °C, ne da bi zmrznil. Vendar so novejša raziskava pokazale, da ta metoda ni v vseh primerih uspešna in ni še znano, kateri dejavniki vplivajo nanjo (NATZKE 1996). Želod postane po šestih mesecih shranjevanja pri temperaturi -2 °C odporen proti mrazu in ga nato lahko proti pričakovanju shranimo pri temperaturi -6 °C, ne da bi zmrznil (NATZKE 1996). Dodatno raziskovanje bo moralo pojasniti procese, ki omogočajo shranjevanje želoda s to metodo pri tako nizkih temperaturah.

1.3 VLOGA FITINSKE KISLINE PRI SHRANJEVANJU ŽELODA THE ROLE OF PHYTIC ACID IN STORING ACORNS

Fitinska kislina bi bila lahko odlična pri daljšem shranjevanju želoda, saj je pomembna sestavina vseh semen. Morda je prav ona vzrok za izjemno dolgoživost semen, saj lahko nekatera ohranijo vitalnost tudi do 400 let (OWEN et al. 1996). Glavne naloge fitinske kisline so (GRAF / EATON 1990):

- skladiščenje kationov in fosforja
- vsebuje osnove elementov za izgradnjo celične membrane
- je pomemben antioksidant

Pomembnost fitinske kisline pri skladiščenju fosforja je že dolgo znana, medtem ko so njene druge vloge odkrili šele pred kratkim. Fitinsko kislino so določili tudi v pelodu mnogih rastlinskih vrst, v koreninah, gomoljih in vegetativnih rastlinskih tkivih (RABOY 1990). Fitinska kislina je pomembna tudi za živalsko in človeško prehrano. Zaužita s hrano je povezana s kationi in tako prepreči njihovo absorpcijo skozi stene črevesnega trakta. Za organizem je nedostopen tudi fosfor, vezan v fitinski kislini, zato ta kislina zmanjša hranilno vrednost jedi. Potekajo pospešene raziskave k zmanjševanju fitinske kisline v hrani (razne priprave hrane, križanja in genetske manipulacije rastlinskega materiala). Kljub pomembnosti fitinske kisline pri rastlinah in pri prehrani je še zelo malo znanega o njeni biosintezi, razkroju in vplivih na delovanje celice in organizma v celoti.

Med kalitvijo semena encimski kompleks fitaza hidrolizira fitinsko kislino. Zato se njen delež med kalitvijo občutno zmanjša, vendar sta hitrost in način zmanjševanja lahko med vrstami zelo različna (AKPAPUNAM / IGBEDIOH / AREMO 1996; BAU et al. 1997; CRANS / MIKUS / FRIEHAUF 1995; CUADRA et al. 1994). Pri nekaterih vrstah se vsebnost fitinske kisline v semenu občutno zmanjša takoj po začetku kalitve, pri nekaterih pa šele čez nekaj časa. Encimski kompleks fitaza je družina encimov, ki postopno odstranijo vse fosfatne skupine fitinske kisline in jo tako hidrolizirajo v nižje *myo*-inozitol fosfate. Različni encimi v encimskem kompleksu hidrolizirajo različne degradacijske stopnje fitinske kisline (GIBSON / ULLAH 1990). Produkt hidrolize, anorganski fosfat, se lahko uporabi v biosintezi fosfolipidov, ki so pomemben sestavni del celične membrane. Inozitol, kot preostali produkt hidrolize, se lahko uporabi za sintezo fosfatidnega inozitola in polisaharidov, ki so pomemben sestavni del celične stene

(SOWA / CONNOR 1995). Produkti hidrolize fitinske kisline so zelo pomembni za hitro rast celičnih membran in sten med kalitvijo semena, zato bi lahko količina fitinske kisline v semenih na začetku kalitve na ta proces pomembno vplivala.

Kadar želod gradna in doba shranimo pri temperaturah okoli 0 °C in pri vlažnosti nad 43 %, je biokemijska dejavnost upočasnjena in encimski kompleks fitaza bi lahko počasi razkrajal fitinsko kislino. Nekateri encimi encimskega kompleksa fitaze so po vsej verjetnosti v želodu že pred kalitvijo, drugi pa se na novo sintetizirajo med njo (GIBSON / ULLAH 1990). Daljše kot je obdobje shranjevanja, več fitinske kisline lahko fitaza razkroji, manj je je na začetku kalitve in uspeh kalitve je lahko zato manjši. Deloma bi ta problem lahko rešili z večjo vsebnostjo fitinske kisline v želodu na začetku shranjevanja. Raziskave pri kmetijskih rastlinskih vrstah so pokazale, da lahko obstaja pozitivna odvisnost med vsebnostjo fitinske kisline v semenih in razpoložljivega fosforja v tleh (MILLER / YOUNGS / OPLINGER 1980a; RABOY / DICKINSON 1984, 1993; LAU / STEPHENSON 1994). Želod z rastišč, ki so bogatejša z razpoložljivim fosforjem, bi lahko imel večjo vsebnost fitinske kisline in uspeh daljšega shranjevanja bi bil lahko večji. Raziskave so pokazale, da vsebnost fitinske kisline v semenih pri nekaterih vrstah ni odvisna od drugih dejavnikov okolja, razen v ekstremnih razmerah, bistveno jo lahko zmanjša na primer dolgotrajna suša (MILLER / YOUNGS / OPLINGER 1980b). Vendar pa lahko pri nekaterih vrstah zunanji dejavniki (svetloba, toplota, vlažnost ...) močno vplivajo na vsebnost fitinske kisline v rastlinah (MILLER / YOUNGS / OPLINGER 1980a).

Pri možnih vplivih fitinske kisline na staranje semena so ugotovili, da fitinska kislina zmanjša mobilnost in razpoložljivost cinka, mangana, bakra, molibdena, kalcija, magnezija in železa v semenih do kalitve (BELEIA / THU TAO / IDA 1993; MAGA 1982). Vezana na beljakovine zmanjša njihovo topnost in razpoložljivost pri kalitvi (KHANO / JOST 1979). To je posledica tvorbe zelo stabilnega fitina, ki je kompleksna sol fitinske kisline in kationov v proteinskem substratu. Zato lahko večja vsebnost fitinske kisline v semenih podaljša njihovo dolgoživost in upočasni staranje.

Zelo pomembna je tudi antioksidativna vloga fitinske kisline v semenih. Mnogi antioksidanti delujejo tako, da reagirajo z aktivnim kisikom in se pri tem porabijo. Fitinska kislina je nasprotno nereaktivna in zelo stabilna. Antioksidativne lastnosti

Fitinske kisline verjetno izvirajo iz njene velike afinitete do vezave z železom (GRAF / EATON 1990). Antioksidativna vloga fitinske kisline je pomembna predvsem pri preprečevanju oksidacije nenasičenih maščobnih kislin, ki so poglavitna sestavina semen (OHLROGGE / KERNAN 1982).

2 HIPOTEZA IN NAČRT RAZISKAVE **THE HYPOTHESES AND THE SCHEME OF THE RESEARCH**

Raziskava sloni na naslednji hipotezi. Fitinska kislina v gradnovem želodu ima pomembno vlogo pri kalitvi. Večja vsebnost te kisline izboljša uspešnost na začetku kalitve. Vsebnost fitinske kisline je pozitivno odvisna od vsebnosti celotnega fosforja v želodu, ta pa je pozitivno odvisen od vsebnosti razpoložljivega fosforja v tleh. Želod nabran na rastiščih, bogatejših z razpoložljivim fosforjem ima večjo vsebnost celotnega fosforja, zato tudi večjo vsebnost fitinske kisline in njegova kalivost je po daljšem shranjevanju lahko večja.

Cilj raziskave je ugotoviti, ali po daljšem shranjevanju obstajajo značilne razlike v kalivosti želoda z rastišč, ki so bogatejša z razpoložljivim fosforjem, in rastišč, ki so z njim revnejša. Pri tem je pomembna predvsem dostopnost fosforja, torej količina v tleh, ki je na voljo drevesom, kar pa je odvisno od številnih dejavnikov (FIEDLER / NEBE / HOFFMANN 1973; MARSCHNER 1990). Hkrati je pomembno, da različne rastline različno sprejemajo fosfor iz tal (FOOTE / HOWELL 1963; STEVENSON 1986). Zato smo kot merilo dostopnosti fosforja na posameznih rastiščih upoštevali njegovo vsebnost v listih. Hkrati so raziskave pokazale, da je vsebnost fosforja v listih lahko v tesni korelaciji z vsebnostjo fosforja v semenih (RABOY / DICKINSON 1984, 1993).

