



LIFE FOR SEEDS (LIFE20 NAT/SI/000253) – Ohranjanje prioritetnih travniških habitatnih tipov v Sloveniji z vzpostavitvijo semenske banke in obnovo *in situ*

LIFE FOR SEEDS (LIFE20 NAT/SI/000253) – Conservation of priority grassland habitats in Slovenia through the establishment of seed bank and *in situ* restoration

PROTOKOL ZA SUŠENJE IN HRANJENJE SEMEN (Akcija A.2)

Guidelines for seed drying and storage (Action A.2)

Verzija 2

Pripravili:

Kmetijski inštitut Slovenije:

Branko Lukač, Azra Šabić, Mateja Grašič, Jelka Šuštar Vozlič

DOPPS:

Blaž Blažič, Polona Božič

Ljubljana, julij 2022

KAZALO

POVZETEK	3
ABSTRACT	3
SLOVARČEK	4
1. UVOD	6
2. PREVZEM VZORCEV NA KIS.....	6
3. UKREPI PO VRNITVI S TERENA OZIROMA PO PRIDOBITVI VZORCA.....	6
4. ČIŠČENJE VZORCEV	7
5. FOTOGRAFIRANJE SEMEN	8
6. ANALIZA KALIVOSTI	9
7. KONČNO SUŠENJE ZA DOLGOROČNO SHRANJEVANJE IN DOKUMENTIRANJE	9
8. DOLOČANJE KONČNE VLAGE PRED HRANJENJEM SEMEN	9
9. SHRANJEVANJE VZORCA.....	10
10. VKLJUČITEV AKCESIJ V ZBIRKO RASTLINSKIH GENSKIH VIROV	10
11. VIRI	11

POVZETEK

Seme je razširjevalna enota rastlin, s katero je treba ravnati ustrezno, da ohranimo njeno viabilnost in sposobnost kalitve. Vzorce semen je po nabiranju treba v najkrajšem možnem času, ustrezno zapakirane in označene, obdelati. Za ohranitev kalivosti semen je treba zagotoviti nizko stopnjo vlage v semenu. Semena sušimo v pokritem, zračnem suhem prostoru, brez prisotnosti potencialnih škodljivcev. Vzorce razprostremo v tanek sloj v paroprepustni posodi, sušimo jih lahko tudi v sušilni omari. Suhost vzorca ocenimo vizualno ali na otip. Sušenje je dvostopenjski proces (predsušenje, končno sušenje). Po predsušenju vzorce tudi očistimo, kjer je postopek za posamezne vzorce ali rastlinske vrste različen. Pred končnim sušenjem za dolgotrajno shranjevanje opravimo analize kalivosti po protokolu MET-SEM-006. V skladu s FAO standardi vzorce dokončno posušimo do ravnotežne vlage (3,5 – 6,5 %) v sušilni komori. Takoj po končnem sušenju določimo končno stopnjo vlage po protokolu MET-SEM-001. Za trajno hranjenje pripravljen vzorec prenesemo v aluminizirano vrečko in jo zavarimo. Na vrečko nalepimo nalepko z vsemi potrebnimi podatki o vzorcu. Protokol za sušenje in hranjenje semen je bil izdelan v okviru akcije A.2.

ABSTRACT

The seed is a plant's propagating unit and must be handled properly to maintain viability and germination. After collection, seed samples must be processed as soon as possible, properly packaged and labelled. In order to preserve the germination of the seeds, it is necessary to ensure that the moisture content of the seed is low. The seeds should be dried in a covered, airy, dry place, free from potential pests. The samples should be spread out in a thin layer in a vapour-permeable container and may also be dried in a drying cabinet. The dryness of the sample is assessed visually or by touch. Drying is a two-step process (pre-drying, final drying). After pre-drying the samples are also cleaned, where the procedure varies from sample to sample or from plant species to plant species. Before final drying for long-term storage germination analyses are carried out according to the MET-SEM-006 protocol. In accordance with FAO standards the samples are finally dried to equilibrium moisture (3,5 % - 6,5 %) in a drying chamber. Immediately after final drying the final moisture content is determined according to the MET-SEM-001 protocol. Sample, that is thus prepared for permanent storage, is transferred to an aluminised bag and sealed. Label containing all necessary information about the sample is placed onto the bag.

