

GENETSKA STRUKTURA POPULACIJA HRASTA KITNJAKA (*QUERCUS PETRAEA* (MATT.) LIEBLEIN) U BOSNI I HERCEGOVINI NA TEMELJU ANALIZE IZOENZIMSKIH BILJEGA

GENETIC STRUCTURE OF SESSILE OAK (*Quercus petraea* (Matt.) Lieblein) IN BOSNIA AND HERZEGOVINA BASED ON THE ISOENZYME ANALYSIS

Dalibor BALLIAN*,¹

Sažetak

Hrast kitnjak [*Quercus petraea* (Matt.) Lieblein] jedna je od najvažnijih vrsta šumskog drveća u Bosni i Hercegovini, iako je sadašnja struktura šuma hrasta kitnjaka vrlo slaba. Razlog tomu treba tražiti u jakom povijesnom utjecaju čovjeka na tu vrstu, brojne neplanske i nestručne sječe i slabo razvijen sustav gospodarenja ovom vrijednom vrstom. U uvjetima Bosne i Hercegovine kitnjak se nalazi na 333 000 ha, u malim čistim i većinom mješovitim sastojinama s grabom i ponekad bukvom.

Kroz ovo istraživanje želimo odgovoriti na sljedeća pitanja: kakva je genetska struktura odabranih populacija hrasta kitnjaka u Bosni i Hercegovini, te kakvo je značenje poznavanja genetičke strukture u procesima obnove? Analizirali smo 17 prirodnih populacija hrasta kitnjaka uz uporabu 11 enzimskih sustava s 14 genskih lokusa i registrirali 82 alela. Registriran je velik polimorfizam, a samo je kod genskog lokusa sorbitol registriran potpuni monomorfizam, dok je kod genskog lokusa Pgi – A dobiven polimorfizam samo u jednoj populaciji.

Prosječan broj alela za istraživane populacije kretao se od 1,7143 do 3,1429, a efektivni broj od 1.1089 do 1.2585. Stvarna i teorijska heterozigotnost najniža je bila u populaciji Gračanica s 0,0947, dok je najveća bila u populaciji Bugojno s 0,1869. Fiksacijski indeks u svim populacijama je bio negativan, što ukazuje na dobru stabilnost istraživanih populacija te da su slabi ili izostaju procesi inbridinga u populacijama. Najveće genetske udaljenosti u odnosu na ostale pokazala je populacija Tešanj.

Rezultati diferencijacije pokazuju male vrijednosti, što ukazuje na kratko vrijeme od njihovog razdvajanja te prisutnost toka gena i malog gubitka prilagodbenog potencijala.

Dobiveni rezultati omogućuju preporuku potrebnih mjera za očuvanje genetskih izvora metodama *in situ* i *ex situ* te obnovu i uporabu reprodukcijaskog materijala hrasta kitnjaka u Bosni i Hercegovini.

KLJUČNE RIJEČI: Hrast kitnjak, *Quercus petraea* (Matt.) Lieblein., populacija, genetska varijabilnost

* Šumarski Fakultet Univerziteta u Sarajevu, Zagrebačka 20, 71000 Sarajevo, Bosna i Hercegovina, balliandalibor9@gmail.com

¹ Gozdarski Inštitut Slovenije, Vecna pot 2, SI – 1000 Ljubljana, Slovenia

1. UVOD INTRODUCTION

U strukturi bosanskohercegovačkih listopadnih šuma, hrast kitnjak [*Quercus petraea* (Matt.) Lieblein], nakon bukve, predstavlja najznačajniju listopadnu vrstu s gospodarskog i ekološkog gledišta. Prema prvoj inventuri šuma (Matić i dr. 1971) u Bosni i Hercegovini hrast kitnjak pridolazi na 333 000 ha ili u oko 15 % svih šuma. Struktura tih šuma ukazuje da imamo 115 000 ha visokih i 218 000 ha niskih šuma (Pintarić 1997). Iz površine niskih degradiranih šuma može se zaključiti da je hrast kitnjak nekada, a i sada u Bosni i Hercegovini, bio i je ekonomski vrlo važna vrsta za proizvodno šumarstvo. Kao što je bio slučaj i s hrastom lužnjakom, tako je i proces iskorištavanja i degradacije šuma hrasta kitnjaka kao posljedica povijesnog utjecaja čovjeka bio prilično dug, posebice u zadnjih 160 godina (Begović 1960 1978; Memišević 2008; Ballian i dr. 2010). Uz povijesno značenje i vrlo velikih neiskorištenih površina na koje bi se mogao ponovo unijeti (Pintarić 2002), proizvodnja šumskog sadnog materijala hrasta kitnjaka u rasadnicima Bosne i Hercegovine je vrlo mala (Ballian 2000.).

U ekološkom pogledu kitnjak je vrsta koja raste između 150 i 1000 m nadmorske visine. Manje je rasprostranjen od hrasta lužnjaka, jer mu je istočna granica na Karpatima (Ducouso i Bordacs 2004.). Raste na vapnenačko – dolomitnim geološkim podlogama te serpentinsko – peridotitnim, kako na dubokim, tako i na ekstremno plitkim zemljištima gdje gradi čitav niz fitocenoza (Stefanović 1977), vrlo često rijetkih i vrlo specifičnih, ako su na plitkim i toplim staništima. Najviše je rasprostranjen u brdskom dijelu Bosanske Posavine, na planinama Motajici, Prosari i Majevici, gdje danas nalazimo najkvalitetnije šume kitnjaka. Ima ga i u unutrašnjosti, posebice u rubnim dijelovima riječnih dolina, gdje ga nalazimo disjunktno rasprostranjenog, često miješanog s hrastom lužnjakom. Također ima i disjunktno rasprostiranje u ofiolitskoj zoni, gdje na peridotitima i serpentinitima gradi specifične šumske zajednice, s vrlo lošom kvalitetom drva, a raste na najekstremnijim staništima (Stefanović 1977.; Stefanović i dr. 1983.). Ta raznolikost staništa kod hrasta kitnjaka dovela je do toga da se izdiferencira u više nižih sistematskih kategorija, od kojih su poznati: *Quercus dalechampii* Ten. – Dalešampijev kitnjak (Balkanski kitnjak) koji se javlja na termofilnim staništima i *Quercus polycarpa* Schur – Transilvanijski kitnjak (Jovanović 2000.). To su primjeri koji se vrlo često u literaturi pogrešno deklariraju statusom vrste (Gömöry i Schmidtova 2007.).