Poskus je bil zastavljen kot študija enega primera. Za osnovo izbora smo vzeli stalne raziskovalne ploskve hrastov v Sloveniji, ki jih je postavil Gozdarski inštitut Slovenije v sodelovanju z Inštitutom za gozdno ekologijo-BOKU v letih 1991 - 1993 (SMOLEJ 1995b), ker za te ploskve obstajajo podatki o vsebnosti fosforja v listih. Nato smo glede na obrod na posameznih ploskvah izbrali dve ploskvi na katerih raste graden. Edini pogoj je bil, da se bistveno razlikujeta po vsebnosti fosforja v listih. Rezultati analiz zato kažejo samo na obstoj ali neobstoj razlik v kalivosti želoda po daljšem shranjevanju med obema

ploskvama, kar je lahko posledica različne vsebnosti dostopnega fosforja v tleh. Vendar lahko na razliko v kalivosti želoda vplivajo še številni drugi dejavniki (rastišče, značilnosti sestoja: starost, presvetljenost, prsni premer, obrod), ki jih naš poskus ni upošteval. Zato ne moremo zanesljivo sklepati na zvezo med vsebnostjo razpoložljivega fosforja v tleh in uspešnostjo daljšega shranjevanja želoda. Za zanesljivo potrditev oziroma zavrnitev te povezave bodo potrebne številne ponovitve tega poskusa na različnih ploskvah v različnih rastiščnih razmerah.

Na izbranih dveh ploskvah smo nabrali želod in ga nato hranili 9 mesecev. Pred shranjevanjem in nato vsake tri mesece smo opravili naslednje analize: vlažnost in kalivost želoda, vsebnost hranil (P, K, Ca, Mg) in vsebnost fitinske kisline v želodu. S podatki, pridobljenimi s temi analizami, smo izvedli slučajnostni dvofaktorski poskus, s katerim smo poskušali dokazati značilne razlike v analiziranih parametrih med ploskvama.

3 MATERIAL IN METODE **MATERIAL AND METHODS**

3.1 RAZISKOVALNE PLOSKVE **THE RESEARCH PLOTS**

Stalne hrastove raziskovalne ploskve v Sloveniji so postavili v letih 1991 - 1993 v okviru skupnega raziskovalnega programa Propadanje hrastovih gozdov Gozdarskega inštituta Slovenije in Inštituta za gozdno ekologijo-BOKU (SMOLEJ 1995b). Velikost posamezne ploskve je 1 ha kvadratne oblike (100 m x 100 m). Izmed njih smo jeseni leta 1997 izbrali dve za to raziskavo.

Merila za izbiro ploskev so bila naslednja:

- obrod hrastov na raziskovalni ploskvi (v poštev so prišle samo tiste, na katerih je obrodila večina hrastov, tako da vzorec želoda pripada bolj ali manj enakomerno večini hrastov na ploskvi; tako je zagotovljena reprezentativnost raziskovalne ploskve),
- obe ploskvi morata pripadati isti drevesni vrsti - gradnu ali dobu (da se izognemo vplivu razlik med njima),

- vsebnost fosforja v listih med obema ploskvama mora biti dovolj različna.

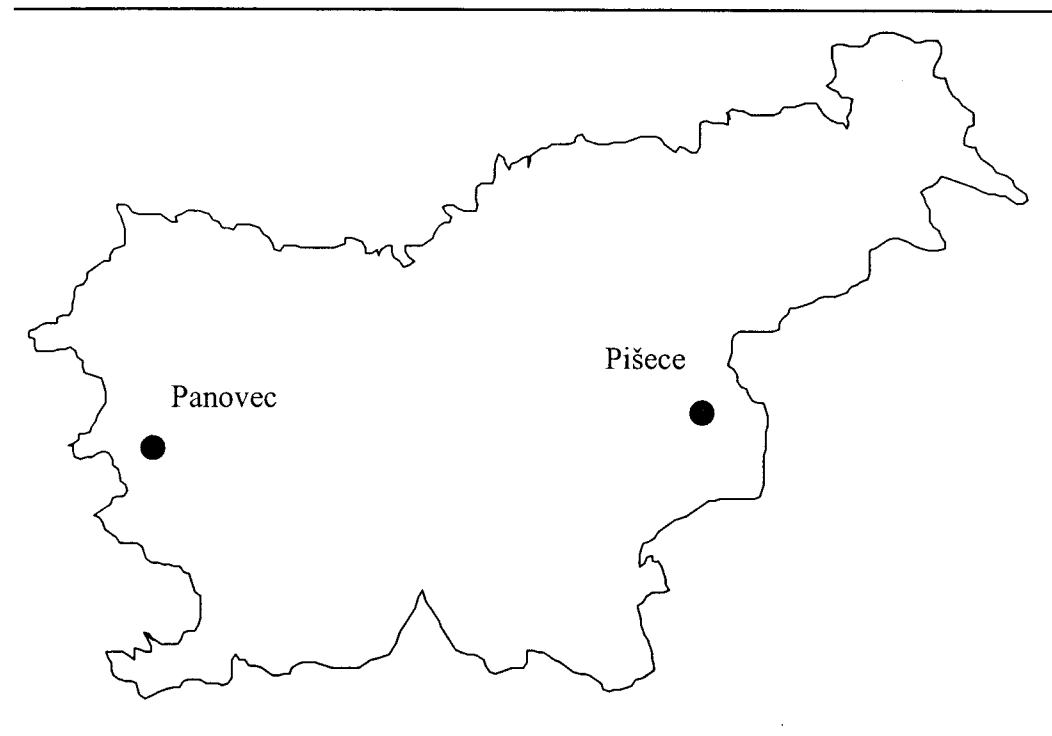
zbrali smo naslednji ploskvi:

1. **Panovec pri Novi Gorici** (graden)
2. **Pišece na Bizeljskem** (graden)

Naslednja slika predstavlja lego raziskovalnih ploskev.

Slika 1: Lega raziskovalnih ploskev (po: SMOLEJ 1995b)

Figure 1: The location of the research plots (after: SMOLEJ 1995b)



Splošni podatki o izbranih raziskovalnih ploskvah so naslednji:

1. Vsebnost fosforja v listih (SIMONČIČ 1995):

Panovec: 0,56 mg/g

Pišeece: 0,96 mg/g

2. Lega ploskve:

Panovec: 150 m nm.v., JV-lega, pobočje

Pišeece: 470 m nm.v., J-lega, pobočje

3. Dendrometrijski podatki (AZAROV 1995):

Preglednica 1: Dendrometrijski podatki o izbranih raziskovalnih ploskvah

Table 1: Dendrological data about the choosen research plots

VRSTA PODATKA (VELJA ZA ZGORNJI SLOJ PO KLASIFIKACIJI IUFRO) KIND OF DATA (FOR THE UPPER LAYER BY THE IUFRO CLASSIFICATION)	PANOVEC	PIŠEECE
Delež gradna v lesni zalogi <i>Share of sessile oak in growing stock</i>	52 %	74 %
Delež števila dreves gradna, ki pripadajo 1. razredu vitalnosti <i>Share of sessile oak in number of trees in the vitality class 1.</i>	43 %	82 %
Povprečna starost gradna <i>Average age of sessile oak</i>	60 let / years	140 let / years
Povprečni prsni premer gradna <i>Average breast height diameter of sessile oak</i>	28 cm	38 cm
Povprečna višina gradna <i>Average height of sessile oak</i>	22 m	24 m

4. Tip tal (KALAN 1995):

Panovec: globoka distrična rjava tla (cambisol) na flišu

Pišeece: plitva do globoka iluvialna tla (luvisol) na apnencu

5. Rastlinska združba (SMOLE 1995):

Panovec: Carici umbrosae - Quercetum petraeae, POLDINI 1981 var. geogr. Sesleria autumnalis, DAKSKOBLER 1986 (n.nud.)

Pišeece: Haquetio - Fagetum var. Ruscus hypoglossum, KOŠIR (1956) 1961

3.2 NABIRANJE ŽELODA COLLECTING OF ACORNS

Želod smo nabrali na raziskovalnih ploskvah oktobra 1997, in sicer s tal in enakomerno s celotne površine, tako da pripada čim večjemu številu dreves. Pri nabiranju smo izločili slabe (prazni, okuženi, črvivi ...) želode. Na vsaki ploskvi smo jih nabrali okoli 1000. Na ploskvi Panovec je bil obrod poln, medtem ko je bil na ploskvi Pišece le delen. Želod smo nato nekaj dni hranili v odprtem in pokritem prostoru, tako da debelina plasti ni presegala 10 cm. Nato smo izvedli vodno kopel - termoterapijo (želod je bil 2 1/2 ure v vodi s temperaturo 41 °C (DELATOUR / MORELET 1979)) in še enkrat izločili ves želod, ki je splaval na površje (slab želod). Po vodni kopeli smo ga ponovno nekaj dni sušili v odprtem in pokritem prostoru.

