

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA AGRONOMIJO

Katarina KRULC

**PROBLEMATIKA STRESA V FAZI KORENINJENJA
ZELENIH POTAKNJENCEV PRAVEGA KOSTANJA
(*Castanea sp.*)**

DIPLOMSKO DELO

Univerzitetni študij

Ljubljana, 2006

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA AGRONOMIJO

Katarina KRULC

**PROBLEMATIKA STRESA V FAZI KORENINJENJA ZELENIH
POTAKNJENCEV PRAVEGA KOSTANJA (*Castanea sp.*)**

DIPLOMSKO DELO
Univerzitetni študij

**THE PROBLEM OF STRESS DURING THE ROOT INITIATION
PHASE OF LEAFY CUTTINGS IN CHESTNUT (*Castanea sp.*)**

GRADUATION THESIS
University studies

Ljubljana, 2006

Diplomsko delo je zaključek univerzitetnega študija agronomije. Opravljeno je bilo na Katedri za sadjarstvo, Oddelka za agronomijo, Biotehniške fakultete in v plastenjaku Biotehniške fakultete v Ljubljani.

Študijska komisija Oddelka za agronomijo je za mentorja diplomske naloge imenovala doc. dr. Gregorja OSTERCA in za somentorja izr. prof. dr. Dominika VODNIKA .

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik: prof. dr. Katja VADNAL
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo

Član: doc. dr. Gregor OSTERC
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo

Član: izr. prof. dr. Dominik VODNIK
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo

Član: prof. dr. Franc BATIČ
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo

Datum zagovora:

Naloga je rezultat lastnega raziskovalnega dela.

Katarina KRULC

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

- ŠD Dn
DK UDK 634.53:631.535:581.14:631.524.6(043.2)
KG sadjarstvo / pravi kostanj / zeleni potaknjenci / koreninjenje / meglenje / fenoli / fluorescenca klorofila
KK AGRIS F02/F62
AV KRULC, Katarina
SA OSTERC, Gregor (mentor), VODNIK, Dominik (somentor)
KZ SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
ZA Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo
LI 2006
IN PROBLEMATIKA STRESA V FAZI KORENINJENJA ZELENIH POTAKNJENCEV PRAVEGA KOSTANJA (*Castanea sp.*)
TD Diplomsko delo (Univerzitetni študij)
OP XI, 42, [5] str., 11 pregl., 16 sl., 4 pril., 40 vir.
IJ sl
JI sl / en
AL V obdobju od 10. 06. 2004 do 15. 10. 2004 smo v plastenjaku Biotehniške fakultete v Ljubljani, s sistemom meglenja, proučevali zgodnji vpliv zelenih potaknjencev pravega kostanja (*Castanea sp.*) v prvih dneh po potiku in uspešnost koreninjenja. Zasnovali smo dvofaktorski poskus s štirimi ponovitvami. Poskusna faktorja sta bila sorta (hibrida *Castanea crenata* x *Castanea sativa*, 'Marsol' in 'Maraval') in dolžina vršnih zelenih potaknjencev ob potiku (15 cm, 30 cm). Enoletne vršne potaknjence smo rezali na šest let starih matičnih rastlinah omenjenih sort, na dan potika v zgodnjih jutranjih urah, v drevesnici Biotehniške fakultete v Mariboru. Pred potikom smo vsak poganjek skrajšali za približno 3 mm in odstranili spodnje liste ter jih tretirali s hormonsko mešanico 0,5 % indol-3-maslene kisline (IBA) in 10 % Euparena na osnovi smukca. V prvih dneh po potiku smo v devetih terminih spremljali fluorescenco listov potaknjencev (fluorometer PAM 2100, Walz). V listih potaknjencev smo hkrati analizirali vsebnost fenolnih snovi (HPLC). Uspešnost razmnoževanja smo ocenjevali na koncu rastne sezone z ocenjevanjem rastlin. Pri dolgih potaknjencih sorte 'Marsol' je bilo 25,7 % ukoreninjenje, pri dolgih potaknjencih 'Maraval'-a pa 21,8 %. Stres se ni kazal ne preko meritev potencialne fluorescenca, saj so vrednosti ob potiku padle le nekoliko pod mejo 0,800 do 0,833, ne preko koncentracij fenolnih spojin v listih (mg/g SS). Na osnovi opravljenega poskusa lahko zaključimo, da potaknjenci le lokalno doživijo stres ob ločitvi od matične rastline. Najboljši pokazatelj v našem primeru je bila potencialna fluorescenca. Polifenolne spojine niso najzanesljivejši pokazatelj stresa, so pa koncentracije le-teh v listih dober pokazatelj fiziološkega stanja potaknjencev ob in po potiku. Ugotovili smo, da se veliko boljše koreninijo dolgi potaknjenci.

KEY WORDS DOCUMENTATION

- N Dn
- DC UDC 634.53:631.535:581.14:631.524.6(043.2)
- CX fruit-growing / chestnut / leafy cuttings / rotting / fog system / phenols / chlorophyll fluorescence
- CC AGRIS F02/F62
- AU KRULC, Katarina
- AA OSTERC, Gregor (supervisor) / VODNIK, Dominik (co-supervisor)
- PP SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
- PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Agronomy
- PY 2006
- TI THE PROBLEM OF STRESS DURING THE ROOT INITIATION PHASE OF LEAFY CUTTINGS IN CHESTNUT (*Castanea* sp.)
- DT Graduation thesis (University studies)
- NO XI, 42, [5] p., 11 tab., 16 fig., 4 ann., 40 ref.
- LA sl
- AL sl / en
- AB In the period time from 10th of June 2004 to 15th of October 2004 we observed the early cutting response in the first days after severance and the rooting success of leafy cuttings of chestnut (*Castanea* sp.) under fogging system, in the plastic house of Biotechnical Faculty in Ljubljana. We planned a two-factors experiment with four replications. Experimental factors were clone (two hybrids of *Castanea crenata* x *Castanea sativa*, 'Marsol' and 'Maraval') and the length of terminal leafy cuttings (15cm, 30cm). Terminal leafy cuttings were cut on 6 years old stock plants, in the early morning in the nursery of Biotechnical Faculty in Maribor. Before inserting in the substrat every cutting was cut back for about 3 mm, lower leafs were removed and the cuttings were treated with hormonal mixture (0,5 % indol- butyric acid (IBA) and 10 % Euparen on talcum bases. In the first nine days after the insertion, the potential fluorescence was measured on the cutting leaves (fluorometer PAM 2100, Walz). In the same time the phenols contents in the leaves were analysed, using HPLC. The propagation success was evaluated at the end of growing season. With long leafy cuttings of the clone 'Marsol' there was 27 % rooting and with long leafy cuttings of the clone 'Maraval' the rooting was 21,8 %. Influence of stress was not demonstrates through measurements of potential fluorescence, since the values slightly dropped below (limit) 0,800 to 0,833 and it could not be detected with phenol contents. On the base of this experiment we can conclude that leafy cuttings in chestnut are only under local stress after removal from the stockplant. This are in our case clearly shown through the potential fluorescence. Although polyphenols are not the most reliable indicators of the stress in plants, they are certainly a good demonstrators of cuttings fitness after their insertion in the rooting media. We found out that the rooting was best in long leafy cuttings.

KAZALO VSEBINE

	Ključna dokumentacijska informacija	II
	Key words documentation	III
	Kazalo vsebine	IV
	Kazalo preglednic	VI
	Kazalo slik	VIII
	Kazalo prilog	X
	Seznam okrajšav	XI
1	UVOD	1
1.1	POVOD ZA RAZISKAVO	1
1.2	NAMEN RAZISKAVE	1
1.3	DELOVNA HIPOTEZA	2
2	PREGLED DOSEDANJIH OBJAV	3
2.1	RAZMNOŽEVANJE PRAVEGA KOSTANJA	3
2.2	TVORBA KALUSA IN FORMIRANJE KORENIN PRI POTAKNJENCIH	3
2.3	SISTEM RAZMNOŽEVANJA POTAKNJENCEV	5
2.3.1	Visokotlačni meglilni sistem (fog system)	5
2.3.2	Vlaga, temperatura in zaščita pred boleznimi in škodljivci	6
2.3.3	Rastni regulatorji	6
2.3.4	Substrat	8
2.4	VSEBNOST FENOLOV	9
2.5	STRES IN MERJENJE FLUORESCENCE	10
3	MATERIAL IN METODE	12
3.1	RASTLINSKI MATERIAL	12
3.1.1	‘Marsol’	12
3.1.2	‘Maraval’	12
3.2	METODE DELA	13
3.2.1	Zasnova poskusa	13
3.2.2	Matični material in priprava potaknjencev	14
3.2.3	Rastne razmere	15
3.3	MERITVE IN VREDNOTENJE REZULTATOV	16
3.3.1	Meritve	16
3.3.2	Vrednotenje rezultatov	18
3.4	STATISTIČNA ANALIZA	19
4	REZULTATI	20
4.1	REZULTATI RAZMNOŽEVANJA	20
4.2	VSEBOST FENOLNIH SNOVI	26
4.3	SPREMLJANJE FOTOKEMIČNE UČINKOVITOSTI	32

5	RAZPRAVA IN SKLEPI	34
5.1	RAZPRAVA	34
5.1.1	Razmnoževanje	34
5.1.2	Vsebnost fenolov	35
5.1.3	Fotokemična učinkovitost	37
5.2	SKLEPI IN PRIPOROČILA	37
6	POVZETEK	39
7	VIRI	40
	ZAHVALA	
	PRILOGE	

KAZALO PREGLEDNIC

		Str.
Preglednica 1	Zbirna tabela rezultatov koreninjenja (%) ter tvorbe kalusa (%) dolgih in kratkih kostanjevih potaknjencev sort 'Marsol' in 'Maraval'. Prikazana so povprečja \pm standardna napaka (BF, Oddelek za agronomijo 2004).	20
Preglednica 2	Oblika koreninskega sistema dolgih in kratkih kostanjevih potaknjencev sort 'Marsol' in 'Maraval' (bazalni in akrobazalni razvoj korenin (%), razvoj kalusa in korenin (%)). Prikazana so povprečja \pm standardna napaka (BF, Oddelek za agronomijo 2004).	22
Preglednica 3	Zbirna tabela rezultatov povprečnega števila korenin in povprečne dolžine korenin (cm) dolgih in kratkih kostanjevih potaknjencev sort 'Marsol' in 'Maraval'. Prikazana so povprečja \pm standardna napaka (BF, Oddelek za agronomijo 2004).	24
Preglednica 4	Zbirna tabela rezultatov povprečnega prirasta (cm) dolgih in kratkih kostanjevih potaknjencev sort 'Marsol' in 'Maraval'. Prikazana so povprečja \pm standardna napaka (BF, Oddelek za agronomijo 2004).	25
Preglednica 5	Vsebnost kvercetina rutina v listih dveh različnih tipov (dolgi, kratki) kostanjevih potaknjencev sort 'Marsol' in 'Maraval' v različnih časovnih terminih meritev. Prikazana so povprečja \pm standardna napaka (BF, Oddelek za agronomijo 2004).	27
Preglednica 6	Vsebnost kvercetina Q3R v listih dveh različnih tipov (dolgi, kratki) kostanjevih potaknjencev sort 'Marsol' in 'Maraval' v različnih časovnih terminih meritev. Prikazana so povprečja \pm standardna napaka (BF, Oddelek za agronomijo 2004).	28
Preglednica 7	Vsebnost kvercetina Q3DG v listih dveh različnih tipov (dolgi, kratki) kostanjevih potaknjencev sort 'Marsol' in 'Maraval' v različnih časovnih terminih meritev. Prikazana so povprečja \pm standardna napaka (BF, Oddelek za agronomijo 2004).	29
Preglednica 8	Vsebnost ostalih fenolnih spojin (elagna kislina) v listih dveh različnih tipov (dolgi, kratki) kostanjevih potaknjencev sort 'Marsol' in 'Maraval' v različnih časovnih terminih meritev. Prikazana so povprečja \pm standardna napaka (BF, Oddelek za agronomijo 2004).	30

Preglednica 9	Vsebnost ostalih fenolnih spojin (miricetin) v listih dveh različnih tipov (dolgi, kratki) kostanjevih potaknjencev sort 'Marsol' in 'Maraval' v različnih časovnih terminih meritev. Prikazana so povprečja \pm standardna napaka (BF, Oddelek za agronomijo 2004).	31
Preglednica 10	Vsebnost ostalih fenolnih spojin (klorogenska kislina) v listih dveh različnih tipov (dolgi, kratki) kostanjevih potaknjencev sort 'Marsol' in 'Maraval' v različnih časovnih terminih meritev. Prikazana so povprečja \pm standardna napaka (BF, Oddelek za agronomijo 2004).	32
Preglednica 11	Potencialna fotokemična učinkovitost (F_v/F_m) v listih dveh različnih tipov (dolgi, kratki) kostanjevih potaknjencev sort 'Marsol' in 'Maraval' v različnih časovnih terminih meritev. Prikazana so povprečja \pm standardna napaka (BF, Oddelek za agronomijo 2004).	33

KAZALO SLIK

	Str.
Slika 1: Shema za določanje oblike koreninjenja (Mac Carthaigh in Spethmann, 2000).	5
Slika 2: Plodovi pravega kostanja sorte 'Marsol'.	12
Slika 3: Plodovi pravega kostanja sorte 'Maraval'.	13
Slika 4: Zasnova poskusa.	14
Slika 5: Plastenjak.	15
Slika 6: Fluorometer PAM 2100, Walz.	17
Slika 7: Zatemnitev lista pred meritvijo potencialne fotokemičine učinkovitosti.	17
Slika 8: Koreninjenje kratkih in dolgih kostanjevih potaknjencev sort 'Marsol' in 'Maraval' s standardnimi napakami, N= 32 (BF, Oddelek za agronomijo 2004).	20
Slika 9: Vpliv tvorbe kalusa na uspešnost koreninjenja kostanjevih potaknjencev sort 'Marsol' in 'Maraval' različnih dolžin. Prikazana so povprečja \pm standardna napaka dolžinama (BF, Oddelek za agronomijo 2004).	21
Slika 10: Vpliv tvorbe kalusa na uspešnost koreninjenja kostanjevih potaknjencev sort 'Marsol' in 'Maraval'. Prikazana so povprečja \pm standardna napaka med sortama (BF, Oddelek za agronomijo 2004).	21
Slika 11: Oblika koreninjenja različnih dolžin kostanjevih potaknjencev sort 'Marsol' in 'Maraval'. Prikazana so povprečja \pm standardna napaka (BF, Oddelek za agronomijo 2004).	23
Slika 12: Oblika koreninjenja različnih sort kostanjevih potaknjencev. Prikazana so povprečja \pm standardna napaka (BF, Oddelek za agronomijo 2004).	23
Slika 13: Povprečno število glavnih korenin in povprečna dolžina glavnih korenin (cm) kostanjevih potaknjencev sort 'Marsol' in 'Maraval'. Prikazane so povprečja \pm standardna napaka (BF, Oddelek za agronomijo 2004).	24

- Slika 14: Povprečno število glavnih korenin in povprečna dolžina glavnih korenin (cm) kostanjevih potaknjencev sort 'Marsol' in 'Maraval' različnih dolžin. Prikazana so povprečja \pm standardna napaka (BF, Oddelek za agronomijo 2004). 25
- Slika 15: Povprečen prirast (cm) kostanjevih potaknjencev sort 'Marsol' in 'Maraval'. Prikazana so povprečja \pm standardna napaka (BF, Oddelek za agronomijo 2004). 26
- Slika16: Povprečen prirast (cm) kostanjevih potaknjencev sort 'Marsol' in 'Maraval' različnih dolžin. Prikazana so povprečja \pm standardna napaka (BF, Oddelek za agronomijo 2004). 26

KAZALO PRILOG

- Priloga A: Razpored parcel .
- Priloga B: Prikaz boniturne sheme.
- Priloga C1: Primer meritve dejanske fluorescence s fluorometrom PAM 2100,
Walz., za dan 24.06.2004.
- Priloga C2: Primer meritve potencialne fluorescence s fluorometrom PAM
2100, Walz., za dan 24.06.2004.

SEZNAM OKRAJŠAV

OKRAJŠAVA	POMEN
IBA	indol-maslena kislina
HPLC	visokotlačna tekočinska kromatografija
oz.	oziroma
sod.	sodelovci
ANOVA	analiza variance
ETR	hitrost toka elektronov
F_v/F_m	potencialna fotokemična učinkovitost
Yield ($\Delta F/F_m'$)	dejanska fotokemična učinkovitost
PS II	fotosistem II
Q3DG	kvercetin-3D- galaktozid (hiperozid)
Q3R	kvercetin-3D-ramnozid (kvercetin)
QGlu	kvercetin-glukozid
itd.	in tako dalje
t.j.	to je
t.i.	tako imenovani

1 UVOD

1.1 VZROK ZA RAZISKAVO

Pravi kostanj (*Castanea sp.*) spada v družino bukovk (*Fagaceae*) in najbolje uspeva v milem podnebjju, kjer ni močnih vetrov in poznega mraza, suše ali čezmernih padavin. Raste do nadmorske višine 800 m. Največje površine pravega kostanja so v Italiji, Franciji, Španiji in na Portugalskem. V Sloveniji raste pravi kostanj na toplejših gričevnatih legah; obsežnejša rastišča so zlasti na Primorskem in v Beli krajini. Omenjena območja najdemo v okolici Ljubljane, v Zasavju, Halozah, na Dolenjskem in Štajerskem, posamezna drevesa pa rastejo povsod po Sloveniji z izjemo Koroške (Smole in Črnko, 2000). Pomemben je tako iz sadjarskega vidika kot tudi v lesni industriji.

Pravi kostanj je zelo zahtevna vrsta za razmnoževanje. V praksi ga razmnožujemo večinoma s semenom in s cepljenjem. Uvaja se razmnoževanje z zelenimi potaknjenci v rastlinjakih s sistemom meglenja (fog-system). Cena sadik, pridobljenih na ta način, se zaradi krajšega časa pridelave zmanjša. Ta postopek je primernejši tudi zaradi večje izenačenosti sadilnega materiala, hitrejše rasti in domnevno zgodnejšega prehoda v rodnost. Torej lahko dobimo v kratkem času na majhnem prostoru več sadilnega materiala, kot pri generativnem načinu razmnoževanja.