U uvjetima Bosne i Hercegovine šume hrasta kitnjaka često nalazimo u dodiru sa šumama hrasta lužnjaka. Tu oni zajedno grade čitave hibridne rojeve vrlo složene morfološke strukture svojstava s brojnim povratnim križancima,

jer hibridne individue nisu sterilne niti inferiorne u odnosu na roditelje (Rieseberg i dr. 1999.). Upravo ti procesi, kako navodi Krstinić (1996.), između hrasta lužnjaka ponajprije i hrasta kitnjaka uvjetuju vrlo izraženu unutarpopulacijsku i međupopulacijsku varijabilnost. Također i prema Trinajstiću (1988.) to dovodi do velike polimorfnosti i varijabilnosti između individua, a potencirana je introgresivnom hibridizacijom do koje dolazi zbog nepotpune reprodukcije izolacije među srodnim vrstama roda *Quercus* L. Upravo zahvaljujući takvoj situaciji u Bosni i Hercegovini, gdje hrast kitnjak raste s hrastom lužnjakom, dolazi do njihove međusobne hibridizacije i do pojave hibridnih rojeva, što stvara teškoće pri determinaciji i razlikovanju tih vrsta te laganom nestajanju slabije vrste kako navodi Rieseberg i dr. (1999.), a u našem slučaju hrasta kitnjaka koji nema ekološku plastičnost kao hrast lužnjak. Iako su već mnoge stvari vezane za hibridizaciju bijelih hrastova (skupine *sensu lato*) poznate, upravo hibridni rojevi kitnjaka i drugih vrsta dovode do konfuzije te kitnjak smatraju samo ekotipom ili podvrstom lužnjaka (Kleinschmit i dr. 1995.; Steinhoff 1997.). Rješavanjem tog problema bavilo se više autora (Müller – Starck i Ziehe 1991.; Zanetto i dr. 1994.), a tijekom svojih istraživanja otkrili su specifične alele za svaku od vrsta, kao i učestalosti pojavljivanja nekih od specifičnih alela.

Do sada nije bilo sveobuhvatne genetske analize hrasta kitnjaka u Bosni i Hercegovini. Djelomično je obrađena njegova struktura uz pomoć cpDNA analize, ali u okviru kompleksa bijelih hrastova (Slade i dr. 2008.), uporabom AFLP tehnike. Tada je određena haplotipska pripadnost 16 populacija hrasta kitnjaka, te kod njega registrirano sedam različitih haplotipova (2, 4, 5, 6, 7, 17, 31). Detaljnijom analizom tih podataka bavio se Ballian i dr. (2006.) te su pokušali prikazati praktičnu, odnosno uporabnu vrijednost tih vrlo vrijednih rezultata. Također su obavili jedno manje istraživanje baveći se analizom izoenzima obrađene sjemenske sastojine hrasta kitnjaka u Federaciji Bosne i Hercegovine, a kako je u pitanju samo pet populacija, i uz jako dobre varijabilnosti koja je registrirana, zbog malog uzorka rezultati nisu reprezentativni za Bosnu i Hercegovinu (Ballian i Bogunić 2012.).

Kada su u pitanju europska istraživanja, ne postoji mnogo rezultata koji ukazuju na izoenzimsku varijabilnost kitnjaka (Gömöry i dr. 2001.; Gömöry i Schmidtova 2007.) jer su istraživanja bila usmjerena na hrast lužnjak koji je mnogo vrjedniji i interesantniji. Ipak, kitnjak je uključen u brojna filogenetska istraživanja hrastova na razini DNK (Ferris i dr. 1993., 1995., 1998.; Bordács i dr. 2002.; Petit i dr. 2002. a, b; Fineschi i dr. 2002.), pri čemu je raščlanjena varijabilnost hrastova povezana s njegovom seobom poslije ledenog doba, o čemu postoje istraživanja na temelju analiza fosilnoga peluda (Huntley i Birks 1983.) te na temelju mikrosatelitskih analiza (Steinkellner i dr. 1997.).

Cilj ovoga rada je upotpuniti poznavanje genetske strukture hrasta kitnjaka u Bosni i Hercegovini na temelju izoenzimskih analiza.

2. MATERIJAL I METODA RADA MATERIALS AND METHODS OF THE STUDY

Za istraživanje genetske strukture hrasta kitnjaka u Bosni i Hercegovini uporabljen je materijal iz 16 prirodnih populacija koje su izdvojene na temelju svojih fenotipskih svojstava (tablica 1., slika 1.). Materijal za analizu je sakupljen u periodu zimskog mirovanja, a za analizu su uporabljeni lisni pupovi koji su ujedno poslužili i za identifikaciju vrste. Prilikom sabiranja materijala selekciju individua hrasta kitnjaka načinio sam na temelju strukture kore, oblika pupova, ostatka listova na stablu i oko stabla, te kupula i plodova oko stabla. Ovome sam pristupio vrlo suptilno, jer su veliki problem predstavljali hibridni rojevi koji su česti u Bosni i Hercegovini. Tako je za analizu populacija skupljen materijal s 50 stabala ravnomjerno raspoređenih u istraživanim populacijama, ali mnoge analize nisu uspjele, dok je uspjeh analize prikazan u tablici 1.

Macerat iz kojeg su kasnije izdvojeni enzimi napravljen je uz pomoć Tris – HCl buffera uz pH 7,5 (Longauer 1996.). Tračkasti filtar papirići natopljeni maceratom postavljeni su u komore i razdvojeni na škrobnom gelu primjenom elektro-



Slika 1. Zemljopisni raspored istraživanih sastojina: 1.Starić, 2.Živinice, 3. Foča, 4.Kladanj, 5.Kakanj, 6.Bugojno, 7.Kresevo, 8. Goražde, 9.Sarajevo, 10.Gračanica, 11.Ključ, 12.Jajce, 13.Olovo, 14.Cazin, 15Žepče, 16.Konjic, 17.Tešanj

Picture 1. Distribution schedule of researched samples: 1.Starić, 2. Živinice, 3. Foča, 4.Kladanj, 5.Kakanj, 6.Bugojno, 7.Kresevo, 8. Goražde, 9.Sarajevo, 10.Gračanica, 11.Ključ, 12.Jajce, 13.Olovo, 14.Cazin, 15Žepče, 16.Konjic, 17.Tešanj

Tablica 1. Osnovni podaci o analiziranim populacijama
Table 1. Main data about the analysed population

Br. No.	Populacija Population	Zemljopisna širina Latitude	Zemljopisna dužina Longitude	Nadmorska visina Altitude	Broj uspješnih analiza Number of successful analysis
1	Starić	44°14'06"	18°45'31"	537	47
2	Živinice	44°25'09"	18°36'01"	359	47
3	Foča	43°27'31"	18°44'38"	441	50
4	Kladanj	44°14'12"	18°34'54"	796	50
5	Kakanj	44°04'12"	18°11'24"	589	46
6	Bugojno	44°01'09"	17°28'36"	649	46
7	Kresevo	43°51'12"	18°02'01"	781	46
8	Goražde	43°38'43"	18°56'27"	877	46
9	Sarajevo	43°51'54"	18°22'21"	591	35
10	Gračanica	44°43'07"	18°18'55"	333	34
11	Ključ	44°31'42"	16°45'50"	302	28
12	Jajce	44°18'29"	17°15'06"	540	46
13	Olovo*	44°09'06"	18°32'53"	611	41
14	Cazin*	45°02'41"	16°10'23"	321	50
15	Žepče*	44°23'23"	17°59'22"	354	50
16	Konjic*	43°35'42"	18°02'42"	552	48
17	Tešanj*	44°34'37"	17°59'29"	373	47

*sjemenske sastojine (Ballian i Bogunić 2012)

foreze, uz uporabu 3 bufferna sustava za razdvajanje enzimskih sustava (Li – borat / tris – citrat pH 8,1; Na – borat pH8,0 / tris – citrat pH 8,7; tris – citrat / tris – histidin pH 7,0). Analizom je obuhvaćeno 11 enzimskih sustava s 14 genskih lokusa, a uspješno je vizualizirano 82 alela (tablica 2.).

