

Stručni članak
Professional paper

Andjelina Gavranović Markić¹, Miran Lanščak¹, Zvonimir Vujnović¹, Sanja Bogunović¹,
Nevenka Čelepirović¹, Mladen Ivanković^{1*}

ISTRAŽIVAČKI PROJEKTI HRVATSKE ZAKLADE ZA ZNANOST O OČUVANJU GENETSKE RAZNOLIKOSTI I VARIJABILNOSTI PLODONOŠENJA HRASTA LUŽNJAKA (*Quercus robur* L.) I OBIČNE BUKVE (*Fagus sylvatica* L.) U HRVATSKOJ

SAŽETAK

Cilj rada je predstaviti dva istraživačka projekta Hrvatske zaklade za znanost pod naslovima „Očuvanje genetskih resursa šumskog drveća u svjetlu klimatskih promjena“ – ConForClim IP-2013-11-8131 i „Dinamika plodonošenja i očuvanja genofonda hrasta lužnjaka (*Quercus robur* L.) i obične bukve (*Fagus sylvatica* L.) u svjetlu klimatskih promjena“ – CropForClim IP-2018-01-8189. Oba projekta imaju za cilj na projektним vrstama, hrastu lužnjaku i običnoj bukvi, istražiti genetsku varijabilnost i prilagodljivost sa svrhom davanja smjernica za poboljšanje i unapređenje očuvanja genetskih resursa. Projekti se provode na lokalitetima Hrvatskih šuma d.o.o. pod vodstvom dr.sc. Mladena Ivankovića, predstojnika Zavoda za genetiku, oplemenjivanje šumskog drveća i sjemenarstvo na Hrvatskom šumarskom institutu. Istraživački tim oba projekata čine znanstvenici sa Hrvatskog šumarskog instituta i Fakulteta šumarstva i drvne tehnologije Sveučilišta u Zagrebu, dok su na projektu ConForClim bili uključeni i znanstvenici sa Šumarskog instituta Baden-Württemberg i Katedre za fiziologiju drveća Instituta za šumarstvo koji je u sklopu Albert–Ludwigs Sveučilišta Freiburg.

Ključne riječi: pokus provenijencija; sjemenska sastojina; šumski reproduksijski materijal;
klimatske promjene; urod sjemena; sjemenska banka

¹ Hrvatski šumarski institut, Zavod za genetiku, oplemenjivanje šumskog drveća i sjemenarstvo, Cvjetno naselje 41, Jastrebarsko, Hrvatska

UVOD

Globalne klimatske promjene, porast temperature, padalina i pojava ekstremnih vremenskih prilika dovode u pitanje stabilnost i opstanak šuma. Osnovu stabilnosti šumskih ekosustava čini sposobnost određene populacije da se prilagodi na izmijenjene uvjete okoliša, a glavnu ulogu u tom procesu ima genetska raznolikost vrsta (Isajev i sur. 2009). Gubitak genetskih resursa šumskog drveća može biti uzrokovan klimatskim promjenama kao izravnim čimbenikom te raznim neizravnim čimbenicima poput napada raznih štetnika, šumskih požara itd. Iznimno je važno djelovanje čovjeka u smjeru očuvanja genetske raznolikosti i pravilnog korištenja šumskog reprodukcijškog materijala (ŠRM).

Danas se očuvanje genetske raznolikosti šumskog drveća provodi u postojećim prirodnim staništima populacije (*in situ*) i izvan njihovog prirodnog staništa (*ex situ*). Metodom *in situ* populacije šumskog drveća rastu na izvornom staništu zajedno sa pripadajućim biljnim i životinjskim svijetom te imaju mogućnost evoluirati na tim staništima. Metoda omogućuje održavanje cijelih ekosustava ako su područja uključena u očuvanje dovoljno velika (Eriksson i sur. 2006; White i sur. 2007; Ballian i Kajba 2011). Izdvajanjem i zaštitom kvalitetnih šumskih kompleksa ujedno se i čuva bogatstvo njihovih gena i potencijal vrste za prilagodbu izmijenjenim uvjetima okoliša. Ovakav vid selekcije i očuvanja *in situ* metodom priprema je za sljedeći korak očuvanja tzv. *ex situ* metodom. Genetska kvaliteta šumskoga reprodukcijškog materijala presudna je za daljnju selekciju i osnivanje kvalitetnih nasada kao sljedećega koraka u procesima očuvanja genetske raznolikosti. *Ex situ* metoda uključuje osnivanje nasada (plantaža) kao i čuvanje genetskoga materijala u kontroliranim uvjetima (genetske banke, sjemenske štedionice). Nasadi podrazumijevaju sjemenske objekte (klonske i generativne sjemenske plantaže, živi arhivi) i genetičke testove (testovi provenijencija, testovi potomstva i klonski testovi) (White i sur. 2007).

