

ISPITIVANJE LABORATORIJSKE KLIJAVOSTI PITOMOGA KESTENA
(*Castanea sativa* Mill.) U SKLADU S PRAVILIMA ISTA
LABORATORY GERMINATION TESTING OF THE SWEET CHESTNUT
(*Castanea sativa* Mill.) ACCORDING TO ISTA RULES

Damir DRVODELIC¹, Igor POLJAK², Ivan PERKOVIĆ¹, Mario ŠANGO¹, Katarina TUMPA², Ivana ZEGNAL³, Marilena IDŽOJTIĆ^{2*}

¹Doc. dr. sc. Damir Drvodelić, doc. dr. sc. Ivan Perković, Mario Šango, dipl. ing. šum., Zavod za ekologiju i uzgajanje šuma, Šumarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Svetošimunska 25, 10000 Zagreb, Hrvatska

²Doc. dr. sc. Igor Poljak, Katarina Tumpa, mag. ing. silv., prof. dr. sc. Marilena Idžojtić, Zavod za šumarsku genetiku, dendrologiju i botaniku, Šumarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Svetošimunska 25, 10000 Zagreb, Hrvatska

³Ivana Zegnal, prvostupnica urbanoga šumarstva, zaštite prirode i okoliša, studentica diplomskoga studija Urbano šumarstvo, zaštita prirode i okoliša

*Korespondencija: prof. dr. sc. Marilena Idžojtić, midzojtic@sumfak.hr

Sažetak

U radu su prikazani rezultati ispitivanja laboratorijske klijavosti i morfoloških značajki klijanaca europskoga pitomoga kestena (*Castanea sativa* Mill.). Uzorci za istraživanja sakupljeni su u submediteranskom području Hrvatske, a radni uzorak za ispitivanje klijavosti iznosio je 8×25 sjemenki. Sjeme je do ispitivanja klijavosti čuvano tri mjeseca u hladnjaku na temperaturi od 3 °C. Postotak laboratorijske klijavosti utvrđen je prema postotku pravilnih klijanaca koji su normalno prokljali nakon 27 dana ispitivanja. Ispitivanje je provedeno u laboratoriju prema uvjetima koje propisuje ISTA (International Seed Testing Association). Izrađen je katalog sa slikom i opisom nepravilnih klijanaca. Na osnovi definiranih kodova nepravilnih klijanaca moguće je preventivno djelovati kako bi se reducirale nepoželjne jedinice. Rezultati ovog istraživanja od velike su koristi za razumijevanje složenog procesa klijanja sjemena, kako u laboratoriju tako i šumskim rasadnicima.

Ključne riječi: pitomi kesten, morfologija klijanca, pravilan klijanac, nepravilan klijanac, postotak klijavosti, šumski rasadnici

UVOD - INTRODUCTION

Pitomi kesten (*Castanea sativa* Mill., Fagaceae) plemenita je listača koja ima višestruku gospodarsku korist (kvalitetno drvo, jestivi plodovi, med, kolje, ogrijev, ekstrakcija tanina i dr.), poveznica je brojnih ljudskih djelatnosti, od kojih možemo naglasiti šumarstvo, poljoprivredu i turizam, a usto oplemenjuje prostor u kojem raste. Rasprostranjen je u mediteranskom području, od Kaspijskoga jezera do Atlantskoga oceana, uključujući Madeiru, Azore i Kanarske otoke, od 51° sjeverne geografske širine u jugozapadnoj Njemačkoj i južnoj Engleskoj, do 37° sjeverne geografske širine u Tunisu na Gorju Tlecem (Fernández-López i Alía 1998, 2003; Conedera i sur. 2004). Zajedno uz vinovu lozu i maslinu jedna je od najstarijih uzgajanih kultura drveća, na koju je čovjek utjecao u toj mjeri da je gotovo nemoguće ući u trag njezinoj prirodnoj rasprostranjenosti (Conedera i sur. 2004; Poljak i sur. 2017).

Vrsta je koja uspijeva u toplijim krajevima, a većinom raste u područjima gdje se godišnja količina oborina kreće od 750 do 1200 mm (Rutter i sur. 1991). Ne raste u nizinskim šumama jer su one za njega vlažne i hladne, niti u visokim planinskim područjima gdje su velike razlike u dnevnim, odnosno godišnjim temperaturama (Medak 2009). Ovisno o području, obitava u različitim šumskim zajednicama na slabije do jače kiselim tlima. Općenito, vrsta je koja traži toplije položaje te dublja i umjereno svježja tla, a izbjegava suha te hladna i maglovita staništa (Anić 1940, 1942, 1945).

U Hrvatskoj pitomi kesten raste u šumama brežuljkasto-brdskog područja kontinentalnog dijela zemlje, u Istri te na otocima Krku i Cresu. Veći dio areala pitomoga kestena pruža se kroz središnju Hrvatsku, od slovenske granice do granice s BiH, gdje se najveće i najljepše sastojine nalaze na Zrinskoj i Petrovoj gori te na Medvednici (Medak i sur. 2009; Idžojić i sur. 2009). Ukupno šumskih površina na kojima pitomi kesten raste u Hrvatskoj ima oko 136.000 ha (Novak-Agbaba i sur. 2000).