Određenje vizualiziranih alela dobilo se mjerenjem na gelu, a prema ključu datom u tablici 3. Analiza frekvencija genotipova i genetskih udaljenosti obavljena je u standardnom

Tablica 2. Enzimski sustavi, E.C. referentni broj, broj genskog lokusa, broj alela
Table 2. Enzyme systems, E. C. code, Gene loci, number of alleles

Enzimski sustavi Enzyme system	E.C. broj E. C. Code	Genski lokusi Gene loci	Broj alela Number of alleles
Fluorescent α -esterase	3.1.1.1	Fest	8
Glutamate dehydrogenase	1.4.3.11	Gdh-A	7
Glutamate-oxalacetat trans-aminase	2.6.1.1	Got-B	7
Isocitrate dehydrogenase	1.1.1.42	ldh-B	7
Malate dehydrogenase	1.1.1.37	Mdh-A, -B, -C	5, 6, 3
Menadione reduktase	1.6.99.2	Mnr-A	13
6-phosphoglucomate dehydrogenase	1.1.1.44	6pgdh-B	4
Phosphoglucose isomerase	5.3.1.9	Pgi-A, -B	2, 10
Phosphoglucomutase	5.4.2.2	Pgm-A	5
Glucosedehidrogenaze	1.1.1.47	Gludh-A	4
Sorbitol		Sod-A	1
Ukupno – Total	11	14	82

Tablica 3. Ključ za alelne pozicije hrasta kitnjaka na zimogramu tijekom vizualizacije

Table 3. Key for the alleal positions of Sessile Oak on zimogram during the visualisation

aleli	Genski lokusi Gene loci													
	Fest A	Gdh A	Got B	Idh B	Mdh A	Mdh B	Mdh C	Mnr A	6pgdh B	Pgi A	Pgi B	Pgm A	Gludh A	Sod A
A	130	204	140	140	129	127	123	143	118	100	159	115	133m	100
B	120	170	122b	130	100	120	100	136	100	81	153k	100	117	
C	115	152	116	123c	90	113	80	127f	81		140	83	100	
D	109	129	100	117d	80	100		100	53		132	66	83	
E	100	100	90	100	71	90		88			128h	15		
F	90	85	85	85e		80		76			118i			
G	81a		80	60				71			109j			
H	77							65g			100			
I	70							58			72			
J								54			45			
K								46						
L								36						
M								21						

Fest A G: a81=85+84+81+80, GotB B: b122=122+120, Idh C: c123=123+120, Idh D: d117=117+114, Idh F: e85=90+85, Mnr C: f127=127+125, Mnr H: g65=65+62, PgiB E: h128=130+128, PgiB F: i118=122+118, PgiB G: j109=110+109+106, PgiB G: k153=153+150, Gludh A: m133=133+130

računalnom programu BIOSYS – 1 (Swofford i Selander 1981).

Izračunati su sljedeći parametri:

1. alelne i genotipske frekvencije
2. očekivana srednja heterozigotnost (H_e) i dobivena srednja heterozigotnost (H_o)
3. ukupni broj alela, broj alela po lokusu, proporcija polimorfnih lokusa, koeficijent inbridinga (F_{is})
4. genetska udaljenosti (Nei 1972; 1978)

3. REZULTATI ISTRAŽIVANJA I RASPRAVA RESULTS AND DISCUSSION

Od ukupno 11 analiziranih enzimskih sustava, s 14 genskih lokusa, ukupno je vizualizirano 82 alela kod hrasta kitnjaka podrijetlom iz prirodnih populacija Bosne i Hercegovine. Uz analizu enzimskih sustava, kao ključni parametri genetskog diverziteta za analizu su uporabljeni prosječan i efektivni broj alela te promatrana i očekivana heterozigotnost (tablica 4.). Od analiziranih enzimskih sustava sorbitol pokazao se monomorfni u svim istraživanim populacijama. Za sorbitolom slijedi genski lokus Pgi – A kod kojega je registriran manji polimorfizam u samo jednoj populaciji (Foča), što bi mogla biti karakteristika populacija koje se nalaze istočnije od ove, jer u središnjoj Europi nije registriran. Inače, postoji velika vjerojatnost da ti aleli podrijetlom iz južnog glacialnog pribježišta nisu bili u mogućnosti rasprostrirati se prema zapadu, te je u svim ostalim populacijama koje su zapadno registriran monomorfizam. Isto je registrirano i kod obične jele kod više alela (Ballian i dr. 2012.). Također, i genski lokus Mdh – C pokazuje monomorfizam u 14 populacija, a genski lokus Mdh – B i 6pgdh

– B u 13 populacija, što su za lokus Mdh – A i Mdh – D dobili Gömöry i Schmidtova (2007.). Samo tri genska lokusa, Fest – A, Pgi – B i Gludh – A pokazuju prisutnost polimorfizma u svim istraživanim populacijama, a uz to genski lokus Fest – A pokazuje jako malu diferenciranost između populacija s vrijednošću F_{st} 0,0119 (tablica 5.). Populacija Gračanica pokazuje najviše monomorfizma te od 14 genskih lokusa samo je sedam polimorfno. Također je interesantna populacija Tešanj u kojoj je registriran monomorfizam za genski lokus Gludh – A. U istraživanju slovačkih i bugarskih populacija hrasta kitnjaka genski lokusi Sod – A, Mdh – B, Mdh – C, 6pgdh – B, Pgi – A pokazuju monomorfizam (Gömöry i dr. 2001.). Kod drugih istraživanih genskih lokusa registriran je polimorfizam, a to su sljedeći genski lokusi: Fest – A, Gdh – A, Got – B, Idh – B, Mdh – A, Mnr – A, Pgi – B, Pgm – A, Gludh – A, što je u svom istraživanju registrirali Gömöry i dr.(2001.). Također najveću vrijednost diferencijacije pokazuje genski lokus Mdh – A s veličinom F_{st} 0,0649 te genski lokus 6 – pgdh – B sa F_{st} 0,0517 (tablica 5.).