Važnost očuvanja genetske raznolikosti šumskog drveća prepoznala je Hrvatska zaklada za znanost u okviru projekata ConForClim (2014-2018) i CropForClim (2018-2022). Glavni je cilj projekata dati preporuke za očuvanje genetske raznolikosti, a istraživanja se temelje na hrastu lužnjaku i običnoj bukvi.

ISTRAŽIVANJA VARIJABILNOSTI HRASTA LUŽNJAKA I OBIČNE BUKVE

Istraživanje razine genetske raznolikosti vrste, odnosno provenijencija, jedan je od osnovnih preduvjeta za procjenu njihove adaptacijske sposobnosti, a time i za izbor prikladnog reprodukcijškog materijala pri obnovi sastojina. Provenijencije koje se odlikuju višom razinom genetske varijabilnosti imaju veći potencijal za prilagodbu

na izmijenjene okolišne uvjete nego populacije s nižom razinom genetske varijabilnosti (Bogdan i sur. 2017).

Općenito, pokusi provenijencija se osim kao *ex situ* oblik očuvanja genofonda šumskog drveća koriste i za određivanje unutarpopulacijske i međupopulacijske genetske raznolikosti. Praćenjem kvantitativnih fenotipskih svojstava na pokusima provenijencija daje se uvid u genetsku raznolikost vrste. Na fenotipsku raznolikost utječe genetska struktura biljke kao i okolišni uvjeti u kojima biljaka raste. Da bi se minimalizirao vanjski utjecaj, takvi pokusi se osnivaju u relativno ujednačenim okolišnim uvjetima, a varijabilnost praćenih fenotipskih svojstava se pripisuje genetskim razlikama između i unutar populacija. Takvim pokusima se omogućava istraživanje genetske uvjetovanosti fenotipske varijabilnosti kvantitativnih svojstava kod biljaka (Falconer i Mackay 1996; Eriksson i sur. 2006; White i sur. 2007).

Istraživanja varijabilnosti hrasta lužnjaka i obične bukve započela su projektom ConForClim na već ranije osnovanim genetskim nasadima (pokusima provenijencija). To su pokus provenijencija hrasta lužnjaka osnovan 2008. godine na području Uprave šuma podružnica (UŠP) Karlovac (šumarija Jastrebarsko), pokusi provenijencija hrasta lužnjaka osnovani 2010. godine na području UŠP Našice (šumarija Koška) i UŠP Vinkovci (šumarija Vrbanja), te pokus provenijencija obične bukve osnovan 2007. godine na Medvednici (šumarija Zagreb) (Slika 1.). Zbog izuzetno lošeg preživljenja biljaka uslijed vremenskih nepogoda (više od 60% biljaka u pokusu je stradalo od poplava) pokus provenijencija hrasta lužnjaka na području šumarije Vrbanja izuzet je iz monitoringa 2015. godine. U razdoblju od 2014. do 2018. godine, istraživanja su uključivala prikupljanje podataka o opstanku i rastu biljaka, fenologiji, oštećenosti od mraza, zimskoj retenciji lišća i otpornosti biljaka na štetnike. U pokusnim nasadima hrasta lužnjaka razina i obrazac genetske raznolikosti populacija su utvrđivani i analizom DNK biljega.