3.3 SHRANJEVANJE ŽELODA STORING OF ACORNS

Želod smo hranili devet mesecev, od novembra 1997 do avgusta 1997, v hladilniku v pokriti, vendar ne zaprti posodi pri temperaturi -1 °C in 85 % relativni zračni vlažnosti (SUSZKA / MULLER / BONNET / MASIMBERT 1996). Enkrat na mesec smo ga pregledali in odstranili z glivami okuženo seme (*Ciboria batschiana*).

3.4 UGOTAVLJANJE VLAŽNOSTI ŽELODA ANALYSIS OF THE MOISTURE CONTENT OF ACORNS

Vlažnost semena smo ugotavljali po mednarodni metodi ISTA za testiranje semena (1993). Pripravili smo tri vzorce po 5 g drobno razrezanega želoda. Posodice za sušenje vzorcev (tehtiče) smo sušili eno uro pri temperaturi 130 °C in jih nato ohladili v eksikatorju. V tehtičih smo nato sušili vzorce 17 ur pri temperaturi 103 °C, potem pa jih ohladili v eksikatorju. Tehtali smo v gramih z natančnostjo treh decimalk. Vlažnost smo ugotovljali kot razliko v teži vzorca pred sušenjem in po njem. Izrazili smo jo v deležu (%) teže vzorca pred sušenjem.

3.5 UGOTAVLJANJE KALIVOSTI ŽELODA ANALYSIS OF THE GERMINATION OF ACORNS

Za ugotavljanje kalivosti smo želod najprej 48 ur namakali v vodi pri sobni temperaturi. Nato smo ga olupili in odrezali tretjino želoda nasproti radikule. Vermikulit smo 2 uri sterilizirali s sušenjem pri temperaturi 150 °C, nato ohladili do sobne temperature in navlažili z destilirano vodo. Tako pripravljen vermikulit smo dali v petrijevke. Na vermikulit smo postavili želod - v vsaki petrijevki je bilo 50 semen. Petrijevke smo nato deloma pokrili, tako smo omogočili izmenjevanje zraka. Želod je kalil v temi pri temperaturi 20 °C v termostatu. Vsakih nekaj dni smo prešteli število vzkaljenih želodov in jih odstranili iz petrijevk. Za vzkaljeni želod smo šteli tistega, pri katerem je bila radikula velika nekaj milimetrov. Kalivost smo ugotavljali v obdobju enega meseca na treh vzorcih po 50 želodov.

3.6 UGOTAVLJANJE VSEBNOSTI HRANIL V ŽELODU ANALYSIS OF THE CONTENT OF NUTRIENTS IN ACORNS

Poleg vsebnosti fosforja smo ugotavljali tudi vsebnost nekaterih pomembnejših hranil (K, Ca in Mg) v želodih zaradi možnih zanimivih povezav med vitalnostjo shranjenega želoda in vsebnostjo teh hranil.

Tri vzorce neolupljenega želoda smo grobo zmleli. Nato smo jih sušili dva tedna pri temperaturi 40 °C. Po sušenju smo jih zmleli v droben prah. Vzorce smo hranili v prahovkah v hladilniku pri temperaturi 1 °C. Hranila v vzorcih smo ugotavljali z mokrim razkrojem vzorcev (BLUM / SPIEGEL / WENZEL 1989, ÖNORM L 1085 1989). Bistvo te metode je, da se vzorci prekuhavajo v mešanici koncentriranih mineralnih kislin. Pri tem organske in mineralne snovi v vzorcu oksidirajo in se razkrojijo (KALAN 1996). Posamezna hranila smo ugotavljali po naslednjih postopkih (BLUM / SPIEGEL / WENZEL 1989):

magnezij in kalcij: plamenska atomska absorpcijska spektrometrija (FLAAS, Scan 1, Thermo Yarrel Ash, avtomatski podajalci vzorcev TJA 150 in DS 2000)

kalij: plamenska fotometrija (plamenski fotometer Flapho 4, Carl Zeiss)

Fosfor: spektrofotometrija (spektrofotometer MA 9524 Spekol 221, ISKRA)

Z zgoraj predstavljeno metodo smo ugotavljali ves fosfor v želodu, tistega, ki je vezan v fitinski kislini, pa tudi preostali anorganski fosfor.

3.7 UGOTAVLJANJE VSEBNOSTI FITINSKE KISLINE V ŽELODU ANALYSIS OF THE CONTENT OF PHYTIC ACID IN ACORNS

Fitinsko kislino v želodu smo ugotavljali z metodo m. d. d. (metal - dye detection) (MAYR 1988). Prednosti te metode pred drugimi so v večji natančnosti in preprosti uporabi. Prilagodili smo jo za delo s spektrofotometrom. Osnovni reagent smo pripravili po viru iz strokovne literature (LAUSSMANN et al. 1996). Priprava vzorcev želoda za ugotavljanje fitinske kisline je ista kot za ugotavljanje vsebnosti hranil. Ekstrakcijo fitinske kisline iz vzorcev želoda smo izvedli po viru iz strokovne literature (CRANS / MIKUS / FRIEHAUF 1995): 18 ml H₂O in 2 ml 15 % HCL (vol:vol) smo dodali v 2 g zmletega vzorca. Vzorec smo zmešali in ga pustili 30 minut na sobni temperaturi. Nato smo filtrirali. 2 µl vzorca smo dodali v 1 ml reagenta in merili transmisijo svetlobe pri valovni dolžini 546 nm.

3.8 STATISTIČNE METODE STATISTICAL METHODS

Vse rezultate analiz predstavljamo kot povprečje in odklon zaupanja pri tveganju $\alpha = 5$ %. Rezultati statističnih testov so prikazani kot tveganje, s katerim ovržemo ničelno hipotezo (p). Podatke o kalitvi smo transformirali s transformacijo "Arc sin", nato pa smo s transformiranimi podatki izvedli statistične teste.

S slučajnostnim dvofaktorskim poskusom (KOTAR 1977) smo preizkusili značilne razlike v analiziranih parametrih (vlažnost, kalivost, vsebnost fitinske kisline in vsebnost hranil) med posameznimi meseci shranjevanja in med obema izbranimi ploskvama. Preizkusili smo tudi interakcijo med meseci shranjevanja in ploskvama. Za testiranje

homogenosti varianc smo uporabili Bartlettov preizkus homogenosti varianc (KOTAR 1977).

4 REZULTATI RESULTS

Na ploskvi Panovec je bil obrod želoda poln, medtem ko je bil na ploskvi Pišece le delen.

Takoj po nabiranju je bila določena povprečna teža svežega želoda. Za vsako ploskev smo izbrali naključni vzorec desetih želodov v desetih ponovitvah. Rezultati so naslednji:

Panovec: $4,517 \pm 0,186$ g

Pišece: $3,575 \pm 0,236$ g

Rezultate podajamo kot povprečje in odklon zaupanja pri tveganju $\alpha = 5\%$.

t-test za povprečje: $p = 0,0002^{***}$

t-test za variabilnost: $p = 0,2431$

Želod s ploskve Panovec je statistično značilno težji kot s ploskve Pišece. Med njima ni statistično značilnih razlik v variabilnosti teže želoda.

Pri termoterapiji smo naknadno izločili ves želod, ki je splaval na površje vode (slab želod). S ploskve Panovec smo izločili samo 5 % želodov, medtem ko smo jih s ploskve Pišece izločili kar 25 %.

Naslednje analize želoda smo opravili pred shranjevanjem in nato vsake tri mesece (skupaj smo opravili štiri ponovitve analiz):

- vlažnost želoda
- kalivost želoda
- vsebnost hranil (P, K, Ca, Mg)
- vsebnost fitinske kisline

Analize vlažnosti želoda in vsebnosti nekaterih hranil v želodu (K, Ca, Mg) niso pokazale značilnih razlik med ploskvama v času shranjevanja, zato jih v nadaljevanju ne prikazujemo. Rezultate analiz ostalih parametrov predstavlja naslednja tabela.

