

# ПИЛОТ ОБЈЕКТИ *EX SITU* КОНЗЕРВАЦИЈЕ ГЕРМПЛАЗМЕ ЧЕТИНАРА У СРБИЈИ И ЊИХОВ ДОПРИНОС УСМЕРЕНОМ КОРИШЋЕЊУ ГЕНЕТИЧКИХ РЕСУРСА

ВАСИЛИЈЕ ИСАЈЕВ<sup>1</sup>

**Извод:** У раду су представљени резултати конзервације, анализа, тестирања и коришћења генофонда аутохтоних врста четинара Србије. За оснивање више наменских пилот-објеката, поред међународних искустава и метода рада, примењени су резултати вишегодишњих теренских и лабораторијских истраживања варијабилитета унутар и међуприродних популација смрче (*Picea abies* Karst), црног бора (*Pinus nigra* Arnold), белог бора (*Pinus sylvestris* L.) и антропогено основаним популацијама оморике (*Picea omorika* /Panč/ Purkyne). Подигнути пилот објекти, према избору локација, резултатима спроведених истраживања у полазним популацијама, биотехнолошким карактеристикама садница произведених од семена тест стабала, као и шемом садње биљака на терену, оригинални су и у складу са међународним стандардима *ex situ* конзервације ових врста.

**Кључне речи:** *ex situ* конзервација, смрча, оморика, црни бор, бели бор

PILOT UNITS ORCHARDS OF *EX SITU* CONSERVATION OF CONIFER  
GERMPLASM IN SERBIA AND THEIR CONTRIBUTION TO  
THE SUSTAINABLE USE OF GENETIC RESOURCES

**Abstract:** The paper presents the results of conservation, analysis, testing and use of the gene pool of native coniferous species in Serbia. The establishment of several specific purpose pilot units orchards was based not only on international working methods and experience but also on the results of several years of field and laboratory research of intra- and international populations of Norway spruce (*Picea abies* Karst), Austrian pine (*Pinus nigra* Arnold), Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) in artificially-established populations of Serbian spruce (*Picea omorika* /Panč/ Purkyne). According to the selected location, the results of the investigations carried out in the starting populations, biotechnological characteristics of seedlings produced from the seed of test trees and the planting scheme in the field, the established pilot units orchards are original and in line with international standards of *ex situ* conservation of these species.

**Keywords:** *ex situ* conservation, Norway spruce, Serbian spruce, Austrian pine, Scots pine

## 1. УВОД

Шумски генетички ресурси Србије су према броју примерних ген-центра врста дрвећа и жбуња, међу најзначајним у Европи (Исајев, В. *et al.*, 1997). Значај овог богатства превазилази националне оквире и подразумева интензивну заштиту и очување методама *in situ* и *ex situ* конзервационе генетике. Конзервација, заштита, управљање и усмерено коришћење рас-

---

<sup>1</sup> др Василије Исајев, ред. проф. у пензији, Београд

положивим генетским ресурсима перманентно се развија како би се трајност постојећег потенцијала очувала за будуће генерације. У Србији, као и у већини држава Европе, ове активности су део националне стратегије које су програмима EUROFORGEN-a – *European Forest Genetic Resources Programme* обједињене на нивоу држава чланица ове асоцијације. Методе рада на очувању и у усмереном коришћењу генетских ресурса дрвећа, зависе од укупног знања о врстама, и вишенаменским циљевима, које се стратегијом конзервације постижу. Интерактивна повезаност конзервације генофонда врста са оплемњивањем и побољшањем својстава дрвећа, подразумева очување и заштиту генетске варијабилности у шумским популацијама (Исајев, В. *et al.*, 1990).

Активности на конзервацији генофонда популација четинара, поред општих методских приступа, за сваку врсту садрже и специфичности које су условљене: величином и карактеристикама ареала, њеним биоеколошким одликама, генетичком структуром, начином размножавања, и њеним опште крисним функцијама, значајних за хуману популацију. У активностима конзервације врста и унутарврсне варијабилности обе стратегије, *in situ* и *ex situ*, су комплементарне и одвијају се паралелно. Стратегија *ex situ* конзервације има за циљ фиксирање, анализирање и усмерено коришћење компонената генетичког диверзитета популација изван њиховог природног, спонтаног станишта (Матаруга, М. *et al.*, 2015). У току развоја програма конзервационе генетике и оплемењивања четинара, развиле су се различите методе *ex situ* очувања генофонда дрвећа. Специфичности метода заснивају се на општим биолошким карактеристикама врсте, међу којима су од изузетног значаја облици размножавања - генеративно и вегетативно, адаптабилни потенцијал на климатске промене, одлике промена у популацијама и могућностима складиштења семена.

Ова стратегија подразумева оснивање пилот објеката чија је вишеструка функционалност значајна и са оперативног и научног аспекта.

Од средине XX века конзервација, анализа, тестирање и коришћење генофонда четинара у Србији континуирано се обавља на популационом и индивидуалном нивоу применом следећих активности (Исајев, В. *et al.*, 1988, 1997):

а) изучавањем природе фенотипске варијабилности у великим и малим популацијама,

б) унапређењем технике масовне и индивидуалне селекције,

в) спровођење блиске и удаљене хибридизације;

г) анализама морфометријских карактеристика генеративних и вегетативних органа,

д) применом генетичких и биохемијских маркера у анализама интра и интер популационе варијабилности дрвећа,

е) упознавањем међузависности особина раста и развоја анализираних генотипова и њиховог потомства.

