

# Međuklonska diferencijacija morfologije žirova hrasta kitnjaka (*Quercus petraea* (Matt.) Liebl.) u klonskoj sjemenskoj plantaži Novoselci

## Interclonal Differentiation in Acorn Morphology of Sessile Oak (*Quercus petraea* (Matt.) Liebl.) in the Novoselci Clonal Seed Orchard

Ivan Pilaš<sup>1</sup>, Saša Bogdan<sup>2\*</sup>, Vladimir Novotny<sup>1</sup>, Matej Begić<sup>3</sup>, Mladen Ivanković<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Hrvatski šumarski institut, Jastrebarsko

<sup>2</sup> Sveučilište u Zagrebu Fakultet šumarstva i drvne tehnologije, Zagreb

<sup>3</sup> Hrvatske šume d.o.o. Zagreb, UŠP Požega

\* Dopisni autor: Saša Bogdan, e-mail: sbogdan@sumfak.unizg.hr

### SAŽETAK

Morfološka svojstva sjemena imaju važnu ulogu u ranoj fazi razvoja šumskog drveća te mogu reflektirati genetsku strukturu i reproduktivnu dinamiku populacija. Cilj ovog istraživanja bio je utvrditi razinu međuklonske varijabilnosti dimenzija žira hrasta kitnjaka (*Quercus petraea* (Matt.) Liebl.) u klonskoj sjemenskoj plantaži Novoselci te ispitati povezanost morfoloških svojstava s geografskim i stanišnim podrijetlom klonova. Analizirano je 4800 žirova sakupljenih od 48 klonova (po jedna rameta po klonu). Mjerene su duljina i širina žira, a podaci su obrađeni analizom varijance, procjenom intraklasnog koeficijenta korelacije (ICC), regresijskim modelima te analizom glavnih sastavnica (PCA). Rezultati su pokazali statistički značajne razlike među klonovima u duljini i širini žira. Procijenjeni ICC iznosio je 0,54 za duljinu i 0,62 za širinu žira, što upućuje na izraženu međuklonsku diferencijaciju veličine plodova. Raspored klonova u PCA prostoru pokazao je kontinuirani morfološki gradijent bez izdvojenih skupina, što upućuje na odsutnost jasne morfološke diferencijacije unutar plantaže. Nije utvrđena značajna povezanost dimenzija žira s geografskim koordinatama, nadmorskom visinom, ni stanišnim tipom podrijetla klonova. Dobiveni rezultati upućuju na to da je u homogenim uvjetima sjemenske plantaže morfološka struktura žira primarno određena unutarpopulacijskom varijabilnošću klonova i reproduktivnom dinamikom, dok signal izvornog podrijetla nije detektiran. Rezultati doprinose razumijevanju fenotipske varijabilnosti sjemena u klonskim plantažama te imaju implikacije za procjenu genetske strukture i kvalitete proizvedenog reprodukcijskog materijala.

#### Ključne riječi:

varijabilnost veličine sjemena, majčinski efekti, mikrookolišne varijacije, reproduktivna dinamika, interakcije podloge s plemkom

#### DOI:

<https://doi.org/10.31298/sl.150.5-6.5>

#### Kako citirati / How to Cite:

Pilaš, I. i dr., 2026: Međuklonska diferencijacija morfologije žirova hrasta kitnjaka (*Quercus petraea* (Matt.) Liebl.) u klonskoj sjemenskoj plantaži Novoselci. Šumarski list 150 (5–6): 243–252. <https://doi.org/10.31298/sl.150.5-6.5>



This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International License.

## UVOD

### INTRODUCTION

Hrast kitnjak (*Quercus petraea* (Matt.) Liebl., Fagaceae) jedna je od ekološki i gospodarski najvažnijih vrsta u europskim šumama. Rasprostranjen je u širokom klimatskom rasponu, od atlantskih do kontinentalnih i submediteranskih područja, pri čemu pokazuje izraženu populacijsku diferencijaciju za kvantitativna fenotipska svojstva (Ducouso i dr. 1993, Mátyás 2021). U prirodnim populacijama morfološka i fenološka svojstva često su povezana s bioklimatskim parametrima, pri čemu selekcijski pritisci i migracije gena oblikuju prostorne obrasce varijabilnosti ove vrste (Savolainen i dr. 2007, Caignard i dr. 2021).

Reproduktivna svojstva, uključujući morfologiju sjemena, predstavljaju integrirani fenotipski odgovor genotipa i okoliša. Masa i dimenzije žira mogu biti pod utjecajem genetskih čimbenika, ali i majčinskih učinaka te okolišnih uvjeta tijekom razvoja ploda (Galloway 2005, González-Rodríguez i dr. 2011). Veličina žira povezana je s alokacijom resursa odnosno količinom pohranjenih rezervi, uspjehom klijanja, početnim rastom pomlatka i sposobnošću preživljenja u različitim okolišnim uvjetima (Harper i dr. 1970, Moles i Westoby 2004). Morfologija žira pokazuje znatnu fenotipsku varijabilnost među populacijama i genotipovima (Amimi i dr. 2020, Hodžić i dr. 2025). Evolucijska i ekološka važnost veličine sjemena dokumentirana je u brojnim studijama koje pokazuju da se varijacija u tom svojstvu odražava na regeneraciju, disperziju i kompeticiju biljaka (Moles i dr. 2005). U prirodnim populacijama hrasta kitnjaka utvrđene su razlike u dimenzijama žira povezane s klimatskim i stanišnim čimbenicima, što upućuje na okolišno strukturiranu diferencijaciju reproduktivnih svojstava (Hodžić i dr. 2025). Međutim, doprinos genetske diferencijacije i okolišne varijabilnosti u oblikovanju morfologije ploda i dalje ostaje nedovoljno razjašnjen.

U uvjetima klimatskih promjena i sve izraženijih poremećaja u strukturi i vitalitetu europskih šuma, uključujući porast mortaliteta stabala i destabilizaciju sastojina (Allen i dr. 2010, Senf i dr. 2018), raste važnost kvalitete i genetske strukture šumskog reproduktivnog materijala. Klonske sjemenske plantaže (KSP) predstavljaju jedan od najvažnijih alata za proizvodnju genetski kvalitetnog sjemena (White i dr. 2007). One čine specifičan reproduktivni sustav u kojemu su genotipovi različitog podrijetla izloženi homogenim okolišnim uvjetima, što omogućuje razdvajanje genetskih i okolišnih komponenti fenotipske varijabilnosti. U takvom kontekstu, fenotipska raznolikost morfologije plodova primarno je određena genotipskom diferencijacijom, dok signal izvornog podrijetla može biti reduciran ili maskiran. Uz to, neravnoteža reproduktivnog doprinosa među klonovima (Kang i dr. 2003, 2010), varijabilnost očinskog (polenskog) doprinosa (Chybicki i Burczyk 2013, Lagache i dr. 2014) te interakcije plemke i podloge kod cijepljenih jedinki (Koepeke i Dhingra 2013, Habibi i dr. 2022) mogu dodatno strukturirati fenotipsku varijabilnost plodova. Osim toga, morfološka diferencijacija žira unutar KSP može odražavati majčinske učinke i mikrolokacijske uvjete, što dodatno komplicira interpretaciju uzroka uočenih obrazaca.