Guidelines for seed drying and storage were prepared within action A.2.

SLOVARČEK

Razlaga nekaterih izrazov in kratic, uporabljenih v nadaljevanju dokumenta:

Akcesija je enota genskega materiala, ki je shranjena v zbirki rastlinskih genskih virov (shranjena vrečka ali kozarec semena, rastlina v kolekciji, rastlina *in vitro* itd.).

Eksikator je steklena posoda z možnostjo nepredušnega zapiranja, namenjena sušenju in shranjevanju higroskopskih snovi pri običajni temperaturi.

Kalivost je sposobnost semen, da vzkalijo in se iz njih razvije nova rastlina (Batič in sod., 2011).

Plod je rastlinski organ, ki vsebuje semena in je namenjen njihovem razširjanju. Večinoma se razvije iz plodnice, lahko pa tudi iz drugih cvetnih in zunajcvetnih delov. Osemenje (perikarp) nastane iz stene plodnice v stanju zrelosti semena. Plodove delimo na enostavne in birne (odvisno od števila pestičev, iz katerih so nastali) ter na sočne in suhe (odvisno od suhosti osemenja). Za več podrobnosti glej Malo floro Slovenije (Martinčič in sod., 2007).

Pulpa je cel, razkosan ali pretlačen sočni mehki del ploda (sadeža), namenjen za nadaljnjo obdelavo.

RH je kratica za relativno zračno vlago, ki predstavlja razmerje med dejansko absolutno zračno vlago (g/m^3) in maksimalno možno absolutno zračno vlago pri določeni temperaturi.

Seme je del rastline, ki nastane iz semenskih zasnov po oploditvi; pri kritosemenkah v plodnici, pri golosemenkah pa na površini plodnih listov. Sestavljeno je iz semenske lupine, kalčka in hranilnega tkiva. Za več podrobnosti o fiziologiji in morfologiji semena glej Malo floro Slovenije (Martinčič in sod., 2007) in Botanični terminološki slovar (Batič in sod., 2011).

Na podlagi sposobnosti dolgoročnega shranjevanja in uporabe De Vitis in sod. (2020) navajajo naslednjo razdelitev semen:

- **Ortodoksna semena** so semena, ki jih je mogoče posušiti do nizke vlage in jih hraniti pri nizki temperaturi, pri čemer dolgoročno ohranijo svojo viabilnost (dolgoživost) in sposobnost kalivosti. Kratkotrajno (<18 mesecev) je posušena ortodoksna semena možno hraniti pri temperaturah od 0 °C do 5 °C, dolgoročno pa pri temperaturah med -18 °C in -20 °C. Priporočljiva vlaga za shranjevanje ortodoksnih semen je 3-7 %. Navodila v temu protokolu se primarno nanašajo na ta tip semen.
- **Prehodna semena** vključujejo širok spekter semen različnih vrst, ki na različne načine prenašajo proces obdelave, sušenja in shranjevanja. Za večino teh semen velja, da ohranijo viabilnost pri kratko- in srednjeročnem shranjevanju.
- **Rekalcitrantna semena** so semena, občutljiva na dehidracijo (izsuševanje), zaradi česar je njihovo dolgoročno shranjevanje zelo oteženo. Posledično se uporabo takšnih semen v procesu obnove naravnih rastišč priporoča le v kratkem obdobju po njihovem nabiranju, torej pred padcem vlage v semenih. Tipičen primer rekalcitrantnih semen so semena tropskih lesnatih vrst. V tem protokolu jih ne bomo obravnavali.

Silikagel je silicijev dioksid v obliki trdnih kristalov, ki ima odlično sposobnost vezave vlage. Uporabljamo ga za zaščito oziroma preprečevanje vezave vlage v semenu med analitskim postopkom ali kratkoročnim shranjevanjem suhega semena.

Tehtič je tehtalna posodica iz borosilikatnega stekla s pokrovom, ki se uporablja za natančno tehtanje trdnih in praškastih snovi v laboratoriju. V našem primeru ga bomo uporabljali za določanje vlage.