Plodovi pitomoga kestena po obliku, veličini, boji i dlakavosti vrlo su varijabilni (Villani 1992; Solar 2005; Idžojić 2013; Idžojić i sur. 2009; Poljak 2014; Poljak i sur. 2012, 2016). Najčešće se u kupuli razvijaju po tri ploda, a prema Glišiću (1975) njihov broj varira od jedan do sedam. Kupule su kuglaste i u zreлом stanju kožaste, na površini obrasle brojnim stršećim i ostrim ježastim bodljama. Nakon dozrijevanja plodova raspucavaju se na četiri jednaka dijela. Kesten je najčešće zagasitosmeđ i tamno isprugan, a pri osnovi, na mjestu gdje je srastao s kupulom, svjetlije je obojen. Ovisno o položaju i samom broju plodova u kupuli, njihov oblik znatno varira, od kuglastih i zaobljenih do više-manje spljoštenih. Plodovi

dozrijevaju krajem rujna i u listopadu. U povoljnim prilikama pitomi kesten rodi plodom svake godine, a obilniji urod mu je svake dvije ili tri godine. Stabla uzrasla na osami počinju rađati plodom između 15. i 30. godine, a u sastojini između 30. i 40. godine. Izbojci iz panja počinju znatno ranije cvjetati i plodonositi, već nakon nekoliko godina (Anić 1942; Herman 1971). Prema Young i Young (1992), sjeme pitomoga kestena nema endosperma, a embrio se sastoji od dva velika kotiledona (supke).

Prema načinu skladištenja razlikuju se dvije osnovne grupe sjemenskoga materijala: (a) ortodoksno sjeme – sjeme koje se može sušiti do niske razine sadržaja vlage i skladištiti na niskim temperaturama kroz dugi niz godina bez značajnog utjecaja na njegov vitalitet; i (b) rekalcitrantno sjeme – sjeme koje je vrlo osjetljivo na gubitak vlage i temperaturu skladištenja te se ne može skladištiti na duže razdoblje bez značajnog utjecaja na njegov vitalitet. Bonner (2008) prema načinu čuvanja sjeme dijele u pet skupina: ortodoksno sjeme, sub-ortodoksno sjeme, umjereno rekalcitrantno sjeme, tropsko rekalcitrantno sjeme i intermedijarno sjeme. Prema navedenoj podijeli sjeme pitomoga kestena možemo svrstati u umjereno rekalcitrantnu skupinu sjemena. Umjereno rekalcitrantno sjeme ne može se čuvati dulje razdoblje bez gubitka klijavosti i vitaliteta. Osim pitomoga kestena, u tu skupinu ubrajamo i vrste iz rodova *Aesculus* L. i *Quercus* L. Prilikom čuvanja sjemena navedenih rodova ne može se smanjivati vlaga, ali ono može biti čuvano na temperaturama blizu smrzavanja. Pojedino sjeme vrsta iz ovih rodova može se čuvati 3 do 5 godina na najnižoj odgovarajućoj vlazi (30 do 50 %) te na niskim temperaturama (-4 do +4 °C).

Prema Goslingu (2007), sjeme pitomoga kestena je vrlo kvarljivo i slabo, odnosno plitko dormantno. Za očuvanje vitaliteta takvoga sjemena potreban je visoki sadržaj vlage i čuvanje na temperaturi od -3 do +5 °C (najbolje na 4 °C), kako bi se savladala njegova dormantnost. Prema Regentu (1980), sjeme se od jeseni do idućeg proljeća čuva u ježicama na otvorenom, u hrpi koja se pokrije lišćem ili se, tek nešto prosušeno, sjeme drži u podrumu, u sanducima, u ponešto vlažnom stratifikatu s pijeskom omjera 1:1, tresetom, ili na otvorenome u jami na hladnom mjestu, na temperaturi okoline ili, još bolje, s oko 35 % vlage na temperaturi od 0 do 5 °C. Klijanje u pitomoga kestena je podzemno, a prosječna klijavost se kreće od 65 do 87 % (Regent 1980; Young i Young 1992; Benedetti i sur. 2012). Prema Stilinoviću (1987), u sjemenu pitomoga kestena nema čimbenika koji sprječavaju klijanje, ali se ono preko zime čuva na način sličan stratifikaciji, u vlažnom pijesku, na temperaturi od oko 3 do 5 °C. Čuvanjem u suhim uvjetima, pitomi kesten brzo gubi klijavost, pa je za proljetnu sjetvu neupotrebljiv. Prema Young i Young (1992), svježe se sjeme čuva preko zime u vlažnom supstratu na temperaturama od -1 do 3 °C, što ustvari predstavlja stratifikaciju.

Tijekom skladištenja kritični su udjel vlage u sjemenu i relativna vlažnost prostora. Udjel vlage u sjemenu treba iznositi od 40 do 45 %, a relativna vlažnost u kontejnerima (posudama) za skladištenje mora se održavati na oko 70 %. Ako se plodovi presuše, perikarp postaje tvrd i gubi se njihov vitalitet. Ako je vlage previše, plodove napada plijesan ili trulež. Plodove kestena nije preporučljivo čuvati dulje od 6 do 8 mjeseci, budući da su podložni truleži. Prije klijanja, sjeme kestena treba stratificirati kako bi se savladala njegova dormantnost. U praksi se sjeme preko zime učinkovito čuva u hladnim i vlažnim uvjetima čime se također savladava njegova dormantnost.

Ispitivanje laboratorijske klijavosti sjemena šumskih vrsta drveća u skladu s pravilima International Seed Testing Association (ISTA) i razvrstavanje nepravilnih klijanaca po kodovima provode Drvodelić (2010) i Drvodelić i sur. (2012, 2015, 2019). Klijavost sjemena najvažniji je podatak o kvaliteti sjemena, kojom se obuhvaćaju genetička i analitička čistoća, kao i fiziološke i fizičke osobine sjemena. Poznavanje kvalitete sjemena utječe na cijeli ciklus proizvodnje, trgovine i skladištenja sjemena, kao i kvalitetu biljaka uzgojenih iz sjemena. Kvalitetnije sjeme razvit će se u kvalitetnije klijanice, čime se već na početku ciklusa proizvodnje ostvaruju uvjeti za uspješan rast i razvoj mladih biljaka (Institut za ispitivanje klijavosti, Hrvatski šumarski institut 2019). Ciljevi ovog rada bili su: 1. utvrditi laboratorijsku klijavost sjemena pitomoga kestena; 2. napraviti procjenu klijanaca sukladno pravilima ISTA o procjeni klijanaca; i 3. izraditi katalog sa slikom i opisom nepravilnih klijanaca.

