

ВАРИЈАБИЛНОСТ МОРФОМЕТРИЈСКИХ СВОЈСТАВА ЛИСТОВА ТЕСТ СТАБАЛА ПИТОМОГ КЕСТЕНА (*Castanea sativa* Mill.) ИЗ ШЕСТ ПОПУЛАЦИЈА У БОСНИ И ХЕРЦЕГОВИНИ

ВАЊА ДАНИЧИЋ¹
ВАСИЛИЈЕ ИСАЈЕВ²
МИЛАН МАТАРУГА¹
БРАНИСЛАВ ЦВЈЕТКОВИЋ¹

Извод: У раду су представљени резултати анализе индивидуалне и међупопулационе варијабилности морфолошких својстава листова питомог кестена (*Castanea sativa* Mill.), обављене на узорку од 90 тест стабала из шест селекционисаних популација. Изабране популације просторно покривају део ареала врсте на простору Босне и Херцеговине. Популације су на подручју Бужима, Костајнице, Приједора, Бања Луке, Братунца и Коњица и одликују их различите еколошко-вегетацијске карактеристике. Морфолошким анализама и статистичком обрадом података детаљно је утврђен опсег варирања морфолошких карактеристика листа. На 40 хербаризованих листова, са сваког тест стабла, мерени су: максимална ширина листа (MSL), удаљеност максималне ширине листа од основе листа (DMSL), дужина листа (DL), дужина петељке (DP), дужина неназубљеног диела листа (DNL) и опажан је облик основе листа. У овим популацијама преовлађује срцолики облик основе листова. Анализом варијансе утврђено је да се популације, према морфолошким особинама листова, статистички значајно разликују на нивоу популација и на нивоу индивидуа. Применом кластер анализе није утврђена присутност географске повезаности и издиференцираности истражених популација. Популације се насумично групишу и њихов распоред је вероватно условљен микроеколошким условима станишта. Резултати су део основе за израду програма оплемењивања питомог кестена, применом молекуларних маркера, за ширу употребу у шумарству, помологији и очувању животне средине.

Кључне речи: *Castanea sativa*, питоми кестен, морфолошка варијабилност, листови

VARIABILITY OF LEAF MORPHOLOGICAL TRAITS OF CHESTNUT TEST TREES (*Castanea sativa* Mill.) FROM SIX POPULATIONS IN BOSNIA AND HERZEGOVINA

Abstract: The paper presents the results of an analysis of individual and interpopulation variability of sweet chestnut (*Castanea sativa* Mill.) leaf morphological traits. The analyses were performed using a sample of 90 test trees from six selected populations. Selected populations spatially cover part of the species range in Bosnia and Herzegovina. The populations found in the areas of Buzim, Kostajnica, Prijedor, Banja Luka, Bratunac, and Konjic are characterized by different environmental and vegetation characteristics. Detailed morphological analyses and statistical data processing determined the extent of variation of leaf morphological

- 1 др Вања Даничић, доцент; др Милан Матаруга, ред. проф.; др Бранислав Цвјетковић, доцент, Универзитет у Бањој Луци Шумарски факултет, Бања Лука, Република Српска, Босна и Херцеговина
- 2 др Василије Исајев, ред. проф. у пензији, Универзитет у Београду Шумарски факултет Београд

characteristics. The maximum leaf width (MSL), distance of maximum leaf width from the leaf base (DMSL), leaf length (DL), petiole length (DP), and unoccupied leaf diameter (DNL) were measured and the shape of the leaf base was studied on 40 herborized leaves from each test tree. In these populations, the cordiac shape of the leaf base predominates. The analysis of variance revealed that, according to the morphological characteristics of the leaves, there are statistically significant differences between the populations at the population and individual levels. Populations are randomly grouped and their distribution is likely conditioned by the site microenvironmental conditions. The results can be specifically used in the sweet chestnut breeding programs with the use of molecular markers, but they can also find wider applications in forestry, pomology, and environmental conservation.

Keywords: *Castanea sativa*, chestnut, morphological variability, leaves

1. УВОД

Питоми кестен (*Castanea sativa* Mill.) и шуме које гради у Европи, према биоэколошком, производном потенцијалу и мелиоративним особинама су својеврстан феномен (Conedera, M. *et al.* 2004). Комерцијални значај питомог кестена за шумарску привреду је тренутно скроман, али биолошки потенцијал ове врсте и њен значај за хуману популацију интензивирао је мултидисциплинарна истраживања биоэколошких својства ове врсте. Обављају се биоэколошке анализе шумских заједница у којима се он спонтано јавља, као и варијабилност таксономских карактеристика (Gondard, H. *et al.* 2005; Konstantinidis, P. *et al.*, 2008; Lyubenova, M. *et al.* 2004; Poorbabaei, H., 2007; Velev, V., 2007; Medak, J., 2004; Medak, J., 2011; Stupar, V. *et al.*, 2014.), истраживања о расту и управљању шума кестена у различитим европским регијама (Everard, J., Christie, J.M., 1995; Pividori, M. *et al.*, 2005.), о утицају станишних фактора на раст стабала у младим састојинама и плантажама (Alvarez-Alvarez, P. *et al.* 2010; Radoglou, K. *et al.*, 2003; Zysset, M., *et al.*, 1996) и др. Бројна истраживања која су се бавила проблематиком варијабилности вегетативних и генеративних органа, не само питомог кестена већи и других лишћарских врста дрвећа (Idžojić, M., *et al.*, 2009; Serdar, Ü., *et al.*, 2011; Poljak, I. *et al.*, 2012; Krauze-Michalska, E. *et al.*, 2013; Zebec, M., *et al.*, 2014; Čortan, D. *et al.*, 2013; Čortan, D., 2015; Popović, V. *et al.*, 2016; Jokanović, D. *et al.*, 2019), указују да адаптивност и толерантност на болести (Krstić, M., Hočevan, S., 1959; Uščuplić, M., Lazarev, V., 1972; Karadžić, D., 1992; Howell, C.R., 2003; Radulović, Z., 2013) имају велики значај у домену таксономије. Међутим, у домаћој научној и стручној литератури мало је података о помолошкој вредности питомог кестена, те је неопходно да се будућим истраживањима детаљније анализирају нутритивна својства плода и унапреде програми оплемењивања у циљу подизање наменских плантажа.

