Utjecaj termoterapije na mikobiotu, rasadničku klijavost žira hrasta lužnjaka (Quercus robur L.) i morfološke značajke sadnica golog korijena (1+0)

Vukelić, Marko

Master's thesis / Diplomski rad

2018

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Forestry / Sveučilište u Zagrebu, Šumarski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:108:066793

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

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

Repository / Repozitorij:

University of Zagreb Faculty of Forestry and Wood Technology

ŠUMARSKI FAKULTET SVEUČILIŠTA U ZAGREBU

ŠUMARSKI ODSJEK

SVEUČILIŠNI DIPLOMSKI STUDIJ

UZGAJANJE I UREĐIVANJE ŠUMA S LOVNIM GOSPODARENJEM

MARKO VUKELIĆ

UTJECAJ TERMOTERAPIJE NA MIKOBIOTU, RASADNIČKU KLIJAVOST ŽIRA HRASTA LUŽNJAKA (*Quercus robur* L.) I MORFOLOŠKE ZNAČAJKE SADNICA GOLOG KORIJENA (1+0)

DIPLOMSKI RAD

ZAGREB, 2018.

ŠUMARSKI FAKULTET SVEUČILIŠTA U ZAGREBU

ŠUMARSKI ODSJEK

UTJECAJ TERMOTERAPIJE NA MIKOBIOTU, RASADNIČKU KLIJAVOST ŽIRA HRASTA LUŽNJAKA (*Quercus robur* L.) I MORFOLOŠKE ZNAČAJKE SADNICA GOLOG KORIJENA (1+0)

DIPLOMSKI RAD

Diplomski studij: Uzgajanje i uređivanje šuma s lovnim gospodarenjem

Predmet: Uzgajanje šuma posebne namjene

Ispitno povjerenstvo: doc. dr. sc. Damir Drvodelić

prof. dr. sc. Milan Oršanić

dr. sc. Jelena Kranjec Orlović

Student: Marko Vukelić

JMBAG: 0068212713

Broj indeksa: 826/16

Datum odobrenja teme: 19.4.2018.

Datum predaje rada: 28.9.2018.

Datum obrane rada: 28.9.2018.

Zagreb, rujan, 2018.

Dokumentacijska kartica

Naslov	Utjecaj termoterapije na mikobiotu, rasadničku klijavost žira hrasta lužnjaka (*Quercus robur* L.) i morfološke značajke sadnica golog korijena (1+0)
Title	Influence of thermotherapy on mycobiota, nursery germination of pedunculate oak (*Quercus robur* L.) acorns and morphological properties of bare root seedlings (1+0)
Autor	Marko Vukelić
Adresa autora	Brestača 169, 44330 Novska
Mjesto izrade	Zagreb
Vrsta objave	Diplomski rad
Mentor	doc. dr. sc. Damir Drvodelić
Izradu rada pomagao	doc. dr. sc. Damir Drvodelić
Godina objave	2018.
Obujam	Broj stranica: 67 Broj tablica: 32 Broj slika: 21 Broj grafova: 37
Ključne riječi	termoterapija, mikobiota, rasadnička klijavost, žir, hrast lužnjak, morfologija sadnica
Key words	thermotherapy, mycobiota, nursery germination, acorn, seedling morphological properties
Sažetak	U laboratorijskim uvjetima pripremili smo žir za termoterapiju u kojoj će se ispitivati mortalitet embrija i klijavost sjemena prema ISTA pravilima. Drugi dio termoterapije žira će ići u rasadnički pokus na sjetvu u plohe 200x10. U rasadniku će se posijati kontrolno i termotretirano sjeme prethodno tretiranih na temperaturama od 41˚C i 45˚C u trajanju od 2,5 i 5,0 h i čuvano na -1˚C i +3˚C. U jesen će se ispitati rasadnička klijavost žira i morfološke značajke sadnica 1+0 golog korijena. S obzirom na provedena tretiranja analizirat će se brojnost micelija gljiva na žiru. Raspravit ćemo pojavu mortaliteta s obzirom na povećanje temperature, te morfološke značajke dobivene pokusom u rasadniku. Na temelju dobivenih rezultata donose se zaključci o učinkovitosti termoterapije.

Izjavljujem da je moj diplomski rad izvorni rezultat mojega rada te da se u izradi istoga nisam koristio drugim izvorima osim onih koji su u njemu navedeni.

_____

Marko Vukelić

U Zagrebu, 28. rujna 2018.

Sadržaj

1. UVOD 1

1.1. Povijest i važnost rasadničke proizvodnje sadnica hrasta lužnjaka (*Quercus robur* L.) u Hrvatskoj 1

1.2. Problematika klijavosti žira hrasta lužnjaka (*Quercus robur* L.) 3

1.3. Tehnike i utjecaj termoterapije 3

2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA 7

3. MATERIJAL I METODE RADA 8

3.1. Laboratorij za šumsko sjemenarstvo i rasadničarstvo na Zavodu za ekologiju i uzgajanje šuma na Šumarskom fakultetu 8

3.1.1. Analiziranje sjemena i dobivanje apsolutne mase 8

3.1.2. Mortalitet embrija 9

3.1.4. Termoterapija žira za rasadnički pokus 17

3.1.5. Izolacija micelija gljiva iz žira 18

3.2. Rasadnik Šumski vrt i arboretum Šumarskog fakulteta 19

3.2.1. Sjetva tretiranog žira 19

4. REZULTATI ISTRAŽIVANJA 24

5. RASPRAVA 59

6. ZAKLJUČAK 63

7. LITERATURA 65

POPIS SLIKA

Slika 1. Skenirani žir hrasta lužnjaka (*Quercus robur L.*) 4x25 *Epson Expression 10000XL* (izvor: Damir Drvodelić, Datum: 30.11.2017.)
Slika 2. Termoterapija i provjera temperature - *Kambič RK-980* (izvor: Marko Vukelić, datum: 10.02.2018.)
Slika 3. Skinuta sjemena ljuska i perikarp te rez 2/3 suprotno od radikule (izvor: Marko Vukelić, datum: 28.02.2018.)
Slika 4. Žir hrasta lužnjaka (*Quercus robur L.*) položen na kvarcni pijesak (izvor: Marko Vukelić, datum: 28.02.2018.)
Slika 5. Proces rada *Kambič – RK 980* (izvor: Marko Vukelić, datum: 28.02.2018.)
Slika 6. Pojava gljivica na kvarcnome pijesku (izvor: Marko Vukelić, datum: 7.3.2018.)
Slika 7. Pojava prvih klijanaca hrasta lužnjaka (*Quercus robur L.*) (izvor: Marko Vukelić, datum: 14.03.2018.)
Slika 8. Klijanci hrasta lužnjaka (*Quercus robur L.*) po temperaturama 42-60˚C (izvor: Marko Vukelić, datum: 09.04.2018.)
Slika 9. Klijanci hrasta lužnjaka (*Quercus robur* L.) stari 42. dana dobiveni iz termotretiranog žira na 46°C (izvor: Marko Vukelić, datum: 09.04.2018.)
Slika 10. Pravilni klijanac hrasta lužnjaka (*Quercus robur* L.) prema ISTA pravilima o procjeni klijanaca (izvor: Marko Vukelić, datum: 09.04.2018.)
Slika 11. Nepravilni klijanac hrasta lužnjaka (*Quercus robur* L.) prema ISTA pravilima o procjeni klijanaca (izvor: Marko Vukelić, datum: 09.04.2018.)
Slika 12. Planski prikaz gredica u rasadniku
Slika 13. Gredice spremne za sjetvu (izvor: Marko Vukelić, datum: 03.05.2018.)
Slika 14. Ponavljanja od 4x50 žireva hrasta lužnjaka (*Quercus robur L.*) spremnih za sjetvu (izvor: Marko Vukelić, datum: 03.05.2018.)
Slika 15. Ručna sjetva 50 žireva u red (izvor: Marko Vukelić, datum: 03.05.2018.)
Slika 16. Izgled gredica nakon obavljene sjetve (izvor: Marko Vukelić, datum: 03.05.2018.)
Slika 17. Sadnice hrasta lužnjaka (*Quercus robur* L.) na pokusnim plohama (izvor: Marko Vukelić, datum: 10.09.2018.)
Slika 18. Višestruki izbojci iz žira na sadnici iz rasadničkog pokusa (izvor: Marko Vukelić, datum: 18.06.2018.)

Slika 19. Formirana infekcija koja je uzrokovala trulež kotiledona 31/07 (izvor: Marko Vukelić, datum: 09.04.2018)
Slika 20. Klijanac hrasta lužnjaka (Quercus robur L.) na 52°C (izvor: Marko Vukelić, datum: 09.04.2018.)
Slika 21. Procjena kvalitete klijanca hrasta lužnjaka (Quercus robur L.) prema ISTA pravilima (izvor: Marko Vukelić, datum: 09.04.2018)

POPIS TABLICA

Tablica 1. Rasadnici Hrvatskih šuma d.o.o. po UŠP
Tablica 2. Grupe žireva hrasta lužnjaka (*Quercus robur L.*) tretiranih na određenim temperaturama i u određenim vremenskim periodima
Tablica 3. Mjerenje mase 1000 zračno suhih plodova (g) hrasta lužnjaka (*Quercus robur* L.)
Tablica 4. Energija klijavosti (%) plodova (g) hrasta lužnjaka (*Quercus robur* L.)
Tablica 5. Laboratorijska klijavost hrasta lužnjaka (*Quercus robur* L.) 14-og dana
Tablica 6. Laboratorijska klijavost na posljednjem brojanju 42. dan
Tablica 7. Ispitivanje brojnosti micelija
Tablica 8. Prvo brojanje sadnica hrasta lužnjaka (*Quercus robur* L.) u rasadničkom pokusu
Tablica 9. Završno brojanje (10.7.) sadnica hrasta lužnjaka (*Quercus robur* L.) u rasadničkome pokusu
Tablica 10. ANOVA tablica visine hrasta lužnjaka (*Quercus robur* L.)
Tablica 11. Tukey HSD test za visinu sadnica H (mm) hrasta lužnjaka (*Quercus robur* L.)
Tablica 12. ANOVA tablica promjera vrata korijena hrasta lužnjaka (*Quercus robur* L.)
Tablica 13. ANOVA tablica koeficijenta vitkosti (H/d) hrasta lužnjaka (*Quercus robur* L.)
Tablica 14. Tukey HSD test za varijablu koeficijenta vitkosti (H/d)
Tablica 15. Kruskal-Wallis ANOVA po kategorijama; Broj grana prvoga reda (kom)
Tablica 16. Kruskal-Wallis ANOVA po kategorijama; Kut otklona najdulje grane (°)
Tablica 17. Kruskal-Wallis ANOVA po kategorijama; Duljina najdulje grane (mm)
Tablica 18. Kruskal-Wallis ANOVA po kategorijama; Početak grananja (mm)
Tablica 19. parametrijski test ANOVA broj listova (kom)
Tablica 20. Tukey SHD test broja listova hrasta lužnjaka (*Quercus robur* L.)
Tablica 21. parametrijski test ANOVA boja lišća (0-3)
Tablica 22. Tukey SHD test boja listova hrasta lužnjaka (*Quercus robur* L.)

Tablica 23. parametrijski test ANOVA jedan ili više glavnih izbojaka (0-1)
Tablica 24. Tukey SHD test jedan ili više glavnih izbojaka (0-1) hrasta lužnjaka (*Quercus robur* L.)
Tablica 25. parametrijski test ANOVA rašljavost izbojka (0-1)
Tablica 26. Tukey SHD test rašljavost izbojka hrasta lužnjaka (*Quercus robur* L.)
Tablica 27. parametrijski test ANOVA četkastog izbojka (0-1)
Tablica 28. parametrijski test ANOVA grana na četki (kom)
Tablica 29. parametrijski test ANOVA deformacije stabljike (0-1)
Tablica 30. parametrijski test ANOVA deformacije stabljike (0-1)
Tablica 31. Kruskal-Wallis ANOVA po kategorijama; Broj višestrukih izbojaka (kom)
Tablica 32. Postotno učešće sadnica hrasta lužnjaka (Quercus robur L.) 1+0 golog korijena različitog tretiranja prema visinskim klasama (Hrvatske šume d.o.o.)

POPIS GRAFOVA

Graf 1. Distribucija normaliteta za mortalitet (%)
Graf 2. Distribucija normaliteta za visinu H (mm)
Graf 3. LS ANOVA za visine H (mm)
Graf 4. ANOVA distribucija promjera vrata korijena d (mm)
Graf 5. LS ANOVA distribucija koeficijenta vitkosti (H/d)
Graf 6. Distribucija broja grana prvoga reda (kom)
Graf 7. Box whisker graf distribucije broja grana prvoga reda (kom)
Graf 8. Distribucija A-J broja grana prvoga reda (kom)
Graf 9. Distribucija kuta otklona najdulje grane (°)
Graf 10. Box whisker graf distribucije kuta otklona najdulje grane (°)
Graf 11. Distribucija A-J kuteva otklona najdulje grane (°)
Graf 12. Distribucija duljine najdulje grane (mm)
Graf 13. Box whisker graf distribucije duljine najdulje grane (mm)
Graf 14. Distribucija A-J duljine najdulje grane (mm)
Graf 15. Distribucija početka grananja (mm)
Graf 16. Box whisker graf distribucije distribucija za početak grananja (mm)
Graf 17. Distribucija A-J početak grananja (mm)
Graf 18. Distribucija broja listova (kom)

Graf 19. LS ANOVA distribucija broja listova (kom)

Graf 20. Distribucija A-J broja listova (kom)

Graf 21. Distribucija boja lišća (0-3)

Graf 22. Distribucija A-J boja listova (0-3)

Graf 23. LS ANOVA distribucija boje lišća (0-3)

Graf 24. Distribucija jedan glavni izbojak (0-1)

Graf 25. LS ANOVA distribucija jedan ili više glavnih izbojaka (0-1)

Graf 26. Distribucija rašljavosti izbojka (0-1)

Graf 27. LS ANOVA distribucija rašljavosti izbojka (0-1)

Graf 28. Distribucija četkast izbojak (0-1)

Graf 29. LS ANOVA distribucija četkastog izbojka (0-1)

Graf 30. Distribucija broja grana na četki (kom)

Graf 31. LS ANOVA distribucija grana na četki (kom)

Graf 32. Distribucija deformacija stabljike (0-1)

Graf 33. LS ANOVA distribucija deformacije stabljike (0-1)

Graf 34. Distribucija broja višestrukih izboja

Graf 35. ANOVA distribucija broj višestrukih izbojaka (kom)

Graf 36. Distribucija A-J broj višestrukih izbojaka (kom)

Graf 37. Postotak pravilnih i nepravilnih sadnica prilikom ispitivanja mortaliteta sjemena

1. UVOD

1.1. Povijest i važnost rasadničke proizvodnje sadnica hrasta lužnjaka (*Quercus robur* L.) u Hrvatskoj

Pod rasadnikom se podrazumijeva posebno uređena površina zemljišta na kojoj se kroz sustav tehnološko-tehničkih postupaka proizvode sadnice za odgovarajuću privrednu granu (šumarstvo, urbanu i pejzažnu arhitekturu, voćarstvo i dr.). Šumski rasadnici služe za proizvodnju sadnica za pošumljavanje goleti, osnivanje plantaža, melioracije degradiranih šuma i šikara, erodiranih terena, jalovišta i dr.

Sve do kraja Drugog svjetskog rata šumske sadnice se proizvode u privremenim šumskim rasadnicima u kojima se uglavnom radilo ručno. Najviše su se proizvodile sadnice četinjača, i to nepresađenice. Samo na području krša su se proizvodile sadnice obloženog korijena. Najveći broj postojećih rasadnika osnovan je šezdesetih godina ovoga stoljeća. U njima je uvedena suvremena tehnologija proizvodnje. Velika pažnja posvećuje se porijeklu i kvaliteti sjemena, kontroli plodnosti tla, te mjerama zaštite.

Tablica 1. Rasadnici Hrvatskih šuma d.o.o. po UŠP

Rasadnik	**Površina rasadnika (ha)**	**UŠP**	**Površina RJ po UŠP (ha)**	**Vrsta proizvodnje**
Zalužje	22,21	Vinkovci	22,21	lužnjak, jasen
Višnjevac	28,56	Osijek	61,62	topola,lužnjak
Topolje	16,29			topola, jasen
Repnjak	5,58			topola
Biljski Rit	11,19			topola
Hajderovac	25,58	Požega	25,58	kitnjak, cijepovi
Zdenački Gaj	10,09	Bjelovar	13,90	lužnjak
Sjevernjaci	3,81			kitnjak
Močile	11,68	Koprivnica	72,71	bukva,ostalo
Drnje	11,85			kont. bjelogorica; topola
Zelendvor	29,05			crnogorica; BD
Županetnica	2,70			BD
Limbuš	17,43			lužnjak, joha
Lukavec	13,38	Zagreb	23,07	lužnjak, kitnjak,ostalo
Brestje	9,69			jasen; ukrasne sadnice

Oštarije	32,56	Ogulin	32,56	crnogorica; BD
Podbadanj	0,91	Senj	0,91	ukrasne sadnice
Frančeskija	21,13	Buzet	21,13	ukrasne sadnice, šum. sad. kontejner
Cernik	19,02	N. Gradiška	19,02	lužnjak, jasen
Piket d.o.o.		Split		kont. sad, crnogorice, presadnice povrća
UKUPNO:	**292,71**			

Hrast lužnjak (*Quercus robur* L.) je nesumnjivo naša najvažnija gospodarska vrsta što se tiče samoga ekosustava nizinskih šuma i također što se tiče gospodarske vrijednosti i važnosti. Neredoviti urod žira i problemi koji se javljaju kod obnove sastojina hrasta lužnjaka (*Quercus robur* L.), razlog su stalnog povećanja potreba za šumskim sadnicama naše najvrednije vrste drveća (Orlić, 2000). Na primjer, isporuka sadnica hrasta lužnjaka u razdoblju 1991–1998. godine, iznosila je oko 7 mil. kom. godišnje, dok su planirane količine za razdoblje 1999–2003. iznosile od 7,5 do 8,2 mil. kom. (Žgela, 1999). Uz povećanje količine proizvedenih sadnica, trebalo bi nastojati i povećati proizvodnju kvalitetnijih sadnica koje će bolje ispuniti namijenjenu im zadaću tijekom sadnje na terenu. (Roth i dr. 2011)

Kvaliteta šumskih sadnica koje se isporučuju iz rasadnika, između ostalog rezultat je uzgojnih mjera (Tsakaldimi i dr. 2005, Duryea 1985). Osim uspjeha sadnica nakon presadnje, dobra kvaliteta sadnica osigurava i njihovo manje oštećenje tijekom transporta, skladištenja i rukovanja. Pojedini element kvalitete sadnica sam za sebe nije dovoljan za određivanje ukupne kvalitete koju čini genetsko porijeklo i njezino fizičko stanje (morfološke i fiziološke značajke). Kvaliteta sadnog materijala predstavlja kombinaciju visine, promjera vrata korijena, stanja ishrane, zdravstvenog stanja, veličine i oblika korijena sadnica. Ove karakteristike sadnoga materijala, uz stanišne uvjete, utječu na preživljenje i uspjeh nakon sadnje. Stoga je za uspjeh nakon presadnje na teren ključno uskladiti stanišne uvjete sa morfološkim i fiziološkim značajkama sadnica (Colombo, 2001; Jaenicke 1999, Davis i dr. 2005, Mattson 1996). Poznato je kako morfološki elementi kvalitete sadnica, poput visine i promjera vrata korijena, ne koreliraju u svim slučajevima s uspjehom nakon presadnje na teren (Davis i dr. 2005, Jacobs i dr. 2005). U svrhu postizanja dobrih rezultata, potrebno je uskladiti kvalitetu šumskog reprodukcijskog materijala sa specifičnim uvjetima koji vladaju na pojedinom staništu. Morfološke značajke sadnica mogu poslužiti i za utvrđivanje uspješnosti određenih metoda uzgoja u pojedinom rasadniku.

1.2. Problematika klijavosti žira hrasta lužnjaka (*Quercus robur* L.)

Hrast lužnjak ne rađa obilnim urodom svake godine. Tijekom posljednjih nekoliko godina urod žira je sve slabiji. Slabiji urod utječe na prirodno pomlađivanje sastojina hrasta lužnjaka. Iz toga razloga se podliježe umjetnom pomlađivanju i proizvodnji šumskih sadnica u šumskim vrtovima i arboretumima.

Dobro uskladišten žir je preduvjet za uzgoj šumskih sadnica koje će se koristiti kod umjetne obnove sastojina i kod popunjavanja nedovoljno obnovljenih površina.. Žir pripada vrstama slabo dormantnog sjemena. Najbolji način bio bi da svježe sakupljeno sjeme odmah uskladištimo jer nam je u interesu da imamo što zdraviji žir prilikom sjetve. Žir koji nije sakupljen odmah ili žir koji je loše uskladišten pod utjecajem je zoocenoze koji oštećuju ili drastično smanjuju kvalitetu žira (npr. kukci i glodavci). Preduvjet za razvoj dobroga sjemena jest postojanost metoda skladištenja sjemena. Sadašnje pravilo je da je sadržaj vode od 40% i temperature od - 4° C su minimum koji zahtijevaju preživljavanje žira (Holmes i Buszewicz, 1956; von Schönborn, 1964; Bonnet-Masimbert i sur, 1977; Suszka i Tylkowski, 1980; Muller i Bonnet-Masimbert, 1984). Ipak, aktualne metode nisu dio visokih standarda potrebnih za pohranu sjemena danas i u budućnosti.

Slabija klijavost žira ovisi u nizu čimbenika. Na njegovu klijavost utječu mikrobiocenoze, zoocenoze, fitobiocenoze, a i sami način skladištenja tj. antropogeni čovjekov utjecaj. U cilju je svake rasadničke proizvodnje imati što veću klijavost i proizvesti što veći broj kvalitetnih sadnica, ali moramo biti svjesni mortaliteta sjemena koji je normalan prirodni proces.

1.3. Tehnike i utjecaj termoterapije

Obrada žireva termoterapijom je metoda kontrole bolesti koja je dokazano učinkovita u borbi protiv različitih patogenih mikroorganizama. Tretiranje plodova pri temperaturnim režimima ubijaju očuvani patogen, pri čemu je šteta biljci domaćinu tek neznatna. Tretiranje se provodi uglavnom vodom, zrakom ili parom. Veliki izbor biljnih dijelova može se toplinski obrađivati: cijela biljka, stabla, sadnice, stabljike, reznice, klice, rezano cvijeće, sjemenke, gomolji ili voće i povrće u skladištu. Ciljani patogeni mikroorganizmi su uglavnom gljivice, virusi i bakterije. Mnoge studije pokazuju uspjeh smanjenja bolesti. Termoterapija je također glavno sredstvo, povezano s kulturom meristema i vrha, za proizvodnju virusa eksplanata iz zaražene majke - biljke. Većina bakterijskih bolesti godišnjih biljaka su iz sjemena. Sjeme

prenosi brojna žarišta primarne infekcije tako da samo relativno mala količina zaraženih sjemenki je dovoljna za promicanje ozbiljne bolesti, tj. epidemije. Da bi dezinficirali sjemenke, autori uglavnom koriste tretman termoterapije u vodenoj kupelji i vrućim zrakom. Uspjeh termoterapije može se poboljšati kombinacijom s kemikalijama u stadiju sjemena, sprejevima tijekom rasta biljaka ili zamjenom vode s drugim nevodenim tekućinama. Međutim, metoda zahtijeva studije za određivanje najprikladnije vrste topline za određeni biljni dio i optimalnu kombinaciju vremena i temperature izloženu uporabi za najbolju učinkovitost uz najmanje štete domaćinu (Grondeau i Samson 1994).

Prisutnost gljiva u sjemenu šumskih vrsta drveća se općenito smatra jednim od glavnih uzroka skraćenog životnog vijeka sjemena tijekom skladištenja (Sutherland i dr., 2002.), smanjene klijavosti sjemena uslijed propadanja embrija ili endosperma, te potencijalno i uzroka bolesti koje utječu na različite razvojne stadije mladih biljaka, poput polijeganja ponika, odumiranja izbojaka te odumiranja i razvoja rakastih tvorevina na starijim sadnicama (Cram, 2009.). Unatoč tome, dio vrsta gljiva prisutnih u sjemenu mogu biti bezopasne, odnosno ponašati se kao endofiti ili saprotrofi bez značajnog utjecaja na zdravstveno stanje ili klijavost (Mittal i Wang, 1987.).

Termoterapija se temelji na načelu da su parazitski mikroorganizmi uništeni, a virusi inhibirani pri temperaturnim vremenskim režimima, sa nanošenjem minimalne štete domaćinu (Baker, 1962). Taj se fenomen može koristiti za suzbijanje bolesti iskorjenjivanjem ili barem naglo smanjujućim faktorom količine primarnog inokuluma koji ostaje latentan u vegetativnim biljnim dijelovima i sjemenkama tijekom razdoblja mirovanja. Doista, kako bi izbjegli ili minimalizirali epidemije, opće i glavno pravilo je koristiti sadnju ili razmnožavanje nepatogenog biljnog materijala. Termoterapija predstavlja zanimljiva sredstva za tu svrhu, jer je to u načelu jednostavan način za korištenje, a ne preskup. Međutim, prije primjene moraju se poduzeti studije kako bi pronašli metodu za toplinsku obradu i vrijeme te temperaturu kombinacije koji se najviše prilagođavaju biljnom materijalu. Razlike u osjetljivosti na toplinsku štetu mogu postojati među sortama unutar biljnih vrsta (Smoot i Segall, 1963; Lozoya-Saldana i Merlin-Lara, 1984). Vrijeme / temperaturni režim za određeni biljni materijal ovisi o mnogim čimbenicima koji utječu na toplinu osjetljivosti domaćina. Poznato je da manji početni sadržaj vode u sjemenu za vrijeme grijanja daje veću otpornost na visoke temperature (Wagoner, 1917). Način djelovanja visokih temperatura na inaktivaciju ili smrt različitih uzročnika nije dobro poznat. Način toplinske inaktivacije virusa objašnjava zašto se relativno niske temperature (oko 37 ° C) primjenjuju na dulje trajanje (nekoliko tjedana).