Unatoč velikoj gospodarskoj važnosti hrasta kitnjaka, podaci o diferencijaciji dimenzija žira u klonskim sjemenskim plantažama te o mogućoj povezanosti tih svojstava s

geografskim i stanišnim porijeklom klonova još su uvijek ograničeni. Razumijevanje strukture varijabilnosti i izvora diferencijacije ključno je za procjenu genetske strukture sjemena i dugoročnu održivost reproduktivnog materijala.

Cilj ovog istraživanja bio je analizirati morfološku varijabilnost žira hrasta kitnjaka u klonskoj sjemenskoj plantaži hrasta kitnjaka te ispitati u kojoj je mjeri ta varijabilnost povezana s geografskim i stanišnim porijeklom klonova. Konkretno, testirali smo:

- (i) međuklonsku diferencijaciju u duljini i širini žira,
- (ii) relativni doprinos klonske i unutarklonske komponente varijance te
- (iii) povezanost morfoloških svojstava žira s geografskim i stanišnim porijeklom klonova.

## MATERIJAL I METODE

### MATERIAL AND METHODS

#### Klonska sjemenska plantaža hrasta kitnjaka Novoselci

##### *Sessile Oak Clonal Seed Orchard in Novoselci*

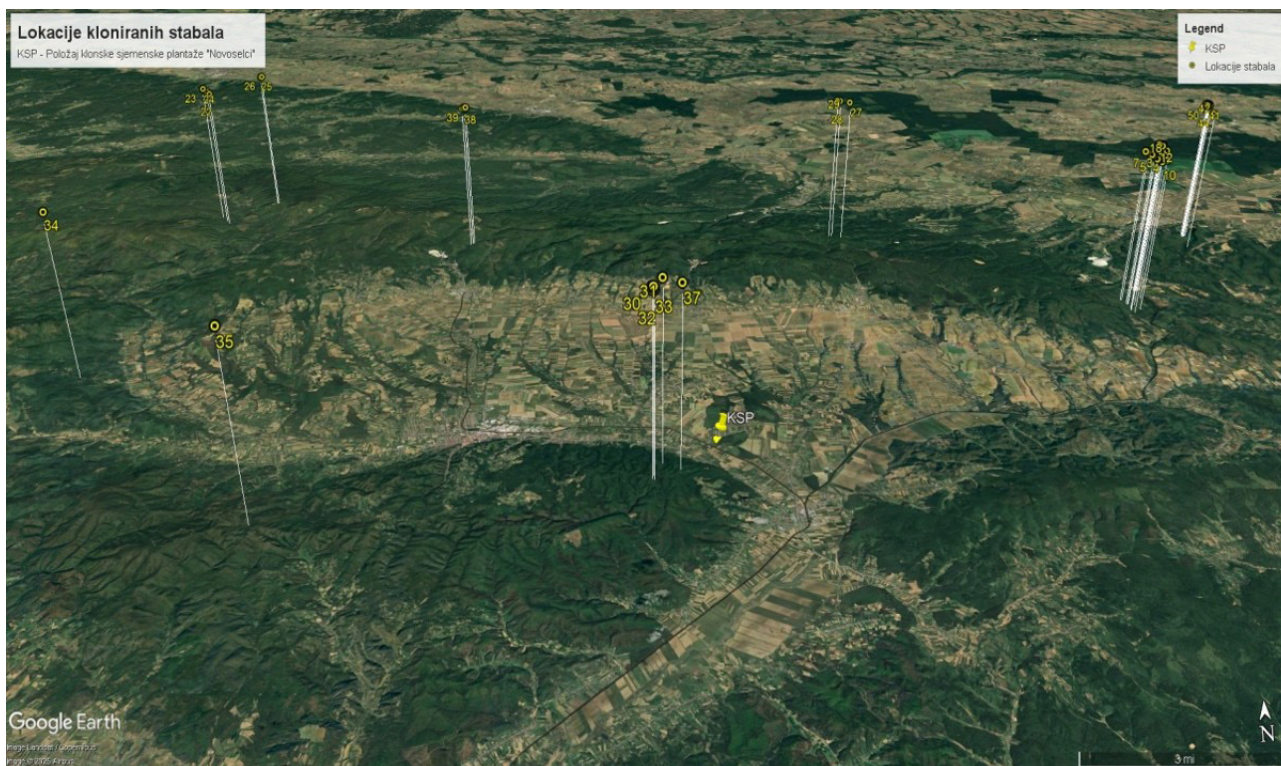
KSP Novoselci (Slika 1) smještena je u južnom dijelu Požeške kotline, oko 6 km sjeverozapadno od Pleternice, na nadmorskoj visini od oko 150 m. Koordinate lokaliteta su 45.333° N i 17.786° E. Kako bi se minimiziralo neželjeno oprašivanje stabala, plantaža je podignuta izvan područja sastojina hrasta kitnjaka, na području prirodne rasprostranjenosti šume hrasta lužnjaka (*Carpino betuli* – *Quercetum roboris*) gdje dominira ravničarski pseudoglej ili lesivirano tlo.



**Slika 1.** Satelitska snimka klonske sjemenske plantaže hrasta kitnjaka Novoselci.  
*Figure 1* Satellite photograph of the Novoselci sessile oak clonal seed orchard.

KSP je osnovana vegetativnim umnažanjem 52 selektiranih plus stabala različitog geografskog i stanišnog porijekla (Slika 2). Svaki klon zastupljen je s više rameta (5 – 30) slučajno raspoređenih unutar plantaže. Prema šumsko-gospodarskoj razdiobi Hrvatskih šuma, selektirana plus stabla (izvorne

ortete) hrasta kitnjaka nalaze se na području sedam šumar-ija (Čaglin, Kamenska, Kutjevo, Pleternica, Požega, Velika i Našice) odnosno dviju Uprava šuma podružnica (Požega i Našice), na širem području Slavenskog gorja (Psunj, Papuk, Krndija, Dilj i Požeška gora).



**Slika 2.** Lokacije uzorkovanih orteta (izvornih plus stabala) hrasta kitnjaka na slavonskom gorju i položaj klonske sjemenske plantaže Novoselci.

*Figure 2* Locations of sampled ortets (original plus trees) of sessile oak in the Slavonian mountains and the position of the Novoselci clonal seed orchard.

## Izmjere morfoloških svojstava

### *Morphological Measurements*

Žirovi su u KSP prikupljeni u jesen 2024. godine od 48 klonova koji su te godine obilno plodonosili (puni urod). S po jedne ramete svakog klona prikupljeno je od 1,5 do 2 kg zrelih vizualno neoštećenih žirova od kojih je slučajnim uzorkom analizirano 100 kom. Radi procjene unutarklonske varijabilnosti, kod četiri klona uzorkovane su po dvije ramete. S druge ramete svakog od ta četiri klona također je analizirano 100 žirova. Ukupno je analizirano 4800 žirova iz glavnog uzorka (48 klonova × 100 žirova) te dodatnih 400 žirova prikupljenih s drugih rameta četiri klona, koji su korišteni za procjenu unutarklonske (rametne) komponente varijabilnosti. Svi žirovi označeni su prema klonu i rameti te su pojedinačno izmjereni.