Viabilnost v širšem pomenu besede pomeni sposobnost semen za preživetje in kasnejšo potencialno kalivost. Pojma viabilnost in kalivost se pogosto enači, a njun pomen ni enak. Kalivost je namreč le eden izmed načinov za ocenjevanje viabilnosti semen. Za več podrobnosti o viabilnosti glej Frischie in sod. (2020) ter Pedrini in Dixon (2020).

1. UVOD

Seme je občutljiva razširjevalna enota rastlin, ki mora ohraniti sposobnost preživetja med vsemi postopki ravnanja z njim. Ustrezno ravnanje s semenom med nabiranjem, transportom, čiščenjem in shranjevanjem lahko bistveno vpliva na njegovo viabilnost in sposobnost kalive – skratka, na kakovost semena. Seme mora biti čisto in brez primesi, zdravo in brez prisotnosti škodljivcev. Nizka vlaga je pogoj, da nabrano seme dolgo časa ohrani svoje lastnosti. Čas od nabiranja do hranjenja v kontroliranih razmerah je kritična faza, ki vpliva na kakovost semena in mora biti čim krajša. V tej fazi še posebej pazimo na možno zamenjavo vzorcev oziroma označb na vzorcih, saj jih zaradi čiščenja in sušenja običajno premeščamo iz originalno označene vreče s terena.

Namen pričujočega dokumenta, pripravljenega v okviru **projekta LIFE FOR SEEDS (akcija A.2)**, je predstavitev podrobnih **navodil in ukrepov za ravnanje z vzorci semen po nabiranju do njihove priprave za dolgoročno shranjevanje**.

Navodila za ravnanje na terenu, kot so npr. izbira ustreznih rastlin, čas in metodologija nabiranja semen travniških rastlin, so predstavljena v **Protokolu za nabiranje semen**, pripravljenem v okviru **akcije A.1**.

2. PREVZEM VZORCEV NA KIS

Po nabiranju semen na izbranih območjih Natura 2000 nabiralci nabrane vzorce, ustrezno zapakirane in pripravljene za transport, v najkrajšem možnem času dostavijo na Kmetijski inštitut Slovenije, kjer poteka nadaljnja obdelava nabranih vzorcev.

Dostava na Kmetijski inštitut Slovenije (Grajska ulica 1, 1234 Mengeš; v nadaljevanju KIS) naj bo med 7. in 8. uro zjutraj oziroma v skladu s predhodnim dogovorom s tehniko (kontaktne številke bodo sporočene pravočasno). Vzorce prevzame eden izmed treh tehnikov (Ema Ileršič, Jernej Mavhar, Boštjan Ogorevc), jih vnese v bazo in začne s postopkom njihove obdelave, kot je navedeno v nadaljevanju.

3. UKREPI PO VRNITVI S TERENA OZIROMA PO PRIDOBITVI VZORCA

Vzorce s terena takoj prenesemo v pokrit, suh in zračen prostor (z ne premočnim preprihom) brez potencialnih škodljivcev, kot so različne žuželke (npr. molji, hrošči) ter glodavci. Le na ta način lahko dosežemo nizko vlago semena, ki je osnovni pogoj za učinkovito dolgoročno hranjenje semena. V nasprotnem primeru lahko pride do pregrevanja semena, razvoja plesni ali začetnih fizioloških procesov, ki vodijo v kalitev. Našteti dejavniki negativno vplivajo na viabilnost, hranjenje in možnost uporabe semena v naravovarstvene namene.

Vsebnost vlage v semenu ocenimo vizualno oziroma na otip ter na podlagi ocene ustrezno ukrepamo. Če ocenimo, da je seme treba sušiti, vzorce razprostremo v tanek (~1 cm) sloj v široko odprti paropropustni posodi (iz lesa, kartona ali drobne polietilenske mreže). V kolikor se odločimo za sušenje v sušilnem prostoru z nizko vlago ali v sušilni omari, temperatura zraka ne sme preseči 35 °C. Na ta način se seme posuši, v primeru, da je še nezrelo, pa tudi dozori. Nabrani vzorci se lahko tako sušijo največ dva tedna. V posode, kjer sušimo, dodamo originalno papirnato vrečo z oznako vzorca.