MATERIJAL I METODE – MATERIAL AND METHODS

U radu su prikazani rezultati ispitivanja laboratorijske klijavosti sjemena pitomoga kestena u vlažnom pijesku. Uzorci za istraživanja sakupljeni su u submediteranskom području Hrvatske, a do ispitivanja laboratorijske klijavosti čuvani su u hladnjaku u platnenim vrećicama na temperaturi od 3 °C. Plodovi su povremeno navlaženi prskalicom s ultračistom vodom kako bi očuvali povoljan sadržaj vlage u sjemenu. Ovakav način čuvanja sjemena, bez supstrata, zove se "gola stratifikacija".

Radni uzorak za ispitivanje klijavosti iznosio je 8×25 sjemenki. Prije ispitivanja klijavosti, sjeme je močeno 48 sati u običnoj vodi na sobnoj temperaturi kako bi se povećao sadržaj vlage u sjemenu – faza bubrenja. Nakon toga je na plodovima oštrim skalpelom poprečno odrezana 1/4 ploda, suprotno od radikule, te je uklonjen perikarp. Laboratorijska klijavost sjemena ispitivana je u Laboratoriju za šumsko sjemenarstvo i rasadničarstvo Šumarskoga fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, prema uvjetima koje propisuje ISTA. U prozirne

PVC posude dimenzija 25×18×14 cm stavljen je sloj prethodno navlaženog pijeska (dodano 37 % vode) sušenoga na vatri, granulacije od 0,1 do 0,4 mm. U pijesak je utisnuto preparirano sjeme pitomoga kestena metodom "na trbuh". Sjeme je prekriveno 1 cm debelim slojem istoga pijeska, a PVC posude su zatvorene PVC prozirnou folijom i poklopcem. Svaka posuda je sadržavala 1400 ml pijeska, 518 ml vode i 25 sjemenki. Posude su smještene u prethodno dezinficiranu (Asepsol eko, PLIVA, Hrvatska) komoru rasta Kambič, RK-980 CH, u kontrolirane uvjete. Trajanje noćne faze iznosilo je 16 sati, a dnevne 8 sati, dok se temperatura kretala u rasponu od 20 do 30 °C, s minimumom tijekom noći te maksimumom tijekom dana. Zračna vlaga iznosila je 80 %, a osvjetljenje je bilo u rasponu 13 400 – 14 000 lux-a (na površini pijeska, odnosno ispod samih lampi). Riječ je o razini 2 osvjetljenja komore, koje je mjereno pomoću lux metra model LX-101 LUX METER Lutron. Sjeme pitomoga kestena kod ispitivanja klijavosti nema specifičnih zahtjeva za svjetlom (Pritchard i Manger 1990).

Energija klijanja i klijavost utvrđena je brojanjem klijanaca nakon perioda predviđenog za naklijavanje: 7. i 21. dan. Procjena klijanaca obavljena je u skladu s pravilima ISTA (2006) i uz pomoć ISTA priručnika o procjeni klijanaca (Don 2003). Broj pravilnih klijanaca sedmoga dana uzima se kao energija klijavosti sjemena (%). Zbog usporenog klijanja produžili smo ispitivanje za 30 % više vremena, od onoga dopuštenog ISTA pravilima. Iz tog razloga procjenu klijavosti nismo obavili 21., već 27. dan. Digitalnim fotoaparatom snimljeni su svi nepravilni klijanci, s posebnim osvrtom na pojedine dijelove koji definiraju nepravilan klijanac. Prilikom procjene svakom nepravilnom klijancu dodijeljena je odgovarajuća šifra (jedna nepravilnost) ili šifre (više nepravilnosti). Prema Don (2003), vrste roda *Castanea* Mill. pripadaju u kategoriju B (drveće i grmlje), sekciju 21 (porodica Fagaceae, tip klijanca G i grupu klijanca B-2-2-2-2). Isto tako, izrađen je i katalog sa slikom i opisom nepravilnih klijanaca. Postotak laboratorijske klijavosti utvrđen je prema postotku pravilnih klijanaca, koji su normalno proklijali nakon 27 dana ispitivanja.

REZULTATI - RESULTS

Laboratorijska klijavost utvrđena je nakon sedam i 27 dana. Energija klijavosti nakon sedam dana iznosila je 2,5 %. U periodu od sedam do 27 dana isključila je ukupno 71 sjemenka, a laboratorijska klijavost iznosila je 35,5 %. Procjenom klijanaca u skladu s pravilima ISTA utvrđeno je ukupno 14 nepravilnosti klijanaca, koje su navedene u tablici 1 i slikama 1 i 2. Najčešće nepravilnosti klijanaca prema njegovim dijelovima utvrđene su u

kotiledona, nadzemnoga dijela i nepravilnosti klijanca u cjelini. Dodatno, utvrđen je i broj višestrukih klijanaca iz sjemena s većim brojem embrija. Ukupno je udio plodova s većim brojem embrija u ovom istraživanju iznosio 3,5 %, pri čemu 2,5% otpada na dvostruke, a 1 % na trostruke kljance.

Pregled nepravilnih klijanaca pitomoga kestena prema dijelovima klijanca, pripadajućim kodovima, njihovom ukupnom broju i postotnom udjelu u ispitivanom uzorku u skladu s pravilima ISTA o procjeni klijanaca prikazani su u tablici 2. U ukupnom uzorku najviše je nepravilnosti (35 %) utvrđeno za kotiledone zbog primarne infekcije koja je uzrokovala njihovu trulež. Za devet klijanaca utvrđeno je da je primarna infekcija uzrokovala trulež kotiledona i primarnoga korijena koji je započeo s rastom.