Slika 1. Pokusi provenijencija hrasta lužnjaka i obične bukve

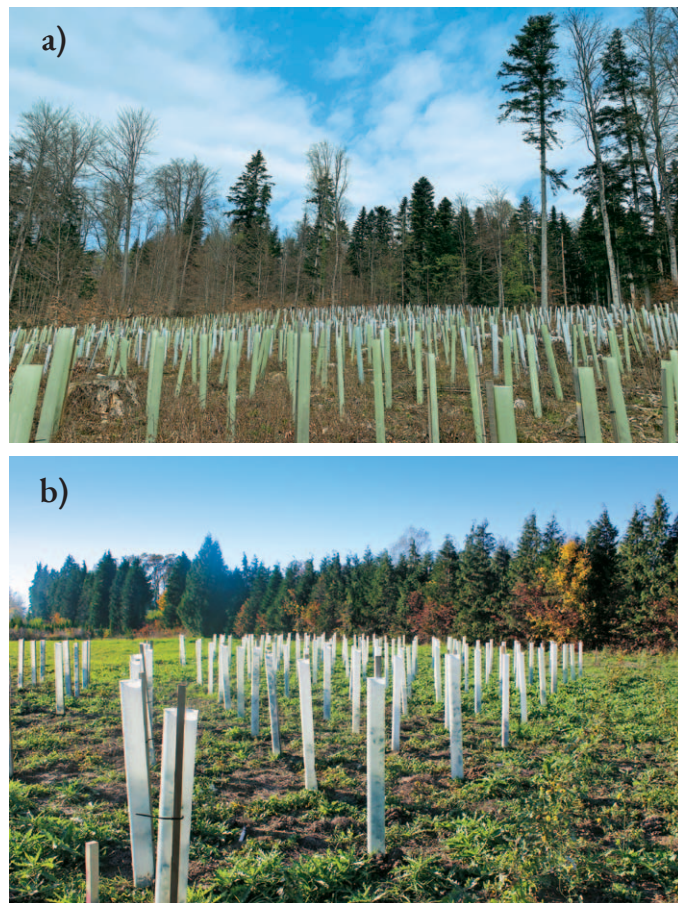
Istraživanja genetske varijabilnosti obične bukve provodila su se projektom ConForClim i na prirodnom pomlatku deset različitih hrvatskih provenijencija. Prirodni pomladak obične bukve sakupljen je nakon završetka vegetacije 2014. godine te je posađen u rasadniku Hrvatskog šumarskog instituta (HŠI-a) (Slika 2.). Na uzgojenom pomlatku mjerena su kvantitativna fenotipska svojstva visine te je obavljena procjena fenologije listanja i stupnja oštećenja biljaka kasnim proljetnim mrazom. Također, istraživana su i fiziološka svojstva koja daju uvid u genetsku varijabilnost provenijencija, ali također imaju važnu ulogu u razvoju biljaka te u njihovoj spremnosti da učinkovito odgovore na vanjske utjecaje, između ostalog i na sušu. Upravo zbog toga su biljke bile podijeljene u dva tretmana, prvi je predstavljao sušu, a drugi kontrolu. Poznato je da je suša limitirajući čimbenik za rast stabla (Löf i Welander 2000; Leuschner i sur. 2001) što uzrokuje i pad u ukupnoj suhoj biomasi. U ovom pokusu su uzorkovani biljni dijelovi (list, stabljika, korijen) u određenim vremenskim intervalima te je izmjerena biomasa, nakon čega su izmjereni fiziološki parametri (količina $\delta^{13}C$ izotopa, omjer i ukupna količina ugljika i dušika, količina askorbinske kiseline te količina fosfora u listu i korijenu biljaka).



Slika 2. Pomladak obične bukve u rasadniku Hrvatskog šumarskog instituta

Kako bi se utvrdio još bolji uvid u genetsku varijabilnost obične bukve, tijekom jeseni 2016. godine sakupljen je ŠRM (sjeme) iz populacija sa trajnih pokusnih ploha osnovanih u sjemenskim sastojinama na kojima se od 2015. godine prati varijabilnost plodonošenja (vidi Tablicu 1.).

U proljeće 2017. godine prikupljenim sjemenskim materijalom i prirodnim pomlatkom sa područja šumarije Vrbovsko, u rasadniku HŠI-a osnovan je rasadnički pokus obične bukve. Sakupljanje sjemena i osnivanje rasadničkog testa obavljeno je u sklopu projekta ConForClim te su uzgojene sadnice korištene za kasnije osnivanje ex situ pokusa. Ex situ pokusi obične bukve osnovani su u sklopu projekta CropForClim 2020. godine na području UŠP Delnice (šumarija Vrbovsko) te u A polju Hrvatskog šumarskog instituta (Slika 3.). Također, u sklopu projekta CropForClim osnovan je plastenički pokus hrasta lužnjaka (2019. godine) od prikupljenog sjemena iz populacija sa trajnih pokusnih ploha osnovanih u sastojinama na kojima se od 2019. godine prati varijabilnost plodonošenja (vidi Tablicu 1.). Glavni cilj ovih pokusa je utvrđivanje genetske varijabilnosti unutar i između populacija na temelju morfoloških (visina i prirasta) te fenoloških značajki potomstva (sadnica) iz istraživanih sjemenskih sastojina.