Preglednica 2: Rezultati analiz kalivosti, fitinske kisline in fosforja v želodu po različnem času shranjevanja

Table 2: Results of germination, phytic acid & phosphorus in acorns after different time of storage

ČAS SHRANJEVANJA TIME OF STORAGE	PARAMETER* PARAMETER*	PANOVEC	PIŠECE
Ob začetku shranjevanja At the beginning of storage	kalivost <i>germination</i>	72,00 ± 13,33	90,76 ± 4,65
	fitinska kislina <i>phytic acid</i>	0,93 ± 0,31	2,67 ± 1,19
	fosfor <i>phosphorus</i>	0,019 ± 0,008	0,036 ± 0,005
Po 3 mesecih shranjevanja After 3 months of storage	kalivost <i>germination</i>	74,00 ± 12,12	93,33 ± 3,85
	fitinska kislina <i>phytic acid</i>	0,62 ± 0,14	1,69 ± 0,77
	fosfor <i>phosphorus</i>	0,027 ± 0,003	0,039 ± 0,007
Po 6 mesecih shranjevanja After 6 months of storage	kalivost <i>germination</i>	69,33 ± 13,11	88,00 ± 4,89
	fitinska kislina <i>phytic acid</i>	0,51 ± 0,02	0,94 ± 0,34
	fosfor <i>phosphorus</i>	0,028 ± 0,004	0,036 ± 0,005
Po 9 mesecih shranjevanja After 9 months of storage	kalivost <i>germination</i>	45,33 ± 9,42	57,33 ± 8,57
	fitinska kislina <i>phytic acid</i>	0,47 ± 0,03	0,75 ± 0,26
	fosfor <i>phosphorus</i>	0,026 ± 0,005	0,037 ± 0,007

*Kalivost želoda - [%]. Vsebnost fitinske kisline in fosforja - [% od suhe teže želoda]

Rezultate podajamo kot povprečje in odklon zaupanja pri tveganju $\alpha = 5\%$.

*The germination of acorns - [%]. The content of phytic acid and phosphorus - [% of dry weight]

Results are presented as the average and interval estimation with the level of significance $\alpha = 5\%$.

Razlike parametrov med ploskvama kažejo na potrditev hipoteze, saj je kalivost želoda večja na ploskvi, na kateri je tudi vsebnost fitinske kisline in fosforja v želodu večja. S pridobljenimi podatki smo izvedli slučajnostni dvofaktorski poskus. Rezultate podaja naslednja preglednica:

Preglednica 3: Rezultati slučajnostnega dvofaktorskega poskusa

Table 3: The results of the statistical two-factor test

ANALIZIRANI PARAMETER ANALYSED PARAMETER	ZNAČILNE RAZLIKE MED PLOSKVAMA [TVEGANJE - P] SIGNIFICANT DIFFERENCE BETWEEN PLOTS [P]	ZNAČILNE RAZLIKE MED MESECI [TVEGANJE - P] SIGNIFICANT DIFFERENCE BETWEEN MONTHS [P]	OBSTOJ INTERAKCIJE [TVEGANJE -P] INTERACTIONS [P]
Kalivost <i>Germination</i>	0,0003***	0,0002***	0,5866
Vsebnost fitinske kisline <i>Phytic acid</i>	0,0020**	0,0116*	0,1663
Vsebnost fosforja <i>Phosphorus</i>	0,0001***	0,4296	0,6853

S poskusom smo dokazali značilne razlike pri vseh analiziranih parametrih, med obema ploskvama. Največje značilne razlike nastopajo pri kalivosti želoda in vsebnosti celotnega fosforja v njem. Značilne razlike med meseci shranjevanja smo dokazali pri kalivosti želoda ter pri vsebnosti fitinske kisline. Pri nobenem parametru pa nismo dokazali interakcije med ploskvama in meseci shranjevanja.

Da bi ugotovili, v katerih mesecih shranjevanja se pojavljajo razlike med ploskvama, smo napravili posteriorno analizo LSD (najmanjša značilna razlika) za analizirane parametre. Rezultati analize LSD so v naslednji preglednici podani kot tveganje (p):

Preglednica 4: Rezultati analize LSD za raziskovalni ploskvi [tveganje - p]

Table 4: The results of the LSD analysis for the research plots [p]

ANALIZIRANI PARAMETER ANALYSED PARAMETER	ŠTEVILO MESECEV OD ZAČETKA SHRANJEVANJA ŽELODA NUMBER OF MONTHS FROM THE BEGINNING OF THE STORAGE OF ACORNS			
	0	3	6	9
Kalivost <i>Germination</i>	0,0176*	0,0086**	0,0254*	0,2742
Fitinska kislina <i>Phytic acid</i>	0,0022**	0,0409*	0,3747	0,5618
Fosfor <i>Phosphorus</i>	0,0025**	0,0281*	0,0773	0,0260*

Rezultati analize LSD med ploskvama po posameznih mesecih shranjevanja kažejo na razlike v kalivosti želoda ter vsebnosti fitinske kisline in fosforja v njem na začetku shranjevanja, nato pa postopoma izginejo.

Rezultati raziskave so pokazali, da ni bilo značilnih razlik v vlažnosti želoda med raziskovalnima ploskvama, hkrati pa ne v vlažnosti želoda med posameznimi meseci shranjevanja. Kalivost želoda je bila na ploskvi Pišece značilno večja kot na ploskvi Panovec. Vsebnost fitinske kisline in vsega fosforja v želodu je bila tudi značilno večja na ploskvi Pišece. Vendar se te razlike kažejo samo na začetku shranjevanja in postopoma izginejo. Sčasoma se tudi kalivost želoda na obeh ploskvah značilno zmanjša, predvsem proti koncu shranjevanja. Podobno velja za vsebnost fitinske kisline v želodu, vendar so tukaj razlike manj značilne. Med posameznimi meseci shranjevanja ni značilnih razlik v vsebnosti fosforja v želodu. Pri nobenem analiziranem parametru nismo dokazali interakcij med ploskvama in meseci shranjevanja, kar kaže, da ni značilnih razlik v časovnem obnašanju parametrov med obema ploskvama.

5 RAZPRAVA **DISCUSSION**

5.1 UVOD **INTRODUCTION**

Cilj naše raziskave je bilo testiranje hipoteze, da je kalivost gradnovega želoda po daljšem shranjevanju pozitivno odvisna od vsebnosti fitinske kisline, kar je pozitivno odvisno od vsebnosti celotnega fosforja v želodu, to pa je spet pozitivno odvisno od razpoložljivega fosforja v tleh.

5.2 PRILAGODITEV METODE M. D. D.

THE ADJUSTMENT OF THE M. D. D. (METAL-DYE DETECTION) METHOD

Raziskava je pokazala, da je prilagojena metoda m. d. d. primerna za ugotavljanje vsebnosti fitinske kisline v želodu.

V raziskavi smo metodo m. d. d. uporabili s spektrofotometrom in ne z metodo HPLC, kot je opisano v strokovni literaturi (MAYR 1988). Zato je postala metoda preprostejša in cenejša, a hkrati manj natančna. Kljub temu je bila primerna za opravljeno raziskavo. Primernost metode temelji na naslednjem:

– Želod smo nabrali v gradnovih sestojih, ki rastejo v naravnem okolju in so zato pod vplivom številnih spremenljivih zunanjih dejavnikov. Zunanji dejavniki (svetloba, toplota, vlažnost ...) lahko zelo vplivajo na vsebnost fitinske kisline v semenu (MILLER / YOUNGS / OPLINGER 1980a), zato se lahko vsebnost fitinske kisline v želodu med posameznimi leti in tudi znotraj enega leta zelo spreminja. V tem primeru ni smiselno ugotavljati natančne absolutne vsebnosti fitinske kisline v želodu.

– V raziskavi smo analizirali le želod z dveh raziskovalnih ploskev, kar je premajhno število ploskev, da bi v poskusu odstranili ali upoštevali vpliv ostalih dejavnikov, ki bi lahko, poleg razpoložljivega fosforja v tleh, vplivali na vsebnost fitinske kisline v želodu. Zato so bile za raziskavo pomembnejše večje razlike v vsebnosti fitinske kisline v želodu med ploskvama, ne pa tudi manjše, komaj zaznavne razlike, ki bi jih ugotovili z natančnejšo in dražjo metodo.

S prilagojeno metodo m. d. d. je možno ugotavljati vsebnost fitinske kisline samo do deleža 0,09 % v suhi teži želoda. Natančnost meritve s spektrofotometrom pri vsebnosti fitinske kisline do 0,52 % je 0,00057 %, pri vsebnosti fitinske kisline nad 0,52 % pa le 0,03456 %. Z metodo HPLC je možno ugotavljati vsebnost fitinske kisline do deleža 0,0023 % v suhi teži želoda (MAYR 1988), kar je manj kot znaša natančnost meritve s spektrofotometrom pri vsebnosti fitinske kisline nad 0,52 %. Zgornja primerjava obeh metod se nanaša le na uporabljeni postopek priprave vzorcev želoda. Če spremenimo postopek, se prejšnje vrednosti spremenijo, vendar ostane relativno razmerje natančnosti med metodo HPLC in spektrofotometrom isto.

Tako prilagojena metoda m. d. d. je primerna za vse podobne raziskave, pri katerih sta nitrost in cena pomembnejša od natančnosti ugotavljanja vsebnosti fitinske kisline v vzorcih.

