

# VSEBNOST SKUPNIH FENOLOV V BELJAVI RDEČEM SRCU IN PORANITVENEM LESU PRI BUKVI (*FAGUS SYLVATICA*)

total phenol content in sapwood, red heart and wound-wood in beech (*Fagus sylvatica*)

*Izvleček: S preliminarno preiskavo smo želeli preveriti primernost UV-VIS spektrofotometrične analize po Folin-Ciocaltău metodi za določevanje deleža skupnih fenolnih spojin v različnih delih drevesnega debla bukve (*Fagus sylvatica* L.). Kvantitativno določitev vsebnosti skupnih fenolov v različnih tipih lesnih tkiv smo izrazili v ekvivalentih dveh standardnih spojin, kvercetin in galne kisline. Rezultati spektrofotometrične analize so pokazali, da se delež skupnih fenolov med posameznimi kategorijami lesnih tkiv razlikuje. Visok delež skupnih fenolnih spojin je značilen predvsem za reakcijsko cono in poranitveni les, v beljavi in diskoloriranem lesu pa je skupnih fenolov manj. Uporaba Folin-Ciocaltău reagenta v kombinaciji z UV-VIS spektrofotometrijo predstavlja primerno metodo za določanje vsebnosti skupnih fenolov v različnih tipih lesa.*

*Ključne besede: Fenoli, UV-VIS spektrofotometrija, Folin-Ciocaltău reagent, kvercetin, galna kislina, bukovina, beljava, diskoloriran les, poranitveni les*

*Abstract: With the preliminary investigation we wanted to verify the suitability of spectrophotometric analysis by means of Folin-Ciocaltău method for the purpose of determining the total phenolic compounds in different parts of the tree trunk. The contents of total phenol compounds for different types of beech wood tissue were expressed with equivalents of two reference compounds, quercetin and gallic acid. The results of spectrophotometric analysis indicate the variability of total phenol content between different categories of wounded beech wood tissue. Higher amount of the total phenols was observed in the reaction zones and wound-wood, while in the sapwood and discoloured heartwood the content of total phenolic compounds was lower. The use of Folin-Ciocaltău reagent in combination with UV-VIS spectrophotometry represents a suitable method for determination of total phenols in different types of wood.*

*Key words: Phenols, UV-VIS spectrophotometry, Folin-Ciocaltău reagent, quercetin, gallic acid, beech wood, sapwood, discoloured wood, wound-wood*

## UVOD

Sekundarni ksilem je biokemijski proizvod dreves, ki ga sestavljajo polimerni gradniki celične stene in ekstraktivi. V splošnem je kemijska sestava lesa izredno variabilna in

odvisna od številnih dejavnikov kot so drevesna vrsta, rastišče, del drevesa ali debla in sekundarnih sprememb v lesnem tkivu (Dinwoodie, 2000; Panshin in Zeeuw, 1980; Tsoumis, 1991). Z izrazom sekundarne spremembe v lesu običajno opisujemo nastanek jedrovine in nastanek diskoloriranega lesa. Kljub različnemu izvoru je za jedrovino in diskoloriran les značilnih nekaj podobnih anatomskih sprememb, kot so okluzije trahej s tilami in/ali gumoznimi snovmi, suberizacija til in parenhimskih celic (Merela in sod., 2005; Oven in sod., 2008; Parameswaran in sod., 1985; Schmitt in Liese, 1993; Torelli in sod., 1994) ter depozicija nizkomolekularnih sekundarnih metabolitov v je-

Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za lesarstvo, Jamnikarjeva 101, SI-1000 Ljubljana, e-pošta: viljem.vek@bf.uni-lj.si

\* Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za lesarstvo, Jamnikarjeva 101, SI-1000 Ljubljana, dr. e-pošta: primoz.oven@bf.uni-lj.si

Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za lesarstvo, Jamnikarjeva 101, SI-1000 Ljubljana, e-pošta: gregor.rep@bf.uni-lj.si

drovini in snovi z večjo molekularno maso v diskoloriranem lesu (Albert in sod., 2003; Koch in sod., 2003; Torelli, 2003).