Najmanji broj alela po lokusu je registriran kod populacija Gračanica zbog velikog monomorfizma (tablica 4.), što nije bilo za očekivati s obzirom na velike komplekse hrasta kitnjaka u tom dijelu Bosne i Hercegovine. Kada je u pitanju najveći broj alela, on je registriran u populaciji Jajce (tablica 4.), što je također iznenađenje s obzirom na stanje šuma hrasta kitnjaka koje imamo na području Jajca. No, rezultati ranijih istraživanja u srednjem toku rijeke Vrbas, nešto sjevernije od Jajca (populacija Bočac), analizom subhaplotipov na temelju cpDNK (Ballian i dr. 2006) ukazuju na ovakav rezultat. Interesantna je visoka vrijednost broja alela i u populaciji Foča, što nas ne bi trebalo iznenaditi s obzirom na velik haplotipski diverzitet kitnjaka u tom području (Ballian

Tablica 4. Svojstva genetičke raznolikosti u istraživanim populacijama
Table 4. Characteristics of genetic diversity in the investigated population

Populacija Population	Prosječan broj alela Average number of alleles (Na)	Efektivni broj alela Effective number of alleles (Ne)	Promatrana heterozigotnost Observed heterozygosity (Ho)	Očekivana heterozigotnost Expected heterozygosity (He)
Starić	2,3571	1,1678	0,1113	0,1061
Živinice	2,3571	1,1745	0,1136	0,1123
Foča	3,0714	1,1547	0,1247	0,1159
Kladanj	2,7143	1,1835	0,1359	0,1291
Kakanj	2,9286	1,2456	0,1628	0,1494
Bugojno	2,7857	1,2585	0,1869	0,1641
Kreševo	2,9286	1,2449	0,1724	0,1499
Goražde	2,0000	1,1355	0,1102	0,1034
Sarajevo	2,2143	1,1396	0,1122	0,1069
Gračanica	1,7143	1,1089	0,0947	0,0835
Ključ	2,4286	1,1522	1,1228	0,1125
Jajce	3,1429	1,1908	0,1441	0,1345
Olovo	2,3571	1,2020	0,1438	0,1340
Cazin*	2,3571	1,1967	0,1310	0,1243
Žepče*	2,4286	1,1523	0,1200	0,1056
Konjic*	2,5714	1,1726	0,1384	0,1250
Tešanj*	2,4286	1,1616	0,1279	0,1221
Srednja veličina	5,8571	1,1757	0,1332	0,1256

*Ballian i Bogunić (2012)

i dr. 2006.), kao i ukupni haplotipski i subhaplotipski diverzitet bijelih hrastova na tom području, a koji navode Slade i dr. (2008.).

Kada je u pitanju efektivni broj alela, u populaciji Gračanica je najmanja veličina, što je i za očekivati s obzirom na već ranije navedeni monomorfizam. Najveći efektivni broj alela ima populacija Bugojno, a što je iznenađujuće s obzirom da je u pitanju mala i devastirana populacija hrasta kitnjaka, ali je u dobroj korelaciji s visokom heterozigotnošću koja je registrirana u toj populaciji.

Najveću srednju promatranu heterozigotnost imamo u populaciji Bugojno, iako pripada skupini relativno izoliranih, odnosno malih i rubnih populacija, a koja iznosi 0,1869 (tablica 4.). Najmanju heterozigotnost pokazuje populacija Gračanica, što se i očekivalo nakon provedene alelne analize. Na isti način se ponašaju i očekivane heterozigotnosti koje su znatno manje te to ima izravan utjecaj na vrijednost fiksacijskog indeksa, koji je zbog toga negativan. Kako je veličina teoretske heterozigotnosti kod svih istraživanih populacija manja od stvarne, to ukazuje na pojavu negativnih veličina fiksacijskog koeficijenta, odnosno na odsutnost inbridinga u istraživanim populacijama hrasta kitnjaka (tablica 4.), a prosječni fiksacijski indeks za sve istraživane populacije je također negativan i iznosi -0,0972.

Ako, pak, analiziramo fiksacijski indeks za istraživane genske lokuse, tada imamo kod genskoga lokus Gludh – A pozitivnu vrijednost od 0,0331, iako taj genski lokus pokazuje veliku polimorfnost u svim istraživanim populacijama. Ipak, genski lokus Gludh – A se u nekim istraživanim pokazao vrlo nepredvidiv, jer je pokazivao nejasnu zimogramsku sliku te je u nekim statističkim analizama isključivan, a u drugim uključivan, o čemu izvještava Gömöry i dr. (2001.). U našem slučaju nije isključen iz statističke analize te je to jedini genski lokus koji ima pozitivnu veličinu fiksacijskog indeksa (tablica 5.). S obzirom na vrijednosti fiksacijskog indeksa, s populacijama hrasta kitnjaka može se slobodnije gospodariti bez bojazni da će izgubiti svoj genetski diverzitet (Ballian 2005.; Ballian 2015.).

Ako se pozornost u analizi usmjeri samo ka genetskim kriterijima, za praktičare je najbolje da svaka populacija posjeduje što je moguće više genetskih varijanti (veliku brojnost svih genotipskih kombinacija), bilo da su izgrađeni od rijetkih alela, bilo onih s visokom učestalošću koji daju visok stupanj heterozigotnosti. U tom slučaju se može očekivati s velikom sigurnošću u populacijama i veliki genetski potencijal za prilagodbu (Ballian 2002.), a Larsen (1986.: a i b) to vrlo dobro povezuje s visokom otpornošću vrste prema propadanju. Kada je genetska raznolikost u pitanju, posebno su važne populacije koje se mogu smatrati predstavnicima postojećega gene poola (sve istraživane populacije su prirodne) te populacije koje imaju veliku raznolikost u gene poolu, odnosno nisu izgubile mnogo od svog prilagodbenog potencijala na specifične ekološke uvjete. To ovdje možemo vidjeti iz rezultata promatrane heterozigotnosti (tablica 4.), a što je registrirano u 16 od 17 istraživanih populacija, jer je populacija Gračanica izuzetak.

Kada je u pitanju ukupna diferenciranost populacija hrasta kitnjaka, dobiveni rezultat pokazuje srednju vrijednost diferenciranosti za 14 genskih lokusa, s veličinom F_{st} 0,0311 (Tablica 5.). To je manja veličina nego što su dobili Gömöry i Schmidtova (2007.) kada je u pitanju diferencijacija između kitnjaka i lužnjaka, a veća kada je u pitanju diferencijacija između kitnjaka i hrasta medunca slovačkih populacija. Ovo ukazuje da kod nas, i uz dobivene veličine, nije završen proces diferencijacije između istraživanih populacija.

Provedena analiza genetskih odstupanja prema Nei (1972.) pokazala je prilično niske vrijednosti, a razlog tomu je vjerojatno zemljopisna bliskost istraživanih populacija (tablica 6.). Kada je u pitanju genetska sličnost, najmanju udaljenost pokazuju populacije Jajce i Ključ. Kako su to relativno bliske populacije i kako vjerojatno i dalje postoji tok gena, ili je kasno prekinut te nije došlo do značajnijeg diferenciranja između njih, dobivena je jako mala vrijednost (tablica 6.). S druge strane, dobivena je mala vrijednost genetskog odstupanja između populacija Ključ i Gračanica, s obzirom na njihovu zemljopisnu udaljenost i izoliranost te samu genetsku strukturu populacije Grača-

Tablica 5. Fiksacijski indeks prema genskim lokusima i diferencijacija između istraživanih populacija prema Nei (1987)

Table 5. Fixational index based on the genetic locus and the differentiation between the studied populations based on Nei (1987)