Veliko poskusov še vedno poteka pri razmnoževanju z zelenimi potaknjenci. Nekatere rastline, kamor sodi tudi pravi kostanj, se na vegetativen način sicer težje ukoreninjajo, vendar so v številnih novejših poskusih pri ustreznih razmerah (sistem meglenja, juvenilni matični material, dodatek rastnih regulatorjev, itd.) uspeli doseči večji delež ukoreninjenih preživelih potaknjencev. Ta način zaenkrat v praksi pri pravemu kostanju še ni razširjen.

Uspeh razmnoževalne metode je močno odvisen od sorte. V preteklih letih raziskovanja je bilo to najbolj izrazito pri dveh kostanjevih hibridnih sortah (*Castanea crenata x Castanea sativa*) 'Marsol' in 'Maraval'. Razlika v koreninjenju med tema dvema sortama je bila tudi vzrok za zasnovano te diplomske naloge.

1.2 NAMEN RAZISKAVE

Pravi kostanj (*Castanea sp.*) je z vidika razmnoževanja, kot že prej omenjeno, med bolj problematičnimi rastlinskimi rodovi. Ena izmed do sedaj najbolj uporabljenih metod razmnoževanja v drevesničarski praksi je cepljenje, kjer pa se lahko pojavljajo težave. Cepilna rana, povzročena pri cepljenju, je odlično mesto za okužbo s kostanjevim rakom (*Cryphonectria parasitica* (Murrill) Barr), poleg tega pa se lahko pojavljajo težave z

neskladjem (inkompatibilnostjo) med cepičem in podlago. Da bi se izognili omenjenim težavam, se v zadnjih letih izvajajo poskusi razmnoževanja pravega kostanja s potaknjenci. Eden ključnih parametrov, ki določajo uspešnost takšnega razmnoževanja, je obvladovanje stresa, ki ga potaknjeneec doživi ob ločitvi od matične rastline. Namen te raziskave je spremljati fiziološko stanje potaknjencev ob in po potiku, pri dveh sortah pravega kostanja, ki se različno dobro ukoreninjata.

1.3 DELOVNA HIPOTEZA

Glede na poznane razlike v uspešnosti koreninjenja med sortama 'Marsol' in 'Maraval' domnevamo, da obstajajo razlike med sortama v stanju, ki ga doživi potaknjeneec ob ločitvi od matične rastline. Dosedanje izkušnje pri različnih rastlinskih vrstah kažejo, da se bodo krajši potaknjenci uspešnejše koreninili. Pričakujemo, da se bo stres izrazil tako na ravni fotokemične učinkovitosti listov kot tudi v količini nekaterih fenolov, katerih koncentracije in razmerja se ob stresu spreminjajo. Rezultati dela bodo še posebej zanimivi, ker gre za koreninjenje v meglilnem sistemu, s posebnimi rastnimi razmerami, katerih vpliv na potaknjence je še v marsičem nepojasnen.

2 PREGLED DOSEDANJIH OBJAV

2.1 RAZMNOŽEVANJE PRAVEGA KOSTANJA

Pravi kostanj v praksi večinoma razmnožujemo s cepljenjem, uporablja se tudi generativni način razmnoževanja (s semenom) in mikrorazmnoževanje. V Sloveniji smo za potrebe prakse zelo uspešno razvili metodo cepljenja na kaleče seme (Šiftar, 1992). Ne glede na način cepljenja obstaja pri sadikah, zaradi cepilne rane, tveganje za okužbo z glivičnimi boleznimi, predvsem s kostanjevim rakom (*Cryphonectria parasitica* (Murrill) Barr)). V zadnjem času se v praksi pri cepljenih sadikah pogosto pojavljajo težave z izrazitim neskladjem podlage (inkompatibilnostjo) in cepiča pri sadikah križancev med japonskim (*Castanea crenata* Sieb.in Zucc) in evropskim kostanjem (*Castanea sativa* Mill.) (Osterc in sod., 2004a).

Te težave z metodami cepljenja pri pravemu kostanju so vzrok za iskanje alternativnih razmnoževalnih metod. Zelo zanimiva metoda je razmnoževanje z zelenimi potaknjenci, ki se je do sedaj že pri številnih lesnatih vrstah izkazala kot zelo uspešna (Mac Carthaigh in Spethmann, 2000).

Potaknjenec je navadno del enoletnega ali toletnega poganjka drevesastih ali grmičastih sadnih rastlin (Smole in Črnko, 2000). Potaknjence režemo v različnih razvojnih obdobjih (fenofazah) rastline. Glede na olesenelost potaknjencev ločimo zelene potaknjence, ki jih režemo med rastno dobo ter lesnate potaknjence, ki jih režemo v dobi mirovanja. Optimalen čas rezi je odvisen od posamezne vrste, sorte. Zeleni potaknjenci zahtevajo v primerjavi z lesnatimi več nege in dodatno opremo (režemo jih v vročem delu leta in so zato podvrženi močni transpiraciji in izgubi turgorja).

V zadnjih desetletjih so močno napredovale tehnike meglenja, ki so zelo pomembne za razmnoževanje z zelenimi potaknjenci pri rastlinskih vrstah, ki se težko ukoreninijo, med katere sodi tudi pravi kostanj (*Castanea* sp.) (Hartmann in sod., 1997).

2.2 TVORBA KALUSA IN FORMIRANJE KORENIN PRI POTAKNJENCIH

Celice kalusa so nediferencirane celice. To so paranhimske celice, ki se pri potaknjencih razvijejo potem, ko smo poganjke ranili oz. jih odrezali od matične rastline za potaknjence. Te celice se izredno hitro delijo, zlasti v bližini kambija in okoliških celic. Kalus na bazalnem delu zapre rano, nato se iz njega, še pogosteje v njegovi okolici, zlasti nad njim razvijejo korenine. Kalus in korenine nastajajo neodvisno drug od drugega, vendar

praktično hkrati, pri čemer kalus ni predstopnja korenin, kot so včasih zmotno domnevali (Smole in Črnko, 2000).

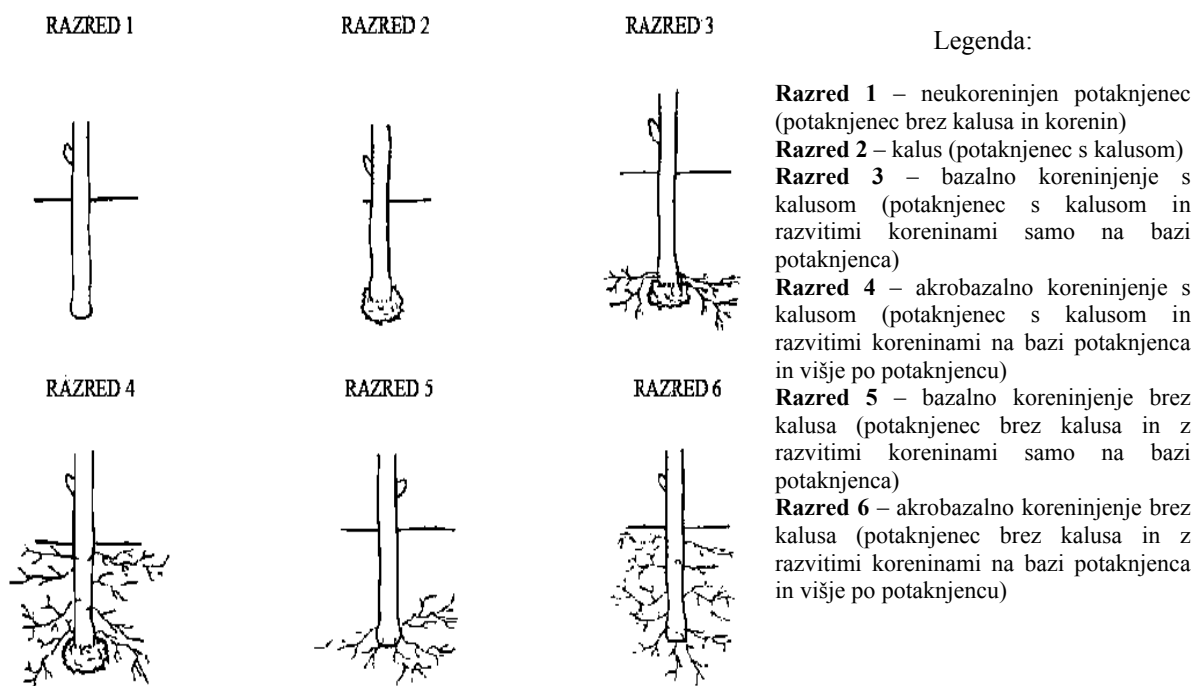
V splošnem ločimo dve vrsti kalusa in sicer: ranitveni kalus in močan, debel kalus. Ranitveni kalus je pozitiven pojav, saj nastane kot naravna reakcija na poškodbo rastline oz. na ločitev rastlinskega dela od matične rastline. Nastanek nekaj cm debelega kalusa pa je izjemen oz. negativen pojav, ki ga povzročajo neustrezne razmere za koreninjenje, kot so fiziološko prestar matični material, neustrezen termin rezi potaknjenca, lahko pa tudi neustrezen sistem razmnoževanja ter sama problematičnost določene vrste za razmnoževanje. Neustrezne razmnoževalne razmere lahko povzročijo tvorbo kalusa tudi v primeru razvoja korenin, vendar so te korenine navadno slabše razvite, manj jih je ter so šibkejše, posledično je tudi rast takih rastlin slabša (Osterc, 2002; Štefančič in sod., 2005).

Osterc in sod. (2004a) so v dvoletnem poskusu ugotovili, da je razvoj kalusa močno povezan s tipom potaknjenca, saj so bazalni potaknjenci (spodnji del poganjka brez vrha) pri dveh sortah pravega kostanja ('Maraval' in 'Marsol') tvorili kalus močnejše kot vršni potaknjenci (gornji del poganjka z vrhom). Ugotovili so tudi, da ima sorta močnejši vpliv na koreninjenje, kot tip potaknjenca, saj so se vršni in bazalni potaknjenci pri sorti 'Maraval' precej bolje koreninili kot pri sorti 'Marsol'.

Način tvorbe kalusa in potek lignifikacije celic je odvisen tudi od substrata, v katerega smo potaknjence potaknili. Celice ne smejo prehitro lignificirati, če rastlina poganja korenine skozi kalus in iz njega. Če pa se korenine razvijejo predvsem obstransko, nad kalusom ali preko kalusa, je treba paziti, da substrat to omogoča. Zato je zelo pomembno, da je pH vrednost substrata ustrezna. Če je le-ta previsoka ali prenizka, se kalus sicer tvori, vendar stene otrdijo in je razvoj korenin moten (Smole in Črnko, 2000).

Adventivne korenine so nadomestne korenine, ki se razvijejo iz nekoreninskega tkiva in nastajajo tudi pri vegetativnem razmnoževanju rastlin. Vzroki, ki lahko povzročijo nastanek adventivnih korenin pri potaknjencih so kontakt s substratom, ranitev ali ločitev poganjka od matične rastline, lahko pa gre za kombinacijo teh dejavnikov (Osterc, 2003).

Razvoj adventivnih korenin potaknjenca poteka na različne načine in različno dolgo časa (od nekaj mesecev do celo nekaj let, kar je odvisno od rastlinske vrste). Število glavnih korenin lahko ocenimo že po nekaj tednih, saj se po tem času samo število korenin ne spreminja več in korenine rastejo samo še v dolžino. Korenine se lahko razvijejo zgolj pri osnovi potaknjenca (bazalno), ali pa tudi višje (akrobazalno), s tvorbo kalusa ali brez tvorbe kalusa (Osterc, 2003). Pri potaknjencih lesnatih rastlin lahko v splošnem ločimo različne načine tvorbe korenin (slika 1).



Slika 1: Shema za določanje oblike koreninjenja (Mac Carthaigh in Spethmann, 2000).

Z razvojem korenin lahko začne potaknjenec sam črpati hranilne snovi. Rastlina posledično prične z rastjo, ki je zelo pomembna, saj si tako potaknjenci obnovijo zaloge hranil in izboljšajo kondicijo rastline, zato boljše in lažje prezimijo prvo zimo (Mac Carthaigh in Spethmann, 2000).

S staranjem matične rastline se zmanjšuje zmožnost koreninjenja, poveča se delež potaknjencev s kalusom. Velik delež potaknjencev s tvorbo kalusa večkrat pomeni, da lahko koreninjenje še izboljšamo z optimiziranjem metode meglenja ali pomladitvijo matičnih rastlin (z metodami, ki le upočasnijo proces staranja, metodami fiziološkega pomlajevanja in metodami prave pomladitve) (Osterc, 2001).

2.3 SISTEM RAZMNOŽEVANJA POTAKNJENCEV

2.3.1 Visokotlačni meglilni sistem (fog system)

Zeleni potaknjenci, ki so v času koreninjenja odvisni od fotosinteznega metabolizma, zahtevajo okolje, ki čimbolj zmanjša transpiracijo ob nespremenjeni osvetljenosti prostora (Trobec in Osterc, 2004).

Novejše raziskave kažejo, da imajo visoke temperature in zelo velika zračna vlaga v rastlinjaku nekakšna preventivna zaščita pred pojavom glivičnih bolezni, saj je pojavljanje glivičnih bolezni pri tem načinu razmnoževanja zelo redko. Čas zadrževanja vode v zraku je podaljšan, s tem pa seveda skrajšan čas, ko se voda nahaja v neposrednem stiku s potaknjenci. Zato je ob dobri razpršenosti vodnih kapljic močno zmanjšana verjetnost pojavljanja glivičnih bolezni na potaknjencih (Osterc, 1998). Zaradi vseh teh pozitivnih lastnosti visokotlačno meglenje postaja velikokrat edini način za razmnoževanje potaknjencev, predvsem določenih problematičnih rastlinskih vrst (Hartmann in sod. 1997).

2.3.2 Vlaga, temperatura in zaščita pred boleznimi in škodljivci

Uspeh pri razmnoževanju lahko zagotovimo predvsem s tem, da skušamo zmanjšati transpiracijo, kar pa najlažje dosežemo z uporabo pršenja (mist propagation) ali pa z uporabo meglenja (fog system). Ta zagotavlja, da so listi potaknjencev navlaženi ves čas, oziroma prekriti in obdani s tankim vodnim filmom, predvsem podnevi ob visoki vročini. Vodni film, ki ga tvorijo drobne vodne kapljice, razpršene iz posebnih šob, znižuje temperaturo za 5,5 do 8,5 °C, obenem pa se poveča vlažnost okoli lista. Posledica vsega tega je, da se zmanjša transpiracija, list ostane turgiden in potaknjenec ne ovne (Frank, 2005).

Najprimernejši sistem za koreninjenje rastlinskih vrst, ki se težko ukoreninijo, sem sodi tudi kostanj, je visokotlačni sistem meglenja, kjer je v sistem vključena posebna tlačilka, ki zviša tlak vode v sistemu na 30 do 60 barov. Voda potuje skozi šobe, kjer se razprši v kapljice manjše od 10 µm in s tem ustvari fino meglo. Ta se razporedi po vsem prostoru, kar omogoča, da kapljice podaljšajo obstojnost kapljic in s tem zagotavljajo stabilno zračno vlago med 90 % in 100 % (Frank, 2005). Prostori, v katerih poteka ukoreninjenje potaknjencev, se med samim procesom koreninjenja ne smejo zračiti, ker s tem povzročimo, da se površina listov izsuši in se s tem poveča transpiracija in posledično stres. V vročih dneh lahko temperatura v prostoru naraste tudi do 50 °C, kar pa ob stalnem meglenju ne povzroča nobenih poškodb. Nasprotno, potaknjenci v tem obdobju poleg tvorbe korenin v takšnih razmerah tudi rastejo (Smole in Črnko, 2000).

2.3.3 Rastni regulatorji pri koreninjenju potaknjencev

Rastni regulatorji so organske snovi, ki ne sodijo med hranilne snovi (snovi, ki rastlino oskrbujejo z energijo ali esencialnimi mineralnimi snovmi). Zanje je značilno, da v majhnih količinah pospešujejo, zavirajo ali kako drugače vplivajo na fiziološke procese v rastlinah (Arteca, 1996).

Hormoni so snovi, ki prenašajo sporočila v rastlini. Nastajajo v rastlini v določenih organih in se z mesta nastanka premikajo na mesto porabe. So potrebni in delujejo v zelo majhnih koncentracijah (fitohormoni od μmol do mmol na liter) ter vplivajo na rast in razvoj ali diferenciacijo (Sinkovič, 2000).

V zadnjih desetletjih je uspelo raziskovalcem ugotoviti, kje nastajajo rastlinski hormoni, kako delujejo, obenem pa so določili tudi njihovo kemijsko sestavo. To je omogočilo sintezo umetnih snovi za indukcijo nekaterih procesov (rastni regulatorji), ki povzročajo enake učinke kot naravni hormoni, ki nastajajo v rastlinskih tkivih (Smole in Črnko, 2000).

Doslej je odkritih že kar precej teh snovi, ki jih delimo v dve skupini:

- hormoni, ki rast pospešujejo (pospeševalci rasti ali promotorji),
- hormoni, ki rast zavirajo (zaviralci rasti ali inhibitorji).