5.3 VSEBNOST FITINSKE KISLINE V ŽELODU **THE CONTENT OF PHYTIC ACID IN ACORNS**

Na ploskvi Panovec je vsebnost fitinske kisline v želodu po nabiranju $0,93 \pm 0,31$ %, na ploskvi Pišece pa $2,67 \pm 1,19$ % (delež suhe teže želoda).

Rezultata sta primerljiva z objavljenimi v literaturi (preglednica 5). Vsebnost fitinske kisline v želodu, predvsem na ploskvi Pišece, je večja kot pri večini ostalih semen, kar je lahko posledica tega, da vrednosti iz literature pripadajo semenu kultiviranih kmetijskih rastlin, medtem ko so vzorci želoda dobljeni v naravnih gradnovih sestojih. Kmetijske rastline so kultivirane zato, da bi povečali njihove hranilne vrednosti, To lahko posredno vpliva tudi na zmanjšanje vsebnosti fitinske kisline v njihovem semenu, ker neugodno vpliva na prehrambno vrednost semena rastlin (RABOY 1990).

Vsebnosti fitinske kisline v semenu, objavljene v literaturi, kažejo na zelo veliko variabilnost med posameznimi avtorji in med posameznimi osebki iste vrste. To bi lahko bila posledica različnih dejavnikov okolja (MILLER / YOUNGS / OPLINGER 1980a). Zato v tej raziskavi ne smemo zanemariti vpliva ostalih dejavnikov okolja, ki jih nismo ovrednotili v poskusu.

5.4 POVEZAVA MED KALIVOSTJO ŽELODA, VSEBNOSTJO FITINSKE KISLINE V NJEM IN VSEBNOSTJO RAZPOLOŽLJIVEGA FOSFORJA V TLEH

THE CONNECTION BETWEEN THE GERMINATION OF ACORNS, THE CONTENT OF PHYTIC ACID IN THEM AND THE CONTENT OF AVAILABLE PHOSPHORUS IN SOIL

Rezultati raziskave so pokazali, da je na ploskvi, na kateri je večja vsebnost vsega fosforja v listih, tudi večja vsebnost vsega fosforja v želodu. Na tej ploskvi je tudi večja vsebnost fitinske kisline v želodu, hkrati pa je želod tudi bolj kaliv. Vendar so razlike opazne samo na začetku shranjevanja in nato sčasoma pri vsebnosti fitinske kisline in kalivosti postopoma izginejo.

Rezultati raziskave kažejo, da bi lahko obstajala pozitivna povezava med kalivostjo želoda po daljšem shranjevanju, vsebnostjo fitinske kisline v želodu in vsebnostjo razpoložljivega fosforja v tleh. Vendar se ta povezava razkriva samo na začetku shranjevanja, po nekaj mesecih pa ni več zaznavna, kar je v nasprotju s hipotezo, pri kateri je ta povezava pomembna prav na koncu daljšega shranjevanja.

Razlike med ploskvama v kalivosti, vsebnosti fitinske kisline in vsega fosforja v želodu niso izrazite, saj t-testi niso pokazali nobenih značilnih razlik med ploskvama. Dokazali smo jih šele z odstranitvijo vpliva časovne variacije med meseci (slučajnostni dvofaktorski poskus). Razlike v kalivosti želoda so lahko tudi posledica ostalih dejavnikov (rastišče, sestoje, obrod, velikost želoda, zdravstveno stanje želoda itd.) in ne le različne vsebnosti fitinske kisline v želodu. Podobno je tudi vsebnost fitinske kisline v želodu lahko odvisna od številnih dejavnikov okolja (svetloba, toplota, vlažnost ...) in ne le od vsebnosti razpoložljivega fosforja v tleh (MILLER / YOUNGS / OPLINGER 1980a). Ker smo izvedli študijo kot raziskavo enega primera na samo dveh ploskvah, vpliva vseh preostalih dejavnikov ni možno ovrednotiti.

Želod s ploskve Pišece ima večjo kalivost kot s ploskve Panovec. Za graden na ploskvi Pišece je značilno, da je v primerjavi s tistim, na ploskvi Panovec, bistveno starejši in vitalnejši, kar lahko vpliva na večjo kalivost želoda. Povprečna starost gradnovega sestojja na ploskvi Panovec je 60 let, medtem ko je na ploskvi Pišece 140 let, za graden pa je značilno, da ima najkakovostnejši obrod pri starosti nad 100 let (VUKIČEVIĆ 1987).

Ikriati je delež gradnovih dreves, ki pripadajo 1. razredu vitalnosti, na ploskvi Pišece bistveno večji (82 %) kot na ploskvi Panovec (43 %). K večji kalivosti želoda s ploskve Panovec bi lahko prispevali naslednji dejavniki: Ob nabiranju je graden na ploskvi Pišece delno obrodil, medtem ko je imel na ploskvi Panovec polni obrod. Želod s slednje je bil značilno težji kot s ploskve Pišece. S ploskve Pišece je bilo primerjalno tudi bistveno več slabega želoda (okužen, poškodovan, gnil, prazen).

5.5 UPADANJE KALIVOSTI ŽELODA IN VSEBNOSTI FITINSKE KISLINE V NJEM MED SHRANJEVANJEM

THE DECREASE OF GERMINATION OF ACORNS AND THE CONTENT OF PHYTIC ACID IN THEM DURING THE STORAGE

Rezultati raziskave so pokazali, da se je med shranjevanjem zmanjšala kalivost želoda hkrati z manjšanjem vsebnosti fitinske kisline v njem.

Rezultati so lahko posledica delovanja encimskega kompleksa fitaza, ki lahko med shranjevanjem počasi razkrajata fitinsko kislino v želodu. Kajti določeni encimi encimskega kompleksa fitaze so po vsej verjetnosti v želodu že pred kalitvijo (GIBSON / ULLAH 1990). Ker smo želod hranili pri temperaturi -1 °C in pri vlažnosti okoli 45 %, je bila v teh razmerah biokemijska aktivnost v želodu le upočasnjena, to pa je lahko ugodno vplivalo na dejavnost prisotnih encimov encimskega kompleksa fitaze. Daljše je bilo obdobje shranjevanja, več fitinske kisline je fitaza lahko razkrojila; če je bilo manj na začetku kalitve, je bil uspeh le-te zato manjši, saj so produkti hidrolize fitinske kisline ob kalitvi zelo pomembni za hitro rast celic (SOWA / CONNOR 1995).

5.6 UPORABNOST IZSLEDKOV RAZISKAVE V PRAKSI IN MOŽNOSTI ZA NADALJNJE RAZISKAVE

THE PRACTICAL USE OF RESEARCH RESULTS AND POSSIBILITIES FOR FURTHER RESEARCH

Izsledkov raziskave še ni možno prenesti v prakso kot izboljšavo metod daljšega shranjevanja želoda gradna. Čeprav rezultati raziskave kažejo, da bi razpoložljivi fosfor v

tleh lahko vplival na učinkovitost shranjevanja, ta hipoteza s pričujočo raziskavo ni potrjena. Šele če bi bila hipoteza z nadaljnjimi raziskavami večkrat potrjena, bi lahko začeli razmišljati o izboljšavi metode daljšega shranjevanja želoda. V tem primeru bi lahko želod za daljše shranjevanje (daljše od 6 mesecev) nabirali na rastiščih, bogatejših s fosforjem v tleh. Pomanjkljivost te metode pa bi bila, da bi lahko sadike, vzgojene iz tega želoda, sadili samo na rastiščih, podobnih tistim, na katerih je bil nabran (rastišča z večjo vsebnostjo razpoložljivega fosforja v tleh), kajti v Sloveniji seme in iz njega vzgojene sadike uporabljamo samo v semenski enoti, v okviru katere je bilo nabrano (PAVLE 1993). Tako ta metoda ne bi bila uporabna za shranjevanje želoda z ostalih rastišč in za njegovo setev oziroma sadnjo iz njega vzgojenih sadik na teh rastiščih.

Raziskave o vplivih fitinske kisline na kalivost in dolgoživost semena bi bilo priporočljivo nadaljevati predvsem z lončnimi poskusi z vrstami, ki imajo krajšo življenjsko dobo. Bistveno bolj bi lahko nadzorovali zunanje dejavnike, ker lahko zelo vplivajo na vsebnost fitinske kisline v semenu. Tako bi lahko tudi hitreje in natančneje potrdili možno odvisnost vsebnosti fitinske kisline v semenu od vsebnosti razpoložljivega fosforja v tleh. Šele v naslednji fazi bi nadaljevali zahtevnejše poskuse v naravnem okolju. Tako bi uporabne izsledke pridobili z manjšimi sredstvi in v krajšem času.