Diskoloriran les nastane kot odziv ksilemskih tkiv na mehansko poškodovanje, razvije pa se lahko v osrednjem delu ali na periferiji debla, odvisno od tipa mehanske poškodbe (Torelli, 2001). Od zdrave beljave je diskoloriran les zamejen z reakcijskimi conami, ki predstavljajo mesto aktivnega odziva parenhimskih celic beljave na spremenjene mikrookoljske razmere v poškodovanem lesu (Shain, 1967; Shortle in sod., 1996; Shortle in sod., 1995). Po poškodovanju nastanejo tudi nova poranitvena tkiva, ki poizkušajo prerasti poškodbo in tako vzpostaviti sklenjenost vaskularnih tkiv.

Bukevje je ena izmed gospodarsko najpomembnejših lesnih vrst v slovenskih gozdovih. Zaradi uporabe težke mehanizacije pri poseku dreves in spravlju hlodovine se povečuje delež mehansko poškodovanih bukev, s tem pa tudi delež z ranitvijo spremenjenih tkiv, ki v gozdarsko-lesarski verigi praviloma predstavljajo odpadke. Anatomija diskoloriranega lesa, t.j. rdečega srca, in poranitvenih tkiv je prav pri bukvi relativno dobro raziskana, manj pa je podatkov o vsebnosti in karakterju ekstraktivov v tako spremenjenem tkivu. Koch in sodelavci (2003) so identificirali nekatere ekstraktive, ki se pojavljajo v rdečem srcu bukve, Albert in sodelavci (2003) pa so ugotavljali vsebnosti fenolnih ekstraktivov v rdečem srcu bukve pri različnih režimih sušenja. Kot kaže pregled literature, praktično v celoti manjkajo podatki o vsebnosti ekstraktivov v reakcijskih conah in poranitvenem lesu bukve. Glede na to, da je kompartmentalizacijskim tkivom pripisano zaščitno in obrambno funkcijo mogoče pojasniti z anatomskimi in biokemičnimi spremembami, domnevamo, da bi se prav v teh tkivih utegnile pojaviti bioaktivne fenolne komponente, ki jih v normalnem lesu sicer ni ali pa bi bila koncentracija morebitnih bioaktivnih snovi znatno višja kot v normalnem lesu, kar je primer v lesu grč iglavcev (Willfor in sod., 2003). V tej preliminarni študiji smo želeli ugotoviti, ali obstajajo razlike v vsebnosti fenolnih ekstraktivov med različnimi kategorijami lesa bukve. Za kvantitativno analizo fenolnih snovi v ekstraktih lesa se uporablja kolorimetrična metoda, ki temelji na uporabi reagenta Folin-Ciocalteu, pri čemer je vsebnost ekstraktivov izražena v ekvivalentih standardne spojine (Scalbert in sod., 1989). Scalbert in sodelavci so na ta način preiskovali vsebnost fenolnih snovi v ekstraktih lesa 5 iglavcev in 12 listavcev, med njimi tudi pri bukvi (*Fagus sylvatica*), vendar ne navajajo kategorije lesnega tkiva, ki so ga pri tej vrsti proučevali.

V pričujočem prispevku smo zato želeli preveriti primerčnost metode, ki temelji na uporabi reagenta Folin-Ciocalteu, za določitev vsebnosti skupnih fenolov v normalnem, delno razkrojenem in poranitem lesu ter v rdečem srcu in reakcijskih conah pri bukvi (*Fagus sylvatica*). Ovre-



**Slika 1. Rožnik Tivoli: posek in razrez bukve (*Fagus sylvatica* L.) vzorce za analizo vseh fenolov smo odvzeli na delu z več metrov dolgo mehansko poškodbo.**

dnotiti smo želeli tudi primernost oz. ustreznost standardne spojine, zato smo vsebnost fenolov izrazili v ekvivalentih kvercetina in galne kisline.

## MATERIAL IN METODA

V raziskavo smo vključili material, ki smo ga pridobili pri poseku mehansko poškodovane bukve (*Fagus sylvatica* L.) v primestnem gozdu Rožnik Tivoli v Mestni občini Ljubljana. Drevo je raslo na blagem jugozahodnem pobočju v sestoji, kjer prevladujejo odrasle bukke. Iz debla posekanega drevesa smo 26. 2. 2009 izžagali več kolotov (slika 1), sveže vzorce prenesli v delavnico Oddelka za lesarstvo, jih grobo razrezali in shranili v zamrzovalni skrinji do nadaljnje obdelave.