На популационом и индивидуалном нивоу, у Босни и Херцеговини, применом мултидисциплинарних метода рада, спроведена су вишегодишња истраживања, еколошког и генетског диверзитета питомог кестена (Daničić, V., 2018). У овом раду представљени су резултати анализе индивидуалног и међупопулационог варијабилитета морфолошких својстава листа, спроведених на нивоу 90 тест стабала из шест селекционисаних по-

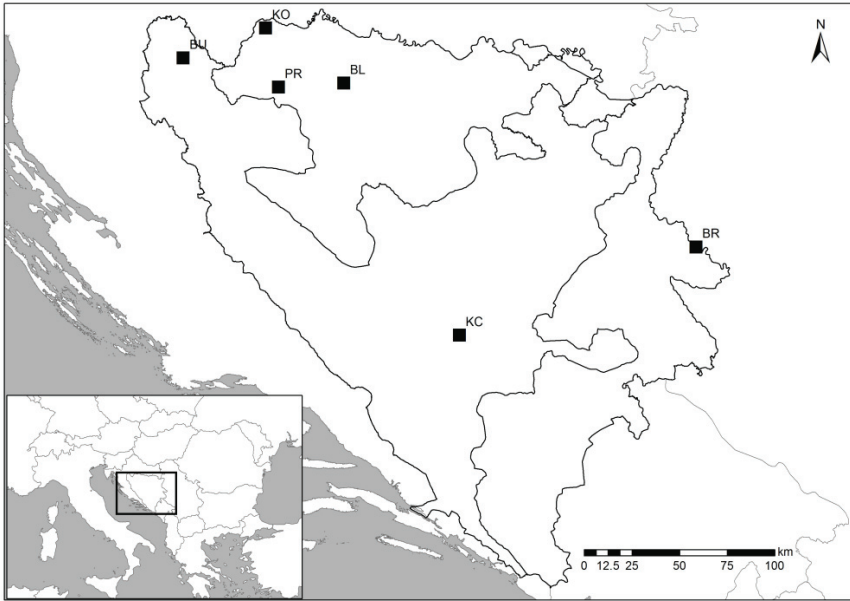
пулација. Изабране популације су дозријевајуће и зреле састојине питомог кестена на подручју природног распрострањења у Босни и Херцеговини. Морфолошким анализама и статистичком обрадом података детаљно је истражен опсег варирања шест карактеристика листа. Анализе су спроведене низом сукцесивних активности: сакупљање, идентификација и хербаризовање сакупљеног материјала; мерење и упоређивање морфолошких карактеристика листова; утврђивање степена варијабилности анализираних карактеристика листова; утврђивање потенцијалног степена диференцијације у оквиру врсте.

2. МЕТОД РАДА

У проучавањима индивидуалног и групног диверзитета врста дрвећа, и интер- и интра-популационе варијабилности, морфометријске методе имају све мању примену у програмима оплемењивања. Међутим, морфолошка варијабилност је полазна основа у анализи великог броја процеса екофизиолошке адаптације и адаптабилности морфолошких својстава на услове станишта. Фенотипска варијабилност особина показују индивидуалну и популациону адаптацију на хетерогене услове животне средине (Anderson, J.T. *et al.*, 2012). Код дрвенастих биљака, као и код других организама, морфолошке особине су контролисане великим бројем гена, тако да резултати анализа узрока фенотипске варијабилности без примене молекуларних и генетичких маркера за даље фазе оплемењивања нису довољно поуздани (Isajev, V. *et al.*, 2008).

2.1 Прикупљање узорака листа

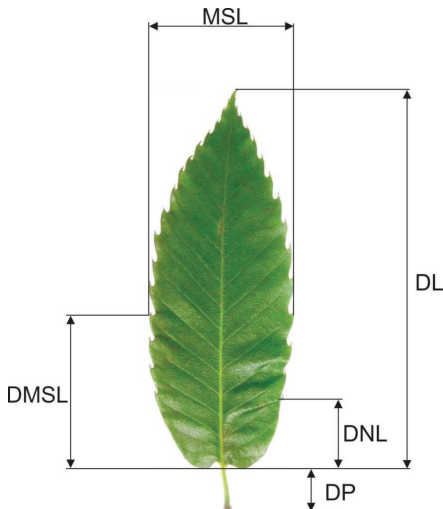
У селекционисаним популацијама, са различитим еколошко-вегетацијским карактеристикама, на подручју Бужима, Костајнице, Приједора, Бања Луке, Братунца и Коњица, (слика 1), применом метода индивидуалне селекције, издвојено је и маркирано 15 тест стабала, која су према фенотипским својствима супериорнија у односу на друга стабла у популацији. Код питомог кестена постоје три типа листова: лист светлости (налазе се на врху круне и врховима грана), лист сенке (на доњим гранама и у унутрашњости круне) и лист изданка из пања. Листови питомог кестена су варијабилни и варијабилност листова је под великим утицајем микроклиматских фактора средине, првенствено интензитета светлости, топлоте и влаге ваздуха (Glišić, M., 1975; Poljak, I., 2014). Листови су сакупљени крајем јуна и почетком јула 2011. и 2012. године, по формирању терминалних пупољака. Приликом узимања узорака, са свих стабала сакупљени су листови светла и то са дела круне оријентисане на исту страну света: југ - југоисток. Са сваког од селекционисаних стабала сакупљено је по 40 листова и хербаризовано. Сакупљени листови су маркирани и паковани одвојено по стаблима у циљу очувања идентитета.