Avksine uvrščamo v skupino promotorjev. Imajo pomembno vlogo pri nastanku – iniciaciji korenin, kar izkoriščamo pri vegetativnem razmnoževanju. Dodatek eksogenega hormona je običajno nujno potreben za tvorbo adventivnih korenin pri potaknjencih lesnatih rastlin. Celo pri potaknjencih iz juvenilnih rastlin, ki se uspešnejše koreninijo, lahko dodatek avksina poveča delež ukoreninjenih potaknjencev in predvsem število glavnih korenin. Nasprotno pa je pri fiziološko starih rastlinah, kjer dodatek avksina največkrat nima vpliva na ukoreninjenje (Davis in sod., 1988). Poleg tega pospešujejo povečevanje celic in vodijo še veliko drugih procesov, kot je apikalna dominanca ter vplivajo na povečevanje kotov izraščanja poganjkov. Nastajajo zlasti v mladih razvijajočih se rastnih vršičkih in v nastajajočem semenu (Smole in Črnko, 2000). Ob uporabi stimulatorjev so za koreninjenje oz. nastanek adventivnih korenin pomembni tudi zadovoljiva oskrba z vodo, primerna temperatura in osvetlitev (Hartmann in sod., 1997).

Najbolj znan avksin, ki je bil tudi prvi odkrit, je indol 3-ocetna kislina (IAA). Poleg tega uporabljamo še alfa naftil 3-ocetno kislino (NAA), indol 3-masleno kislino (IBA) ter druge. IAA je manj stabilna in je občutljiva za svetlobo in temperaturo, NAA in IBA pa sta dokaj stabilni snovi in njuni raztopini lahko kar nekaj časa hranimo, seveda v hladnem in temnem prostoru. Z zunanjo uporabo sintetičnih avksinskih pripravkov (eksogeni hormon) je mogoče izboljšati kakovost koreninskega sistema in izzvati nastanek korenin tudi pri potaknjencih, ki se brez tega po normalnem postopku sploh ne bi ukoreninili ali bi se koreninili le v posameznih primerih (Hartmann in sod., 1997; Mac Carthaigh in Spethmann, 2000; Osterc, 2000; Smole in Črnko, 2000). Rezultati kažejo, da je težko ugotoviti optimalno koncentracijo posameznega avksina za dosego dobrega koreninjenja. Razlike v uspešnosti razmnoževanja so med posameznimi leti veliko večje, kot razlike, ki jih povzročajo različne koncentracije avksinov. Mac Carthaigh in Spethmann (2000) zato

ugotavljata, da je pri večini lesnatih vrst najbolje uporabiti enotno koncentracijo avksina 0,5 %.

Rastlinske hormone lahko mešamo tudi z drugimi snovmi in jih tako uporabljamo v praksi. V številnih trgovskih pripravkih so poleg IBA prisotne še NAA ali IAA in včasih še kakšen učinkovit fungicid (kot na primer Captan in Benomyl), ki preprečuje okužbe (Hartmann in sod., 1997; Smole in Črnko, 2000). Ugotovili so namreč, da lahko dodani fungicidi na koreninjenje učinkujejo sinergistično.

2.3.4 Substrat

Substrat je vsaka snov, v katerih raste rastlina (Golob, 1989). Navadno so to mešanice organskih snovi (šota), mineralnih dodatkov za izboljšanje fizikalnih lastnosti (pesek) in gnojil.

Substrat mora imeti naslednje karakteristike (Osvald, 2000):

- sposobnost hitrega ogrevanja,
- zagotavljanje dobre dostopnosti hranil,
- primerno zadrževanje vlage,
- omogočanje ustrezne zračnosti.

Substrat lahko vpliva tudi na obliko korenin. Tako potaknjenci nekaterih rastlinskih vrst potaknjenih samo v pesek poženejo dolge, nerazvejane in krhke korenine. Hkrati pa ista vrsta v mešanici peska in šote oz. perlita in šote oblikujejo dobro razvite, tanke, upogljive korenine, ki so veliko primernejše za sajenje (Mac Carthaigh in Spethmann, 2000).

Pri potaknjencih, ki so jih gojili v navadnih sistemih meglenja, so odsvetovali gnojenje substrata za potik s hitro delujočimi gnojili, da ne bi povzročali ožigov na novo nastalih koreninah. Danes se priporoča uporaba počasni delujočih gnojil (Osmocote, Plantocote,...), ki se dodajajo v substrat. Ta gnojila pospešujejo rast korenin in nadzemnih delov, vendar zaradi počasnega sproščanja hranil ne povzročajo poškodb na koreninah (Smole in Črnko, 2000).

Novejše raziskave kažejo, da je bolj kot sama sestava substrata pomembno gnojenje in pH vrednost substrata (Mac Carthaigh in Spethmann, 2000). Za uspešno koreninjenje potaknjencev je potrebna optimalna temperatura substrata, ki se giblje med 20 in 25 °C (Sancin, 1990).

2.4 VSEBNOST FENOLOV

Sekundarni fenolni metaboliti so v rastlinah prisotni v zelo majhnih količinah. Poleg antioksidativne in antimikrobne vloge (Cowan, 1999) je znana tudi vloga nekaterih fenolov pri obrambi rastlin proti različnim boleznim, škodljivcem in vseh ostalih dejavnikih, ki delujejo stresno na rastlino (Bennet in Wallsgrave, 1994; Dixon in Paiva, 1995). Fenolne spojine imajo v povezavi z okoljskimi dejavniki pomembno vlogo. V rastlinah imajo torej tudi obrambno funkcijo (Usenik, 1999).

Poleg avksina, ki je direktni stimulant tvorbe korenin, in sicer prek vpliva na RNA, imajo bistveno vlogo pri koreninjenju zelenih potaknjencev tudi polifenoli, zaradi svojega sinergističnega ali pa inhibitorkega vpliva na razvoj korenin (Hartmann in sod., 1997; Osterc in sod., 2004b). Hartmann in sod. (1997) so ugotovili, da med sinergistične polifenole spadata (iso)klorogenska kislina in katehol. Vendar pa Maynard in Bassuk (1990) poročata, da se je v njunem poskusu katehol izkazal kot inhibitor razvoja korenin.

Na splošno monofenoli in *m*-difenioli stimulirajo oksidacijo IAA, medtem ko *p*-difenioli, *o*-difenioli, kumarini in polifenoli delujejo kot inhibitorji oksidacije IAA (Davies, 1995; Faivre-Rampant in sod., 2002).

Pomen fenolnih snovi za razvoj korenin je tudi vrstno specifičen. Pri pravemu kostanju imata po navedbah Osterca in sod. (2004b) pomembno vlogo taninska in galna kislina, ki delujeta inhibitorno na proces koreninjenja.

Taninska kislina se je pri vršnih potaknjencih zmanjšala v obdobju enega meseca po potiku. Galne kisline je praviloma več v vršnih potaknjencih v primerjavi z bazalnimi. Največji upad galne kisline je prvi dan po potiku, potem pa se počasi veča med prvim in devetim dnevom po potiku (Osterc in sod., 2004b).

Največjo koncentracijo taninske kisline in Q3R so izmerili peti dan po potiku. Najmanjšo koncentracijo elagne kisline v potaknjencih so izmerili prvi dan po rezi potaknjencev, medtem ko je bilo najmanj Q3DG v listih vršnih potaknjencev pravega kostanja en mesec po potiku (Osterc in sod., 2004b).

Prve štiri dni po potiku se smatrajo za obdobje, ko je avksin nujno potreben za razvoj korenin. To obdobje naj bi bilo aktivna faza avksina (Hartmann in sod., 1997). Z vidika koreninjenja je v prvih dneh po potiku nezaželena prisotnost fenolnih spojin, ki inhibirajo razvoj korenin (Osterc in sod., 2004a).

Zmanjševanje nivoja fenolnih spojin je pogojeno s časom in natanko sorazmerno sovпада s preostankom koncentracije IAA (Faivre-Rampant in sod., 2002).

2.5 STRES IN MERJENJE FLUORESCENCE

Potaknjenci so takoj po rezi izpostavljeni močnemu izhlapevanju, zato jih je potrebno v najkrajšem času potakniti v tak sistem, kjer bo razmnoževanje najuspešnejše (Mac Carthaigh in Spethmann, 2000) ter s tem zmanjšati še dodaten stres, ki ga rastlina doživi ob odstranitvi od matične rastline.

Stres je za rastlino značilen odklon dejavnikov od optimalnih življenjskih razmer. Merjenje fluorescence zelenih tkiv poda informacijo o stanju fotosistemov (predvsem PS II) ter o elektronskem transportu. Merjenje fluorescence *in vivo* je posebej uporabno v ekofizioloških študijah v povezavi s stresom (Larcher, 2003).

Ko rastlina doživi stresno stanje, lahko pride do motenj v fotosinteznem aparatu. Takšno stresno stanje rastline se da dobro zaznati z merjenjem fluorescence, ki se na račun zmanjšanja fotosinteze praviloma poveča (Veberič in sod., 2004).

Fluorescenca, oddajanje svetlobe daljše valovne dolžine, je eden od treh načinov, s katerim lahko s svetlobo vzbujeni klorofil odda energijo. Ob primernih merilnih razmerah lahko z meritvijo fluorescentnega signala sklepamo na fotokemično učinkovitost fotosinteze (dejansko, značilno za neke okoljske razmere in potencialno), t.j. na hitrost elektronskega transporta v svetlobnih reakcijah fotosinteze. Prednost meritev fluorescence je hitrost in možnost meritve v normalnih svetlobnih razmerah, ki jo omogočajo novejši fluorometri (Vodnik, 2004).

Razmerje med potencialno in maksimalno fluorescenco (F_v/F_m), ki ga določimo z meritvami temotno adaptiranih vzorcev, kaže maksimalni fotokemični izkoristek centrov PS II (Lichtenthaler, 1988). Razmerje F_v/F_m je indikator učinkovitosti fotokemijske pretvorbe energije v PS II. Vrednost parametra je navadno od 0,800 do 0,833 (Björkman in Demming, 1987). Na zmanjšanje razmerja F_v/F_m pa lahko vpliva tudi povišanje temperature okolja, kjer rastlina raste in ne samo stres (Yamada in sod., 1996).

Dejanska učinkovitost energijske pretvorbe v PS II poda razmerje $\Delta F / F_m'$ (učinkoviti fotokemični izkoristek PS II, ki opredeljuje število elektronov, transportiranih na foton, absorbiran v PS II), ki ga določimo z meritvami na svetlobi (Schreiber in sod., 1994).

Ko spremljamo fluorescenco, se moramo zavedati, da vsako njeno povečanje pomeni hkrati zmanjšanje učinkovitosti fotokemičnega dela (svetlobne reakcije fotosinteze, kjer poteka prenos elektrona, t.i. fotokemične reakcije) ali pa toplotnih izgub. Pri meritvah fluorescence označujemo omenjena načina oddajanja energije kot dušenje, ki se porabi ali za fotokemično delo (fotokemično dušenje) ali pa se izgubi kot toplota (nefotokemično dušenje fluorescence) (Vodnik, 2001).

3 MATERIAL IN METODE

3.1 RASTLINSKI MATERIAL

V poskus sta bili vključena hibrida evropskega pravega kostanja (*Castanea crenata* x *Castanea sativa*) 'Marsol' in 'Maraval'.

3.1.1 'Marsol'

'Marsol' je francoska sorta, naravni križanec evropskega (*Castanea sativa* Mill.) in japonskega kostanja (*Castanea crenata* Sieb in Zucc.). Raste zelo bujno, precej pokončno. Rodnost je srednja. Srednje je občutljiv za kostanjev rak (*Chryphonectria parasitica* (Murrill) Barr) in malo občutljiv za črnilovko (*Phytophthora cambivora* (Petri) Buisman), odporen proti spomladanskemu in jesenskemu mrazu. Cveti zgodaj in zori v začetku oktobra. Plodovi so v glavnem monoembrionalni, z majhno stopnjo zajedanja teste v jedro (Godec in sod., 2003).



Slika 2: Plodovi pravega kostanja sorte 'Marsol' (Godec in sod., 2003).

3.1.2 'Maraval'

Tudi 'Maraval' je francoska sorta. Je naravni križanec evropskega (*Castanea sativa* Mill.) in japonskega kostanja (*Castanea crenata* Sieb. in Zucc.). Drevo je srednje bujne, rahlo pokončne rasti. Občutljiv je za kostanjev rak (*Chryphonectria parasitica* (Murrill) Barr) in dokaj odporen proti črnilovki (*Phytophthora cambivora* (Petri) Buisman), odporen proti spomladanskemu in jesenskemu mrazu. Cveti srednje zgodaj, zori pa v drugi dekadi

oktobra. Plodovi so v glavnem monoembrionalni in testa se ne zajeda v jedro (Godec in sod., 2003).



Slika 3: Plodovi pravega kostanja sorte 'Maraval' (Godec in sod., 2003).

3.2 METODE DELA

3.2.1 Zasnova poskusa

Zasnovali smo dvofaktorski poskus s šestnajstimi parcelami (Priloga A). Poskusna faktorja sta bila sorta (hibrida *Castanea crenata* x *Castanea sativa*, 'Marsol' in 'Maraval') in dolžina potaknjencev ob potiku (15 cm, 30 cm). Poskus je bil zastavljen s štirimi ponovitvami in dvaintridesetimi potaknjenci v vsaki ponovitvi. Potikali smo samo vršne potaknjence.

Praktični del diplomske je potekal od 10. 06. 2004 do 15. 10. 2004 v plastenjaku Biotehniške fakultete v Ljubljani. Plastenjak je imel avtomatsko regulirano meglenje (fog-system). V njem so bili leseni okvirji, na dnu katerih je bila plast peska (drenaža), prekrita z vrtnarsko folijo. Na folijo smo dali substrat in nato napolnjeni leseni okvir razdelili na 16 parcel in sicer 4 parcele za posamezno sorto in določen tip potaknjenca (dolgi, kratek). Velikost osnovne parcele je bila $0,3 \times 0,3$ m. Vsako parcelo smo označili (za vsako merjenje izbrali potaknjencev po naključnem izboru) in v vsako parcelo potaknili 32 potaknjencev. Njihov razpored smo določili po metodi naključnih števil. Shema poskusa je prikazana v prilogi A.

Če predpostavimo, da so bile razmere za vse potaknjence na parceli izenačene, lahko privzamemo, da so bile meritve v času med seboj neodvisne.



Slika 4: Zasnova poskusa.

3.2.2 Matični material in priprava potaknjencev

Potaknjence smo rezali na šest let starih *in vitro* razmnoženih matičnih rastlin omenjenih sort v drevesnici Biotehniške fakultete, izpostava Maribor. Rezali smo jih na dan potika, torej 10. 06. 2004 v zgodnjih jutranjih urah. Ko smo porezali potrebno število poganjkov, smo le-te zbrali v polietilenske vreče in jih tako pripravili za transport. Nato smo potaknjence prepeljali v Ljubljano.

Potaknjenci so izvirali iz vršnega dela enoletnih poganjkov matičnih rastlin, odrezanih tik pod nodijem. Izbrali smo dve velikosti potaknjencev, in sicer 15 cm in 30 cm. Pred potikom smo vsak poganjek skrajšali za približno 3 mm in odstranili spodnje liste ter tako pripravljene poganjke tretirali s hormonsko mešanico 0,5 % indol-3-maslene kisline (IBA) in 10 % Euparena (fungicida, za katerega je bilo ugotovljeno, da učinkuje sinergistično na ukoreninjenje) na osnovi smukca. Potikali smo samo vršne potaknjence. V substrat smo jih potikali približno 3 cm globoko in 3 cm drug od drugega, da je imel vsak potaknjencec na razpolago približno 30 cm² prostora.

3.2.3 Rastne razmere



Slika 5: Plastenjak.

Visokotlačni sistem meglenja (fog system)

Za oroševanje potaknjencev v plastenjaku smo uporabili sistem visokotlačnega meglenja, proizvajalca Plantfog (Dolejši, Avstrija), ki je bil avtomatsko intervalno uravnan. Tlačilka je s tlakom 60 do 65 barov potiskala vodo skozi šobe, s premerom manjšim od 10 μm in na ta način ustvarjala gosto meglo. Meglilni sistem je deloval od konca maja do septembra. V vročih dneh so trajali intervali meglenja 25 sekund s 1,5 do 2 minutnimi premori, v hladnejših dneh pa se je dolžina premorov povečala tudi na 5 minut. Ponoči meglilni sistem ni bil vklopljen. Plastenjaka v času meglenja nismo zračili. Potikanje je potekalo v poletnih mesecih, ko je bila razmeroma velika zračna temperatura. Temperatura je čez dan v plastenjaku narasla tudi na 50 °C, kar pa ob stalnem meglenju in s tem omogočeni veliki relativni zračni vlagi na rastlinah ni povzročilo nobenih poškodb. Ponoči je temperatura padla na 18 do 22 °C. Meritve fluorescence smo opravljali v zgodnjih jutranjih urah pred vklopom meglilnega sistema. Relativna zračna vlaga je bila zaradi meglenja konstantna in se je gibala med 90 in 100 %.

Substrat

Substrat je bil sestavljen iz mešanice šote in kremenčevega peska v razmerju 3:1. Za mešanico smo uporabili tri volumske dele šote (Novobalt) in en volumski del kremenčevega peska, granulacije od 0,7 do 1,4 mm. V substrat smo vmešali še 0,2 g/l počasi delujočega gnojila Osmocote 3-4 M (NPK+ Mg) v razmerju 16:11:11:3,0. Da smo dosegli primerno pH vrednost (4,0) smo dodali še 0,9 g apna/l substrata. Količino dodanega apna smo določili na osnovi pH-krivulje. Pred potikom smo substrat močno navlažili, da bi preprečili izsušitev potaknjencev. V času potikanja je že deloval meglilni sistem.

Rastni regulatorji

Neposredno pred potikom potaknjencev smo bazalne dele potaknjencev za približno pet sekund ('quick-dipp' metoda) pomočili v prašek IBA.

Zaščita pred boleznimi in škodljivci

V poskusu nismo uporabili nobenega fitofarmaceutskega sredstva. Na podlagi ugotovitev Smoletove in Črnka (2000) smo domnevali, da pri metodi meglenja ni večjih problemov z boleznimi in škodljivci, saj visoka temperatura in velika relativna zračna vlaga zavirata njihovo rast in razvoj.

