

OČUVANJE I UPRAVLJANJE GENOFONDOM PITOMOG KESTENA

CONSERVATION AND MANAGEMENT OF SWEET CHESTNUT GENETIC RESOURCES

Igor POLJAK¹, Katarina TUMPA¹, Antonio VIDA KOVIĆ¹, Mirna ČURKOVIĆ-PERICA²,
Marin JEŽIĆ², Zlatko ŠATOVIĆ^{3,5}, Zlatko LIBER^{4,5}, Marilena IDŽOJTIĆ¹

SAŽETAK

Europski pitomi kesten plemenita je listača od koje imamo višestruku gospodarsku korist. Osim jestivih plodova i kvalitetnog drva, kestenove šume su još od davnina predstavljale važan izvor različitih sirovina. Međutim, intenzivnim korištenjem kestenovih šuma i nasada te pojavom raka kestenove kore, sredinom prošloga stoljeća došlo je do njihovog propadanja i sušenja. Iz tih je razloga u mnogim europskim zemljama pokrenut niz multidisciplinarnih projekta kojima je svrha očuvanje genskih resursa pitomog kestena i njegovog povratka na nekadašnje značajno mjesto u ruralnim područjima i šumskim ekosustavima. U ovom radu dan je pregled najznačajnijih dugoročnih strategija usmjerenih na očuvanje genofonda ove plemenite listače na europskoj razini, kao i prijedlog smjernica za očuvanje genofonda ove vrste *in situ* i *ex situ* metodama na području Hrvatske.

KLJUČNE RIJEČI: očuvanje genofonda, konzervacijske jedinice, provenijencije, genetička raznolikost, šumski reprodukcijski materijal

UVOD INTRODUCTION

Šumski ekosustavi, sa šumskim drvećem kao najvažnijim sastavnim dijelom, su među biološki najraznolikijim ekosustavima na Zemlji. Pritom genska raznolikost svake vrste predstavlja jedinstven i nezamjenjiv resurs za stabilnost ekosustava. Veliki poremećaji, posebice izazvani klimatskim promjenama (učestalost suša, požari, porast temperature zraka i tla), kao i promjena uporabe zemljišta i oblika gospodarenja, već utječu ili će u bliskoj budućnosti utjecati na gensku raznolikost i sastav vrsta (Flores i sur. 2019), či-

neći očuvanje genofonda šumskih vrsta drveća sve bitnijom stavkom gospodarenja. Za razliku od ratarskih i poljoprivrednih kultura, čije se sjeme čuva u bankama sjemena, šumske vrste drveća mogu se trajno očuvati jedino kao žive biljake na terenu. Naime, krupno sjeme šumskih vrsta drveća ne može se dugo čuvati te stoga nije pogodno za dugotrajno čuvanje u bankama sjemena.

Za potrebe očuvanja genofonda šumskih vrsta drveća, razlikujemo *in situ* i *ex situ* metode očuvanja (Ballian i Kajba 2011). *In situ* podrazumijeva očuvanje cijelih šumskih ekosustava, odnosno očuvanje prirodne populacije u njezinom

¹ doc. dr. sc. Igor Poljak, Katarina Tumpa, mag. ing. silv., Antonio Vidaković, mag. ing. silv., prof. dr. sc. Marilena Idžojić, Sveučilište u Zagrebu, Fakultet šumarstva i drvnih tehnologija, Zavod za šumarsku genetiku, dendrologiju i botaniku, Svetošimunska cesta 23, 10000 Zagreb

² Prof. dr. sc. Mirna Čurković-Perica, doc. dr. sc. Marin Ježić, Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet, Zavod za mikrobiologiju, Marulićev trg 9a, 10000 Zagreb

³ prof. dr. sc. Zlatko Šatović, Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet, Odsjek za biljne znanosti, Zavod za sjemenarstvo, Svetošimunska cesta 25, 10000 Zagreb

⁴ prof. dr. sc. Zlatko Liber, Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet, Botanički zavod, Marulićev trg 9a, 10000 Zagreb

⁵ prof. dr. sc. Zlatko Šatović, prof. dr. sc. Zlatko Liber, Znanstveni centar izvrsnosti za bioraznolikost i molekularno oplemenjivanje bilja (Crop-BioDiv), Svetošimunska cesta 25, 10000 Zagreb

*Korespondencija: doc. dr. sc. Igor Poljak, ipoljak@sumfak.hr

okruženju. Ovom metodom se, osim ciljane šumske vrste, štite i sve druge biljne i životinjske vrste prisutne u ekosustavu, čime je korist višestruka. Ova je metoda najprimjenjivija za vrste s velikim arealom i velikom gustoćom populacije, čime je prirodno osigurana visoka razina genetičke raznolikosti. Druga metoda očuvanja, *ex situ*, podrazumijeva očuvanje vrsta izvan prirodnog okruženja, odnosno staništa, te se često primjenjuje istovremeno s metodom *in situ*. Ova je metoda ponajprije primjenjiva kod vrsta s malim arealom ili ograničenom veličinom populacije (Kajba i sur. 2006).

Potreba očuvanja genske raznolikosti šumskih vrsta drveća u Europi najvećim dijelom se odnosi na vrste koje pripadaju gospodarski najzastupljenijim i najvažnijim vrstama socijalnih listača (hrastovi i bukva) i četinjača (jele, smreke i borovi). Međutim, u posljednjih dvadesetak godina posebice je intenzivirano očuvanje genofonda plemenitih listača, koje obuhvaćaju više vrsta iz različitih rodova poput *Acer* L., *Alnus* Mill., *Castanea* Mill., *Fraxinus* L., *Juglans* L., *Malus* Mill., *Prunus* L., *Pyrus* L., *Sorbus* L., *Ulmus* L. i *Tilia* L. Vrste iz navedenih rodova dijelom su ugrožene zbog negativnog utjecaja različitih bolesti i štetnika i rascjepkanosti areala, a dijelom zbog prekomjernog iskorištavanja drva visoke tehničke vrijednosti (Kajba i sur. 2006). Jedna od plemenitih listača koja je predložena kao modelna vrsta za razvoj dugoročnih strategija za očuvanje genofonda, koje kombiniraju metode očuvanja evolucijskog i adaptivnog potencijala i oplemenjivanja, je pitomi kesten (*Castanea sativa* Mill.).

PITOMI KESTEN SWEET CHESTNUT

Europski pitomi kesten listopadno je do 35 m visoko drveće, koje doživi starost i do 1000 godina. Jednodomna je vrsta jednospolnih cvjetova koji se razvijaju tijekom lipnja, a oprašuju se kukcima i vjetrom (Petit i Larue 2022). Vrsta je prepoznatljiva po svojim karakterističnim kopljastim listovima nazubljenoga ruba te po plodovima (orasima) koje nazivamo kestenima. Plodovi pitomog kestena po obliku, veličini, boji i dlakavosti vrlo su varijabilni (Poljak 2014), a smješteni su u kuglastim ovojmima (kupulama) koji su na površini obrasli brojnim stršećim i ostrim ježastim ljuskama. Plodovi dozrijevaju krajem rujna i u listopadu. U povoljnim prilikama kesten rodi plodom svake godine, a obilniji urod mu je svake dvije ili tri godine (Anić 1942; Herman 1971).

Rasprostranjen je u mediteranskom području, od Kaspijskog jezera do Atlantskog oceana, uključujući Madeiru, Azore i Kanarske otoke, od 51° sjeverne geografske širine u jugozapadnoj Njemačkoj i južnoj Engleskoj, do 37° sjeverne geografske širine u Tunisu na gorju Tlemcen (Fernández-López i Alía 2003; Conedera i sur. 2004a). Na području svog rasprostranjenja pitomi kesten raste na nadmorskim visinama od 200 do 1200 (1600) m, ovisno o lokalnoj klimi i geografskoj širini (Anić 1942). Najviša nalazišta kestena zabilježena su na južnim padinama Kavkaza, gdje pridolazi

sve do 1800 m nadmorske visine. Vrsta je koja uspijeva u toplijim krajevima, a većinom raste u područjima gdje se godišnja količina oborina kreće od 750 do 1200 mm (Rutter i sur. 1991). Ne raste u nizinskim šumama jer su one za njega vlažne i hladne, niti u visokim planinskim područjima gdje su velike razlike u dnevnim, odnosno godišnjim temperaturama (Medak 2009). Ovisno o području, obitava u različitim šumskim zajednicama na slabije do jače kiselim tlima.