Слика 1. Географски положај селекционисаних популација, BU - Бужим, KO - Ко-стајница, BL – Бања Лука, PR - Приједор, BR - Братунац и KC – Коњиц
Figure 1. Geographic location of selected populations, BU-Bužim, KO-Kostajnica, BL-Banja Luka, PR-Prijedor, BR- Bratunac and KC-Konјic

2.2 Морфометријска анализа листа

На хербаризованим листовима мерена су следећа морфолошка својства (слика 2): максимална ширина листа (MSL), удаљеност максималне ширине листа од основе листа (DMSL), дужина листа (DL), дужина петељке (DP) и дужина неназубљеног дела листа (DNL) и осматран је облик основе листа. Димензије су мерене на милиметарском папиру са тачношћу 0,1 cm.



Квантитативне особине морфометријских карактеристика обрађени су методом дескриптивне статистике, односно средње вредности и мере варијабилитета (Hadživuković, S., 1989; Koprivica, M., 2015). Основни параметри дескриптивне статистике примењени у анализама су: минимум (Min), максимум (Max), средња вредност (As), стандардна девијација (Sd), грешка стандардне девијације (Sg) и коефицијент варијације (Cv).

Слика 2. Анализирани морфометријске карактеристике листа
Figure 2. Analysed morphometric characters of leaves

3. РЕЗУЛТАТИ ИСТРАЖИВАЊА СА ДИСКУСИЈОМ

Дескриптивни статистички параметри за мерена морфометријска својства листа приказана су у табели 1. У наставку су описани резултати по испитиваним својствима.

Табела 1. Параметри дескриптивне статистике за мерене величине листа
Table 1. Descriptive statistics parameters for measured leaves sizes

Особина/ Traits		PR	BL	BU	BR	КО	КС	Све популације/ All populations
Дужина листа/ Leaf length DL	As	19,49	16,46	18,52	19,76	17,15	17,24	18,10
	Min	10,00	11,30	12,20	12,30	11,00	11,30	10,00
	Max	28,50	25,80	25,80	29,90	26,70	24,80	29,90
	Sd	3,30	2,13	2,70	3,37	2,84	2,32	3,08
	Sg	0,10	0,06	0,08	0,10	0,08	0,07	0,04
	Cv	16,92	12,94	14,60	17,06	16,56	13,49	16,99
Дужина петелјке/ Patirole length DP	As	1,29	1,22	1,19	1,21	0,96	1,59	1,24
	Min	0,50	0,60	0,50	0,50	0,40	0,50	0,40
	Max	2,30	2,60	3,50	2,60	4,00	3,80	4,00
	Sd	0,33	0,34	0,39	0,32	0,29	0,57	0,43
	Sg	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,02	0,01
	Cv	25,22	27,85	33,20	26,30	30,09	35,82	34,36
Дужина неназубљеог дела листа/ The length of the non-dentate part of the leaf DNL	As	3,72	2,41	3,40	3,26	3,33	3,13	3,21
	Min	1,00	0,80	1,00	0,90	0,80	0,50	0,50
	Max	10,40	5,40	11,50	11,00	11,00	9,50	11,50
	Sd	1,42	0,67	1,37	1,44	1,39	1,30	1,35
	Sg	0,04	0,02	0,04	0,04	0,04	0,04	0,02
	Cv	38,09	27,72	40,13	44,22	41,62	41,61	42,15
Дужина до максималне ширине листа/ Length to maxi- mum leaf width DMSL	As	11,43	8,73	9,69	10,96	9,52	8,01	9,72
	Min	4,80	4,80	5,00	5,10	5,50	3,50	3,50
	Max	18,50	13,50	16,10	17,20	17,50	13,90	18,50
	Sd	2,44	1,26	1,68	2,05	1,87	1,75	2,22
	Sg	0,07	0,04	0,05	0,06	0,05	0,05	0,03
	Cv	21,33	14,46	17,33	18,67	19,68	21,91	22,82
Максимална ширина листа/ Maximum leaf width MSL	As	7,58	6,53	6,79	7,46	6,99	6,53	6,98
	Min	3,80	4,00	3,50	4,20	4,00	3,50	3,50
	Max	12,00	10,20	11,90	11,00	12,10	9,50	12,10
	Sd	1,31	0,92	1,16	1,06	1,27	1,16	1,23
	Sg	0,04	0,03	0,03	0,03	0,04	0,03	0,01
	Cv	17,26	14,04	17,12	14,19	18,15	17,78	17,55

Дужина листа (DL)

Просечна дужина листа у селекционисам популацијама је 18,10 cm. Просечно највећу вредност дужине листа имала је популација Братунац (19,76 cm), док су најмању просечну вредност имали су узорци из популације Бања Лука (16,46 cm). Просечна вредност коефицијента варијабилности износила је 16,99%, а екстремне вредности су дијапазону од 12,94% (Бања Лука) до 17,06% (Братунац). Према истраживањима Муџагић-Раšалић, А. *et al.*, (2012) из 16 субпопулација питомог кестена у Босанској Крајини, просечна вредност дужине листа износи 17,31 cm. Poljak, I., (2014), у својим истраживањима наводи просечну вредност дужине листа 15,19 cm. За шест популација, са три различита географска локалитета у Грчкој, просечна дужина листа је у дијапазону од 13,00 до 20,00 cm, Aravanopoulos, F.A. *et al.*, (2005). Глишић, М., (1975) наводи да се дужине листа питомог кестена битно разликују између листова светлости и листова сенке у његовим природним популацијама на подручју Србије. За три природне популације питомог кестена у провинцији Гуилан у Ирану, просечне дужине листа биле су у дијапазону од 22,4 cm до 25,04 cm, Atefe, K. *et al.*, (2015), што су знатно веће вредности у односу на резултате добијене у анализама листова из наведених шест популација у Босни и Херцеговини.