3.3 MERITVE IN VREDNOTENJE REZULTATOV

3.3.1 Meritve

Neposredno pred potikom, prvih šest dni po potiku ter nato še po dveh in treh tednih smo merili fluorescenco. Liste, na katerih smo izvajali meritve smo odstranili, očistili in zamrznili z metodo hitrega zamrzovanja s tekočim dušikom, potaknjence pa označili in pustili v substratu. Liste smo nato uporabili za nadaljnje analize in sicer za merjenje vsebnosti fenolnih snovi. Na koncu rastne sezone, 15. 10. 2004 smo potaknjence vrednotili še z metodo bonitiranja in tako določili uspešnost razmnoževanja z zelenimi enoletnimi potaknjenci pravega kostanja (Priloga B).

Meritev fluorescence

Meritev fluorescence smo izvajali s pomočjo fluorometra PAM 2100, Walz. Naključno smo izbrali potaknjence, na katere smo nato najprej namestili čepe za temotno adaptacijo. Tako smo temotno adaptirali dele, kjer smo kasneje izmerili potencialno fotokemično učinkovitost fotosistema II. Medtem ko smo čakali na temotno adaptacijo (približno 20 minut) smo izmerili še dejansko fotokemično učinkovitost fotosistema II. Na vsakem potaknjencu smo izvedli po dve meritvi dejanske (Priloga C1) in potencialne fotokemične učinkovitosti lista (Priloga C2). Na vsaki parceli smo naključno izbrali po dva potaknjenca na katerih smo izvedli meritve.

Potencialno in dejansko fotokemično učinkovitost listov potaknjencev smo spremljali ob vedno ob istem času in sicer zjutraj pred začetkom meglenja.



Slika 6: Fluorometer PAM 2100, Walz.



Slika 7: Zatemnitev lista pred meritvijo potencialne fotokemične učinkovitosti.

Meritev vsebnost fenolov

Kot že prej omenjeno, smo liste na katerih smo merili fluorescenco kasneje uporabili za meritev vsebnosti in koncentracije fenolov. Liste smo torej odstranili, očistili in zamrznili v tekočem dušiku in jih v takem stanju shranili pri $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ do izvedbe ekstrakcije. Ekstrakcija je potekala po znani metodi (Usenik in Štampar, 2000; cit. po Osterc in sod., 2004). Nabrane in zamrznjene liste smo posamično zmleli v terilnici s pomočjo tekočega dušika in dodanega kremenčevega peska. Nato smo odtehtali 0,20 g vzorca in ga prelili z 5 ml raztopine 1% BHT v metanolu (10 g 2,6 di-tetra-butyl-4 metilfenol oz. BHT/1L MeOH). Vzorec smo potem dali za 45 min v ultrazvočno kopel in ga nato prefiltrirali skozi poliamidni filter Chromafil AO- 45/25 (45 μm) in dali v vialo. Kasneje smo na HPLC sistemu, na Katedri za sadjarstvo, določili vsebnost fenolnih snovi. Uporabljali smo Surveyor HPLC z PDA detektorjem ter Varian Chromsep kolono (SS 250 x 4,6 mm, hipersil 5 ODS) ter operacijski sistem Chrom Quest 4.0. Za določitev različnih fenolnih snovi smo uporabili topilo A (1% vodna raztopina očetne kisline) in topilo B (metanol :

acetonitril= 1 : 1). Gradient mobilnih faz je znašal: 0-10 min., 15% B; 10- 15 min., 15- 40 % B v A; 50- 60 min., 40- 60 % B v A; 60- 80 min., 60- 100% B v A (Fernandez- Lorenzo in sod., 1999; cit. po Osterc in sod., 2004b).

3.3.2 Vrednotenje rezultatov

Vrednotenje uspešnosti vegetativnega razmnoževanja

Po koncu rastne sezone smo pri potaknjencih s pomočjo metode bonitiranja ocenili uspešnost koreninjenja. Izvedli smo naslednje meritve:

- delež ukoreninjenih potaknjencev;

Delež ukoreninjenih potaknjencev smo izračunali tako, da smo število ukoreninjenih potaknjencev (bonitirni razredi od 3 do 6) delili s številom vseh potaknjenih potaknjencev.

- obliko koreninjenja;

S pomočjo slike 1 smo določili delež potaknjencev z bazalnim (3 in 5) razvojem korenin, delež potaknjencev z akrobazalnim razvojem (4 in 6) razvojem korenin, delež potaknjencev, ki so razvili samo kalus (2) ter delež potaknjencev, ki so poleg kalusa razvili tudi korenine (3 in 4).

Delež potaknjencev z bazalnim razvojem korenin smo izračunali tako, da smo število potaknjencev z bazalnim razvojem korenin delili s številom ukoreninjenih potaknjencev.

Delež potaknjencev z akrobazalnim razvojem korenin smo izračunali tako, da smo število potaknjencev z akrobazalnim razvojem korenin delili s številom ukoreninjenih potaknjencev.

Delež potaknjencev, ki so razvili samo kalus smo izračunali tako, da smo število potaknjencev, ki so razvili kalus delili s številom vseh potaknjencev.

Delež potaknjencev, ki so poleg kalusa razvili tudi korenine, smo izračunali tako, da smo število potaknjencev, ki so poleg kalusa razvili tudi korenine delili s številom ukoreninjenih potaknjencev.

- število korenin;

Število korenin smo določili s štetjem glavnih korenin, torej korenin, ki izraščajo neposredno iz potaknjenca.

- dolžina glavnih korenin;

Dolžino glavnih korenin smo določili tako, da smo izmerili vse glavne korenine in dobljeno dolžino delili s številom glavnih korenin.

- dolžina glavnega poganjka;

Dolžino glavnega poganjka smo določili tako, da smo izmerili dolžino prirasta glavnega poganjka.

- dolžina stranskih poganjkov;

Dolžino stranskih poganjkov smo določili tako, da smo izmerili prirast vseh stranskih poganjkov in te dolžine sešteli.

3.4 STATISTIČNA ANALIZA

Vse dobljene rezultate smo obdelali z računalniškima programoma Excel in Statgraphics Plus 4.0.

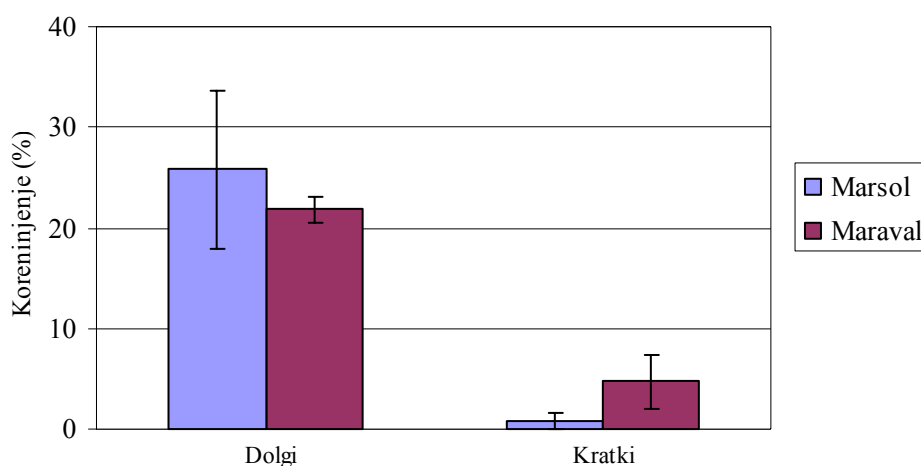
Rezultate dobljene pri merjenju fluorescence in vsebnosti fenolnih snovi smo obdelali s pomočjo analize variance (ANOVA) za dvofaktorski poskus. Z njo smo ugotavljali ali so med posameznimi obravnavanji statistično značilne razlike. Primerjavo povprečnih vrednosti smo ovrednotili z Duncan-ovim preizkusom. Stopnja tveganja je bila 5-odstotna. Pri rezultatih bonitiranja navajamo povprečne vrednosti.

Podatke, izračunane v odstotkih, smo za potrebe statistične analize transformirali s funkcijo arcsin, tako da so bile izpolnjene predpostavke analize variance.

4 REZULTATI

4.1 REZULTATI RAZMNOŽEVANJA

Delež ukoreninjenih potaknjencev je bil pri obeh sortah ('Marsol' in 'Maraval') večji pri dolgih potaknjencih. Pri dolgih potaknjencih sorte 'Marsol' je bilo koreninjenje 25,8 %, pri sorti 'Maraval' pa 21,8 %. Pri kratkih potaknjencih obeh sort smo dosegli manj kot 5 odstotno koreninjenje (slika 8). Med sortama ni statistične razlike, med dolžinama pa je statistično značilna razlika, ki kaže na to da so se kratki potaknjenci ne glede na sorto slabše koreninili kot dolgi.



Slika 8: Koreninjenje kratkih in dolgih kostanjevih potaknjencev sort 'Marsol' in 'Maraval'. Prikazana so povprečja ± standardna napaka, N=32 (BF, Oddelek za agronomijo 2004).

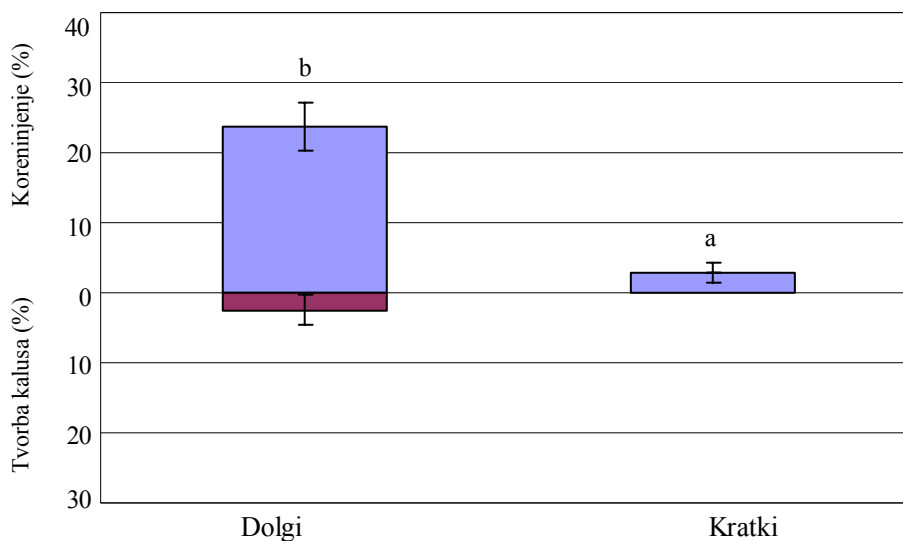
Interakcija pri koreninjenju in tvorbi kalusa ni bila statistično značilna. Statistično značilne razlike so bile le med dolžinama (preglednica 1). Kalus se je razvil le pri dolgih 'Marsol' potaknjencih (5,0 %) (preglednica 1).

Preglednica 1: Zbirna tabela rezultatov koreninjenja (%) ter tvorbe kalusa (%) dolgih in kratkih kostanjevih potaknjencev sort 'Marsol' in 'Maraval'(%)). Prikazana so povprečja ± standardna napaka (BF, Oddelek za agronomijo 2004).

	Marsol		Maraval		ANOVA		
	Dolgi	Kratki	Dolgi	Kratki	Tip	Sorta	Inter.
Koreninjenje (%)	25,8± 7,8	0,8± 0,8	21,8±1,3	4,7± 2,7	*	NS	NS
Tvorba kalusa (%)	5,0 ± 4,0	0,0± 0,0	0,0± 0,0	0,0± 0,0	NS	NS	NS

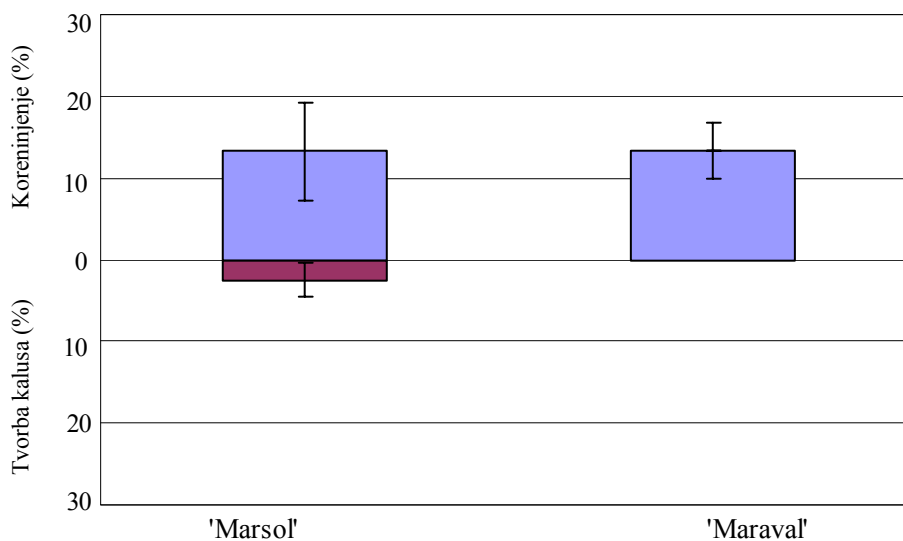
* označuje statistično značilne razlike, NS označuje, da ni statistično značilnih razlik

Iz slik 9 in 10 lahko razberemo kakšen je vpliv razvoja kalusa na delež koreninjenja kostanjevih potaknjencev dveh različnih dolžin in dveh različnih sort. Razvidno je, da je bil v obeh primerih, pri dolgih in pri kratkih potaknjencih sorte 'Marsol' tako delež koreninjenja, kot tudi delež razvoja kalusa večji kot pri sorti 'Maraval'.



Različne črke prikazujejo statistično razliko med tipom oz. sortama potaknjencev pri $p < 0,05$.

Slika 9: Vpliv tvorbe kalusa na uspešnost koreninjenja kostanjevih potaknjencev sort 'Marsol' in 'Maraval' različnih dolžin. Prikazana so povprečja \pm standardna napaka med dolžinama (BF, Oddelek za agronomijo 2004).



Slika 10: Vpliv tvorbe kalusa na uspešnost koreninjenja kostanjevih potaknjencev sort 'Marsol' in 'Maraval'. Prikazana so povprečja \pm standardna napaka med sortama (BF, Oddelek za agronomijo 2004).

V preglednici 2 je prikazana oblika tvorbe korenin dolgih in kratkih potaknjencev kostanjevih sort 'Marsol' in 'Maraval'. Pri dolgih 'Marsol' potaknjencih je bil največji delež bazalno razvitih korenin (85,1 %) in delež potaknjencev s koreninam ter kalusom (29,1 %). Največji delež akrobazalno razvitih korenin pa je bil pri dolgih 'Maraval' potaknjencih (58,4 %).

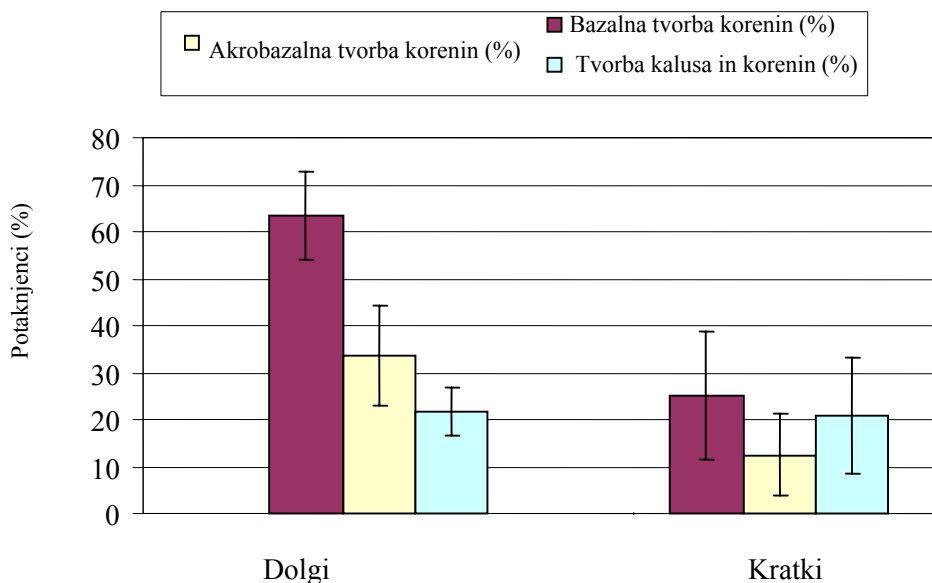
Interakcije glede bazalne in akrobazalne tvorbe korenin ter tvorbe kalusa in korenin niso bile statistično značilne (preglednica 2).

Preglednica 2: Oblika koreninskega sistema dolgih in kratkih kostanjevih potaknjencev sort 'Marsol' in 'Maraval' (bazalni in akrobazalni razvoj korenin (%), razvoj kalusa in korenin (%)). Prikazana so povprečja \pm standardna napaka (BF, Oddelek za agronomijo 2004).