Genski lokus Gene loci	Većina uzorka Sample size	Fiksacijski indeks Fixation index (Fis)	Diferencijacija između istraživanih populacija The differentiation between the populations (Fst)
Fest A	1514	-0,0190	0,0119
Gdh A	1422	-0,2597	0,0496
Got B	1514	-0,0707	0,0181
Idh B	1510	-0,1104	0,0254
Mdh A	1516	-0,0867	0,0649
Mdh B	1516	-0,0247	0,0208
Mdh C	1516	-0,0111	0,0100
Mnr A	1512	-0,1015	0,0228
6pgdh B	1516	-0,0609	0,0517
Pgi A	1516	-0,0204	0,0188
Pgi B	1516	-0,0852	0,0307
Pgm A	1516	-0,0410	0,0319
Gludh A	1492	0,0331	0,0231
Sod A	1516	****	0,0000
Sredina/ Average	1507	-0,0972	0,0311

nica. Od ostalih populacija najbliže su populacije Foča i Kladanj te Kreševo i Olovo, odnosno Kreševo i Bugojno (tablica 6.). Prvu kombinaciju je vrlo teško objasniti, a vjerojatno je to povijesni utjecaj čovjeka koji je sjećama i krčenjima šuma utjecao na strukturu šuma hrasta kitnjaka. Kada je u pitanju kombinacija Kreševo i Bugojno, s obzirom da njih dijeli samo planina Vranica, vjerojatno nije

prošlo dugo razdoblje od prekida genskoga toka između njih, te još nije završen proces diferenciranja.

Tu još treba spomenuti bliskost populacija Kladanj i Živinice koje su relativno bliske, dijeli ih planina Konjuh, a i jedna i druga rastu na peridotitsko-serpentinskoj podlozi, s plitkim, hranjivim, siromašnim i suhim tlom, ali se još nisu u potpunosti izdiferencirale i krenule s genetskim razvojem u različitim smjerovima. S druge strane, imamo populacije Starić i Kladanj koje su također zemljopisno bliske, ali u različitim ekološkim uvjetima i nisu se značajno izdiferencirale.

Populacija Tešanj, za razliku od drugih populacija, pokazuje velika odstupanja u odnosu na sve analizirane populacije (tablica 6.), a posebno prema populaciji Kakanj. Kako obje populacije pripadaju slivu rijeke Bosne, vjerojatno razloge za to odstupanje trebamo tražiti u povijesnom utjecaju čovjeka, posebice na populaciju Tešanj, gdje su prije 150 godina izvršene velike sječe hrastova (Begović 1960.; 1978.; Memišević 2008.).

Razloge za ovakve rezultate treba tražiti u malom području istraživanja, ali i u specifičnoj situaciji naših populacija hrasta kitnjaka te inače hrastova iz grupe *sensu lato*, jer su sadašnje populacije imale glacialna pribježišta u neposrednoj blizini, na jugu Balkanskog poluotoka te sekundarna na Jadranskoj obali, prema Petiti i dr. (2002.:a) u srednjoj Dalmaciji, a prema Slade i dr. (2008.) u južnoj Dalmaciji. To je ostavilo neizbrisiv trag na današnju genetsku strukturu svih populacija hrastova u Bosni i Hercegovini, ali i drugim šumskim vrstama.

Ipak, kada je u pitanju hrast kitnjak, uporabljeni genetski parametri ukazuju na suptilne i jasne razlike između istra-

Tablica 6. Nejev genetski identitet (iznad dijagonale) i genetska odstupanja (ispod dijagonale) (Nei 1972)

Table 6. Nei's genetic identity (below diagonal) and genetic distance (above diagonal) (Nei 1972)

Populacije Population	Živinice	Olovo	Starić	Kakanj	Bugojno	Kreševo	Kladanj	Foča	Cazin	Sarajevo	Žepče	Konjic	Gračanica	Ključ	Jajce	Tešanj	Goražde
Živinice	****	0,0013	0,0015	0,0044	0,0022	0,0016	0,0012	0,0024	0,0015	0,0025	0,0027	0,0019	0,0031	0,0025	0,0015	0,0084	0,0026
Olovo	0,9987	****	0,0020	0,0022	0,0012	0,0011	0,0021	0,0023	0,0017	0,0034	0,0023	0,0027	0,0044	0,0030	0,0024	0,0085	0,0044
Starić	0,9985	0,9981	****	0,0026	0,0036	0,0032	0,0023	0,0042	0,0030	0,0044	0,0057	0,0034	0,0032	0,0035	0,0030	0,0113	0,0045
Kakanj	0,9956	0,9978	0,9974	****	0,0049	0,0044	0,0045	0,0054	0,0034	0,0082	0,0064	0,0063	0,0070	0,0065	0,0050	0,0169	0,0098
Bugojno	0,9978	0,9988	0,9964	0,9951	****	0,0011	0,0024	0,0026	0,0025	0,0056	0,0028	0,0038	0,0058	0,0037	0,0024	0,0094	0,0051
Kreševo	0,9984	0,9989	0,9968	0,9956	0,9989	****	0,0029	0,0033	0,0005	0,0051	0,0020	0,0044	0,0055	0,0030	0,0018	0,0103	0,0061
Kladanj	0,9988	0,9979	0,9977	0,9955	0,9976	0,9971	****	0,0009	0,0031	0,0028	0,0027	0,0012	0,0027	0,0028	0,0015	0,0080	0,0025
Foča	0,9976	0,9977	0,9958	0,9946	0,9974	0,9967	0,9991	****	0,0034	0,0033	0,0009	0,0023	0,0031	0,0026	0,0018	0,0070	0,0032
Cazin	0,9985	0,9983	0,9970	0,9966	0,9975	0,9995	0,9969	0,9966	****	0,0052	0,0023	0,0034	0,0043	0,0027	0,0012	0,0102	0,0061
Sarajevo	0,9975	0,9966	0,9956	0,9918	0,9944	0,9949	0,9972	0,9967	0,9949	****	0,0048	0,0015	0,0036	0,0020	0,0030	0,0040	0,0008
Žepče	0,9973	0,9977	0,9943	0,9936	0,9973	0,9980	0,9973	0,9991	0,9977	0,9953	****	0,0032	0,0051	0,0035	0,0022	0,0085	0,0045
Konjic	0,9981	0,9973	0,9966	0,9938	0,9962	0,9956	0,9988	0,9977	0,9966	0,9985	0,9968	****	0,0029	0,0025	0,0024	0,0060	0,0014
Gračanica	0,9969	0,9956	0,9968	0,9930	0,9942	0,9945	0,9973	0,9969	0,9957	0,9964	0,9949	0,9971	****	0,0008	0,0019	0,0063	0,0037
Ključ	0,9975	0,9970	0,9965	0,9935	0,9963	0,9970	0,9972	0,9974	0,9973	0,9980	0,9965	0,9975	0,9992	****	0,0006	0,0044	0,0030
Jajce	0,9985	0,9976	0,9970	0,9950	0,9976	0,9982	0,9985	0,9982	0,9988	0,9970	0,9978	0,9976	0,9981	0,9994	****	0,0059	0,0033
Tešanj	0,9916	0,9916	0,9888	0,9832	0,9907	0,9898	0,9920	0,9931	0,9898	0,9961	0,9915	0,9940	0,9937	0,9956	0,9941	****	0,0040
Goražde	0,9974	0,9956	0,9955	0,9902	0,9949	0,9939	0,9975	0,9968	0,9940	0,9992	0,9955	0,9986	0,9963	0,9970	0,9967	0,9960	****