Postoje tri glavne tehnike primjene topline na biljnom materijalu:

1. Namakanje u vrućoj vodi / termoterapija u vodenoj kupelji

Ovo je najstariji tip toplinske obrade. Biljka materijal je uronjen u vruću vodenu kupku. Primijenjena temperatura ovisi o biljnom materijalu, ali općenito najniža temperatura se koristi za uništavanje parazita. Također to je poželjno za hlađenje tkiva nakon tretmana. Postoje nedostaci terapije vrućom vodom.

Ponekad uzrokuju štetne učinke domaćinu, osobito sjemenu. Tkivo sjemena se hidratizira pri namakanju i toplina poremeti enzime aktivacije metabolizma klijanja stoga klijanje ne uspije. Dakle, vrijeme izlaganja mora biti kratko. Potrebno je sušenje obrađenog materijala i to mora biti učinjeno brzo nakon namakanja. Sušenje može potrajati nekoliko sati ili 1 do 2 dana. Mogu se razviti saprofitni mikroorganizmi na obrađenom materijalu tijekom sušenja tako da aplikacija fungicida može biti korisna. Prednost takvog tretmana toplom vodom je vrijeme izlaganja koje je obično kratko jer je voda dobar vodič topline. Štoviše, kao liječenje može biti pozitivno jer voda prodire u tkivo biljke. Time unutarnji paraziti imaju veću vjerojatnost da će biti pogođeni za razliku od tretiranja zrakom.

2. Vrući zračni tretman

Oprema može biti jednostavna pećnica ili velike komore. U Indiji je korišteno solarno grijanje (Luthra, 1953). Na taj način sjeme bi moglo biti izloženo na 49 - 50 °C satima. Neki nedostaci vrućeg zraka su (1) vrijeme izlaganja, što je općenito mnogo dulje nego kada se topi toplom vodom; (2) poslije dugog izlaganja, progresivna rehidratacija može biti potrebna za dobru klijavost (Grondeau, i sur., 1992). Prednosti suhe topline su (1) jednostavnost upotrebe, (2) smanjena ozljeda domaćina općenito promatrana, i (3) nema sušenja.

Latta (1932.) je vjerojatno bio prvi koji je uveo termičko zagrijavanje pare. Primjena ove vrste topline zahtijeva specifičan uređaj. Osmišljeno je da uređaj ima prostorije za tretman u kojemu para ulazi u struju zraka. Tamo se cirkulacija pare, željena temperatura i sadržaj vlage prilagođavaju (Miller i McWhorter, 1948). Glavni nedostaci toplinske pare je da korištenje ove vrste termoterapije zahtijeva specifičnu opremu koja može biti skupa i da neke vrste biljnog materijala nisu toliko otporne što uzrokuje ozbiljno oštećenje, npr. velike sjemenke (Grondeau et al., 1992). Toplina pare ima prednost nad toplom vodom zbog kraćeg vremena izlaganja. Sjemenke apsorbiraju manje vode nego kod namakanja (Miller i McWhorter, 1948). Sušenje se odmah postiže vrućim zrakom.

3. Derivatne metode toplinske obrade

a) Namakanje u Hot Solutionu

Zbog povećanja učinkovitosti tople vode, te ponekad kao sredstvo borbe protiv gljivica u vodu se često dodaju i pojedine kemikalije (Cruickshank, 1954; Maude i Schuring, 1968; Stewart i Wells, 1970; Durrant i sur., 1988). Istraživači su pokušali zamijeniti vodu, zbog štetnosti za domaćina pri visokim temperaturama, nevodenim tekućinama. Ralph (1978) je proučavao polietilen glikol kao moguću tekućinu za poboljšanje uspjeha sjemenske termoterapije.

b) Mikrovalni tretman

Neke studije sadrže podatke o učinkovitosti zračenja mikrovalova kako bi se iskorijenili patološki elementi (Hankin i Sands, 1977; Lozano i sur., 1986). Mikrovalovi mogu uništiti mikroorganizam samo toplinom, ali je također oni mogu poremetiti i stanice patogena (Copson, 1975, citirani u Hankinu i Sands, 1977).

Toplinska obrada smatra se učinkovitim i ekonomski prihvatljivim sredstvom za sprječavanje ili smanjivanje razvoja gljiva. Vrijeme skladištenja i kvaliteta pohranjenog sjemena je jako važna, što je temeljno načelo i ovoga rada. Štoviše, nema štetnih ostataka. Termoterapija je također vrlo korisna u hortikulturi za kontrolu bolesti i za preživljavanje cvijeta. Mnogo se koristi u agronomiji na voću i povrću. Toplinska terapija ne dovodi nužno do uništavanja patogena. Ovisi također i o održivosti biljnih dijelova. Ipak, u većini slučajeva, toplinska obrada omogućuje značajno smanjenje u incidenciji bolesti. Alternativa postoji u upotrebi kemikalijama i nevodenim preparatima. Posljednja stvar koju treba naglasiti jest da se toplinska obrada ne može uvijek koristiti u velikim količinama, iako postoje slučajevi uporabe u komercijalnim razmjerima.

2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA

a) Analiziranje morfoloških značajki žira hrasta lužnjaka

b) Određivanje elemenata kvalitete sjemena (masa 1000 zračno suhih sjemenki)

c) Istraživanje utjecaja temperature termoterapije od 42˚C do 60˚C na mortalitet embrija i laboratorijsku klijavost sjemena prema ISTA pravilima.

d) Laboratorijsko praćenje zdravstvenog stanja tretiranih i kontrolnih sadnica.

d) Ispitivanje rasadničke klijavosti žira

e) Mjerenje morfoloških značajki sadnica golog korijena (1+0)

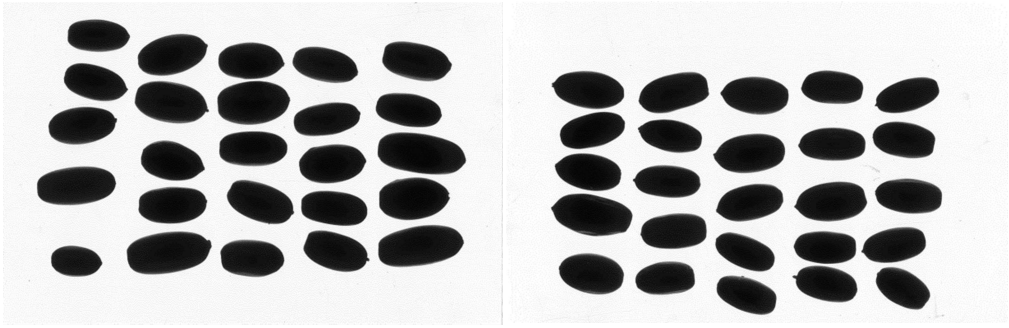
f) Analiziranje micelija gljiva na žiru s obzirom na provedena tretiranja

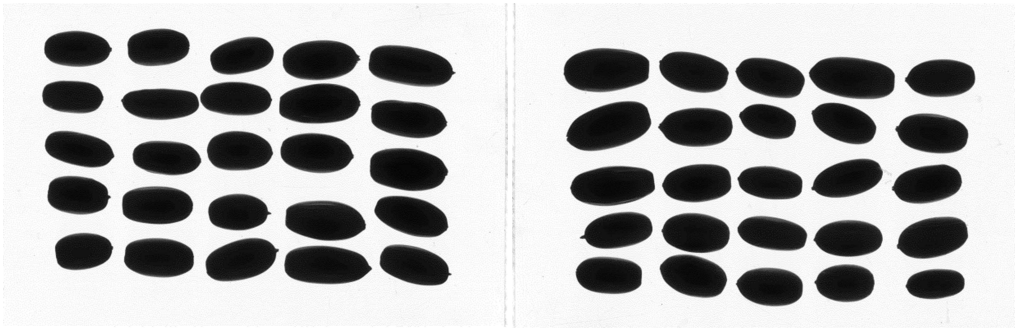
3. MATERIJAL I METODE RADA

3.1. Laboratorij za šumsko sjemenarstvo i rasadničarstvo na Zavodu za ekologiju i uzgajanje šuma na Šumarskom fakultetu

3.1.1. Analiziranje sjemena i dobivanje apsolutne mase

U laboratoriju 30. studenoga 2017. obavljeni su prvi koraci. Žir smo isprali dva puta sa vodom kako bi maknuli sve nečistoće. Okularnom metodom podijelili smo ga na dobre i loše. Zatim smo obavili skeniranje i analizu 100 komada žireva skenerom Epson Expression 10000 XL (Slika 1.), te za obradu podataka koristili smo laboratorijsko stolno računalo i pakete software-a Statistica 8.0 kojima smo dobili postojeće podatke.. Nakon skeniranja žir smo izvagali vagom Sartorius na dvije decimale. Podatke po provedenom vaganju koristili smo za izračunavanje Masa 1000 zračno suhih plodova određena je u skladu s ISTA pravilima na uzorku od 8x50 komada. Nakon obavljenih tehničkih radnji na samome žiru koristili smo metodu flotiranja žira u vodi s povremenim miješanjem. U prvoj flotaciji žira 14 komada žira je isplutalo nakon 15 min u vodi. Time smo eliminirali 3,5% lošeg sjemena, drugih 96,5% je vitalno. Nakon odrađene druge flotacije žira 0 žireva je isplutalo (100% vitalno). Poslije flotacije žir smo osušili i zadnja faza bila je skladištenje. Žir smo skladištili u hladnjacima za čuvanje sjemena.





Slika 1. Skenirani žir hrasta lužnjaka (*Quercus robur L.*) 4x25 *Epson Expression 10000XL* (izvor: Damir Drvodelić, Datum: 30.11.2017.)

3.1.2. Mortalitet embrija

Ispitivanje mortaliteta vršio se termoterapijom u vodenoj kupelji. Odabir 300 komada sjemena sakupljenog u NPŠO Lipovljani flotirali smo u vodi kako bismo odstranili loš žir. Odabirom kvalitetnoga sjemena koji ima potencijalnu klijavost vršili smo podjelu. Svakih 30 žireva rasporedili smo u 10 posuda koji će ići na tretiranje 30x10=300 kom. Tretiranje smo odredili od 42°C do 60°C. U posudu smo ulili 350 ml vode koja je s početnom temperaturom istraživanja (42°C). Početnih 30 komada žireva miješali smo 2 minute uz dolijevanje tople vode jer se miješanjem smanjivala početna temperatura vode. Postupnim padom temperature, te neodržavanjem početne temperature žir bi se jednostavno prilagodio na tretiranje u vodenoj kupelji. Isto tako, dolijevanjem toplije vode morali smo paziti kako ne bismo prešli granicu temperature jer bismo time šokirali žir prije nego što ga stavimo u komoru na tretiranje. Posudu sa vodom i žirevima dalje je čekao proces tretiranja u komori Kambič RK-980 koja je bila programirana upravo na željenu temperaturu tretiranja od 42°C. Proces tretiranja u vodenoj kupelji trajao je 2,5 h nakon čega smo žir izvadili i uskladištili na sobnoj temperaturi.

Sljedećih 30 žireva obradili smo na prethodno navedeni način uz povisivanje temperature za 2°C. Tako je svako daljnje tretiranje bilo na temperaturama od: 44°C, 46°C, 48°C, 50°C, 52°C do 60°C. Cilj nam je bio sav žir tretirati svaka 2°C i tako do 60°C koja je po nama gornja granica izdržljivosti.



Slika 2. Termoterapija i provjera temperature - *Kambič RK-980* (izvor: Marko Vukelić, datum: 10.02.2018.)

Nakon odrađenih svih 10 tura po 30 komada žireva tretiranih do 60°C obavili smo ispitivanje klijavosti tretiranog žira u vodenoj kupelji. Time bismo dobili uvid koja temperatura pogoduje klijavosti i rastu žira, a koja ga ubija.

Prije ispitivanja klijavosti korištena su sterilna zaštitna sredstva zbog minimaliziranja pojave gljivica ili patogena. U ispitivanju klijavosti koristili smo plastične PVC posude kvadratičnog oblika. U posude smo stavljali sterilni kvarcni pijesak (Quarzsand). Kvarcni pijesak se u svaku posudu stavljao u točnoj količini tako da je svaka posuda morala imati točnu težinu 2370 grama. Kvarcni pijesak koristili kao matičnu podlogu ispitivanja klijavosti. U kvarcni pijesak morali smo uliti vodu. Postotak vode iznosila je 33,75% odnosno omjer voda : pijesak iznosila je 1 : 2,95.

Prije stavljanja žira u pripremljeni supstrat svaki žir svoje grupe morali smo preparirati na način da mu skinemo perikarp i sjemenu ljusku te da ga odrežemo na 2/3 suprotno od radikule (slika 3.).



Slika 3. Skinuta sjemena ljuska i perikarp te rez 2/3 suprotno od radikule (izvor: Marko Vukelić, datum: 28.02.2018.)

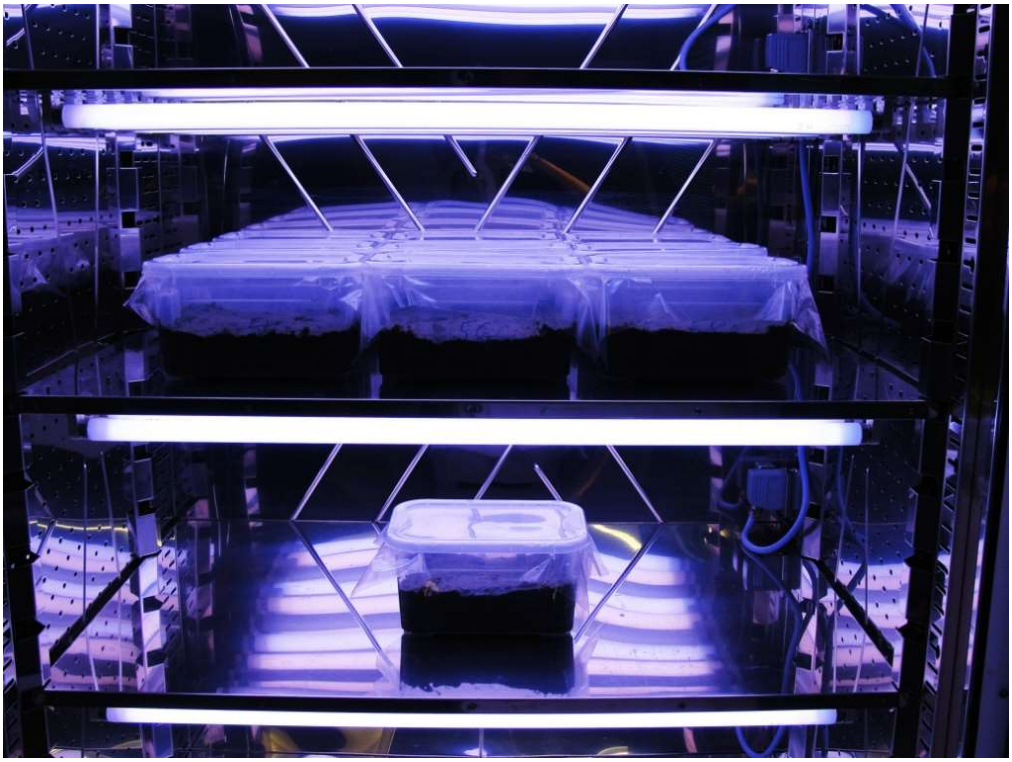
Nakon toga žir je položen u posude na kvarcni pijesak na način da je spoj na supkama okrenut prema površini pijeska. Žir je stavljen istim redoslijedom 6x5 (slika 4.).



Slika 4. Žir hrasta lužnjaka (*Quercus robur L.*) položen na kvarcni pijesak (izvor: Marko Vukelić, datum: 28.02.2018.)

Određenom količinom pijeska koja je izračunata pokrivamo žir s 1-2 cm pijeska, poklapamo PVC folijom i poklopcem posude. Tako spremljene posude smo spremili u komoru Kambič – RK 980 koja je programirana na rad tijekom dana od 6:00 sati na 20°C, 80% vlage gdje su

upaljena UV svjetla i rad po noći od 18:00 sati na 20°C, 80% vlage gdje je svjetlo ugašeno i gdje se emitira noć. Ovom komorom imitirali smo dan i noć te vanjske uvjete u komori (slika 5.). Svaka posuda je označena oznakom iste temperature kojom je bio tretiran i žir (od 42°C do 60°C)



Slika 5. Proces rada *Kambič – RK 980* (izvor: Marko Vukelić, datum: 28.02.2018.)

Žir je stavljen u komoru 28.2. 2018. Brojanje se odredilo na 6 brojanja svakih 7 dana.

Prvo brojanje naziva se još i energija klijavosti i provodi se 7. dana. Završno šesto brojanje bilo je 42. dana.

Regent (1980.) piše kako se kod dormantnih vrsta sjemena ili kod sjemena kod kojega ispitivanje klijavosti traje relativno dugo ne određuje klijavost, nego vitalitet ili "životna sposobnost sjemena", što podrazumijeva broj za život sposobnih sjemenki. Najvažnija razlika između ispitivanja klijavosti i vitaliteta sjemena je u tome, što se testom klijavosti dobiju podaci o proklijalom sjemenu, dok test vitaliteta daje procjenu moguće potencijalne klijavosti. To znači da sjeme koje je procijenjeno kao vitalno i ima sposobnost razvoja u pravilne klijance, ne mora nužno biti klijavo. Može se reći kako klijavost i vitalitet nisu sinonimi (Gosling, 2003).

Prvim brojanjem 7. dan energija klijavosti svugdje je iznosila 0. Prvim brojanjem uočene su i prve promjene u diskoloraciji na površini kvarcnoga pijeska. Pojavilo se crnilo i promjena boje, a kod posuda od 54°C i 56°C pojavile su se i prve gljivice. Unatoč korištenju sterilnog materijala i kvarcnoga pijeska, vjerojatno je dio gljiva tretiranjem ostao na žiru (slika 6.).



Slika 6. Pojava gljivica na kvarcnome pijesku (izvor: Marko Vukelić, datum: 7.3.2018.)

Drugo brojanje 14. dan pokazalo je prve rezultate. (slika 7.)



Slika 7. Pojava prvih klijanaca hrasta lužnjaka (*Quercus robur L.*) (izvor: Marko Vukelić, datum: 14.03.2018.)

Prilikom rasta klijanaca same visine dostizale su visinu PVC posuda. Tijekom trećega brojanja morali smo otklopiti posude kako bi klijanci mogle rasti u visinu. Proces se nastavio u komori gdje su hrastovi imali daljnji prostor za rast.



Slika 8. Klijanci hrasta lužnjaka (*Quercus robur L.*) po temperaturama 42-60˚C (izvor: Marko Vukelić, datum: 09.04.2018.)

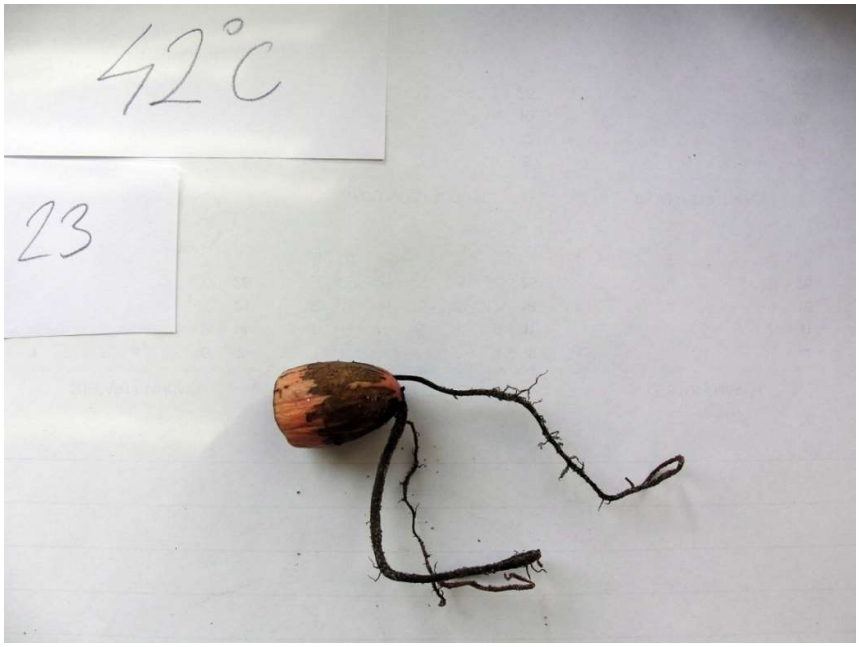


Slika 9. Klijanci hrasta lužnjaka (*Quercus robur* L.) stari 42. dana dobiveni iz termotretiranog žira na 46°C (izvor: Marko Vukelić, datum: 09.04.2018.)

Nakon odrađenog šestoga brojanja odnosno nakon 42 dana svaku posudu sa klijancima tretirane temperature vadili smo van. Obrađivali smo svaku kategoriju zasebno. Iz posuda smo vadili klijance i neproklijali žir van kvarcnoga pijeska te jednu po jednu pod velikim laboratorijskim povećalom promatrali korijen, žir klijanca, stabljiku, listove i vršni pup. Ovime smo prošli svaku sadnicu u svojoj kategoriji temperature tretiranja tako bismo prema ISTA pravilima ocijenili njezino zdravstveno stanje. Jednostavnim načinom podijelili smo sadnice na one koje su pravilne (slika 10.) i koje su nepravilne (slika 11.). Nepravilne sadnice prema ISTA pravilima ocjenjivali smo šifrom koju propisuje ISTA. Uočili smo da najviše nepravilnih jedinki spada u kategoriju 31/07 što znači primarna infekcija koja je uzrokovala trulež kotiledona i u pravilu to sjeme nije ni izniknulo. Jako puno primjera truleži imali smo na visokim temperaturama tretiranja od 52°C na dalje.



Slika 10. Pravilni klijanac hrasta lužnjaka (*Quercus robur* L.) prema ISTA pravilima o procjeni klijanaca (izvor: Marko Vukelić, datum: 09.04.2018.)



Slika 11. Nepravilni klijanac hrasta lužnjaka (*Quercus robur* L.) prema ISTA pravilima o procjeni klijanaca (izvor: Marko Vukelić, datum: 09.04.2018.)

3.1.4. Termoterapija žira za rasadnički pokus

Ovaj proces izvodio se u laboratoriju za šumsko sjemenarstvo i rasadničarstvo na Zavodu za ekologiju i uzgajanje šuma na Šumarskom fakultetu nakon ispitivanja mortaliteta embrija i ispitivanja laboratorijske klijavosti sjemena prema ISTA pravilima.

Prije svega u prvome procesu 1000 sjemenki bilo je flotirano u vodi. Time bismo eliminirali loš žir koji je isplivao na površinu i zamijenili ga sa zdravim dok ne dobijemo 1000 komada zdravih žireva koji leže na dnu vode. Također ovim postupkom žir smo očistili od svih nečistoća. Sav žir smo u sterilnim uvjetima pripremili za termoterapiju. Termoterapiju smo obavili tako da smo u veliku posudu ulili između 2 i 3 litre vode. U nju smo stavili 1000 komada flotiranih žireva i dalje proslijedili u komoru Binder RK-980 koja je bila programirana u prvome procesu na tretiranje od 41°C. Nakon prvih 2,5 sati tretiranja izvadili smo 400 komada žireva koje smo raspodijelili u vrećice. Žirevi su se nakon tretiranja morali ohladiti na sobnoj temperaturi i u sterilnim uvjetima kako bismo izbjegli patogene. Prvih 200 komada žireva nakon čuvanja na sobnoj temperaturi uskladišteno je na -1°C i drugih 200 komada tretiranih žireva uskladišteno je na +3°C. Nakon toga, 90 komada žireva odjeljeno je za izolaciju micelija gljiva također podjeljenu na 30 komada koje je uskladišteno na -1°C, +3°C i posljednjih 30 komada žireva je nošeno na izolaciju micelija odmah bez skladištenja. Sljedeći dan smo obavili iste radnje također sa 1000 žireva koje smo tretirali na 45°C.

Za kontrolu pripremili smo 400 žireva koje smo prethodno oprali od nečistoća i flotirali. Prilikom prve flotacije 2x15 minuta eliminirali smo 22% žira koje smo zamijenili zdravima. Prvih 200 netretiranih žireva uskladištili smo na -1°C, drugih 200 netretiranih žireva uskladištili smo na 3°C.

Žirevi koji su tretirani odležali su 2 mjeseca uskladišteni, za to vrijeme pratila se vlaga žira i konstantno svaki tjedan žir se okretao. Nakon 2 mjeseca, tlo u rasadniku se pripremilo za sjetvu koja je bila obavljena 3.5.2018.