Na svakom žiru izmjerene su duljina (mm) i širina (mm). Mjerenja su provedena digitalnim pomičnim mjerilom s preciznošću od 0,1 mm. Duljina je definirana kao najveća longitudinalna dimenzija žira, a širina kao najveća transverzalna dimenzija.

## Geografski i stanišni podaci

### *Geographical and Habitat Type Data*

Geografsko porijeklo (koordinate) izvornih orteta te njihova pripadnost stanišnom tipu preuzeti su iz prostornog prikaza šumskih ekosustava Hrvatske (Geodetski fakultet Sveučilišta u Zagrebu i Hrvatski šumarski institut 2007). Koordinate su transformirane u geografski sustav (WGS84), a nadmorska

visina određena je na temelju digitalnog modela reljefa. Klonovi su svrstani u tri stanišne kategorije prema Pravilniku o popisu stanišnih tipova (NN 27/2021). To su: E.3.1.5. – šuma hrasta kitnjaka i običnog graba, E.3.2.4. – šuma hrasta kitnjaka s brdskom vlasuljom i E.4.1.2. – šuma bukve s dugolisnom naglavicom. Prvom stanišnom tipu pripadalo je 11, drugom 31, a trećem šest izvornih orteta (plus stabala).

## Statistička obrada podataka

### *Statistical Analysis*

Sve analize provedene su u programskom okruženju R (R Core Team, verzija 4.5.1). Razina statističke značajnosti postavljena je na  $\alpha = 0,05$ . Korišteni su paketi *stats*, *lme4*, *vegan*, *effects* i *ggplot2*.

Za duljinu i širinu žira izračunate su aritmetička sredina, standardna devijacija i raspon na temelju svih 4800 izmjerenih žirova. Klonske sredine izračunate su iz 100 žirova po klonu.

Razlike među klonovima testirane su jednofaktorskom analizom varijance (ANOVA), pri čemu je klon tretiran kao fiksni faktor. Iz ANOVA tablice izdvojeni su srednji kvadrati između i unutar klonova, na temelju kojih je izračunat intraklasni koeficijent korelacije (ICC) kao procjena udjela ukupne fenotipske varijabilnosti koji se može pripisati razlikama među klonovima.

Za podskup od četiri klona zastupljena s dvije ramete primijenjeni su linearni mješoviti modeli procijenjeni metodom ograničene maksimalne vjerojatnosti (REML) u paketu *lme4*. Klon i rameta unutar klona tretirani su kao slučajni čimbenici. Iz

modela su izdvojene varijancijske komponente radi kvantifikacije relativnog doprinosa kлона, ramete i rezidualne varijance. Analiza glavnih sastavnica (PCA) provedena je na standardiziranim klonskim sredinama duljine i širine žira primjenom funkcije *prcomp*. Varijable su prethodno centrirane i skalirane. Prva glavna sastavnica (PC1) interpretirana je kao os ukupne veličine, dok je druga sastavnica (PC2) korištena kao kvantitativni pokazatelj oblika žira.

Utjecaji geografske širine, geografske dužine i nadmorske visine na klonske sredine za duljinu i širinu žira ispitani su linearnim regresijskim modelima. Najprije su procijenjeni jednostavni modeli za svaki prediktor zasebno, a zatim višestruki modeli koji su uključivali sve tri geografske varijable istodobno. Za svaki model izračunati su regresijski koeficijenti, standardne pogreške, p-vrijednosti, koeficijent determinacije ( $R^2$ ) i prilagođeni  $R^2$ .

Klonovi su svrstani u tri stanišna tipa. Razlike u klonskim sredinama duljine, širine i vrijednostima PC2 među stanišnim tipovima testirane su jednofaktorskom analizom varijance. Veličina efekta procijenjena je eta-kvadratom ( $\eta^2$ ), koji predstavlja udio ukupne varijance objašnjen stanišnim tipom.

## REZULTATI

### RESULTS

#### Deskriptivna statistika

##### Descriptive Statistics

Srednja klonska vrijednost duljine žira kretala se od 19,0 do 30,5 mm, a širine od 10,5 do 16,5 mm (Tablica 1). Klonske sredine pokazivale su kontinuirani raspon vrijednosti bez jasnog grupiranja.

**Tablica 1.** Deskriptivni parametri i analiza varijance dimenzija žira po klonovima.

*Table 1* Descriptive statistics and analysis of variance (ANOVA) of acorn size traits by clone.

Svojstvo <i>Trait</i>	Aritm. sredina ± s.d. (mm) <i>Mean ± st. dev. (mm)</i>	Raspon klonskih sredina (mm) <i>Range of clonal means (mm)</i>	MS_između <i>MS_between</i>	MS_unutar <i>MS_within</i>	ICC
Duljina žira <i>Acorn length</i>	24,16 ± 3,48	19,0–30,5	667,20	5,60	0,542
Širina žira <i>Acorn width</i>	13,23 ± 1,76	10,5–16,5	196,44	1,18	0,623

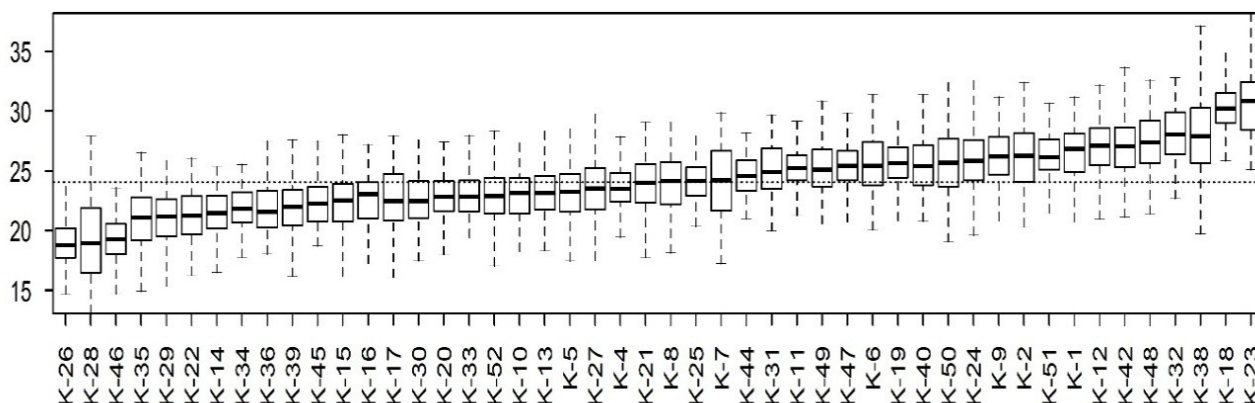
Aritmetička sredina ± standardna devijacija (s.d.) izračunata je na temelju 4800 žirova. Raspon klonskih sredina predstavlja minimalne i maksimalne srednje vrijednosti među 48 klonova. Srednji kvadrat među klonovima (MS\_između) i unutar klonova (MS\_unutar) dobiveni su jednofaktorskom analizom varijance (ANOVA). ICC (intraklasni koeficijent korelacije) predstavlja udio ukupne fenotipske varijabilnosti koji se može pripisati razlikama među klonovima. *The arithmetic mean ± standard deviation (st. dev.) was calculated based on 4,800 acorns. The range of clonal means represents the minimum and maximum mean values among the 48 clones. The mean square between clones (MS\_between) and within clones (MS\_within) were obtained using one-way analysis of variance (ANOVA). The intraclass correlation coefficient (ICC) represents the proportion of total phenotypic variance attributable to differences among clones.*