Дужина петељке (DP)

Просечна дужина петељке у укупном узорку износи 1,24 cm. Популација Коњиц издваја се са просечно најдужом петељком (1,59 cm), а популација Костајница са просечно најмањом дужином петељке (0,96 cm). Коефицијент варијације је висок и кретао се од 25,22% (популација Приједор) до 35,82% (популација Коњиц). Просечна вредност за све истраживане популације за дужину петељке износи 34,36%, што нам говори о великим разликама дужине петељке и на индивидуалном и популационом нивоу. Сличне резултате наводе и Aravanopoulos, F.A. *et al.*, (2005); Муџагић-Раšалић, А. *et al.*, (2012); Глишић, М., (1975), док нешто већу просечну вриједност (2,33 cm) наводи Poljak, I., (2014) и Atefe, K. *et al.*, (2015). Резултати појединих истраживања (Јокановић, Д. *et al.*, 2019) спроведених на петељци букве показују велике разлике у погледу њене дужине између природних популација и провенијентног теста.

Дужина неназубљеног дела листа (DNL)

Највећа варијабилност за сва мерена својстава листа утврђена је код дужине неназубљеног дела листа. Просечна дужина неназубљеног дела листа за све популације износи 3,21 cm. Ниже вредности од просечне дужине неназубљеног дела листа имали су узорци из популације Коњиц (3,13 cm) и Бања Лука (2,41 cm), док су веће вредности од просечне за ово својство листа имали узорци из популација Приједор (3,72 cm), Бужим (3,40 cm), Братунац (3,26 cm) и Костајница (3,33 cm). Просечна вредност коефицијента варијације за све истраживане популације је 42,15%. Најмању варијабилност овог својства имају узорци из популације Бања Лука (27,72%), а највећу узорци из популације Братунац (44,22%).

Дужина од основе листа до максималне ширине листа (DMSL)

Просечна вредност дужине од основе листа до максималне ширине листа била је у дијапазону од 8,01 cm (Коњиц) до 11,43 cm (Приједор). Просечна вредност за све истраживане популације износи 9,72 cm. Минимална вредност овог својства од 3,50 cm утврђена је на узорцима из популације Коњиц и од 5,50 cm код узорака из популације Костајница. Максимална вредност за ово својство била је у дијапазону од 13,50 cm (популација Бања Лука) до 18,50 cm (популација Приједор). Просечни коефицијент варијабилности овог својства листа, за све истраживане популације износи 22,82%. У истраживањима варијабилности овог својства, Poljak, I., (2014), је добио мање просечне вредности (6,42 cm) и већи укупни коефицијент варијабилности (29,92%).

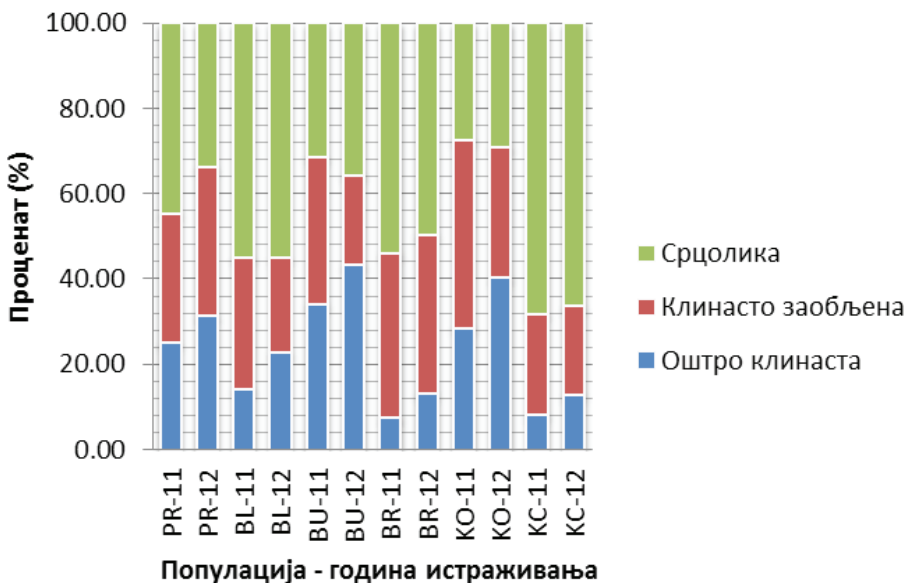
Максимална ширина листа (MSL)

Од шест анализираних популација, најшири лист имају узорци из популација Приједор (7,58 cm), док су најужи листови измерени код узорака из популација Коњиц и Бања Лука (6,53 cm). Просечна ширина листова за све истраживане популације износи 6,98 cm са коефицијентом варијабилности 17,55%. Највећа варијабилност овог својства, према вредностима коефицијента варијабилности је утврђена на узорцима из популације Костајница (18,15%) и Коњиц (17,78%). У истраживањима шеснаест субпопулација у региону Крајине просечна вредност за максималну ширину листа износила је 6,43 cm, Мујагић-Раšалић, А. *et al.*, (2012) што је приближно једнако резултатима овог истраживања. У спроведеним истраживањима у Србији просечне вредности ширине листа сенке биле су у дијапазону од 6,05 cm до 6,53 cm, Glišić, M. (1975). У Ирану је у анализама узорака из три популације, код листова светлости, утврђен опсег варирања просечне ширине листа од 6,98 cm до 8,66 cm, Atefe, K. *et al.*, 2015.

Облик основе листа

Облик основе листа питомог кестена може бити: оштро клинаста, клинасто заобљена и срцолика основа листа, UPOV (1989). Приказ процентуалног учешћа појединог облика лисне основе по популацијама и годинама истраживања приказан је на графикону 1.

У првој години истраживања, процентално учешће срцоликог облика основе листа било је у дијапазону од 27,50% код узорака из популације Костајница, до 68,33% код узорака из популације Коњиц; клинасто заобљен облик основе листа од 23,50% код узорака из популације Коњиц, до 44,00% код узорака из популације Костајница и оштро клинаст облик основе листа од 7,33% код узорака из популације Братунац до 34,00%, код узорака из популације Бужим. У другој години истраживања утврђена је приближно иста дистрибуција процентуалне заступљености вредности облика основе листа са првом годином истраживања. Може се закључити да је у обе године истраживања (графикон 1) најзаступљенији срцолики облик основе листа, затим следи клинаста, а најмање је заступљена оштро клинаста основа листа у истраживаним популацијама.