У Србији, поред међународног искустава и метода рада, за оснивање вишенаменских пилот објеката примењени су резултати вишегодишњих теренских и лабораторијских истраживања природе варијабилитета унутар и

међу природним, популацијама смрче (*Picea abies* Karst), црног (*Pinus nigra* Arnold) и белог бора. (*Pinus sylvestris* L.) и популацијама антропогеног порекла код оморике (*Picea omorika* /Panč/ Purkyně). Подигнути пилот објекти, према избору локација, резултатима спроведених истраживања у полазним популацијама, биотехнолошким карактеристикама садница произведених од семена тест стабала, као и шемом садње биљака на терену, су оригинални и у складу са међународним стандардима *ex situ* конзервације ових врста. Основани пилот објекти - провенијенични тест смрче, (Исајев, Б. *et al.* 1992), генеративне семенске плантаже прве генерације оморике (Исајев, В., 1987), црног бора (Исајев, В. *et al.*, 1991) и белог бора (Лучић, А., 2012), поред доприноса конзервацији генетског богатства, производњи репродуктивног материјала, значајни су и као експерименталне популације у којима се, применом метода шумарске генетике, физиологије биљака и ген-екологије унапређује стратегија оплемењивања дрвећа. Поред значај за шумарску науку и праксу ови пилот објекти су и експериментални полигони за даљу квалификацију научног кадра.

У раду је приказан преглед вишедеценијских научних истраживања и активности применом *ex situ* стратегије у конзервацији генофонда аутохтоних врста четинара Србије.

## 2. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОД РАДА

### Одређивање величине експерименталних популација

Величина експерименталних популација дрвећа, у конзервационој генетици, заснива се на генетичким, демографским и факторима животне средине (Graudal, L. *et al.*, 1997). Изабрана тест стабла у полазним популацијама наведених врста и њихов репродуктивни материјал - сакупљено семе и произведене саднице у расадницима представљају полазне, популације, обезбеђују довољну адитивну генетичку варијансу, и основа су за спонтано одвијање природне селекције у пилот објектима. Површине објеката, су довољне, тако да је знатно редукован губитак генетичке варијабилности ефектом дрифта гена, као и могуће негативне појаве условљене инбридингом. Величина популација пилот објеката изведена је прорачунима, који обухватају могућу панмиксију, са једнаким фертилитетом и бројем потомака из свих спонтаних комбинација. Ефективна величина популације од 50 индивидуа може да одговара најмање 100-200 индивидуа из природних састојина (Graudal, L. *et al.*, 1997; Eriksson, G., 2001). Процена потребног броја стабала за оснивање експерименталних популација варира, али на основу резултата претходних истраживања као и принципа оснивача популација (Maуr, E., 1970), може се сматрати да је поуздана ефективна величина експерименталне популације која обухвата 30 до 80 полазних – родитељских индивидуа. Узорак ове величине обезбеђује генетичку добит за одабране особине и довољан је да се, са великом вероватноћом очувају копије неутралних алела, у популацији, фреквенције веће од 0,05 (Yanchuk, A., 2001). У Србији је за оснивање пилот објеката *ex situ* конзервације, применом ме-

тода индивидуалне селекције, издвојено 40 тест стабала смрче, црног и белог бора, односно 50 оморике, на основу чега се може сматрати да ови објекти ефективно репрезентују генофонд полазних популација ових врста. У полазним популацијама, идентитет материнских стабала (донора семена) је фиксиран маркирањем на терену и на састојинским картама. Маркирањема тест - материнских стабла могуће је и у будућим анализама повратно користити њихов репродуктивни материјал. Истовремено, у тестовима потомства може се анализирати утицај генотипа сваког тест стабла на динамику раста и развоја, адаптабилност и репродуктивни потенцијал уграђених индивидуа у подигнуте објекте. Наследљивост својстава - познавање наследне везе између материнских стабала и њиховог потомства, основа је за вредновање укупног генетског богатства и стабилности *ex situ* објекта.

У расадницима у Пожеги, Радивојшићи код Ивањице и на Јеловој гори, од урода тест стабала произведене су у Дунемновим лејама саднице линија полусродника. Од укупног број произведених садница, само оне које припадају I квалитетној класи коришћене су, садњом на терену, за оснивање пилот објекта.

### Методe рада у оснивању експерименталних популација

Положај и карактеристике провенијеничног теста смрче (*Picea abies* Karst) на Голији

Провенијенични тест смрче (*Picea abies* Karst) основан је на три локације у околини Ивањице (слика 1): Рача, ГЈ Мучањ – одељење 51, на Мучњу; Рабровица, ГЈ Ковиље – одељење 38, на Јавору и Павићев лаз, ГЈ Голија – одељење 46/с, на Голији (Исајев, В. et al., 1992). Садња биљака на терену извршена је почетком пролећа 1993. године. Саднице су произведене из семена тест стабала смрче из семенских састојина са подручја Србије: на Копаонику, Голији, Златару, Радочелу и Чемерном, и из семена три семенска објекта у Словенији: Јеловица, Машун и Менина. У свакој семенској састојини издвојено је, методама индивидуалне селекције, по 40 тест стабала за сакупљање шишарица. Саднице су, до старости 2+1, одгајене и анализиране у расаднику Радивојшићи. Од семена тест стабала, у расаднику је произведено 32.500 садница старости 2+1, од којих је 2442 коришћено са подизање провенијеничног теста. Приликом избора садница за садњу на терену, примењен је строго селекциони критеријум, на основу којег су биране најразвијеније саднице из сваке провенијенције.