	Marsol		Maraval		ANOVA		
	Dolgi	Kratki	Dolgi	Kratki	Tip	Sorta	Inter.
Bazalna tvorba korenin (%)	85,1 \pm 5,1	25,0 \pm 25,0	41,7 \pm 8,8	25,0 \pm 16,0	*	NS	NS
Akrobazalna tvorba korenin (%)	8,9 \pm 5,2	0,0 \pm 0,0	58,4 \pm 8,9	25,0 \pm 16,0	*	*	NS
Kalus in korenine (%)	29,1 \pm 6,7	25,0 \pm 25,0	14,5 \pm 5,9	16,7 \pm 9,6	NS	NS	NS

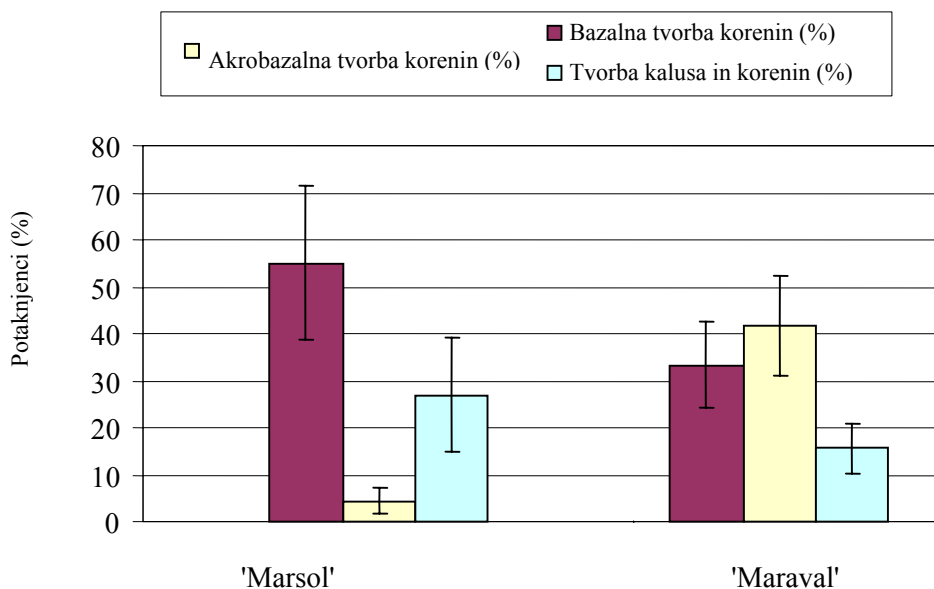
* označuje statistično značilne razlike, NS označuje, da ni statistično značilnih razlik

V povprečju so potaknjenci sorte 'Marsol' v primerjavi s sorto 'Maraval' razvili večji odstotek kalusa in korenin. Prav tako je bil tudi delež potaknjencev z bazalnim razvojem korenin večji pri sorti 'Marsol'. Pri deležu potaknjencev z akrobazalnim razvojem korenin so bile med sortama statistično značilne razlike. Sorta 'Marsol' je v primerjavi s sorto 'Maraval' imela statistično značilno večji delež potaknjencev z akrobazalnim razvojem korenin (slika 11).



Slika 11: Oblika koreninjenja različnih dolžin kostanjevih potaknjencev sort 'Marsol' in 'Maraval'. Prikazana so povprečja \pm standardna napaka (BF, Oddelek za agronomijo 2004).

Delež potaknjencev z bazalnim razvojem korenin je bil pri dolgih in kratkih potaknjencih različen. Dolgi potaknjenci so v primerjavi s kratkimi statistično značilno večkrat razvili korenine bazalno. Delež potaknjencev z akrobazalnim razvojem korenin ter delež potaknjencev s kalusom in koreninami je bil prav tako večji pri dolgih potaknjencih (slika 12).



Slika 12: Oblika koreninjenja različnih sort kostanjevih potaknjencev. Prikazana so povprečja \pm standardna napaka (BF, Oddelek za agronomijo 2004).

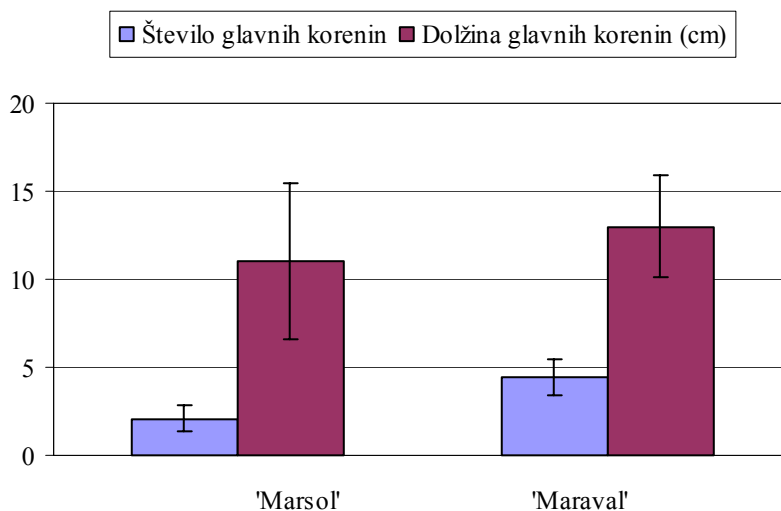
Tudi interakciji pri povprečnem številu korenin in povprečni dolžini glavnih korenin nista bili statistično značilni. Povprečno največ glavnih korenin so razvili dolgi 'Maraval' potaknjenci (povprečno 6,5 glavnih korenin). Največji povprečen prirast pa je bilo opaziti pri dolgih potaknjencih sorte 'Marsol' (18,8 cm) (preglednica 3).

Preglednica 3: Zbirna tabela rezultatov povprečnega števila korenin in povprečne dolžine korenin (cm) dolgih in kratkih kostanjevih potaknjencev sort 'Marsol' in 'Maraval'. Prikazana so povprečja \pm standardna napaka (BF, Oddelek za agronomijo 2004).

	Marsol		Maraval		ANOVA		
	Dolgi	Kratki	Dolgi	Kratki	Tip	Sorta	Inter.
Povp. št.glavnih korenin	3,7 \pm 0,4	0,5 \pm 0,5	6,5 \pm 0,3	2,8 \pm 1,6	*	*	NS
Povp. dol.glavnih korenin (cm)	18,8 \pm 6,3	3,3 \pm 3,3	17,8 \pm 1,4	8,2 \pm 4,7	*	NS	NS

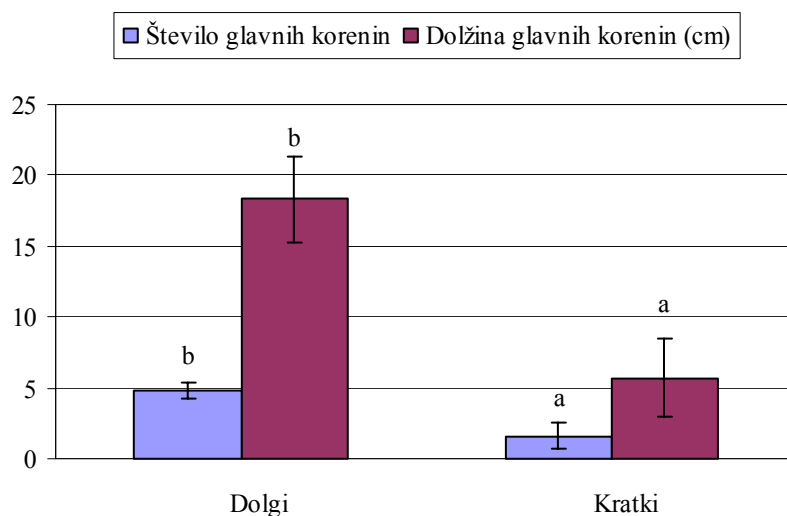
* pomeni, da so statistične razlike, NS pomeni, da statističnih razlik ni.

Med sortama v številu razvitih glavnih korenin in dolžini glavnih korenin ni bilo statistično značilnih razlik (slika 13).



Slika 13: Povprečno število glavnih korenin in povprečna dolžina glavnih korenin (cm) kostanjevih potaknjencev sort 'Marsol' in 'Maraval'. Prikazana so povprečja \pm standardna napaka (BF, Oddelek za agronomijo 2004).

Dolžina potaknjencev je značilno vplivala na razvoj korenin. Število glavnih korenin in dolžina glavnih korenin je bila statistično značilno večja pri dolgih potaknjencih (slika 14).



Različne črke prikazujejo statistično razliko med tipom oz. sortama potaknjencev pri $p < 0,05$.

Slika 14: Povprečno število glavnih korenin in povprečna dolžina glavnih korenin (cm) kostanjevih potaknjencev sort 'Marsol' in 'Maraval' različnih dolžin. Prikazana so povprečja \pm standardna napaka (BF, Oddelek za agronomijo 2004).

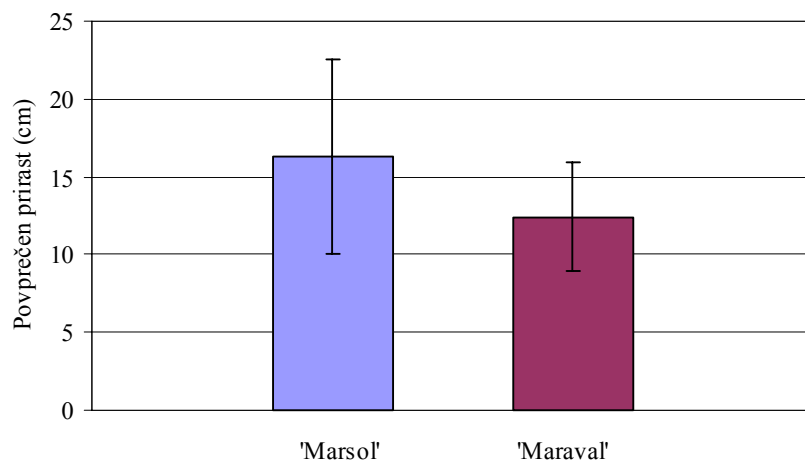
Tudi povprečen prirast je bil statistično značilno različen med skupinama potaknjencev različnih dolžin. Povprečni prirast je bil pri dolgih potaknjencih, ne glede na sorto, v povprečju večji kot pri kratkih. Povprečen prirast potaknjencev je bil največji pri dolgih potaknjencih sorte 'Marsol' (31,0 cm) (preglednica 4).

Preglednica 4: Zbirna tabela rezultatov povprečnega prirasta (cm) dolgih in kratkih kostanjevih potaknjencev sort 'Marsol' in 'Maraval'. Prikazana so povprečja \pm standardna napaka (BF, Oddelek za agronomijo 2004).

	Marsol		Maraval		ANOVA		
	Dolgi	Kratki	Dolgi	Kratki	Tip	Sorta	Inter.
Povprečen prirast (cm)	31,0 \pm 5,9	1,6 \pm 1,6	20,8 \pm 1,8	2,3 \pm 1,7	*	NS	NS

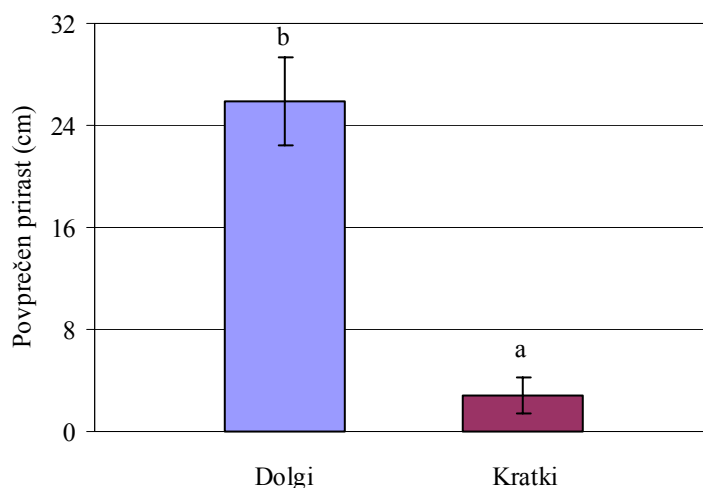
* pomeni, da so statistične razlike, NS pomeni, da statističnih razlik ni.

Med sortama v povprečnem prirastu ni bilo statistično značilnih razlik, 'Marsol' potaknjenci so imeli tendencialno večji prirast (slika 15).



Slika 15: Povprečen prirast (cm) kostanjevih potaknjencev sort 'Marsol' in 'Maraval'. Prikazana so povprečja \pm standardna napaka (BF, Oddelek za agronomijo 2004).

Dolgi potaknjenci so statistično značilno močnejše rasli v razmnoževalni sezoni (slika 16).



Različne črke prikazujejo statistično razliko med tipom oz. sortama potaknjencev pri $p < 0,05$.

Slika 16: Povprečen prirast (cm) kostanjevih potaknjencev sort 'Marsol' in 'Maraval' različnih dolžin. Prikazana so povprečja \pm standardna napaka (BF, Oddelek za agronomijo 2004).

4.2 VSEBNOST FENOLNIH SNOVI

Iz preglednic 5, 6 in 7 je razvidno, da je vsebnost kvercetinov tako pri dolgih kot tudi pri kratkih poganjkih največja ob potiku. V listih kostanjevih potaknjencev je največ Q3DG. Prisotne so bile tudi interakcije med sortama in dolžinama. Pri kvercetinih je bila interakcija med dolžino in sorto ugotovljena predvsem ob potiku z izjemo fenola Q3R, kjer je bila interakcija ugotovljena četrty dan po potiku.

Pri vsebnosti rutina je bila ob potiku statistično značilna interakcija. Dolgi potaknjenci sorte 'Maraval' so vsebovali več rutina ob potiku kot dolgi in kratki potaknjenci sorte 'Marsol' in kratki potaknjenci 'Maraval' (preglednica 5). Med dolžinama je bila statistično značilna razlika v vsebnosti rutina ob potiku in četrty dan po potiku. Vsebnost rutina v listih potaknjencev je bila v teh terminih statistično značilno večja pri daljših potaknjencih. Med sortama se je vsebnost rutina statistično razlikovala ob potiku, 1., 2., 3., 5., 6. in 21. dan po potiku. V vseh naštetih terminih je bila statistično značilno večja vsebnost rutina v listih potaknjencev sorte 'Maraval'.

Preglednica 5: Vsebnost kvercetina rutina v listih dveh različnih tipov (dolgi, kratki) kostanjevih potaknjencev sort 'Marsol' in 'Maraval' v različnih časovnih terminih meritev. Prikazana so povprečja \pm standardna napaka (BF, Oddelek za agronomijo 2004).

Rutin (mg/g SS)							
Dnevi po potiku	'Marsol'		'Maraval'		ANOVA		
	Dolgi	Kratki	Dolgi	Kratki	Tip	Sorta	Inter.
0	0,334 \pm 0,134 a	0,223 \pm 0,039 a	0,954 \pm 0,151 b	0,293 \pm 0,067 a	—	—	*
1	0,228 \pm 0,057	0,164 \pm 0,023	0,341 \pm 0,048	0,366 \pm 0,091	NS	*	NS
2	0,168 \pm 0,030	0,153 \pm 0,016	0,335 \pm 0,086	0,296 \pm 0,054	NS	*	NS
3	0,262 \pm 0,055	0,161 \pm 0,032	0,327 \pm 0,074	0,291 \pm 0,061	NS	NS	NS
4	0,203 \pm 0,052	0,120 \pm 0,021	0,278 \pm 0,058	0,227 \pm 0,169	NS	NS	NS
5	0,257 \pm 0,092	0,247 \pm 0,064	0,430 \pm 0,049	0,538 \pm 0,112	NS	*	NS
6	0,152 \pm 0,045	0,136 \pm 0,044	0,305 \pm 0,057	0,345 \pm 0,054	NS	*	NS
14	0,160 \pm 0,026	0,255 \pm 0,060	0,135 \pm 0,043	0,176 \pm 0,051	NS	NS	NS
21	0,087 \pm 0,017	0,069 \pm 0,023	0,156 \pm 0,021	0,166 \pm 0,031	NS	*	NS

* pomeni, da so statistične razlike, NS pomeni, da statističnih razlik ni. Različne črke prikazujejo statistično razliko med tipom oz. sorto potaknjencev pri $p < 0,05$.

Interakcija pri vsebnosti Q3R v listih se je kazala v 4. dnevu po potiku. Dolgi potaknjenci sorte 'Marsol' so vsebovali statistično značilno več kvercetina Q3R kot kratki potaknjenci 'Marsol' in dolgi ter kratki potaknjenci 'Maraval' (preglednica 6). Statistično značilne razlike med dolžinama so se kazale ob potiku in 21. dan po potiku. Dolgi potaknjenci so, v primerjavi s kratkimi, v teh dveh terminih vsebovali statistično značilno več Q3R v listih. Med sortama so bile statistično značilne razlike v vseh terminih meritev, razen 4. dan po potiku. V vseh terminih je bilo v listih potaknjencev sorte 'Maraval' v primerjavi s sorto 'Marsol' statistično značilno manj kvercetina Q3R.

Preglednica 6: Vsebnost kvercetina Q3R v listih dveh različnih tipov (dolgi, kratki) kostanjevih potaknjencev sort 'Marsol' in 'Maraval' v različnih časovnih terminih meritev. Prikazana so povprečja ± standardna napaka (BF, Oddelek za agronomijo 2004).

Dnevi po potiku	Q3R (mg/g SS)				ANOVA		
	'Marsol'		'Maraval'		Tip	Sorta	Inter.
	Dolgi	Kratki	Dolgi	Kratki			
0	0,851± 0,175	0,544± 0,035	0,611± 0,059	0,201± 0,048	*	*	NS
1	0,595± 0,051	0,503± 0,046	0,341± 0,086	0,383± 0,064	NS	*	NS
2	0,572± 0,067	0,508± 0,041	0,309± 0,064	0,246± 0,034	NS	*	NS
3	0,500± 0,057	0,605± 0,099	0,461± 0,100	0,258± 0,053	NS	*	NS
4	0,486± 0,077 b	0,344± 0,031 a	0,302± 0,054 a	0,412± 0,070 a	—	—	*
5	0,724± 0,108	0,673± 0,065	0,291± 0,055	0,407± 0,041	NS	*	NS
6	0,471± 0,063	0,451± 0,039	0,340± 0,047	0,283± 0,047	NS	*	NS
14	0,461± 0,073	0,564± 0,104	0,294± 0,071	0,245± 0,029	NS	*	NS
21	0,334± 0,051	0,194± 0,059	0,183± 0,032	0,060± 0,013	*	*	NS

* pomeni, da so statistične razlike, NS pomeni, da statističnih razlik ni. Različne črke prikazujejo statistično razliko med tipom oz. sorto potaknjencev pri $p < 0,05$.

Pri vsebnosti fenola Q3DG je bila statistično značilna interakcija v prvem terminu meritve-ob potiku. Dolgi potaknjenci 'Maraval' so v primerjavi s kratkimi in dolgimi potaknjenci 'Marsol' ter kratkimi 'Maraval' vsebovali statistično značilno več kvercetina Q3DG (preglednica 7). Kratki potaknjenci so glede na dolge potaknjence vsebovali statistično značilno manj Q3DG. Statistične razlike med sortama so bile v vseh terminih, razen ob potiku in 14. dan po potiku. V vseh terminih so potaknjenci sorte 'Marsol' vsebovali statistično značilno manj Q3DG v listih potaknjencev.