Pred razrezom smo material skrbno pregledali in ga makroskopsko opisali, zatem pa na osnovi rastnih posebnosti označili bodoče vzorce, ki smo jih namenili za ekstrakcijo. Odvzeli smo vzorce intaktne beljave, poranitvenega lesa, rdečega srca, reakcijskih con in razkrojenega lesa. Velikost vzorcev je bila 40 mm x 40 mm x 50 mm, v primeru reakcijskih con in poranitvenega lesa pa je bila velikost vzorcev prilagojena obliki in velikosti tkiv. Z uporabo modelarske tračne žage in dleta smo vzorce predelali v iveri in jih shranili v ustrezno označene petrijevke, jih posušili do zračno suhega stanja in nato zmlili v laboratorijskem mlinu z vodnim hlajenjem IKA A10. Lesni prah smo presejali skozi sito s 400 µm odprtini. Tako pridobljeno frakcijo vzorca smo nato shranili v tesno zaprte plastične posode.

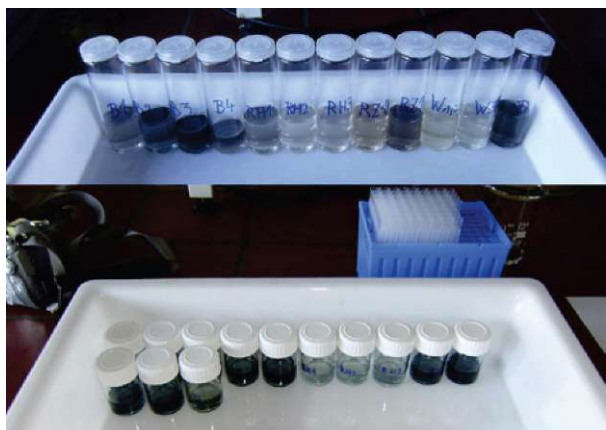
Določili smo tudi delež suhe snovi v vzorcu, pri čemer smo vlažnost lesnega prahu določili skladno s TAPPI stan-

dardom (T264-cm-97, 2002). Nato smo izvedli ekstrakcijo fenolnih spojin tako, da smo v ustrezno označene 100 mL čaše natehtali 0,25 g lesnega vzorca in dodali 25 mL 80 % vodne raztopine metanola. Ob stalnem mešanju na magnetnih mešalih smo vzorce ekstrahirali 6 ur (Albert in sod., 2003), nato smo metanolne ekstrakte prefiltrirali in jih do pričetka nadaljnjih analiz hranili pri 4 °C.

Delež skupnih fenolov v ekstraktih bukovine smo določili spektrofotometrično z uporabo Folin-Ciocalteu reagenta po postopku, ki ga je predlagal Scalbert s sodelavci (1989). Pripravili smo vodno raztopino Folin-Ciocalteu reagenta (Sigma) (redčenje z vodo v razmerju 1/9, v/v), vodno raztopino natrijevega karbonata (Riedel-de Haën) (7,5 g/L) ter raztopine kvercetina (Sigma) s koncentracijami (151,2, 75,6, 37,8, 18,3, 9,5, 4,7 in 2,4) mg/L in raztopine galne kisline (Fluka) s koncentracijami (500, 250, 125, 100 in 50) mg/L. Slednje so služile za določitev umeritvenih krivulj.



**Slika 2. Raztopine različnih koncentracij kvercetina in galne kisline po dodatku Folin-Ciocalteu reagenta.**



**Slika 3. Metanolni ekstrakti bukovine pred dodatkom Folin-Ciocalteu reagenta in po njem.**

Pred spektrofotometričnimi meritvami smo k 0,5 mL metanolnega ekstrakta oz. standardne raztopine dodali 2,5 mL razredčenega Folin-Ciocalteu reagenta ter po 30 sekundah še 2 mL raztopine natrijevega karbonata. Tako pripravljene vzorce smo nato dobro premešali (sliki 2 in 3).

Po 2-urni inkubaciji pri 20 °C smo z UV-VIS spektrofotometrom Perkin-Elmer Lambda 2 določili absorbance vzorcev pri 765 nm, kot navaja Scalbert s sodelavci (1989). Pri tem smo uporabili kvarčne kivete z 10 mm optično potjo, meritve pa izvedli proti 80 % metanolu. Slepri vzorec smo pripravili kot zmes 80 % metanola, raztopine Folin-Ciocalteu reagenta in raztopine natrijevega karbonata v razmerju 1:5:4 (v:v:v).