Tablica 2**.** Grupe žireva hrasta lužnjaka (*Quercus robur L.*) tretiranih na određenim temperaturama i u određenim vremenskim periodima

Grupa	BROJ ŽIREVA (kom)	TRETIRANJE (˚C)	Vrijeme trajanja (h)	Temperatura skladištenja (˚C)
1	30	Kontrola	-	neskladišteni žir
2	30	41	-	neskladišteni žir
3	30	41	5	neskladišteni žir
4	30	45	2,5	neskladišteni žir
5	30	45	5	neskladišteni žir
6	30	Kontrola	-	+3
7	30	41 °C	2,5	+3
8	30	41 °C	5	+3
9	30	45 °C	2,5	+3
10	30	45 °C	5	+3
11	30	Kontrola	-	-1
12	30	41 °C	2,5	-1
13	30	41 °C	5	-1
14	30	45 °C	2,5	-1
15	30	45 °C	5	-1

3.1.5. Izolacija micelija gljiva iz žira

Izolacija micelija je obavljena u laminarnom mikrobiološkom kabinetu za rad u atmosferi čistog zraka. Žir je površinski steriliziran uranjanjem u 1 %-tnu otopinu natrijevog hipoklorita (NaOCl) na 5 min, nakon čega je tri puta ispran u sterilnoj destiliranoj vodi, te ostavljen da se suši u laminarnom mikrobiološkom kabinetu za rad u atmosferi čistog zraka.

Aseptičnim metodama skinuta je vanjska ljuska žira, te su s rubova diskoloracija i nekroza (ukoliko su prisutne) uzimani komadići tkiva žira veličine nekoliko mm te potom postavljani u Petrijeve zdjelice na PDA (Potato Dextrose Agar, Oxoid) hranjive podloge obogaćene antibiotikom (streptomicin sulfat, 0,2 g/1 L, Sigma-Aldrich). Petrijeve zdjelice su inkubirane u tami na temperaturi od 19 – 21 °C u komori rasta te su svakodnevno praćene u vremenskom razdoblju od mjesec dana. Dobiveni miceliji su redovito presađivani u nove Petrijeve zdjelice na PDA hranjive podloge kako bi se dobile čiste kulture micelija.

3.2. Rasadnik Šumski vrt i arboretum Šumarskog fakulteta

Rasadnik Šumarskog fakulteta u Zagrebu „ Šumski vrt i arboretum“ osnovan je 1919. godine. Njegova površina iznosi 3 ha. U sklopu rasadnika se nalaze: 2 staklenika (od kojih je jedan opremljen grijanjem i automatiziranim sustavom zamagljivanja), 9 Dunemannovih lijeha (u kojima se sije sjeme i školuju zakorijenjene reznice), sustav za zalijevanje i ostala pripadajuća mehanizacija. U staklenicima se vegetativno razmnožavaju različiti kultivari ukrasnog drveća i grmlja. U taksonomskom pogledu tlo u rasadniku pripada ravničarskom pseudogleju (stagnosol). U gornjih 30 cm tlo je prema teksturi glinasta ilovača, a dublje poprima neznatno težu teksturu i prelazi u laku glinu. Tlo je neutralne do slabo alkalne reakcije (7,27 pH), te je osrednje opskrbljeno humusom u površinskih 10 cm. Humifikacija tla do dubine od 50 cm u rasadniku je zadovoljavajuća (Oršanić i sur., 2008.)

3.2.1. Sjetva tretiranog žira

Sjetva tretiranog žira obavila se u rasadniku Šumarski vrt i arboretum Šumarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Plan za sadnju podijeljen je u 10 dijelova po temperaturama (slika 12.). Za sjetvu kako je prije naglašeno imamo 2000 žireva koji su prethodno tretirani.

Slika 12. Planski prikaz gredica u rasadniku



Slika 13. Gredice spremne za sjetvu (izvor: Marko Vukelić, datum: 03.05.2018.)

Nakon plana plohe pripremili smo se fizički za sjetvu tako da je tlo bilo usitnjeno i rahlo. Ovime su dobiveni savršeni uvjeti za sadnju (slika 13.). Sadnja u svakoj plohi podijeljena je u 4 reda po 50 žireva, tj. svaka ploha sadržavat će svojih 200 žireva tretiranih na vlastitim temperaturama.



Slika 14. Ponavljanja od 4x50 žireva hrasta lužnjaka (*Quercus robur L.*) spremnih za sjetvu (izvor: Marko Vukelić, datum: 03.05.2018.)



Slika 15. Ručna sjetva 50 žireva u red (izvor: Marko Vukelić, datum: 03.05.2018.)

Sjetva sjemena obavljena je 3.5.2018. Prilikom sadnje žir nije bio tretiranim fungicidima. Dubina sjetve bila je 5 cm u redove. Ukupno je posijano 2000 komada žira.



Slika 16. Izgled gredica nakon obavljene sjetve (izvor: Marko Vukelić, datum: 03.05.2018.)

Nakon skoro 50 dana završeno je praćenje rasadničke klijavosti i brojanje sadnica u rasadniku. Sljedeći korak bio je tehničke prirode gdje smo procjenjivali kvalitetu svake

sadnice kroz 16 različitih morfoloških značajki. Na svakoj sadnici mjerena je visina glavnog (najvišeg) izbojka H (mm), promjer vrata korijena pri tlu d (mm), mortalitet sadnica (%) između zadnjeg brojanja u ljeto i mjerenja u jesen, broj grana prvoga reda (kom), kut otklona najdulje grane (˚), duljina najdulje grane (mm), početak grananja (mm), broj listova na svakoj sadnici (kom), boja lišća (smeđa, žuta, blijedo-zelena, tamno zelena). Nakon toga ispitivala se forma sadnica u što je ulazilo da li postoji jedan ili više glavnih izbojaka, rašljavost izbojka, četkast izbojak i broj grana u četki (kom), deformacije sadnice i broj višestrukih izbojaka razvijenih iz jednog žira.



Slika 17. Sadnice hrasta lužnjaka (*Quercus robur* L.) na pokusnim plohama (izvor: Marko Vukelić, datum: 10.09.2018.)

4. REZULTATI ISTRAŽIVANJA

Rezultati koji će biti prikazani u poglavlju rezultati istraživanja su dobiveni prethodnim izmjerama. Podaci su statistički obrađeni u Excelu i programu Statistica 8.0.

U samome početku laboratorijskih istraživanja, odmah nakon skeniranja mjerili smo apsolutnu masa 1000 zračno suhih sjemenki koja je određena u skladu s ISTA pravilima na uzorku od 8x50 komada. (tablica 3.)

Tablica 3. Mjerenje mase 1000 zračno suhih plodova (g) hrasta lužnjaka (*Quercus robur* L.)

∑ Apsolutna težina sjemena (g)
321,84
311,31
319,49
320,75
331,34
317,30
315,82
312.42
2238

Tablica 4. Energija klijavosti (%) plodova (g) hrasta lužnjaka (*Quercus robur* L.)

Temperatura termoterapije (°C)	Energija klijavosti (%)
60	0
58	0
56	0
54	0
52	0
50	0
48	0
46	0
44	0
42	0

Tablica 5. drugo brojanje 14. dan prema ISTA u ispitivanju mortaliteta embrija. Vidimo kako u drugome brojanju žir koji je tretiran na 48°C ima 6 niknutih sadnica, tj. drugo nicanje je 20% u plohi.

Tablica 5. Laboratorijska klijavost hrasta lužnjaka (*Quercus robur* L.) 14-og dana

Temperatura termoterapije (°C)	Klijavost (%)
60	0
58	0
56	0
54	0
52	0
50	0
48	20
46	3,33
44	0
42	0

Posljednjim brojanjem prema ISTA dobili smo kompletan uvid u klijavost žira tretiranih po temperaturama (tablica 6.) Vidimo da žir koji je tretiran na 46°C ima visoki stupanj klijavosti unatoč tretiranju na relativno visokoj temperaturi od 46°C. Postotak koji ima najvišu klijavost je 86.66% (26 od 30 žireva)

Tablica 6. Laboratorijska klijavost na posljednjem brojanju 42. dan

Temperatura termoterapije (°C)	Klijavost (kom)
60	0
58	0
56	0
54	0
52	3,33
50	33,33
48	70
46	86,66
44	73,33
42	73,33

Tablica 7. u kojoj je bio odrađen fitopatološki dio. Ispitivala se brojnost micelija i vrsta gljiva na netretiranom žiru i žiru podvrgnutom termoterapiji pri različitim temperaturama i u različitom vremenu trajanja.

Tablica 7. Ispitivanje brojnosti micelija

	Uvjeti tretmana i skladištenja	**Broj dobivenih micelija**	**Broj različitih vrsta gljiva**	**Broj žireva bez rasta micelija**
Grupa 1	Netretirani i neskladišteni žir	72	16	3
Grupa 2	2,5 h na 41 C bez skladištenja	77	9	3
Grupa 3	5 h na 41 C bez skladištenja	35	5	14
Grupa 4	2,5 h na 45 C bez skladištenja	44	7	14
Grupa 5	5 h na 45 C bez skladištenja	28	4	16
Grupa 6	Netretirani žir skladištenje +3	97	16	0
Grupa 7	2,5 h na 41 C skladištenje +3	120	2	0
Grupa 8	5 h na 41 C skladištenje +3	120	2	0
Grupa 9	2,5 h na 45 C skladištenje +3	118	4	0
Grupa 10	5 h na 45 C skladištenje +3	120	1	0
Grupa 11	Netretirani žir skladištenje -1	72	13	3
Grupa 12	2,5 h na 41 C skladištenje -1	45	8	9
Grupa 13	5 h na 41 C skladištenje -1	97	3	0
Grupa 14	2,5 h na 45 C skladištenje -1	38	6	12
Grupa 15	5 h na 45 C skladištenje -1	67	6	7

* Svaka grupa uključuje ukupno 30 žireva.

Rasadnički dio brojanja sadnica koji je obrađen termoterapijom u nizu temperatura.
Prvo brojanje realizirano je 24.5.2018. U prvome brojanju primjetili smo da je žir koji je čuvan na +3°C imao bolju energiju 19,5 % odnosno prvo nicanje.

Tablica 8. Prvo brojanje sadnica hrasta lužnjaka (*Quercus robur* L.) u rasadničkom pokusu

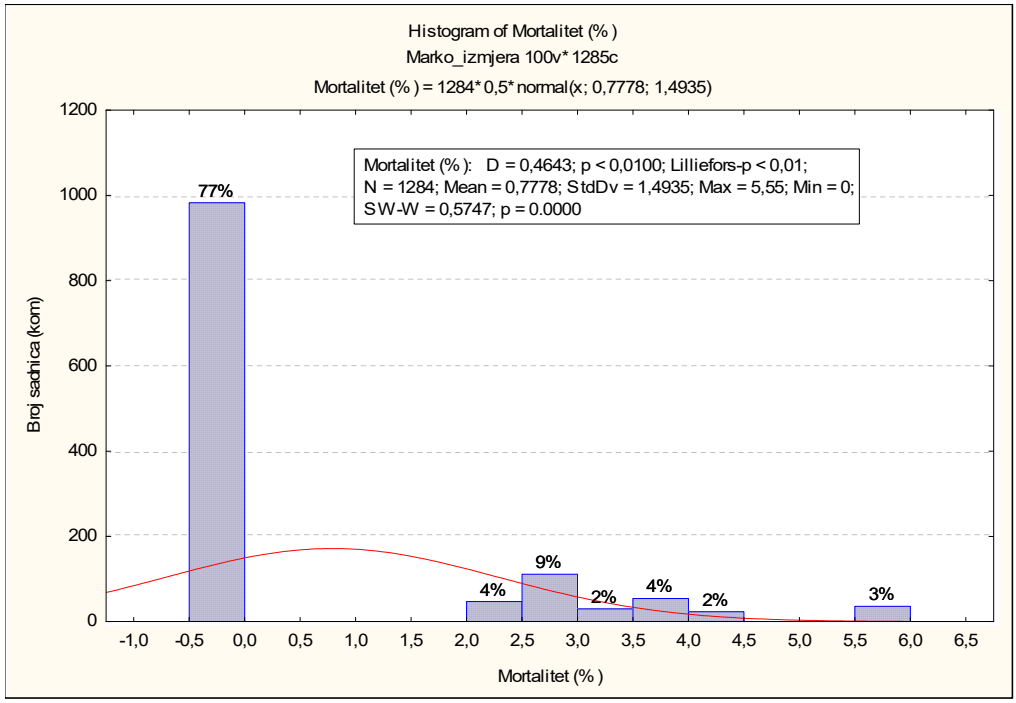
Ploha	Energija klijavosti (%)	Ploha	Energija klijavosti (%)
A	0	F	19,5
B	0	G	0
C	0	H	0,5
D	7,5	I	0
E	1	J	15,5

Brojanje sadnica vršili smo u prosjeku svakih 7 dana i tako 6 puta. Posljednje brojanje bilo je 10.7.2018. prije odlaska na ljetni odmor. Istog datuma 10.7. obavljeno je folijarno tretiranje protiv pepelnice.

Tablica 9. Završno brojanje (10.7.) sadnica hrasta lužnjaka (*Quercus robur* L.) u rasadničkome pokusu

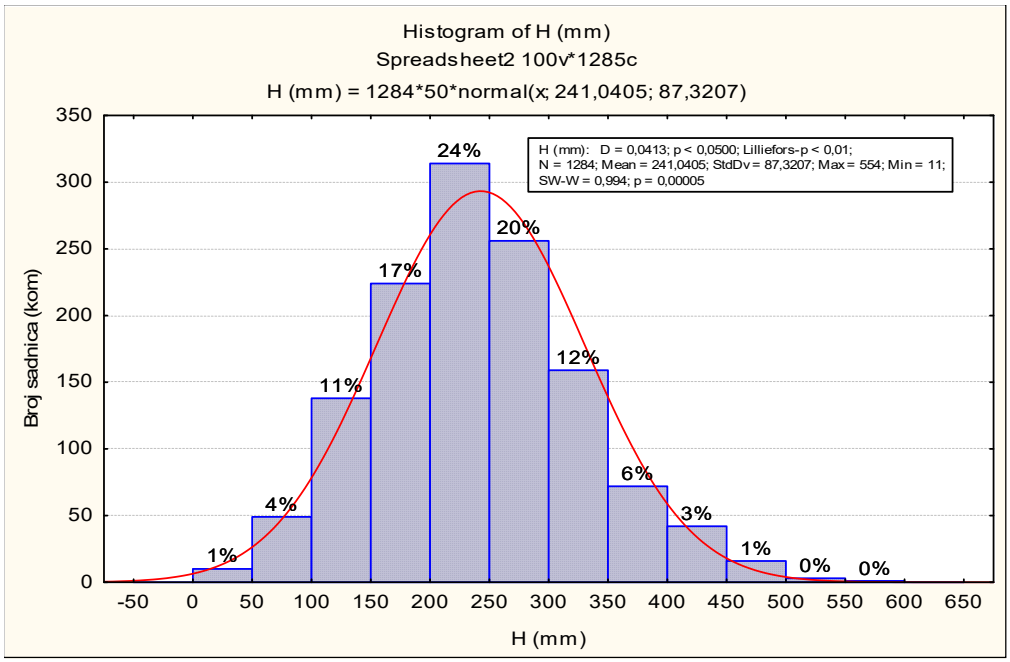
Ploha	Klijavost (%)	Ploha	Klijavost (%)
A	70,5	F	79
B	55	G	57
C	62,5	H	57
D	66	I	59,5
E	70	J	65,5

Ovim tabličnim prikazom imamo uvid u kompletan broj sadnica ovoga pokusa. Vidimo kako tretiranje na 41°C u trajanju od 5 h čuvano na +3 °C ima uvjerljivo najviše isklijalih sadnica 79% odnosno 158/200 sadnica je uspjelo. Najmanje niknutih sadnica imala je ploha B što je netretirani žir čuvan na +3°C odnosno iznosilo je samo 45%.



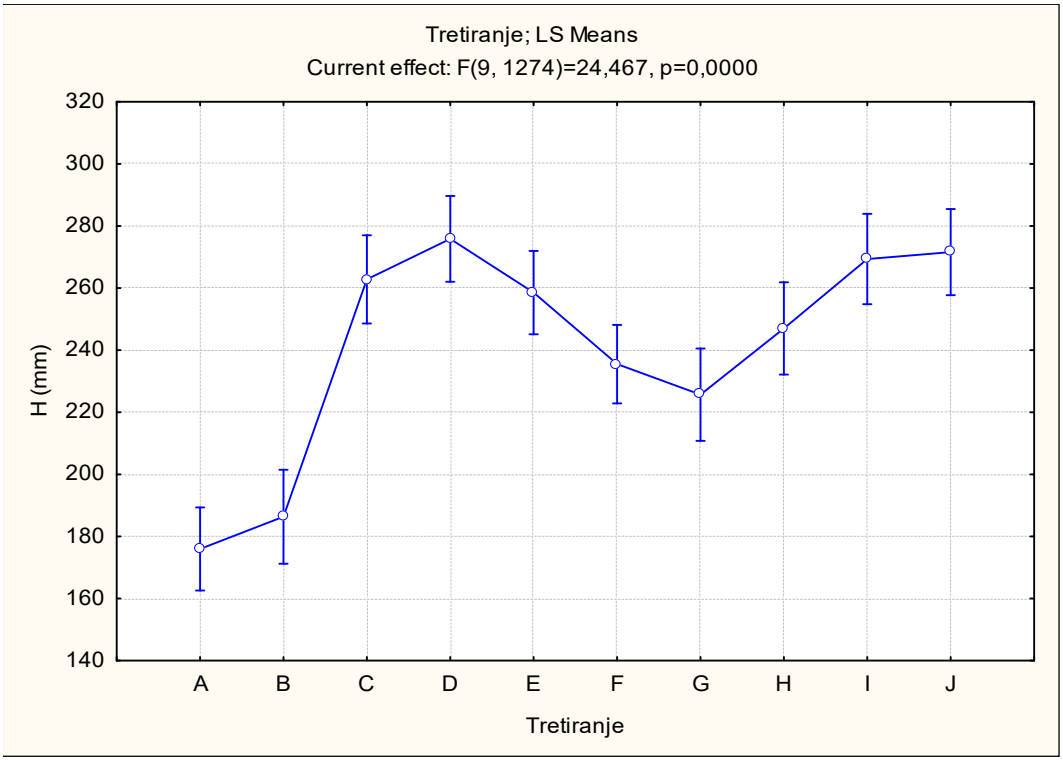
Graf 1. Distribucija normaliteta za Mortalitet (%)

Ovim grafičkim prikazom vidimo kako nije normalna distribucija za Mortalitet (%)



Graf 2. Distribucija normaliteta za visinu H (mm)

Histogramom (Graf 2.) vidimo kako je normalna distribucija za visinu H (mm).



Graf 3. LS ANOVA za visine H (mm)

Rezultati analize varijance (ANOVA) za značajke visina sadnica hrasta lužnjaka (*Quercus robur* L.) 1+0 različitog načina tretiranja uočavamo statistički značajne razlike (p=0)

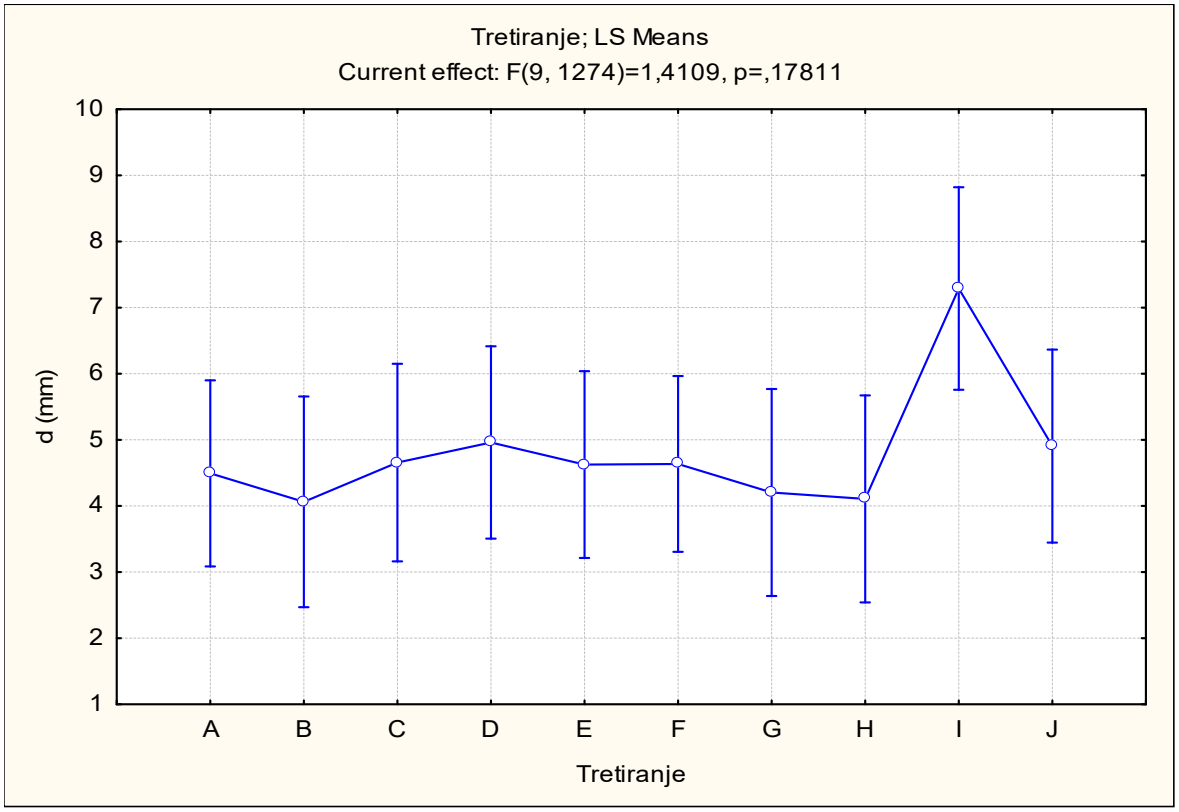
Tablica 10. ANOVA tablica visine hrasta lužnjaka (*Quercus robur* L.)

	SS	Degr. of	MS	F	p
Tretiranje	1441720	9	160191	**24,47**	**0,00**
Error	8341028	1274	6547		

Tablica 11. Tukey HSD test za visinu sadnica H (mm) hrasta lužnjaka (*Quercus robur* L.)

	Tukey HSD test; variable H (mm) (Marko_izmjera) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = 6547,1, df = 1274,0										
Cell No.	Tretiranje	{1} 175,97	{2} 186,35	{3} 262,81	{4} 275,86	{5} 258,54	{6} 235,50	{7} 225,67	{8} 247,01	{9} 269,35	{10} 271,60
1	A										
2	B	0,991888									
3	C	0,000012	0,000012								
4	D	0,000012	0,000012	0,955684							
5	E	0,000012	0,000012	0,999992	0,758214						
6	F	0,000012	0,000054	0,129782	0,000995	0,294066					
7	G	0,000057	0,010383	0,014416	0,000063	0,042006	0,992936				
8	H	0,000012	0,000013	0,889583	0,140225	0,981735	0,978470	0,605178			
9	I	0,000012	0,000012	0,999795	0,999783	0,987398	0,020175	0,001574	0,522337		
10	J	0,000012	0,000012	0,997344	0,999993	0,947645	0,006193	0,000427	0,342528	1,000000	

HSD test nam pokazuje razliku u visini između kontrolnih sadnica A i B i tretiranih sadnica koje značajno odstupaju u visini sadnica H (mm).

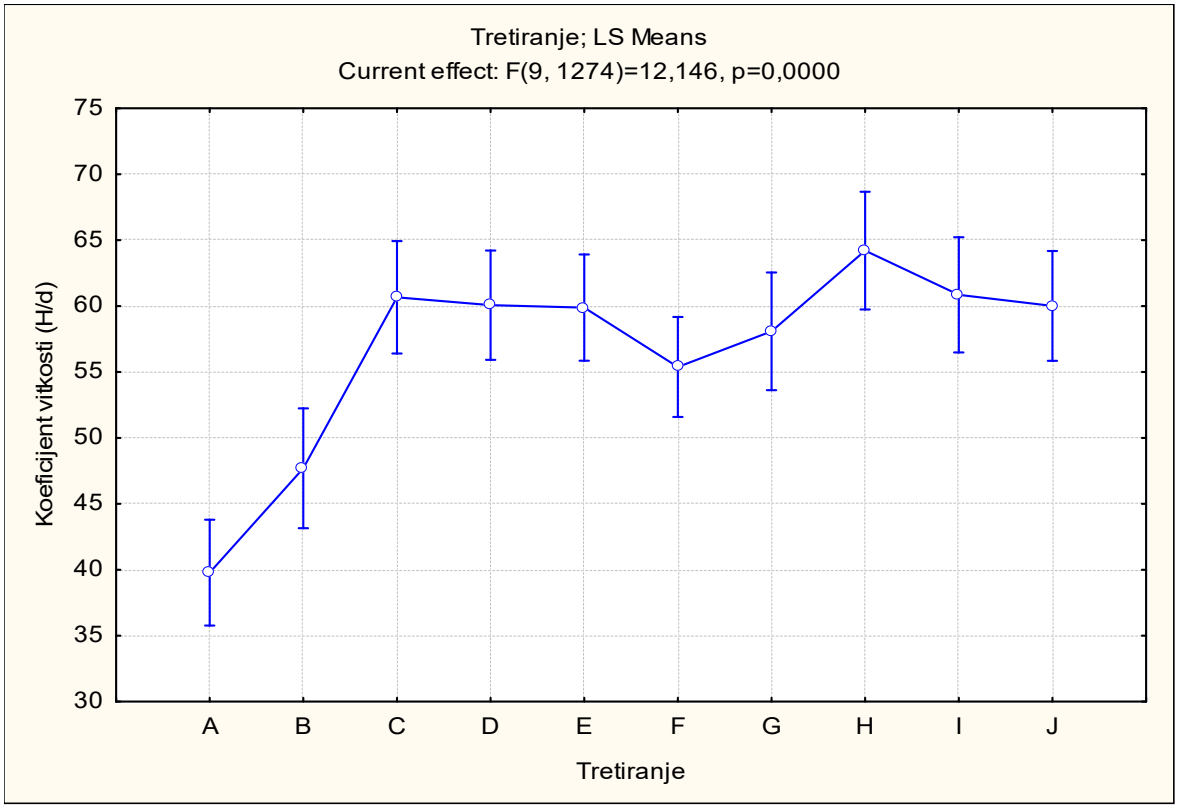


Graf 4. ANOVA distribucija promjera vrata korijena d (mm)

Tablica 12. ANOVA tablica promjera vrata korijena hrasta lužnjaka (*Quercus robur* L.)