živanih populacija te prisutnu diferenciranost koja je prilično niska, ali jasna s obzirom na istraživanje s jednog manjeg prostora kakav je Bosna i Hercegovina. Poznato je od ranije da na takve razlike, osim prirodne selekcije koja je u svezi s ekološkim čimbenicima, i antropogeno djelovanje ostavlja značajni trag. Uz već rečeno, moramo se osvrnuti i na samo područje istraživanja, odnosno na područje Dinarid planina koje je vrlo specifično kada se to odnosi na uvjete okoliša, jer se na jako malom prostoru od samo nekoliko kilometara, javljaju velike razlike u klimatskim, edafskim, orografskim i drugim čimbenicima, koji izravno utječu na genetsku diferencijaciju populacija šumskoga drveća. Zbog takve ekološke raznolikosti te na temelju rezultata molekularno-genetskih istraživanja, stručnjaci smatraju da vrste koje rastu na području Dinarida pokazuju veliku varijabilnost u usporedbi s istim vrstama koje rastu u homogenim ekološkim uvjetima sjevera (Lewandowski i dr. 1997.; Ballian i dr. 2008.).

Uz fundamentalno značenje ovog istraživanja, ono je također primjenjivo u gospodarenju šumama hrasta kitnjaka, jer će dati bolju genetsku sliku provenijencija kitnjaka, što je značajno za daljnje radove na njegovom oplemenjivanju, odnosno kod kontrole podrijetla sjemena i sadnog materijala bitnog za proces umjetne obnove degradiranih šuma hrasta kitnjaka (bilo da se radi pošumljavanje ili sjetva sjemena), kao i za poslove vezane za osnivanje banki i arhiva gena metodama *in situ* i *ex situ* u cilju očuvanja ove vrijedne vrste. Ipak, iz dobivenih rezultata, posebice genetske raznolikosti, postavlja se temeljno pitanje *„Je li obuhvaćena sva genetska struktura hrasta kitnjaka u Bosni i Hercegovini i može li predstavljati genetsku strukturu ove vrste u Bosni i Hercegovini?“*. Na to ne možemo odgovoriti sa sigurnošću jer smo analizirali samo 17 populacija, a hrast kitnjak se javlja u različitim ekološkim uvjetima te time i u velikom broju biljnih zajednica (Stefanović 1977.; Stefanović i dr. 1983.) sa specifičnim selekcijskim procesima. U genetskom pogledu postavlja se pitanje hoće li biti obuhvaćeni svi aleli i genotipovi u procesu obnove šuma hrasta kitnjaka, što je važno za adaptabilnost novih populacija? Kako nismo u potpunosti sigurni, trebalo bi u području poput Dinarida, gdje se na vrlo malom prostoru izmjenjuju različiti ekološki uvjeti s različitim biljnim zajednicama u kojima se pojavljuje hrast kitnjak na oko 333 000 ha (Matić i dr. 1971.; Pintarić 1997.), primijeniti varijantu izdvajanja više omanjih sjemenskih sastojina, odnosno genetskih rezervi, da bi se s većom vjerojatnošću sačuvao alelni diverzitet hrasta kitnjaka. Na taj način bi trebalo obuhvatiti što raznovrsnije ekološke uvjete s velikim brojem populacija. Također, kod obnove hrasta kitnjaka treba povremeno kontrolirati genetsku strukturu populacija te je kroz analizu usmjeravati u željenom smjeru (Behm i Konner 1999.) jer se genetske razlike koje se evidentiraju između mladih i starih populacija, uz odgovarajuće uzgojne mjere lako mogu svesti na minimum.

ZAKLJUČCI CONCLUSION

Provedenom biokemijskom analizom genetičke strukture sedamnaest populacija hrasta kitnjaka, uz uporabu 14 izoenzimskih genskih lokusa, dobili smo značajan alelni diverzitet. Registriran je velik polimorfizam, a samo je kod genskoga lokusa sorbitol registriran potpuni monomorfizam, dok kod genskoga lokusa Pgi – A imamo polimorfizam samo u jednoj populaciji.

Prosječan broj alela po lokusu kretao se od 1,7143 do 3,1429, dok se efektivni broj alela po lokusu kretao od 1,1089 do 1,2585. Također su se slično odnosile heterozigotnosti te je najveća u populaciji Bugojno sa 1,1869, a najmanja u populaciji Gračanica sa 0,0947.

Negativne vrijednosti fiksacijskog indeksa u istraživanim populacijama su pokazatelj da se može slobodnije gospodariti istim, jer nisu izgubile mnogo od svoga genetskog potencijala za adaptaciju i posjeduju dovoljno genetske varijabilnosti.

Rezultati diferencijacije pokazuju male vrijednosti, što ukazuje na kratko vrijeme od njihovog razdvajanja te je prisutan tok gena, a također i uz povijesni ljudski utjecaj na njih nisu izgubile mnogo od svog prilagodbenog potencijala.

Kada je u pitanju genetska udaljenost i diferencijacija, sukladne su, uz samo par populacija koje znatno odstupaju od prosjeka, ali se to njihovo odstupanje može pripisati povijesnom ljudskom utjecaju, jer su iz zone izrazitih ljudskih aktivnosti kroz bosanskohercegovačku povijest.

Metode s uporabom biokemijskih biljega za određenje genetske strukture hrasta kitnjaka su dale dobru sliku o istraživanim populacijama, te nam dobiveni rezultati osiguravaju da se preporučuje potrebne mjere za očuvanje genetskih izvora ove vrijedne vrste u Bosni i Hercegovini.

ZAHVALNICA ACKNOWLEDGEMENT

Ovo istraživanje realizirano je na Šumarskom fakultetu Sveučilišta u Zvolenu, te veliku zahvalnost dugujem kolegama, prof. dr. Ladislavu Pauleu i prof. dr. Dušanu Gömöryju, zbog pomoći i izdvojenom vremenu tijekom istraživanja te na statističkoj obradi podataka. Također realiziranje ovog članka potpomogao je LIFE GENMON projekt (LIFE13 ENV/SI/000148).

LITERATURA REFERENCES

- Ballian D. 2000: Značaj rasadničke proizvodnje u cilju održanja i povećanja biodiverziteta, Seminar: Sjemensko – rasadnička proizvodnja u BiH – Aktualno stanje i perspektive, Brčko. str. 81-84.