Pitomi kesten je uz vinovu lozu i maslinu jedna od najstarijih uzgajanih drvenastih vrsta. Zbog svoje višestruke gospodarske koristi zauzima važno mjesto u mnogim zemljama, a počeci njegova uzgajanja i kultiviranja sežu u davnju prošlost, u vrijeme starogrčke i rimske civilizacije. Iako su Rimljani u znatnoj mjeri pridonijeli širenju uzgoja pitomog kestena, kako na Apeninskom poluotoku, tako i u mnogim drugim dijelovima Europe, najveći interes za kultivacijom kestena razvija se nakon rimskog doba, a povezuje se uz srednjovjekovne društveno-ekonomske strukture (Conedera i sur. 2004a, 2004b). Tijekom tog razdoblja, diljem mediteranskih zemalja te u južnim dijelovima središnje Europe, kesten je tradicionalno uzgajan u panjačama i nasadima te je za ljude imao životni značaj jer je osiguravao hranu i drvo (Conedera i Krebs 2008). Početkom 20. stoljeća kultivacija pitomog kestena doseže svoj vrhunac, nakon čega dolazi do zapuštanja nasada i sječe velikih površina radi dobivanja drva i proizvodnje tanina (Pitte 1986; Bounous 2009; Medak i sur. 2009). Krajem Drugog svjetskog rata uzgoj kestena se gotovo u potpunosti napušta, što je najvećim dijelom posljedica pojave raka kestenove kore (Halambek 1989), koji je doveo do sušenja i propadanja kestenovih šuma i nasada. Usprkos tomu, posljednjih tridesetak godina sve se više vraća interes za uzgoj ove plemenite listače i to zahvaljujući njezinim višestrukim koristima.

Danas u Europi šume pitomog kestena zauzimaju površinu od približno 2.565.000 ha. Od toga 2.252.000 ha otpada na šume u kojima je kesten jedna od glavnih vrsta drveća, a samo 313.500 ha na mješovite šume s pitomim kestenom. Kestenove šume koncentrirane su u samo nekoliko zemalja s dugom tradicijom uzgajanja kestena. Najveći udio ukupne površine pod kestenovim šumama nalazi se u Italiji i Francuskoj – čak 79 %. Zajedno s ostalim zemljama koje su tradicionalno vezane uz uzgoj kestena, a to su Portugal, Španjolska i Švicarska, taj se postotak penje na 89 % (Conedera i sur. 2004a, 2004b). Osim toga, veće površine kestenovih šuma nalazimo i na području Turske i Gruzije.

PITOMI KESTEN U EUROPI – OČUVANJE GENOFONDA SWEET CHESTNUT IN EUROPE – GENE CONSERVATION

Pitomi kesten intenzivno je uzgajan zbog svojih plodova i drva. Važan je ne samo za ruralnu tradiciju, lokalna gospodarstva i kulture, već i zbog svoje krajobrazne i ekološke

vrijednosti. Ipak, od sredine prošloga stoljeća diljem Europe njegovu raznolikost ugrožavaju ljudske aktivnosti, gljivične bolesti i štetnici te sve intenzivnije posljedice globalnog zagotavljanja. Upravo je iz tih razloga pitomi kesten predložen kao modelna vrsta za razvoj dugoročnih strategija usmjerenih na kombiniranje očuvanja evolucijskog i adaptivnog potencijala, korištenja genofonda za oplemenjivanje i očuvanje mediteranskog krajolika kroz nekoliko multidisciplinarnih projekata na europskoj razini, od koji se ističu COST Action G4 i CASCADE.

Mnogi znanstvenici koji se bave istraživanjima pitomog kestena u Europi okupljeni su u organizaciju "European Chestnut Network", koja je podloga za suradnju, raspravu i razmjenu aktualnih istraživačkih rezultata i ideja, a iz koje je i proizašla inicijativa za pokretanje prvog velikog multidisciplinarnog projekta usmjerenog na revitalizaciju i unapređenje uzgoja kestena u Europi. COST Action G4 projekt, u trajanju od svibnja 1996. godine do svibnja 2001. godine, je kroz četiri znanstvena područja (fiziologija, genetika te zaštita i uzgajanje šuma) pokušao proširiti znanje u području očuvanja pitomog kestena kroz nekoliko ciljeva: povećanje osnovnog razumijevanja fiziologije; istraživanje genskih resursa kestena u Europi; razvijanje strategije za prikupljanje i očuvanje genofonda (*ex situ* i *in situ*); uspoređivanje i usklađivanje općih protokola biološke kontrole bolesti kestena te integracija metoda biološke kontrole u zajedničko upravljanje šumama. Novostečeno znanje u području očuvanja pitomog kestena nudilo je podlogu za inventarizaciju ekonomski održivih genotipova za proizvodnju plodova i drva te omogućilo korak naprijed u osiguravanju ekološki prilagođenih genotipova. Mnoge zemlje poput Španjolske, Ujedinjenog Kraljevstva, Francuske, Nizozemske, Njemačke, Švicarske, Italije, Slovačke i Mađarske aktivno su sudjelovale u COST projektu, dok su zanimanje iskazale i Grčka i Turska.

Multidisciplinarni projekt CASCADE (EVK2-CT-1999-00006), bio je projekt Europske unije (EU) financiran unutar Petog okvirnog programa, čiji su ključni ciljevi bili: globalne promjene, klima i bioraznolikost (Eriksson i sur. 2005; Villani i Eriksson 2006). Navedeni projekt trajao je četiri godine, od 2000. do 2004., a bio je predvođen grupom znanstvenika iz 11 europskih istraživačkih institucija i pet europskih zemalja. Projekt je obuhvaćao različita znanstvena područja, kao što su: ekologija, fiziologija, fitopatologija, entomologija, genomika, populacijska genetika, kvantitativna genetika, očuvanje genofonda, oplemenjivanje drveća, ekonomija okoliša i gospodarenje šumama. Opći cilj projekta CASCADE bio je razviti strategiju dugoročnog očuvanja genofonda i upravljanja europskim pitomim kestenom. Kako bi cilj bio ostvaren, bilo je potrebno identificirati okolišne čimbenike koji ograničavaju rast kestena, procijeniti gensku varijabilnost postojećih voćnjaka, panjača i šumskih sastojina visokog uzgojnog oblika, odre-

diti stupanj izmjene genskog materijala između ova tri tipa populacija, odrediti zone za uzgoj kestena te identificirati socio-ekonomski utjecaj proizvoda iz kestenovih šuma i voćnjaka. Za genetičke studije odabrane su 82 populacije iz Francuske, Grčke, Italije, Španjolske i Ujedinjenog Kraljevstva, koje su pokrivala različite stadije naturalizacije i gospodarske uzgojne oblike u širokom rasponu klimatskih i stanišnih čimbenika.