Klijanci koji su prokljali, a bili su deformirani svrstani su u kategoriju "ukupno nepravilni". U kombinaciji s nekrozom vršnoga pupa i okolnog tkiva takvih klijanaca bilo je ukupno 2,5 % kao i klijanaca u kojih je primarna infekcija uzrokovala trulež primarnoga korijena u kombinaciji s truleži kotiledona većim od 50 %. Smatra se ako je više od 50 % kotiledona trulo da takav klijanac nema dovoljno zaliha hranjivih tvari potrebnih za normalan rast i razvoj. Ova je deformacija bila najčešća, zabilježena je na 96 klijanaca, što je 48 % svih deformiranih klijanaca (ISTA kod 31/07, tablica 1).

RASPRAVA I ZAKLJUČCI – DISCUSSION AND CONCLUSIONS

Klijanje sjemena je složeni proces koji obuhvaća različite fiziološke procese, od upijanja vode, bubrenja sjemena pa sve do pojave klice. Morfološki, proces klijanja završava kada se na klici pojave prvi listovi i stabljika, a daljnji razvoj općenito se definira kao rast klijanaca (Bewley 1997; Romero-Rodríguez i sur. 2018). S obzirom na tip klijanca te podjelu prema ISTA standardima (Don 2003), pitomi kesten pripada klijancima tipa G. Riječ je o klijancima dvosupnica koji kliju hipogeično. Tijekom klijanja, navedenim klijancima epikotil se izdužuje i postaje zelen, a iz pupa na vršnom dijelu epikotila razvijaju se primarni listovi. Hipokotil im je slabo razvijen, a kotiledoni ne izlaze iz sjemene ljuske i perikarpa ploda. Korijenski sustav klijanaca pitomoga kestena se sastoji od primarnoga korijena s razvijenim korijenovim dlačicama. Ukoliko je primarni korijen slabo razvijen, sekundarno korijenje se uzima u obzir prilikom klasifikacije klijanaca na pravilne i nepravilne. Embrij se sastoji od dva mesnata kotiledona, koji su kratkom embrionalnom osi spojeni s radikulom i plumulom. Kod klijanja sjemena pitomoga kestena primarni korijen probija sjemenu ljusku i perikarp i nastavlja s rastom, a sekundarno korijenje se razvija nedugo nakon primarnog. Hipokotil je

slabo razvijen, a kod epikotila dolazi do značajnog rasta, iako može ostati nerazvijen. Na klijancima pitomoga kestena uobičajeni su ljuskavi listovi na epikotilu, a razvijaju se ispod primarnih listova i terminalnog pupa (Don 2003).

Pravilni klijanac pitomoga kestena prema ISTA pravilima treba biti neoštećen ili su dozvoljena manja oštećenja na primarnom korijenu, kotiledonima, epikotilu i primarnim listovima. Na primarnom korijenu dopuštena su nebojena ili nekrotična područja, kalusirani prijelomi i napuknuća te površinski prijelomi i napuknuća koji ne utječu na provodne elemente. Klijanac s nepravilnim primarnim korijenom klasificira se kao pravilan ukoliko je razvijeno dovoljno sekundarnog korijenja. Na kotiledonima se primjenjuje pravilo 50 % što znači ukoliko su oštećenja tkiva manja od 50 %, kotiledoni su pravilni. Pravilni klijanci imaju samo jedan neoštećeni kotiledon ili tri kotiledona. Na epikotilu su dopuštena nebojena ili nekrotična područja, kalusirani prijelomi i napuknuća, površinski prijelomi i napuknuća te spiralna zavinutost. Ukoliko je epikotil nedovoljno razvijen ili nedostaje zbog dormantnosti, klijanac se smatra pravilnim ako su ostali dijelovi pravilni. Na terminalnom pupu i okolnom tkivu nisu dopuštena nikakva oštećenja. Ukoliko je došlo do razvoja primarnih listova oni moraju biti neoštećeni ili se primjenjuje pravilo 50 % kao za kotiledone.

Svježe sjeme pitomoga kestena dobre kvalitete proklijat će bez većih problema, no sjeme nekih kultivara pokazuje i znatno veću klijavost od sjemena sastojinskih stabala. Također, sjeme nekih kultivara značajno je sklonije razvoju većega broja embrija (kasnije klijanaca), čime je proizvodnja tih kultivara u rasadnicima zahtjevnija (Plant Health and Environment Laboratory, Investigation and Diagnostic Centres and Response 2011). Udio plodova s većim brojem embrija u ovom istraživanju iznosio je 3,5 %. Općenito, plodovi s dva, a ponekad i tri embrija zabilježeni su u submediteranskim populacijama i nasadima pitomoga kestena u Hrvatskoj (Idžojić i sur. 2009; Poljak 2014; Poljak i sur. 2016).

Na klijavost sjemena utjecaj ima i njihova težina. U svome istraživanju Çiçek, i Tilki (2007) navode kako sjeme krupnijih plodova postiže značajno bolje rezultate u odnosu na srednje veliko i sitno sjeme. Te se razlike očituju u kvaliteti klijanja, postotku klijavosti, nicanju klijanaca, preživljenju klijanaca te njihovome kasnijem rastu. Moguće je zaključiti kako krupnije sjeme pitomoga kestena odlikuje bolja klijavost i preživljenje, odnosno porastom težine sjemena raste i veličina prosječnoga klijanca, odnosno njegov promjer i visina, kao i masa suhe tvari. Ove spoznaje mogu imati i praktičnu primjenu u rasadničkoj proizvodnji, budući da bi se sortiranjem sjemena prema veličini moglo ostvariti bolje i ujednačenije klijanje, kao i veće i ujednačenije sadnice. Navedeno potvrđuju i istraživanja Regenta (1954) koji ispituje klijavost i kvalitetu sadnica uzgojenih iz sjemena cijepljenih i