	SS	Degr. of	MS	F	p
Tretiranje	921,37	9	102,37	**1,4109**	**0,178113**
Error	92439,63	1274	72,56		

LS ANOVA distribucija i ANOVA tablica (tablica 11.) promjera vrata d (mm) korijena hrasta lužnjaka (*Quercus robur* L.) nam pokazuje da ne postoji statistički značajna razlika u promjeru vrata korijena s obzirom na tretiranja. (F=1,4109; p=0,178113)



Graf 5. LS ANOVA distribucija koeficijenta vitkosti (H/d)

Tablica 13. ANOVA tablica koeficijenta vitkosti (H/d) hrasta lužnjaka (*Quercus robur* L.)

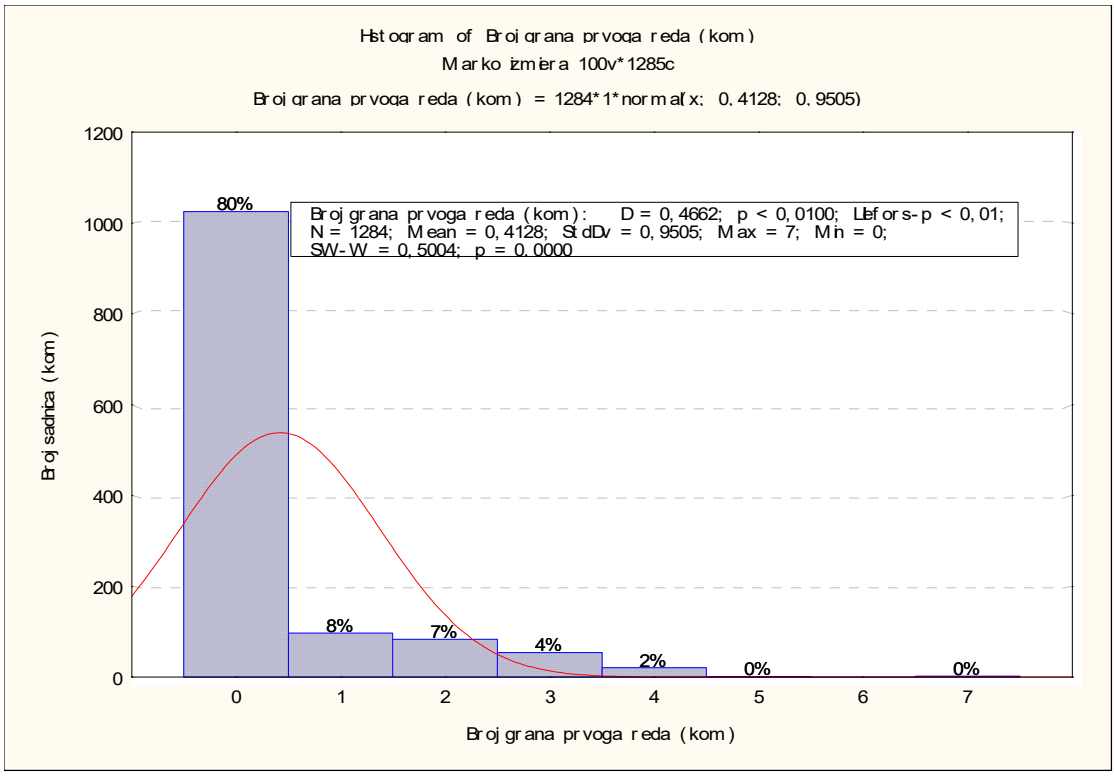
	SS	Degr. of	MS	F	p
Tretiranje	64519	9	7169	12,146	0,00
Error	751917	1274	590		

Tablica 14. Tukey HSD test za varijablu koeficijenta vitkosti (H/d)

	Tukey HSD test; variable Koeficijent vitkosti (H/d) (Marko_izmjera) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = 590,20, df = 1274,0										
Cell No.	Tretiranje	{1} 39,782	{2} 47,694	{3} 60,666	{4} 60,068	{5} 59,885	{6} 55,382	{7} 58,087	{8} 64,208	{9} 60,853	{10} 60,012
1	A										
2	B	0,236870									
3	C	0,000012	0,001820								
4	D	0,000012	0,003195	1,000000							
5	E	0,000012	0,003283	1,000000	1,000000						
6	F	0,000014	0,242718	0,724584	0,830753	0,850108					
7	G	0,000013	0,044649	0,998307	0,999778	0,999889	0,996328				
8	H	0,000012	0,000027	0,982214	0,946254	0,924434	0,090685	0,667783			
9	I	0,000012	0,001742	1,000000	1,000000	0,999999	0,699523	0,997345	0,988808		
10	J	0,000012	0,003526	1,000000	1,000000	1,000000	0,842425	0,999828	0,942227	1,000000	

Rezultati analize varijance (ANOVA) I Tukey HSD test pokazuju statistički značajne razlike u izračunavanju koeficijenta vitkosti (H/d) s obzirom da već imamo značajne razlike u

visinama H (mm) to je za pretpostaviti jer se koeficijent vitkosti dobiva podjelom visina sa promjerom vrata korijena.

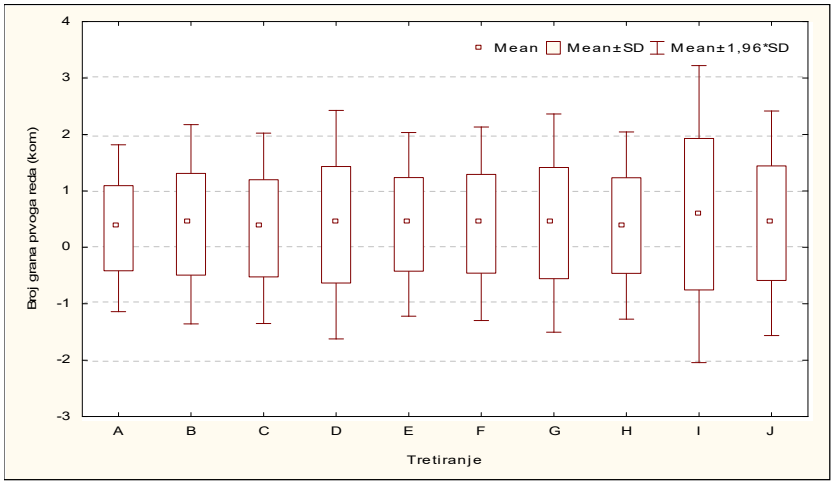


Graf 6. Distribucija broja grana prvoga reda (kom)

Histogramom (Graf 6.) vidimo kako nije normalna distribucija za broj grana prvoga reda (kom)

Median Test, Overall Median = 0,00000; Broj grana prvoga reda (kom)

Nezavisna grupa varijabli: Tretiranje
Chi-Square = 6,585995 df = 9 p = ,6801
Ne postoji statistički značajna razlika u broju grana prvoga reda između netretiranih I tretiranih sadnica (p=0,6801)



Graf 7. Box whisker graf distribucije broja grana prvoga reda (kom)

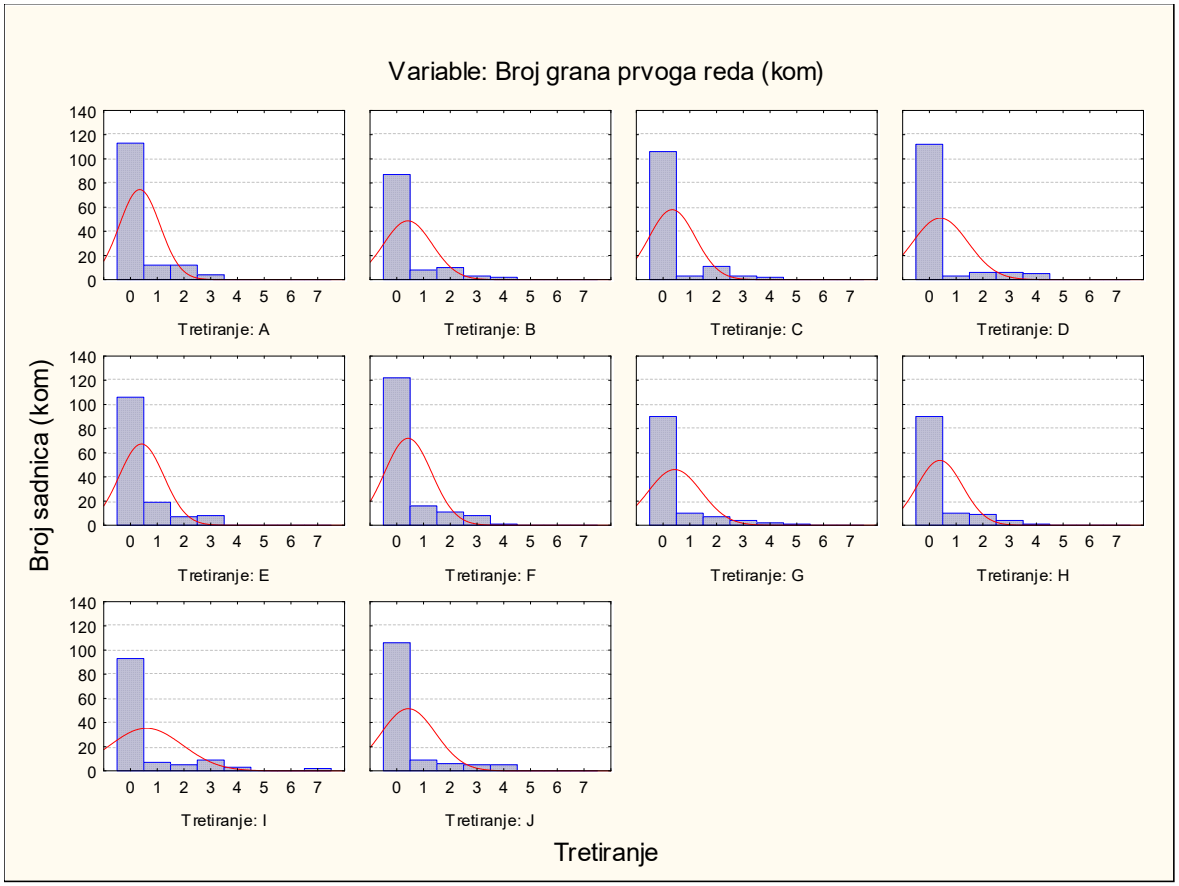
Tablica 15. Kruskal-Wallis ANOVA po kategorijama; Broj grana prvoga reda (kom)

Tretiranja	Code	Valid	Sum of
A	101	141	89765,0
B	102	110	71110,5
C	103	125	76652,0
D	104	132	81421,0
E	105	140	92803,5
F	106	158	103718,5
G	107	114	73819,5
H	108	114	73595,5
I	109	119	78531,0
J	110	131	83553,5

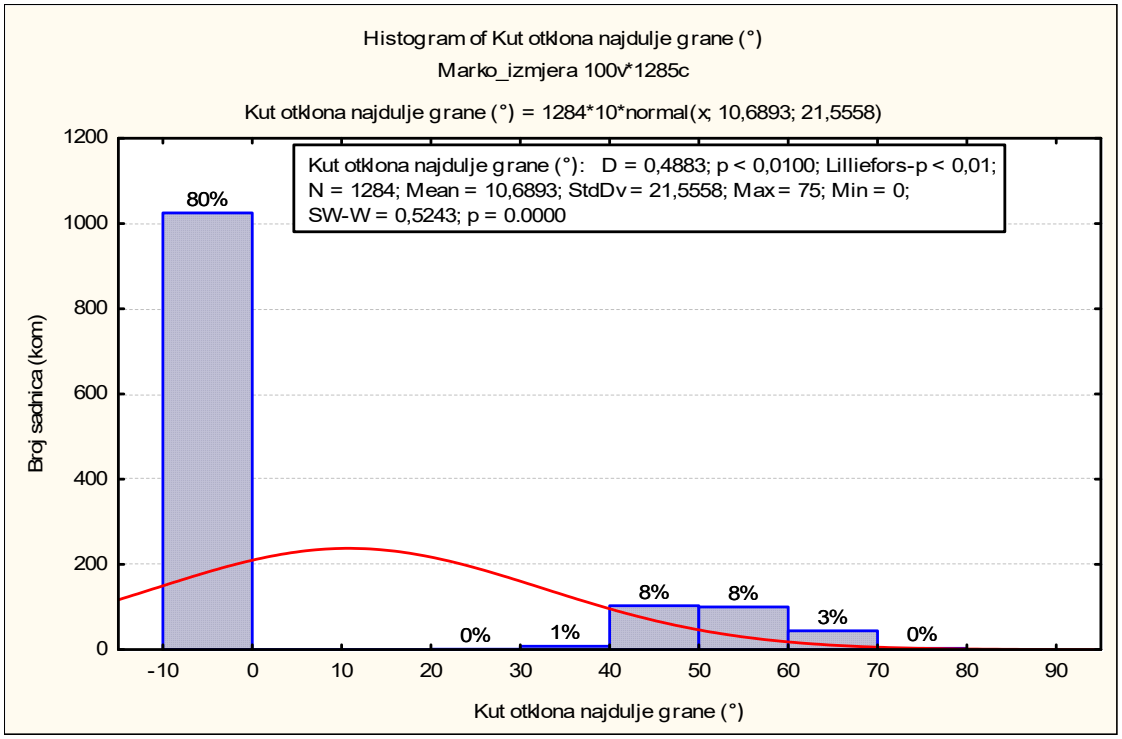
Nezavisno grupiranje varijable: Tretiranje

Kruskal-Wallis test: H (9, N= 1284) =4,932591 p =,8401

Prema Kruskal-Wallis testu također ne pokazuje statistički značajne razlike u grana prvoga reda (kom) (p =0,8401).

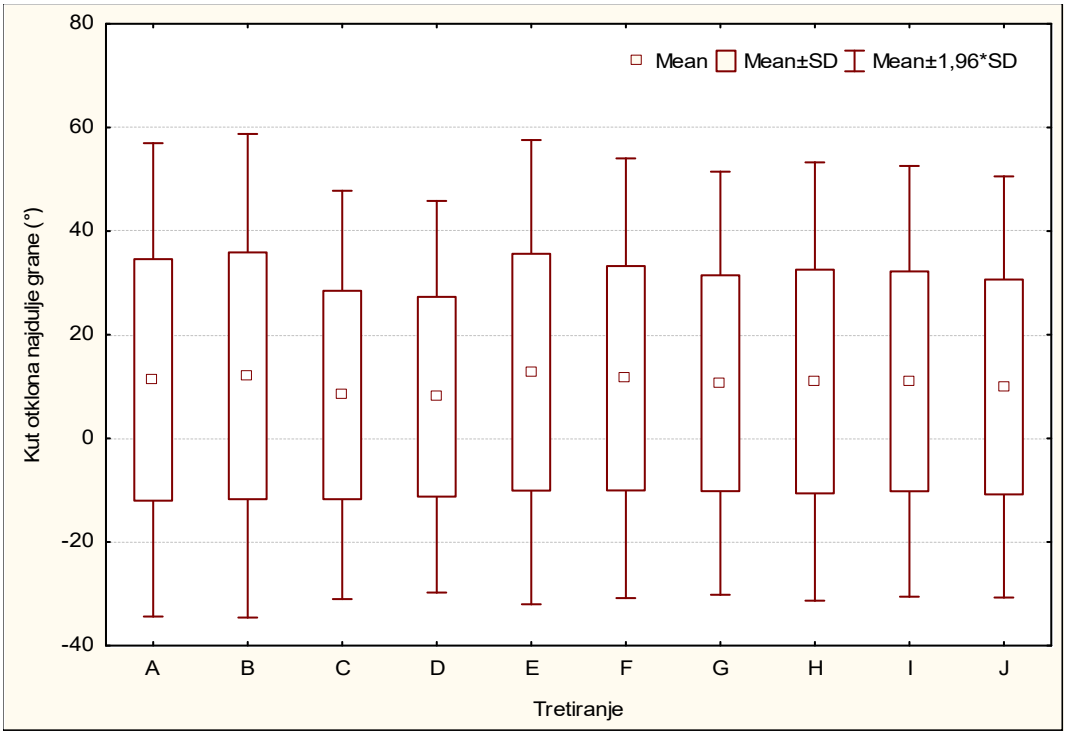


Graf 8. Distribucija A-J broja grana prvoga reda (kom)

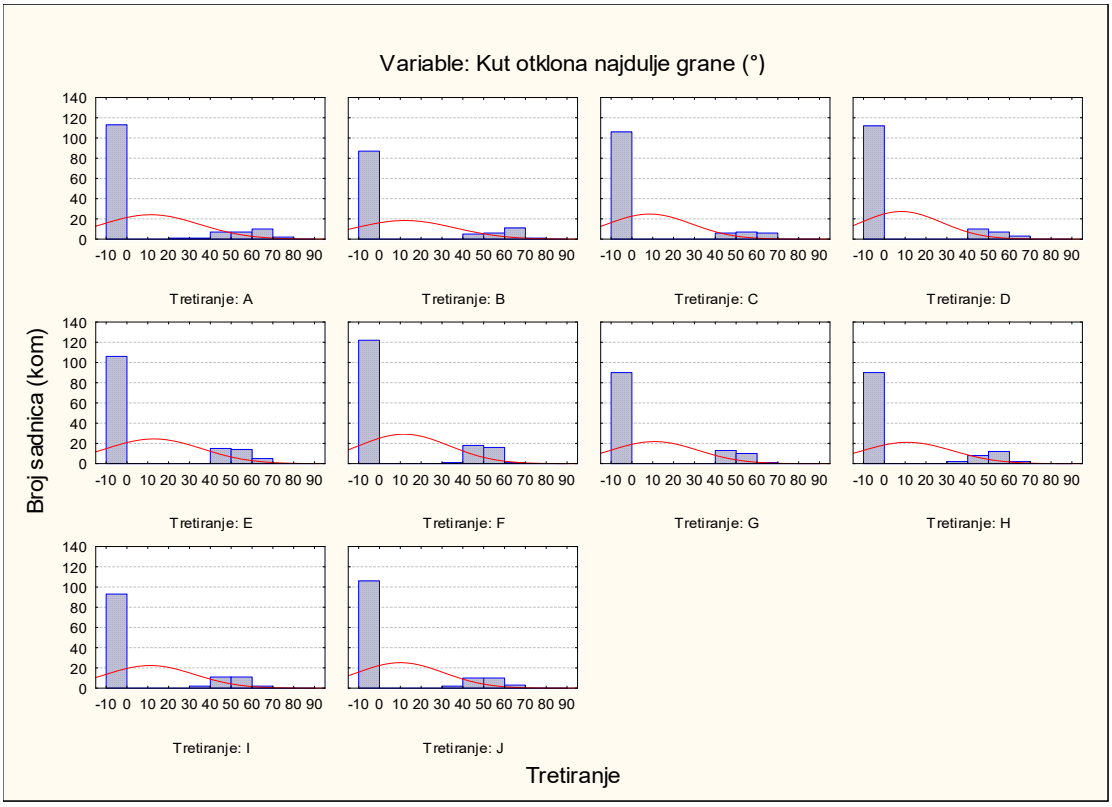


Graf 9. Distribucija kuta otklona najdulje grane (°)

Prikaz histograma (graf 9.) vidimo kako nije normalna distribucija kuta otklona najdulje grane (°). Koristiti ćemo Kruskal-Wallis ANOVA test za dobivanje statističkih podataka.



Graf 10. Box whisker graf distribucije kuta otklona najdulje grane (°)



Graf 11. Distribucija A-J kuteva otklona najdulje grane (°)

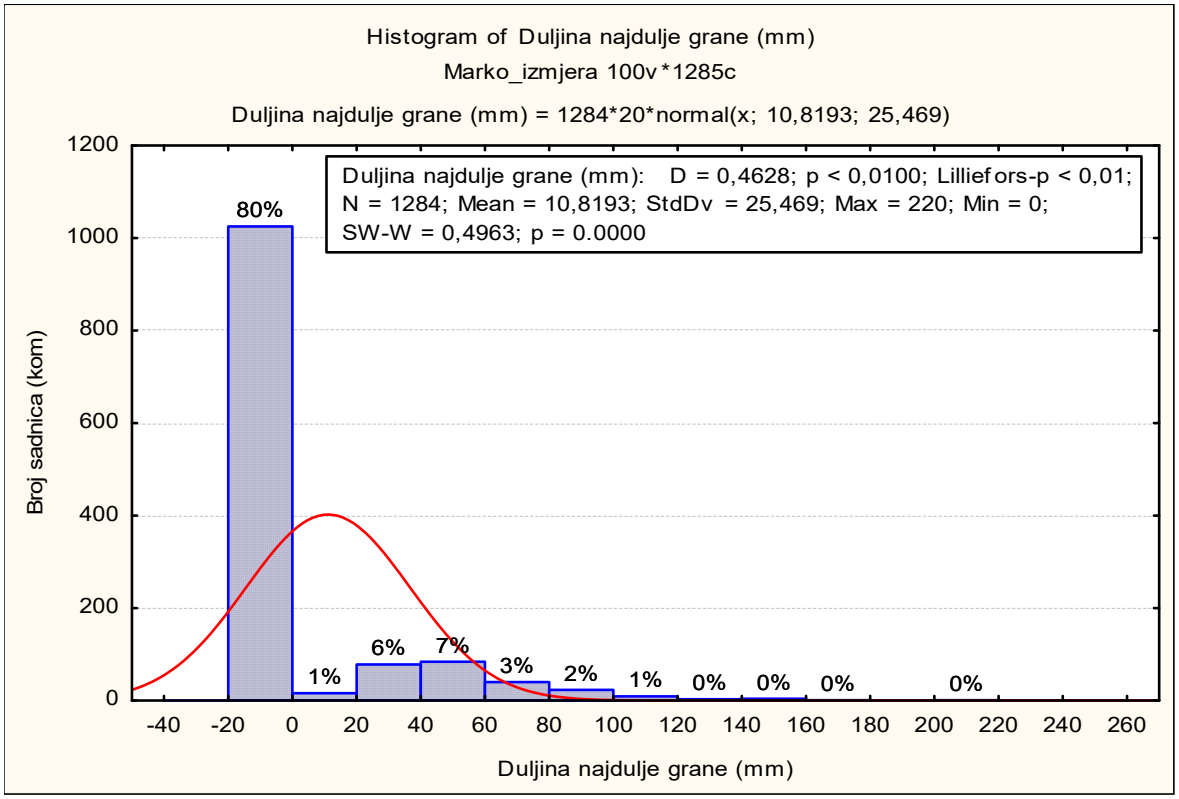
Tablica 16. Kruskal-Wallis ANOVA po kategorijama; Kut otklona najdulje grane (°)

Tretiranja	Code	Valid	Sum of
A	101	141	91228,0
B	102	110	72311,5
C	103	125	76685,5
D	104	132	80582,0
E	105	140	93540,5
F	106	158	103416,0
G	107	114	73338,5
H	108	114	73697,0
I	109	119	77133,0
J	110	131	83038,0

Nezavisno grupiranje varijable: Tretiranje

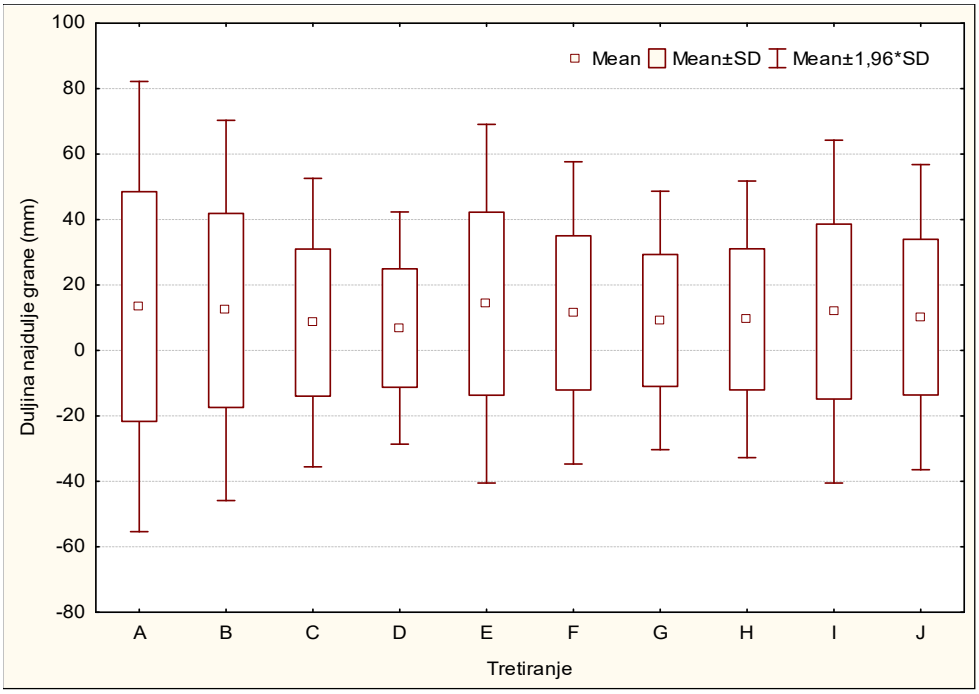
Kruskal-Wallis test: H (9, N= 1284) =5,896395 p =,7502

Nije utvrđena statistički značajna razlika u kutu otklona najdulje grane (°) sadnica hrasta lužnjaka (*Quercus robur* L.) (p =0,7502).