Osim ova dva velika projekta, u mnogim europskim zemljama pokrenuti su brojni projekti na lokalnoj razini, kojima je bila svrha utvrditi genetičku i morfološku raznolikost pitomog kestena za očuvanje genofonda i upravljanje šumskim reprodukcijom materijalom. Osim u Hrvatskoj (Poljak 2014; Poljak i sur. 2017), ova su istraživanja provedena diljem južne i središnje Europe, uključujući Španjolsku (Ramos-Cabrer i Pereira-Lorenzo 2005; Mattioni i sur. 2008; Fernández-López i Monteagudo 2010; Martín i sur. 2007, 2012; Fernández-Cruz i Fernández-López 2016; Cuestas i sur. 2017; Míguez-Soto i sur. 2019), Italiju (Pigliucci i sur. 1991; Mattioni i sur. 2008; 2010; Alessandri i sur. 2022), Švicarsku (Gobbin i sur. 2007; Beccaro i sur. 2012), Slovačku (Bolvansky i sur. 2009), Sloveniju (Solar i sur. 2005), Češku (Hozova i sur. 2009), Bosnu i Hercegovinu (Daničić i sur. 2018), Bugarsku (Luisini i sur. 2013), Grčku (Aravanopoulos i sur. 2001; Mattioni i sur. 2010; Castellana i sur. 2021) i Tursku (Villani i sur. 1991, 1992; Fornari i sur. 1999; Castellana i sur. 2021). Nažalost, broj sjemenskih plantaža proizašlih iz ovih istraživanja je skroman, a one se nalaze u Bugarskoj (Glushkova i sur. 2010) i Rumunjskoj (de Vries i sur. 2015).

Genska raznolikost šumskog drveća, zahvaljujući ponajviše širokom arealu te velikoj plastičnosti drvenastih vrsta (Savolainen i sur. 2007, 2011), u pravilu je visoka te se ona dobro prilagođava lokalnim uvjetima, tvoreći ekotipove. Očuvanje genofonda vrste, odnosno genske raznolikosti stoga ovisi o očuvanju njezinih populacija u sklopu šumskog ekosustava (Kajba i sur. 2006). U ovu je svrhu u Europi, u sklopu Paneuropske strategije za očuvanje genske raznolikosti šumskog drveća, osnovan veći broj zaštitnih šumskih jedinica, koje predstavljaju izvore genske raznolikosti za budućnost. Zaštitne jedinice birane su u središtima areala vrste gdje je genska raznolikost često veća, ali i u rubnim zonama (de Vries i sur. 2015). Ukupno su na području cijele Europe, uključujući i Tursku, izdvojene 34 konzervacijske jedinice pitomog kestena. Najveći broj populacija izdvojen je na Pirenejskom poluotoku (20 jedinica) te u Turskoj (devet jedinica), dok su Apeninski i Balkanski poluotok malo zastupljeni te bi se proces izdvajanja populacija trebao nastaviti.

Najnovijim istraživanjima je utvrđeno da pitomi kesten u Europi ima veliku genetičku raznolikost te da se populacije geografski grupiraju u tri genska skupa (Mattioni i sur. 2013, 2017). Populacije iz istočne Europe podijelile su se u

dvije skupine: skupinu koja obuhvaća jednu populaciju iz Rumunjske, zatim populacije iz Bugarske, Grčke i zapadne Turske i drugu skupinu koju formiraju populacije iz Rusije, Azerbajdžana, Gruzije i istočne Turske. Treća skupina populacija, odnosno genski skup je uključila populacije iz zapadne i središnje Europe te se može podijeliti u tri skupine. Prvu skupinu čine populacije iz sjeveroistočne, srednje i južne Španjolske; drugu skupinu populacije iz sjeverozapadne Španjolske, Mađarske i Slovačke; te treću populacije iz Italije, Francuske i Velike Britanije. Istraživanjem je utvrđena snažna povezanost između rezultata populacijsko-genetičkih istraživanja i postojećih podataka o pribjezištima tijekom posljednjeg ledenog doba (Huntley i Birks 1983; Pitte 1986; Krebs i sur. 2004, 2019), pri čemu autori odbacuju prijašnje pretpostavke da je pitomi kesten čovjek proširio iz Turske u Grčku te potom u Italiju i ostale dijelove zapadne Europe. Nadalje, na europskoj razini su primijećeni općeniti trendovi: očekivana heterozigotnost i alelna bogatstvo razmjerno su visoki u središtu rasprostranjenosti vrste te se prema sjeveru i zapadu smanjuju, dok se vrijednosti broja privatnih alela povećavaju prema istočnim i nekim izoliranim zapadnim populacijama. U konačnici, kao prioritetne populacije za očuvanje genofonda istaknute su one na području Gruzije, istočne Turske i Italije.

PITOMI KESTEN U HRVATSKOJ – OČUVANJE GENOFONDA

SWEET CHESTNUT IN CROATIA – GENE CONSERVATION

U nas pitomi kesten raste u šumama brežuljkasto-brdskog područja kontinentalnog dijela Hrvatske, u Istri te na otocima Krku i Cresu. Veći dio areala pitomog kestena pruža se kroz središnju Hrvatsku, od slovenske granice do granice s Bosnom i Hercegovinom, gdje se najveće i najljepše sastojine nalaze na Zrinskoj i Petrovoj gori te na Medvednici (Medak i sur. 2009). Ukupno šumskih površina na kojima pitomi kesten raste u Hrvatskoj ima oko 136.000 ha (Novak-Agbaba i sur. 2000). U kontinentalnom dijelu Hrvatske raste na nadmorskim visinama od 150 do 600 (700) m, gdje uspijeva na različitim ekspozicijama i različitim tipovima tala. Tvori čiste ili mješovite sastojine u pojasu kitnjakovih i bukovich šuma, gdje na sjevernim i istočnim ekspozicijama te na više ili manje strmim nagibima i zasjenjenim položajima pridolaze mezofilne, a na suhim južnim i zapadnim padinama acidofilne kestenove šume (Medak 2004, 2009). U submediteranskom području kestenove šume se isključivo razvijaju na sjevernim i istočnim ekspozicijama te na dubokim i ispranim tlima povrh vapnenastih podloga (Anić 1945, 1953; Medak 2009).

Uzgoj pitomog kestena ima dugu tradiciju u Hrvatskoj, a proizvodi dobiveni od kestena su korišteni u mnogim gospodarskim granama (Medak i sur. 2009). Iz panjača kratkih

ophodnji (2-8 godina) dobivao se sitni materijal za obruče i košare, tanje kolje te štapovi i držalice za poljoprivredne alatke i kišobrane koje su još u 19. stoljeću proizvodile tvornice štapova u Zagrebu, Glini, Pakracu i Samoboru, kao i poznati „špancir štapovi“ iz Karlovca. Od ogrijevnog drva i panjeva proizvodio se ugljen za kovačke vatre. Krupnije kestenovo drvo koristilo se za motke, kolje za vinograde, bačve za vino i pivo, stupove, letve, rudničko drvo, tanje građevno drvo, uske daske, proizvodnju tanina i sl. U prošlom stoljeću postojale su tvornice tanina u Sisku, Belišću i Đurđenovcu, za koje je kesten bio najvažnija sirovina, međutim sve tri tvornice su u međuvremenu prestale s radom. Kestenov listinac koristio se za steljarenje, a plod od davnina za prehranu ljudi i stoke. Plodovi kestena sakupljali su se za otkup u prehrambenoj industriji, za preradu u pire, brašno i konzerviranje. Osamdesetih godina prošloga stoljeća, na području Zrinske gore sakupljalo se od 2.000 do 4.000 t ploda godišnje za potrebe prehrambeno-prerađivačke industrije.

Dosadašnja istraživanja na području Hrvatske pokazala su značajne razlike u genskoj raznolikosti između kontinentalnih i submediteranskih populacija pitomog kestena, kao i između populacija pitomog kestena unutar pojedinih regija (Poljak 2014; Poljak i sur. 2017). Razlike između populacija posebice su naglašene između submediteranskih populacija koje su međusobno izolirane staništima nepovoljnima za rast kestena. Morfološka istraživanja lista i ploda potvrdila su genetičke razlike između populacija pitomog kestena na području Hrvatske (Poljak 2014). Utvrđeno je da se kontinentalne populacije odlikuju većim listovima i sitnijim plodovima, a submediteranske populacije manjim listovima i krupnijim plodovima. S obzirom na to da su submediteranske populacije bolje prilagođene na toplije i suše okolišne uvjete, u slučaju velikih klimatskih promjena (učestalost suša, požari, porast temperature zraka i tla), one potencijalno mogu obogatiti genetičku raznolikost kontinentalnih populacija te povećati njihovu adaptabilnost. S druge strane submediteranske populacije pitomog kestena su posebno osjetljive na negativne utjecaje klimatskih promjena. Naime, porastom temperature te promjenom oborinskih obrazaca (smanjenjem količine oborina, češćim oborinskim ekstremima i tendencijom prema sušoj klimi), može doći do gubitka povoljnog staništa za pitomi kesten, što će u konačnici rezultirati geografskim pomakom u rasprostranjenosti, a samim time i smanjenjem genske raznolikosti.