necijepljenih stabala pitomoga kestena na lovranskom području. Autor ističe da je krupnoća sjemena važna kvalitativna značajka o kojoj treba voditi računa pri sakupljanju sjemenskoga materijala za podizanje nasada pitomoga kestena. U navedenom istraživanju sjeme krupnijih plodova rezultiralo je boljom klijavošću te zdravijim i snažnijim sadnicama, neovisno o tome je li sakupljeno sa cijepljenoga ili necijepljenoga stabla. Općenito, plodovi s masom većom od 8 g (Zavišić i sur. 2014), odnosno 10 g (Çiçek, i Tilki 2007) ranije kliju i imaju bolju klijavost u odnosu na sitnije plodove. S druge strane, Clark i Schlarbaum (2018) navode da veličina žira crvenoga hrasta ima slab utjecaj na morfologiju sadnica te da se masa žira ne bi mogla koristiti za predviđanje preživljavanja ili morfoloških pokazatelja kvalitete sadnica. Isti autori ističu da porijeklo sjemenskoga materijala ima značajan utjecaj na veličinu plodova i morfologiju sadnica te da bi selekcija sjemenskoga materijala iz odabranih populacija mogla poboljšati kvalitetu sjemenskoga materijala, a u konačnici i kvalitetu sadnica.

Osim mase ploda, na klijavost sjemena pitomoga kestena veliki utjecaj ima i udio vode. U istraživanju provedenome na sjemenu vrste *Quercus alba* L., Connor i Sowa (2003) zaključuju kako rekalcitrantno sjeme gubitkom vlage prolazi kroz nepovratne promjene u sekundarnoj strukturi proteina, čineći sam embrij slabijim, odnosno manje vitalnim. Do sličnih rezultata došao je i Bonner (1973), provodeći pokuse na sjemenu američkih vrsta roda *Quercus* (*Q. nigra* L., *Q. shumardi* Buckl. i *Q. falcata* var. *pagodaefolia* Ell.). U njegovome istraživanju, svo je sjeme skladišteno unutar platnenih vreća propalo, budući da je gubitak vlage bio neometan, odnosno udio vlage u sjemenu pao je ispod kritične razine za vitalnost. Prema Regentu (1957), postoji značajna razlika u gubitku vlage između nestratificiranih i stratificiranih plodova kestena. Nestratificirani plod vlagu gubi nejednoliko, a brzina sušenja ovisi o temperaturi, relativnoj vlazi te strujanju zraka. S obzirom da pitomi kesten ubrajamo u vrste s umjereno rekalcitrantnim sjemenom (Bonner 2008), za visok postotak klijanja te dobar inicijalan rast klijanaca nužna je stratifikacija (Serdar i Macit 2010). Sjeme iz stratificiranih plodova vlagu gubi sporije te u manjoj mjeri, bez obzira na krupnoću ploda ili varijetet. Za razliku od nestratificiranih plodova, krupniji stratificirani plodovi u početku gube vlagu brže od manjih; nakon otprilike 40 dana gubitak vlage brži je u sitnih plodova. Ova pojava posljedica je inicijalnog gubitka vlage za vrijeme stratifikacije. Plod maruna vlagu gubi polaganije te u manjoj mjeri od plodova nekultiviranih stabala, bez obzira na dimenzije plodova (Regent 1957).

Ukupna klijavost u našem istraživanju nakon 27 dana iznosila je 35,5 %, što je znatno niže u odnosu na rezultate drugih istraživanja. Çiçek i Tilki (2007) navode kako se klijavost sjemena prirodnih populacija pitomoga kestena u Turskoj kreće u rasponu od 91,3 do 98,8 %.

Do sličnih rezultata dolaze i autori koji istražuju klijavost sjemena u plantažama europskoga pitomoga kestena u Čileu, gdje se klijavost kreće u rasponu od 84,0 do 96,7 % (Delard i sur. 2007; Benedetti i sur. 2012). Prema WSL (1991), klijavost sjemena pitomoga kestena iznosi 60 %. Rezultati naših istraživanja procjene nepravilnih klijanaca pitomog kestena u skladu s pravilima ISTA upućuju na poznate činjenice kako je plod jako kvarljiv, a sama metoda čuvanja i vrijeme od sakupljanja na terenu do ispitivanja laboratorijske klijavosti značajno utječu na rezultate istraživanja zbog smanjenja sadržaja vlage u sjemenu. Iz tog razloga potrebno je obratiti pažnju na sakupljanje plodova odmah nakon otpadanja zbog smanjene mogućnosti kontaminacije patogenim gljivama, pravilno dostavljanje uzoraka u laboratorij u što kraćem vremenu i izbjegavati čuvanje plodova metodom "gole stratifikacije".

Nezaštićeno sjeme pitomoga kestena brzo će se osušiti te izgubiti na vitalnosti, a čak i pravilno skladišteno sjeme ne zadržava klijavost dulje od šest do osam mjeseci. Sjeme kestena potrebno je skladištiti u vlažnim uvjetima, kao što je dobro zatvorena plastična vrećica, te na temperaturi od 0 °C. Pritom je bitno izbjeći smrzavanje. Za plodove pitomoga kestena najbolji način čuvanja, od berbe do sjetve, je stratifikacija s medijem od pijeska (volumno 1:1) na temperaturi od +4 °C (Drvodelić 2011). Čak i pravilno skladišteno sjeme će u nekim slučajevima propasti, prije svega radi razvoja truleži.

S obzirom na bogatu povijest uzgoja, kao i ponovno rastući interes za kestenovim plodom te drvom, za očekivati je kako će potreba za proizvodnjom kestenovih sadnica rasti. Uzme li se u obzir pojava patogena, kao što je *Cryphonectria parasitica*, uzgoj zdravih biljaka, kao i selekcija otpornijih klonova također je od velikoga značenja. Rezultati ovog istraživanja od velike su koristi u rasadničarstvu te se mogu primijeniti u proizvodnji biljaka iz sjemena, podloga za cijepljenje te daljnji uzgoj sadnica za uzgoj u nasadima.

ZAHVALE – ACKNOWLEDGEMENTS

Rad je izrađen u okviru projekta Hrvatske zaklade za znanost: "Od terena do nasada: karakteristike i prilagodljivost na stres prirodnih populacija pitomoga kestena i maruna".