Vsebnost skupnih fenolnih snovi v vzorcih smo določili na osnovi absorbance  $A_{765}$  s pomočjo enačbe regresijskih premic umeritvenih krivulj za obe referenčni spojini, torej kot ekvivalente masnih koncentracij kvercetina oziroma galne kisline [mg/L]. Vsebnost fenolov smo podali tudi kot množino fenolov na 100 gramov lesa [mmol/100g les], izraženo v ekvivalentih kvercetina ter galne kisline.

## REZULTATI IN DISKUSIJA

Prečni prerez mehansko poškodovanega dela debla bukke, na katerem so označeni vzorci, ki smo jih odvzeli za ekstrakcijo, je prikazan na sliki 4. Prečni prerez izkazuje prostorsko definirane spremembe, ki v lesnem tkivu nastanejo kot posledica mehanske poškodbe. Tako je mogoče brez težav locirati mesto poškodbe ter razlikovati les, ki je nastal do trenutka poškodovanja, od lesa, ki je nastal po poškodbi. Poranitveni les raste preko poškodovanega lesnega cilindra. Na robovih rane je debelina poranitvenega lesa največja, distalno tangencialno od poškodbe je debelina lesa, ki nastaja po poškodbi, vse bolj podobna debelini normale ksilemske branike.

Na lokaciji lesa, ki je nastal pred poškodbo, je mogoče jasno ločiti barvno spremenjeno tkivo od neprizadete beljave. V območju barvno spremenjenega tkiva pa je že s prostim očesom mogoče ločiti več različnih sprememb lesa. Lesno tkivo tik pod površino poškodbe je podvrženo biološkemu razkroju, kar potrjuje tudi intenzivno temno obarvanje. Pod razkrojenim tkivom se nahaja domnevno abiotska diskoloracija. Obe kategoriji obarvanega lesa razmejuje reakcijska cona. Četudi diskoloracija jezičasto sega v beljavo, ki je nastala že pred poškodbo, so neugodne posledice poškodovanja (razkroj in diskoloracija) učinkovito kompartmentalizirane; neprizadeto beljavo ščiti temno obarvana reakcijska cona (slika 4).

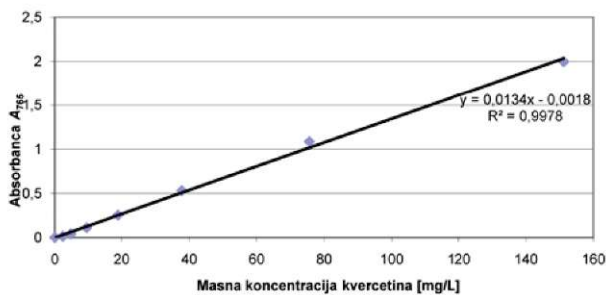
Umeritveni krivulji za kvercetin in galno kislino sta prikazani na slikah 5 in 6. Ključno za to, da smo dosegli visok koeficient determinacije  $R^2$  med masno koncentracijo



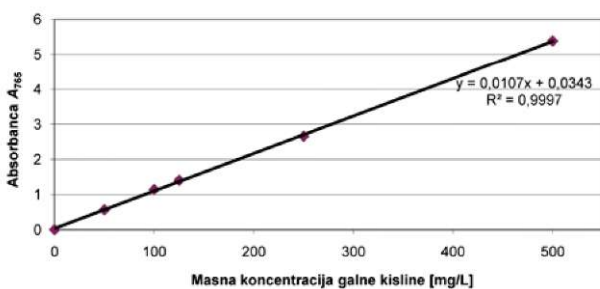
**Slika 4. Topografija tkiv na prečnem prerezu poškodovanega dela debla bukve. B = vzorci beljave, W = poranitveni les, RH = vzorci rdečega srca, RZ = reakcijska cona. odvzeli smo tudi vzorec razkrojenega lesa in ga označili z D, vendar oznaka na sliki ni razločna.**

referenčne snovi in njeno absorbanco, je bila skrbna in natančna priprava raztopin ter vzdrževanje čistoče vse steklovine, vključno s kivetami spektrofotometra.