Različite karakteristike populacija, kao i njihove prilagodbe na određene uvjete, mogu se testirati u testovima provenijencija (Eriksson 1996, 1998). Sadnjom biljaka iz različitih populacija, na pokusne plohe poznatih klimatskih čimbenika, genske, morfološke, fenotipske te fenološke razlike dolaze do izražaja, čime je omogućen odabir najboljih jedinki (provenijencija) za određene uvjete na plohama

koje će se pošumljavati (Maurer i Fernández-López 2001). Osim toga, moguće je utvrditi karakteristike rasta stabala značajne u šumarstvu (razgranatost, brzina rasta, preživljenje), kao i poboljšati nastojanja u očuvanju genske raznolikosti.

Iz ovih su razloga u jesen 2020. godine osnovane dvije pokusne plohe pitomog kestena u kontinentalnom i submediteranskom području Hrvatske u sklopu istraživačkog projekta: “Od terena do nasada: karakteristike i prilagodljivost na stres prirodnih populacija pitomoga kestena i maruna”. Projekt je financirala Hrvatska zaklada za znanost, od 2018. do 2022. godine. Sjemenski materijal za proizvodnju sadnica za podizanje pokusnih ploha sakupljen je sa 120 stabala iz 12 hrvatskih populacija (10 stabala po populaciji) iz dva divergentna staništa (submediteranska i kontinentalna regija). Pokusna ploha u kontinentalnom dijelu Hrvatske osnovana je na području UŠP Karlovac, Šumarije Ozalj, u GJ Stražnji Vrh, a pokusna ploha u submediteranskom dijelu Hrvatske na području UŠP Buzet, Šumarije Buje, u GJ Oprtalj. Ukupno je posađeno 720 sadnica, odnosno 360 na svakoj od ploha, s razmakom sadnje od 4 m. Na svakoj plohi biljke su raspoređene u slučajnom blok rasporedu s tri bloka (ponavljanja). Svaki blok ima po jednu sadnicu iz svake od familija polusrodnika, iz svih populacija. Osim sadnica u pokusu zasađen je i zaštitni pojas sa sadnicama pitomog kestena.

Korištenje šumskog reprodukcijskog materijala svojiti šumskog drveća od gospodarskog značaja, uključujući i pitomi kesten, u šumarstvu je dopušteno samo u skladu sa smjericama propisanim Pravilnikom o provenijencijama svojiti šumskog drveća (NN 147/2011). U gospodarenju šumama, ova činjenica dovodi do podjele šumskog sjemenskog materijala na sjemenske zone, odnosno uvjetuje odabir sjemenskog materijala s obzirom na provenijenciju. Prema gore navedenom pravilniku, provenijencije svojiti šumskog drveća od značaja dijele se na sjemenske oblasti te dalje na sjemenske zone i sjemenske regije. Sve gospodarske jedinice prema pripadnosti podijeljene su između sjemenskih regija, čime se uvjetuje korištenje šumskog reprodukcijskog materijala (sjeme, sadnice uzgojene iz sjemena) unutar jedne sjemenske oblasti. U oblasti submediteranskih šuma, dozvoljeno je korištenje reprodukcijskog materijala samo unutar sjemenske regije. Drugim riječima, trenutna je praksa u Hrvatskoj da se prilikom obnove šuma naših autohtonih vrsta koristi sjeme lokalnih populacija, što je u slučaju pitomog kestena i opravdano, jer su populacije prilagođene na lokalne uvjete okoliša (Poljak 2014; Poljak i sur. 2017).

Najveća genska raznolikost pitomog kestena utvrđena je za populaciju koja se nalazi unutar Parka prirode Medvednica. Prema Strategiji i akcijskome planu zaštite prirode Republike Hrvatske (NN 72/217), parkovi prirode, kao i ostali

zakonom zaštićeni predjeli, predstavljaju izvore bioraznolikosti koje je potrebno zaštititi te očuvati. Ovime je zajamčena *in situ* zaštita svih populacija vrsta koje obitavaju na područjima parkova prirode, odnosno zaštićena je postojeća genska varijabilnost i adaptabilnost na procese prirodne evolucije (Kajba i sur. 2006). Alternativno, ove se populacije mogu koristiti kao izvor šumskog reprodukcijskog materijala, odnosno izvor sjemena za pošumljavanje, uključivanjem u buduće planove očuvanja, gospodarenja i prometovanja šumskim reprodukcijskim materijalom. Ipak, s obzirom na to da su između populacija pitomog kestena utvrđene značajne razlike u genskoj raznolikosti prilikom podizanja novih sastojina, potrebno je koristiti sjeme lokalnih populacija, jer su one prilagođene lokalnim okolišnim uvjetima.

Najmanja varijabilnost na području Hrvatske utvrđena je u populacijama pitomog kestena na području Petrove i Zrinske gore, koje se nalaze na rubu areala (Poljak 2014; Poljak i sur. 2017). Iako je uobičajeno da se *in situ* metodama očuva raznolikost onih populacija gdje je najveća genetička raznolikost, koje se u pravilu nalaze u sredini areala, sa stajališta očuvanja genofonda ove rubne populacije su posebno zanimljive. Iako su obilježene manjom genetičkom raznolikošću (De Kort i sur. 2021), često kao posljedica genetičkih uskih grla i fragmentacije na mikrostaništa (Vakkari i sur. 2020), zbog ekstremnih uvjeta na rubovima areala pokazuju najveću plastičnost, odnosno sposobnost prilagodbe uvjetima. Ovime su rubne populacije izvor rijetkih alela kojih u središtu areala nema, odnosno upravo su one genetički jedinstvene te značajno doprinose ukupnom adaptivnom potencijalu vrste (de Vries i sur. 2015). Njihov značaj prepoznat je i u Hrvatskoj te su upravo na tim rubnim dijelovima areala pitomog kestena u Hrvatskoj selekcionirane četiri sjemenske sastojine pitomog kestena, a koje se koriste za sakupljanje šumskog reprodukcijskog materijala.

MARUNI – OČUVANJE GENOFONDA MARRONS – GENE CONSERVATION

Pitomi kesten od davnina je privlačio pozornost ljudi, posebice u planinskim područjima. Tijekom nekih razdoblja povijesti, posebice u Srednjemu vijeku, bio je nezamjenjiva namirnica te je neke civilizacije moguće okarakterizirati kao „civilizacije kestena“ (Gobbin i sur. 2007; Pereira-Lorenzo i sur. 2020). Rezultat ove važnosti u prehrani očituje se u nastanku kultiviranih sorti (kultivara) kestena, poznatih pod nazivom maruni. Maruni se, u usporedbi s divljim stablima, ponajprije ističu krupnoćom i kvalitetom plodova (Idžojić i sur. 2012; Poljak i sur. 2016). Pritom je selekcijom stvoren veći broj kultivara specifične namjene, kao što su kultivari prikladni izradi kestenova brašna, kandiranju ili za izradu pirea od kestena (Bounous 2002). Prema talijan-

skoj definiciji, marunom se može smatrati onaj kultivar europskog pitomog kestena s najkvalitetnijim, krupnim plodovima dobroga okusa, duguljastog oblika s malim hilumom i izbočenim tamnim prugama; plodovi se moraju lako ljuštiti te rijetko imaju dvostruke sjemenke. Francuski je standard sličan, no propisuje i maksimalan broj plodova s dvije sjemenke, do 12 % (Idžojtić i sur. 2012).