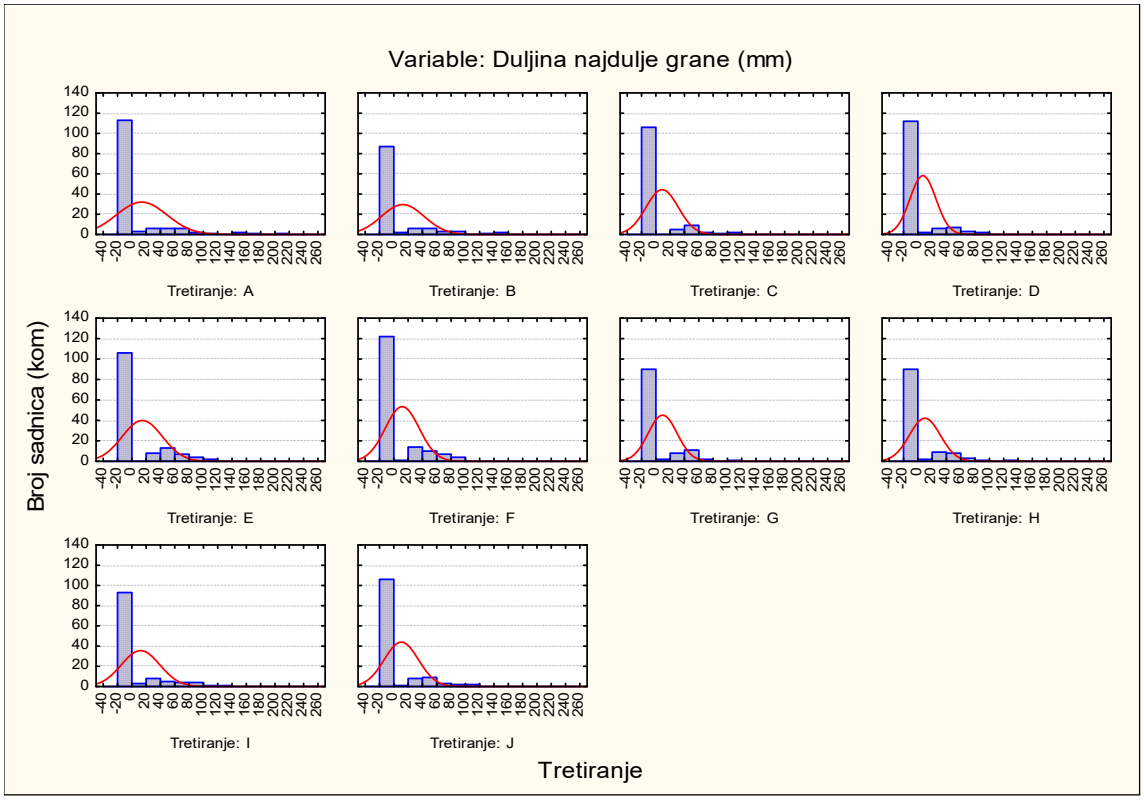


Graf 12. Distribucija duljine najdulje grane (mm)

Pogledom u histogram (Graf 12.) imamo uvid kako distribucija nije normalna, iz tog razloga koristiti ćemo Kruskal-Wallis ANOVA test po kategorijama.



Graf 13. Box whisker graf distribucije duljine najdulje grane (mm)



Graf 14. Distribucija A-J duljine najdulje grane (mm)

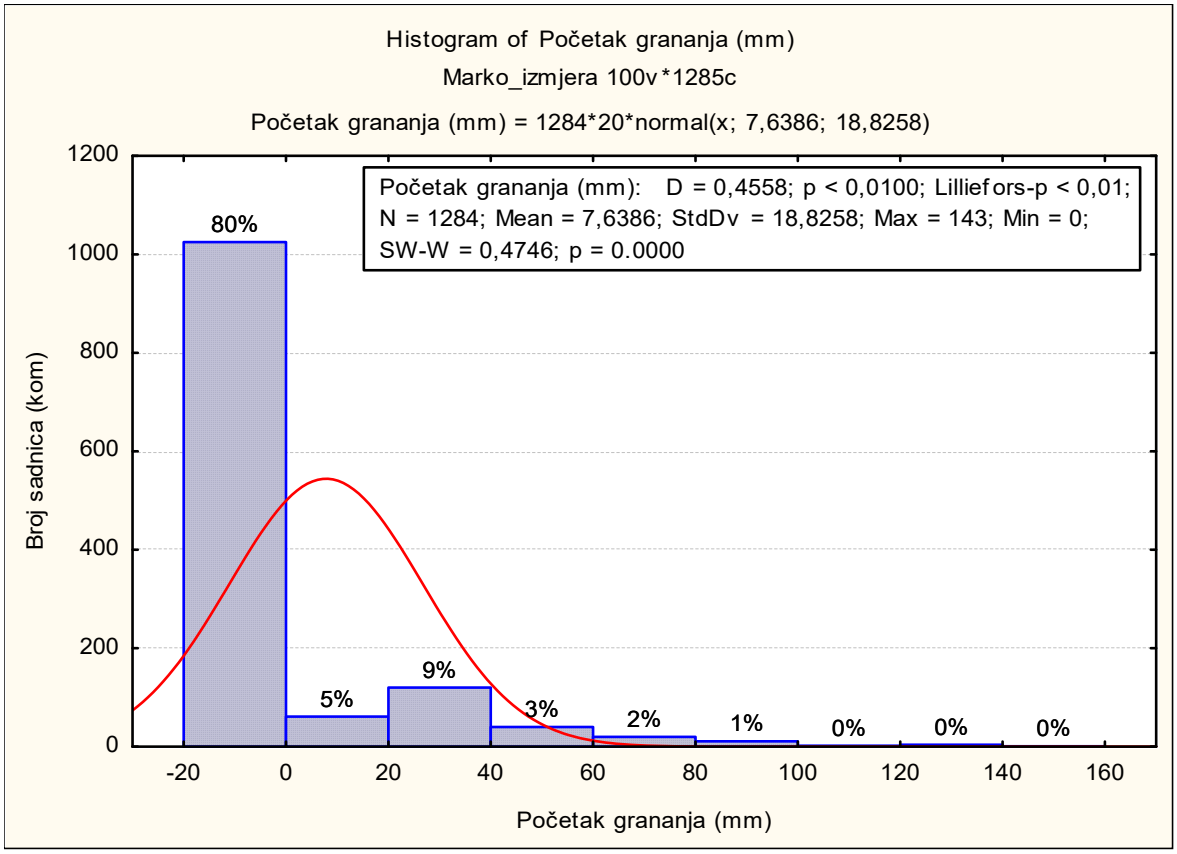
Tablica 17. Kruskal-Wallis ANOVA po kategorijama; Duljina najdulje grane (mm)

Tretiranje	Code	Valid	Sum of
A	101	141	90722,0
B	102	110	71213,5
C	103	125	76550,0
D	104	132	80215,0
E	105	140	94439,0
F	106	158	104069,0
G	107	114	73301,5
H	108	114	73339,0
I	109	119	77786,5
J	110	131	83334,5

Nezavisne grupne varijablje: Tretiranje

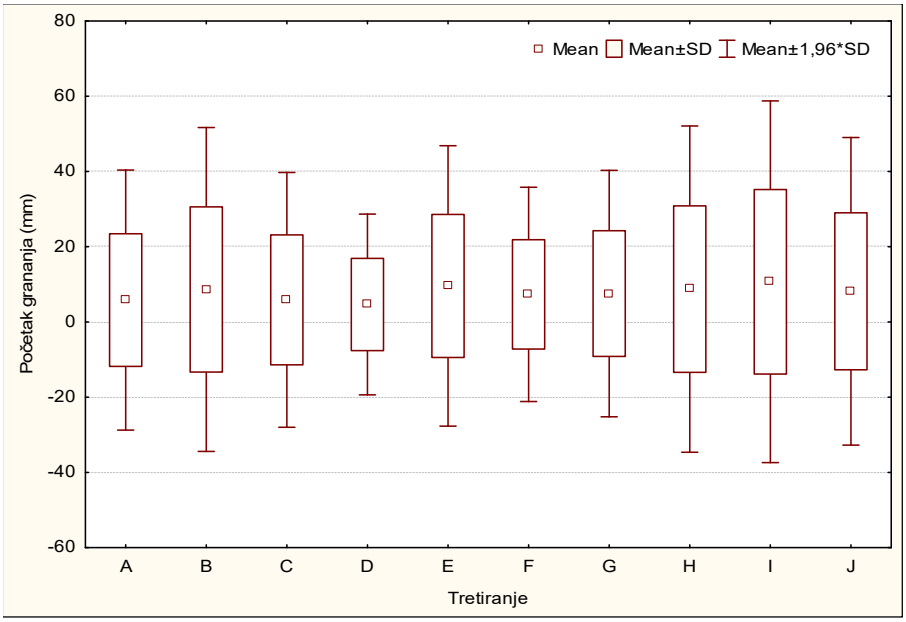
Kruskal-Wallis test: H (9, N= 1284) =7,127145 p =,6239

Nije utvrđena statistički značajna razlika u duljina najdulje grane (mm) sadnica hrasta lužnjaka (*Quercus robur* L.) (p =0,6239).

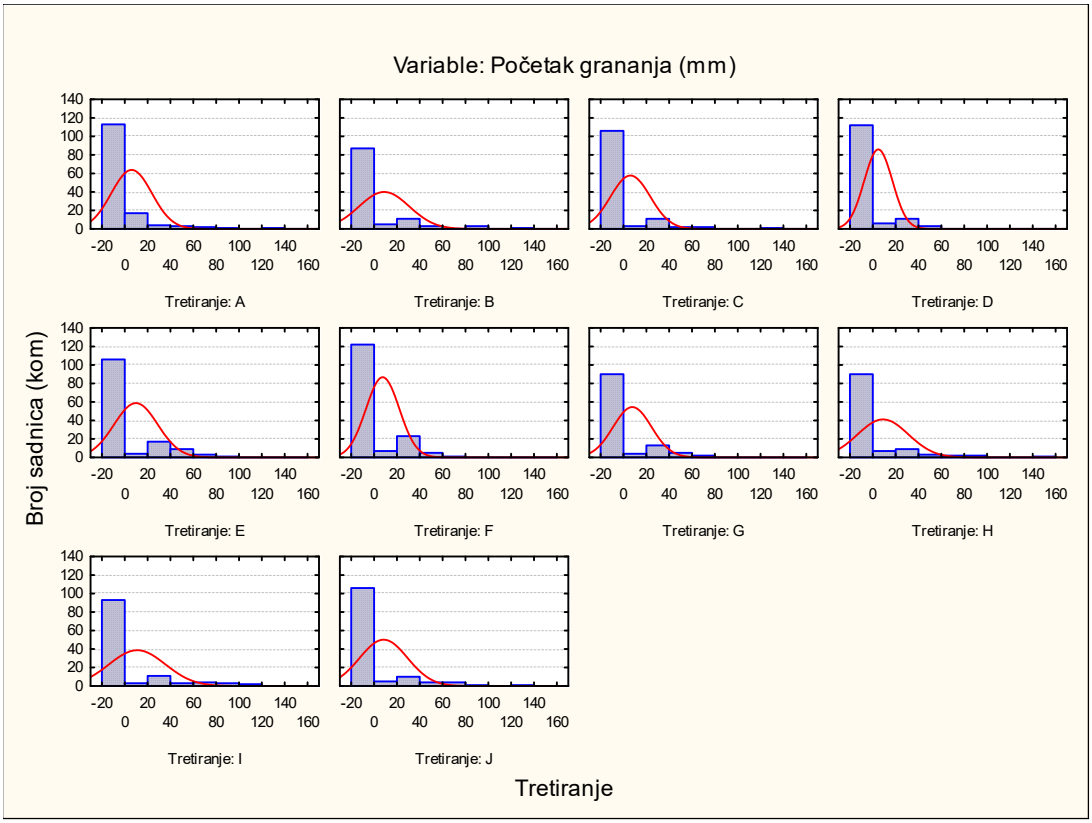


Graf 15. Distribucija početka grananja (mm)

Ovim grafičkim prikazom vidimo kako nije normalna distribucija za početak grananja (mm), iz toga razloga koristiti ćemo Kruskal-Wallis ANOVA test po kategorijama za dobivanje rezultata o početku grananja (mm).



Graf 16. Box whisker graf distribucije distribucija za početak grananja (mm)



Graf 17. Distribucija A-J početak grananja (mm)

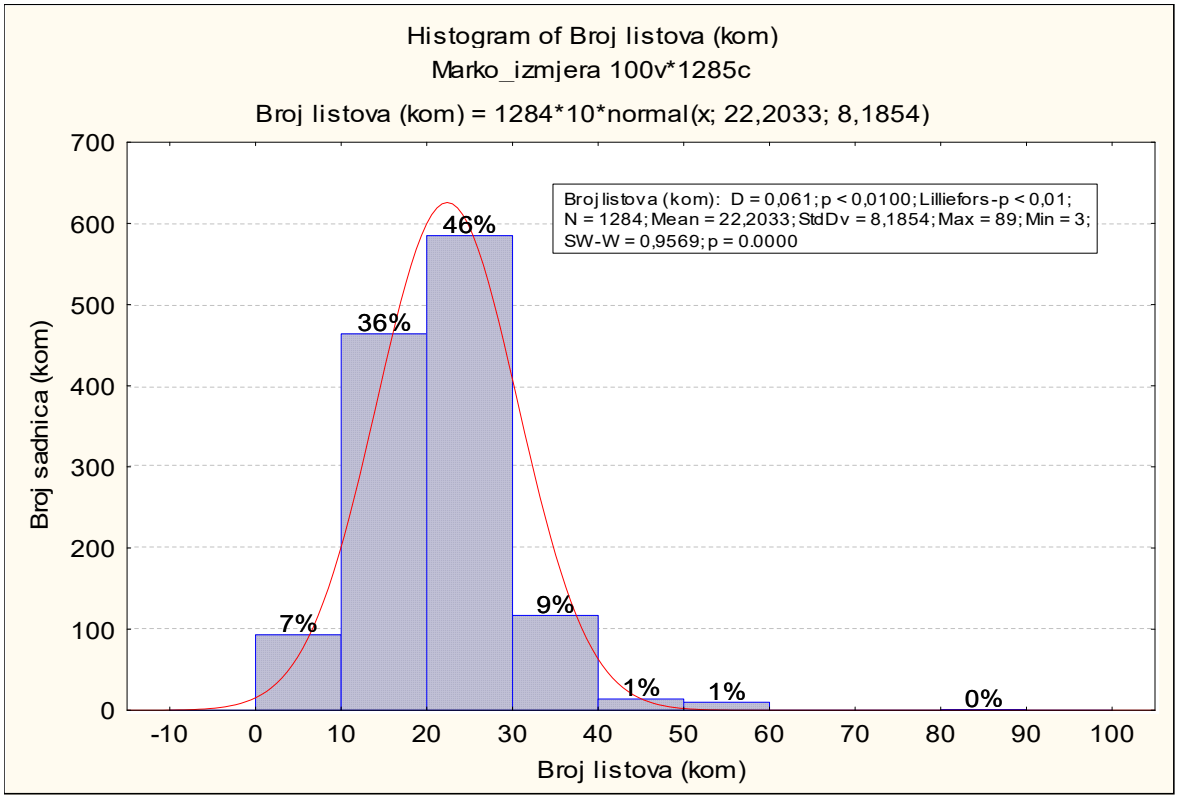
Tablica 18. Kruskal-Wallis ANOVA po kategorijama; Početak grananja (mm)

Tretiranje	Code	Valid	Sum of
A	101	141	89008,0
B	102	110	71250,0
C	103	125	76377,5
D	104	132	80300,0
E	105	140	94225,5
F	106	158	103985,0
G	107	114	73894,5
H	108	114	73935,5
I	109	119	78440,0
J	110	131	83554,0

Nezavisne grupne varijablje: Tretiranje

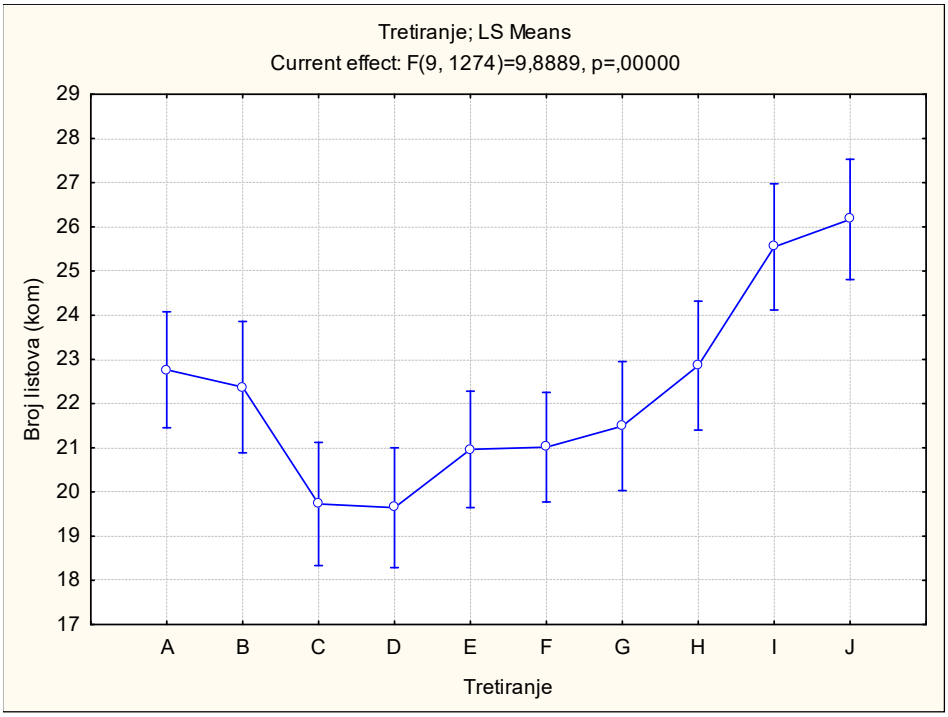
Kruskal-Wallis test: H (9, N= 1284) =7,576010 p =,5774

Nije utvrđena statistički značajna razlika za početak grananja (mm) sadnica hrasta lužnjaka (*Quercus robur* L.) (p =0,5774).



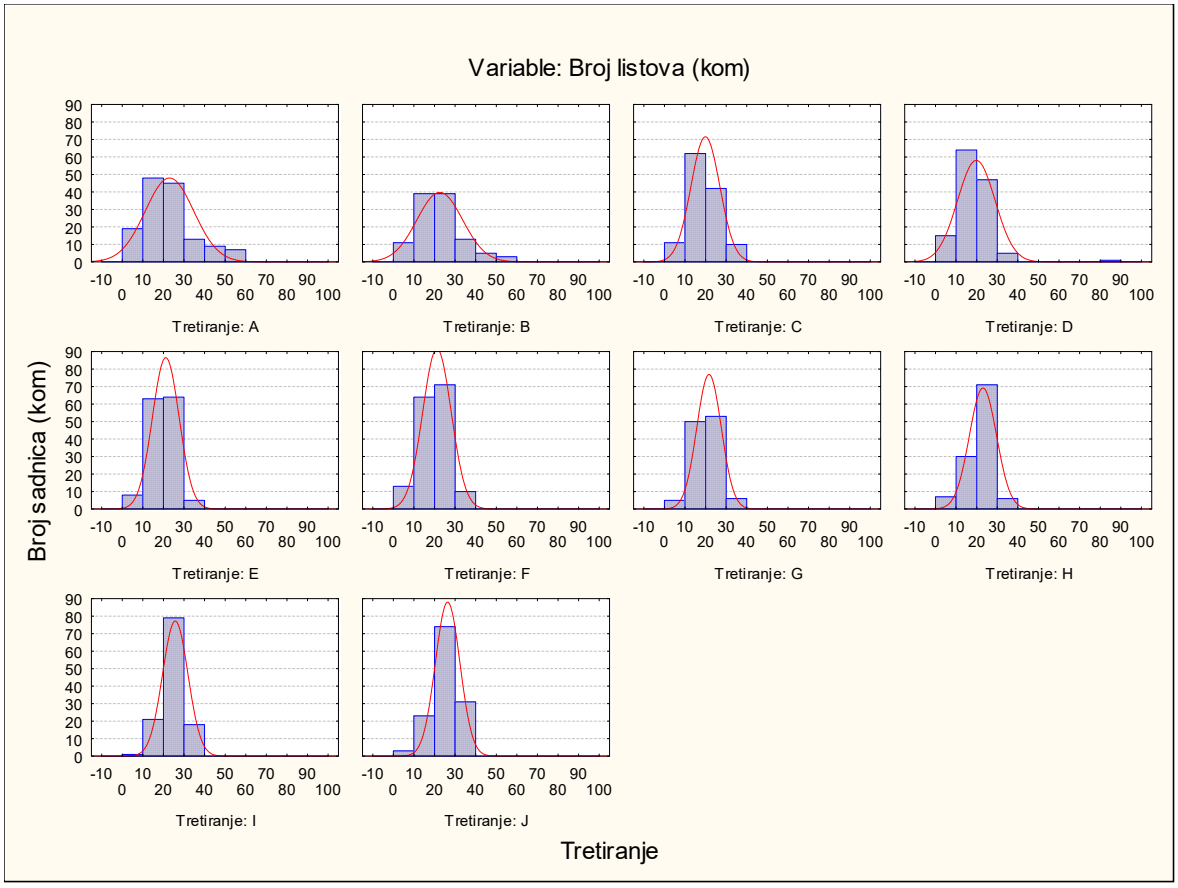
Graf 18. Distribucija broja listova (kom)

Uvidom u histogram (Graf 18.) distribucije broja listova (kom) vidimo kako je distribucija normalna.



Graf 19. LS ANOVA distribucija broja listova (kom)

Pregledom grafa 19. uočavamo statistički značajne razlike primjenom analize varijance (LS ANOVA) testa u broju listova (ploha C i D), te plohe (I i J).



Graf 20. Distribucija A-J broja listova (kom)

Normalna je distribucija pa smo radili parametrijski test ANOVA

Tablica 19. parametrijski test ANOVA broj listova (kom)

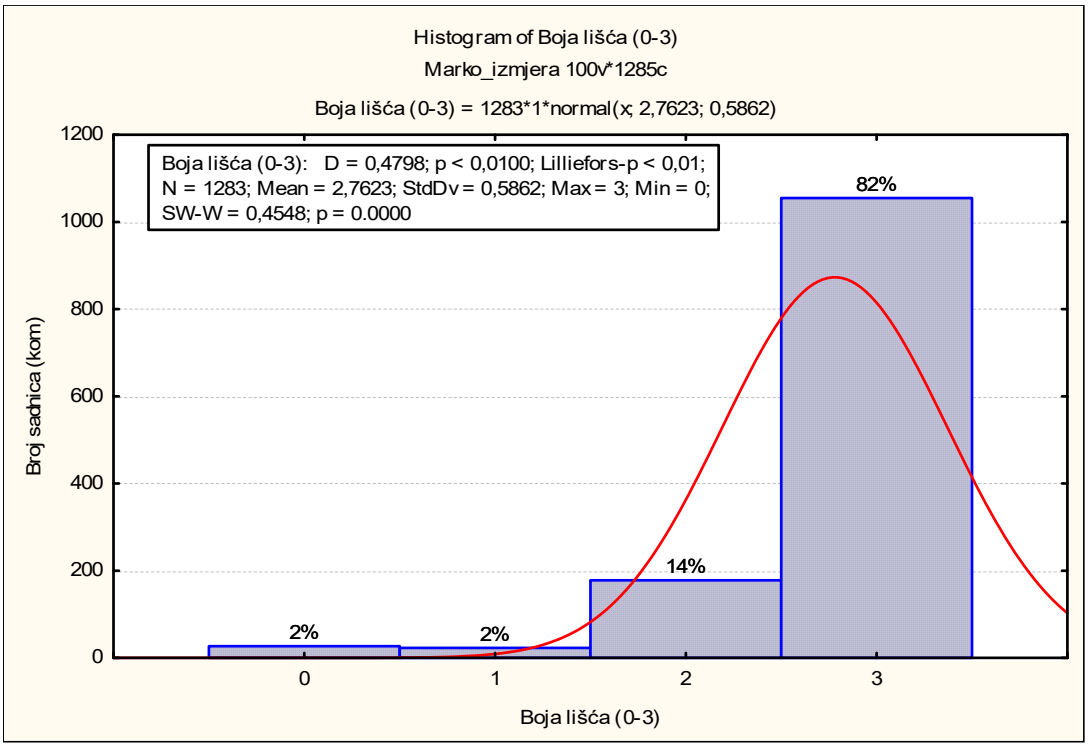
	SS	Degr. of	MS	F	p
Tretiranje	5613,1	9	623,7	9,889	0,000000
Error	80348,9	1274	63,1		

Rezultati analize varijance (ANOVA) za značajke broja listova hrasta lužnjaka (*Quercus robur* L.) načina tretiranja uočavamo statistički značajne razlike (p=0).

Tablica 20. Tukey SHD test broja listova hrasta lužnjaka (*Quercus robur* L.)