V kolikor ocenimo, da so vzorci dovolj suhi in je transport na KIS predviden isti ali naslednji dan, jih ni treba razprostirati, vseeno pa jih shranimo v suhem in zračnem prostoru.

Sušenje vzorcev naj bo dvostopenjsko. S prvo stopnjo sušenja zagotovimo suhost semen do te mere, da preprečimo neželjeno kaljenje semen in zmanjšamo razrast plesni. To stopnjo sušenja lahko izvedemo takoj po vrnitvi s terena oziroma po prevzemu vzorcev. Z drugo stopnjo sušenja pa zagotovimo suhost, ki je primerna za dolgoročno shranjevanje.

Potrebni pripomočki: kartonaste škatle, leseni ali mrežasti zaboji.



Slika 1: Pravkar nabrana semena različnih vrst v mrežastem zaboji v suhem in zračnem prostoru čakajo na nadaljnjo obdelavo.

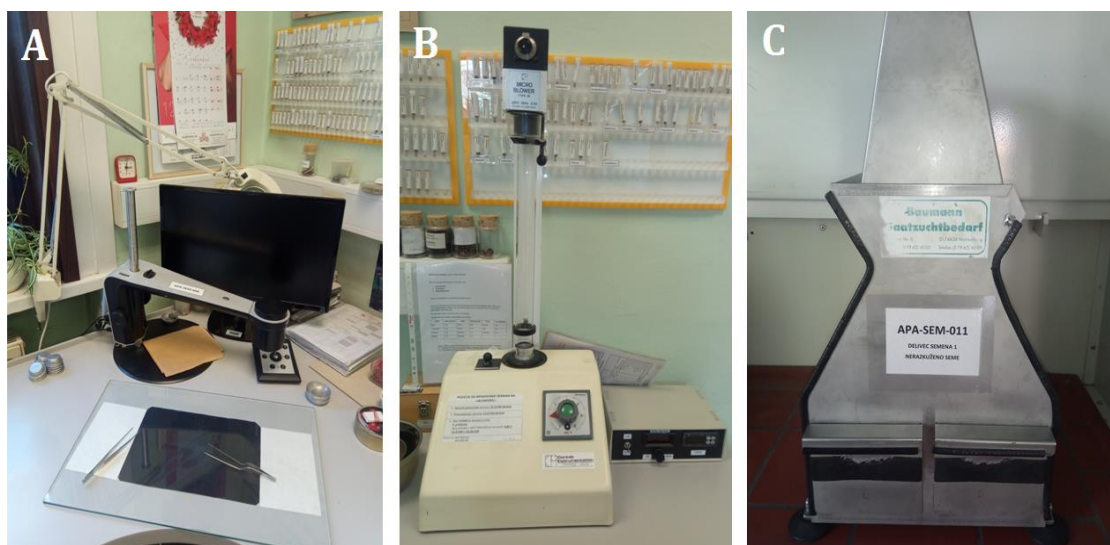
4. ČIŠČENJE VZORCEV

Po prihodu s terena vzorce čim prej očistimo, obvezno pa pred prenosom v suh prostor s kontrolirano vlago. Običajno vzorce naravno sušimo 10 dni (predsušenje) in jih v tem času tudi očistimo.

Postopek čiščenja je za posamezne vzorce oziroma rastlinske vrste različen:

- Vzorce, pri katerih je seme že ločeno od drugih delov rastlin, običajno samo spihamo ali ločimo seme od drugih primesi s sejanjem skozi sita različnih dimenzij.
- Manjše vzorce spihamo ročno s pomočjo kartonastega pladnja tako, da pladenj enakomerno rotiramo in z usti previdno pihamo v vzorec.
- Večje vzorce lahko spihamo na manjšo napravo za prepihanje semen ('seed blower').
- Če se seme še drži ali je obdano z drugimi deli rastlin (osi socvetja, peclji, pleve, stroki, mešički, luski), ga moramo od teh pred čiščenjem fizično ločiti. Fizično ločevanje običajno izvajamo z drgnjenjem med dvema narebrenima gumama. Med gumi dodajamo le manjše količine vzorca in postopek ponavljamo toliko časa, da ločimo seme od drugih delov rastlin.
- Čiščenje vzorcev z optičnim čistilcem semen: (*Interna navodila za čiščenje z optičnim čistilcem semen so še v izdelavi.*)
- V primeru sočnih plodov je postopek čiščenja nekoliko drugačen: ob prihodu na KIS plodove čim prej očistimo (v najkrajšem možnem času – če je mogoče, že isti dan). Če so sočni plodovi trdi oziroma niso dovolj zreli, jih pred nadaljevanjem postopka čiščenja lahko potopimo v vodo pri sobni temperaturi za 1-2 dni. Na ta način se ustrezno zmehčajo. Če so plodovi dovolj mehki oziroma zreli, s čiščenjem nadaljujemo takoj po prihodu s terena, brez namakanja. Očistimo jih tako, da celotno pulpo speremo in ločimo od semen, bodisi s strganjem, puljenjem, ali pa s pomočjo sita. Treba je paziti, da semen pri čiščenju ne poškodujemo. Ko celotno pulpo odstranimo, semena še rahlo speremo, nato pa jih sušimo na podoben način kot semena suhih plodov.
- Cel postopek od začetka do konca izvajamo le na enem vzorcu hkrati. Po končanem postopku očiščeno seme shranimo v originalno vrečo in jo prenesemo v suho sobo.

Pripomočki za čiščenje semen: naprava za preprihanje semen ('seed blower'), sita različnih premerov in velikosti, narebrena guma, kartonasti pladnji, pinceta, lupa, delivec semen, majhne papirnate vrečke, steklene petrijevke ($\varnothing = 150 \text{ mm}$), filter papir F1.



Slika 2: Ustrežno opremljena delovna ploskev z lupo, različnimi pincetami in posodicami za delo z majhnimi vzorci za določanje čistote in pripravo vzorca za določanje kalivosti semena (slika A), naprava za preprihanje semen – 'seed blower' (slika B) ter delivec semen (slika C).



Slika 3: Mrežasta sita različnih velikosti za ločevanje primesi (levo). Narebrena guma za čiščenje semen iz mešičkov s trenjem (desno).

5. FOTOGRAFIRANJE SEMEN

Za potrebe izdelave publikacij po čiščenju semena fotografiramo, in sicer na enobarvni podlagi z merilom. Fotografirali bomo pri različnih povečavah, odvisno od velikosti semen posameznih vrst.

Potrebni pripomočki: fotoaparati z makro objektivom ali stereo lupa s kamero, merilo (ravnilo ali milimeter papir).

6. ANALIZA KALIVOSTI

Pred končnim sušenjem za dolgoročno shranjevanje vzamemo vzorec za potrebe analize kalivosti. Analizo kalivosti semena (2 x 50 semen) delamo na filter papirju po protokolu MET-SEM-006. Poleg standardnih metod, opisanih v ISTA Rules (poglavje 5), moramo za posamezne rastlinske vrste upoštevati različne pogoje za kalitev (npr. temperatura in prekinitev dormance, v kolikor je ta prisotna). V projektu LIFE for Seeds bomo za potrebe določanja kalivosti, bodisi ročno bodisi s števcem semen, našteali po 50 semen v dveh ponovitvah. Kalivost bomo testirali le na izbranih vzorcih (predvidoma pri enem nabirku na vrsto).

Pripomočki za izvajanje analize kalivosti: petrijevke, plastične banjice, kalilna omara ali hladilnik, kalijev nitrat (KNO_3), puhalka s pitno vodo, plastične vrečke, papirnate brisače, pinceta.



Slika 4: Puhalka (slika A), testiranje kalivosti pri semenih trav (slika B), kalilna omara s petrijevkami z različnimi semeni (slika C).

7. KONČNO SUŠENJE ZA DOLGOROČNO SHRANJEVANJE IN DOKUMENTIRANJE

Skladno s FAO standardi (FAO, 2014) vzorce semen posušimo do ravnotežne vlage v sušilni komori pri kontroliranih pogojih (temperatura 5-20 °C, relativna zračna vlaga 10-25 %). Pri teh pogojih se pri večini rastlinskih vrst vzpostavi ravnotežna vlaga, ki se giblje od 3,5 % do 6,5 %. Ravnotežno vlago vzorci v sušilni komori praviloma dosežejo v 30 dneh.