LITERATURA - REFERENCES

Anić, M., 1940: Pitomi kesten u Zagrebačkoj gori, Glas. šum. pokuse, 7: 103–312.

Anić, M., 1942: O rasprostranjenosti evropskog pitomog kestena s osobitim obzirom na nezavisnu državu Hrvatsku i susjedne zemlje, Tiskara C. Albrecht (P. Acinger), 142 str., Zagreb.

- Anić, M., 1945: Pogledi na šumsku vegetaciju Istre i susjednih zemalja, Šumar. list, 69: 13–23.
- Benedetti, S., M. González, E. García, I. Quiroz, 2012: An analysis of the physical and germination parameters of the sweet chestnut (*Castanea sativa*), Cien. Inv. Agr., 39 (1): 185–192.
- Bewley, J.D., 1997: Seed germination and dormancy, Plant Cell, 9: 1055–1066.
- Bonner, F.T., 1973: Storing Red Oak Acorns, Tree Planters' Notes, 24 (3): 12–13.
- Bonner, F.T., 2008: Chapter 4: Storage of Seeds, The Woody Plant Seed Manual, Department of Agriculture, Forest Service, 85–96 str., Washington.
- Çiçek, E., F. Tilki, 2007: Seed size effects on germination, survival and seedling growth of *Castanea sativa* Mill., J. Biol. Sci., 7 (2): 438–441.
- Clark, S.L., S.E. Schlarbaum, 2018: Effects of acorn size and mass on seedling quality of northern red oak (*Quercus rubra*), New Forest., 49: 571–583.
- Conedera, M., M.C. Manetti, F. Giudici, E. Amorini, 2004: Distribution and economic potential of the sweet chestnut (*Castanea sativa* Mill.) in Europe, Ecol. Medit., 30: 179–193.
- Connor, K.F., S. Sowa, 2003: Effects of desiccation on the physiology and biochemistry of *Quercus alba* acorns, Tree Physiol., 23: 1147–1152.
- Delard, C., M. González, O. Ortiz, M.P. Molina, C. Lopez, 2007: Producción de plantas forestales, U: Benedetti et al. (ur.), Castaño madera de alto valor para Chile, INFOR, 157–187, Santiago.
- Don, R., 2003: ISTA (International Seed Testing Association): ISTA Handbook on Seedling Evaluation 3rd Edition, Bassersdorf.
- Drvodelić, D., 2010: Značajke sjemena i rasadnička proizvodnja nekih vrsta roda *Sorbus* L., Disertacija, Šumarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.
- Drvodelić, D., 2011: Razmnožavanje pitomog kestena iz sjemena, Gospodarski list: 52–53.
- Drvodelić, D., S. Mikac, M. Oršanić, I. Anić, 2012: Effects of pH concentrations on germination and development of Norway spruce (*Picea abies* (L.) Karst.) seed. U: M. Saniga, S. Kucbel, P. Jaloviar (ur.), Pestovanie lese v strednej Európe, Technická univerzita vo Zvolene, 233–245, Zvolen.
- Drvodelić, D., T. Jemrić, M. Oršanić, 2015: Oskoruša: važnost, uporaba i uzgoj. Sveučilište u Zagrebu, Šumarski fakultet, 182 str., Zagreb.
- Drvodelić, D., T. Jemrić, M. Oršanić, 2019: Jarebika (*Sorbus aucuparia* L.): važnost, uzgoj i uporaba. Sveučilište u Zagrebu, Šumarski fakultet, 166 str., Zagreb.

- Fernández-López, J., R. Alía, 1998: Chestnut (*Castanea sativa* Mill.). U: J. Turok, J. Jensen, Ch. Palmberg-Lerche, M. Rusanen, K. Russell, S. de Vries, E. Lipman (ur.), Noble Hardwoods Network: Report of the third meeting, IPGRI, 21–27 str., Sagadi.
- Fernández-López, J., R. Alía, 2003: Technical Guidelines for genetic conservation and use for chestnut (*Castanea sativa* Mill.), EUFORGEN International Plant Genetic Resources Institute, 6 str., Rim.
- Glišić, M., 1975: Pitomi kesten (*Castanea sativa* Mill.) u Srbiji i njegov biološki i ekološki varijabilitet, Institut za Šumarstvo i drvnu industriju, 211 str., Beograd.
- Gosling, P., 2007: Raising trees and shrubs from seed: practice guide, Forestry Commission, 28 str., Edinburgh.
- Herman, J., 1971: Šumarska dendrologija, Stanbiro, 470 str., Zagreb.
- Institut za ispitivanje klijavosti, Hrvatski šumarski institut, 2019: Laboratorij za ispitivanje šumskog sjemena (LIS), Jastrebarsko. URL: <http://www.sumins.hr/jedinice/laboratorij-za-ispitivanje-sumskog-sjemena/>
- Idžojtić, M., 2013: Dendrologija – Cvijet, češer, plod, sjeme, Šumarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, 672 str., Zagreb.
- Idžojtić, M., M. Zebec, I. Poljak, J. Medak, 2009: Variation of sweet chestnut (*Castanea sativa* Mill.) populations in Croatia according to the morphology of fruits, Sauteria, 18: 323–333.
- ISTA (International Seed Testing Association), 2006: Chapter 5: The Germination Test, International Rules for Seed Testing, Edition 2006/1, Bassersdorf.
- Medak, J., 2009: Šumske zajednice i staništa pitomog kestena (*Castanea sativa* Mill.) u Hrvatskoj, Disertacija, Šumarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.
- Medak, J., M. Idžojtić, S. Novak-Agbaba, M. Ćurković-Perica, I. Mujić, I. Poljak, D. Juretić, Ž. Prgomet, 2009: Croatia. U: D. Avanzato (ur.), Following chestnut footprints (*Castanea* spp.) - cultivation and culture, folklore and history, traditions and use, Scripta Horticult. 9: 40–43.
- Novak-Agbaba, S., B. Liović, M. Pernek, 2000: Prikaz sastojina pitomog kestena (*Castanea sativa* Mill.) u Hrvatskoj i zastupljenost hipovirulentnih sojeva gljive *Cryphonectria parasitica* (Murr.) Barr., Radovi Šumarskog instituta, 35 (1): 91–110.
- Plant Health and Environment Laboratory, Investigation and Diagnostic Centres and Response, 2011: *Castanea* (Sweet Chestnut) and *Castanopsis* (Chinquapin) Post-Entry Testing Manual, Ministry for Primary Industries, 4–6 str., Auckland.