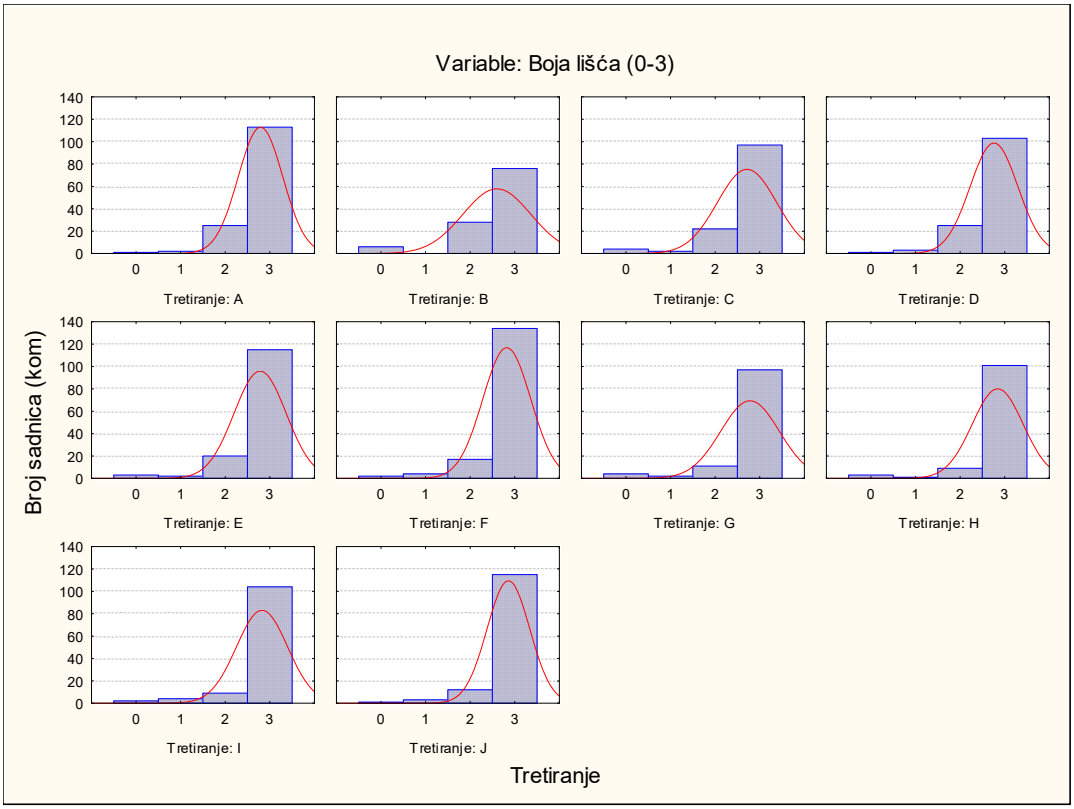
Cell No.	Tretiranje	{1} 22,766	{2} 22,373	{3} 19,728	{4} 19,644	{5} 20,964	{6} 21,013	{7} 21,491	{8} 22,860	{9} 25,546	{10} 26,168
Tukey HSD test; variable Broj listova (kom) (Marko_izmjera) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = 63,068, df = 1274,0											
1	A										
2	B	0,999997									
3	C	0,058013	0,243275								
4	D	0,038836	0,189504	1,000000							
5	E	0,668151	0,930071	0,961264	0,936298						
6	F	0,665250	0,933817	0,941473	0,907160	1,000000					
7	G	0,959398	0,998124	0,787619	0,723101	0,999956	0,999976				
8	H	1,000000	0,999986	0,070832	0,049509	0,674743	0,674239	0,953744			
9	I	0,132083	0,075746	0,000013	0,000013	0,000168	0,000120	0,003882	0,226359		
10	J	0,015155	0,008354	0,000012	0,000012	0,000015	0,000014	0,000192	0,038064	0,999828	

HSD test nam pokazuje razliku u visini između tretiranih sadnica I i J i značajno odstupaju u broju listova naspram kontrole i ostalih tretiranih ploha.

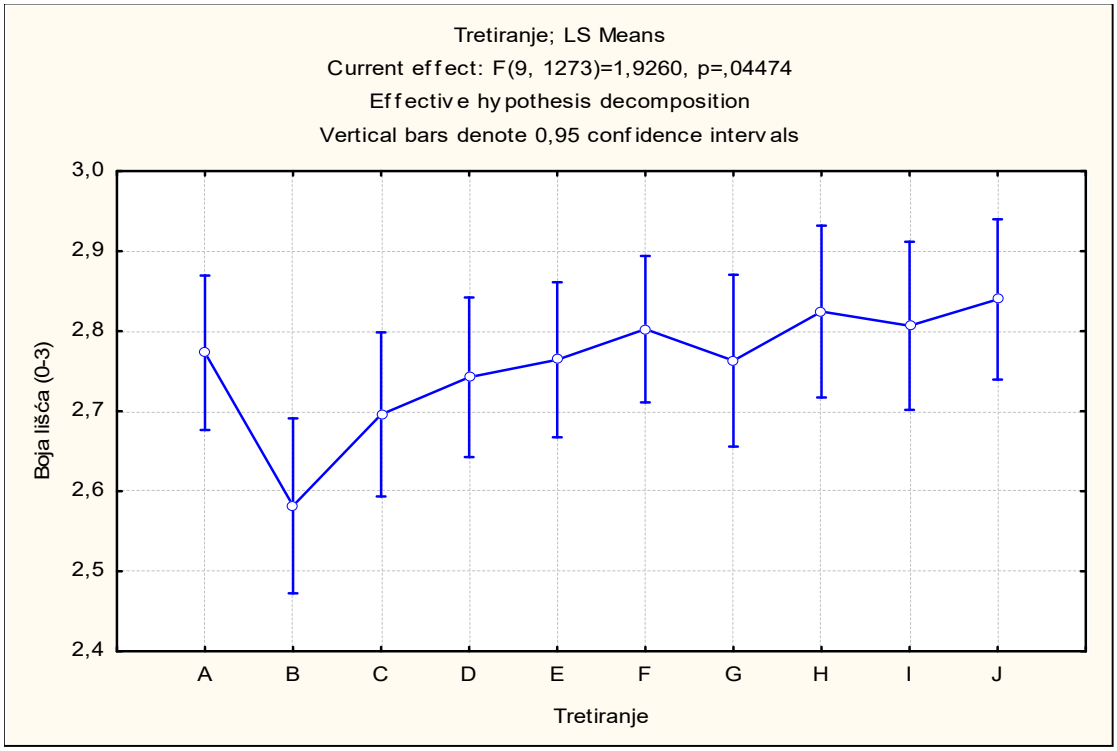


Graf 21. Distribucija boja lišća (0-3)

Graf nam prikazuje da je normalna distribucija pa smo radili parametrijski test ANOVA.



Graf 22. Distribucija A-J boja listova (0-3)



Graf 23. LS ANOVA distribucija boje lišća (0-3)

Tablica 21. parametrijski test ANOVA boja lišća (0-3)

	SS	Degr. of	MS	F	p
Tretiranje	5,917	9	0,657	1,93	0,044738
Error	434,577	1273	0,341		

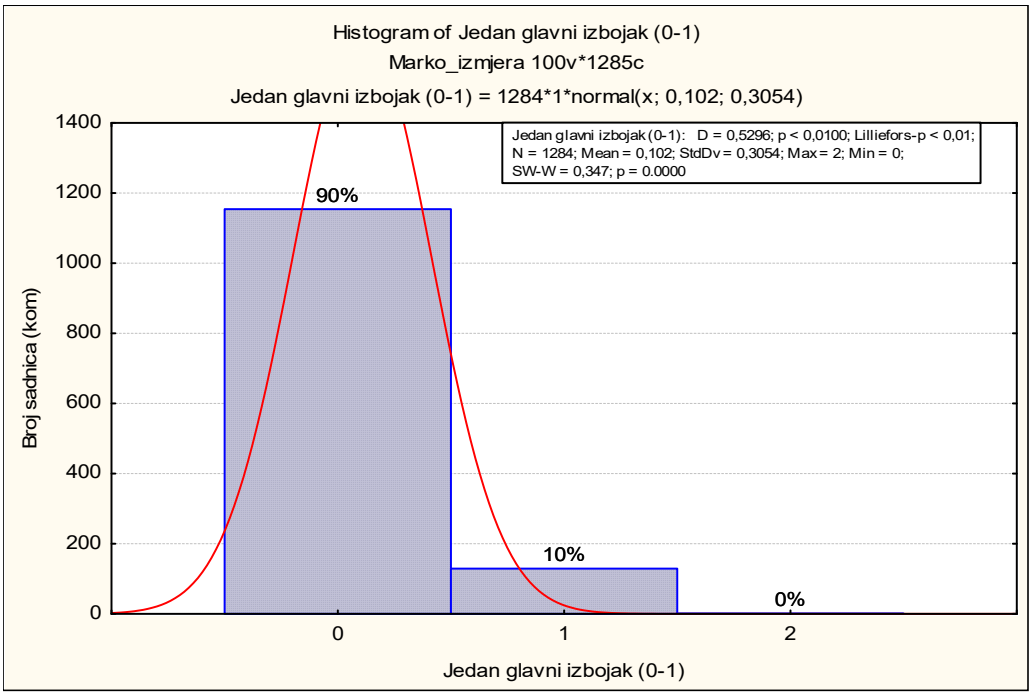
Rezultati analize varijance (ANOVA) za značajke boje listova hrasta lužnjaka (*Quercus robur* L.) načina tretiranja uočavamo jako malene statistički značajne razlike (p=0, 044738).

Tablica 22. Tukey SHD test boja listova hrasta lužnjaka (*Quercus robur* L.)

Tukey HSD test; variable Boja lišća (0-3) (Marko_izmjera)
Approximate Probabilities for Post Hoc Tests
Error: Between MS = ,34138, df = 1273,0

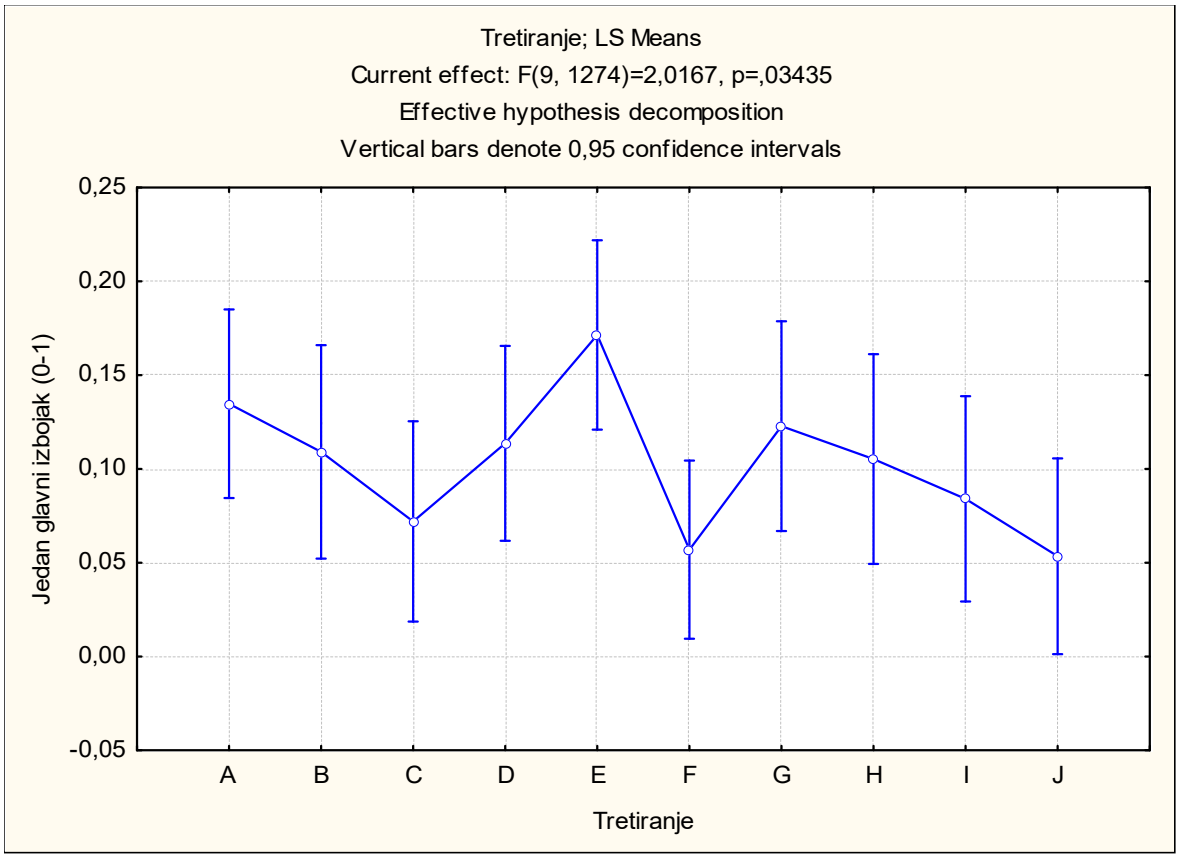
Cell No.	Tretiranje	{1} 2,7730	{2} 2,5818	{3} 2,6960	{4} 2,7424	{5} 2,7643	{6} 2,8025	{7} 2,7632	{8} 2,8246	{9} 2,8067	{10} 2,8397
1	A										
2	B	0,230519									
3	C	0,987236	0,894683								
4	D	0,999992	0,506562	0,999780							
5	E	1,000000	0,295485	0,994765	1,000000						
6	F	0,999991	0,072177	0,884050	0,997276	0,999921					
7	G	1,000000	0,374332	0,996864	1,000000	1,000000	0,999938				
8	H	0,999521	0,058933	0,796429	0,984890	0,998338	1,000000	0,998690			
9	I	0,999985	0,102599	0,900518	0,997296	0,999895	1,000000	0,999914	1,000000		
10	J	0,995156	0,022629	0,622489	0,941854	0,988191	0,999947	0,990975	1,000000	0,999989	

HSD test nam pokazuje jako malenu statistički značajnu razliku u plohi B nasuprot plohe J koja ima najbolje rezultat.



Graf 24. Distribucija jedan glavni izbojak (0-1)

Graf nam prikazuje da je normalna distribucija pa smo radili parametrijski test ANOVA.



Graf 25. LS ANOVA distribucija jedan ili više glavnih izbojaka (0-1)

Tablica 23. parametrijski test ANOVA jedan ili više glavnih izbojaka (0-1)

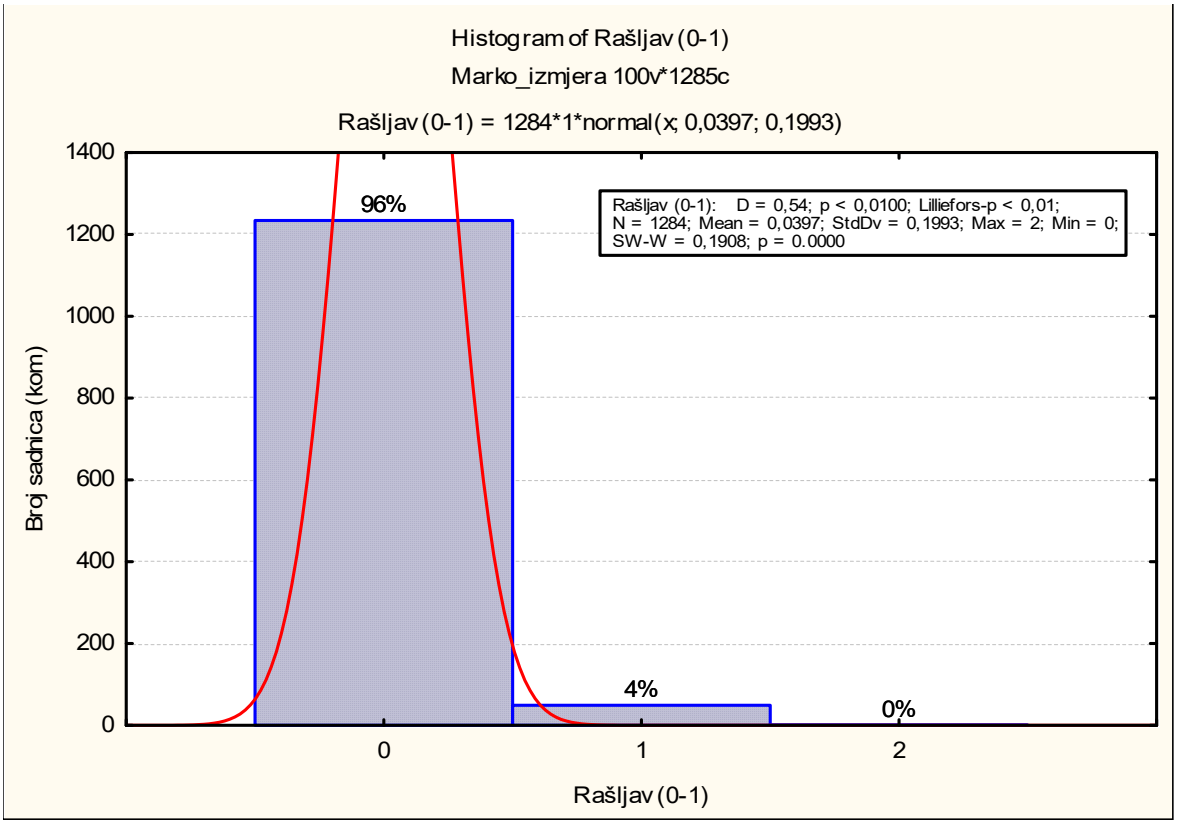
	SS	Degr. of	MS	F	p
Tretiranje	1,6804	9	0,18672	2,0167	0,034354
Error	117,9543	1274	0,09259		

Rezultati analize varijance (ANOVA) za značajke jedan ili više glavnih izbojaka hrasta lužnjaka (*Quercus robur* L.) načina tretiranja uočavamo malene statistički značajne razlike (p=0, 034354).

Tablica 24. Tukey SHD test jedan ili više glavnih izbojaka (0-1) hrasta lužnjaka (*Quercus robur* L.)

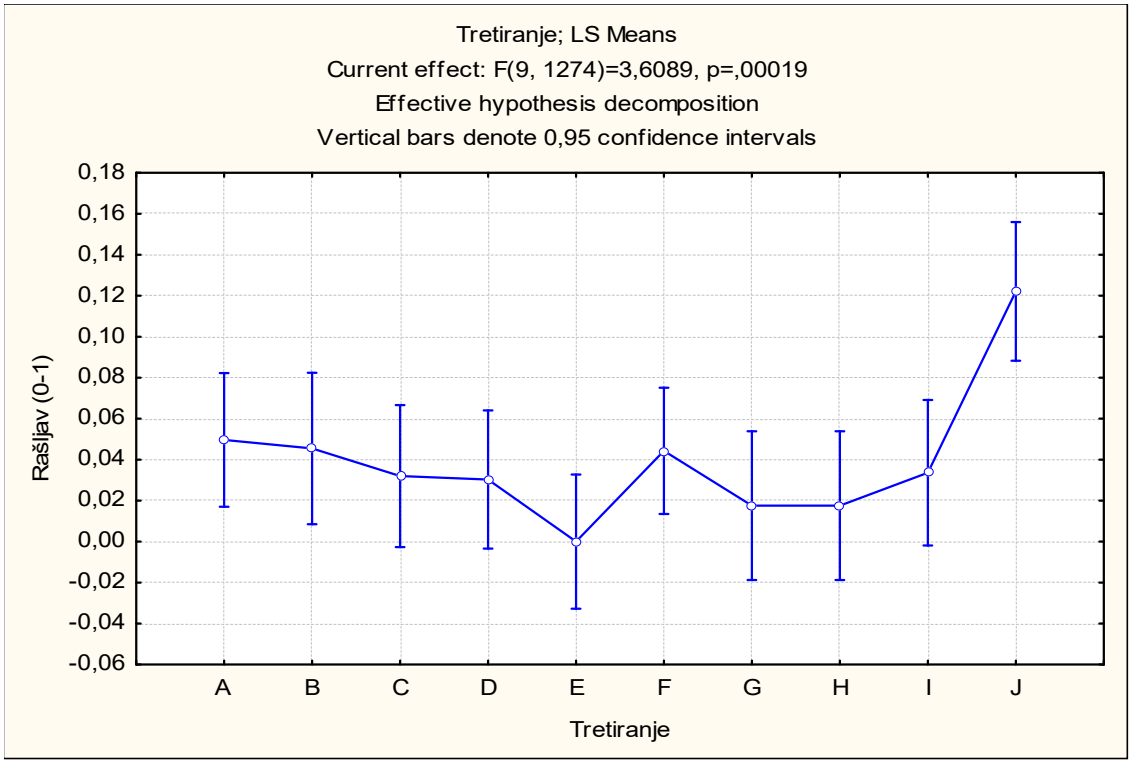
Cell No.	Tretiranje	{1} ,13475	{2} ,10909	{3} ,07200	{4} ,11364	{5} ,17143	{6} ,05696	{7} ,12281	{8} ,10526	{9} ,08403	{10} ,05344
Tukey HSD test; variable Jedan glavni izbojak (0-1) (Marko_izmjera) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = ,09259, df = 1274,0											
1	A										
2	B	0,999693									
3	C	0,807789	0,995440								
4	D	0,999909	1,000000	0,985183							
5	E	0,991743	0,844744	0,192172	0,864813						
6	F	0,451964	0,933680	0,999995	0,858362	0,039434					
7	G	1,000000	0,999999	0,956284	1,000000	0,960950	0,759885				
8	H	0,998974	1,000000	0,997871	1,000000	0,782210	0,955758	0,999991			
9	I	0,944666	0,999818	1,000000	0,998972	0,386468	0,999304	0,993766	0,999951		
10	J	0,455084	0,923166	0,999977	0,846541	0,046156	1,000000	0,748116	0,946961	0,998681	

HSD test nam pokazuje malenu statistički značajnu razliku u plohi E nasuprot plohe F.



Graf 26. Distribucija rašljavosti izbojka (0-1)

Graf nam prikazuje da je normalna distribucija pa smo radili parametrijski test ANOVA.



Graf 27. LS ANOVA distribucija rašljavosti izbojka (0-1)

Tablica 25. parametrijski test ANOVA rašljavost izbojka (0-1)

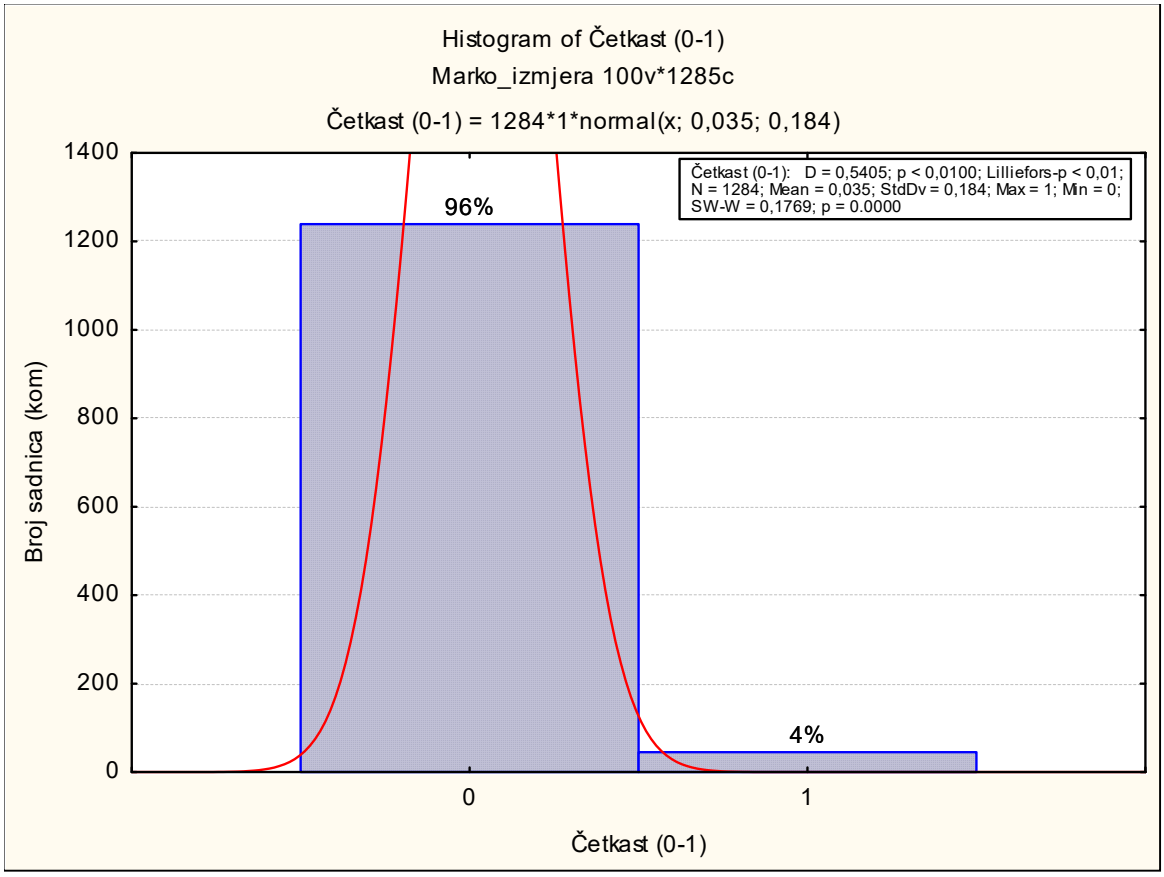
	SS	Degr. of	MS	F	p
Tretiranje	1,26726	9	0,140806	3,60889	0,000187
Error	49,70704	1274	0,039017		

Rezultati analize varijance (ANOVA) za rašljavost izbojka hrasta lužnjaka (*Quercus robur* L.) načina tretiranja uočavamo statistički značajne razlike (p=0, 000187).

Tablica 26. Tukey SHD test rašljavost izbojka hrasta lužnjaka (*Quercus robur* L.)