Пре садње обављена је тотална обрада земљишта. Укупно је посађено на све три локације, 2442 садница у блоковима објекта и 1000 саднице на посебној парцели као резерве за допуну. Основне карактеристике локација провенијеничног теста и број посађених биљака на свакој локацији приказан је у табели 1.



**Слика 1.** Провенијенични тест смрче на локалитету Рача – Мучањ  
(фото: Иветић, В., 2004)

**Figure 1** Norway spruce provenance test at the site of Rača - Mučanj  
(Photo: Ivetić, V., 2004)

**Табела 1.** Основне карактеристике локација провенијеничног теста  
(Исајев, В. *et al.*, 1992; Иветић, В., 2004)

**Table 1** The main characteristics of provenance test sites  
(Isajev, V. *et al.*, 1992; Ivetić, V., 2004)

Локација	Надморска висина	Експо-зиција	Површина (ha)	Нагиб	Тип земљишта	Станиште	Број садница
Рача	570 – 615	NW	2,02	изломљен 10 – 35°	(дистрични камбисол) на шкриљцима	Fagetum montanum	1548
Рабровица	1105 – 1125	W	0,63	изломљен 10 – 25°	(дистрични камбисол) на шкриљцима	Fagetum montanum	462
Павићев лаз	1560 – 1570	NE	0,73	15°	Смеђе подзоласто земљиште на филитима	Aceri hel- dreinii - Fagetum	432

## Положај и карактеристике семенске плантаже оморике (*Picea omorika* /Panč/ Purkyne) у Годовику

Семенска плантажа оморике (*Picea omorika* /Panč/ Purkyne), површине 2,87 ha, основана је у селу Годовик код Пожеге (слика 2), на станишту шуме храста китњака и граба (*Quercus petraeae-Carpinetum betuli* Rud. 1949.s.l.). Саднице су произведене од семена 50 тест стабала селекционисаних у антропогено основаним популацијама оморике на три локалитета: на Белој Земљи код Ужица, у Поповој Луци код Кремана и на Шаргану. Генетски потенцијал тест стабала је анализиран у вишегодишњим огледима у лабораторијама Шумарског факултета у Београду, Фитотрону у Стокхолму, ботаничкој башти у Копенхагену и у теренском огледу у расаднику у Пожеги (Исајев, В. 1987). Од семена 50 тест стабала, у расаднику у Пожеги произведено је 34500 садница старости 2+2. Од укупног броја садница, током 1987. године, у генеративну семенску плантажу пресађено је 5959 садница (Исајев, В., 1987). Просторни распоред генотипова у семенској плантажи утиче на размене гена између суседних стабала при слободном опрашивању. На основу шеме садње биљака исте линије у један блок, по први пут су обезбеђена три основна типа размножавања ове врсте: инбридинг, аутбридинг и унипарентално размножавање (Исајев, В., 1987).



Слика 2. Генеративна семенска плантажа оморике у Годовику  
(фото: Исајев, В., 2009)

Figure 2 Generative Seed Orchard of Serbian spruce at Godovik  
(Photo: Isajev, V., 2009)

## Положај и карактеристике семенске плантаже црног бора (*Pinus nigra* Arnold) на Јеловој гори

Семенска плантажа црног бора на Јеловој гори (слика 3а, 3б) основана је 1991. године (Туцовић, А., Исајев, В., 1991). Семенски материјал од којег су произведене саднице за потребе оснивања плантаже, потиче из семенских објеката Шарган - Мокра гора и Црни врх – Прибој, у којима је издвојено 40 тест стабала. Селекционисана тест стабла, према фенотипу, обилности уroda и просторном распореду, унутар семенског објекта репрезентују генетски потенцијал целог семенског објекта, односно, на овај начин обухваћен је значајан део генофонда целе популације. Плантажа је подигнута на станишту заједнице јеле и букве *Abieti-Fagetum moesiacaе* В. Јовановић 1953 *s.l.* садњом двогодишњих садница типа 2+0, по принципу метапопулационе структуре и представља прву семенску плантажу овог типа у Србији. У плантажу је уграђено 5400 садница-генотипова. Саднице су распоређене у пет блокова-субплантажа, а у оквиру сваке субплантаже свих четрдесет линија полусуродника заступљено је са по три понављања. Овакав распоред обезбеђује већу родност, генетичку разноврсност и економичност, бољу адаптивност, стабилност и могућност производње сортног семена.



Слика 3а. Распоред субплантажа у семенској плантажи црног бора на Јеловој гори (фото: Петровић, Д., 2004)

Figure 3a The arrangement of suborchards in Austrian pine seed orchard on Jelova gora (photo: Petrović, D., 2004)