Графикон 1. Учешће облика основе листа по популацијама и годинама истраживања

Graph 1. Proportion of leaf base shape by populations and by years of research

Анализа варијансе

У циљу утврђивања постојања статистички значајних разлика анализираних морфолошких особина листова (табела 2), урађена је униваријантна метода, анализа варијансе (ANOVA). Резултати спроведене анализе варијансе показују статистички значајне разлике између истраживаних популација за сва анализирана својства. Применом *post hoc* анализе коришћен је Данкан тест (*Dunnscan test*) како би се приказало груписање популација у хомогене групе на основу анализираних својстава.

Резултати Данкан теста, (табела 3), показују да се за својства дужина листа, дужина петељке, дужина неназубљеног дела листа и максимална ширина листа издваја 5 хомогених група, док је за својство дужина максималне ширине листа издвојено 6 хомогених група. Може се закључити да су разлике између популација евидентне, на шта указује већи број хомогених група које су се издвојиле код свих анализираних својстава. Међутим, на основу примењених метода за анализу променљивости наведених својстава листа није могуће утврдити постојање правилности по којима се популације групишу. Популације се за различита својства хомогенизују у различите групе.

Добијени резултати спроведеном двофакторијалном анализом варијансе указују на постојање статистички значајне разлике за сва мерена морфометријска својства листа, за фактор популација, као и за фактор година. Кад се посматрају ова два фактора у интеракцији разлике су опет статистички значајне за сва анализирана својства (табела 4).

Tabela 2. Анализа варијансе за мерене особине листова
Table 2. ANOVA for measured leaf traits

Анализирана особина/ Traits	Извор варијације/ Source of variation	Степени слободe/ Degrees of freedom	Сума квадрата/ The sum of squares	Средина квадрата/ Means of squares	F	P
DL	Популација	5	11050	2210	278,8	0,00
	Погрешка	7194	57031	8		
	Укупно	7199	68081			
DP	Популација	5	250,75	50,15	339,04	0,00
	Погрешка	7194	1064,15	0,15		
	Укупно	7199	1314,90			
DNL	Популација	5	1159,10	231,82	138,88	0,00
	Погрешка	7194	12007,83	1,67		
	Укупно	7199	13166,93			
DMSL	Популација	5	10110,2	2022,0	574,2	0,00
	Погрешка	7194	25335,2	3,5		
	Укупно	7199	35445,7			
MSL	Популација	5	1234,1	246,8	185,4	0,00
	Погрешка	7194	9574,8	1,3		
	Укупно	7199	10808,9			

Табела 3. Duncan тест за морфолошка својства листова
Table 3. Duncan test for leaf morphological traits

Анализирана особина/ Traits	POST-HOC ($\alpha=0.05$)						Број хомогених група /Number of homogeneous groups
	BL	KC	BU	KO	PR	BR	
DL	16,46 ^b	17,24 ^a	18,52 ^c	17,15 ^a	19,49 ^d	19,76 ^e	5
DP	1,22 ^b	1,59 ^e	1,19 ^a	0,96 ^c	1,29 ^d	1,21 ^{ab}	5
DNL	13,91 ^c	15,63 ^d	14,68 ^b	14,31 ^{ab}	14,91 ^e	15,55 ^a	5
DMSL	8,73 ^b	8,01 ^a	9,69 ^d	9,52 ^c	11,43 ^f	10,96 ^e	6
MSL	6,53 ^a	6,53 ^a	6,79 ^b	6,99 ^c	7,58 ^e	7,46 ^d	5

Кластер анализа не показује географску издиференцираност популација, већ је диференцијација анализираних популација условљена искључиво по микроеколошком принципу. Резултати који показују велику варијабилност морфолошких одлика листова питомог кестена добијени су у истраживањима више аутора, без обзира на постојање разлика у методама сакупљања и обради материјала (Sučić, J., 1969; Glišić, M., 1975; Aravanopoulos, F.A. *et al.*, 2005; Skender, A., 2010; Мујагић-Паšалић, A. *et al.*, 2012; Poljak, I. *et al.*, 2014; Atefe, K. *et al.*, 2015). Диференцијација популација по микроеколошком, а не географском принципу евидентирана је и код других дрвенастих врста – код популација сиве јове, Krauze-Micalska, E. *et al.*,

(2013); за популације низијског бријеста у континенталној Хрватској, Zebes, M. *et al.*, (2014); за популације дивље трешње у Србији, Rorović, V. *et al.*, (2016); за популације македонског хрста у Босни и Херцеговини и Црној Гори (Ballian, D. *et al.*, 2014).

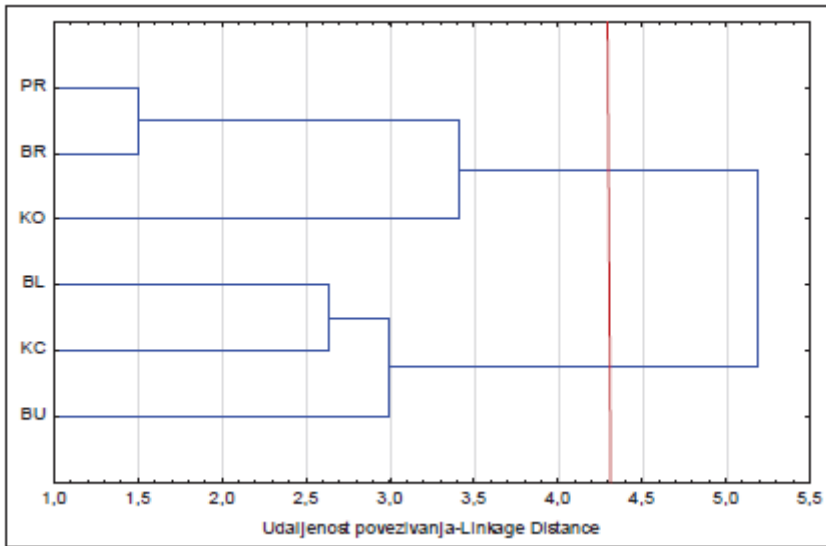
Табела 4. Двофакторијална анализа варијансе за мерене особине листова
Table 4. Two-way ANOVA for measured leaves traits