6 ZAKLJUČEK

CONCLUSION

Raziskava je pokazala, da je prilagojena metoda m. d. d. primerna za ugotavljanje vsebnosti fitinske kisline v želodu. Vsebnost fitinske kisline v želodu, predvsem na ploskvi Pišece, je večja kot pri večini kultiviranih kmetijskih rastlin. Na ploskvi, na kateri je večja vsebnost vsega fosforja v listih, je tudi večja vsebnost vsega fosforja v želodu, večja je vsebnost fitinske kisline v želodu, hkrati pa je tudi kalivost večja. Vendar so razlike opazne samo na začetku shranjevanja, kasneje postopoma izginejo. Med shranjevanjem se je manjšala kalivost želoda hkrati z manjšanjem vsebnosti fitinske kisline v njem.

Rezultati kažejo, da bi lahko obstajala pozitivna odvisnost med kalivostjo gradnovega želoda po daljšem shranjevanju, vsebnostjo fitinske kisline v želodu in vsebnostjo

razpoložljivega fosforja v tleh. Vendar so zaradi naslednjih dejstev rezultati raziskave premalo prepričljivi za gotovo trditev, da takšna povezava obstaja:

- Odvisnost med kalivostjo želoda, vsebnostjo fitinske kisline v želodu in vsebnostjo razpoložljivega fosforja v tleh se kaže samo na začetku shranjevanja.
- Razlike v kalivosti želoda in vsebnosti fitinske kisline in fosforja v želodu so med ploskvama zelo majhne.
- Raziskavo smo opravili samo na dveh ploskvah, tako da drugih dejavnikov, ki bi lahko vplivali na rezultate poskusa, nismo ovrednotili.

Potrebne bodo nadaljnje raziskave, ki bi našo hipotezo potrdile ali ovrgle.

7 POVZETEK

Na 55 % celotne gozdne površine v Sloveniji rastejo hrasti, ki so med listavci v srednjeročnih letnih potrebah naših gozdov po sadikah zastopani kar s 40 %. Pri pridobivanju želoda je težava zlasti v tem, da graden polno obrodi le vsakih 6 - 8 let. Zato je shranjevanje želoda tudi pri nas vse pomembnejše. Drugače od semen iglavcev je to shranjevanje tudi problematično, saj je možno želod uspešno shranjevati le do pol leta oziroma samo čez eno zimo. Zaradi rekalitrantnosti je želod občutljiv na dehidracijo, zato ga ne moremo posušiti, ne da bi občutno zmanjšali njegovo vitalnost. Zato ga tudi ne moremo shranjevati pri temperaturah globoko pod 0 °C, ker bi voda v njem zmrznila in ga poškodovala. Shranjujemo ga lahko le pri temperaturah okrog 0 °C, ko se biokemijska aktivnost v želodu le upočasni. Hkrati pa se ne ustavi aktivnost patogenih gliv, zato lahko želod shranjujemo, ne da bi občutno izgubil vitalnost, le nekaj mesecev.

Daljše shranjevanje gradnovega želoda gradna je še vedno obsežen nerešen problem. Na Poljskem shranjujejo semena v sodih, ki imajo drenažno cev speljano z dna do vrha pokrova, da vzdržujejo ustrezno razmerje O₂ in CO₂. Tako lahko želod shranjujejo tri leta pri -2 °C, ne da bi mu kalivost padla pod 60 %. Toda takšno shranjevanje ni poceni in ga uporabljajo le v posebnih primerih. Za uničevanje najnevarnejše patogene glive shranjenega želoda (*Ciboria batschiana*) in ostalih so v Franciji razvili metodo termoterapije, ki jo danes uporabljajo v večjem delu Evrope. Vendar so izkušnje pokazale, da tako seme okužijo sekundarne patogene glive in povzročijo škodo

uskladiščnemu želodu. V Franciji zdaj poizkušajo s postmaturacijo izboljšati kalivost semena po shranjevanju. Pred kratkim so v Nemčiji praktično preizkusili novo shranjevanje želoda pri nizkih temperaturah z vnaprejšno utrditvijo proti mrazu. Vendar so te raziskave šele na začetku razvijanja novih metod shranjevanja želoda.

Cilj te raziskave je prispevati k razvoju novih učinkovitih načinov daljšega shranjevanja gradnovega želoda, ki bi bili poceni in praktični in k poznavanju kalitve drevesnih vrst. Raziskovanje sloni na hipotezi, da bi lahko imela fitinska kislina v želodu pomembno vlogo pri kalitvi. Večja vsebnost fitinske kisline v želodu na začetku izboljša uspešnost kalitve. Vsebnost fitinske kisline v želodu je pozitivno odvisna od vsebnosti fosforja v njem, ta pa je pozitivno odvisna od vsebnosti razpoložljivega fosforja v tleh. Želod, nabran na rastiščih, ki so bogatejša z razpoložljivim fosforjem, vsebuje več fosforja, zato tudi več fitinske kisline in kalivost po daljšem shranjevanju je večja. Hipoteza sloni na naslednjih dejstvih:

- Fitinska kislina zmanjša mobilnost in razpoložljivost cinka, mangana, bakra, molibdena, kalcija, magnezija in železa v semenu do začetka kalitve.
- Vezana na proteine fitinska kislina zmanjša njihovo topnost in razpoložljivost v semenih do začetka kalitve.
- Fitinska kislina je pomemben antioksidant in preprečuje škodljivo oksidacijo, predvsem nenasičenih maščobnih kislin v semenu.
- Produkti hidrolize fitinske kisline ob kalitvi so pomembni za hitro rast celične membrane in stene.

Uporabili smo naslednje delovne metode. Za ugotavljanje vsebnosti fitinske kisline v želodu smo uporabili metodo m. d. d. (metal-dye detection) in jo prilagodili za svojo raziskavo tako, da je nismo uporabljali skupaj z metodo HPLC, ampak s spektrofotometrom. Metode shranjevanja želoda smo povzeli po strokovni literaturi in jih prilagodili namenom raziskave. Vlažnost in kalivost želoda smo ugotavljali po mednarodnih pravilih za testiranje semena ISTA. Hranila (P, K, Ca in Mg) smo ugotavljali z mokrim razkrojem vzorcev.

Poskus smo zastavili kot študijo enega primera. Za osnovo pri izbiri ploskev smo vzeli stalne raziskovalne ploskve hrastov, ki jih je postavil Gozdarski inštitut Slovenije v sodelovanju z Inštitutom za gozdno ekologijo-BOKU. Izbrali smo dve ploskvi gradna, ki

sta se bistveno razlikovali po vsebnosti vsega fosforja v listih, kar smo uporabili kot kazalec razpoložljivega fosforja v tleh. Želod smo nabrali na ploskvah oktobra 1997 in ga hranili 9 mesecev, do avgusta 1998. Pred shranjevanjem in nato vsake tri mesece smo opravili naslednje analize (skupaj štiri ponovitve analiz): vlažnost in kalivost želoda, vsebnost hranil (P, K, Ca in Mg) in vsebnost fitinske kisline v želodu. S pridobljenimi podatki smo izvedli slučajnostni dvofaktorski poskus.

Rezultati raziskave so pokazali, da je na ploskvi z večjo vsebnostjo vsega fosforja v listih tudi večja vsebnost vsega fosforja v želodu. V želodu s te ploskve je bila tudi večja vsebnost fitinske kisline, hkrati pa je bila tudi kalivost večja. Vendar so bile razlike opazne samo na začetku shranjevanja, kasneje pa so postopoma izginile.

Rezultati torej kažejo, da bi lahko obstajala pozitivna povezava med kalivostjo želoda po daljšem shranjevanju, vsebnostjo fitinske kisline v želodu in vsebnostjo fosforja v tleh. Vendar so rezultati premalo prepričljivi za gotovo trditev, da takšna povezava obstaja. Potrebne bodo nadaljnje raziskave, ki bi potrdile ali ovrgle to možno povezavo.

8 SUMMARY

Oaks grow on 55 % of the total forest area in Slovenia. In the mid-term plans of the needs for seedlings in Slovenian forests, the seedlings of oaks present among the broadleaves 40 % or ca 600.000 seedlings. The most important problem to get acorns is that sessile and common oak fructify only every 6 - 8 years. Because of that, the storage of acorns is becoming very important also in Slovenia. However, the storage of acorns is, in contrary to the coniferous seeds, very difficult, because the acorns can be successfully stored only for half a year or during one winter. Acorns are desiccation sensitive (recalcitrant seeds), so we can not dry them without heavily loosing their vitality. Because of that, we can not store the acorns at temperatures far below 0 °C, because the water in the seeds would freeze and damage the seeds. We can store them only at temperatures around 0 °C. At this temperature the biochemical activity in seeds is only slowed down and also the activity of the pathogen fungus is not stopped, so we can store the acorns without heavily loosing their vitality only for some months.