- Poljak, I., 2014: Morfološka i genetska raznolikost populacija i kemijski sastav plodova europskog pitomog kestena (*Castanea sativa* Mill.) u Hrvatskoj, Disertacija, Šumarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.
- Poljak, I., M. Idžojić, M. Zebec, N. Perković, 2012: The variability of European sweet chestnut (*Castanea sativa* Mill.) in the region of northwest Croatia according to morphology of fruits, Šumar. list, 136 (9–10): 479–489.
- Poljak, I., M. Idžojić, Z. Šatović, M. Ježić, M. Ćurković-Perica, B. Simovski, J. Acevski, Z. Liber, 2017: Genetic diversity of the sweet chestnut (*Castanea sativa* Mill.) in Central Europe and the western part of the Balkan Peninsula and evidence of marron genotype introgression into wild populations, Tree Genet. Genomes, 13: 18.
- Poljak, I., N. Vahčić, M. Gačić, M. Idžojić, 2016: Morphological characterization and chemical composition of fruits of the traditional Croatian chestnut variety 'Lovran Marron', Food Technol. Biotechnol., 54 (2): 189–199.
- Pritchard, H.W., K.R. Manger, 1990: Quantal response of fruit and seed germination rate in *Quercus robur* L. and *Castanea sativa* Mill. to constant temperatures and photon dose, J. Exp. Bot., 41: 1549–1557.
- Regent, B., 1954: Prilog poznavanju uzgoja biljaka iz ploda pitomog kestena i maruna, Šumar. list, 78 (8): 379–386.
- Regent, B., 1957: O gubitku vlage i smanjenju klijavosti ploda pitomog kestena, Anali Instituta za eksp. šumarstvo JAZU, sv. II, 247-260 str., Zagreb.
- Regent, B., 1980: Šumsko sjemenarstvo, Jugoslovenski poljoprivredni šumarski centar - služba šumske proizvodnje, 201 str., Beograd.
- Romero-Rodríguez, M.C., A. Archidona-Yuste, N. Abril, A.M. Gil-Serrano, M. Meijón, J.V. Jorrín-Novo, 2018: Germination and early seedling development in *Quercus ilex* recalcitrant and non-dormant seeds: targeted transcriptional, hormonal, and sugar analysis, Front. Plant Sci., 9: 1508.
- Rutter, P.A., G. Müller, J.A. Payne, 1991: Chestnuts (*Castanea*), Acta Hort., 290: 761–785.
- Serdar, U., I. Macit, 2010: New advances in chestnut growing in the Black Sea region, Turkey, Acta Hortic., 866: 303–308.
- Solar, A., A. Podjavoršek, F. Štampar, 2005: Phenotypic and genotypic diversity of European chestnut (*Castanea sativa* Mill.) in Slovenia - opportunity for genetic improvement, Genet. Resour. Crop Ev., 52: 381–394.
- Stilinović, S., 1987: Proizvodnja sadnog materijala šumskog i ukrasnog drveća i žbunja, Univerzitet u Beogradu, 455 str., Beograd.

- Villani, F., M. Pigliucci, M. Lauteri, M. Cherubini, 1992: Congruence between genetic, morphometric, and physiological data on differentiation of Turkish chestnut (*Castanea sativa*), *Genome*, 35: 251–256.
- WSL, 1991: Versuchsgarten. Birmensdorf. 76 str.
- Young, J.A., C.G. Young, 1992: Seeds of woody plants in North America, 407 str., Portland.
- Zavišić, N., Ž. Rosić, T. Trubajić, 2014: Utjecaj tipa tla na morfološka svojstva sijanaca pitomog kestena (*Castanea sativa* Mill.), U: S. Marić, Z. Lončarić (ur.), *Zbornik radova, 49. hrvatski i 9. međunarodni simpozij agronoma, Agronomski fakultet u Osijeku*, 740–744. str., Osijek.

Summary

The paper presents the results of laboratory germination testing and morphological characteristics of sweet chestnut (*Castanea sativa* Mill.) seedlings. The research samples were collected in the sub-Mediterranean region of Croatia, and the working sample for germination testing was 8×25 seeds. Prior to germination testing, the seeds were stored in a refrigerator for three months at 3°C. The percentage of laboratory germination was established according to the percentage of regular seedlings which germinated normally after 27 days of testing. The testing was carried out in a laboratory under the conditions prescribed by ISTA (International Seed Testing Association). A digital photo camera was used to take photos of all abnormal seedlings, which were then catalogued with their pictures and descriptions. The results of this research are very useful for nursery practice and can be applied in producing plants from seeds, rootstocks for grafting, and further raising of seedlings to be grown in plantations.

Key words: sweet chestnut, seedling morphology, normal seedling, abnormal seedling, germination, forest nursery

Tablica 1. Kod, opis i broj nepravilnih klijanaca pitomoga kestena (*Castanea sativa* Mill.) u ispitivanom uzorku, u skladu s pravilima ISTA o procjeni klijanaca.

Table 1. Code, description and number of abnormal sweet chestnut (*Castanea sativa* Mill.) seedlings in the tested sample, in accordance with ISTA rules on seedling evaluation.