#### Međuklonska diferencijacija

##### Interclonal Differentiation

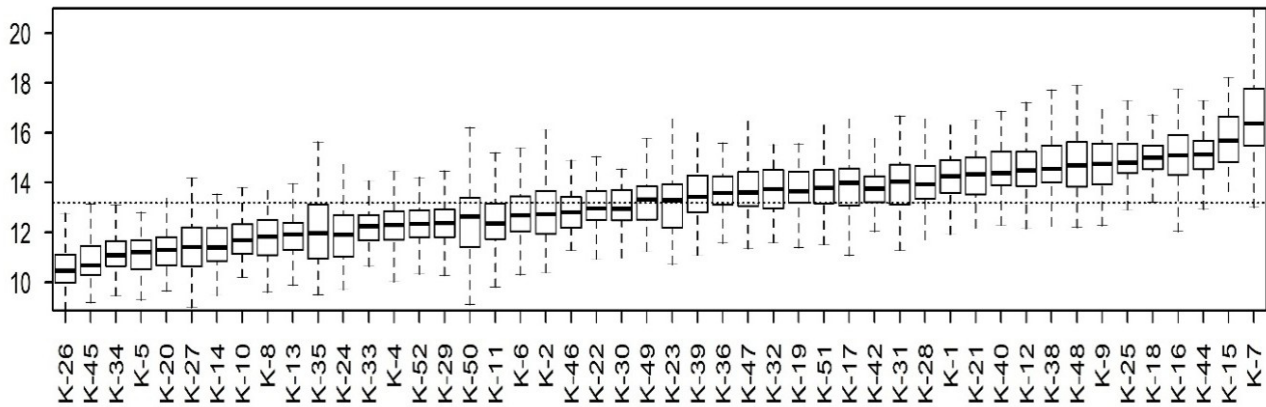
Jednofaktorska analiza varijance potvrdila je statistički značajne razlike među klonovima za duljinu ( $F = 119,1$ ;  $p < 0,001$ ) i širinu žira ( $F = 166,3$ ;  $p < 0,001$ ). Intraklasni koeficijent

korelacije iznosio je 0,54 za duljinu i 0,62 za širinu, što znači da je 54 % odnosno 62 % ukupne fenotipske varijabilnosti povezano s razlikama među klonovima (Tablica 1). *Box-plot* prikazi (Slika 3 i Slika 4) potvrđuju izraženu međuklonsku diferencijaciju uz kontinuirani raspored vrijednosti.



**Slika 3.** Distribucija duljine žira (mm) po klonovima.

*Figure 3* Distribution of acorn length (mm) by clone.



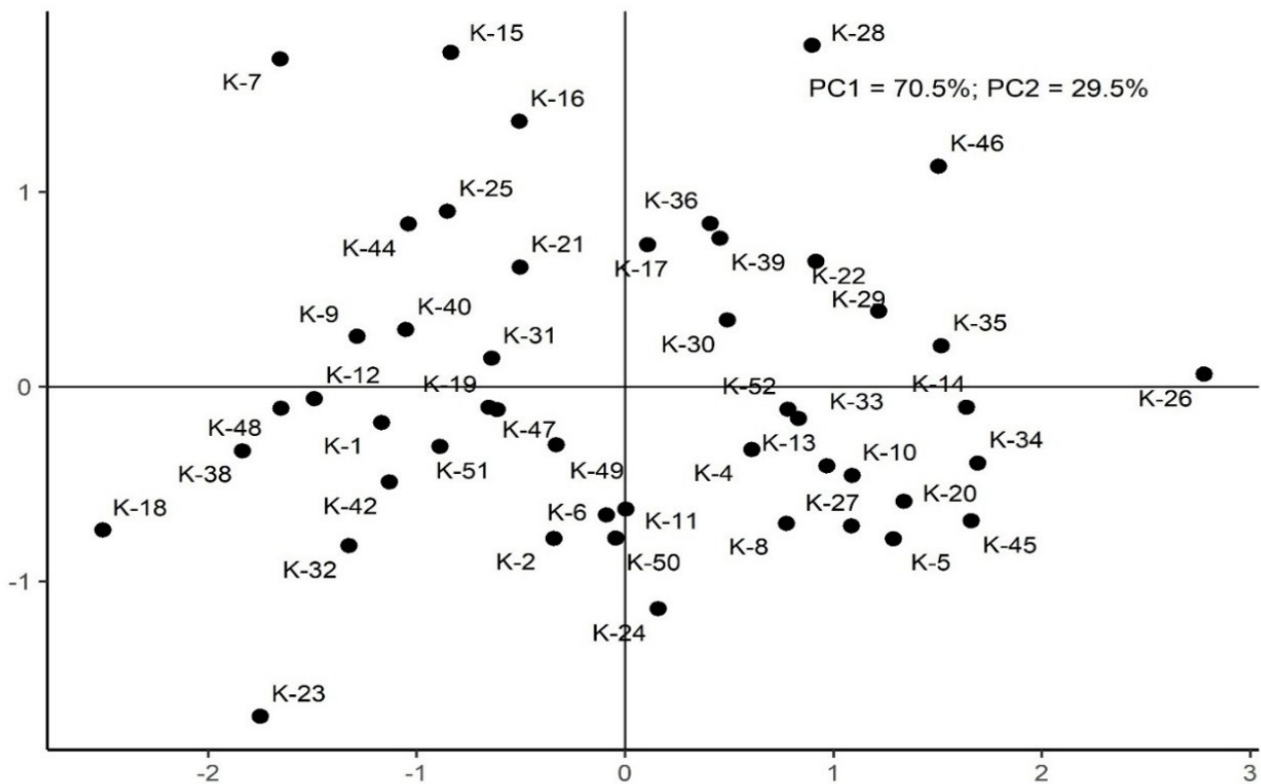
**Slika 4.** Distribucija širine žira (mm) po klonovima.  
*Figure 4* Distribution of acorn width (mm) by clone.

### Multivarijatna struktura

#### Multivariate Structure

Analiza glavnih sastavnica pokazala je da prva sastavnica (PC1) objašnjava 70,5 % ukupne varijance, dok druga sastavnica (PC2) objašnjava 29,5 %. PC1 odražava ukupnu

veličinu žira, budući da duljina i širina imaju istosmjerna opterećenja, dok PC2 diferencira klonove prema obliku (odnos duljine i širine). Raspored klonova u PCA prostoru pokazuje kontinuirani morfološki gradijent bez izdvojenih skupina (Slika 5).



**Slika 5.** PCA analiza morfoloških svojstava žira hrasta kitnjaka na razini klonova.  
*Figure 5* PCA of acorn morphological traits of sessile oak at the clonal level.