The long-term storage of acorns of common and sessile oak, is still a large unsolved problem. In Poland, they store acorns in barrels with a tube, which goes from the bottom to the top of the barrel. So they can manage a suitable ratio of O₂ and CO₂ and store the acorns for three years at -2 °C, without falling their vitality under 60 %. However, such storage is not cheap and they use it only in special cases. The method thermotherapy for destroying the most dangerous fungus of stored acorns (*Ciboria batschiana*) and for destroying other pathogenic fungus was developed in France. Nevertheless, the practical experience showed, that the emptiness after destroying the pathogenic fungus is quickly filled with secondary pathogenic fungus, which then damage the stored acorns. In France, they try now to improve the germination of acorns after storage with postmaturation. In Germany was recently practically tested a new method for storing acorns at low temperatures with improving their frost resistance. However, this research is still at the beginning of developing new methods for storing acorns.

The aim of this research is to develop new methods for long-term storage of acorns of common and sessile oak, which would be cheap and practical. The research is based on the hypothesis that the phytic acid in acorns has an important role in their germination. Higher content of phytic acid in acorns at the beginning of germination can improve their germination. The content of phytic acid in acorns is positively correlated with the content of available phosphorus in soil. The acorns from sites which are richer with available phosphorus have higher content of phosphorus in acorns, because of that higher content of phytic acid in acorns and so is the germination of the acorns at the end of the storage higher. The hypothesis is based on the following facts:

- Phytic acid decreases the availability of zinc, manganese, copper, molybdenum, calcium, magnesium and iron in the seeds until germination.
- When bound to protein, phytic acid induces a decrease of solubility and functionality (availability) of the protein in seeds until germination.
- Phytic acid is a stable and rich resource of potential energy, which is bound in rich phosphorus bonds.
- The products of the hydrolysis of phytic acid during germination are very important for the rapid cell membrane and wall formation.

The following methods were used. For analysing the content of phytic acid in acorns the m. d. d. (metal-dye detection) method was used. This method was adapted for the

urposes of the research, so that it was not used with the HPLC method but with the spectrophotometer. The methods for storing acorns were taken from the technical literature then adapted for the purposes of the research. Moisture and germination were tested based on the ISTA international rules for seed testing. The nutrients (P, K, Ca and Mg) were analysed with the wet digestion in acid mixture.

The experiment was carried out as a case study. For the selection of the plots, the permanent oak research plots, which were established by the Slovenian Forestry Institute in co-operation with the Institut für Waldökologie-BOKU, were used. Two plots were selected. They differed essentially in the content of the total phosphorus in the leaves, which was taken as the indicator of the available phosphorus in soil. Acorns were collected on the plots in October 1997, and then they were stored for 9 months until August 1998. Before the storage and then every three months the following analyses were made (together there were made four replications of analysis): moisture content in acorns, germination of the acorns, the content of nutrient (P, K, Ca and Mg) and the content of phytic acid in acorns. With the gained data, the statistical two-factor test was made.

The results of the research showed, that the plot which had higher content of the total phosphorus in leaves, had also higher content of the total phosphorus in acorns. On this plot, the acorns had also higher content of phytic acid and their germination was higher. However, the differences were observed only at the beginning of the storage and with the storage they disappeared.

The conclusion of this research is, that there could be a positive correlation between the vitality of the acorns after long-term storage, the content of phytic acid in acorns and the content of available phosphorus in soil. However, the results of the research are not enough convinced to say that such a correlation does exist. Further research will be needed to confirm or to disprove this possible correlation.

9 VIRI REFERENCES

- AKPAPUNAM, M. A. / IGBEDIOH, S. O. / AREMO, I., 1996. Effect of malting time on chemical composition and functional properties of soybean and bambara groundnut flours.- International journal of food sciences and nutrition, 47, 1, s. 27-33.
- AZAROV, E., 1995. Qualitative and quantitative characteristics of oaks on permanent research plots.- V: Oak decline in Slovenia. Endbericht über die Arbeiten. Ljubljana, Slovenian Forestry Institut, Wien, Institut für Waldökologie, s. 26-34.
- BAU, H. M. / VILLAUME, C. / NICOLAS, J. P. / MEJEAN, L., 1997. Effect of germination on chemical composition, biochemical constituents and antinutritional factors of soya bean (*Glycine max*) seeds.- J. Sci. Food. Agric., 73, 1, s. 1-9.
- BELEIA, A. / THU THAO, L. T. / IDA, E. I., 1993. Lowering phytic phosphorus by hydration of soybean.- J. Food. Sci., 58, s. 375-388.
- BLUM, W. E. H. / SPIEGEL, H. / WENZEL, W. W., 1989. Bodenzustandsinventur. Konzeption, Durchführung und Bewertung. Empfehlungen zur Vereinheitlichung der Vorgangsweise in Österreich.- Wien, Bundesministerium für Land- und Forstwirtschaft, s. 48-74.
- BONNET-MASIMBERT, M. / MULLER, C., 1993. Storage of acorns : Limits and recent breakthroughs.- V: Internationales Symposium über Forstsaatgut. 8. bis 11. Juni 1993, Münster/Uelzen, Niedersachsen, Niedersächsische Landesforsten, s. 119-131.
- CRANS, D. C. / MIKUS, M. / FRIEHAUF, R. B., 1995. Phytate metabolism in bean seedlings during post-germinative growth.- J. Plant. Physiol., 145, 1 - 2, s. 101-107.
- CUADRA, C. / MUZQUIZ, M. / BURBAND, C. / AYET, G. / CALVO, R. / OSAGIE, A. / CUADRADO, C., 1994. Alkaloid, a-galactoside and phytic acid changes in germinating lupin seeds.- J. Sci. Food. Agric., 66, 3, s. 357-364.
- DELATOUR, C. / MORELET, M., 1979. La pourriture noire de glands.- Revue Forestiere Française, 31, s. 101-115.
- FIEDLER, H. J. / NEBE, W. / HOFFMANN, F., 1973. Forstliche Planzenernährung und Düngung.- Jena, Gustav Fischer Verlag, 481 s.
- FINCH-SAVAGE, W. E. / GRANGE, R. I. / HENDRY, G. A. F. / ATHERTON, N. M., 1993. Embryo water status and loss of viability during dessication in the recalcitrant species *Quercus robur* L.- V: 4th Intern. Workshop on Seeds: Applied aspects of

- seed biology. D. Come, F. Corbineau, (ed.). Angers, Jul. 1992. Ed. Paris, Univ. Paris VI, s. 723-730.
- BOOTE, B. D. / HOWELL, R. W., 1963. Phosphorus tolerance and Sensitivity of soybeans as related to uptake and translocation.- *Plant Physiol.*, 39, s. 610-613.
- GIBSON, D. M. / ULLAH, A. B. J., 1990. Phytases and their action on phytic acid., - V: *Inositol metabolism in plants*. London, Wiley-Liss Inc., s. 77-92.
- GRAF, E. / EATON, J. N., 1990. Antioxidant functions of phytic acid.- *Free Radic. Biol. Med.*, 8, s. 61-70.
- GRECS, Z., 1996. Obnova gozdov s saditvijo - korak k višji kakovostni ravni gozdarske operativne stroke.- *Zbornik gozdarstva in lesarstva*, 51, s. 133-143.
- JUTHKE, J., 1992. Langzeitlagerung von Eichensaatgut - Probleme und Möglichkeiten.- Dissertation. Hannover, Universität Hannover.
- International Rules for Seed Testing.- Adopted at the Twenty-third International Seed Testing Congress - Argentina 1992 - to become effective on 1 July 1993. 1993.- *International Seed Testing Association, Seed Sci. & Technol.*, 21, Supplement.
- KALAN, J., 1995. Basic soil analyses.- V: *Oak decline in Slovenia, Endbericht über die Arbeiten*, Ljubljana, Slovenian Forestry Institut, Wien, Institut für Waldökologie, s. 43-46.
- KALAN, P., 1996. Statistično vrednotenje vzorčenja gozdnih tal za kemijsko analizo.- Magistrsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo, 68 s.
- KHANO, J. / JOST, T., 1979. Phytate interactions in soybean extracts and low-phytate soy protein products.- *J. Food. Sci.*, 44, s. 596-600.
- KOTAR, M., 1977. Statistične metode, Izbrana poglavja za študij gozdarstva.- Ljubljana, Oddelek za gozdarstvo, Biotehniška fakulteta, 510 s.
- KRAIGHER, H., 1996. Kakovostne kategorije gozdnega reprodukcijskega materiala, semenske plantaže in ukrepi za izboljšanje obroda.- *Zbornik gozdarstva in lesarstva*, 51, s. 199-215.
- LANZARA, P. / PIZZETTI, M., 1984. Drevesa.- Ljubljana, Mladinska knjiga, 93 s.
- LAU, T. C. / STEPHENSON, A. G., 1994. Effects of soil phosphorus on pollen production, pollen size, pollen phosphorus content, and the ability to sire seeds in Cucurbita pepo (Cucurbitaceae).- *Sex Plant Reprod.*, 7, s. 215-220.
- LAUSSMANN, T. / EUJEN, R. / WEISSHUHN, C. M. / THIEL, U. / VOGEL, G., 1996. Structures of diphospho-myo-inositol pentakisphosphate and bisdiphospho-myo-