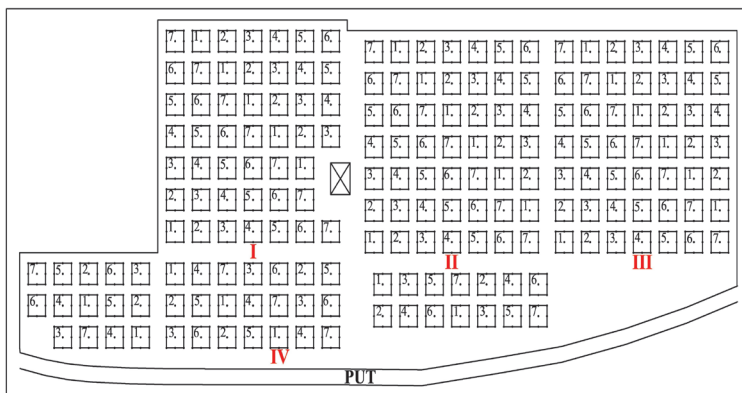


**Слика 3б.** Генеративна семенска плантажа црног бора на Јеловој гори  
(фото: Вукин, М., 2006)

**Figure 3b** Generative Austrian pine seed orchard on Jelova gora  
(Photo: Vukin, M., 2006)

### Положај и карактеристике пилот објекта белог бора (*Pinus sylvestris* L.) на Јеловој гори

Резултати вишегодишњих анализа биолошке и еколошке основе варијабилитета белог бора (*Pinus sylvestris* L.), на популационом и индивидуалном нивоу, примењени су у пројектовању и оснивању пилот објекта за даље вишегодишње тестирање и усмерено коришћење потенцијала ове врсте у Србији (Лучић, А. *et al.*, 2011; Лучић, А., 2012). Пилот објекат је подигнут по принципу метапопулационе структуре, на станишту шуме букве и јеле (*Abieti-Fagetum toesiacaе*), на локацији старог расадника „Јелова Гора“, Шумско газдинство „Ужице“ Ужице. Површина објекта је 90 ари и чине га 4 блока (субплантаже), са по 441 биљака, које равномерно представљују полазне популације (шема 1).



**Шема 1.** Садња биљака у пилот објекту белог бора на Јеловој гори (Лучић, А., 2011)  
**Scheme 1** Planting in the pilot Scots pine orchard on Jelova gora (Lučić, A., 2011)



### 3. РЕЗУЛТАТИ ИСТРАЖИВАЊА И ДИСКУСИЈА

Карактеристике објеката *ex situ* конзервације гермплазме аутохтоних врста четинара у Србији вишеструко су значајни експериментални полигони. Резултати генетског вредновања смрче, у провенијеничном тесту, као и оморике, црног бора и белог бора, у генеративним семенским плантажама, представљају активан приступ очувању, тестирању и вишенаменском коришћењу генофонда ових врста. Опште карактеристике наведених објеката, као и постигнути резултати истраживања квантитативних и квалитативних својстава индивидуа, односно, генофонда ових популација, приказани су одвојено по врстама.

#### **Резултати анализе провенијеничног теста смрче (*Picea abies* Karst) на Голији**

Проучавана својства индивидуа осам одабраних провенијенција смрче (*Picea abies* Karst) у монокултурама на три локалитета код Ивањице, на надморским висинама од 600, 1100 и 1600 m, обухватила су више морфометријских параметара у јувенилном развоју биљака (Шијачић Николић, М. 1995; Шијачић Николић, М. *et al.*, 2000; Иветић, В., 2004). Пет провенијенција потиче са подручја Србије, док су три провенијенције из Словеније.

Резултати обављених анализа потенцијала смрче различитих провенијенција потврдили су да је слободна генетичка варијабилност ове врсте врло велика, а да се, према резултатима спроведених анализа, српске провенијенције, у поређењу са словеначким, одликују већом адаптабилношћу у гајењу под веома различитим еколошким условима (Isajev, V. *et al.*, 1999). У провенијеничном тесту, на станишту брдске букве, где се смрча од природе по правилу не јавља, ова врста има успешан раст и адаптабилност, што указује да поред природног оптимума у зони смрчевог појаса *Picetum excelsae serbicum* Rud., њен техногени оптимум може бити и на станишту других врста.

На основу резултата, обављених анализа у сва три висинска појаса, потврђена је специфичност генофонда смрче из Србије што условљава појаву да овај четинар, на подручјима Србије, гради посебан климатогени појас у односу на друге државе Балканског полуострва.

Компаративна истраживања осам провенијенција указују на то да се провенијенције Голија и Златар одликују израженом адаптабилношћу и динимиком раста, због чега би их требало више користити у будућим активностима на оснивању култура или при пошумљавањима голети на простору западног Балкана.

#### **Резултати обављених истраживања у семенској плантажи оморике (*Picea omorika* /Panč/ Purkyne)**

Истраживања у семенској плантажи оморике (*Picea omorika* /Panč/ Purkyne) у Годовику, организована и спроведена у периоду 1987-2007. године, представљају континуитет у проучавању биологије и екологије оморике. У циљу процене и усмереног коришћења генетског потенцијала 5959 гено-

типова оморице из семенске плантаже, примењене су, као методе оплемењивања, селекција и хибридизација. Тестирањем 30 half-sib линија оморице у фототрону у Стокхолму добијени су први резултати о варијабилитету у реакцији овог ендема на ефекте фотопериодизма (Исајев, В. *et al.*, 1992). Утврђено је да, при дужини дана од 10 до 12 часова, престаје пораст једногодишњих биљака и образују се терминални пупољци чиме биљке улазе у дормантност. Оптимални ефекти на пораст се постижу при дужини дана од 18 до 20 часова. Резултати илуструју прави фотопериодизам код оморице, јер су добијени под утицајем дневне светлости. Фамилије полусродника различито реагују на појаве фотопериодизма, а велики међуфамилијарни варијабилитет вероватно је последица високог степена хетерозиготности материнских веровата.