### Geografski i visinski modeli

#### Geographical and Altitudinal Models

Jednostavni linearni modeli pokazali su slab negativan trend između nadmorske visine i duljine žira ( $\beta = -0,0046 \text{ mm m}^{-1}$ ;  $p = 0,102$ ;  $R^2 = 0,057$ ), no taj odnos nije bio statistički značajan (Tablica 2). Geografska širina i dužina nisu pokazale značajan utjecaj na duljinu žira ( $p > 0,4$ ). Višestruki

model koji je uključivao sve tri geografske varijable imao je nizak koeficijent determinacije ( $R^2 = 0,078$ ; prilagođeni  $R^2 = 0,015$ ). Za širinu žira nisu utvrđene statistički značajne povezanosti niti s jednom analiziranom geografskom varijablom (Tablica 3). Koeficijenti determinacije bili su vrlo niski ( $R^2 \leq 0,015$ ), a višestruki model pokazao je negativnu vrijednost prilagođenog  $R^2$ .

**Tablica 2.** Rezultati linearnih regresijskih modela koji ispituju utjecaj nadmorske visine, geografske dužine i širine na klonalne sredine duljine žira.  
*Table 2 Results of linear regression models examining the effects of elevation, longitude, and latitude on clonal mean acorn length.*

Model <i>Model</i>	Prediktor <i>Predictor</i>	$\beta$	SE	p	R <sup>2</sup>	Adj. R2
Jednostavni <i>Simple</i>	Nadmorska visina <i>Altitude</i>	-0,005	0,003	0,102	0,057	0,036
Jednostavni <i>Simple</i>	Geografska dužina <i>Longitude</i>	1,449	1,781	0,420	0,014	-0,007
Jednostavni <i>Simple</i>	Geografska širina <i>Latitude</i>	1,982	5,874	0,737	0,002	-0,019
Višestruki <i>Multiple</i>	Geografska dužina <i>Longitude</i>	-1,629	2,573	0,530	0,078	0,015
	Geografska širina <i>Latitude</i>	5,109	6,004	0,399	0,078	0,015
	Nadmorska visina <i>Altitude</i>	-0,007	0,004	0,097	0,078	0,015

$\beta$  – regresijski koeficijent; SE – standardna pogreška; R<sup>2</sup> – koeficijent determinacije; Adj. R<sup>2</sup> – prilagođeni koeficijent determinacije  
 $\beta$  – regression coefficient; SE – standard error; R<sup>2</sup> – coefficient of determination; Adj. R<sup>2</sup> – adjusted coefficient of determination

**Tablica 3.** Rezultati linearnih regresijskih modela koji ispituju utjecaj nadmorske visine, geografske dužine i širine na klonalne sredine širine žira.  
*Table 3 Results of linear regression models examining the effects of elevation, longitude, and latitude on clonal mean acorn width.*

Model <i>Model</i>	Prediktor <i>Predictor</i>	$\beta$	SE	p	R <sup>2</sup>	Adj. R2
Jednostavni <i>Simple</i>	Nadmorska visina <i>Altitude</i>	-0,001	0,002	0,736	0,002	-0,019
Jednostavni <i>Simple</i>	Geografska dužina <i>Longitude</i>	0,660	0,969	0,499	0,010	-0,012
Jednostavni <i>Simple</i>	Geografska širina <i>Latitude</i>	1,181	3,187	0,713	0,003	-0,019
Višestruki <i>Multiple</i>	Geografska dužina <i>Longitude</i>	0,823	1,444	0,571	0,015	-0,053
	Geografska širina <i>Latitude</i>	1,339	3,369	0,693	0,015	-0,053
	Nadmorska visina <i>Altitude</i>	0,000	0,002	0,912	0,015	-0,053

$\beta$  – regresijski koeficijent; SE – standardna pogreška; R<sup>2</sup> – koeficijent determinacije; Adj. R<sup>2</sup> – prilagođeni koeficijent determinacije  
 $\beta$  – regression coefficient; SE – standard error; R<sup>2</sup> – coefficient of determination; Adj. R<sup>2</sup> – adjusted coefficient of determination

## Stanišno porijeklo

### *Origin by Habitat Type*

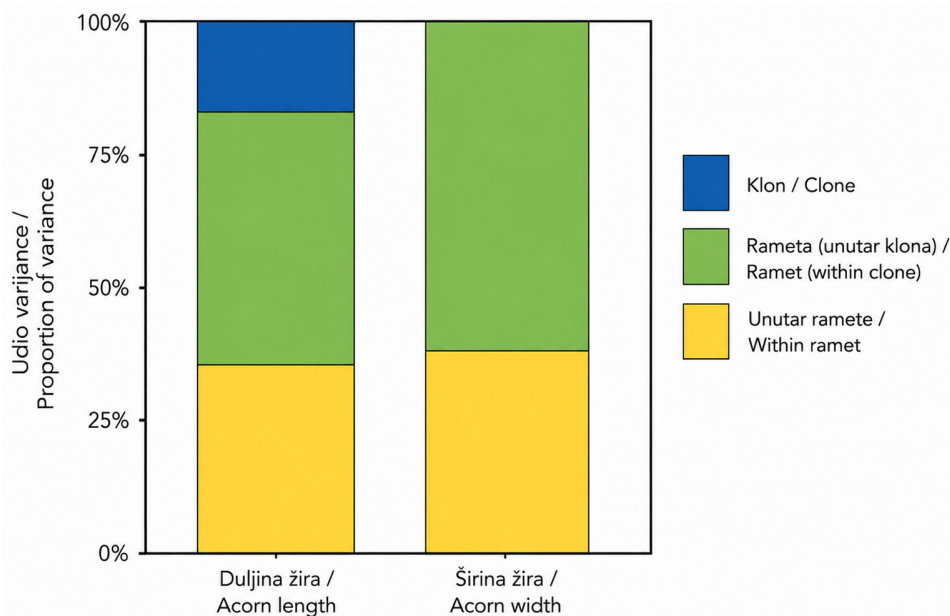
Klonovi potječu iz triju stanišnih tipova (E.3.1.5. – šuma hrasta kitnjaka i običnog graba, E.3.2.4. – šuma hrasta kitnjaka s brdskom vlasuljom i E.4.1.2. – šuma bukve s dugolisnom naglavicom). Jednofaktorska analiza varijance nije pokazala statistički značajne razlike među stanišnim tipovima za duljinu žira ( $F_{2,45} = 0,118$ ;  $p = 0,889$ ;  $\eta^2 = 0,005$ ) niti za širinu žira ( $F_{2,45} = 0,545$ ;  $p = 0,584$ ;  $\eta^2 = 0,024$ ). Udio varijance koji se može pripisati stanišnom tipu bio je zanemariv.

Analiza varijance vrijednosti PC2 (indikator oblika žira) također nije pokazala statistički značajne razlike među stanišnim tipovima ( $F_{2,45} = 0,971$ ;  $p = 0,387$ ;  $\eta^2 = 0,041$ ). Udio varijance objašnjen stanišnim tipom bio je nizak (4,1 %).

## Analiza varijancijskih komponenti u podskupu klonova

### *Variance Component Analysis in a Subset of Clones*

U podskupu od četiri klona zastupljena s dvije ramete procijenjene su varijancijske komponente pomoću mješovitih modela (Slika 6). Za duljinu žira najveći udio ukupne varijance odnosio se na unutarklonsku komponentu ( $\approx 47$  %), dok je međuklonska komponenta činila približno 18 %, a rezidualna varijanca 35 %. Za širinu žira klonska komponenta nije bila detektabilna u ovom podskupu, dok je unutarklonska komponenta činila približno 62 % ukupne varijance. Ovi rezultati ukazuju da unutarklonski i mikrolokacijski čimbenici mogu imati značajan doprinos fenotipskoj varijabilnosti žira, premda je analiza provedena na ograničenom i neuravnoteženom uzorku.