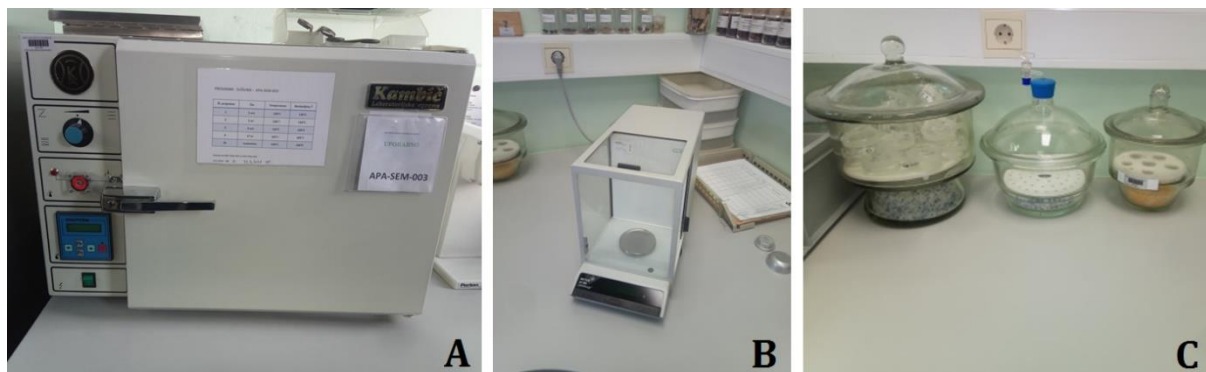
Pripomočki za pripravo vzorcev za dolgoročno shranjevanje: eksikator, aluminizirane vrečke, vakuumski varilec vrečk, tiskalnik etiket.

8. DOLOČANJE KONČNE VLAJE PRED HRANJENJEM SEMEN

Postopek moramo opraviti čim hitreje po končnem sušenju, da vzorec čim manj časa izpostavimo zraku oziroma običajni zračni vlagi. Vlago vsakega vzorca določimo v dveh ponovitvah. Tehtamo na tri decimalna mesta natančno. Za vsak vzorec pripravimo dva prazna tehtiča s pokrovi. Stehtamo prazne tehtiče in podatek zapišemo. Vzorec za analizo vlage dobro premešamo in ga nato za vsak tehtič posebej odvzamemo iz najmanj treh različnih mest. Tehtiča takoj zapremo in stehtamo. Vzorce semen vstavimo v sušilnik in izberemo enega izmed programov sušenja. Natančne nastavitve programov so opisane v protokolu APA-SEM-003. Po končanem programu izključimo sušilnik, zaprte tehtiče pa s prijemalko prestavimo v eksikator. Preostanek vzorca shranimo v za vlago nepropustni posodi do konca postopka za določanje vsebnosti vlage v semenih. Določanje vlage je podrobneje opisano v protokolu MET-SEM-001.

Po določitvi vlage označene vrečke z vzorci v roku 24 ur zavarimo in prenesemo v kontrolirane pogoje za dolgoročno shranjevanje pri temperaturi -18 ± 3 °C in relativni vlagi 15 ± 3 %.

Potrebna oprema: električni sušilnik, silikagel, tehtiči, eksikator, natančna laboratorijska tehtnica, žlica, prijemalka za prijemanje vročih predmetov.



Slika 5: Električni sušilnik (slika A), natančna laboratorijska tehtnica (slika B), eksikatorji s silikagelom in tehtiči (slika C).

9. SHRANJEVANJE VZORCA

Vzorec po koncu sušenja in meritvah vlage prenesemo v delovni prostor, ga stehtamo in takoj zavarimo v aluminizirano vrečko, ki je namenjena dolgoročnemu shranjevanju. Vrečko opremimo z etiketo, ki smo jo predhodno pripravili in natisnili. Na etiketi so navedeni naslednji podatki o vzorcu: rod (GENUS), vrsta (SPECIES), datum (COLLDATE) in številka nabiranja (COLLNUMB) – torej podatki, ki so tudi na originalni vrečki. Navedeni podatki so del EURISCO deskriptorjev (EURISCO, 2017), s pomočjo katerih akcesije opisujemo. Ti med drugim vsebujejo geografske podatke (kje smo vzorec nabrali) ter podatke o tem, kdaj je bil vzorec nabran ter kje in kako je vzorec shranjen.