Проучавањима више параметара цветања, унутар и између half sib линија, као што су - обилност и редовност образовања микро и макростробила, диференцирање генотипова на функционално мушке, односно женске, анализе квалитета полена и анализе клијаваца, прикупљене су поуздане информације неопходне за успешно спровођење хибридизације. Након спровођења контролисане хибридизације, по моделу непотпуног диалелног укрштања, којим је обухваћено 48 различитих родитељских комбинација, обављено је испитивање дела структуре генотипова родитељских индивидуа и њихових хибридних комбинација, на основу анализе у солима растворљивих протеина семена, (Шијачић Николић М., 2000). Код родитељских индивидуа и њихових комбинација, добијени електрофореграми послужили су за израчунавање коефицијента сличности на нивоу мајка-хбрид, отац-хбрид и мајка-отац. Анализом електрофореграма утврђено је постојање различитих врста протеинских фракција-трака: траке заједничке за оба родитеља, траке пореклом једна од оца друга од мајке (кодминантност експресије родитељских гена у хбриду), траке пореклом само од мајке, траке пореклом само од оца и траке специфичне за хбрид (Шијачић Николић, М. *et al.*, 2003). Ови резултати су примењени за израду модела експерименталне клонске семенске плантаже за производњу семена унутарврских хбрида оморице.

Пет фенотипских варијетета оморице: „А“ - варијетет „*borealis*“, Б“ - варијетет '*semidihotomy*', „С“ - варијетет „*serbica*“, „D“ - варијетет „*nana*“, „F“ - тип „*argentea*“, у Годовику, показатељ су унутарврских варијабилности ове врсте. На основу резултата анализе алелног полиморфизма NAD1 гена митохондријалног генома, утврђено је постојање одређеног степена генетичке контроле фенотипске експресије различитих фенотипских варијетета оморице (Миловановић, Ј. *et al.*, 2007). Овај облик унутарврских варијабилности условљен је адаптивно-еколошким феноменима, чија генетичка детерминација још увек није у потпуности објашњена, али је извесно да постоји. На основу генетичке удаљености од осталих фенотипских варијетета, за фенотипску «А» може се претпоставити да представља међуврсни хбрид оморице и смрче, што је изазов за будућа истраживања унутарврских варијабилности оморице. Добијени резултати представљају допринос ближег упознавању узрока настале постгласијалне унутарврских диференцијације оморице и настанак ових фенотипских варијетета.

## Резултати обављених истраживања у семенској плантажи црног бора (*Pinus nigra* Arnold)

Оснивањем генеративне семенске плантаже црног бора (*Pinus nigra* Arnold) на Јеловој гори, на принципима метапопулационе структуре, обезбеђени су повољни и уједначени услови за раст и развој заступљених 40 линија полусродника. У семенској плантажи спроведена су истраживања карактера и променљивости више својстава садница и стабала (када су индивидуе прерасле таксациону границу). Истраживања су паралелно обављана на индивидуалном и групном – линијском и блоковском нивоу. Генетичка основа потенцијала 40 линија полусродника ближе је проучавана анализама варијабилности квантитативних и квалитативних својстава, и математичко-стаистичким методама (Матаруга, М. 1997; Вукин, М. 2006).

Анализама варијабилности квантитативних својстава проучаван је и статистички прецизиран опсег променљивости: раста и развоја садница, морфолошких својстава четина, карактеристике кореновог система, грађе и анатомских својстава четина, ширина прстена прираста, ширина раног и касног дрвета, учешће касног дрвета, анализа варијабилности висина, пречника и њиховог прираста. Варијабилност садржаја фотосинтетичких пигмената у четинма садница, физичка својства дрвета, густина дрвета у апсолутно сувом, просушеном и сировом стању влажности, тачка засићености влаканаца, радијално, тангенцијално и запреминско дубрење, су квалитативна својства садница и стабала, синхронизовано анализирана са квантитативним својствима. Истраживањима је обухваћен и утицај анатомских својстава дрвета (ширине прстена прираста и касног дрвета) на физичка својства дрвета (густину и дубрење дрвета), као и утицај густине на дубрење дрвета.

С обзиром на то да анализиране провенијенције потичу са природних станишта црног бора, која садрже велику генетичку променљивост, може се сматрати да материнска стабла обе провенијенције поседују добру генетичку конституцију, условљену великим степеном хетерозиготности. Истраживања су указала и на то да, црни бор на квалитетном буковом станишту, има потенцијал да у знатној мери користи повољну хумидност и плодност земљишта за повећање прираста основних елемената раста.

Повећана генетичка променљивост је основа за адаптацију популација у екстремним станишним условима, као и за појаву супериорних генотипова који ће експресијом квантитативних и квалитативних својстава свог потомства бити од значаја за даље биотехничке активности у шумарство. Мултифункционалност семенске плантаже, компарација резултата анализе варијабилности морфометријских и квалитативних својстава провенијенција, линија полусродника и индивидуа, допринос су даљњем оплемењивању црног бора.

На основу броја линија полусродника, шеме садње и укупног броја пресађених биљака у плантажи, резултати истраживања могу се поуздано користити у даљем оплемењивању подврсте *Pinus nigra* ssp. *gočensis* var. *illyrica*, на простору њеног укупног ареала.

## Програм истраживања у пилот објекту белог бора (*Pinus sylvestris* L.) на Јеловој гори

Пилот објекат белог бора (*Pinus sylvestris* L.) на Јеловој гори подугнут је у циљу вишегодишњег:

а) тестирања ген-еколошког потенцијала издвојених популација белог бора;

б) проучавања међупопулационог варијабилитета селекционисаних популација;

ц) очувања и конзервације генетске разноврсности белог бора *ex situ*;

д) превођења пилот објекта у генеративну семенску плантажу;

е) унапређења подизања шума белог бора различитих намена.