Slika 3. Pokusi provenijencija obične bukve: (a) UŠP Delnice, šumarija Vrbovsko; (b) A polje Hrvatski šumarski institut

PRAĆENJE PLODONOŠENJA HRASTA LUŽNJAKA I OBIČNE BUKVE

Razumijevanje dinamike i varijabilnosti uroda šumskog drveća, uključujući hrast lužnjak i običnu bukvu, na brze promjene u okolišu postalo je vodeći izazov u gospodarenju šumama. Čimbenici koji utječu na periodičnost i varijabilnost uroda predmet su brojnih istraživanja i još uvijek nisu u potpunosti razjašnjeni. Općenito, istraživanje pojave uroda zahtijeva multidisciplinarni pristup koji uključuje istraživanja klimatskih faktora, staništa, unutrašnjih (bioloških) značajki stabala, starosti stabala, socijalnog položaj stabala (gustoće sastojine), veličine i osvjetljenosti krošanja, prisutnosti štetne entomofaune i gljivičnih oboljenja i sl. Poznato je da je urod sjemena varijabilan kako na godišnjoj razini tako i na razini populacije i pojedinačnih stabala kod hrasta lužnjaka (Franjić i sur. 2011; Gradečki-Poštenjak i sur. 2011; Pearse i sur. 2016,) i kod obične bukve (Hilton i Packham 2003; Övergaard i sur. 2007; Ascoli i sur. 2017).

Istraživanje varijabilnosti plodonošenja hrasta lužnjaka u projektu ConForClim je započelo na području UŠP Vinkovci, šumarije Otok u sastojinama različite dobi: srednjedobnim, starijim i starim sastojinama. Količinska procjena uroda praćena je metodom sjemenomjera koji su postavljeni ispod stabala različitog stupnja osutosti krošanja.

Istraživanje varijabilnosti plodonošenja obične bukve je započelo prema radnom planu projekta ConForClim 2015. godine (Tablica 1.).

Istraživanja su nastavljena na istim plohama i za potrebe projekta CropForClim. Dodatno, zbog snažnog olujnog nevremena u 2017. godini na području UŠP Ogulin je 2018. godine osnovana nova pokusna ploha. Također, zbog sve učestalijih klimatskih ekstrema koji se događaju na područjima Hrvatske, na području UŠP Delnice je 2019. godine osnovana još jedna dodatna pokusna ploha zbog vremenskih nepogoda (ledolom, vjetrolo, snjegolom) koje su pogodile navedeno područje. Također, sa ciljem istraživanja varijabilnosti plodonošenja hrasta lužnjaka, u sklopu projekta CropForClim su 2019. osnovane nove pokusne plohe (Tablica 1.)

Monitoring uroda treba se odvijati kontinuirano duži niz godina, te je iz tog razloga u 2018. godini započeo novi projekt CropForClim, a sve u cilju boljeg razumijevanja periodiciteta u sve izraženijim promjenjivim uvjetima okoliša. Jedna od projektnih zadaća u oba projekta je utvrditi povezanost količine i kvalitete uroda sa lokalnim vremenskim uvjetima te visinom i promjerom stabala, veličinom i kvalitetom krošnje, fenotipom stabala i zdravstvenim stanjem. Količinska procjena uroda sjemena prati se metodom sjemenomjera i postavljanjem mreža za sakupljanje čitavog uroda s obzirom na projekciju krošnje stabla (Slika 4.) te snimanjem uroda bespilotnom letjelicom (dronom).

Tablica 1. Odabrane sastojine za osnivanje trajnih pokusnih ploha hrasta lužnjaka i obične bukve.