- Ballian D. 2005: Značaj procjene genetičkog opterećenja u sas-
tojinama obične jele (*Abies alba* Mill.) na osnovu fiksacijskog
indeksa i njegova primjena. Rad. Šumar. Inst. Jastrebarsko,
40(2): 151 – 163.
- Ballian D. 2015: The role of fixation index in preservation of
breeds in small and fragmented populations in the matter of
Pedunculate Oak (*Quercus robur* L.). Botanical science in the
modern world. Proceedings of International Conference, dedi-
cated to the 80th anniversary of the Yerevan Botanical Garden.
str: 259-266.
- Ballian D., M. Ivanković, D. Slade 2006: The distribution of the
populations of sessile oak (*Quercus petraea* (Matt.) Liebl) in
Bosnia and Herzegovina by chloroplasts DNA (cpDNA) and its
application in forestry. In: Bohnens, J., Rau, H.-M. (Hrsg.): For-
stliche Genressourcen als Produktionsfaktor. 26. Tagung der
Arbeitsgemeinschaft Forstgenetik und Forstpflanzenzüchtung
vom 20. bis 22. Oktober 2005 in Fulda. Hessen-Forst, Hann.
Münden, 61-66: 121-131.
- Ballian D., I. Monteleone, D. Ferrazzini, D. Kajba, B. Belletti
2008: Genetic characterization of common ash (*Fraxinus excel-
sior* L.) population in Bosnia and Herzegovina. Periodicum Bi-
ologorum, 110 (4): 323-328.
- Ballian D., M. Memišević, F. Bogunić, N. Bašić, M. Marković,
D. Kajba 2010: Morfološkovarijabilnost hrasta lužnjaka (*Quer-
cus robur* L.) na području Hrvatske i zapadnog balkana. Šumarski
list 7–8: 371-386.
- Ballian D., F. Bogunić, M. Bajrić, D. Kajba, H. Kraigher, M. Kon-
nert 2012: The genetic population study of Balkan Silver Fir
(*Abies alba* Mill.). Periodicum Biologorum, 114 (1): 55–65.
- Ballian D., F. Bogunić 2012: Genetička struktura sjemenskih sas-
tojina hrasta kitnjaka (*Quercus petraea* (Matt.) Lieblein.) u Feder-
aciji Bosne i Hercegovine. ANU – BiH Posebna izdanja, knjiga
CXLV-odjeljenje prirodnih nauka, Naučna konferencija „Šume
indikator kvaliteta okoliša”. Zbornik radova, knjiga 19: 77-88.
- Begović B. 1960: Strani kapital u šumskoj privredi Bosne i Her-
cegovine za vrijeme otomanske vladavine. Radovi Šumarskog
fakulteta i Instituta za šumarstvo i drvnu industriju u Sarajevu,
Godina V, Broj 5, str. 1-243
- Begović B. 1978: Razvojni put šumske privrede u Bosni i Herce-
govini u periodu austrougarske uprave (1878-1918) sa posebnim
osvrtnom na eksploataciju šuma i industrijsku preradu drveta.
Akademija nauka i umjetnosti Bosne i Hercegovine, Djela, Knjiga
LIV, Odjeljenje društvenih nauka, Knjiga 31, str. 1-165
- Behm A., M. Konnert 1999: Conservation of Forest Genetic
Resources by Ecologically Oriented Forest Management- a Re-
alistic Chance?, Forst und Holzwirtschaft, 194: 215-235.
- Bordács S., F. Popescu., D. Slade, U.M. Csaikl, I. Lesur, A.
Borovics, P. Kézdy, A.O. König, D. Gömöry, S. Brewer, K. Burg,
R.J. Petit 2002: Chloroplast DNA variation of white oaks in
northern Balkans and in the Carpathian Basin. For. Ecol. Man-
age., 156: 197-209.
- Ducouso A., S. Bordacs 2004: EUFORGEN Technical Guide-
lines for genetic conservation and use for pedunculate and ses-
sile oaks (*Quercus robur* and *Q. petraea*). International Plant
Genetic Resources Institute, Rome, Italy, str. 1-6.
- Ferris C., R.P. Oliver, A.J. Davy, G.M. Hewitt 1993: Native oak
chloroplast reveal an ancient divide across Europe. Mol. Ecol.,
2: 337-344.
- Ferris C., R.P. Oliver, A.J. Davy, G.M. Hewitt 1995: Using chlo-
roplast DNA to trace postglacial migration routes of oaks into
Britain. Mol. Ecol., 4: 731-738.
- Ferris C., R.A. King, R. Vainola, G.M. Hewitt 1998: Chloroplast
DNA recognizes three refugial sources of European oaks and
suggests independent eastern and western immigrations to Fin-
land. Heredity, 80: 584-593.
- Fineschi S, D. Turchini, P. Grossoni, R.J. Petit, G.G. Vendramin
2002: Chloroplast DNA variation of white oaks in Italy. For.
Ecol. Manage., 156:103-114.
- Gömöry D., I. Yakovlev, P. Zhelev, J. Jedináková, L. Paule, 2001:
Genetic differentiation of oak populations with the *Quercus
robur/Quercus petraea* complex in Central and Eastern Europe.
Heredity, 86: 557-563.
- Gömöry D., J. Schmidtova 2007: Extent of nuclear genome shar-
ing among white oak species (*Quercus* L. subgen. *Lepidobalanus*
(Endl.) Oerst.) in Slovakia estimated by allozymes. Pl. Syst. Evol.,
266: 253–264
- Jovanović B. 2000: Dendrologija, Univerzitetška štampa, Be-
ograd. str. 1-536.
- Kleinschmit J.R.G., A. Kremer, A. Roloff 1995. Sind Stieleiche
und Traubeneiche zwei getrennte Arten? AFZ/Der Wald, 26:
1453-1456.
- Krstinić A. 1996: Unutarpopulacijska i međupopulacijska vari-
jabilnost hrasta lužnjaka. In: Matić S. (ed.) Hrast lužnjak u Hr-
vatskoj. Vinkovci-Zagreb. str. 112-118.
- Larsen J.B. 1986 a: Geography variation in silver fir (*Abies alba*)
growth rate and frost resistance. Fortwissenschaftliches Cen-
tralblatt, Gottingen, 105 (5): 396-406.
- Larsen J.B. 1986 b: Das Tannensterben: Eine neue Hypothese
zur Klärung des Hintergrundes dieser rätselhaften Kom-
plexkrankheit der Weißtanne (*Abies alba* Mill.), Fortwissen-
schaftliches Centralblatt, Gottingen, 105 (5): 381-396.
- Lewandowski A., J. Butczyk, W. Chalupka 1997: Preliminary re-
sults on allozyme diversity and differentiation of Norway spruce
(*Picea abies* (L.) Karst.) in Poland based on plus tree investiga-
tions. Acta Societatis Botanicorum Poloniae, 66: 197-200.
- Longauer R. 1996: Genetic Diversity of Silver Fir (*Abies alba*
Mill.) PhD Thesis, Technical University in Zvolen, Zvolen.
- Matić V., P. Drinić, V. Stefanović, M. Čirić, V. Beus, G. Bozalo,
S. Golić, U. Hamzić, L.J. Marković, M. Petrović, M. Subotić, N.
Talović, J. Travar 1971: Stanje šuma u SR Bosni i Hercegovini
prema inventuri šuma na velikim površinama u 1964-1968.
godini. Šumarski fakultet i Institut za šumarstvo u Sarajevu,
posebna izdanja, str. 1-639.
- Memišević M. 2008: Eksploatacija kao razlog nestanka hrasta
lužnjaka (*Quercus robur* L.) u periodu od 1878. do 1914. godine
u Bosni i Hercegovini, Naše šume, 12-13: 39-40
- Müller-Starck G., M. Ziehe 1991. Genetic variation in popula-
tions of *Fagus sylvatica* L., *Quercus robur* L. And *Quercus
petraea* (Matt.) Liebl. in Germany. In: Müller-Starck, G. and
Ziehe M. (eds) Genetic Variation in European Populations of
Forest Trees, pp. 125-139. Sauerländer's Verlag, Frankfurt am
Main.
- Nei M. 1972: Genetic distance between populations. Amer. Nat.
106: 283-292.
- Nei M. 1978: Estimation of average heterozygosity and genetic
distance from a small number of individuals. Genetics 89: 583-
590
- Petit R.J., S. Brewer, S. Bordacs, K. Burg, R. Cheddadi, E. Coart,
J. Cottrell, U.M. Csaikl, B.C. Van Dam, J.D. Deans, S. Fineschi,
R. Finkeldey, I. Glaz, P.G. Goicoechea, J.S. Jensen, A.O. König,
A.J. Lowe, S.F. Madsen, G. Mátyás, R.C. Munro, F. Popescu, D.
Slade, H. Tabbener, S.M.G. De Vries, B. Ziegenhagen, J.L. De