Preglednica 1 prikazuje vsebnost skupnih fenolov v 12 vzorcih različnih kategorij lesa bukve. Množina skupnih fenolov, izražena v ekvivalentih kvercetina na 100 gra-



**Slika 5. Umeritvena krivulja za kvercetin z enačbo premice in vrednostjo koeficienta determinacije  $R^2$ . Absorbanca je bila merjena pri valovni dolžini 765 nm.**



**Slika 6: Umeritvena krivulja za galno kislino z enačbo premice in vrednostjo koeficienta determinacije  $R^2$ . absorbanca je bila merjena pri valovni dolžini 765 nm.**

mov lesa je največja v reakcijskih conah RZ1 in RZ2 (3,240 mmol/100gles in 2,558 mmol/100g les) ter v poranitvenem lesu W1-2 in W3 (2,683 mmol/100g les in 2,353 mmol/100g les), najmanj fenolnih spojin pa smo določili v rdečem srcu (0,502 mmol/100g les, 0,505 mmol/100g les in 0,825 mmol/100g les) (Preglednica 1).

Primerjava množine skupnih fenolov po posameznih kategorijah tkiv bukvine, preračunanih na ekvivalent galne kisline kaže, da so absolutne vrednosti koncentracij fenolnih spojin opazno višje kot v primeru preračunavanja na ekvivalent kvercetina, kar je mogoče pojasniti z manjšo absorbanco galne kisline pri enaki koncentraciji, trend razporeditve po posameznih tkivih pa je seveda enak.

Visoka vsebnost fenolnih ekstraktivov je bila značilna za reakcijske cone in poranitveni les, v diskoloriranem rdečem srcu pa je bilo fenolnih ekstraktivov najmanj (slika 7). Poranitveni les vsebuje več skupnih fenolov kot normalna beljava. V neprizadeti beljavi je nakazana radialna variabilnost vsebnosti fenolnih snovi, pri čemer jih je v perifernih delih beljave več kot v osrednjem delu debla.

Pojav fenolnih snovi v reakcijskih conah sovпада s kompartmentalizacijsko funkcijo teh tkiv, ki nastanejo kot aktiven obrambni odziv živih parenhimskih celic lesa na prodiranje patogenih organizmov ali abiotičkih sprememb v poškodovanih tkivih (Schwarze in Baum, 2000; Shain, 1967). Poleg značilnih anatomskih sprememb, ki spremljajo nastanek reakcijskih con (Merela in sod., 2005), se v teh tkivih očitno kopičijo tudi fenolne snovi, ki prispevajo k njeni kompartmentalizacijski učinkovitosti. Večjo vsebnost skupnih fenolov so v reakcijskih conah oziroma mejnih plasteh diskoloracijskih stolpcev zasledili tudi pri drugih drevesnih vrstah (Shortle in Smith, 1990). Povečano koncentracijo fenolnih snovi v reakcijskih conah, t.j. na meji med beljavo in rdečim srcem, nekateri avtorji pojasnjujejo z nastankom fenolov in situ, v tkivu, ki se nahaja v neposredni bližini reakcijske cone (Albert in sod., 2003). Verjetno je to eden izmed razlogov za pojav relativno visoke vsebnosti skupnih fenolov v starejših delih beljave. Relativno skromna vsebnost fenolnih snovi v rdečem srcu kaže, da fenolne snovi verjetno sodelujejo pri nastanku barvnih substanc. Rdeče-rjavi kromofori diskoloriranega lesa pri bukvi verjetno nastajajo med oksidacijo in polimerizacijo fenolnih snovi v kemičnem ali encimatskem procesu (Albert in sod., 2003; Torelli, 2001).