**Slika 6.** Udjeli varijancijskih komponenti izračunati iz podskupa podataka od četiri klona kojima su sakupljeni žirovi s po dvije ramete.

**Figure 6** Proportions of variance components calculated from a data subset of four clones, each represented by acorns collected from two ramets.

## RASPRAVA

### DISCUSSION

#### Međuklonska diferencijacija fenotipske varijabilnosti

##### *Interclonal Differentiation of Phenotypic Variability*

Rezultati pokazuju izrazitu međuklonsku diferencijaciju u dimenzijama žira hrasta kitnjaka u KSP Novoselci. Intraklasni koeficijent korelacije ( $ICC \approx 0,54$  za duljinu i  $\approx 0,62$  za širinu) upućuje na to da se više od polovice ukupne fenotipske varijance može pripisati razlikama među klonovima. U uvjetima zajedničkog, relativno homogenog okoliša takva razina diferencijacije upućuje na postojanje genotipske komponente varijabilnosti.

Kod hrasta kitnjaka svojstva povezana s reprodukcijom i alokacijom resursa pokazala su značajnu genetsku uvjetovanost, odnosno visoku nasljednost (Caignard i dr. 2019). Iako u ovom istraživanju nasljednost nije izravno procjenjivana, dobiveni obrasci upućuju na to da su reproduktivne osobine, uključujući morfologiju sjemena, pod snažnim utjecajem genotipskih razlika.

Dimenzije sjemena imaju jasno funkcionalno značenje. Klasični radovi o ekologiji sjemena pokazuju da veće sjeme sadrži veće količine pohranjenih rezervi, što može povećati uspjeh klijanja i kompetitivnu sposobnost mladih biljaka u ranim fazama razvoja (Harper i dr. 1970, Leishman i dr. 2000, Moles i Westoby 2004). Kod hrastova je pokazano da veličina žira može utjecati na rani rast i preživljenje klijanaca, premda je učinak često kratkoročan i ovisan o okolišnim uvjetima (Pérez-Ramos i dr. 2010). Stoga izražena međuklonska diferencijacija u veličini žira može imati praktične i adaptivne implikacije, osobito u kontekstu proizvodnje reproduktivnog materijala i potencijalne otpornosti potomstva na stresne uvjete.

#### Izostanak signala geografsko-stanišnog podrijetla

##### *Absence of Geographic and Habitat Type Origin Signals*

Za razliku od izražene međuklonske diferencijacije, nije utvrđena statistički značajna povezanost dimenzija niti oblika žira s geografskim položajem, nadmorskom visinom ni stanišnim tipom podrijetla orteta (izvornih plus stabala u prirodnom staništu). Ovaj nalaz je u kontrastu s istraživanjima prirodnih populacija hrasta kitnjaka, koja su pokazala da se morfološke osobine mogu strukturirati duž bioklimatskih gradijenata (Hodžić i dr. 2025). U široko rasprostranjenim populacijama hrastova adaptivna diferencijacija potvrđena je i u analizama pokusa provenijencija, gdje su geografski strukturirane razlike u reproduktivnim i fenološkim svojstvima zadržane i u homogenim okolišnim uvjetima (Caignard i dr. 2021, Sáenz-Romero i dr. 2017). Međutim, kod šumskih vrsta s izraženim migracijama gena, lokalna adaptacija može biti ograničena ili slabije izražena za određena kvantitativna svojstva (Savolainen i dr. 2007). Kod hrastova su dokumentirane snažne migracije gena na velikim udaljenostima putem peludi (Dow i Ashley 1998, Streiff i dr. 1999), što dodatno može homogenizirati genetsku strukturu populacija i ublažiti geografske gradijente u fenotipu.

Izostanak stanišnog otiska u plantažnim uvjetima može se objasniti homogenizirajućim učinkom zajedničkog okoliša. U uvjetima relativno homogenog okoliša fenotipska ekspresija lokalnih adaptivnih razlika može biti prikrivena, osobito ako su okolišni uvjeti različiti od onih koji su oblikovali selekcijske pritiske u izvornim staništima (Savolainen i dr. 2007). U takvom kontekstu genotipske razlike među klonovima ostaju detektabilne, dok se signal podrijetla gubi. Dodatno, treba uzeti u obzir da su stanišni tipovi u ovom istraživanju vrlo nebalansirano zastupljeni, što je također moglo doprinijeti prikrivanju potencijalnih morfoloških razlika među staništima.

## Mogući efekti reproduktivne dinamike i interakcije podloge s plemkom

### *Potential Effects of Reproductive Dynamics and Rootstock-Scion Interactions*

KSP karakterizira specifična reproduktivna dinamika. Brojna istraživanja pokazala su da među klonovima može postojati izražena neravnoteža u reproduktivnom doprinosu (Kang i dr. 2003, Kang i dr. 2010, Chybicki i Burczyk 2013, Lagache i dr. 2014), vrlo često uslijed fenološke asinkronije (Franjić i dr. 2011, Alexander i Woeste 2016). Takva reproduktivna struktura može utjecati i na fenotipsku varijabilnost plodova.

Nadalje, budući da su ramete nastale cijepljenjem, unutarklonska varijabilnost može biti rezultat interakcija plemke i podloge. Kod drvenastih vrsta dokumentirano je da podloga može utjecati na rast, fenologiju i reproduktivna svojstva plemke putem promjena u hidrauličkoj provodljivosti, hormonskoj signalizaciji i alokaciji asimilata (Koepke i Dhingra 2013, Habibi i dr. 2022, Pâques 2025). Bačurin i dr. (2026) pokazali su da različite podloge mogu značajno utjecati na unutarklonsku varijabilnost fenologije kod hrasta lužnjaka. U tom kontekstu ramete istog genotipa ne moraju predstavljati fenotipski identične jedinice. Interakcija podloga × plemka × okoliš može generirati dodatnu varijabilnost, što je u skladu s opaženim varijancijskim komponentama na razini ramete unutar klona.

## Mogući majčinski i okolišni efekti

### *Potential Maternal and Environmental Effects*

Veličina i morfologija sjemena ne ovise isključivo o genotipu, već su pod snažnim utjecajem majčinskih i okolišnih čimbenika tijekom razvoja ploda. Majčinski efekti na masu i kvalitetu sjemena dokumentirani su kod brojnih biljnih vrsta (Galloway 2009, González-Rodríguez i dr. 2011). Rezultati analize podskupa klonova s dvije ramete upućuju na potencijalno snažan doprinos unutarklonske komponente varijance. Veličina sjemena kod drvenastih vrsta povezana je s alokacijom hraniva i može varirati ovisno o fiziološkom stanju majčinskog stabla i okolišnim uvjetima tijekom razvoja (Leishman i dr. 2000). Dodatno, okolišni uvjeti tijekom razvoja sjemena, uključujući temperaturu i vodni stres, mogu modulariti alokaciju hraniva i konačnu veličinu sjemena (Pers-Kamczyc i dr. 2022). U kontekstu KSP, razlike u osvjetljenosti krošnje, dostupnosti vode i hraniva te fiziološkom statusu ramete mogu generirati majčinske efekte koji se manifestiraju kroz varijabilnost dimenzija žira. To znači da fenotipska varijabilnost odražava kombinaciju genetskih i okolišnih čimbenika, odnosno njihove interakcije.