Vrsta	Uprava šuma podružnica (UŠP)	Šumarija	Gospodarska jedinica; odjel/odsjek	Registarski broj šumskog sjemenskog objekta (ŠSO)	Godina osnivanja pokusne plohe
Hrast lužnjak (<i>Quercus robur</i> L.)	Vinkovci	Vrbanja	Vrbanjske šume; 107b	-	2019.
	Nova Gradiška	Stara Gradiška	Ljeskovača; 18b	HR-QRO-SS-122/275	2019.
	Koprivnica	Repaš	Repaš - Gabajeva greda; 38a	HR-QRO-SI-113/220	2019.
	Karlovac	Jastrebarsko	Jastrebarski lugovi; 8b	-	2019.
Obična bukva (<i>Fagus sylvatica</i> L.)	Bjelovar	Veliki Grđevac	Grđevačka Bilogora; 47b	HR-FSY-SS-222/125	2015.
	Karlovac	Topusko	Bublen; 38b	HR-FSY-SS-223/167	2015.
	Ogulin	Ogulin	Bukovača; 41c	HR-FSY-SS-332/139	2015.
	Ogulin	Ogulin	Bukovača; 41b	-	2018.
	Požega	Velika	Južni Papuk; 55a	HR-FSY-SS-221/188	2015.
	Delnice	Mrkopalj	Bjelolasica; 62a	HR-FSY-SI-331/241	2019.



Slika 4. Načini sakupljanja sjemena: (a) metodom sjemenomjera ispod odabranog stabla; (b) postavljanjem velikih mreža za sakupljanje čitavog uroda sjemena s obzirom na projekciju krošnje

ISPITIVANJE KVALITETE SJEMENA I SKLADIŠTENJE SJEMENA

Različiti faktori utječu na kvalitetu šumskoga sjemena, npr. klimatske prilike tijekom razvoja i dozrijevanja sjemena, vrijeme i način sakupljanja, dorada, manipulacija sa sjemenom te način skladištenja.

Ispitivanje kvalitete šumskoga sjemena obavlja se u Laboratoriju za ispitivanje sjemena (LIS) HŠI-a. LIS se služi metodama sukladno važećim metodama za uzorkovanje i testiranje sjemena Međunarodne udruge za testiranje sjemena (International Seed Testing Association -ISTA). To su: određivanje čistoće sjemena, određivanje mase 1000 sjemenaka, određivanje sadržaja vlage u sjemenu, ispitivanje vitaliteta sjemena i ispitivanje klijavosti sjemena.

Prikupljeno sjeme se nakon obavljenih analiza skladišti u sjemenskoj banci HŠI-a koja predstavlja jedan od načina očuvanja genofonda ex situ metodom. Istražuju se najbolji načini kratkoročnog i dugoročnog skladištenja sjemena kako bi se u budućnosti osigurala potrajnost proizvodnje šumskog reprodukcijjskog materijala.

FINANCIRANJE

Ovaj rad je financirala Hrvatska zaklada za znanost projektima IP-2013-11-8131 (Očuvanje genetskih resursa šumskog drveća u svjetlu klimatskih promjena - ConForClim) i IP-2018-01-8189 (Dinamika plodonošenja i očuvanja genofonda hrasta lužnjaka (*Quercus robur* L.) i obične bukve (*Fagus sylvatica* L.) u svjetlu klimatskih promjena - CropForClim).

ZAHVALE

Zahvaljujemo djelatnicima Hrvatskih šuma d.o.o. na pomoći pri odabiru pokusnih ploha te organizaciji i provedbi terenskih poslova.

SUKOB INTERESA

Autori nemaju sukob interesa za prijaviti.

LITERATURA

Ascoli D, Maringer J, Hacket-Pain A, Conedera M, Drobyshev I, Motta R, Cirolli M, Kantorowicz W, Zang C, Schueler S, Croisé L, Piussi P, Berretti R, Palaghianu C, Westergren M, Lageard JGA, Burkart A, Gehrig Bichsel R, Thomas PA, Beudert B, Övergaard R, Vacchiano G, 2017. Two centuries of masting data for European beech and Norway spruce across the European continent. *Ecology* 98(5): 1473.

Ballian D, Kajba D, 2011. Oplemenjivanje šumskog drveća i očuvanje njegove genetske raznolikosti. Šumarski fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Šumarski fakultet Univerziteta u Sarajevu, Zagreb – Sarajevo, 299.