Preglednica 7: Vsebnost kvercetina Q3DG v listih dveh različnih tipov (dolgi, kratki) kostanjevih potaknjencev sort 'Marsol' in 'Maraval' v različnih časovnih terminih meritev. Prikazana so povprečja \pm standardna napaka (BF, Oddelek za agronomijo 2004).

Q3DG (mg/g SS)							
Dnevi po potiku	'Marsol'		'Maraval'		ANOVA		
	Dolgi	Kratki	Dolgi	Kratki	Tip	Sorta	Inter.
0	2,761 \pm 0,917 a	1,587 \pm 0,278 a	6,086 \pm 0,956 b	1,578 \pm 0,295 a	—	—	*
1	1,474 \pm 0,403	0,867 \pm 0,174	2,171 \pm 0,345	2,980 \pm 0,680	NS	*	NS
2	0,750 \pm 0,140	0,645 \pm 0,116	2,396 \pm 0,709	1,812 \pm 0,388	NS	*	NS
3	1,202 \pm 0,252	0,932 \pm 0,218	2,608 \pm 0,663	3,012 \pm 0,643	NS	*	NS
4	1,018 \pm 0,297	0,685 \pm 0,156	1,766 \pm 0,424	1,455 \pm 0,354	NS	*	NS
5	1,542 \pm 0,524	1,426 \pm 0,339	3,582 \pm 0,489	3,632 \pm 0,704	NS	*	NS
6	1,101 \pm 0,416	1,162 \pm 0,410	2,291 \pm 0,391	2,608 \pm 0,462	NS	*	NS
14	0,991 \pm 0,182	2,209 \pm 0,583	1,189 \pm 0,315	1,235 \pm 0,381	NS	NS	NS
21	0,581 \pm 0,083	0,601 \pm 0,155	1,344 \pm 0,263	1,730 \pm 0,237	NS	*	NS

* pomeni, da so statistične razlike, NS pomeni, da statističnih razlik ni. Različne črke prikazujejo statistično razliko med tipom oz. sorto potaknjencev pri $p < 0,05$.

Vsebnost ostalih fenolov v listih potaknjencev (elagna kislina, miricetin in klorogenska kislina) je v primerjavi z vsebnostjo kvercetinov manjša. V večini dosega največje koncentracije ob potiku. Vsebnost se še poveča okoli tretjega, četrtega in petega dneva po potiku. Pri klorogenski kislini ni bilo interakcij med sortama in dolžinama, pri elagni kislini pa je bila nakazana ob potiku in štirinajsti dan po potiku pri miricetinu pa 1., 3., 4., 5., 6., 14. in 21. dan po potiku (preglednice 8, 9, 10).

Pri vsebnosti elagne kisline je bila interakcija statistično značilna ob potiku in 14. dnevu po potiku. Ob potiku je bila vsebnost elagne kisline statistično značilna najmanjša pri kratkih potaknjencih 'Maraval', nekoliko večja pri 'Marsol' dolgih, vmesna vrednost med kratkimi 'Maraval' in dolgimi 'Marsol' je bila statistično značilna za 'Marsol' kratke. Statistično značilno največja vsebnost elagne kisline pa je bila pri dolgih potaknjencih sorte 'Maraval'. 14. dan po potiku je bila vsebnost elagne kisline v primerjavi z dolgimi in kratkimi potaknjenci sorte 'Maraval' in dolgimi potaknjenci sorte 'Marsol' statistično značilno največja pri kratkih potaknjencih sorte 'Marsol' (preglednica 8). Statistično značilne razlike v vsebnosti elagne kisline med dolžinama so bile ob potiku. Kratki potaknjenci so vsebovali statistično značilno manj elagne kisline kot dolgi potaknjenci. Med sortama so bile statistično značilne razlike v vsebnosti elagne kisline 4. dan in 14. dan po potiku. V prvem terminu so vsebovali potaknjenci sorte 'Marsol' statistično značilno manj elagne kisline. V drugem omenjenem terminu pa so potaknjenci sorte 'Marsol' vsebovali statistično značilno več elagne kisline.

Preglednica 8: Vsebnost ostalih fenolnih spojin (elagna kislina) v listih dveh različnih tipov (dolgi, kratki) kostanjevih potaknjencev sort 'Marsol' in 'Maraval' v različnih časovnih terminih meritev. Prikazana so povprečja \pm standardna napaka (BF, Oddelek za agronomijo 2004).

Elagna kislina (mg/g SS)							
Dnevi po potiku	'Marsol'		'Maraval'		ANOVA		
	Dolgi	Kratki	Dolgi	Kratki	Tip	Sorta	Inter.
0	0,161 \pm 0,041 b	0,121 \pm 0,018 ab	0,275 \pm 0,021 c	0,065 \pm 0,007 a	—	—	*
1	0,143 \pm 0,024	0,097 \pm 0,014	0,140 \pm 0,022	0,106 \pm 0,030	NS	NS	NS
2	0,081 \pm 0,012	0,084 \pm 0,015	0,065 \pm 0,012	0,061 \pm 0,008	NS	NS	NS
3	0,096 \pm 0,030	0,066 \pm 0,014	0,113 \pm 0,019	0,090 \pm 0,016	NS	NS	NS
4	0,090 \pm 0,013	0,051 \pm 0,007	0,132 \pm 0,020	0,109 \pm 0,010	NS	*	NS
5	0,128 \pm 0,023	0,120 \pm 0,016	0,165 \pm 0,017	0,140 \pm 0,031	NS	NS	NS
6	0,077 \pm 0,015	0,064 \pm 0,011	0,079 \pm 0,009	0,077 \pm 0,008	NS	NS	NS
14	0,071 \pm 0,010 a	0,124 \pm 0,012 b	0,048 \pm 0,006 a	0,050 \pm 0,006 a	—	—	*
21	0,043 \pm 0,003	0,046 \pm 0,003	0,046 \pm 0,005	0,047 \pm 0,002	NS	NS	NS

* označuje, da so statistične razlike, NS pomeni, da statističnih razlik ni. Različne črke prikazujejo statistično razliko med tipom oz. sorto potaknjencev pri $p < 0,05$.

Pri vsebnosti miricetina so bila interakcije med dolžinama in sortama potaknjencev statistično značilne v vseh terminih, razen ob potiku in drugi dan po potiku. V prvem dnevu po potiku je bila vsebnost miricetina statistično značilno največja pri kratkih potaknjencih sorte 'Marsol', najmanjša pri kratkih potaknjencih sorte 'Maraval', vmesna statistično značilna vrednost vsebnosti pa je bila pri dolgih potaknjencih obeh sort. Tretji dan po potiku so kratki potaknjenci sorte 'Maraval' vsebovali statistično značilno največ miricetina, nekoliko manjša vsebnost je bila statistično značilna za dolge potaknjence sorte 'Maraval', še manjša vsebnost miricetina, pa je bila statistično značilna za kratke potaknjence sorte 'Marsol'. Statistično značilna najmanjša vsebnost miricetina je bila pri dolgih potaknjencih sorte 'Marsol'. Četrty dan po potiku je bila vsebnost miricetina statistično značilno večja pri dolgih potaknjencih sorte 'Marsol' v primerjavi z dolgimi in kratkimi potaknjenci sorte 'Maraval' ter kratkimi potaknjenci sorte 'Marsol'. Peti dan po potiku je bila vsebnost miricetina statistično značilno največja pri 'Maraval' kratkih, nekoliko značilno manjša pri dolgih in kratkih potaknjencih sorte 'Marsol' in statistično značilno najmanjša pri kratkih potaknjencih sorte 'Maraval'. Šesti dan je bila vsebnost miricetina statistično značilno najmanjša pri dolgih in kratkih potaknjencih sorte 'Maraval', nekoliko statistično značilno večja pri 'Marsol' kratkih in statistično značilno največja pri dolgih potaknjencih sorte 'Marsol'. Dva tedna po potiku je bila vsebnost miricetina statistično značilna pri kratkih potaknjencih sorte 'Maraval' v primerjavi z dolgimi in kratkimi potaknjenci sorte 'Marsol' ter dolgimi potaknjenci sorte 'Maraval'. 21. dan po potiku je bila vsebnost miricetina pri kratkih potaknjencih sorte 'Marsol' statistično značilno večja kot pri dolgih in kratkih potaknjencih sorte 'Maraval' ter dolgih potaknjencih sorte 'Marsol' (preglednica 9). Statistično značilne razlike v vsebnosti

miricetina so bile v tretjem dnevu po potiku. Dolgi potaknjenci so vsebovali statistično značilno manj miricetina kot kratki. Med sortama so bile statistično značilne razlike v vsebnosti miricetina 3., 4., 6., 14. in 21. dnevu po potiku. V 3. in 14. dnevu po potiku so potaknjenci sorte 'Marsol' vsebovali statistično značilno manj miricetina. Ravno obratno pa je bilo v 4., 6. in 21. dnevu po potiku. Potaknjenci sorte 'Marsol' so vsebovali statistično značilno več miricetina kot potaknjenci sorte 'Maraval'.

Preglednica 9: Vsebnost ostalih fenolnih spojin (miricetin) v listih dveh različnih tipov (dolgi, kratki) kostanjevih potaknjencev sort 'Marsol' in 'Maraval' v različnih časovnih terminih meritev. Prikazana so povprečja ± standardna napaka (BF, Oddelek za agronomijo 2004).

Miricetin (mg/g SS)							
Dnevi po potiku	'Marsol'		'Maraval'		ANOVA		
	Dolgi	Kratki	Dolgi	Kratki	Tip	Sorta	Inter.
0	0,683± 0,093	0,487± 0,125	0,445± 0,023	0,406± 0,059	NS	NS	NS
1	0,470± 0,052 ab	0,544± 0,023 b	0,516± 0,037 ab	0,417± 0,025 a	—	—	*
2	0,376± 0,045	0,446± 0,018	0,363± 0,044	0,448± 0,026	*	NS	NS
3	0,317± 0,023 a	0,770± 0,052 b	0,948± 0,050 c	1,180± 0,050 d	—	—	*
4	0,693± 0,100 b	0,430± 0,022 a	0,341± 0,019 a	0,420± 0,042 a	—	—	*
5	0,442± 0,037 b	0,488± 0,027 b	0,348± 0,015 a	0,782± 0,019 c	—	—	*
6	0,645± 0,031 c	0,492± 0,086 b	0,247± 0,018 a	0,307± 0,020 a	—	—	*
14	0,304± 0,015 a	0,293± 0,030 a	0,378± 0,018 a	0,662± 0,039 b	—	—	*
21	0,394± 0,020 a	0,494± 0,028 b	0,383± 0,006 a	0,341± 0,014 a	—	—	*

* pomeni, da so statistične razlike, NS pomeni, da statističnih razlik ni. Različne črke prikazujejo statistično razliko med tipom oz. sorto potaknjencev pri $p < 0,05$.

Pri vsebnosti klorogenske kisline v listih potaknjencev ni bilo statistično značilnih interakcij (preglednica 10). Med dolžinama so bile statistično značilne razlike v vsebnosti klorogenske kisline le prvi dan po potiku. Dolgi potaknjenci so vsebovali statistično značilno več miricetina kot kratki. Statistično značilne razlike v vsebnosti klorogenske kisline med sortama so bile v vseh terminih, razen v 6. dnevu po potiku. V 14. dnevu po potiku je 'Maraval' vseboval statistično značilno manj klorogenske kisline. V ostalih terminih pa je bila vsebnost klorogenske kisline statistično značilno manjša pri sorti 'Marsol'.

Preglednica 10: Vsebnost ostalih fenolnih spojin (klorogenska kislina) v listih dveh različnih tipov (dolgi, kratki) kostanjevih potaknjencev sort 'Marsol' in 'Maraval' v različnih časovnih terminih meritev. Prikazana so povprečja \pm standardna napaka (BF, Oddelek za agronomijo 2004).

Klorogenska kislina (mg/g SS)							
Dnevi po potiku	'Marsol'		'Maraval'		ANOVA		
	Dolgi	Kratki	Dolgi	Kratki	Tip	Sorta	Inter.
0	0,176 \pm 0,036	0,185 \pm 0,030	0,330 \pm 0,027	0,441 \pm 0,093	NS	*	NS
1	0,262 \pm 0,057	0,184 \pm 0,033	0,471 \pm 0,079	0,220 \pm 0,024	*	*	NS
2	0,133 \pm 0,013	0,135 \pm 0,026	0,260 \pm 0,026	0,212 \pm 0,027	NS	*	NS
3	0,158 \pm 0,031	0,168 \pm 0,032	0,347 \pm 0,059	0,310 \pm 0,069	NS	*	NS
4	0,155 \pm 0,034	0,130 \pm 0,019	0,202 \pm 0,036	0,247 \pm 0,029	NS	*	NS
5	0,147 \pm 0,013	0,126 \pm 0,017	0,363 \pm 0,047	0,238 \pm 0,020	*	*	NS
6	0,200 \pm 0,039	0,178 \pm 0,044	0,270 \pm 0,044	0,235 \pm 0,019	NS	NS	NS
14	0,256 \pm 0,018	0,286 \pm 0,037	0,176 \pm 0,019	0,193 \pm 0,035	NS	*	NS
21	0,139 \pm 0,026	0,124 \pm 0,016	0,189 \pm 0,015	0,193 \pm 0,024	NS	*	NS

*označuje statistične razlike, NS pomeni, da statističnih razlik ni. Različne črke prikazujejo statistično razliko med tipom oz. sorto potaknjencev pri $p < 0,05$.

4.3 SPREMLJANJE FOTOKEMIČNE UČINKOVITOSTI

Spremljali smo tako potencialno kot dejansko fotokemično aktivnost. Statistično smo obdelali le podatke za potencialno fotokemično aktivnost. Pri potencialni fotokemični aktivnosti ni bilo interakcij med sorto in dolžino. Statistično značilne razlike so se pojavile med dolžinama ob potiku, med sortama ob potiku, prvi dan po potiku, četrti dan po potiku in štirinajsti dan po potiku. Pri dolgih potaknjencih je bil potencialni fotokemični izkoristek statistično značilno večji kot pri kratkih. Statistično značilno večji potencialni fotokemični izkoristek je bil v vseh omenjenih terminih pri sorti 'Marsol', ki se je tudi boljše koreninila. Iz preglednice 11 so razvidne izmerjene potencialne fotokemične učinkovitosti v različnih terminih v listih zelenih kostanjevih potaknjencev. Vrednosti so večje pri sorti 'Maraval', tako pri dolgih kot tudi pri kratkih potaknjencih.

Preglednica 11: Potencialna fotokemična učinkovitost (F_v/F_m) v listih dveh različnih tipov (dolgi, kratki) kostanjevih potaknjencev sort 'Marsol' in 'Maraval' v različnih časovnih terminih meritev. Prikazana so povprečja \pm standardna napaka (BF, Oddelek za agronomijo 2004).

Dnevi po potiku	'Marsol'		'Maraval'		ANOVA		
	Dolgi	Kratki	Dolgi	Kratki	Tip	Sorta	Inter.
0	0,823 \pm 0,004	0,799 \pm 0,002	0,795 \pm 0,005	0,782 \pm 0,004	*	*	NS
1	0,813 \pm 0,005	0,817 \pm 0,004	0,808 \pm 0,006	0,801 \pm 0,004	NS	*	NS
2	0,824 \pm 0,004	0,810 \pm 0,006	0,814 \pm 0,004	0,813 \pm 0,007	NS	NS	NS
3	0,823 \pm 0,006	0,824 \pm 0,003	0,810 \pm 0,005	0,821 \pm 0,004	NS	NS	NS
4	0,817 \pm 0,005	0,816 \pm 0,004	0,804 \pm 0,002	0,808 \pm 0,004	NS	*	NS
5	0,810 \pm 0,007	0,812 \pm 0,004	0,804 \pm 0,006	0,806 \pm 0,004	NS	NS	NS
6	0,804 \pm 0,006	0,812 \pm 0,007	0,816 \pm 0,009	0,815 \pm 0,004	NS	NS	NS
14	0,837 \pm 0,003	0,835 \pm 0,004	0,830 \pm 0,005	0,807 \pm 0,007	*	*	NS
21	0,811 \pm 0,009	0,805 \pm 0,010	0,790 \pm 0,005	0,797 \pm 0,007	NS	*	NS

* označuje statistične razlike, NS pomeni, da statističnih razlik ni.