## Implikacije za genetsku kvalitetu sjemena

### *Implications for the Genetic Quality of Seeds*

U kontekstu klimatskih promjena i očuvanja adaptivnog potencijala šumskih populacija (Savolainen i dr. 2007), razumijevanje izvora fenotipske varijabilnosti reproduktivnih svojstava u klonskim sjemenskim plantažama ključno je za racionalno genetsko gospodarenje.

Izražena međuklonska diferencijacija, u kombinaciji s neravnotežom reproduktivnog doprinosa i mogućim učincima podloge na plemku, imaju važne implikacije za operativnu praksu. Ako su razlike u veličini žira barem djelomično genotipski uvjetovane, selekcija ili sortiranje žira prema veličini

može nenamjerno favorizirati određene klonove. U sustavima gdje reproduktivna neravnoteža već može smanjivati efektivnu veličinu populacije (Kang i dr. 2010), fenotipska selekcija može dodatno reducirati genetsku raznolikost sjemenskog materijala.

## Metodološke implikacije

### *Methodological Implications*

Iako je analiza provedena na velikom broju žirova, uzorci potječu iz jedne godine uroda i jedne ramete po klonu. To znači da bi rezultati mogli biti specifični samo za tu godinu tj. za njene specifične vremensko-mikrookolišne uvjete. S obzirom na to da bi reproduktivna dinamika kroz godine mogla značajno varirati (uslijed varijacija fenologije, varijacija peludne smjese i dr.), daljnja bi istraživanja trebala uključiti višegodišnje podatke te usporedbe s prirodnim populacijama. Rezultati podskupa s dvije ramete sugeriraju da bi buduća istraživanja trebala uključivati i veći broj rameta po klonu kako bi se preciznije razdvojile genetske i mikrolokacijske komponente varijacije.

## ZAKLJUČI

### CONCLUSIONS

Ovo istraživanje pokazuje da se klonovi hrasta kitnjaka u KSP Novoselci međusobno značajno razlikuju s obzirom na morfologiju žira, ali da ta diferencijacija nije strukturirana prema geografskom ni stanišnom podrijetlu njihovih orteta (izvornih plus stabala u prirodnom staništu). Rezultati sugeriraju da u plantažnim uvjetima genotipske razlike i reproduktivna dinamika nadjačavaju otisak lokalne adaptacije kakav se obično detektira kod prirodnih populacija hrasta kitnjaka. Fenotipska distribucija morfologije žira vjerojatno je dodatno modularana interakcijama plemke i podloge, majčinskim efektima i mikrookolišnim razlikama.

S aspekta primjenjivosti rezultata, izražena međuklonska diferencijacija implicira da operativne odluke o selekciji ili sortiranju žira prema veličini i obliku mogu utjecati na genetsku strukturu šumskog reprodukcijskog materijala tj. umanjiti njegovu genetsku raznolikost.

## LITERATURA

### REFERENCES

- Alexander, L.W., K.E. Woeste, 2016: Phenology, dichogamy, and floral synchronization in a northern red oak (*Quercus rubra*) seed orchard. *Canadian Journal of Forest Research* 46 (5): 629–636. <https://doi.org/10.1139/cjfr-2015-0312>
- Allen, C.D., A.K. Macalady, H. Chenchouni, D. Bachelet, N. McDowell, M. Vennetier, T. Kitzberger, A. Rigling, D.D. Breshears, E.T. Hogg, P. Gonzalez, 2010: A global overview of drought and heat-induced tree mortality reveals emerging climate change risks for forests. *Forest Ecology and Management* 259 (4): 660–684. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2009.09.001>
- Amimi, N., S. Dussert, V. Vaissayre, H. Ghoul, S. Doubeau, C. Costantini, Y. Ammari, T. Joët, 2020: Variation in seed traits among Mediterranean oaks in Tunisia and their ecological significance. *Annals of Botany* 125 (6): 891–904. <https://doi.org/10.1093/aob/mcz211>
- Bačurin, M., I. Katičić Bogdan, K. Sever, S. Bogdan, 2026: Rootstock influence on intra-clonal variability in spring leaf phenology of pedunculate oak (*Quercus robur* L.). *Šumarski list* 150 (1–2): 7–18. <https://doi.org/10.31298/sl.150.1-2.1>
- Caignard, T., S. Delzon, C. Bodénès, B. Dencausse, A. Kremer, 2019: Heritability and genetic architecture of reproduction-related traits in a temperate oak species. *Tree Genetics and Genomes* 15 (1): 1. <https://doi.org/10.1007/s11295-018-1309-2>