Bogdan S, Ivanković M, Temunović M, Morić M, Franjić J, Katičić Bogdan I, 2017. Adaptive genetic variability and differentiation of Croatian and Austrian *Quercus robur* L. populations at a drought prone field trial. *Annals of Forest Research* 60(1): 33-46. <https://doi.org/10.15287/afr.2016.733>.

Eriksson G, Ekberg I, Clapham D, 2006. An introduction to forest genetic. 2nd edition. Uppsala: SLU. Falconer DS, Mackay TFC, 1996. Introduction to Quantitative Genetics, Ed 4. Longmans Green, Harlow, Essex, UK.

Franjić J, Sever K, Bogdan S, Švorc Ž, Krstonošić D, Alešković I, 2011. Fenološka neujednačenost kao ograničavajući čimbenik uspješnoga oprašivanja u klonskim sjemenskim plantažama hrasta lužnjaka (*Quercus robur* L.). *Croat. J. For. Eng.* 32:141-156.

Gradečki-Poštenjak M, Novak-Agbaba S, Licht R, Posarić D, 2011. Dinamika plodonošenja i kvaliteta uroda sjemena hrasta lužnjaka (*Quercus robur* L.) u narušenim ekološkim uvjetima. Šumarski list 135(Posebni broj): 169-181.

Hilton GM, Packham JR, 2003. Variation in the masting of common beech (*Fagus sylvatica* L.) in northern Europe over two centuries (1800–2001). Forestry 76: 319-328.

Isajev V, Ivetic V, Lucic A, Rakonjac Lj, 2009. Gene pool conservation and tree improvement in Serbia. Genetika 41(3): 309-327. <https://doi.org/10.2298/gensr0903309i>

Leuschner C, Backes K, Hertel D, Schipka F, Schmitt U, Terborg O, Runge M, 2001. Drought responses at leaf, stem and fine root levels of competitive *Fagus sylvatica* L. and *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. trees in dry and wet years. Forest Ecology and Management, 149(1-3): 33-46. [https://doi.org/10.1016/S0378-1127\(00\)00543-0](https://doi.org/10.1016/S0378-1127(00)00543-0)

Löf M, Welander NT, 2000. Carry-over effects on growth and transpiration in *Fagus sylvatica* seedlings after drought at various stages of development. Canadian Journal of Forest Research 30(3): 468-475. <https://doi.org/10.1139/x99-232>.

Övergaard R, Gemmel P, Karlsson M, 2007. Effects of weather conditions on mast year frequency in beech (*Fagus sylvatica* L.) in Sweden. Forestry 80(5): 555-565.

Pearse IS, Koenig WD, Kelly D, 2016. Mechanisms of mast seeding: resources, weather, cues, and selection. New Phytologist 212(3): 546-562. <https://doi.org/10.1111/nph.14114>.

White TL, Adams WT, Neale DB, 2007. Forest Genetics. CAB International 2007, UK, 682.

RESEARCH PROJECTS OF THE CROATIAN SCIENCE FOUNDATION ON THE CONSERVATION OF GENETIC RESOURCES AND DYNAMIC OF FRUCTIFICATION OF PEDUNCULATE OAK (*Quercus robur* L.) AND EUROPEAN BEECH (*Fagus sylvatica* L.) IN CROATIA

SUMMARY

The aim of this paper is to present two research projects of the Croatian Science Foundation entitled „Conservation of genetic resources of forest trees in light of climate changes“ - ConForClim IP-2013-11-8131 and „Dynamic of fructification and conservation of genetic resources of pedunculate oak (*Quercus robur* L.) and european beech (*Fagus sylvatica* L.) in light of climate changes“ - CropForClim IP-2018-01-8189. Both projects aim to investigate genetic variability and adaptability on project species, pedunculate oak and european beech, with the purpose of providing guidelines for improving and advancing the conservation of genetic resources. The projects are being implemented at the sites of Croatian Forests Ltd. leading by Mladen Ivanković, PhD head of Division for genetics, forest tree breeding and seed science at Croatian forest research institute (CFRI). The research team of both projects consists of scientists from the CFRI and the Faculty of Forestry and Wood Technology, University of Zagreb, while scientists from the Forest Research Institute Baden-Wuerttemberg and the Department of tree physiology at the Albert-Ludwigs-University Freiburg, were also involved in the ConForClim project.

Keywords: provenance trial; seed stand; forest reproductive material; climate changes; seed yield;
seed bank