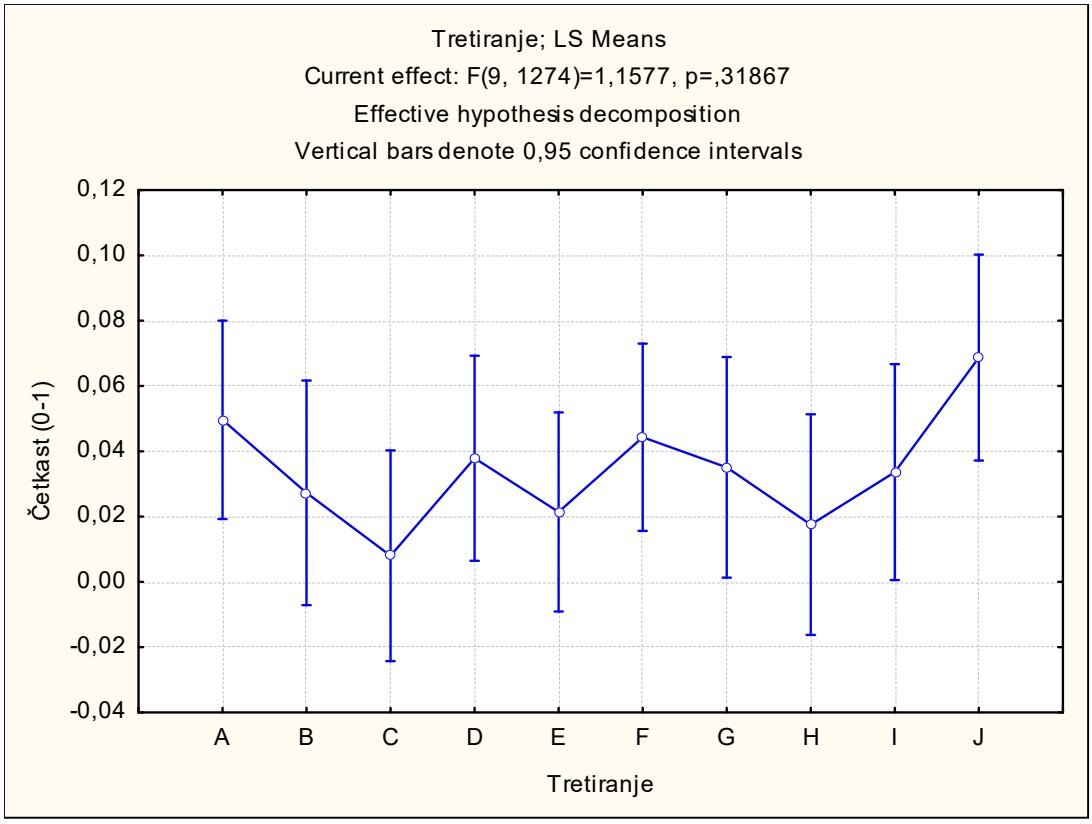
	Tukey HSD test; variable Rašljav (0-1) (Marko_izmjera) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = ,03902, df = 1274,0										
Cell No.	Tretiranje	{1} ,04965	{2} ,04545	{3} ,03200	{4} ,03030	{5} 0,0000	{6} ,04430	{7} ,01754	{8} ,01754	{9} ,03361	{10} ,12214
1	A										
2	B	1,000000									
3	C	0,999348	0,999959								
4	D	0,998480	0,999877	1,000000							
5	E	0,522726	0,731593	0,950172	0,961367						
6	F	1,000000	1,000000	0,999960	0,999864	0,646733					
7	G	0,956071	0,988543	0,999919	0,999969	0,999498	0,984604				
8	H	0,956071	0,988543	0,999919	0,999969	0,999498	0,984604	1,000000			
9	I	0,999733	0,999988	1,000000	1,000000	0,937847	0,999989	0,999822	0,999822		
10	J	0,075092	0,079957	0,009881	0,006320	0,000027	0,029274	0,001482	0,001482	0,014693	

HSD test nam pokazuje statistički značajnu razliku u rašljavosti izbojka hrasta lužnjaka (*Quercus robur* L.)



Graf 28. Distribucija četkast izbojak (0-1)

Graf nam prikazuje da je normalna distribucija pa smo radili parametrijski test ANOVA.

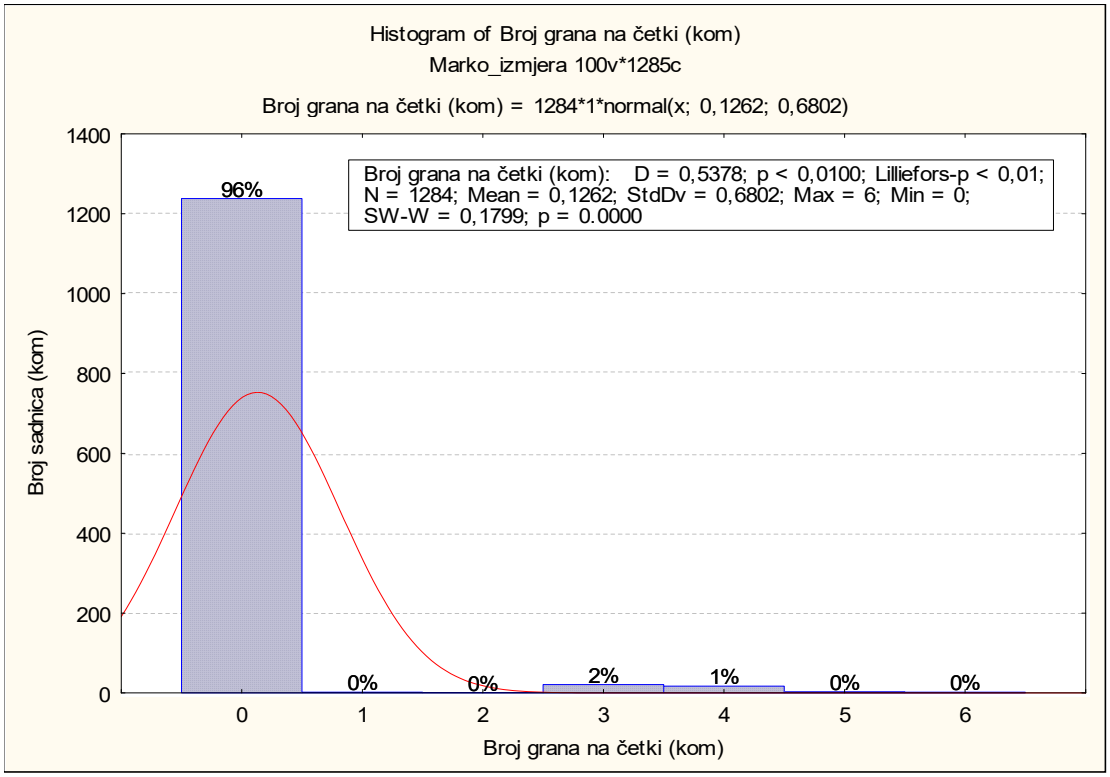


Graf 29. LS ANOVA distribucija četkastog izbojka (0-1)

Tablica 27. parametrijski test ANOVA četkastog izbojka (0-1)

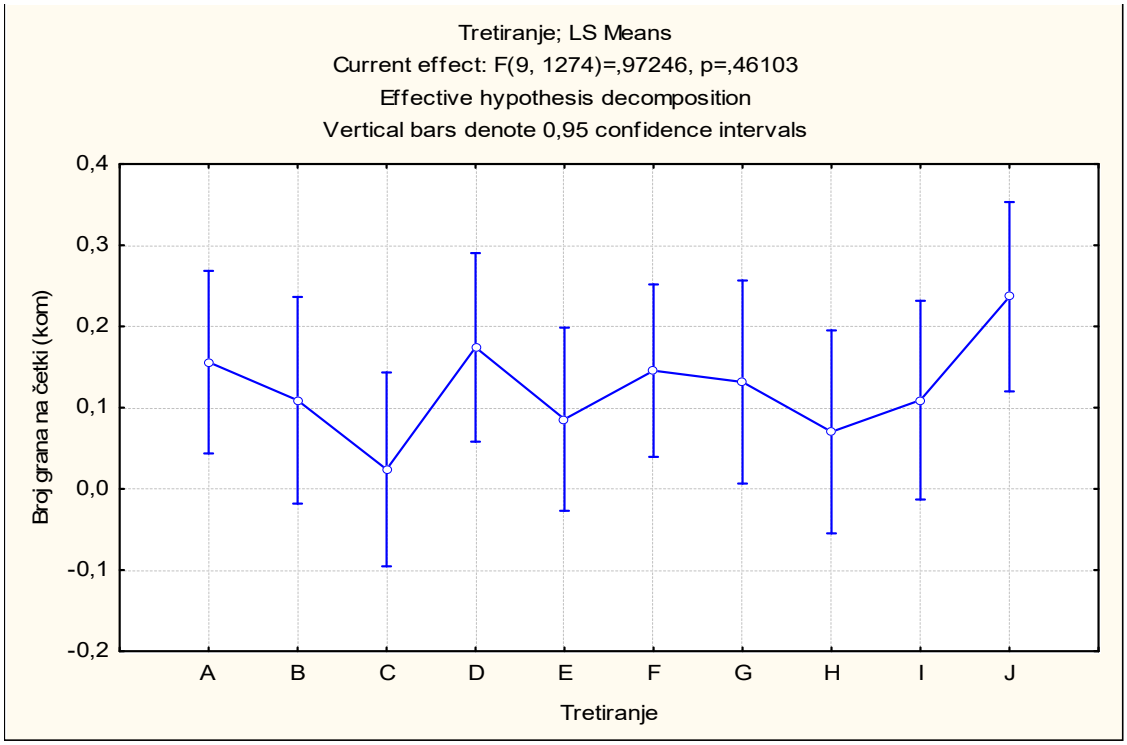
	SS	Degr. of	MS	F	p
Tretiranje	0,35225	9	0,039139	1,15771	0,318668
Error	43,07064	1274	0,033807		

Uvidom u tablicu 27. primjećujemo kako nema statistički značajne razlike između tretiranih sadnica F=1,15771, p=0,318668.



Graf 30. Distribucija broja grana na četki (kom)

Graf nam prikazuje da je normalna distribucija pa smo radili parametrijski test ANOVA.

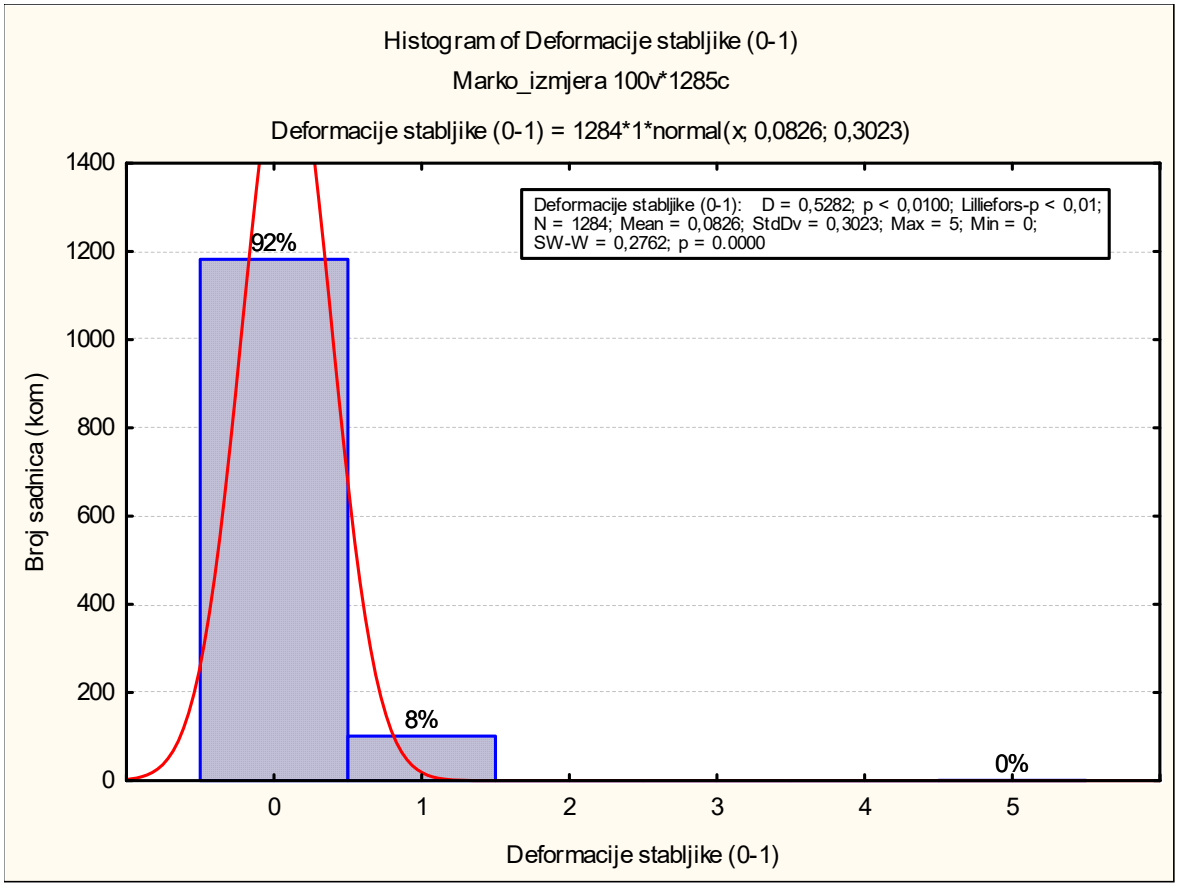


Graf 31. LS ANOVA distribucija grana na četki (kom)

Tablica 28. parametrijski test ANOVA grana na četki (kom)

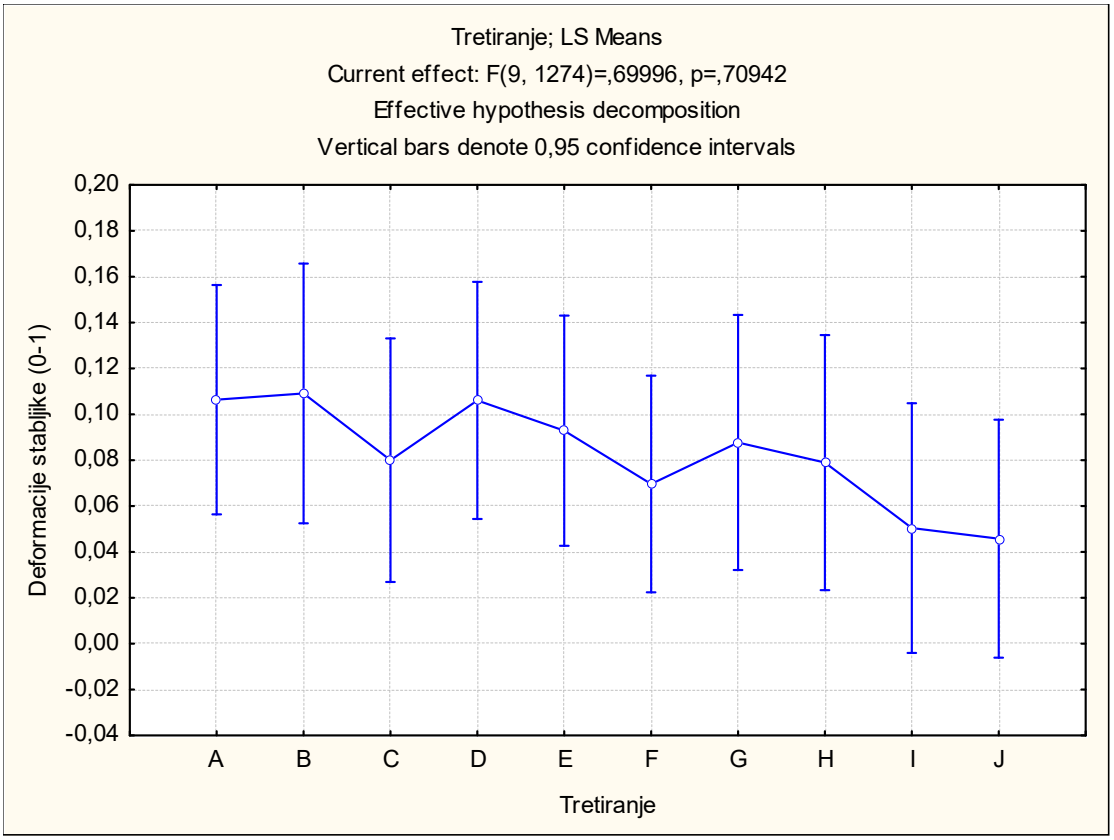
	SS	Degr. of	MS	F	p
Tretiranje	4,0498	9	0,44998	0,97246	0,461026
Error	589,5109	1274	0,46272		

Nema statistički značajne razlike F=0,97246; p=0,461026.



Graf 32. Distribucija deformacija stabljike (0-1)

Graf nam prikazuje da je normalna distribucija pa smo radili parametrijski test ANOVA.

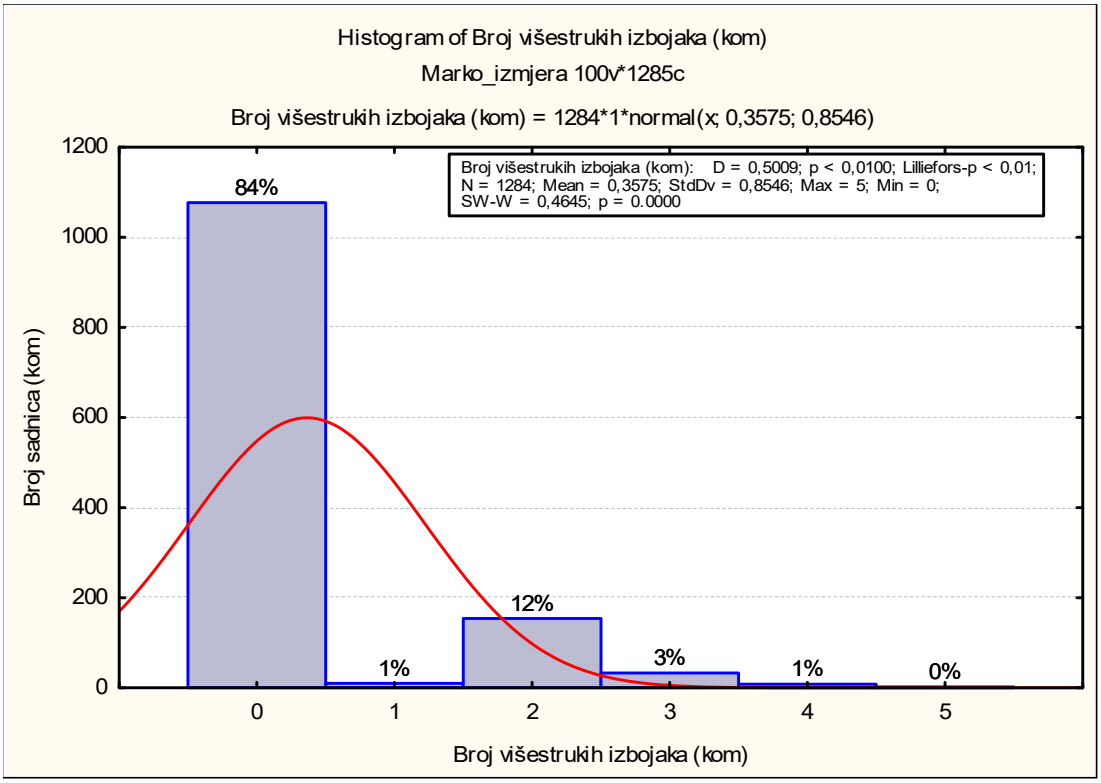


Graf 33. LS ANOVA distribucija deformacije stabljike (0-1)

Tablica 29. parametrijski test ANOVA deformacije stabljike (0-1)

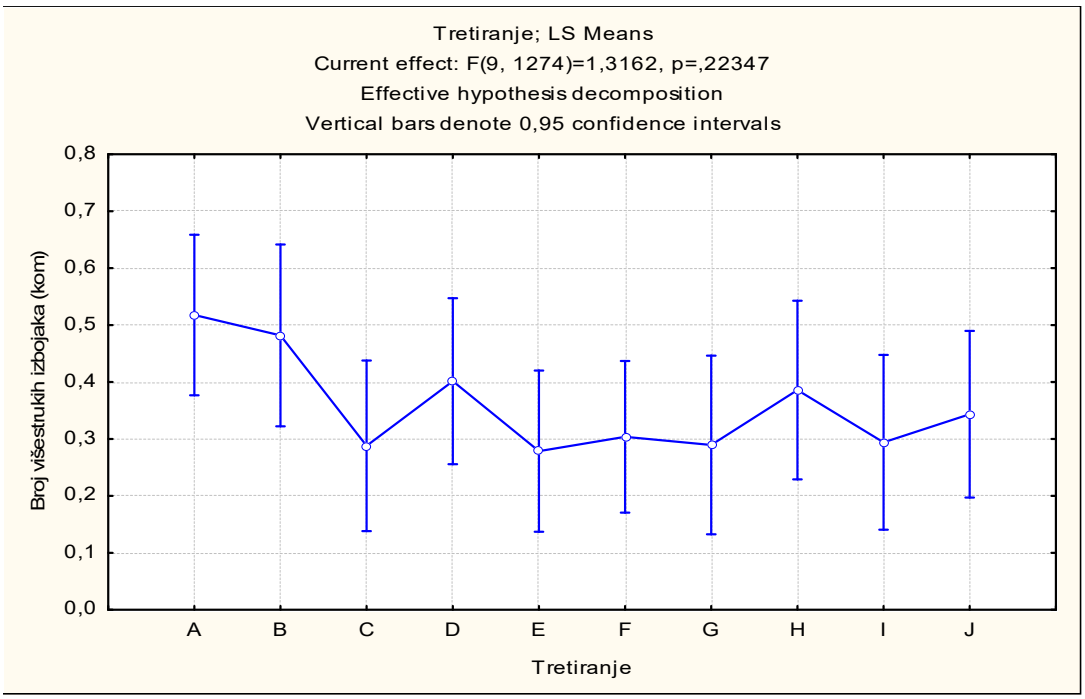
	SS	Degr. of	MS	F	p
Tretiranje	0,5769	9	0,064102	0,69996	0,709416
Error	116,6723	1274	0,091580		

Nema statistički značajne razlike u deformacijama stabljike F=0,69996; p=0,709416.

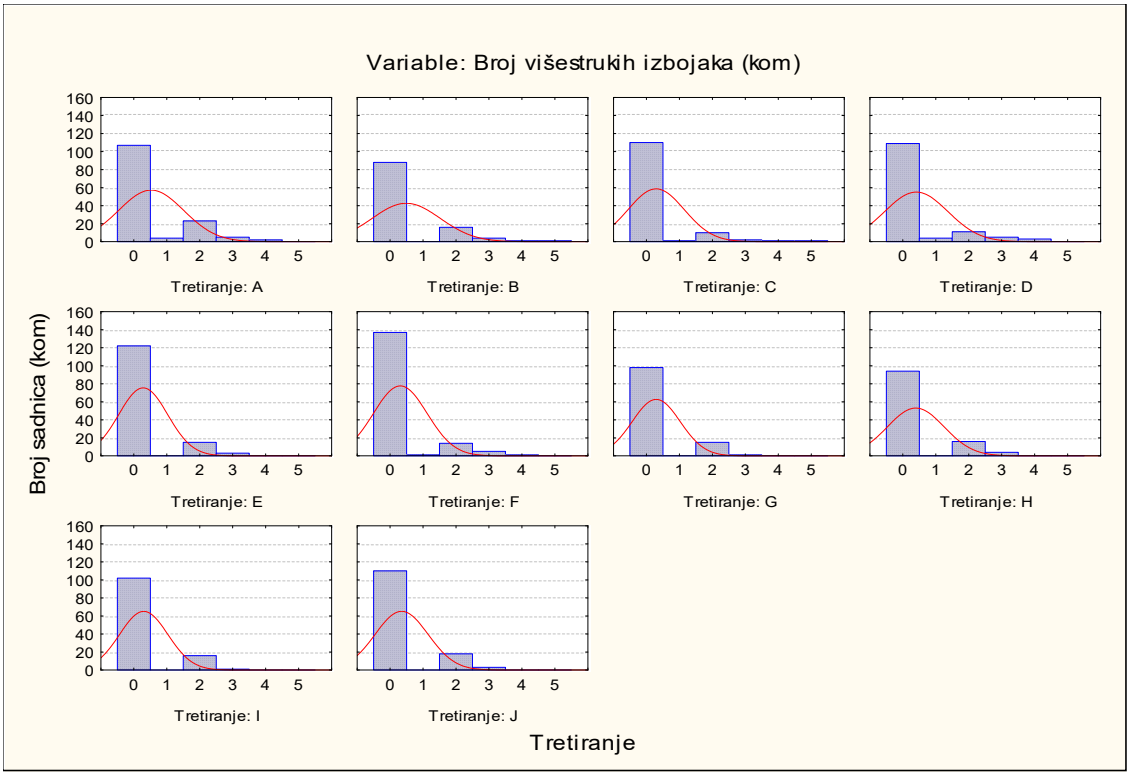


Graf 34. Distribucija broja višestrukih izboja

Graf nam prikazuje da nije normalna distribucija pa smo radili parametrijski test ANOVA i Kruskal-Wallis ANOVA test.