- Caignard, T., A. Kremer, X.P. Bouteiller, J. Parmentier, J.M. Louvet, S. Venner, S. Delzon, 2021: Counter-gradient variation of reproductive effort in a widely distributed temperate oak. *Functional Ecology* 35 (8): 1745–1755. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.13830>
- Chybicki, I.J., J. Burczyk, 2013: Seeing the forest through the trees: comprehensive inference on individual mating patterns in a mixed stand of *Quercus robur* and *Q. petraea*. *Annals of Botany* 112 (3): 561–574. <https://doi.org/10.1093/aob/mct131>
- Dow, B.D., M.V. Ashley, 1998: High levels of gene flow in bur oak revealed by paternity analysis using microsatellites. *Journal of Heredity* 89 (1): 62–70. <https://doi.org/10.1093/jhered/89.1.62>
- Ducouso, A., H. Michaud, R. Lumaret, 1993: Reproduction and gene flow in the genus *Quercus* L. *Annals of Forest Science* 50 (Suppl.): 91s–106s. <https://doi.org/10.1051/forest:19930708>
- Franjić, J., K. Sever, S. Bogdan, Ž. Škvorc, D. Krstonošić, I. Alešković, 2011: Fenološka neujednačenost kao ograničavajući čimbenik uspješnoga oprašivanja u klonskim sjemenskim plantažama hrasta lužnjaka (*Quercus robur* L.). *Croatian Journal of Forest Engineering* 32 (1): 141–154
- Galloway, L.F., 2005: Maternal effects provide phenotypic adaptation to local environmental conditions. *New Phytologist* 166 (1): 93–100. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2004.01314.x>
- Geodetski fakultet Sveučilišta u Zagrebu & Hrvatski šumarski institut. (2007). Dinamički geoinformacijski prikaz šumskih ekosustava Republike Hrvatske (STIRP) [Tehnološki projekt]. Ministarstvo znanosti i tehnologije Republike Hrvatske.
- González-Rodríguez, V., R. Villar, R.M. Navarro-Cerrillo, 2011: Maternal influences on seed mass effect and initial seedling growth in four *Quercus* species. *Acta Oecologica* 37 (1): 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.actao.2010.10.006>
- Habibi, F., T. Liu, K. Folta, A. Sarkhosh, 2022: Physiological, biochemical, and molecular aspects of grafting in fruit trees. *Horticulture Research* 9: uhac032. <https://doi.org/10.1093/hr/uhac032>
- Harper, J.L., P.H. Lovell, K.G. Moore, 1970: The shapes and sizes of seeds. *Annual Review of Ecology and Systematics* 1: 327–356. <https://doi.org/10.1146/annurev.es.01.110170.001551>
- Hodžić, M.M., A. Čabaravdić, D. Ballian, 2025: Phenotypic variation in leaf and acorn traits in natural populations of *Quercus petraea*. *Dendrobiology* 94: 100–114. <https://doi.org/10.12657/denbio.094.007>
- Kang, K.S., A.D. Bila, A.M. Harju, D. Lindgren, 2003: Estimation of fertility variation in forest tree populations. *Forestry* 76 (3): 329–344. <https://doi.org/10.1093/forestry/76.3.329>
- Kang, K.S., C.S. Kim, Y.A. El-Kassaby, 2010: Clonal variation in acorn production and its effect on the effective population size in a *Quercus acutissima* seed orchard. *Silvae Genetica* 59 (1–6): 170–175. <https://doi.org/10.1515/sg-2010-0020>
- Koepke, T., A. Dhingra, 2013: Rootstock scion somatogenetic interactions in perennial composite plants. *Plant Cell Reports* 32 (9): 1321–1337. <https://doi.org/10.1007/s00299-013-1471-9>
- Lagache, L., E.K. Klein, A. Ducouso, R.J. Petit, 2014: Distinct male reproductive strategies in two closely related oak species. *Molecular Ecology* 23 (17): 4331–4343. <https://doi.org/10.1111/mec.12766>
- Leishman, M.R., I.J. Wright, A.T. Moles, M. Westoby, 2000: The evolutionary ecology of seed size. U (Fenner, M., ur.): *Seeds: The ecology of regeneration in plant communities*. CABI Publishing, 31–57, Wallingford. <https://doi.org/10.1079/9780851994321.0031>
- Mátyás, C., 2021: Adaptive pattern of phenotypic plasticity and inherent growth reveal the potential for assisted transfer in sessile oak (*Quercus petraea* L.). *Forest Ecology and Management* 482: 118832. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2020.118832>
- Moles, A.T., M. Westoby, 2004: Seedling survival and seed size: a synthesis of the literature. *Journal of Ecology* 92 (3): 372–383. <https://doi.org/10.1111/j.0022-0477.2004.00884.x>
- Moles, A.T., D.D. Ackerly, C.O. Webb, J.C. Tweddle, J.B. Dickie, M. Westoby, 2005: A brief history of seed size. *Science* 307 (5709): 576–580. <https://doi.org/10.1126/science.1104863>
- Pâques, L.E., 2025: Rootstock effects on growth, reproduction and wood properties in hybrid larch (*Larix × eurolepis* Henry) and in some other *Larix* sp. grafting associations. *Annals of Forest Science* 82 (1): 9. <https://doi.org/10.1186/s13595-025-01281-y>
- Pérez-Ramos, I.M., L. Gómez-Aparicio, R. Villar, L.V. García, T. Marañón, 2010: Seedling growth and morphology of three oak species along field resource gradients and seed mass variation: a seedling age-dependent response. *Journal of Vegetation Science* 21 (3): 419–437. <https://doi.org/10.1111/j.1654-1103.2009.01165.x>
- Pers-Kamczyc, E., E. Mąderek, J. Kamczyc, 2022: Seed quantity or quality? – Reproductive responses of females of two dioecious woody species to long-term fertilisation. *International Journal of Molecular Sciences* 23 (6): 3187. <https://doi.org/10.3390/ijms23063187>
- Sáenz-Romero, C., J.B. Lamy, A. Ducouso, B. Musch, F. Ehrenmann, S. Delzon, S. Cavers, W. Chalupka, S. Dağdaş, J.K. Hansen, S.J. Lee, 2017: Adaptive and plastic responses of *Quercus petraea* populations to climate across Europe. *Global Change Biology* 23 (7): 2831–2847. <https://doi.org/10.1111/gcb.13576>
- Savolainen, O., T. Pyhäjärvi, T. Knürr, 2007: Gene flow and local adaptation in trees. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 38 (1): 595–619. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.38.091206.095646>
- Senf, C., D. Pflugmacher, Y. Zhiqiang, J. Sebald, J. Knorn, M. Neumann, P. Hostert, R. Seidl, 2018: Canopy mortality has doubled in Europe's temperate forests over the last three decades. *Nature Communications* 9 (1): 4978. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-07539-6>
- Streiff, R., A. Ducouso, C. Lexer, H. Steinkellner, J. Glössl, A. Kremer, 1999: Pollen dispersal inferred from paternity analysis in a mixed oak stand of *Quercus robur* L. and *Q. petraea* (Matt.) Liebl. *Molecular Ecology* 8 (5): 831–841. <https://doi.org/10.1046/j.1365-294x.1999.00637.x>

## SUMMARY

Acorn morphology represents an important component of reproductive biology in oaks and may reflect underlying genetic structure, reproductive dynamics, and environmental influences. In widely distributed species such as sessile oak (*Quercus petraea* (Matt.) Liebl.), extensive pollen-mediated gene flow may reduce geographic structuring of reproductive traits, while clonal seed orchards provide a suitable framework for assessing interclonal differentiation under relatively uniform environmental conditions. The objective of this study was to quantify interclonal variation in acorn morphology within a clonal seed orchard and to evaluate the relationship between acorn dimensions and the geographic origin of clones.

The study was conducted in the Novoselci clonal seed orchard in Croatia (45.333° N; 17.786° E; Figures 1 and 2). A total of 4800 acorns were collected from 48 clones (one ramet per clone). Acorn length and width were measured, and statistical analyses were performed, including descriptive statistics, one-way ANOVA, estimation of intraclass correlation coefficients (ICC), linear regression models, and principal component analysis (PCA).

Significant interclonal differences were detected for both acorn length and width ( $p < 0.001$ ), with ICC values of 0.54 and 0.62, respectively, indicating substantial phenotypic differentiation among clones within the orchard (Table 1). Box-plot visualisations further highlighted pronounced interclonal variability (Figures 3 and 4). Principal component analysis revealed a continuous morphological gradient primarily driven by acorn size, with PC1 representing overall size and PC2 reflecting shape variation (Figure 5). No significant relationships were found between acorn dimensions and geographic coordinates, elevation, or habitat type (Tables 2 and 3). In a subset of clones represented by two ramets, variance component analysis showed that within-clone (ramet-level) variation exceeded clonal variation for both traits (Figure 6), indicating a strong influence of microenvironmental and maternal effects.

Overall, the results suggest that, under the homogeneous environmental conditions of a clonal seed orchard, acorn morphological structure is predominantly shaped by individual (within-population) variability and reproductive dynamics rather than by the geographic or habitat origin of clones. The absence of detectable geographic structuring may reflect high intra-population genetic diversity and extensive historical gene flow typical of oak species. Microenvironmental variation, maternal effects, and potential rootstock–scion interactions may additionally contribute to the observed phenotypic differentiation.

These findings improve our understanding of seed trait variability in clonal seed orchards and have implications for interpreting the phenotypic structure and genetic composition of produced forest reproductive material.

**Keywords:** seed size variation, maternal effects, reproductive dynamics, micro-site variation, rootstock–scion interaction