Veliki značaj maruna posebice je očit u južnoj Europi, gdje je selekcijom stvoren velik broj lokalnih i nacionalnih kultivara. Primjerice, samo u Italiji poznato je preko 300 kultivara (Torello Marinoni i sur. 2013), dok je u španjolskoj pokrajini Galiciji poznato preko 75 kultivara (Pereira-Lorenzo i sur. 1996). Velika raznolikost maruna istražena je u morfološkim, a u novije vrijeme i genetičkim istraživanjima. Tradicionalni morfometrijski pristup podrazumijeva mjerenje značajki biljnih organa maruna, ponajprije lista i ploda. Ovim je metodama okarakteriziran velik broj kultivara na Pirenejskom poluotoku (Pereira-Lorenzo i sur. 1996; Pereira-Lorenzo i Fernández-López 1997; Ramos-Cabrer i Pereira-Lorenzo 2005; Furones-Perez i Fernández-López 2009), u Italiji (Cutino i sur. 2006; Torello Marinoni i sur. 2013), Ukrajini (Grygorieva i sur. 2017), Turskoj (Ertan 2007; Serdar i sur. 2011) te Hrvatskoj (Poljak i sur. 2016; 2021). Noviji pristup morfološkim istraživanjima korištenje je mikrosatelitnih biljega, koji su primijenjeni u karakterizaciji kultivara Pirenejskog poluotoka (Martín i sur. 2010, 2017; Pereira-Lorenzo i sur. 2010, 2019; Fernández-López i Fernández-Cruz 2015; Fernández-Cruz i sur. 2022), Italije (Torello Marinoni i sur. 2013), Švicarske (Gobbin i sur. 2007), kao i Hrvatske (Idžojtić i sur. 2012; Tumpa i sur. 2022).

U nastojanju da se raznolikost ekotipova očuva, početkom 21. stoljeća pokrenut je projekt sakupljanja genotipova (cijepova) kultivara vrsta roda *Castanea* na Sveučilištu u Torinu, s ciljem stvaranja zaštićenog nasada (zbirke) (Mellano i sur. 2012). Do današnjeg je dana sakupljenog preko 300 cijepova te se projekt nastavlja i dalje, a slične su *ex situ* plantaže osnovane i u Rumunjskoj (de Vries i sur. 2015). Ovaj oblik očuvanja predstavlja očuvanje genofonda *ex situ*, odnosno izvan mjesta gdje su genotipovi prirodno rasprostranjeni ili, u slučaju kultivara maruna, uzgajani. Druga metoda očuvanja, *in situ*, podrazumijeva očuvanje cijelih ekosustava u kojima se neka vrsta pojavljuje, odnosno očuvanje populacije maruna u njezinom tradicionalnom okruženju.

Maruni su također prisutni i u Hrvatskoj, na području Istre i Kvarnera. Zahvaljujući optimalnim uvjetima u submediteranskoj klimi, uzgoj maruna na području Istre i Kvarnera poprimio je značajnije razmjere već u 17. stoljeću, kada su plodovi maruna predstavljali bitan izvozni proizvod (Poljak i sur. 2016). Usprkos padu proizvodnje te napuštanju nasada tijekom 19. i 20. stoljeća, maruni i danas imaju zna-

čajnu ulogu u kulturi lokalnog stanovništva, kao i posjetitelja u vrijeme sazrijevanja plodova i tematskih manifestacija („Lovranska marunada“) (Idžojtić i sur. 2012; Poljak i sur. 2021). U uzgoju su lokalno poznata tri geografska kultivara: ‘Lovranski Marun’, ‘Lovrinski Marun’ te ‘Creski Marun’. Ipak, znanstvenim istraživanjem genetičke raznolikosti nasada potvrđeno je postojanje samo jednog poliklonalnog kultivara, ‘Lovranskog Maruna’ (Tumpa i sur. 2022). Pri tome ovaj kultivar tvori pet genotipova koji se u uzgoju tretiraju jednako, odnosno uzgajivači ne čine razliku prilikom cijepljenja plemki ili mjera njege. S obzirom na učestalost pojavnosti cijepljenih stabala te općenito stanje nasada, Lovran se smatra ishodišnom zonom uzgoja maruna, iz kojeg su se plemke iznosile te su bile nacijepljene na podloge u Lovrinu i Cresu. Osim specifične genetičke pozadine ‘Lovranskog Maruna’, nasadi u Hrvatskoj ističu se i jedinstvenim položajem u prostoru, na dodirnoj zoni s prirodnim populacijama pitomog kestena. Ovime je omogućen protok gena između kultiviranih i prirodnih populacija (Poljak i sur. 2017), odnosno nastanak hibridnih stabala, poznatih lokalno pod nazivom „marušnjaci“. Kao rezultat, genetička struktura nasada raznolika je te uključuje cijepljena stabla (marune), marušnjake, kao i divlja stabla, koja u nasade spontano ulaze iz prirodnih populacija. Ova činjenica pogoduje većoj genskoj raznolikosti te potencijalnom nastanku i identifikaciji novih kultivara maruna, koji bi se vegetativnim putem mogli održavati u uzgoju.

ZAKLJUČCI CONCLUSIONS

Prvi korak ka osiguranju očuvanja i održivog korištenja genskih resursa pitomog kestena u Europi je procjena geografske rasprostranjenosti i statusa očuvanosti prirodnih populacija, kao i kultivara pitomog kestena (maruna). Pritom je očuvanje moguće provoditi *in situ* i *ex situ* metodama. *In situ* očuvanje ponajprije je namijenjeno zaštitu prirodnih populacija, čime se štiti genska raznolikost, kao i čitavi ekosustavi. Populacije u središtu areala su najraznolikije, dok su populacije na rubovima zanimljive zbog visoke plastičnosti. U Hrvatskoj su u svrhu *in situ* očuvanja izdvojene populacije na Medvednici, Zrinskoj i Petrovoj gori, dok se pod okriljem *in situ* očuvanja mogu smatrati i dobro održavani nasadi maruna na području Istre i Kvarnera, u kojima se kontinuirano održava poliklonalni kultivar ‘Lovranski Marun’. Drugi vid zaštite genofonda je *ex situ* očuvanje, koje podrazumijeva podizanje i održavanje sjemenskih plantaža različitih provenijencija, kao i klonskih plantaža. U sjemenskim plantažama je, osim očuvanja samih stabala prisutnih u njima, moguća i selekcija najboljih genotipova za različite svrhe, kao što su otpornost na bolesti i štetnike, obilan i kvalitetan urod te poželjne karakteristike za tehničko drvo. U ovu su svrhu u Hrvatskoj

podignute dvije pokusne plohe pitomog kestena, predstavljene s 12 populacija iz cijelog areala u Hrvatskoj. Klonske plantaže u Hrvatskoj nedostaju, odnosno nužno je podići plohu u kojoj će svih pet genotipova koji tvore 'Lovranski Marun' biti očuvani, čime će se jedinom do sada utvrđenom nacionalnom kultivaru osigurati budućnost.

ZAHVALE ACKNOWLEDGEMENTS

Rad je izrađen u okviru projekta Hrvatske zaklade za znanost (projekt IP-2018-01-1295) i hrvatsko-švicarskog istraživačkog programa koji provode Hrvatska zaklada za znanost i Švicarska nacionalna zaklada za znanost (projekt IZHRO_180651).