- Beaulieu, A. Kremer 2002a: Identification of refugia and post-glacial colonization routes of European white oaks based on chloroplast DNA and fossil pollen evidence, *Forest Ecology and Management*, 156(1-3):49-74.
- Petit R.J., U.M. Csaikl, S. Bordacs, K. Burg, S. Brewer, E. Coart, J. Cottrell, B.C. Van Dam, J.D. Deans, I. Glaz, S. Dumolin-Lapegue, S. Fineschi, R. Finkeldey, A. Gillies, P.G. Goicoechea, J.S. Jensen, A.O. König, A.J. Lowe, S.F. Madsen, G. Mátyás, R.C. Munro, M.H. Pemonge, F. Popescu, D. Slade, H. Tabbener, D. Turchini, S.M.G. De Vries, B. Ziegenhagen, A. Kremer 2002b: Chloroplast DNA variation in European white oaks. Phylogeography and patterns of diversity based on data from over 2600 populations, *Forest Ecology and Management*, 156(1-3):5-26.
 - Pintarić K. 1997: Foresry and forest reserves in Bosnia and Herzegovina. COST Action E4 -Forest reserves research network, Ljubljana, str. 1-15.
 - Pintarić K. 2002: Šumsko-uzgojna svojstva i život važnijih vrsta šumskog drveća, UŠIT-Sarajevo. str. 1-221.
 - Rieseberg L.H., J. Whitton, K. Gardner 1999: Hybrid zones and the genetic architecture of a barrier to gene flow between two wild sunflower species. *Genetics* 152: 713-727.
 - Slade D., Z. Škvorc, D. Ballian, J. Gračan, D. Papeš 2008: The chloroplast DNA polymorphisms of White Oaks of section *Quercus* in the Central Balkans. *Silvae Genetica* 57 (4-5): 227-234.
 - Stefanović V. 1977: Fitocenologija sa pregledom šumskih fitocenoza Jugoslavije. Zavod za udžbenike Sarajevo, str. 1-283.
 - Stefanović V., V. Beus, Č. Burlica, H. Dizdarević, I. Vukorep 1983: Ekološko-vegetacijska rejonizacija Bosne i Hercegovine, Sarajevo, 1983, Šumarski fakultet, Posebna izdanja br. 17: 1-55.
 - Steinkellner H., S. Fluch, E. Turetschek, C. Lexer, R. Streiff, A. Kremer, K. Burg, J. Glössl 1997: identification and characterization of (GA/CT)_n – microsatellite loci from *Quercus petraea*. *Plant Molecular Biology* 33: 1093-1096.
 - Steinhoff S. 1997. Results of *Quercus* hybridization work from 1989 to 1996 at Escherode (*Quercus petraea* (Matt.) Liebl. and *Quercus robur* L.). In: Steiner, K. C. (ed.) *Diversity and Adaptation in Oak Species*, pp. 156-164. The Pennsylvania State University, Pennsylvania.
 - Swofford K, N. Selander 1981: Boisys 1 – a FORTRAN program for the comprehensive analysis of electrophoretic data in population genetics and systematics. *J. Her.*, 72:281-283.
 - Trinajstić I. 1988: Taksonomska problematika hrasta lužnjaka – *Quercus robur* L. u flori Jugoslavije. *Glas. šum. Pokuse, Zagreb.* 24: 101-116.
 - Zanetto A., G. Roussel, A. Kremer 1994. Geographic variation of interspecific differentiation between *Quercus robur* L. and *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. *Forest Genet.*, 1: 111-123.

Summary

Sessile Oak (*Quercus petraea* (Matt.) Lieblein) is one of the most important type of forest tree in Bosnia and Herzegovina, even though the Sessile Oak forest structure is very weak. The reason for this is found in the huge effect that the man has on these breeds throughout history and numerous unplanned cutting and poor management system. In the conditions present in Bosnia and Herzegovina Sessile Oak is found in approximately 330,000ha in small and usually clean and varied samples.

Through this research we would like to answer the following questions, namely what is the genetic structure, diversity and differentiation of Sessile Oak in some of the populations in Bosnia and Herzegovina and what is the importance of knowing the genetic structure especially when it comes to regeneration.

For the analysis we have used 11 enzyme systems with 14 genetic locus and 82 aleals.

The biochemical analysis of the genetic structure of 17 populations of Sessile Oak, by using the 14 isoenzyme genetic locus we have found notable differences. A large level of polymorphism has been recorded and only the gene locus sorbitol has registered true monomorphism, whereas the genetic locus Pgi-A we have found polymorphism to exist in only one population. The average number of aleals by locus was between 1,7143 and up to 3,1429 and the effective number of aleals was between 1,1089 and 1,2585. Similar findings were found when it came to heterozygoty, and the largest was for the population from Bugojno at 0,1869 and smallest at population from Gračanice at 0,0947. The negative values of the fixation index in the studied populations are indicative of fact that freer management and husbandry is possible as it has not lost its genetic potential for adaptation which is further supported by the research of the seed samples. The results of the differentiations show very small values which shows that there is only a short period of time from their splitting and that even the effect of humans has not caused them to lose their adaptational potential.

As far as the genetic distances between the populations are concerned, it is the same principal as with the differentiation, only a few populations diverges notably from the average and the divergence can be attributed to the historical effect of humans as the populations are from the areas of dense human populations throughout the history. The methods of biochemical marker usage for the Sessile Oak have given us a good picture about the studied populations and the achieved results ensure the right suggestions are done to preserve the genetic values of this species of oak in Bosnia and Herzegovina.

KEY WORDS: Sessile Oak, *Quercus petraea* (Matt.) Lieblein, population, genetic variability