Овај објекат је основан као вишенаменска површина, тако да, поред производње селекционисаног семена, служи и као експериментално поље за даље оплемењивања белог бора и оснивање плантажа друге, треће и каснијих генерације. Планирана вишегодишња истраживања у пилот објекту имају за циљ:

- очување генетског потенцијала селекционисаних тест стабала из различитих природних популација ове врсте у Србији,

- даље упознавање природе структуре и функционалности генофонда ове врсте у интеракцијама генотип – станишни услови,

- дугорочне анализе генетске експресије селекционисаних индивидуа на раст, развој и репродуктивне параметре и квалитет уroda у интеракцији са дефинисаним типом станишта где је пилот објект подигнут.

Добијени резултати наведених вишегодишњих истраживања представљају основу за подизање семенских плантажа белог бора наредних генерација. Преласком на производњу унутарврских хибрида белог бора са детерминисаним својствима, као што су толерантност на стрес пресадање, толерантност на сушу, квалитет дрвних сортимената и др., унапредиће се подизање шума ове врсте различитих намена.

## 4. ЗАКЉУЧЦИ

*Ex situ* методе конзервације успешно се користе када су генетички ресурси угрожени у њиховим природним популацијама и стаништима и када њихова даља егзистенција и развој захтевају поновно оснивање на неким другим локацијама. *Ex situ* популације посебно су важне у програмима гајења и оплемењивања дрвећа када генетичко управљање захтева усмерено коришћење генетичког потенцијала популација врста дрвећа, како за директне људске потребе, тако и за унапређење адаптационог потенцијала на варијабилне услове животне средине

Обављене анализе у провенијеничном тесту смрче у Србији представљају прилог проучавању диференцијалних својстава и варијабилности смрче у делу њеног природног распрострањења на југоистоку Европе, упознавање производних способности појединих провенијенција у истим и различитим еколошким условима и прикупљање информација о карактеристикама и варијабилности унутар и између изабраних провенијенција на експери-

менталним објектима у Србији.

Генеративна семенска плантажа оморике, основана у селу Годовик, СО Пожега, са 50 линија полусродника заступљених са 5959 генотипова, посађених у 50 блокова, представља једину семенску плантажу ове врсте на подручју Европе. Структурална организација ове плантаже представља основу за многобројна истраживања у области генетике и оплемењивања врсте. Линије полусродника и феногрупе уграђене у плантажу су адекватна основа за дефинисање генетичких дистанци, које ће указати на правац будућег оплемењивања оморике у оквиру овог објекта *ex situ* конзервације.

Контролисана хибридизација у семенској плантажи оморике са селекционисаним генотиповима по моделу непотпуног диалелног укрштања са 48 генотипских комбинација допринос је унапређењу оснивања семенских плантежа друге и каснијих генерација и производњи семенског материјала ове врсте.

Део структуре генома родитељских индивида и њихових хибридни комбинација, анализиран је применом протеинских маркера, као најчешће коришћених полиморфних маркера на нивоу продуката гена. Добијени резултати спроведне хибридизације и анализе структура генома родитељских индивида примењени су за израду оригиналног модела за оснивање експерименталне клонске семенске плантаже за производњу унутарврских хибрида оморике.

Истраживања генетичке структуре оморике и појединачних феногрупа, уграђених у генеративну семенску плантажу у Годовику, основа су за утврђивање могућности примене биохемијских маркера, до сада успешно апликованих у истраживањима везаним за обичну смрчу, при анализи генетичке варијабилности оморике; утврђивање степена генетичке контроле фенотипске експресије код оморике; дефинисање оптималног модела контролисане хибридизације различитих феногрупа у циљу синтезе нових култивара, побољшане еколошке пластичности, продукције биомасе или декоративности.

Применом генетичких маркера преко 12 ензимских система: PX, GDH, PGM, SkDh, GOT, NADH, MDH, FEST, DIA, PGI, IDH i LAP, и анализом полиморфизма митохондријалног *nag1* гена, ближе је дефинисан степен генетичке контроле фенотипске експресије оморике и утврђена је основа промена, које дефинишу поједине феногрупе.

Значај наведених објеката је вишеструк. Поред конзервације дела герм-плазме аутохтоних четинара Србије, ови објекти представљају стационарне вишедеценијске пољске огледе у којима се тестирају и унапређују методе и технике рада на оплемењивању дрвећа. Поред значаја за шумарску науку и праксу, ови пилот објекти су коришћени као експериментални полигони у којима су обављене анализе у циљу квалификације научног кадра – изради магистарских теза (Шијачић Николић, М., 1995; Матаруга, М. 1997; Иветић, В. 2004; Вукин, М. 2006; Миловановић, Ј. 2007; Петровић, Д. 2010) и докторских дисертација (Шијачић Николић, М. 2000), као и за израду и публикавање великог броја научних радова.

**Напомена:** Оснивање семенске иланџаже оморике у Годовику, ировенијеничној шестиа смрче код Ивањице и семенске иланџаже црној и белој бора на Јеловој гори, финансијски је подржало шумарство ужичке регије. Њихова реализација омогућена је захваљујући великом ангажовању и подршци колеџа Љубише Љубисављевића, дигл. инж. и Маринка Ђурчића, дигл. инж. У име свих који су до сада користили ове објекте, као и оних који ће наставити истраживачки и стручни рад на њима, аутор рада се захваљује.