LITERATURA REFERENCES

- Alessandri, S., A.M. Ramos Cabrer, M.A. Martín, C. Mattioni, S. Pereira-Lorenzo, L. Dondini, 2022: Genetic characterization of Italian and Spanish wild and domesticated chestnut trees, *Sci. Hortic.*, 295: 110882. <https://doi.org/10.1016/j.sci-hortic.2022.110882>.
- Anić, M., 1942: O rasprostranjenosti evropskog pitomog kestena s osobitim obzirom na nezavisnu državu Hrvatsku i susjedne zemlje, *Tiskara C. Albrecht (P. Acinger)*, 142 str., Zagreb.
- Anić, M., 1945: Pogledi na šumsku vegetaciju Istre i susjednih zemalja, *Šum. List* 69: 13–23.
- Anić, M., 1953: Pitomi kesten na Cresu, *Glas. Šum. Pokus.*, 11: 321–356.
- Aravanopoulos, F.A., A.D. Drouzas, P.G. Alizoti, 2001: Electrophoretic and quantitative variation in chestnut (*Castanea sativa* Mill.) in Hellenic populations in old-growth natural and coppice stands, *For. Snow Landsc. Res.*, 76 (3): 429–434.
- Ballian, D., D. Kajba, 2011: Oplemenjivanje šumskog drveća i očuvanje njegove genetske raznolikosti, *Šumarski fakultet Univerziteta u Sarajevu, Šumarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu*, 299 str., Sarajevo-Zagreb.
- Beccaro, G.L., D. Torello-Marinoni, G. Binelli, D. Donno, P. Boccacci, R. Botta, A.K. Cerutti, M. Conedera, 2012: Insights in the chestnut genetic diversity in Canton Ticino (Southern Switzerland), *Silvae Genet.*, 61 (1-6): 292–300. <https://doi.org/10.1515/sg-2012-0037>
- Bolvanský, M., F. Tokár, D. Tarinová, M. Užik, A. Kormuták, 2009: Phenotypic and genetic differences among populations of European chestnut (*Castanea sativa* Mill.) in Slovakia, *Acta Hortic.*, 844: 235–242.
- Bounous, G. 2002. Il castagno: Coltura, ambiente ed utilizzazioni in Italia e nel mondo. Edagricole, Bologna.
- Bounous, G. 2009: Italy, Following chestnut footprints (*Castanea* spp.) – cultivation and culture, folklore and history, traditions and use, *Scripta Hortic.*, 9: 72–84.
- Castellana, S., M.A. Martín, A. Solla, F. Alcaide, F. Villani, M. Cherubini, D. Neale, C. Mattioni, 2021: Signatures of local adaptation to climate in natural populations of sweet chestnut (*Castanea sativa* Mill.) from southern Europe, *Ann. For. Sci.*, 78: 27. <https://doi.org/10.1007/s13595-021-01027-6>.
- Conedera, M., M.C. Manetti, F. Giudici, E. Amorini, 2004a: Distribution and economic potential of the sweet chestnut (*Castanea sativa* Mill.) in Europe, *Ecol. Medit.*, 30: 179–193.
- Conedera, M., P. Krebs, 2008: History, present situation and perspective of chestnut cultivation in Europe, *Acta Hortic.*, 784: 23–27.
- Conedera, M., P. Krebs, W. Tinner, M. Pradella, D. Torriani, 2004b: The cultivation of *Castanea sativa* Mill. in Europe, from its origin to its diffusion on a continental scale, *Veget. Hist. Archaeobot.*, 13: 161–179.
- Cuestas, M.I., C. Mattioni, L.M. Martín, E. Vargas-Osuna, M. Cherubini, M.A. Martín, 2017: Functional genetic diversity of chestnut (*Castanea sativa* Mill.) populations from southern Spain, *For. Syst.*, 26 (3): 5. <http://dx.doi.org/10.5424/fs/2017263-11547>.
- Cutino, I., T. La Mantia, T. Caruso, D. Cartabellotta, 2006: The indigenous germplasm of chestnut (*Castanea sativa* Mill.) in the Etna area: ecophysiological aspects and morphological traits of the fruit, *Adv. Hortic. Sci.*, 20: 107–112.
- Daničić, V., B. Kovačević, D. Ballian, 2018: Varijabilnost morfoloških svojstava ploda europskog pitomog kestena (*Castanea sativa* Mill.) u prirodnim populacijama Bosne i Hercegovine, *Šumar. List*, 142 (9-10): 517–528. <https://doi.org/10.31298/sl.142.9-10.7>
- De Kort, H., J.G. Prunier, S. Ducatez, O. Honnay, M. Baguette, V.M. Stevens, S. Blanchet, 2021: Life history, climate and biogeography interactively affect worldwide genetic diversity of plant and animal populations, *Nat. Commun.*, 12: 516. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-20958-2>
- De Vries, S.M.G., M. Alan, M. Bozzano, V. Burianek, E. Collin, J. Cottrell, M. Ivanković, C.T. Kelleher, J. Koskela, P. Rotach, L. Vietto, L. Yrjänä, 2015: Pan-European strategy for genetic conservation of forest trees and establishment of a core network of dynamic conservation units, *EUFORGEN, Biodiversity International*, Rim.
- Eriksson, G., 1996: Evolutionary genetics and conservation of forest tree genetic resources. U: Noble Hardwoods Network, Report of the 1st EUFORGEN Meeting, IPGRI Rim, 159–167.
- Eriksson, G., 1998: Evolutionary genetics and conservation of forest tree genetic resources. U: Noble Hardwoods Network, Report of the 2nd EUFORGEN Meeting, IPGRI Rim, 61–75.
- Eriksson, G., A. Pliura, J. Fernández-López, R. Zas, R. Blanco Silva, F. Villani, G. Bucci, M. Casasoli, M. Cherubini, M. Lauteri, C. Mattioni, C. Monteverdi, A. Sansotta, G. Garrod, M. Mavrogianis, R. Scarpa, F. Spalato, P. Aravanopoulos, E. Alizoti, A. Drouzas, 2005: management of genetic resources of the multi-purpose tree species *Castanea sativa* Mill., *Acta Hortic.*, 693: 373–386. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2005.693.47>
- Ertan, E., 2007: Variability in leaf and fruit morphology and in fruit composition of chestnuts (*Castanea sativa* Mill.) in the Nazilli region of Turkey, *Genet. Resour. Crop Evol.*, 54: 691–699.
- Fernández-Cruz, J., B. Míguez-Soto, J. Fernández-López, 2022: Origin of traditional sweet chestnut (*Castanea sativa* Mill.) varieties from the Northwest of the Iberian Peninsula, *Tree Genet. Genomes*, 18: 34. <https://doi.org/10.1007/s11295-022-01564-9>
- Fernández-Cruz, J., J. Fernández-López, 2016: Genetic structure of wild sweet chestnut (*Castanea sativa* Mill.) populations in northwest of Spain and their differences with other European