Vzorci v zavarjenih aluminiziranih vrečkah shranimo v hladilne omare s stalno temperaturo -18 ± 3 °C in relativni vlagi 15 ± 3 %. Na ta način zagotovimo boljšo viabilnost in kalivost semen.

10. VKLUČITEV AKCESIJ V ZBIRKO RASTLINSKIH GENSKIH VIROV

Semena nekaterih ogroženih ali redkih vrst ter značilnic izbranih habitatnih tipov bomo vključili v zbirko rastlinskih genskih virov, ki jo ohranjamo in vzdržujemo v okviru Javne službe nalog rastlinske genske banke. Te akcesije bodo dobile tudi svojo unikatno SRGB številko. Dodatno bomo izpolnili še preostale t.i. 'multicrop passport' podatke (EURISCO, 2017) in vzorce vpisali v Zbirko podatkov rastlinske genske banke.

11. VIRI

- Batič F., Košmrlj – Levačič B., Martinčič A., Cimerman A., Turk B., Gogala N. Seliškar A., Šercelj A. Kosi G. 2011. Botanični terminološki slovar. Inštitut za slovenski jezik Frana Ramovša ZRC SAZU. Ljubljana, Založba ZRC, ZRC SAZU: 650 str.
- Botanic gardens conservation international. The world's largest plant conservation network. Module 4: post collection – cleaning, drying and storage. https://www.bgci.org/wp/wp-content/uploads/2019/04/GSCC-Module-4_EN.pdf
- Conservation management notes. Managing bushland and wildlife habitat. Seed collecting. <https://www.environment.nsw.gov.au/resources/cpp/SeedCollecting.pdf>
- De Vitis M., Hay F.R., Dickie J.B., Trivedi C., Choi J., Fiegenger R. 2020. Seed storage: maintaining seed viability and vigor for restoration use. Restoration Ecology, 28, S3: S249-S255
- EURISCO. 2017. Descriptors for uploading passport data to EURISCO. https://www.ecpgr.cgiar.org/fileadmin/templates/ecpgr.org/upload/EURISCO/EURISCO_MC_PD2_descriptors_updated_November_2017.pdf
- FAO. 2014. Genebank standards for plant genetic resources for food and agriculture. Rev. ed. Rome. 169 str.
- Frischie S., Miller A.L., Pedrini S., Kildisheva O.A. 2020. Ensuring seed quality in ecological restoration: native seed cleaning and testing. Restoration Ecology, 28, S3: S239-S248
- ISTA Rules (International Seed Testing association - mednarodna zveza za testiranje semen), zadnja veljavna izdaja
- Martinčič A., Wraber T., Jogan N., Podobnik A., Turk B., Vreš B., Ravnik V., Frajman B., Strgulc Krajšek S., Trčak B., Bačič T., Fischler M. A., Eler K., Surina B. 2007. Mala flora Slovenije: ključ za določanje praprotnic in semenk. 4. dopolnjena in spremenjena izdaja. Ljubljana, Tehniška založba Slovenije: 967 str.
- Pedrini S., Dixon K.W. 2020. International principles and standards for native seeds in ecological restoration. Restoration Ecology, 28, S3: S286-S303
- Regional wood energy development programme in Asia GCP/RAS/131/NET. Collection, storage and treatment of tree seeds. A handbook for small farm tree planters. 5. How to prepare seeds for storage. <https://www.fao.org/3/ad226e/AD226E05.htm>
- Seed processing and storage. Principles and practices of seed harvesting, processing, and storage: an organic seed production manual for seed growers in the Mid-Atlantic and Southern U.S. https://www.carolinafarmstewards.org/wp-content/uploads/2012/05/SeedProcessingandStorageVer_1pt3.pdf
- Verbič J. 2021. Navodilo za upravljanje zbirke trav, metuljnic in drugih krmnih rastlin. Ministrstvo za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano, Kmetijski inštitut Slovenije, Ljubljana, 11 str.