## ЛИТЕРАТУРА

- Букин, М. (2006): Утицај станишних карактеристика на варијабилност квантитативних својстава линија полусродника црног бора (*Pinus nigra* Arnold) у семенској плантажи на Јеловој гори. Магистарски рад. Шумарски факултет Београд. Стр. 1-120
- Eriksson, G. (2001): Conservation of noble hardwoods in Europe. Can. J.For. Res. 31:577-587.
- Graudal, L., Kjaer, E., Thomsen, A. & Larsen, A.B. 1997: Planning National programmes for conservation of forest genetic resources. Danida Forest Seed Centre. Humlebaek, Denmark. Technical Note 48.
- Исајев, В. (1987): Оплемењивање оморике (*Picea omorica* /Panč./ Purkyne.) на генетско селекционим основама. Докторка дисертација. Шумарски факултет. Београд.1- 321
- Isajev, V. (1991): Serbian spruce (*Picea omorica* /Panč./ Purkyne) Flowering and seed bearing in seed plantations of Western Serbia (Yugoslavia), L Arb. Biologie de Development. Naturalia Monspeliensis n. h. s. p. 616-618.
- Isajev, V., Dormling, I. (1992): Photoperiodic control of growth and growth cessation in 30 half sib families of serbian spruce seedlings (*Picea omorica* /Panč./ Purkyne). Genetika, Vol 24, No 3, 209-217.
- Исајев, В., Туцовић, А. (1992): Провенијенични тест смрче на три локалитета код Ивањице – Извођачки пројекат. Шумарски факултет Универзитета у Београду. Стр. 1 – 52
- Исајев, В., Туцовић, А. (1997): Диверзитет и коришћење генетских ресурса дрвећа и жбуња Југославије. “Савремена пољопривреда” Вол. 46, Број 1-2, Нови Сад 185-194
- Isajev, V., Tucović, A., Guzina, V., Orlović, S. (1997): Conservation and utilization of forest genetic resources in Yugoslavia. XI World Forestry Congress, 13-22. X, Antalya. Proceedings of the XI World Forestry Congress
- Isajev, V., Sijacic Nikolic M., Mataruga, M. (1999): Conservation. Tasting and Utilisation of Tree Species Gene Pool in Specialised Plantations. Proceeding of the 4<sup>th</sup> International Conference on The Development Of Wood Science, Wood Technology and Forestry. Missenden Abbey, p.225-235.
- Исајев, В., Шијачић Николић, М., Матаруга, М., Иветић, В. (2003): Очување, тестирање и коришћење генофонда врста дрвећа у специјализованим културама. Одрживи развој пољопривреде и заштита животне средине – Монографија. Мегатренд – Универзитет примењених наука, Београд. стр. 235 – 247.
- Lucić, A., V. Isajev, R. Svjeticanin, Lj. Rakonjac, Novaković, M., Nikolić, A., Mladenović Drinić, S. (2011): Interpopulation genetic-ecological variation of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) in Serbia. - Genetika, Vol 43, No. 1, 1 - 18.
- Лучић А. (2012): Подизање шума белог бора (*Pinus sylvestris* L.) у Србији на еколошко-генетичким основама. Шумарски факултет. Докторска дисертација. Стр. 1- 146.
- Mayr, E. (1970): Populations, Species, and Evolution. Cambridge: Belknap Press of Harvard University Press. ISBN 0-674-69013-3.
- Матаруга, М. (1997): Међузависност особина и развоја садница црног бора (*Pinus nigra* Arn.) у семенској плантажи на Јеловој гори. Магистарски рад Шумарски факултет, у Београду. Стр. 1-138.
- Матаруга М., Исајев В., Орловић С. (2013): Шумски генетички ресурси, Шумарски факултет. Бања Лука. Стр. 1-399.COBISS. BH-ID 3916568.

- Milovanović J., Isajev V., Krajmerova D., Paule L. (2007): Alelni polimorfizam *NAD 1* gena mitohondrijalnog geoma omorike. Genetika. Vol. 39, broj 1 Beograd. str.79-91
- Петровић Д. (2010): Унутар и међулинијска варијабилност својстава дрвета црног бора (*Pinus nigra* Arnold) у сменској плантажи на Јеловој Гори. Магистарски рад. Шумарски факултет Београд. Стр.1-101
- Шијачић Николић, М. (1995): Процена генетског потенцијала осам провенијенција смрче (*Picea abies* [L.] Karst) из тест култура код Ивањице. Магистарски рад. Универзитет у Београду, Шумарски факултет, Београд.
- Šijačić Nikolić, M. and Isajev, V. (2003): Genetic distance between parent genotypes of Serbian spruce (*Picea omorica* /Panč./ Purkyne) and their hybrids using protein markers. Proceedings of scientific papers 2. Bulgarian Academy of Sciences – Forest Research Institute, Sofia. Pg. 49 – 60
- Šijačić Nikolić, M., Isajev, V., Mataruga, M. (2000): Evaluation of Morphometric Properties of Several Spruce (*Picea abies* [L.] Karst.) Provenances in Monocultures in Serbia. Spruce Monocultures in Central Europe – Problems and Prospects. EFI Proceedings, No. 33. pg. 145 – 155.
- Шијачић Николић, М. (2000): Анализа генетског потенцијала генеративне семенске плантаже оморице (*Picea omorika* /Panč./ Purkyne) применом контролисане хибридизације линија полусродника. Докторска дисертација у рукопису, одбрањена на Шумарском факултету у Београду.
- Yanchuk, A. 2001: Quantitative framework for breeding and conservation of forest tree genetic resources in British Columbia. Can. J.For. Res. 31:566-576. (2001).

PILOT SEED ORCHARDS OF *EX SITU* CONSERVATION OF CONIFER GERMPLASM  
IN SERBIA AND THEIR CONTRIBUTION TO THE CONTROLLED USE  
OF GENETIC RESOURCES

*Vasilije Isajev*

Summary

According to the number of primary gene pools of tree and shrub species, forest genetic resources of Serbia rank among the most important in Europe. The activities related to the gene pool conservation of native tree species are both in Serbia and in other European countries part of the national strategies that are integrated into the action plan of EUROFORGEN (European Forest Genetic Resources Programme) at the level of member states of the Association. This paper gives an overview of decades of scientific research on the application of *ex situ* strategies in the gene pool conservation of the most important conifer species in Serbia.