- stands, *Conserv. Genet.*, 17: 949–967. <https://doi.org/10.1007/s10592-016-0835-4>
- Fernández-López, J., A. B. Monteagudo, 2010: Genetic structure of wild Spanish populations of *Castanea sativa* as revealed by isozyme analysis, *For. Syst.*, 19 (2): 156–169.
 - Fernández-López, J., J. Fernández-Cruz, 2015: Identification of traditional Galician sweet chestnut varieties using ethnographic and nuclear microsatellite data, *Tree Genet. Genomes.*, 11: 111. <https://doi.org/10.1007/s11295-015-0934-2>
 - Fernández-López, J., R. Alía, 2003: Technical Guidelines for genetic conservation and use for chestnut (*Castanea sativa* Mill.), EUFORGEN International Plant Genetic Resources Institute, 6 str., Rim.
 - Flores, A., J. López.Upton, C.D. Rullán-Silva, A.E. Olthoff, R. Alía, C. Sáenz-Romero, J.M. Garcia del Barrio, 2019: Priorities for conservation and sustainable use of forest genetic resources in four Mexican pines, *Forests*, 10: 675. <https://doi.org/10.3390/f10080675>.
 - Fornari, B., D. Turchini, F. Villani, 1999: Genetic structure and diversity of two Turkish *Castanea sativa* Mill. populations investigated with isozyme and RAPD polymorphisms [random amplified polymorphic DNA], *J. Breed. Genet. (Italy)*, 53: 315–325.
 - Furones-Perez, P., J. Fernández-López, 2009: Morphological and phenological description of 38 sweet chestnut cultivars (*Castanea sativa* Miller) in a contemporary collection, *Span. J. Agric. Res.*, 7: 829–843. <https://doi.org/10.5424/sjar/2009074-1097>.
 - Glushkova, M., M. Zhyanski, K. Velinova, 2010: Nut quality assessment of chestnut cultivars from 'Ivanik' clone collection, *For. Sci.*, 1: 3–14.
 - Gobbin, D., L. Hohl, L. Conza, M. Jermini, C. Gessler, M. Conedera, 2007: Microsatellite-based characterization of the *Castanea sativa* cultivar heritage of southern Switzerland, *Genome*, 50 (12): 1089–1103. <https://doi.org/10.1139/G07-086>.
 - Grygorieva, O., S. Klymenko, J. Brindza, Z. Schubertová, N. Nikolaieva, J. Šimková, 2017: Morphometric characteristics of sweet chestnut (*Castanea sativa* Mill.) fruits, *Potr. S. J. F. Sci.*, 11: 288–295. <https://doi.org/10.5219/684>.
 - Halambek, M. 1989: Istraživanje virulentnosti gljive (*Endothia parasitica* Murr./And.) uzročnika raka kore pitomog kestena (*Castanea sativa* Mill.). Disertacija, Fakultet šumarstva i drvne tehnologije, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb.
 - Herman, J., 1971: Šumarska dendrologija, Stanbiro, 470 str., Zagreb.
 - Hozova, L., L. Jankovsky, A. Akkák, D. Torello Marioni, R. Botta, J. Šmerda, 2009: Preliminary study of the genetic structure of a chestnut population in the Czech Republic based on SSR analysis, *Acta Hortic.*, 815: 43–50. DOI: 10.17660/ActaHortic.2009.815.5
 - Huntley, B.J., H.J.B. Birks, 1983: An atlas of past and present pollen maps for Europe: 0–13000 years ago, Cambridge University Press, 667 str., Cambridge.
 - Idžojtić, M., M. Zebec, I. Poljak, Z. Šatović, Z. Liber, 2012: Analiza genetske raznolikosti "lovranskog maruna" (*Castanea sativa* Mill.) korištenjem mikrosatelitnih biljega, *Šumar. List*, 136: 577–585.
 - Kajba, D., J. Gračan, M. Ivanković, S. Bogdan, M. Gradečki-Poštenjak, T. Littvay, I. Katičić, 2006: Očuvanje genofonda šumskih vrsta drveća u Hrvatskoj, *Glas. Šum. Pokus.*, 5: 235–249.
 - Krebs, P., G.B. Pezzatti, G. Beffa, W. Tinner, M. Conedera, 2019: Revising the sweet chestnut (*Castanea sativa* Mill.) refugia history of the last glacial period with extended pollen and macrofossil evidence, *Quat. Sci. Rev.*, 206: 111–128. <https://doi.org/10.1016/j.quascirev.2019.01.002>
 - Krebs, P., M. Conedera, M. Pradella, D. Torriani, M. Felber, W. Tinner, W. 2004: Quaternary refugia of sweet chestnut (*Castanea sativa* Mill.): An extended palynological approach, *Veg. Hist. Archaeobot.*, 13: 145–160.
 - Luisini, I., I. Velichkov, P. Pollegioni, F. Chiocchini, G. Hinkov, T. Zlatanov, M. Cherubini, C. Mattioni, 2013: Estimating the genetic diversity and spatial structure of Bulgarian *Castanea sativa* populations by SSRs: Implications for conservation, *Conserv. Genet.*, <https://doi.org/10.1007/s10592-013-0537-0>.
 - Martín, M. A., A. Moral, L. M. Martín, J.B. Alvarez, 2007: The genetic resources of European sweet chestnut (*Castanea sativa* Mill.) in Andalusia, Spain, *Genet. Resour. Crop Evol.*, 54: 379–87.
 - Martín, M.A., C. Mattioni, J.R. Molina, J.B. Alvarez, M. Cherubini, M.A. Herrera, F. Villani, L.M. Martín, 2012: Landscape genetic structure of chestnut (*Castanea sativa* Mill.) in Spain, *Tree Genet. Genomes*, 8: 127–136.
 - Martín, M.A., C. Mattioni, M. Cherubini, D. Turchini, F. Villani, 2010: Genetic characterization of traditional chestnut varieties in Italy using microsatellites (simple sequence repeats), *Ann. Appl. Biol.*, 157: 37–44. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.2010.00407.x>.
 - Martín, M.A., C. Mattioni, M. Cherubini, F. Villani, L.M. Martín, 2017: A comparative study of European chestnut varieties in relation to adaptive markers, *Agroforest. Syst.*, 91: 97–109. <https://doi.org/10.1007/s10457-016-9911-5>
 - Mattioni, C., M. Cherubini, D. Turchini, F. Villani, M. A. Martín, 2010: Genetic diversity in European chestnut populations, *Acta Hortic.*, 866: 163–167.
 - Mattioni, C., M. Cherubini, E. Micheli, F. Villani, G. Bucci, 2008: Role of domestication in shaping *Castanea sativa* genetic variation in Europe, *Tree Genet. Genomes*, 4 (3): 563–574.
 - Mattioni, C., M.A. Martín, F. Chiocchini, M. Cherubini, M. Gaudet, P. Pollegioni, I. Velichkov, R. Jarman, F.M. Chambers, L. Paule, V.L. Damian, G.C. Crainic, F. Villani, 2017: Landscape genetics structure of European sweet chestnut (*Castanea sativa* Mill.): Indications for conservation priorities, *Tree Genet. Genomes*, 13: 39. <https://doi.org/10.1007/s11295-017-1123-2>.
 - Mattioni, C., M.A. Martín, P. Pollegioni, M. Cherubini, F. Villani, 2013: Microsatellite markers reveal a strong geographical structure in European populations of *Castanea sativa* (Fagaceae): evidence for multiple glacial refugia, *Am. J. Bot.*, 100: 951–961. doi:10.3732/ajb.1200194
 - Maurer, W.D., J. Fernández-López, 2001: Establishing an international sweet chestnut (*Castanea sativa* Mill.) provenance test: preliminary steps, *For. Snow Landsc. Res.*, 76: 482–486.
 - Medak, J. 2009: Šumske zajednice i staništa pitomog kestena (*Castanea sativa* Mill.) u Hrvatskoj, Disertacija, Fakultet šumarstva i drvne tehnologije, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb.
 - Medak, J., 2004: Fitocenološke značajke šuma pitomog kestena u sjeverozapadnoj Hrvatskoj. Diplomski rad, Fakultet šumarstva i drvne tehnologije, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb.
 - Medak, J., M. Idžojtić, S. Novak-Agbaba, M. Ćurković-Perica, I. Mujić, I. Poljak, D. Juretić, Ž. Prgomet, 2009: Croatia. U: D. Avanzato (ur.), Following chestnut footprints (*Castanea* spp.) - culti-