5 RAZPRAVA IN SKLEPI

5.1 RAZPRAVA

5.1.1 Razmnoževanje

Delež ukoreninjenih potaknjencev je bil pri obeh sortah ('Marsol' in 'Maraval') največji pri dolgih potaknjencih. Pri dolgih potaknjencih sorte 'Marsol' je bilo koreninjenje 25,8 %, pri sorti 'Maraval' pa 21,8 %. Pri kratkih potaknjencih obeh sort smo dosegli manj kot 5 odstotno koreninjenje. Potaknjenci obeh sort so se koreninili enako uspešno, kar pomeni da so se predvsem potaknjenci sorte 'Marsol' koreninili uspešnejše, kot navajajo Osterc in sod. (2004a) ('Marsol' 1 % koreninjenje, 'Maraval' 12 % koreninjenje). Razliko je morda primerno iskati v optimalnejšem režimu meglenja. Kalus se je razvil le pri dolgih 'Marsol' potaknjencih. 'Marsol' potaknjenci so večinoma razvili korenine bazalno, medtem ko je bil pri 'Maraval' potaknjencih značilen akrobazalni razvoj korenin. V povprečju so potaknjenci sorte 'Marsol' v primerjavi s sorto 'Maraval' večkrat poleg korenin razvili tudi kalus. V našem poskusu so se torej 'Marsol' potaknjenci nagibali k močnejši tvorbi kalusa ter so se ob tem enako uspešno koreninili kot 'Maraval' potaknjenci; čeprav je v literaturi tvorba kalusa z vidika razvoja korenin opredeljena negativno (Osterc, 2002). Obenem pa močnejša tvorba kalusa nakazuje na težavnejše koreninjenje sorte 'Marsol', kar kažejo tudi predhodni rezultati (Osterc in sod., 2004b). Med dolžinama potaknjencev so statistično značilne razlike pri deležu bazalne tvorbe korenin. Dolgi potaknjenci so v primerjavi s kratkimi močnejše tvorili korenine bazalno. Delež razvitega kalusa, delež potaknjencev z akrobazalnim razvojem korenin ter delež potaknjencev s kalusom in koreninami je bil prav tako večji pri dolgih potaknjencih. Osterc in sod. (2004a) so v dvoletnem poskusu ugotovili, da je razvoj kalusa močno povezan s tipom potaknjenca, saj so bazalni potaknjenci pri obeh sortah tvorili kalus močnejše kot vršni. To smo delno potrdili tudi v našem poskusu, kjer se je sicer kalus razvil le pri dolgih potaknjencih sorte 'Marsol'. Število glavnih korenin in dolžina glavnih korenin sta bili statistično značilno večji pri dolgih potaknjencih. 'Maraval' potaknjenci so v povprečju razvili večje število glavnih korenin kot 'Marsol' potaknjenci. Rezultati povprečne dolžine glavnih korenin pa kažejo tako na razlike med sorto kot tudi med tipom potaknjenca. Domneva o slabši kakovosti koreninskega sistema pri 'Marsol' potaknjencih (močnejša tvorba kalusa) se s tem potrjuje, saj je ravno število glavnih korenin najboljši pokazatelj kakovosti korenin (Mac Carthaigh in Spethmann, 2000). Večje število glavnih korenin pri dolgih potaknjencih kaže na kakovosten razvoj pri teh potaknjencih, ki pa so se obenem tudi najboljše koreninili. V našem poskusu je bil prirast največji pri dolgih potaknjencih sorte 'Marsol'. To je razumljivo, saj so se le-ti tudi najuspešnejše koreninili. Z razvojem korenin lahko začne potaknjenelec sam črpati hranilne snovi. Rastlina posledično prične z rastjo, ki pa je zelo pomembna, saj si tako potaknjenci obnovijo zaloge hranil in izboljšajo kondicijo rastline ter s tem boljše in lažje prezimijo prvo zimo (Mac Carthaigh in Spethmann, 2000).

5.1.2 Vsebnost fenolov

V naš poskus smo vključili sedem različnih polifenolnih spojin, za katere je bilo predhodno dokazano, da se nahajajo v listih kostanjevih sort 'Marsol' in 'Maraval' (Osterc in sod., 2004b). To so bili štiri kvercetini Q3DG, Qglu, Q3R in rutin ter še elagna kislina, miricetin in klorogenska kislina. Vsebnost kvercetinov v listih potaknjencev je bila (mg/g SS) tako pri dolgih kot tudi pri kratkih poganjkih največja ob potiku. Ponekod smo ugotovili tudi interakcije med sortama in dolžinama.

Vsebnost rutina v listih potaknjencev je bila ob potiku in četrty dan po potiku statistično značilno večja pri daljših potaknjencih. Koncentracija rutina je ostala, če izvzamemo vsebnost ob potiku, skoraj nespremenjena do petega dneva po potiku. Podobne rezultate so v njihovem poskusu dobili Trobec in sod. (2005), ki so ugotovili, da koncentracija rutina ostane nespremenjena do šestega dne. Med sortama se je vsebnost rutina statistično razlikovala ob potiku, 1., 2., 3., 5., 6. in 21. dan po potiku. 1., 3., 4., 5., 6., 14. in 21. dan je bila statistično značilno večja vsebnost rutina v listih potaknjencev sorte 'Maraval'. Med dolžinama je bila statistično značilna razlika v vsebnosti rutina ob potiku in četrty dan po potiku.

Pri kvercetinih je bila interakcija med dolžino in sorto ugotovljena predvsem ob potiku z izjemo Q3R, kjer je bila interakcija ugotovljena četrty dan po potiku. Statistično značilne razlike v vsebnosti Q3R med dolžinama so se kazale ob potiku in 21. dan po potiku. Torej dolgi potaknjenci so, v primerjavi s kratkimi, v teh dveh terminih vsebovali statistično značilno več Q3R v listih. Med sortama so bile statistično značilne razlike v vseh terminih meritev, razen 4. dan po potiku. V vseh terminih je sorta 'Maraval' v primerjavi s sorto 'Marsol' vsebovala statistično značilno manj Q3R v listih potaknjencev. Zvečanje vrednosti Q3R je bilo okoli petega dne po potiku, največja koncentracija pa je bila dosežena ob potiku. Podobno ugotavljajo Osterc in sod. (2004b), ki so s poskusom dokazali, da je zvečanje Q3R značilno v obdobju po petih dneh po potiku in da je bila največja koncentracija tega fenola peti dan po potiku. Q3R pozitivno vpliva na proces koreninjenja (Pacheco in sod., 2002), kar je pomembno, saj se povečanje vsebnosti kaže ravno v petem dnevu po potiku, ko preneha delovanje avksina in je zaključena aktivna faza avksina (Hartmann in sod., 1997).

V listih kostanjevih potaknjencev je največ Q3DG. Kratki potaknjenci so glede na dolge potaknjence vsebovali statistično značilno manj Q3DG. Statistične razlike med sortama so bile v vseh terminih, razen ob potiku in 14. dan po potiku. V vseh terminih so potaknjenci sorte 'Marsol' vsebovali statistično značilno manj Q3DG v listih potaknjencev. Najmanjša koncentracija Q3DG v listih potaknjencev pravega kostanja je bila tretji teden po potiku. Podobno navajajo Osterc in sod. (2004b), ki so ugotovili, da je najmanjša koncentracija

Q3DG v listih vršnih potaknjencev pravega kostanja po enem mesecu po potiku. Kvercetin Q3DG ovira proces koreninjenja oz. deluje antagonistično na proces koreninjenja (Haffner in sod., 1991). To se nakazuje tudi v našem poskusu, saj je po 21. dnevu, ko so bile že razvite korenine vsebnost Q3DG najmanjša.

Vsebnost ostalih fenolov v listih potaknjencev (elagna kislina, miricetin in klorogenska kislina) je v primerjavi z vsebnostjo kvercetinov manjša. V večini dosega največje koncentracije ob potiku. Vsebnost se še poveča okoli tretjega, četrtega in petega dneva po potiku.

V našem poskusu je najmanjša koncentracija elagne kisline v prvih treh dneh po potiku ter po treh tednih po potiku. Podobno ugotavljajo Osterc in sod. (2004b), da je najmanjša koncentracija elagne kisline prvi dan po rezi potaknjencev. Pri elagni je bila prisotna interakcija ob potiku in štirinajsti dan po potiku. Elagna kislina je znana kot inhibitor procesa koreninjenja in deluje antagonistično z avksinom po potiku potaknjencev v substrat (Osterc in sod., 2004b). Včasih lahko zaradi tega nivo vsebnosti elagne kisline tako naraste, da je posledično zaradi tega inhibiran proces koreninjenja (Davies, 1999), kar je še posebej značilno za zelene potaknjence (Faivre-Rampant in sod., 2002). To se je pokazalo tudi v našem poskusu, ko je bila vsebnost elagne kisline najmanjša v prvih treh dneh po potiku ter po treh tednih po potiku.

Tudi koncentracija mirecetina je skozi poskus ostajala skoraj nespremenjena in se je nekoliko povečala štirinajsti dan po potiku. Pri miricetinu so se kazale statistično značilne interakcije 1., 3., 4., 5., 6., 14. in 21. dan po potiku.

Pri klorogenski kislini ni bilo interakcij med sorto in dolžinama. Koncentracija klorogenske kisline se je med termini le malo spreminjala. Nekoliko se je povečala le četrtri in štirinajsti dan po potiku. Tudi Trobec in sod. (2005) navajajo, da koncentracija klorogenske kisline ostaja skoraj nespremenjena in se nekoliko poveča le petnajsti dan po potiku. Klorogenska kislina razgrajuje encim IAA oksidazo in zato lahko povzroči akumulacijo avksina, kar ima inhibitorni učinek na razvoj korenin (Faivre-Rampant in sod., 2002; citirano po Trobec in sod., 2005). Ta učinek v našem poskusu ni bil posebej očiten, saj je bila vsebnost klorogenske kisline večja v vseh terminih pri potaknjencih sorte 'Maraval', ki so se koreninili enako uspešno kot 'Marsol' potaknjenci.

Iz vidika koreninjenja je v prvih dneh po potiku nezaželena prisotnost fenolnih spojin, ki inhibirajo razvoj korenin (Osterc, 2004). V večini so se koncentracije fenolnih spojin v listih nekoliko povečale po četrtem dnevu po potiku, ko se je učinkovanje avksina

zmanjšalo (aktivna faza avksina). Prav tako pa so se koncentracije začele zmanjševati po enaindvajsetem dnevu po potiku (Osterc in sod., 2004b).

5.1.3 Fotokemična učinkovitost

Spremljali smo tako potencialno kot dejansko fotokemično učinkovitost. Statistično smo obdelali le podatke za potencialno fotokemično aktivnost. V splošnem smo opazili, da se je vrednost potencialne fotokemične učinkovitosti v vseh opazovanih variantah zelo hitro po potiku povečale. To kaže na dejstvo, da so bile razmere v sistemu meglenja za potaknjence zelo ugodne, saj so se vrednosti dejanske fotokemične učinkovitosti tudi ob odstranitvi poganjka od matične podlage le neznatno zmanjšale in tako ni moč govoriti o stresu. Lichtenthaler (1988) navaja, da se okoljski vpliv pogosto kaže z zmanjšanjem razmerja F_v/F_m , ki je razmerje med variabilno in maksimalno fluorescenco in kaže maksimalni oz. potencialni fotokemični izkoristek centrov PS II ter je v korelaciji s številom funkcionalnih centrov v PS II. Je tudi indikator fotokemijske pretvorbe energije v PS II. Vrednost parametra se navadno pri večini rastlin, če so le-te vitalne, giblje navadno od 0,800 do 0,833 (Björkman in Demming, 1987), kar se kaže tudi pri rezultatih dobljenih v našem poskusu. Manjše vrednosti navadno kažejo na poškodbe, stres ali neaktivno stanje sistemov. V našem primeru ni bilo statističnih značilnih interakcij med obravnavanji, statistično značilne razlike so bile ob potiku med tipom ter med sortama potaknjencev ob potiku, 1., 4. in 14. dan po potiku. Statistične razlike, do katerih je prišlo v tretjem in četrtem dnevu po potiku, morda lahko delno razložimo z omejenim delovanjem hormona avksina, saj le-ta navadno deluje le prve štiri dni (Hartmann in sod., 1997). Statistično značilne razlike so se pojavile med dolžinama ob potiku, med sortama ob potiku, prvi dan po potiku, četrti dan po potiku in štirinajsti dan po potiku. Pri dolgih potaknjencih je bil potencialni fotokemični izkoristek statistično značilno večji kot pri kratkih in ti potaknjenci so se bolje koreninili. Vrednosti potencialne fotokemične učinkovitosti so večje pri sorti 'Maraval', tako pri dolgih kot tudi pri kratkih potaknjencih.

5.2 SKLEPI IN PRIPOROČILA

Za razmnoževanje pravega kostanja je najbolj primeren sistem meglenja, saj je z vidika razmnoževanja pravi kostanj zelo zahtevna rastlinska vrsta, ki se težko ukorenini. Metoda meglenja se je pri razmnoževanju zelenih potaknjencev pravega kostanja izkazala kot uspešna, saj so povprečne vrednosti koreninjenja tudi nad 25 % za pravi kostanj dobre. Zelo uspešno smo razmnožili dolge potaknjence pri obeh sortah, kar je z vidika skrajševanja proizvodnega časa v drevesnicah nadvse pomemben rezultat.

Meritve fluorescence so dokazale, da je sistem meglenja za potrebe razmnoževanja izredno učinkovit, saj lahko potaknjenci v tem sistemu zelo hitro zmanjšajo stres ob ločitvi od matične rastline oz. tega ob optimalni pripravi materiala za potikanje in hitri izvedbi potikanja potaknjenci sploh ne doživijo. Zaradi učinkovitega zmanjšanja stresa lahko potaknjenci uspešno razvijajo korenine. Ta lastnost sistema meglenja je tudi ključna za uspešno razmnoževanje tudi tistih vrst, ki se težko razmnožujejo. Poudariti je potrebno, da je razmnoževanje uspešno, če potaknjenc, poleg razvoja kvalitetnega koreninskega sistema, preživi tudi utrjevanje in uspešno nadaljuje z rastjo. Zato bi bilo potrebno spremljanje stanja potaknjencev tudi v fazi nadaljnje rasti. Za izboljšanje sistema koreninjenja zelenih potaknjencev pravega kostanja, bi bilo v prihodnje boljše resno proučevati dolge potaknjence, ker so se le-ti pokazali kot boljši. Potrebno bi bilo tudi ugotoviti kakšna je optimalna dolžina potaknjencev (da niso le-ti prekratki in seveda predolgi), saj ponavadi želimo iz ekonomskega vidika, potakniti čimveč potaknjencev iz nabranega rastlinskega materiala. Za uspešnejše koreninjenje zelenih potaknjencev pravega kostanja predlagamo nadaljno optimizacijo obstoječe metode razmnoževanja. V raziskave velja vključiti natančnejše analize fiziološkega stanja potaknjencev po potiku. Na ta način bi morda učinkoviteje pojasnili zakaj je kostanj tako problematična rastlinska vrsta za koreninjenje.

6 POVZETEK

Pravi kostanj (*Castanea sp.*) je z vidika razmnoževanja eden najproblematičnejših rastlinskih rodov. V praksi pravi kostanj razmnožujemo večinoma s semenom in s cepljenjem. Cepilna rana, povzročena pri cepljenju, je odlično mesto za okužbo s kostanjevim rakom (*Cryphonectria parasitica* (Murrill) Barr)), poleg tega pa se lahko pojavljajo težave z neskladjem (inkompatibilnostjo) med cepičem in podlago. Da bi se izognili omenjenim težavam, se v zadnjih letih pojavljajo poskusi razmnoževanja pravega kostanja s potaknjenci. Uvaja pa se razmnoževanje z zelenimi potaknjenci v rastlinjakih z meglenjem (fog-system). Cena sadik, pridobljenih na ta način, se zaradi krajšega časa pridelave zmanjša. Ta postopek je primernejši tudi zaradi večje izenačenosti sadilnega materiala, hitrejše rasti in kasneje domnevno zgodnejšega prehoda v rodnost. Eden ključnih parametrov, ki določajo uspešnost takšnega razmnoževanja je obvladovanje stresa, ki ga potaknjenelec doživi ob ločitvi od matične rastline. Namen pričujoče raziskave je bilo spremljati fiziološko stanje potaknjencev ob in po potiku, pri tem primerjati dve kostanjevi sorti ter različno dolžino potaknjencev.

Praktični del diplomske je potekal od 10.06.2004 do 15.10.2004 v plastenjaku Biotehniške fakultete v Ljubljani. Zasnovali smo dvofaktorski poskus. Poskusna faktorja sta bila sorta (hibrida *Castanea crenata* x *Castanea sativa*, 'Marsol' in 'Maraval') in dolžina potaknjencev ob potiku (15 cm, 30 cm). Poskus je bil zastavljen s štirimi ponovitvami, šestnajstimi parcelami (2 x 2 x 4) in dvaintridesetimi potaknjenci v vsaki ponovitvi. Potikali smo samo vršne potaknjence. V prvih dneh po potiku smo spremljali fluorescenco, t.j. fotokemično učinkovitost listov potaknjencev (fluorometer PAM 2100, Walz). V listih potaknjencev smo hkrati analizirali vsebnost fenolnih snovi (HPLC). Meritve fluorescence in analize fenolnih snovi smo izvajali v devetih terminih in sicer ob potiku, nato prvih šest dni, potem štirinajsti dan in enaindvajseti dan po potiku. Uspešnost razmnoževanja smo ocenjevali na koncu rastle sezone z ocenjevanjem rastlin.

Pri dolgih potaknjencih sorte 'Marsol' je bilo 25,7 odstotno ukoreninjenje, razvili pa so v povprečju štiri glavne korenine. Pri dolgih potaknjencih sorte 'Maraval' pa smo dosegli 21,8 odstotno ukoreninjenje in so v povprečju razvili šest glavnih korenin. Pri obeh sortah, pri kratkih potaknjencev smo dobili veliko manjši odstotek koreninjenja in tudi število glavnih korenin je bilo manjše. Povečanje vsebnosti različnih fenolnih spojin v listih se je kazalo po četrtem dnevu po potiku, ko se je delovanje avksina zmanjšalo (aktivna faza avksina) ter po enaindvajsetem dnevu po potiku. Stresa ni bilo mogoče dokazati v nobenem terminu meritev, saj je bil padeč vrednosti potencialne fotokemične učinkovitosti premajhen. Nekolikšno zmanjšanje potencialne fotokemične učinkovitosti se je pojavilo ob potiku, drugi, četrti in enaindvajseti dan po potiku. V teh primerih smo manjše vrednosti zasledili pri kratkih potaknjencih. Največja potencialna fotokemična učinkovitost se je kazala v prvem in štirinajstem dnevu po potiku.