Анализирана особина/ Traits	Извор варијације/ Source of variation	Степени слободе/ Degrees of freedom	Сума квадрата/ The sum of squares	Средина квадрата/ Means of squares	F	P
DL	Популација	5	11050	2210	283,9	0,0000
	Година	1	392	392	50,4	0,0000
	Попу*год	5	686	137	17,6	0,0000
	Погрешка	7188	55952	8		
	Укупно	7199	68081			
DP	Популација	5	250,75	50,15	347,20	0,0000
	Година	1	1,89	1,89	13,07	0,0003
	Попу*год	5	24,00	4,80	33,24	0,0000
	Погрешка	7188	1038,25	0,14	347,20	0,0000
	Укупно	7199	1314,90			
DNL	Популација	5	1159,10	231,82	140,50	0,0000
	Година	1	8,06	8,06	4,88	0,0271
	Попу*год	5	139,59	27,92	16,92	0,0000
	Погрешка	7188	11860,18	1,65		
	Укупно	7199	13166,93			
DMSL	Популација	5	10110,2	2022,0	587,3	0,0000
	Година	1	142,6	142,6	41,4	0,0000
	Попу*год	5	444,4	88,9	25,8	0,0000
	Погрешка	7188	24748,6	3,4		
	Укупно	7199	35445,7			
MSL	Популација	5	1234,1	246,8	187,6	0,0000
	Година	1	57,5	57,5	43,7	0,0000
	Попу*год	5	60,9	12,2	9,3	0,0000
	Погрешка	7188	9456,4	1,3		
	Укупно	7199	10808,9			

Кластер анализа

Процена удаљености тј. блискости груписања истраживаних популација, на основу анализираних морфолошких својстава листа, урађена је применом Кластер анализе. Дендрограм кластер анализе (графикон 2), показује да су формиране две велике групе. Прву групу, коју чини један кластер, формирају популације Братунац и популација Приједор, међусобно најсличније и повезане на дистанци 1,51. на коју се надовезује популација Костајница на дистанци 3,41. Други кластер формиран је од популације Бања Лука и популације Коњиц које су сличне и повезују се на дистанци

2,63, и њима придружена популација Бужим на дистанци 3,0. Други кластер се накнадно везују за први кластер на дистанци 5,19.



Графикон 2 . Кластер анализа за мерена својства листова
Graph 2. Cluster analysis for measured leaves traits

4. ЗАКЉУЧЦИ

Обављеним истраживањима у шест популација питомог кестена на узорку од 90 тест стабала у Босни и Херцеговини, евидентирана је велика варијабилност морфолошких својстава листа. Утврђено је да у истраживаним популацијама преовлађује срцолики облик основе листова. Морфометријском анализом листа као најмање варијабилне особине показале су се дужина листа и максимална ширина листа. Преко 30% коефицијент варијације је износио за особине дужина неназубљеног дела листа и дужина петељке. Анализом варијансе утврђено је да се популације, према морфолошким особинама листова, статистички значајно разликују на нивоу популација и на нивоу индивидуа.

Двофакторијална анализа је показала да постоји статистички значајна разлика за сва мерена својства за фактор популација, фактор година као и за фактор интеракције популација и година. Ови резултати указују на то да су листови питомог кестена пластични и да је варијабилност листова под великим утицајем деловања спољашњих фактора. Код изведених обележја не постоји статистички значајна разлика за фактор година, што значи да облик листа не зависи од промена димензија листа.

Применом кластер анализе није утврђена присутност географске повезаности и издиференцираности истраживаних популација. Популације се

насумично групишу и њихов распоред је вероватно условљен микроеколошким условима станишта.

Приказани резултати су део полазне основа за израду програма oplemeњивања питомог kestena применом молекуларних маркера у циљу усмереног коришћења генетског потенцијала ове врсте за потребе шумарства, помологије и очувању животне средине.