- inositol tetrakisphosphate from Dictyostelium resolved by NMR analysis.-
Biochem. J., 315, s. 715-720.
- MAGA, J., 1982. Phytate : It's chemistry, occurrence, food interactions, nutritional
significance and methods of analysis.- J. Agric. Food. Chem., 30, s. 1-9.
- MARSCHNER, H., 1990. Mineral nutrition of higher plants.- San Diego, Academic press
limited, 674 s.
- MAYR, W., 1988. A novel metal-dye detection system permits picomolar-range h.p.l.c.
analysis of inositol polyphosphates from non-radioactively labelled cell or tissue
specimens.- Biochem. J., 254, s. 585-591.
- MILLER, G. A. / YOUNGS, V. L. / OPLINGER, E. S., 1980a. Effect of available soil
phosphorus and environment on the phytic acid concentration in oats.- Cereal
Chem., 57, 3, s. 192-194.
- MILLER, G. A. / YOUNGS, V. L. / OPLINGER, E. S., 1980b. Environmental and
cultivar effects on oat phytic acid concentration.- Cereal Chem., 57, 3, s. 189 - 191.
- NATZKE, E., 1996. Die lagerung von Eichel - ein weiterhin ungelöstes problem.- Forst
und Holz, 51, 6, s. 180-183.
- OHLROGGE, J. B. / KERNAN, T. P., 1982. Oxygen dependent ageing of seeds.-
Physiol. Plant., 70, s. 791-795.
- ÖNORM L 1085, 1989. Chemische Bodenuntersuchungen; Bestimmung der mineralischen
Nähr- und Schadelemente im Säureaufschluss.- Wien, Österreichisches
normungsinstitut, 5 s.
- OWEN, R. W. / WEISGERBER, U. M. / SPIEGELHALDER, B. / BARTSCH, H., 1996.
Faecal phytic acid and its relation to other putative markers of risk for colorectal
cancer.- Gut, 38, s. 591-597
- PAVLE, M., 1993. Oblikovanje semenarskih enot na osnovi gozdnih združb.- GozdV,
51, s. 270-277.
- PAVLE, M., 1997. Semenski sestoji v Sloveniji - Register. - Ljubljana, Gozdarski inštitut
Slovenije, 40 s.
- Poročilo Zavoda za gozdove Slovenije o gozdovih za leto 1998. 1999.- Ljubljana, Zavod
za Gozdove Slovenije, 36 s.
- Program razvoja gozdov v Sloveniji (NPRG). 1996.- Ur.l. RS št. 14, s. 981-994.
- RABOY, V. / DICKINSON, D. B., 1984. Effect of phosphorus and zinc nutrition on
soybean seed phytic acid and zinc.- Plant Physiol., 75, s. 1094 - 1098.

- RABOY, V. / DICKINSON, D. B., 1993. Phytic acid levels in seeds of Glycine max and G. soja as influenced by phosphorus status.- *Crop. Sci.*, 33, 6, s. 1300-1305.
- RABOY, V., 1990. Biochemistry and genetics of phytic acid synthesis.- V: *Inositol metabolism in plants*, London, Wiley-Liss Inc., s. 55-76.
- REGENT, B., 1980. Šumsko sjemenarstvo.- Beograd, Jugoslovenski poljoprivredno šumarski centar, Služba šumske proizvodnje, 205 s.
- SIMONČIČ, P., 1995. Foliar analyses.- V: *Oak decline in Slovenia*. Endbericht über die Arbeiten. Ljubljana, Slovenian Forestry Institut, Wien, Institut für Waldökologie, s. 72-84.
- SMOLE, I., 1995. Vegetations- und Standortsverhältnisse der ständigen Versuchsflächen in den Eichenwäldern Sloweniens.- V: *Oak decline in Slovenia*, Endbericht über die Arbeiten. Ljubljana, Slovenian Forestry Institut, Wien, Institut für Waldökologie, s. 47-59.
- SMOLEJ, I. / BRUS, R. / PAVLE, M. / ŽITNIK, S. / GRECS, Z. / BOGATAJ, N. / FERLIN, F. / KRAIGHER, H., 1998. Beech and oak genetic resources in Slovenia.- V: *First EUFORGEN Meeting on Social Broadleaves*, Rome, IPGRI, s. 64-74.
- SMOLEJ, I., 1995a. General features of the project.- V: *Oak decline in Slovenia*, Endbericht über die Arbeiten. Ljubljana, Slovenian Forestry Institut, Wien, Institut für Waldökologie, s. 4-10.
- SMOLEJ, I., 1995b. Permanent research plots.- V: *Oak decline in Slovenia*, Endbericht über die Arbeiten. Ljubljana, Slovenian Forestry Institut, Wien, Institut für Waldökologie, s. 11-14.
- SOWA, S. / CONNOR, K. F., 1995. Biochemical changes during pollen germination measured in vivo by infrared spectroscopy.- *Plant science*, 105, 1, s. 23-30.
- SPETHMANN, W., 1994. Optimierung der Eichen - Saatgutbehandlung bei Ernte und Lagerung.- *Mitteilung aus der Forstlichen Versuchsanstalt Rheinland-Pfalz*, 34, s. 244-255.
- Srednjeročne letne potrebe slovenskih gozdov po sadikah. 1994.- Ljubljana, Zavod za gozdove Slovenije.
- STEINHOFF, S., 1993. Untersuchungen zur Einlagerung von Eichel in Escherode.- *Forst und Holz*, 48, 7, s. 192-197.
- STEVENSON, F. J., 1986. Cycles of soil-carbon, nitrogen, phosphorus, sulfur, micronutrients.- *John Wiley & Sons, Inc.*, 380 s.

- SUSZKA, B. / MULLER, C. / BONNET-MASIMBERT, M., 1996. Seeds of forest broadleaves.- Paris, INRA, s. 295.
- SUSZKA, B. / TYLKOWSKI, T., 1980. Storage of acorns of the English oak (*Quercus robur* L.) over 1-5 winters.- Arboretum Kornickie, 25, s. 199-229.
- Šumarska Enciklopedija. 1983.- Drugo izdanje, II. sveska, Zagreb, Jugoslavenski Leksikografski Zavod, 730 s.
- VUKIČEVIĆ, E., 1987. Dekorativna dendrologija.- Beograd, Naučna knjiga, 580 s.

10 ZAHVALA ACKNOWLEDGEMENTS

Prispevek predstavlja del magistrske naloge mag. S. Žitnika, ki je nastala pod mentorstvom doc. dr. H. Kraigher. Zahvaljujemo se prof. dr. Franc Batiču, doc. dr. Juriju Diaciju in prof. dr. Marjanu Kotarju za konstruktivne pripombe in pregled uporabljenih statističnih metod, prof. dr. D. E. Hankeju in njegovi raziskovalni skupini, predvsem dr. C. Brearleyju za uvajanje v metodo ugotavljanja fitinske kisline v želodu in za strokovno pomoč pri prilagajanju metode za to nalogo (v okviru enomesečne štipendije COST E6 TREEPHYSIOLOGY). Hvala prof. dr. Hansu-J. Muhsu za vodenje raziskovalnega dela na Inštitutu za gozdno genetiko in žlahtnenje gozdnih dreves v Großhansdorfu (v okviru enomesečne štipendije DAAD) ter dr. Claudine Muller, dr. Andreju Clémentu in dr. Marcu Bonnetu Masimbertu za vodenje raziskovalnega dela na inštitutu INRA - Center Nancy (v okviru slovensko - francoskega projekta PROTEUS). Jani Janša se zahvaljujemo za uvajanje v laboratorijsko delo in za pomoč pri laboratorijskem delu in shranjevanju želoda, mag. Poloni Kalan, Magdi Špenko in Nini Rotar pa za pomoč pri ugotavljanju hranil v želodu, za uvajanje v laboratorijsko delo in za pomoč pri ugotavljanju fitinske kisline v želodu. Delo je financiralo Ministrstvo za znanost in tehnologijo RS v okviru programa mladih raziskovalcev, sofinanciralo Ministrstvo za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano RS v okviru CRP GOZD B7: V9-6912, del naloge pa sovpada s programom JGS.