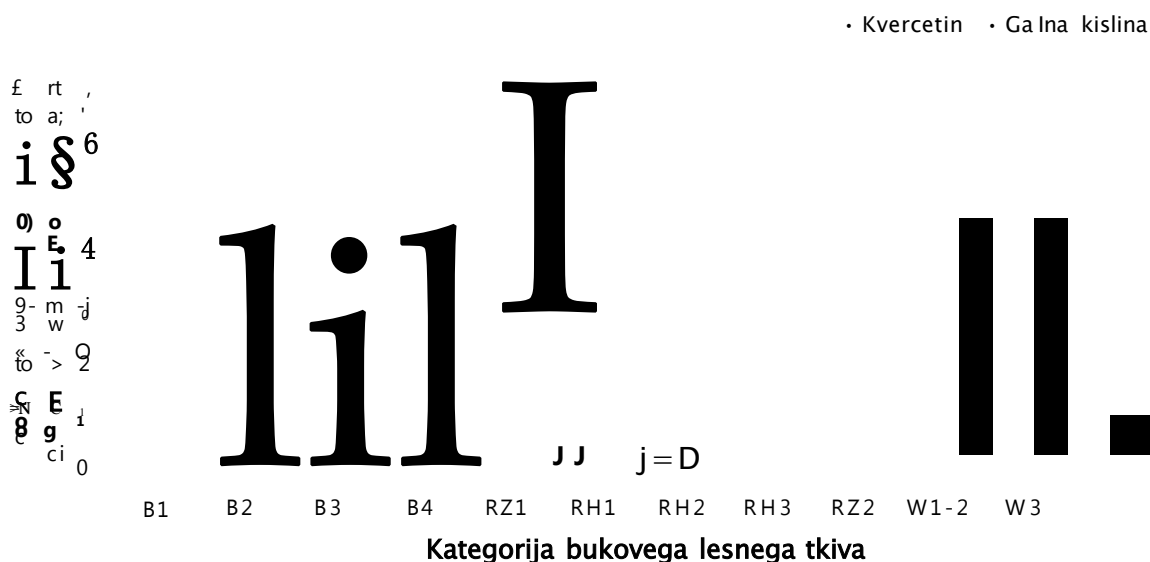
Visoka vsebnost fenolov v poranitvenem lesu bi utegnila biti povezana z zaščitno funkcijo teh tkiv, saj so ključna za preživetje kambija po poškodovanju. Možno je, da se vsebnost skupnih fenolov v teh tkivih poveča zaradi obrambnega odziva parenhimskih celic na kolonizacijo z glivami, ki vanj prodirajo iz okuženega lesa, kljub temu, da

**Preglednica 1. Vsebnost skupnih fenolov v različnih kategorijah lesa bukve. B = beljava, W = poranitveni les, RH = rdeče srce, Rz = reakcijska cona, D = razkrojen les.**

vzorec	m vzorca, % [g]	Absorbanca vzorca pri 765 nm	Ekvivalenti kvercetina		ekvivalenti galne kisline	
			Masna koncentracija [mg/L]	Množina na 100 g lesa [mmol/100g les]*	Masna koncentracija [mg/l]	Množina na 100 g lesa [mmol/100g les]**
B1	0,2243	0,5739	42,96	1,584	50,43	3,303
B2	0,2323	0,7043	52,69	1,876	62,62	3,960
B3	0,2323	0,7356	55,03	1,959	65,54	4,146
B4	0,2282	0,9245	69,13	2,505	83,20	5,357
RH1	0,2318	0,1866	14,06	0,502	14,23	0,902
RH2	0,2323	0,1883	14,19	0,505	14,39	0,911
RH3	0,2311	0,3072	23,06	0,825	25,50	1,622
W1-2	0,2317	1,0054	75,16	2,683	90,76	5,756
W3	0,2311	0,8791	65,74	2,353	78,95	5,022
RZ1	0,2311	0,9557	71,46	2,558	86,11	5,476
RZ2	0,2315	1,2134	90,69	3,240	110,20	6,994
D	0,2314	0,4023	30,16	1,078	34,39	2,184

\*Množina fenolov, izraženih v ekvivalentih kvercetina na 100 g lesa.

\*\*Množina fenolov, izraženih v ekvivalentih galne kisline na 100 g lesa.



**Slika 7. Primerjava vsebnosti skupnih fenolov, izraženih v ekvivalentih kvercetina in galne kisline (B = beljava, W = poranitveni les, RH = rdeče srce, RZ = reakcijska cona.)**

je med njima učinkovita kompartmentalizacijska bariera, stena 4 modelnega koncepta CODIT (Compartmentalization Of Decay In Trees) (Shigo in Marx, 1977). Povečana vsebnost skupnih fenolov v vzorcih beljave in porani-

tvenega lesa bi utegnila biti posledica uporabljenega reagenta, saj je znano, da lahko prisotnost reducirajočih sladkorjev, ki se nahajajo v beljavi, ne pa tudi v lesu, ki ne vsebuje več živih parenhimskih celic, vpliva na rezultat

(Scalbert in sod., 1989). Kljub enoznačnim in primerljivim rezultatom, ki smo ji pridobili z uporabo standarda kvercetina in galne kisline, se zdi, da je galna kislina bolj primerna za tovrstne analize, saj je dosegljiva kot stabilna in čista substanca, poleg tega pa je tudi cenejša od kvercetina.