Graf 35. ANOVA distribucija broj višestrukih izbojaka (kom)



Graf 36. Distribucija A-J broj višestrukih izbojaka (kom)

Tablica 30. parametrijski test ANOVA deformacije stabljike (0-1)

	SS	Degr. of	MS	F	p
Tretiranje	8,6310	9	0,9590	1,3162	0,223474
Error	928,2872	1274	0,7286		

Tablica 31. Kruskal-Wallis ANOVA po kategorijama; Broj višestrukih izbojaka (kom)

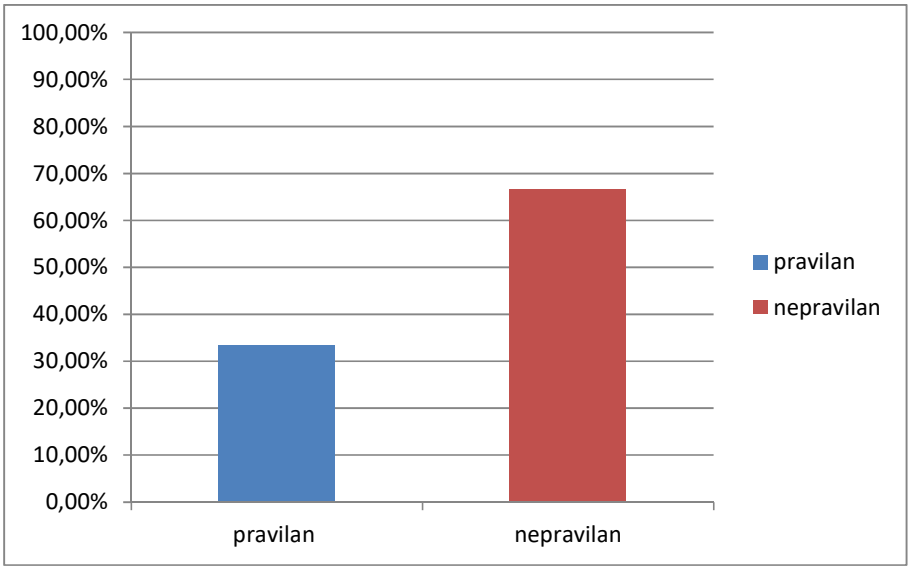
Tretiranje	Code	Valid	Sum of
A	101	141	97633,50
B	102	110	73658,00
C	103	125	77095,50
D	104	132	86016,00
E	105	140	86999,50
F	106	158	98797,00
G	107	114	71547,50
H	108	114	74330,00
I	109	119	74868,00
J	110	131	84025,00

Kruskal-Wallis test: H (9, N= 1284) =12,33604 p =,1950

Pogledom u statističke parametre nema statistički značajne razlike u broju višestrukih izboja sadnica p =0,1950, ali prilikom ispitivanja klijavosti uočili smo dosta sadnica sa izbojem 3 ili više izbojaka iz jednoga žira (slika 18.).



Slika 18. Višestruki izbojci iz žira na sadnici iz rasadničkog pokusa (izvor: Marko Vukelić, datum: 18.06.2018.)



Graf 37. Postotak pravilnih i nepravilnih sadnica prilikom ispitivanja mortaliteta sjemena



Slika 19. Formirana infekcija koja je uzrokovala trulež kotiledona 31/07 (izvor: Marko Vukelić, datum: 09.04.2018)

U 83% ukupnih nepravilnih sadnica zastupljena je primarna infekcija koja je uzrokovala trulež kotiledona 31/07 prema ISTA procjeni nepravilnih sadnica. Prilikom procjene mortaliteta klijanaca u laboratorijskim uvjetima na 52°C dobili smo jedan klijanac (slika 20., 21.) iako je naša procjena bila 0% klijavosti zbog visoke temperature.



Slika 20. Klijanac hrasta lužnjaka (Quercus robur L.) na 52°C (izvor: Marko Vukelić, datum: 09.04.2018.)



Slika 21. Procjena kvalitete klijanca hrasta lužnjaka (Quercus robur L.) prema ISTA pravilima (izvor: Marko Vukelić, datum: 09.04.2018)

U jedan zanimljivi dio dobivenih rezultata uveo sam poveznicu sa Hrvatskim šumama d.o.o. gdje sam ukupan broj tretiranih sadnica gologa korijena (1+0) u procesu 41°C - 45°C pretvorio u količinu i vrijednost ukupnih sadnica za prodaju prema cjeniku Hrvatskih šuma d.o.o.

Tablica 32. Postotno učešće sadnica hrasta lužnjaka (*Quercus robur* L.) 1+0 golog korijena različitog tretiranja prema visinskim klasama (Hrvatske šume d.o.o.)

Tretiranja	I	II	III	IV
	(%)			
A	0	0	3	42
B	0	0	3	33,5
C	0	0	16,5	39,5
D	0	1,5	23	37,5
E	0	0,5	17	47
F	0	0	15	55,5
G	0	0	18	43,5
H	0	0	11	40
I	0	0	19,5	36,5
J	0	0	22,5	39,5

Klase u H.Š.d.o.o.	H (mm)	Cijene (kn)
I	800-1200	3
II	500-800	2,25
III	300-500	1,8
IV	150-300	1,2

U tablici 32. izračunali smo postotno učešće, ali zbrojem ovih sadnica (komada) dobili smo podatak o ukupnoj vrijednosti od 1537 kn prema cjeniku rasadnika Hrvatskih šuma d.o.o. Hajderovac.

5. RASPRAVA

Sadnice su žive i realno pokvarljive biljke koje mogu duboko utjecati na stresove uvedene tijekom kultiviranja, dizanja, pakiranje, razvrstavanja, rukovanja, obrezivanja, a osobito skladištenja, transporta i iskrcaja. Općenito ekološki ekstremiteti ili loše postupanje može dovesti do smanjenja kvalitete sadnog materijala. Tri glavna tipa stresa koji utječu na kvalitetu sadnog materijala su vlaga, temperatura i fizički stres. Kumulativni učinak tih naprezanja može biti veći od zbroja zasebnih učinka. Kako se stres povećava, fiziološke funkcije su oštećene i energija sadnice se prebacuje na popravak oštećenja. Kao rezultat toga, opstanak i rast mogu se znatno smanjiti.

Temperaturni stres također može utjecati na kvalitetu sadnog materijala. Preživljavanje i rast mogu se smanjiti nakon izlaganja visokim ili niskim temperaturama. Razina osjetljivosti varira s kondicioniranjem sadnica i fenologijom sadnica. Genotip vrste također ima veliku ulogu i utječe na stupanj ranjivosti na temperature naprezanja. U našem slučaju ispitivanja mortaliteta embrija također smo ispitivali jednu vrstu temperaturnoga stresa. Tretiranje smo vršili od 42°C do 60°C, ali zanimljivo istraživanje bi bilo da smo vršili istraživanje u negativni predznak odnosno u smrzavanje žira do - 42°C. Jako je važan doprinos poznavanju bioloških značajki i fiziologije sjemena hrasta lužnjaka (*Quercus robur* L.). Promjena koja se događa tijekom procesa klijanja sjemena od upijanja tekućine do probijanja radikule u pijesku je najvažniji startni proces. Tim procesom tijekom podizanja temperature imali smo uvid u različite pojave od izdržljivosti i rasta do mortaliteta. Istraživanja mortaliteta termoterapijom na hrastu lužnjaku (*Quercus robur* L.) do sada su vršena do 42°C u vodenoj kupelji, ali do 60°C odnosno podizanjem temperature dolazimo do primjećivanja diskoloracije na žiru. odnosno to su već ozbiljne temperature u kojima se žir nalazi i tretira. Na žirevima koji su bili tretirani od 54°C do 60°C prilikom pripreme i reza 2/3 suprotno od radikule osjećaj je bio kao da je žir skuhan, kotiledoni su se odvajali i već je na oko bilo slutiti da je mortalitet već zastupljen i da neće biti klijavosti iz tih žireva.

Jako zanimljiv podatak smo dobili na tretiranju od 52°C gdje je klijavost iznosila samo 3,33% odnosno samo 1 od 30 sadnica je niknula iz pijeska. Naše pretpostavke su bile 0% klijavosti jer je 52°C realno gledano jako visoka temperatura i izdržljivost na tim temperaturama bi bio pravi izazov.

Pretpostavljamo da je izdržljivost ovako visoke temperature uvjetovana rijetkom genetskom osobinom koja omogućuje rast u teškim uvjetima visokih temperatura. Unatoč kotiledonima koji su bili već pod utjecajem truleži sadnica je krenula sa rastom, ali kroz vrijeme sa rastom je stala ili je rasla vrlo sporo. Njezino napredovanje kroz 2-3 tjedna nismo vidjeli, ali zanimljiva bi bila rasprava od daljnjem istraživanju genetskih osobina od strane zavoda za šumarsku genetiku jer bio bi veliki uspjeh razviti ovu genetsku osobinu kod hrasta lužnjaka (*Quercus robur* L.) koji je u sve nepovoljnijem položaju i gdje su temperaturni ekstremi sve viši.

Prilikom procjene morfoloških značajki sadnica hrasta lužnjaka golog korijena (1+0) (*Quercus robur* L.) koje smo odradili u jesen bile su sve fizičke ili vizualno uočljive karakteristike koje smo mogli ocijeniti. Širok raspon dobivenih podataka uvjetovan bio je podrijetlom sjemenskog materijala i genetskom osnovom.

Prilikom procjene morfoloških obilježja sadnica uočili smo značajne razlike u visini, broju listova i rašljavog izbojka između netretiranih i tretiranih sadnica. Dok je kod boje listova i pojavi jednog glavnog izbojka primjećena malena odnosno neznatna statistički značajna razlika koja se izgubila pretpostavljamo na malenom uzorku.

Visina H (mm) koju smo dobili mjerenjem na točnost od stotinke milimetra naviše te parametar gdje smo dobili najviše statistički značajne razlike definirana je kao udaljenost od tla do baze terminalnog pupa. Mjerenje visina je dobra procjena fotosintetskog i transpiracijskog kapaciteta. To sugerira pozitivan odnos s kasnijim rastom, ali nepredvidljiv odnos s preživljavanjem, osobito na suhim mjestima. Međutim, veće transpiracijsko područje od visokih sadnica može rezultirati stresom vlage posebno prije stvaranja korijena. Vrlo visoka sadnica može biti teška za biljke, izvan ravnoteže i podložna oštećenju vjetra (Ritchie, 1984). Rezultati mnogih istraživanja pokazuju da su svjetlosni uvjeti važan čimbenik koji utječe na rast visine različitih vrsta hrastova u prvoj vegetacijskoj sezoni i zabilježeno je da se rast diferencira u različitim svjetlosnim uvjetima (Bobinac 1997, 2011; Bobinac i Ballian (Roth i sur., 2011; van Hees, 1997; Ziegenhagen i Kausch, 1995). Broj listova na sadnicama hrasta lužnjaka (*Quercus robur* L.) na plohi I i J značajno su veći od ostalih tretiranih i netretiranih ploha. Pretpostavljamo da je to zbog više granatosti među sadnicama što je pokazala i statistika, ali također i zato što ploha J sadrži najveći broj rašljavih izbojaka koja na sebi sadrže listove.

Problematika višestrukih izbojaka je tipična za hrast lužnjak i može se povezati s optimalnim uvjetima uzgoja (Le Hir et al., 2005) (slika 18.). Prema Spiess et al. (2012), dugotrajni sušni stres utječe na višestupanjski rast biljaka hrasta lužnjaka. Aktivacija rasta se može produljiti za razdoblje nakon sušnog stresa. Sever i suradnici (2018) uočili su petostupanjski rast dvogodišnjeg hrasta lužnjaka u biljkama iz tretiranja stresom suše (provedeno u prvoj polovici vegetacije) i optimalnim uvjetima rasta, a biljke iz tretmana stresa od suše produžava njihov rast za razdoblje nakon suše. Ovo ukazuje na prilagodljivost hrasta lužnjaka različitim uvjetima uzgoja tijekom vegetacije. Prema Roy et al. (1986), pojava višeslojnog rasta rezultat je prilagodbe na višu razinu fotosintetskog aktivnog zračenja. Stoga je višeslojni rast mladolikog hrasta lužnjaka važan pokazatelj uspjeha prirodne regeneracije (Bobinac, 2011). Višestruki rast korišten je u projekciji zaštite (fungicid) mladih usjeva u procesu prirodne regeneracije hrasta lužnjaka (Pap et al.2012) i preporučuje se za definiranje učinka aplikacije za zaštitu (Pap et al., 2013).

U jednogodišnjim sadnicama hrasta lužnjaka, takav rast je zabilježen kao masovna pojava u različitim položajima i svjetlosnim uvjetima, a sadnice su imale do pet „izboja“ rasta (Bobinac, 2011; Pap et al., 2013). Strategija heliofilnih hrastovih vrsta u sjeni uvjetovana je brzim rastom visine u prvoj godini kako bi izrasla iz sjene (Grime, 1981).
Od aspekta fiziologije (Masarovičova, 1989), morfologija (Masarovičova i dr.) istraživana je važnost višestrukog ispiranja različitih vrsta hrastova u ranim stadijima ontogenetičkog razvoja kao ekološke prilagodbe različitim okolišnim uvjetima. (Požgaj, 1988), a rezultati su važni za uzgajanje hrastovih šuma.

Znanje o svojstvima rasta, a time i višestrukom rastu, vrlo je važno za proces obnove sjemena u različitim uvjetima. Na primjer, u uzgojnim uvjetima istraživanja (Ovington i MacRae 1960), visina sjemenskog hrasta srednje visine jednogodišnjih sadnica bila je najniža u uvjetima najvišeg intenziteta svjetlosti (11,6 cm), dok je u većini osjenčanih uvjeta biljke imale su visinu od 17,1 cm. Sličan obrazac pronašao je Jarvis (1964) i Ponton et al. (2002) gdje je srednja visina jednogodišnjih sadnica hrasta kitnjaka veća od relativnog intenziteta svjetlosti od 20 do 100% i od 8 do 100%.

Što se tiče istraživanja brojnosti dobivenih gljiva i njihovih vrsta, rezultati su djelomično očekivani. U grupama žira koji nije bio skladišten je broj žireva s prisutnošću gljiva rastao s porastom temperature i vremena tretiranja što je očekivani rezultat. Isto tako je brojnost micelija, ali i različitih vrsta gljiva uglavnom padala, s iznimkom žira tretiranog na 45 ˚C u trajanju od 2,5 h gdje su te brojke neznatno veće. Skladištenjem netretiranog i tretiranog žira na temperaturi od + 3 ˚C, zdravstveno stanje žira se znatno pogoršalo s aspekta rasta micelija i općenito prisutnosti gljivičnih organizama, što nas upućuje na to da ova temperatura nije toliko pogodna za srednjoročno i dugoročno skladištenje žira. Brojnost micelija na žiru skladištenom na + 3 ˚C je bila veća nego na žiru skladištenom na temperaturi od - 1 ˚C. Uspoređujući broj nezaraženih žireva je isto tako vidljivo da je temperatura od - 1 ˚C pogodnija za skladištenje, jer je zabilježen određeni broj žireva bez rasta micelija dok je u grupama skladištenim na + 3 ˚C svaki žir bio zaražen.

6. ZAKLJUČAK

Za uspješnu prirodnu regeneraciju hrasta lužnjaka, ključni stupanj razvoja predstavljaju jednogodišnje sadnice koje su osnova za daljnji rast mladog usjeva jer u pravilu po zakonima uzgajanja šuma za pošumljavanje sadnica hrasta lužnjaka (*Quercus robur* L) potrebno je 10000 do 15000 kom/ha.

Ispitivanjem mortaliteta žira hrasta lužnjaka (*Quercus robur* L.) u laboratorijskim uvjetima dobili smo postotak klijavosti koji ima najvišu klijavost je 86.66% na 46˚C. Također dobili smo odličan podatak gdje se na jako visokoj temperaturi termoterapije od 52˚C pojavio jedan klijanac koji je pretpostavljamo imao rijetke genetske osobine za preživljavanje ove temperature.

Rasadnička klijavost žira tretiranih na 41˚C i 45˚C u rasadničkome pokusu bila je najviša sa 79% isklijalih sadnica na tretiranoj plohi F. Zanimljivo je da samo 45% klijavosti ima kontrolna netretirana ploha B.

Opisani statistički parametri utvrđeni su za analizirane elemente morfoloških značajki jednogodišnjih hrastovih sadnica golog korijena (1+0) (mortalitet %, ukupna visina (mm), promjer vrata korijena (mm), koeficijent vitkosti, broj grana prvoga reda (kom), kut otklona najdulje grane (°), duljina najdulje grane (mm), početak grananja (mm), broj lišća (kom), boja lišća, jedan ili više glavnih izbojaka, rašljavost, četkavost, broj grana na četki (kom), deformacija stabljike i broj višestrukih izbojaka (kom). Pažnju obraćamo na visinu (mm), broj listova (kom) i rašljavost izbojka u kojemu je statističkom analizom utvrđeno postojanje signifikantne razlike između kontrolne plohe (A i B) koji imaju značajno manji prosjek rasta (180mm) za razliku od tretiranih sadnica koji imaju prosjek rasta od 230-290 mm. Ovim faktorom vidimo utjecaj termoterapije na rast sadnica u visinu H (mm). Više sadnice mogu imati prednost pred ozbiljnom konkurencijom korova i mogu ukazivati na superiornu genetiku.

Parametar rašljavosti također odstupa od ostalih ploha gdje tretirana ploha J sadrži najveći broj rašljavih stabala. Broj listova tretirane plohe C i D koje su tretirane na 41˚C i čuvane na 2,5 sata imaju najmanji broj listova (19 komada), dok plohe I i J tretirane na 45˚C i čuvane 5h imaju u prosjeku 26 listova po sadnici.

Analiza prisutnosti micelija gljiva na različitim grupama žireva je pokazala kako termoterapija na različitim temperaturama i u različitim periodima tretiranja može, ali i ne mora uvijek imati utjecaj na pojavnost gljivičnih organizama na žiru. Moguće da je to posljedica premalog uzorka koji je uzet u obzir tijekom ovog dijela istraživanja ili jednostavno otpornosti nekih vrsta gljiva, poput onih iz roda *Penicillium* (plijesni općenito) koje mogu preživjeti visoke temperature u dulje vremenskom periodu. Istraživanje je ukazalo na bolje zdravstveno stanje žira koji nije bio skladišten te onog koji je skladišten na – 1 ˚C u odnosu na žir koji je skladišten na + 3 ˚C. Dakle, preporuka je sjetva/sadnja žira u što kraćem vremenu nakon sakupljanja, ili ako je već potrebno skladištenje, da to bude na nižoj temperaturi.

7. LITERATURA

1. Baker, K. F. 1962. Thermotherapy of planting material. *Phytopathology.* 52: 1244-1255.
2. Bobinac, M., 2011: Ekologija i obnova higrofilnih lužnjakovih šuma Ravnog Srema—Ecology and regeneration of hygrophilous common oak Forests of Ravni Srem, Monografija,Hrvatski šumarski institut Jastrebarsko-Institut za šumarstvo Beograd, 1.–294.
3. Catherine Grondeau , Régine Samson & Dr. D. C. Sands 1994. A Review of Thermotherapy to Free Plant Materials from Pathogens, Especially Seeds from Bacteria
4. Colombo, S. J., 2001: How to improve the quality of broadleaved seedlings produced in tree nurseries. In: Proceedings of the conference "Nursery production and stand establishment of broad- leaves to promote sustainable forest management«, Rome, Italy, May 7–10, 2001.
5. Cram, M. M., 2009. Seed Diseases and Seedborne Pathogens of North America, Tree planters' notes, 53 (2): 35-44.
6. Cruickshank, I. A. M. 1954. Thermo-chemical seed treatment. *Nature.* 30:217-218.
7. Damir Drvodelić, Milan Oršanić., 2016: Procjena vitaliteta svježeg i preležanog sjemena poljskoga jasena (Fraxinus angustifolia vahl) Izvorni znanstveni članci – Šumarski list, 11–12 (2016): 539–547.
8. Davis, A. S., D. F. Jacobs, 2005: Quantifying root system quality of nursery seedlings and relationship to outplanting performance. New Forests, 30: 295–311.
9. Durrant, M. J., Payne, P. A., i Prince, J. **W.** F. 1988. Thiram steep seed treatment to control *Phoma betae* and improve the establishment of the sugarbeet plant stand. *Crop Prot.* 7(5):319-326.
10. Gosling, P. G., 2003.: What is the relationship between a ‘germination’ test and a ‘viability’ test?, U: Proceedings of the ISTA Forest Tree and Shrub Seed Committee Workshop, Forestry and Game Management Research Institute Jiloviště-Strnady, CR and Forestry Commission Research Agency, UK, 48-50.
11. Grime, J. P., 1981: Plant strategies in shade. U: Smith, H. (ed.), Plants and the daylight spectrum,Academic Press, 159.–186.
12. Hankin, L. i Sands, D. C. 1977**.** Microwave treatment of tobacco seed to eliminate bacteria on the seed surface. *Phytopathology.* 67:794-795**.**

13. Holmes GD, Buszewicz G., 1956. Reports on results of individual investigations. III. Longevity of acorns with several storage methods. Report on Forest Research 1955. Ann Rep Forestry Comm 1956.
14. Jarvis, P.G., 1964: The adaptability to light intensity of seedlings of *Quercus petraea* (Matt.) Liebl,Journal of Ecology, Vol. 52: 545.–571.
15. Lozán J.L. 1992. Angewandte Statistik für Naturwissenschaftler. Pareys Studientexte 74, Paul Parey.
16. Lozano, J. C., Laberry, R., i Bermudez, A. 1986. Microwave treatment to eradicate seed-borne pathogens in cassava true seed. *J . Phytopathol.* 117(1):1-8.
17. Lozoya-Saldana, H. i Merlin-Lara, 0. 1984. Thermotherapy and tissue culture for elimination of Potato Virus X (PVX) in Mexican potato cultivars resistant to late blight. *Am. Potato J.* 61(12):735-739.
18. Masarovičova, E., 1989: Water uptake, carbon dioxide assimilation and growth of the common oak saplings (*Quercus robur* L.), Biologia, Vol. 44 (9): 827.–836.
19. Masarovičova, E., J. Požgaj, 1988: Comparative analysis of leaf area in three oak species—a methodical contribution, Biologia,Vol.43 (5): 449.–457.
20. Maude, R. B. i Shuring, C. G. 1968. Preliminary studies on the use of new seed treatments for the control of loose smut of Barley. *Plant Pathol.* 17(4):155-157.
21. Miller, P. W. i McWhorter, F. P. 1948. The use of vapor heat as a practical means of disinfecting seeds. *Phytopathology.* 38(2):89-101.
22. Mittal, R., B. Wang, (1987.) Fungi associated with seeds of eastern white pine and white spruce during cone processing and seed extraction, Canadian Journal of Forest Research, 17 (9): 1026-1034.
23. Muller C, Bonnet-Masimbert M (1984) La conservation des glands. In: Bilan des Essais Menés entre 1976 et 1982. INRA Centre de Recherches d'Orléans .
24. Ovington, J.D., C. MacRae, 1960: The growth of seedlings of *Quercus petraea,* Journal of Ecology,Vol.48: 549.–555.
25. Pap, P., M. Bobinac, S. Andrašev, 2013: Karakteristike rasta u visinu jednogodišnjih biljaka lužnjaka na podmladnim površinama, sa i bez fungicidne zaštite od hrastove pepelnice (*Microsphaera alphitoides* Griff. et Maubl.), Glasnik Šumarskog fakulteta, Vol.108: 169.–190.
26. Ponton, S., J. L. Dupouey, N. Breda, E. Dreyer, 2002: Comparison of water-use efficiency of seedlings from two sympatric oak species: genotype x environment interactions, Tree Physiology,Vol.22: 413.–422.

27. Ralph, W. 1978. Enhancing the success of seed thermotherapy: repair of thermal damage to cabbage seed using polyethylene glycol (PEG) treatment. *Plant Dis. Rep.* 62(5):406407.
28. Regent, B., 1980: Šumsko sjemenarstvo, Jugoslovenski poljoprivredni šumarski centar.
29. Ritchie GA. 1984. Assessing seedling quality. In: Duryea ML, Landis TD, editors. Forest nursery manual: production of bareroot seedlings. Boston (MA): Martinus Nijhoff/Dr W Junk Publishers. p 243-259.
30. Ritchie, G.A., 1984.: Assessing seedling quality. Pp. 243-259. In Dur yea, M.L. and T.D. Landis (eds.). Forest Nursery Manual: Production of Bareroot Seedlings. Martinus Nijhoff /Dr. W.Junk. Publishers. Hague/Boston/Lancaster. 386p.
31. Roth V., S. Dekanić, T. Dubravac, 2011: Utjecaj krupnoće žira na morfološki razvoj jednogodišnjih sadnica hrasta lužnjaka (*Quercus robur* L.) u uvjetima različite dostupnosti svjetla
32. Sever, K., S. Bogdan, J. Franjić, Ž. Škvorc, 2018:Nedestruktivna procjena koncentracije fotosintetskih pigmenata u lišću hrasta lužnjaka (*Quercus robur* L.)**,** Šumarski list, 5-6: 247.–257.
33. Smoot, J. J. i Segall, R. H. 1963: Hot water as a postharvest control of mango anthracnose. *Plant Dis. Rep.* 47(8):738-742.
34. Spiess, N., M. Oufir, I. Matusikova, M. Stierschneider, D. Kopecky, A. Homolka, K. Burg, S. Fluch, J.F. Hausman, E. Wilhelm, 2012: Ecophysiological and transcriptomic responses of oak (*Quercus robur* L.) to long-term drought exposure and rewatering, Environ Exp Bot, Vol.77: 117.–126.
35. Stewart, J. K. i Wells, J. M. 1970. Heat and fungicide treatments to control decay of cantaloupes. *Hortic. Sci.* 95(2):22&229.
36. Suszka B, Tylkowski T (1980) Storage of acorns of the English oak (Q robur L) over 1-5 winters. Arbor Kórnickie 25, 199-229.
37. Sutherland, J. R., M. Diekmann and P. Berjak, (2002): Forest tree seed health for germplasm conservation, IPGRI.
38. Tsakaldimi M., T. Zagas, T. Tsitsoni, P. Ganatsas, 2005: Root morphology, stem growth and field performance of seedlings of two Mediterranean evergreen oak species raised in different container types. Plant and Soil. Vol. 278:85–93.
39. Von Schönborn A (1964) Die Aufbewahrung des Saatgutes der Waldbäume. BLV Verlagsgesellschaft.