7 VIRI

- Arteca R. N. 1996. Plant growth substances: principles and applications. New York, Chapman & Hall: 332 str.
- Bennet R. C., Wallsgrove R. M. 1994. Secondary metabolites in plant defence mechanisms. Tansley Review No.72. New Phytologist, 127: 617-633.
- Björkmann O., Demming B. 1987. Photon yield of O₂ evolution and chlorophyll fluorescence characteristics at 77-K among vascular plants of diverse origins. Planta, 170,4: 489-504.
- Cowan M. M. 1999. Plant Products as Antimicrobial Agents. Clinical Microbiology Reviews, 12, 4: 564-582.
- Davies P. J. 1995. Plant Hormones. Physiology, biochemistry and molecular biology. Dordrecht, Kluwer Publishers.
- Davis T. D., Haissig B. E., Sankhla N. 1988. Adventitious root forming in cutting. Vol.2. Portland, Oregon, Discorides press: 315 str.
- Dixon R.A., Paiva N. L. 1995. Stress induced phenylpropanoid metabolism. Plant Cell, 7: 1085-1097.
- Faivre-Rampant O., Charpentier J.-P., Kevers C., Dommes J., Van Onckelen H., Jav-Allemand C., Gaspar T. 2002. Cuttings of the non-rooting *rac* tobacco mutant overaccumulate phenolic compounds. Functional Plant Biology, 29: 63-71.
- Frank M. 2005. Pomen različnih sredstev za ukoreninjenje na rast in razvoj zelenih potaknjencev pri rodovih *Prunus* in *Acer*. Diplomsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta Univerze v Ljubljani: 57. str.
- Godec B., Jankovič I., 2003. Sadni izbor za Slovenijo 2002. Krško, Revija SAD: 126 str.
- Golob I. 1989. Razmnožujmo okrasne rastline. Ljubljana, Kmečki glas: 197 str.
- Haffner V., Enjalric F., Lardet L., Carron M. P., 1991. Maturation of woody plants: a review of metabolic and genomic aspects. Annual Scientia Forestry, 48: 615-630.
- Hartmann H. T., Kester D. E., Davies F. T., Geneve L. R., 1997. Plant propagation. Principles and Practices. New Jersey, Prentice Hall: 770 str.
- Larcher W. 2003. Physiological plant ecology. Ecophysiology and stress physiology of functional groups. 4.izdaja. Berlin, Springer Verlag: 513 str.

- Lichtenthaler H. K. 1988. In vivo Chlorophyll fluorescence as a tool for stress detection in plants. V: Applications of chlorophyll fluorescence. Lichtenthaler H. K. (ur). Dodrecht, Kluwer Academic Publishers: 129-142.
- Mac Carthaigh D., Spethmann W. 2000. Krüssmanns Gehölzvermehrung. Berlin, Parey: 435 str.
- Maynard B. K., Bassuk N. L. 1990. Rooting softwood cuttings of *Acer griseum*: promotion by stockplant etiolation, inhibition by catechol. HortScience, 25: 200-202.
- Osterc G. 1998. Lastna pridelava češnjevih podlag. Sad, 9, 11: 2-4.
- Osterc G. 2000. Untersuchungen zur Stecklingsvermehrung von Prunus- und Malus-Unterlagen und Vergleich mit konventionell Vermehrten- und in-vitro-Unterlagen. Doktorska disertacija. Hannover, Fachbereich Gartenbau: 234 str.
- Osterc G. 2001. Fenomen fiziološkega staranja lesnatih rastlin kot dejavnik razmnoževanja s potaknjenci. Sodobno kmetijstvo, 34, 10: 430-434.
- Osterc G. 2002. Drevesničarstvo: zapiski s predavanj 2001/2002. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo (neobjavljeno, osebni vir).
- Osterc G. 2003. Drevesničarstvo: zapiski s predavanj 2002/2003. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo (neobjavljeno, osebni vir).
- Osterc G. 2004. Pomen mikrorazmnoževanja pri masovnem razmnoževanju lesnatih (sadnih) rastlin: Vodilna metoda drevesničarske proizvodnje v prihodnje? V: Zbornik referatov 1. slovenskega sadjarskega kongresa z mednarodno udeležbo, Krško 24-26. mar. 2004. Ljubljana, Biotehniška fakulteta Univerze v Ljubljani: 593-599.
- Osterc G., Trobec M., Solar A., Štampar F. 2004a. Možnost razmnoževanja pravega kostanja s potaknjenci. V: Zbornik referatov 1. slovenskega sadjarskega kongresa z mednarodno udeležbo, Krško 24-26. mar. 2004. Ljubljana, Biotehniška fakulteta Univerze v Ljubljani: 331-336.
- Osterc G., Trobec M., Usenik V., Solar A., Štampar F. 2004b. Changes in polyphenols in leafy cuttings during the root initiation phase regarding various cutting types at *Castanea*. Phytion, 44, 1: 109-119.
- Osvald J. 2000. Osnove hortikulture: splošno vrtnarstvo in zelenjadarstvo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo: 172 str.
- Pacheco P., Calderon- Baltierra X., Vega A. 2002. Flavonoids as regulators and markers of root formation by shoots of *Eucalyptus globulus* raised *in vitro*.- <http://www.unige.ch/LABPV/newsletters> (februar 2005).

- Sancin V. 1990. Velika knjiga o oljki. Trst, Založništvo tržaškega tiska: 319 str.
- Schreiber U., Bilger W., Neubauer C. 1994. Chlorophyll fluorescence as a noninvasive indicator for rapid assessment of in vivo photosynthesis. V: Ecophysiology of photosynthesis. Schulze E. D., Caldwell M. M. (ur). Berlin, Springer: 49-70.
- Sinkovič T. 2000. Uvod v botaniko. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo: 176 str.
- Smole J., Črnko J. 2000. Razmnoževanje sadnih rastlin. Ljubljana, Kmečki glas: 141 str.
- Šiftar, A. 1992. In vitro growth rejuvenilized shoots from plants taken with grafting on the germinated seeds of chestnuts. Acta Horticulture, 92, 300: 141-143.
- Štefančič M., Štampar F., Osterc G. 2005, Influence of IAA and IBA on root development and quality of *Prunus* 'Gisela 5' leafy cuttings. HortScience, 7, 40: 2025-2055.
- Trobec M., Osterc G. 2004. Vloga razmnoževanja s potaknjenci pri razmnoževanju sadnih rastlin. V: Zbornik referatov 1.slovenskega sadjarskega kongresa z mednarodno udeležbo, Krško 24-26. mar. 2004. Ljubljana, Biotehniška fakulteta Univerze v Ljubljani: 695-700.
- Trobec M., Štampar F., Veberič R., Osterc G. 2005. Fluctuations of different endogenous phenolic compounds and cinnamic acid in the first days of rooting process of cherry rootstock 'GiSela 5' leafy cuttings. Journal of Plant Physiology, 162, 5: 589-597.
- Usenik V. 1999. Polifenolne snovi kot kazalniki nezdržljivosti različnih podlag (*Prunus sp.L.*) in kultivarjev češenj (*Prunus avium L.*). Doktorska disertacija. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo: 116 str.
- Veberič R., Vodnik D., Štampar F. 2004. Ali foliarna prehrana s fosforjem in kalijem predstavlja stres za jablano V: Zbornik referatov 1. slovenskega sadjarskega kongresa z mednarodno udeležbo, Krško 24-26. mar. 2004. Ljubljana, Biotehniška fakulteta Univerze v Ljubljani: 225-233.
- Vodnik D. 2001. Fiziologija rastlin: praktične vaje: univerziten študij Kmetijstvo-agronomija. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo: 56 str.
- Vodnik D. 2004. Meritve fotosinteze sadnih rastlin. V: Zbornik referatov 1.slovenskega sadjarskega kongresa z mednarodno udeležbo, Krško 24-26. mar. 2004. Ljubljana, Biotehniška fakulteta Univerze v Ljubljani: 119-123.
- Yamada M., Hidaka T., Fukamachi H. 1996. Heat tolerance in leaves of tropical fruit crops as measured by chlorophyll fluorescence. Scientia Horticultural, 67: 39-48.

ZAHVALA

Najprej se iskreno zahvaljujem mentorju doc. dr. Gregorju OSTERCU za mentorstvo in pomoč pri praktičnem in teoretičnem delu diplomske naloge.

Najlepše se zahvaljujem celotni Katedri za Sadjarstvo, posebno pa še Jerneji JAKOPIČ in vsem, ki ste mi na tak ali drugačen način pomagali v času pisanja diplomske in nasploh v času študija.

Zahvaljujem se somentorju prof. dr. Dominiku VODNIKU za pomoč pri izdelavi poskusa in obdelavi podatkov.

Posebej se želim zahvaliti tudi domačim in najbližjim za vsestransko podporo, pomoč in razumevanje.

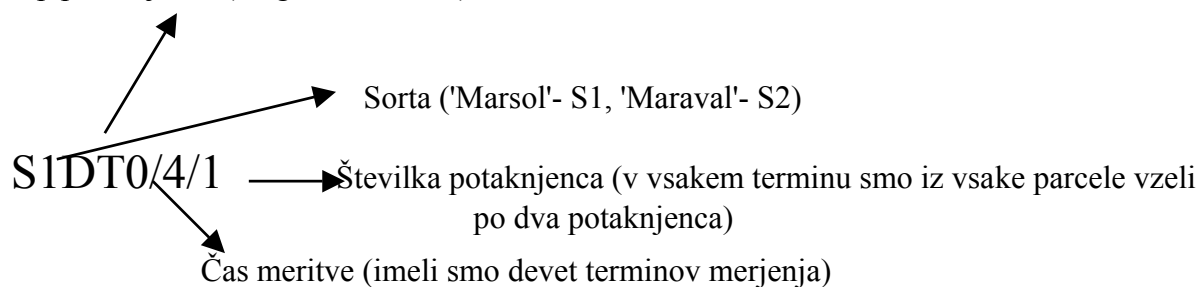
Najlepša hvala tudi prijateljem za kakršnokoli pomoč pri izdelavi diplomske naloge.

Priloga A

Razpored parcel

Parcela	Oznaka
1	S1D/3
2	S1K/2
3	S2D/2
4	S2K/2
5	S2K/1
6	S1K/4
7	S2K/4
8	S1D/1
9	S1K/1
10	S1D/4
11	S2D/4
12	S1D/2
13	S2D/3
14	S1K/3
15	S2K/3
16	S2D/1

Tip potaknjenca (dolgi-D, kratki-K)



Priloga C

Priloga C1: Primer meritve dejanske fluorescence s fluorometrom PAM 21000, Walz., za dan 24.06.2004.

Time	No,	ML	Tmp,	PAR	Ft	ETR	Yield	qP	qN	Fm'	Fo'
6:32:10	1	76	19,6	211	0,36	25,6	0,289	0,289	0,802	0,506	
6:34:05	2	76	19,5	208	0,366	20,4	0,233	0,233	0,813	0,478	
6:36:59	3	75	19,6	209	0,386	17,7	0,202	0,201	0,811	0,484	
6:40:07	4	75	20,1	211	0,463	32,4	0,365	0,365	0,715	0,729	
6:41:54	5	75	19,9	207	0,371	34,7	0,399	0,399	0,759	0,618	
6:42:27	6	75	20,1	219	0,343	23,5	0,255	0,255	0,82	0,46	
6:45:03	7	75	20,1	208	0,471	35,2	0,403	0,402	0,692	0,789	
6:46:10	8	75	20,4	206	0,371	27	0,312	0,313	0,789	0,54	
Time	No,	ML	Tmp,	PAR	Ft	ETR	Yield	qP	qN	Fm'	Fo'
7:20:16	2	75	21,3	214	0,359	34,6	0,385	0,841	0,833	0,584	
7:20:41	3	75	20,8	205	0,353	9	0,105	0,532	0,951	0,394	
7:22:17	4	74	21,7	210	0,438	9	0,103	0,292	0,893	0,488	
7:22:48	5	74	21,3	218	0,37	24,8	0,271	0,719	0,88	0,508	
7:23:28	6	74	21,4	209	0,345	25,3	0,289	0,83	0,894	0,485	
7:24:47	7	73	21,1	204	0,395	15,5	0,181	0,526	0,896	0,483	
7:26:03	8	74	21,1	208	0,37	27,5	0,315	0,76	0,86	0,54	
7:26:53	9	74	20,8	203	0,353	28,6	0,335	0,83	0,866	0,53	
Time	No,	ML	Tmp,	PAR	Ft	ETR	Yield	qP	qN	Fm'	Fo'
7:48:31	2	74	21,7	201	0,489	18	0,213	0,401	0,797	0,621	
7:50:27	3	73	21,5	203	0,559	18	0,212	0,359	0,743	0,709	
7:51:45	4	73	21,4	205	0,435	31,9	0,371	0,641	0,754	0,691	
7:53:29	5	73	21,5	206	0,459	14,4	0,166	0,353	0,841	0,55	
7:54:39	6	73	20,9	201	0,384	27,3	0,324	0,665	0,83	0,568	
7:55:25	7	73	21,6	199	0,361	31,9	0,381	0,76	0,82	0,584	
7:55:58	8	73	21,6	202	0,36	24,7	0,291	0,682	0,867	0,508	
7:56:18	9	73	21,1	203	0,353	33,4	0,392	0,788	0,822	0,58	
Time	No,	ML	Tmp,	PAR	Ft	ETR	Yield	qP	qN	Fm'	Fo'
8:15:07	2	73	22,9	207	0,38	29	0,333	0,968	0,851	0,57	
8:15:59	3	73	22,6	197	0,391	25,7	0,311	0,91	0,853	0,568	
8:16:43	4	73	22,6	199	0,361	33,9	0,405	1	0,822	0,608	
8:17:06	5	73	22,2	238	0,328	39,5	0,395	1	0,873	0,541	
8:17:29	6	73	22,6	205	0,348	25,2	0,293	1	0,911	0,491	
8:17:50	7	73	24,2	197	0,356	19	0,23	1	0,932	0,463	
8:18:05	8	73	22,1	210	0,361	34,4	0,39	1	0,833	0,593	
8:18:23	9	73	22,1	199	0,338	37,9	0,453	1	0,814	0,618	

Priloga C2: Primer meritve potencialne fluoresc. s fluorometrom PAM 21000, Walz., za dan 24.06.2004.

24.jun.04 ML 6:53:45	75	Tmp,	21,1	PAR	13	Fo	0,315	Fv/Fm	0,83	Fm	1,855
24.jun.04 ML 6:55:03	75	Tmp,	21,5	PAR	9	Fo	0,314	Fv/Fm	0,844	Fm	2,006
24.jun.04 ML 6:55:41	75	Tmp,	21,3	PAR	14	Fo	0,339	Fv/Fm	0,838	Fm	2,09
24.jun.04 ML 6:56:36	75	Tmp,	21,5	PAR	8	Fo	0,343	Fv/Fm	0,818	Fm	1,886
24.jun.04 ML 6:57:02	74	Tmp,	21,3	PAR	11	Fo	0,358	Fv/Fm	0,837	Fm	2,19
24.jun.04 ML 6:57:21	75	Tmp,	21,6	PAR	9	Fo	0,316	Fv/Fm	0,835	Fm	1,915
24.jun.04 ML 7:29:19	73	Tmp,	21,5	PAR	5	Fo	0,334	Fv/Fm	0,816	Fm	1,81
24.jun.04 ML 7:29:41	73	Tmp,	21,7	PAR	5	Fo	0,295	Fv/Fm	0,807	Fm	1,531
24.jun.04 ML 7:30:29	73	Tmp,	21,9	PAR	5	Fo	0,398	Fv/Fm	0,785	Fm	1,849
24.jun.04 ML 7:30:48	73	Tmp,	22,1	PAR	5	Fo	0,314	Fv/Fm	0,822	Fm	1,76
24.jun.04 ML 7:31:06	73	Tmp,	22,1	PAR	5	Fo	0,276	Fv/Fm	0,839	Fm	1,711
24.jun.04 ML 7:31:24	73	Tmp,	22,2	PAR	5	Fo	0,33	Fv/Fm	0,801	Fm	1,66
24.jun.04 ML 7:32:04	74	Tmp,	22,5	PAR	4	Fo	0,394	Fv/Fm	0,775	Fm	1,746
24.jun.04 ML 7:33:14	73	Tmp,	22,8	PAR	4	Fo	0,291	Fv/Fm	0,848	Fm	1,918
24.jun.04 ML 7:56:53	72	Tmp,	21,5	PAR	14	Fo	0,303	Fv/Fm	0,829	Fm	1,77
24.jun.04 ML 7:57:47	73	Tmp,	21,9	PAR	14	Fo	0,283	Fv/Fm	0,85	Fm	1,884
24.jun.04 ML 7:58:13	72	Tmp,	22,1	PAR	14	Fo	0,363	Fv/Fm	0,833	Fm	2,171
24.jun.04 ML 7:58:35	73	Tmp,	22,4	PAR	13	Fo	0,329	Fv/Fm	0,832	Fm	1,953
24.jun.04 ML 7:58:55	73	Tmp,	22,8	PAR	15	Fo	0,325	Fv/Fm	0,844	Fm	2,084
24.jun.04 ML 7:59:22	73	Tmp,	23	PAR	15	Fo	0,305	Fv/Fm	0,834	Fm	1,834
24.jun.04 ML 7:59:52	73	Tmp,	23,4	PAR	17	Fo	0,429	Fv/Fm	0,727	Fm	1,569
24.jun.04 ML 8:01:06	73	Tmp,	23,6	PAR	14	Fo	0,284	Fv/Fm	0,835	Fm	1,715
24.jun.04 ML 8:01:59	73	Tmp,	23,9	PAR	15	Fo	0,374	Fv/Fm	0,779	Fm	1,689
24.jun.04 ML 8:19:27	72	Tmp,	22,5	PAR	34	Fo	0,44	Fv/Fm	0,744	Fm	1,72
24.jun.04 ML 8:21:08	72	Tmp,	24,1	PAR	41	Fo	0,416	Fv/Fm	0,82	Fm	2,314
24.jun.04 ML 8:21:38	72	Tmp,	24,1	PAR	34	Fo	0,289	Fv/Fm	0,838	Fm	1,784
24.jun.04 ML 8:22:03	72	Tmp,	24,4	PAR	40	Fo	0,305	Fv/Fm	0,819	Fm	1,688
24.jun.04 ML 8:22:23	72	Tmp,	24,4	PAR	41	Fo	0,301	Fv/Fm	0,833	Fm	1,799
24.jun.04 ML 8:22:49	72	Tmp,	24,6	PAR	52	Fo	0,326	Fv/Fm	0,803	Fm	1,654
24.jun.04 ML 8:23:07	72	Tmp,	24,7	PAR	48	Fo	0,316	Fv/Fm	0,823	Fm	1,788
24.jun.04 ML 8:23:24	72	Tmp,	24,6	PAR	37	Fo	0,273	Fv/Fm	0,846	Fm	1,77