Metoda določanja vsebnosti skupnih fenolov z uporabo Folin-Ciocalteu reagenta v kombinaciji s spektrofotometričnimi meritvami je primerna metoda za ugotavljanje vsebnosti skupnih fenolov v različnih kategorijah lesnih tkiv. Rezultati pričujoče preliminarne preiskave bukovine nakazujejo, da vsebnost fenolov odraža fiziološko funkcijo različnih kategorij lesa v drevesu.

## ZAHVALA

Avtorji se zahvaljujemo Javni agenciji za raziskovalno dejavnost Republike Slovenije za finančno podporo programske skupine P4-0015-0481.

## LITERATURA

1. **Albert L., Hofmann T., Németh, Z. I., Rétfalvi T., Koloszár J., Varga S., Csepregi I. (2003)** Radial variation of total phenol content in beech (*Fagus sylvatica* L.) wood with and without red heartwood. *Holz als Roh- und Werkstoff*, 61, 3: 227-230
2. **Dinwoodie J. M. (2000)** Timber: Its nature and behaviour. E & FN spon, London, New York, 257
3. **Koch G., Puls J., Bauch J. (2003)** Topochemical characterisation of phenolic extractives in discoloured beechwood (*Fagus sylvatica* L). *Holzforchung*, 57, 4: 339-345
4. **Merela M., Straže A., zupančič M., Torelli N., oven P. (2005)** Osnovna gostota, permeabilnost in zgradba reakcijskih con pri bukvi. *Les*, 57, 1-2: 11-16
5. **oven P., Merela M., Mikac U. A., Serša I. (2008)** 3D magnetic resonance microscopy of a wounded beech branch. *Holzforchung*, 62, 3: 322
6. **Panshin A. J., Zeeuw C. D. (1980)** Textbook of Wood Technology. Structure, Identification, Properties and Uses of a Commercial Woods of the United States and Canada. McGraw-Hill Book, New York, 722
7. **Parameswaran N., Knigge H., Liese W. (1985)** Electron microscopic demonstration of a suberised layer in the tylosis wall of beech and oak. *IAWA Bulletin*, 6, 3: 269-271
8. **Scalbert A., Monties, B., Janin, G. (1989)** Tannins in wood: comparison of different estimation methods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 37, 5: 1324-1329
9. **Schmitt U., Liese W. (1993)** Response of xylem parenchyma by suberization in some hardwoods after mechanical injury. *Trees*, 8, 23-30
10. **Schwarze F. W. M. R., Baum S. (2000)** Mechanisms of reaction zone penetration by fungi in wood of beech (*Fagus sylvatica* L). *New Phytol.*, 146, 129-140
11. **Shain L. (1967)** Resistance of Sapwood in Stems of Loblolly Pine to Infection by *Fomes Annosus*. *Phytopathology*, 57, 1034-1045
12. **Shigo A. L., Marx H. G. (1977)** Compartmentalization of decay in trees. *USDA Forest Service Agriculture Information Bulletin*, 405, 73
13. **Shortle W., Smith K., Dudzik K. R. (1996)** Decay diseases of stemwood: detection, diagnosis, and management. *Forest Trees and Palms*, 95-109
14. **Shortle W. C., Smith K. T. (1990)** Decay column boundary layer formation in maple. *Biodeterioration research*, 3, 377-389
15. **Shortle W. C., Smith K. T., Dudzik K. R., Parker S. (1995)** Response of Maple Sapwood to Injury and Infection. *European Journal of Forest Pathology*, 25, 241-252
16. **T264-Cm-97 (2002)** Preparation of wood for chemical analysis.
17. **Torelli N. (2001)** Odziv drevja na globoke in površinske poškodbe na primeru bukve (*Fagus sylvatica* L.) s poudarkom na nastanku in ekologiji ranitvenega lesa ("rdeče srce"). *Gozdarski vestnik*, 59, 2: 85 - 94
18. **Torelli N. (2003)** Ojedritev - vloga in proces. *Les*, 55, 368-379
19. **Torelli N., Križaj B., oven P. (1994)** Barrier zone (CODIT) and wound-associated wood in beech (*Fagus sylvatica* L). *Holzforchung und Holzverwertung*, 46, 49-51
20. **Tsoumis G. T. (1991)** Science and technology of wood: structure, properties, utilization. Van Nostrand Reinhold, New York, 494
21. **Willfor S., Hemming J., Reunanen M., Eckerman C., Holmbom B. (2003)** Lignans and Lipophilic Extractives in Norway Spruce Knots and Stemwood. *Holzforchung*, 57, 1: 27-36