ЛИТЕРАТУРА

- Alvarez-Alvarez, P., Diaz-Varela, E., Camara-Obregon, A., Afif-Khoury, E. (2010): Relating growth and nutrition to site factors in young chestnut plantations established on agricultural and forest land in northern Spain. *Agroforestry Systems* 79(3), p: 291-301.
- Anderson, J.T., Panetta, A.M., Mitchell-Olds, T. (2012): Evolutionary and ecological responses to anthropogenic climate change: Update on anthropogenic climate change. *Plan Physiol.*, 160, p: 1728-1740.
- Aravanopoulos, F.A., Bucci, G., Akkak, A., Blanco Silva, R., Botta, R., Buck, E., Cherubinn, M., Drouzas, A.D., Fernández-Ernández-López, J., Mattioni, C., Marinoni, D., Papadima, A., Russel, K., Zas, R., Villani, F. (2005): Molecular population genetics and dynamics of chestnut (*Castanea sativa* Mill.) in Europe: Inferences for gene conservation and tree improvement. *Acta Hort. (ISHS)* 693:403-412
- Atefe, K., Abkenar, K., Javada, T. (2015): Variations in Leaf and Fruit Morphological Traits of Sweet Chestnut (*Castanea sativa*) in Hyrcanian Forest, Iran, *International Journal of Plant Science and Ecology*, Vol. 1, No 4. p: 155-161.
- Ballian, D., Hajrudinović, A., Franjić, J., Bogunić, F. (2014): Morfološka varijabilnost lista makednoskog hrasta (*Quercus trojana* Webb.) u Bosni i Hercegovini i Crnoj Gori, *Šumarski list*, 3-4, p: 135-144.
- Conedera, M., Krebs, P., Tinner, W., Pradella, M., Torriani, D. (2004): The cultivation of *Castanea sativa* (Mill.) in Europe, from its origin to its diffusion on a continental scale. *Veget Hist Archaeobot.* 13, p: 161-179.
- Čortan, D. (2015): Procena varijabilnosti prirodnih populacija crne topole (*Populus nigra* L.) na području Vojvodine primenom genetičkih markera, Doktorska disertacija, Šumarski fakultet Univerzitet u Beogradu, p:1-218.
- Daničić, V. (2018): Genetički diverzitet i morfološko-pomološki varijabilitet populacija pitomog kestena (*Castanea sativa* Mill.) u Bosni i Hercegovini. Doktorska disertacija u rukopisu. Univerzitet u Banjoj Luci Šumarski fakultet Banja Luka. (str. 1-253)
- Everard, J., Christie, J.M. (1995): Sweet Chestnut - Silviculture, Timber Quality and Yield in the Forest of Dean. *Forestry* 68(2), p: 133-144.
- Glišić, M. (1975): Pitomi kesten (*Castanea sativa* Mill.) u Srbiji i njegov biološki i ekološki varijabilitet, Institut za šumarstvo i drvnu industriju, Posebno izdanje 36, Beograd, p:1-208.
- Gondard, H., Romane, F. (2005): Long-term evolution of understorey plant species composition after logging in chestnut coppice stands (Cevennes Mountains, Southern France). *Annales for Forest Science* 62, p: 333-342.
- Hadživuković, S. (1989): Statistički metodi, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad.
- Howell, C.R. (2003): Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: The history and evolution of current concepts. *Plant Dis.* 87, p: 4-10.
- Idžojtić, M., Zebec, M., Poljak, I., Medak, J. (2009): Variation of sweet chestnut (*Castanea sativa* Mill.) populations in Croatia according to the morphology of fruits, *Sauteria*, 18, p:

- Исајев, В., Младеновић Дринић, С., Лучић, А. (2008): Примена молекуларних маркера у оплемењивању четинара. Гласник Шумарског факултета бр. 98. Београд, р: 7-2in 4.
- Јокановић, Д., Николић Јокановић, В. Јокановић, Д., Петровић, Ј., Ђирковић Митровић, Т. (2019): Морфо-анатомска својства петељке различитих провинијенција букве. Шумарство 1-2. УШИТС; Универзитет у Београду Шумарски факултет, Београд. (стр. 143-153)
- Караџић, Д. (1992): Могућности коришћења *Penicillium rubrum*, *Trichotechium roseum* и *Trichoderma viride* у биоконтроли неких опасних патогена шумског дрвећа. у биоконтроли неких опасних патогена шумског дрвећа. Гласник Шумарског факултета бр. 74. Београд. (стр. 81-87)
- Konstantinidis, P., Tsiourlis, G., Xofis, P., Buckley, G. P. (2008): Taxonomy and ecology of *Castanea sativa* Mill. Forest in Greece. Plant Ecol 195, p: 235-256, DOI 10.1007/s11258-007-9323-8.
- Koprivica, M. (2015): Šumarska statistika, Univerzitet u Banjoj Luci, Šumarski fakultet, p: 35-76.
- Krauze Michalska, E., Boratyńska, K. (2013): European geography of *Alnus incana* leaf variation. Plant Biosyst 147, p: 601-610.
- Krstić, M., Hočevar, S. (1959): Uticaj nekih antagonističkih mikroorgaizama na infekcije pitomog kestena od *Endothia parasitica* Anders. Zaštita bilja br. 54, p: 41-51.
- Lyubenova, M., Dimitrova, V., Velez, V., Bratanova-Dončeva, S.V. (2004): Phytocoenological investigation of chestnut (*Castanea sativa* Mill.) communities in Belasitza region. In: Proceedings of 2nd Congress of Ecologists of Republic of Macedonia with International participation: Ohrid, Makedonija, p: 29-33.
- Medak, J. (2004): Fitocenološke značajke šuma pitomog kestena u sjeverozapadnoj Hrvatskoj. Magistarski rad u rukopisu. Šumarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.
- Medak, J. (2011): Šuma pitomog kestena s prasećim zeljem (*Aposeridi foetidiae-Castaneetum sativae* ass. nova u Hrvatskoj, Šumarski list - posebni broj, 135,p: 5-24. Zagreb.
- Mujagić Pašić, A., Ballian, D. (2012): Variability of the sweet chestnut (*Castanea sativa* Mill.) based on the morphological properties of the leaf in natural populations of Bosanka Kraijna, Works of the Faculty of Forestry, University of Sarajevo, No1, p: 57-69.
- Pividori, M., Armando, F., Conedera, M. (2005): Post cultural dynamics in a mixed chestnut coppice at its ecological border. In: Proceedings of the Third International Chestnut (Ed.: Abreu C.G., Rosa, E., Monteiro, A.A.). Acta Horticulturae 693, p: 219-224.
- Poljak, I. (2014): Morfološka i genetska raznolikost populacija i kemijski sastav plodova europskog pitomog kestena (*Castanea sativa* Mill.) u Hrvatskoj. Doktorska disertacija, Sveučilište u Zagrebu, Šumarski fakultet, Doktorska disertacija, p: 1-233.
- Poljak, I., Idžojtić, M., Zebec, M., Perković, N. (2012): Varijabilnost europskog pitomog kestena (*Castanea sativa* Mill.) na području sjeverozapadne Hrvatske prema morfološkom obilježjima plodova. Šumarski list, 9-10, p: 479-489.
- Poorbabaei, H. (2007): Study on woody species diversity in the sweet chestnut (*Castanea sativa*) forests, Guilan, Iran. International Conference on mathematical biology (icmb07), 4th – 6th sept. Malaysia.
- Popović, V., Kerkez, I. (2016): Varijabilnost populacija divlje trešnje (*Prunus avium* L.) u Srbiji prema morfološkim svojstvima listova, Šumarski list, 7-8, p:347-355.
- Radoglou, K., Raftoyannis, Y., Halivopoulos, G. (2003): The effects of planting date and seedling quality on field performance of *Castanea sativa* Mill. and *Quercus frainetto* Ten. Seedlings. Forestry 76(5), p:569-578.
- Radulović, Z. (2013): Najčešće mikoze pitomog kestena, sa posebnim osvrtom na vrstu *Cryphonectria parasitica* (Murrill) Barr. Doktorska disertacija. Šumarski fakultet Univerziteta u Beogradu. Beograd.