The provenance test of Norway spruce (*Picea abies* Karst) on the mountain of Golija was carried out in monocultures on three different sites at the altitudes of 600, 1100 and 1600 m a.s.l. The research included the analysis of a number of morphometric parameters of the juvenile plant development within eight selected provenances originating from Slovenia and Serbia. It was confirmed that the species has a very high free genetic variability, with the provenances of Serbia showing greater adaptability to the cultivation under very different environmental conditions compared to Slovenian provenances. In the provenance test at the site of submontane beech, which is not within the Norway spruce natural range, the species had a successful growth and high adaptability. It indicated that, in addition to its natural optimum in the zone of spruce belt *Picea excelsae serbicum* Rud, it can achieve a technogenic optimum at the site of other species. A comparative study of eight provenances showed that the provenances of Golija and Zlatar are characterized by pronounced adaptability and growth dynamics and thus should be more widely used in future culture establishment and afforestation in the Western Balkans.

The research in the seed orchard of Serbian spruce (*Picea omorika* /Panč./ Purkyne) at Godovik represents continuity in the study of the biology and ecology of this relict and endemic species. Selection and hybridization were used to study 5959 Serbian spruce genotypes. Previous testing of 30 half-sib Serbian spruce lines in a photron in Stockholm provided the first results on the variability

in the reaction of this endemic species to the effects of photoperiodism. The results illustrate real photoperiodism of this species since they were obtained under the influence of daylight. Half-sib families reacted differently to photoperiodism, and the high interfamilial variability was probably due to the high degree of heterozygosity of mother trees. The study of several parameters of the flowering phenophase within and between half-sib lines produced reliable information necessary for the successful implementation of hybridization. Having performed controlled hybridization, part of the structure of the genotypes of parent individuals and their hybrid combinations were tested. The obtained electropherograms were used to calculate the coefficient of similarity at the levels of mother-hybrid, father-hybrid and mother-father. The study of electropherograms confirmed the existence of different types of protein fractions - bands: the bands common to both parents, bands originating one from the father and the other from the mother (codominance in the expression of parental genes in the hybrid), bands originating only from the mother, bands originating only from the father and bands specific to the hybrid. These results were applied to the modeling of the experimental clonal seed orchard for the production of seed of intraspecific Serbian spruce hybrids. The following five Serbian spruce phenogroups: 'A' - '*borealis*' variety, 'B' - '*semidichotomy*' variety, 'C' - '*serbica*' variety, 'D' - '*nana*' variety, 'F' - '*argentea*' type are indicators of intraspecific variability of this species. The results of the analysis of allele polymorphism of NAD1 gene of mitochondrial genome determined the existence of a certain degree of genetic control of the phenotypic expression of different phenogroups. Based on the genetic distance from the other phenogroups, 'A' phenogroup can be assumed to be an interspecific hybrid of Serbian spruce and Norway spruce, which can pose a challenge for future research of intraspecific variability of Norway spruce. The obtained results provide deeper insight into the causes of the postglacial intraspecific differentiation of Serbian spruce and formation of these phenogroups.

The seed orchard of Austrian pine (*Pinus nigra* Arnold) on Jelova gora was the study area of the research on the character and variability of several properties of seedlings and trees within 40 half-sib lines belonging to the provenances of Mokra gora and Crni vrh near Priboj. The investigations were carried out simultaneously at the individual and group - line level and at the block level. The genetic basis of the potential of the 40 lines was further studied using the analysis of the variability of quantitative and qualitative traits and appropriate statistical and mathematical methods. The analysis of the variability of quantitative traits studied the statistically specified variability scope of seedling growth and development, morphological characteristics of needles, root system characteristics, structure and anatomy of needles, growth ring width, the width of early and late wood, share of late wood, variability of height and diameter and their increments. The analysis of quantitative traits was accompanied with the study of qualitative traits of the seedlings and trees: variability of photosynthetic pigments in the needles of seedlings, physical properties of wood, wood density in absolutely dry, dried and green wood moisture content, fiber saturation point, radial, tangential and volumetric swelling. The research included the effects of anatomical properties of wood (growth ring width and latewood) on the physical properties of wood (wood density and swelling) and the effects of density on the swelling of wood. Given the fact that the investigated provenances originate from natural habitats of Austrian pine, which have high genetic variability, it can be said that the mother trees of both provenances have good genetic constitution determined by a high degree of heterozygosity. The investigations pointed out that Austrian pine on a good-quality beech site has a considerable potential to utilize the benefits of the site humidity and soil fertility.

The pilot seed orchard of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) on Jelova gora presents experimental plot for the research of Scots pine improvement, establishment of plantations of the second, third and subsequent generations and production of selected seed. The planned multi-year research in this orchard is aimed at preserving the genetic variability of different natural populations of this species in Serbia, further study of the structure and function of its gene pool in the interactions between the genotype and site conditions, long-term analysis of genetic expression of selected individuals on the growth, development and reproduction parameters and the study of the crop quality in interaction with the defined type of the site at which the orchard was established. The results are the basis for the establishment of Scots pine seed orchards of next generation. The production of intraspecific hybrids of this species with determinate characteristics, such as tolerance to transplanting stress, drought tolerance, quality of wood assortments etc. will enhance the establishment of Scots pine forests for different purposes.