- vation and culture, folklore and history, traditions and use, *Scripta Hort.*, 9: 40–43.
- Mellano, M.G., G.L. Beccaro, D. Donno, D. Torello Marinoni, P. Boccacci, S. Canterino, A.K. Cerutti, G. Bounous, 2012: *Castanea* spp. biodiversity conservation: collection and characterization of the genetic diversity of an endangered species, *Genet. Resour. Crop Evol.*, 59: 1727–1741. <https://doi.org/10.1007/s10722-012-9794-x>.
 - Míguez-Soto, B., J. Fernández-Cruz, J. Fernández-López, 2019: Mediterranean and Northern Iberian gene pools of wild *Castanea sativa* Mill. are two differentiated ecotypes originated under natural divergent selection, *PLoS ONE*, 14 (2): e0211315. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0211315>
 - Novak-Agbaba, S., B. Liović, M. Pernek, 2000: Prikaz sastojina pitomog kestena (*Castanea sativa* Mill.) u Hrvatskoj i zastupljenost hipovirulentnih sojeva gljive *Cryphonectria parasitica* (Murr.) Barr., *Radovi Šumarskog instituta*, 35 (1): 91–110.
 - Pereira-Lorenzo, S., A.M. Ramos-Cabrer, T. Barreneche, C. Mattioni, F. Villani, B. Díaz-Hernández, L.M. Martín, A. Robles-Loma, Y. Cáceres, A. Martín, 2019: Instant domestication process of European chestnut cultivars, *Ann. Appl. Biol.*, 174: 74–85. <https://doi.org/10.1111/aab.12474>
 - Pereira-Lorenzo, S., J. Fernández-López, 1997: Description of 80 cultivars and 36 clonal selections of chestnut (*Castanea sativa* Mill.) from Northwestern Spain, *Fruit Var. J.*, 51: 13–27.
 - Pereira-Lorenzo, S., J. Fernández-López, J. Moreno-Gonzalez, 1996: Variability and grouping Northwestern Spanish chestnut cultivars. I. Morphological traits, *J. Am. Soc. Hort. Sci.*, 121: 183–189.
 - Pereira-Lorenzo, S., R.L. Costa, A. Ramos-Cabrer, C.A. Marques Ribeiro, M.F. Serra da Silva, G. Manzano, T. Barreneche, 2010: Variation in grafted European chestnut and hybrids by microsatellites reveals two main origins in the Iberian Peninsula, *Tree Genet. Genomes*, 5: 701–715. <https://doi.org/10.1007/s11295-010-0285-y>.
 - Pereira-Lorenzo, S., Y. Bischofberger, M. Conedera, P. Piattini, J. Crovadore, R. Chablais, A. Rudow, S. Hatt, A.M. Ramos-Cabrer, T. Barreneche, F. Lefort, 2020: Reservoir of the European chestnut diversity in Switzerland, *Biodivers. Conserv.*, 29, 2217–2234. <https://doi.org/10.1007/s10531-020-01970-2>
 - Petit, R.J., C. Larue, 2022: Confirmation that chestnuts are insect-pollinated, *Bot. Lett.*, 169: 3, 370–374, DOI: 10.1080/23818107.2022.2088612
 - Pigliucci, M., C. Paoletti, S. Fineschi, M.E. Malvolti, 1991: Phenotypic integration in chestnut (*Castanea sativa* Mill.): leaves versus fruits, *Bot. Gaz.*, 152: 514–521.
 - Pitte, J.-R., 1986: Terres de castanide. Hommes et paysages du châtaignier de l'Antiquité à nos jours, Fayard, 479 str., Pariz.
 - Poljak, I. 2014: Morfološka i genetska raznolikost populacija i kemijski sastav plodova europskog pitomog kestena (*Castanea sativa* Mill.) u Hrvatskoj. Doktorska disertacija, Fakultet šumarstva i drvne tehnologije, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb.
 - Poljak, I., M. Idžojić, Z. Šatović, M. Ježić, M. Čurković Perica, B. Simovski, J. Acevski, Z. Liber, 2017: Genetic diversity of the sweet chestnut (*Castanea sativa* Mill.) in central Europe and the western part of the Balkan Peninsula, and evidence of marron genotype introgression into wild populations, *Tree Genet. Genomes*, 13: 18. <https://doi.org/10.1007/s11295-017-1107-2>.
 - Poljak, I., N. Vahčić, A. Vidaković, K. Tumpa, I. Žarković, M. Idžojić, 2021: Traditional sweet chestnut and hybrid varieties: chemical composition, morphometric and qualitative nut characteristics, *Agronomy*, 11: 516. <https://doi.org/10.3390/agronomy11030516>.
 - Poljak, I., N. Vahčić, M. Gačić, M. Idžojić, 2016: Morphology and chemical composition of fruits of the traditional Croatian chestnut variety 'Lovran Marron', *Food Technol. Biotechnol.*, 54: 189–199. <https://doi.org/10.17113/ftb.54.02.16.4319>.
 - Ramos-Cabrer, A.M., S. Pereira-Lorenzo, 2005: Genetic relationship between *Castanea sativa* Mill. trees from north-western to south Spain based on morphological traits and isoenzymes, *Genet. Resour. Crop Evol.*, 52: 879–890. <https://doi.org/10.1007/s10722-003-6094-5>.
 - Rutter, P.A., G. Müller, J.A. Payne, 1991: Chestnuts (*Castanea*), *Acta Hort.*, 290: 761–785.
 - Savolainen, O., S.T. Kujala, C. Sokol, T. Pyhäjärvi, K. Avia, T. Knürr, K. Kärkkäinen, S. Hicks, 2011: Adaptive potential of northernmost tree populations to climate change, with emphasis on Scots pine (*Pinus sylvestris* L.), *J. Hered.*, 102 (5): 526–536. <https://doi.org/10.1093/jhered/esr056>
 - Savolainen, O., T. Pyhäjärvi, T. Knürr, 2007: Gene flow and local adaptation in trees, *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.*, 38: 595–619.
 - Serdar, U., H. Demirsoy, L. Demirsoy, 2011: A morphological and phenological comparison of chestnut (*Castanea*) cultivars 'Serdar' and 'Marigoule', *AJCS*, 5: 1311–1317.
 - Solar, A., A. Podjavoršek, F. Štampar, 2005: Phenotypic and genotypic diversity of European chestnut (*Castanea sativa* Mill.) in Slovenia – opportunity for genetic improvement, *Genet. Resour. Crop Evol.*, 52: 381–394. <https://doi.org/10.1007/s10722-005-2252-2>.
 - Torello Marinoni, D., A. Akkak, C. Beltramo, P. Guaraldo, P. Boccacci, G. Bounous, A.M. Ferrara, A. Ebone, E. Viotto, R. Botta, 2013: Genetic and morphological characterization of chestnut (*Castanea sativa* Mill.) germplasm in Piedmont (north-western Italy), *Tree Genet. Genomes*, 9: 1017–1030. <http://doi.org/10.1007/s11295-013-0613-0>.
 - Tumpa, K., Z. Šatović, Z. Liber, A. Vidaković, M. Idžojić, M. Ježić, M. Čurković-Perica, I. Poljak, 2022: Gene flow between wild trees and cultivated varieties shapes the genetic structure of sweet chestnut (*Castanea sativa* Mill.) populations, *Sci. Rep.*, 12: 15007. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-17635-9>.
 - Vakkari, P., M. Rusanen, J. Heikkinen, T. Huotari, K. Kärkkäinen, 2020: Patterns of genetic variation in leading-edge populations of *Quercus robur*: genetic patchiness due to family clusters, *Tree Genet. Genomes*, 16: 73. <https://doi.org/10.1007/s11295-020-01465-9>.
 - Villani, F., G. Eriksson, 2006: Conservation and management of European chestnut (*Castanea sativa* Mill.) genetic resources: outputs of the CASCADE project. EUFORGEN Noble Hardwoods Network, Report of the sixth (9-11. 06. 2002, Alter do Chão, Portugal) and seventh meetings (22-24. 04. 2004, Arezzo - Italija). International Plant Genetic Resources Institute, Rim.
 - Villani, F., M. Pigliucci, M. Lauteri, M. Cherubini, 1992: Congruence between genetic, morphometric, and physiological data on differentiation of Turkish chestnut (*Castanea sativa*), *Genome*, 35: 251–256.
 - Villani, F., M. Pigliucci, S. Benedettelli, M. Cherubini, 1991: Genetic differentiation among Turkish chestnut (*Castanea sativa* Mill.) populations, *Heredity*, 66: 131–136.

SUMMARY

Sweet chestnut (*Castanea sativa* Mill.) is a noble, multi-purpose hardwood species. In addition to edible fruits and high-quality wood, chestnut forests have been used as a source of various resources since the antiquity. Intensive management of forests and stands, however, together with the emergence of chestnut blight, has led to their decline and dieback. As a result, in numerous European countries multidisciplinary projects were initialized, with goals of conserving the genetic resources of the species, as well as reestablishing its significance in rural and forest ecosystems. In this paper, an overview of the most important long-term gene conservation strategies is presented, with suggestions for guidelines for application of *in situ* and *ex situ* conservation methods in Croatia.

KEY WORDS: gene conservation, conservation units, provenance, genetic diversity, forest reproductive material