- Serdar, Ü., Demirsoy, H., Demirsoy, L. (2011): A morphological and phenological comparison of chestnut (*Castanea*) cultivars 'Serdar' and 'Marigoule', Australian Journal of crop Science 5, p: 1311-1317.
- Skender, A. (2010): Genetska i pomološka varijabilnost populacije pitomog kestena u Bosni i Hercegovini, Doktorska disertacija, Poljopivredno-prehrambeni fakultet Sarajevo, Unevirzitet u Sarajevu, p: 1-92.
- Stupar, V., Šurlan, M., Travar, J., Cvjetičanin, R. (2014): Fitocenološka analiza mezofilnih šuma pitomog kestena (*Castanea sativa* Mill.) u okolini Kostajnice (Bosna i Hercegovina), Glasnik Šumarskog fakulteta u Banjoj Luci, No.21, p: 25-43.
- Sučić, J. (1969): Pitomi kesten na području Bratunca i Srebrenice, sa biološkog, ekološkog i ekonomskog gledišta, NF "Oslobođenje" Sarajevo, p:1-136.
- UPOV (Union internationale pour la protection des obtentions vegetales), (1989): Guidelines for conduct of testes for distinctness, hoogenuty and stability, *Castanea sativa* Mill., Geneva, p: 1-22.
- Uščuplić, M., Lazarev, V. (1972): Rezultati primarne antagonističke flore u borbi protiv raka pitomog kestena. Aktuelni problemi šumarstva, drvne industrije i hortikulture, Šumarski fakultet Beograd, p: 361-366.
- Velev, V., (2007): Structure of the chestnut communities (*Castanea sativa* Mill.) in Belasitza mountain and a conception regarding the dynamic processes that go off in them. Sustainable management of sweet chestnut ecosystems-cast Bul. Blagoevgrad, Bulgaria.
- Zebec, M., Idžojtić, M., Poljak, I. (2014): Morfološka varijabilnost nizinskog brijesta (*Ulmus minor* Mill. sensu latissimo) na području kontinentalne Hrvatske, Šumarski list 11-12, p: 563-572.
- Zysset, M., Brunner, I., Frey, B., Blaser, P. (1996): Response of European chestnut to varying calcium/aluminum ratios. Journal of Environmental Quality 25(4), p: 702-708.
- Чортан, Д., Шијачић Николић М., Кнежевић Р. (2013): Варијабилност морфометријских карактеристика листова црне тополе (*Populus nigra* L.) из две популације са подручја Војводине. Шумарство 3-4. УШИТС; Универзитет у Београду Шумарски факултет, Београд. (стр. 193-202)

VARIABILITY OF LEAF MORPHOLOGICAL TRAITS OF CHESTNUT TEST TREES
(*Castanea sativa* Mill.) FROM SIX POPULATIONS IN BOSNIA AND HERZEGOVINA

Vanja Daničić
Vasilije Isajev
Milan Mataruga
Branislav Cvjetković

Summary

The paper presents the results of an analysis of individual and interpopulation variability of morphological traits of sweet chestnut leaves (*Castanea sativa* Mill.). The analysis was conducted on 90 test trees from six selected populations. The selected populations are found in the area of Buzim, Kostajnica, Prijedor, Banja Luka, Bratunac, and Konjic and thus differ in environmental and vegetation characteristics. In each selected population, 15 test trees were selected and marked using individual selection methods. The leaves were harvested following the formation of terminal buds at the end of June and beginning of July 2011 and 2012. A total of 40 leaves were collected from each tree and herbarized. Leaves were sampled from the south-southeast-oriented part of the crown. The collected leaves were marked and packed separately for each tree. Morphological analyses and statistical data

processing investigated the extent of variation of leaf characteristics. The analyses were conducted through a series of successive activities: collection, identification, and herborization of the collected material; analysis of leaf morphological characteristics; determining the degree of variability of the analyzed leaf characteristics; determining the potential degree of differentiation within a species. The following morphological characteristics were measured on herbarium leaves: maximum leaf width (MSL), maximum leaf width distance from leaf base (DMSL), leaf length (DL), petiole length (DP), and leaf length (DNL) and leaf base shape. Their dimensions were measured on the millimeter paper with an accuracy of 1/10cm. Quantitative traits of morphometric characteristics were processed by the method of descriptive statistics, that is, the mean values and measures of variability. The basic parameters of descriptive statistics used in the analyses were: minimum (Min), maximum (Max), mean (As), standard deviation (Sd), standard deviation error (Sg) and coefficient of variation (Cv). The research revealed great variability of leaf morphological properties. Based on the analyzed leaf base properties, cardiac shape is predominant in the studied populations. The analysis of variance reveals that, according to the morphological characteristics of the leaves, there are statistically significant differences between the populations at the population and individual levels. The two-way analysis shows that there are statistically significant differences in all measured properties for the population factor, the year factor as well as the interaction of the population and year, indicating that the leaves of sweet chestnut are very plastic and the leaf variability is strongly influenced by the effect of external factors, primarily climate factors. There is no statistically significant difference determined for the derived factor, which means that the leaf shape does not vary with the changes in leaf dimensions. The cluster analysis did not establish the presence of geographic connectivity and differentiation of the studied populations. Populations are randomly grouped and their distribution is likely to be conditioned by the microenvironmental conditions of the site. The results can be used in the sweet chestnut breeding programs with the use of molecular markers, but they can also find wider applications in forestry, pomology, and environmental conservation.