Tablica 2. Pregled nepravilnih klijanaca pitomoga kestena (*Castanea sativa* Mill.) prema ukupnom broju te udjelu pojedinih nepravilnosti u ispitivanom uzorku, u skladu s pravilima ISTA o procjeni klijanaca.

Table 2. Overview of abnormal sweet chestnut (*Castanea sativa* Mill.) seedlings according to the total number and share of individual abnormalities in the tested sample, in accordance with ISTA rules on seedling evaluation.

Slika 1. Prikaz nepravilnih klijanaca pitomoga kestena (*Castanea sativa* Mill.) u skladu s pravilima ISTA – jedna nepravilnost.

Figure 1. Image of abnormal sweet chestnut (*Castanea sativa* Mill.) seedlings in accordance with ISTA rules – single abnormality.

Slika 2. Prikaz nepravilnih klijanaca pitomoga kestena (*Castanea sativa* Mill.) u skladu s pravilima ISTA – višestruke nepravilnosti klijanaca.

Figure 2. Image of abnormal sweet chestnut (*Castanea sativa* Mill.) seedlings in accordance with ISTA rules – multiple seedling abnormalities.

Tablica 1. Kod, opis i broj nepravilnih klijanaca pitomoga krestena (*Castanea sativa* Mill.) u ispitivanom uzorku, u skladu s pravilima ISTA o procjeni klijanaca.

Table 1. Code, description and number of abnormal sweet chestnut (*Castanea sativa* Mill.) seedlings in the tested sample, in accordance with ISTA rules on seedling evaluation.

Nepravilnosti klijanaca <i>Seedling abnormalities</i>	Kod <i>Index</i>	Opis <i>Description</i>	Broj nepravilnih klijanaca <i>Number of abnormal seedlings</i>
0 – ukupne nepravilnosti <i>0 – overall abnormalities</i> 00 – klijanac <i>00 – the seedling</i>	00/01	deformiran <i>deformed</i>	8/200
1 – nepravilnosti korijenskog sustava <i>1 – abnormalities of the root system</i>	11/01	nedostaje vrh <i>stunted</i>	11/200
11 – primarni korijen <i>11 – the primary root</i>	11/02	kratak <i>stubby</i>	10/200
	11/03	nedovoljno razvijen <i>retarded</i>	8/200
	11/04	nedostaje <i>missing</i>	2/200
	11/05	slomljen <i>broken</i>	4/200
	11/12	primarna infekcija uzrokovala trulež <i>decayed as a result of primary infection</i>	17/200
2 – nepravilnosti izbojka <i>2 – abnormalities of the shoot system</i>	21/01	kratak i debeo <i>too short and thick</i>	5/200
21 – hipokotil, epikotil, mezokotil <i>21 – the hypocotyl or the epicotyl or the mesocotyl, respectively</i>	21/05	nedostaje <i>missing</i>	2/200
	21/12	primarna infekcija uzrokovala trulež <i>decayed as a result of primary infection</i>	3/200
2 – nepravilnosti izbojka <i>2 – abnormalities of the shoot system</i>	22/03	nedostaje <i>missing</i>	1/200
22 – vršni pup i okolno tkivo <i>22 – the terminal bud and the surrounding tissue</i>	22/04	nekroza <i>necrotic</i>	8/200
3 – nepravilnosti kotiledona i primarnih listova <i>3 – abnormalities of the cotyledons and the primary leaves</i>	31/05	promjena boje ili nekroza <i>discoloured or necrotic</i>	4/200
31 – kotiledoni – pravilo 50 % <i>31 – the cotyledons – apply the 50% rule</i>	31/07	primarna infekcija uzrokovala trulež <i>decayed as a result of primary infection</i>	96/200

Tablica 2. Pregled nepravilnih klijanaca pitomoga krestena (*Castanea sativa* Mill.) prema ukupnom broju te udjelu pojedinih nepravilnosti u ispitivanom uzorku, u skladu s pravilima ISTA o procjeni klijanaca.

Table 2. Overview of abnormal sweet chestnut (*Castanea sativa* Mill.) seedlings according to the total number and share of individual abnormalities in the tested sample, in accordance with ISTA rules on seedling evaluation.

Cijeli klijanaca <i>Seedling as a whole</i>	Primarni korijen <i>Primary root</i>	Izbojak <i>Shoot</i>	Kotiledoni <i>Cotyledons</i>	Kod <i>Index</i>	Broj nepravilnih klijanaca <i>Number of abnormal seedlings</i>	%
	x	x	x	11/05+22/04+31/07	1	0,5
		x		22/04	2	1
x	x			11/01+11/02+11/05	1	0,5
	x			00/01+11/01+11/03	1	0,5
	x			11/04+11/12	1	0,5
		x		21/01	2	1
		x	x	21/01+31/07	2	1
			x	31/07	70	35
	x		x	11/01+11/02+11/03+31/07	1	0,5
	x		x	11/12+31/07	14	7
x		x		00/01+22/04	5	2,5
	x			11/01+11/02	3	1,5
	x			11/01	2	1
	x			11/02	1	0,5
	x			11/12	1	0,5
	x	x	x	11/02+21/01+31/07	1	0,5
		x		21/05	2	1
	x		x	11/03+31/07	2	1
			x	31/05	1	0,5
	x		x	11/12+31/05	1	0,5
	x		x	11/03+31/05+31/07	1	0,5
		x		21/12	3	1,5
		x		22/03	1	0,5
			x	31/05+31/07	1	0,5
	x		x	11/02+31/07	1	0,5
x	x			00/01+11/01	2	1
	x		x	11/02+11/03+31/07	1	0,5
	x			11/05	1	0,5
	x			11/03	1	0,5
	x			11/04	1	0,5
	x		x	11/05+31/07	1	0,5
	x			11/01+11/02+11/03	1	0,5

Udio nepravilnih klijanaca od ukupnog broja sjemenki (%)

Percentage of abnormal seedlings in the total number of seeds (%)