

GENETIČKE STRUKTURE OBIČNE JELE (*Abies alba* Mill.) IZ ZAPADNE I ISTOČNE BOSNE

GENETIC STRUCTURE OF SILVER FIR (*Abies Alba* Mill.) FROM WESTERN AND EASTERN BOSNIA

Dalibor BALLIAN¹

SAŽETAK: Analiziran je biljni materijal iz pet populacija iz istočne i pet populacija iz zapadne Bosne.

Za analizu genetičke strukture uporabljeno je 9 enzimskih sustava, sa 17 genskih lokusa, a obuhvaćeno je ukupno 44 različita alela.

Analiza je pokazala postojanje statističke razlike između istraživanih skupina, odnosno populacija. Ipak neke od populacija iz obje skupine za neke genske lokuse pokazuju sličnost, što je vjerojatno posljedica hibridizacije koja se događa u zapadnoj Bosni između dva glacialna pribježišta.

Prosječan broj alela po lokusu bio je od 1,65 kod populacije Očevija do 2,17 kod populacije Oštrelj, dok se prosječan broj genotipova po lokusu kreće od 2,00 kod populacije Očevije do 2,88 kod populacije Glamoč. Vrijednosti raznolikosti (V_{gem} i V_p) bila je najmanja kod populacije Očevija i iznosila je 28,42 (1,1682), a kod populacije Glamoč bila je najveća i iznosila je 90,70 (1,24) dok je najveća diferencijacija bila u populaciji Glamoč s 0,1984.

Dobiveni rezultati predstavljat će dobru osnovu za kontrolu reprodukcij-skog materijala obične jele, kao i provođenje aktivnosti na njezinoj zaštiti metodama *ex situ* i *in situ*.

Ključne riječi: obična jela, *Abies alba* Mill., izoenzimi, varijabilnost

UVOD – Introduction

O ekološkoj i ekonomskoj važnosti obične jele (*Abies alba* Mill.) pisano je već dosta (Ballian 2003, Ballian i Bogunić 2008; Bilela i Ballian 2008). Ipak treba napomenuti da je to ekonomski, a i ekološki najvažnija vrsta među četinjačama u Bosni i Hercegovini, a koja je rasprostranjena na 562 237 ha (Usćuplić, 1992). U Bosni i Hercegovini jela se može naći u raznim tipovima šuma, većinom mješovitim s bukvom, a čini oko 50 % svih visokih šuma.

Uz zapadni Balkan, najvažnije područje rasprostriranja obične jele jest središnja i istočna (karpatska) Europa. balkansko, odnosno bosanskohercegovačko područje rasprostriranja obične jele posebno je zanimljivo. Razlog tomu je utvrđena genetička varijabilnost prilikom brojnih pokusa provenijencija, a i prilikom upo-

rabe brojnih genetičkih biljega na manjem broju uzoraka (Konnert i Bergmann 1995; Liepelt i sur. 2002, Gömöry i sur. 2004; Zigenhagen i sur. 2005).

Drvo obične jele uvijek je traženo, a posebice zadnjih godina zbog dobre kvalitete i široke uporabne vrijednosti. Tako je bilo i kroz povijest, a to je vodilo djelomičnom nestajanju jele nakon velikih sječâ u središnjim dijelovima Bosne te znatnim izmjenama vegetacije (Beus 1984), zbog čega je došlo do velikog smanjenja površina pod jelom u prošlosti, iako ima primjera gdje je zabilježeno širenje jele (Ballian i Bogunić 2008). U novije vrijeme stalna su prijetnja običnoj jeli imela (Usćuplić 1992; Usćuplić i sur. 2007), razni patogeni i brojni kukci potkornjaci. Isto tako, poseban problem predstavlja zagađivanje atmosfere i pedosfere, evidentirano u Europi (Elling 1993; Elling i sur. 1999; Wentzel 1980). Zbog ugroženosti prirodnih populacija obične jele mnogi istraživači

¹ Prof. dr. Dalibor Ballian, balliand@bih.net.ba
Šumarski fakultet u Sarajevu, Zagrebačka 20, 71000 Sarajevo,
Bosna i Hercegovina

naglašavaju hitnost proučavanja neoštećenih sastojina, njihovo očuvanje kroz osnivanje banki i arhiva gena i genotipova (Erisson i Ekberg 2001). Ove bi se aktivnosti provodile na staništima gdje obična jela pokazuje dobru vitalnost i gdje još nisu primijećena zagađenja (Larsen, 1986; Larsen i Fridrich, 1988; Urlich, 1989; Larsen i Mekić, 1991; Ducci, 1991). Posebne aktivnosti usmjerile bi se prema selekciji otpornih jedinki koje pokazuju odgovarajući stupanj tolerantnosti na zagađenje.

U novije vrijeme u šumske sastojine jele prodire jako agresivna bukva zbog slabih uzgojnih zahvata, te jela biva s vremenom potpuno istisnuta iz šume. Pozornost se nije poklanjala ni umjetnoj obnovi, jer je manipulacija sjemenom prilično otežana i skupa, kao i proizvod-

nja sadnog materijala jele, nego je prednost davana smreci, običnom i crnom boru (Ballian 2000). Zadnjih se godina pokušava promijeniti stanje, te se vrše podsijavanja, a u rasadnicima ima više sadnog materijal jele. Isto tako u posljednje vrijeme pokušava se očuvati genofond obične jele, kroz izdvajanje sjemenskih sastojina i zaštitu šuma. Kako bi se mogle provoditi kvalitetne mjere zaštite, prethodno je potrebno provesti istraživanja genetičke strukture prirodnih populacija jele.

Svrha ovog istraživanja jest određivanje genetičke raznolikosti prirodnih populacija obične jele u istočnoj i zapadnoj Bosni, usporedbom 9 alozimskih sustava. Navedena istraživanja, uz ranija istraživanja (Ballian 2003; Bilela i Ballian 2008) dat će potpuniju sliku o genetičkom sastavu obične jele u Bosni i Hercegovini.

MATERIJAL I METODE – Material and methods

Biljni materijal sakupljen je sa stabala na području planina istočne i zapadne Bosne (tablica 1). Skupljene su

grančice s pupovima u studenom 2005. godine i čuvane na +4 °C nekoliko dana, do ekstrakcije u laboratoriju.

Tablica 1. Istraživane populacije obične jele u istočnoj i zapadnoj Bosni i Hercegovini
Table 1 Investigated silver fir population in east and north Bosnia and Herzegovina

Populacija <i>Population</i>	Nadmorska visina <i>Altitude</i>	Zemljopisna dužina <i>Longitude</i>	Zemljopisna širina <i>Latitude</i>	Broj analiziranih individua <i>Sample size</i>	Određenje populacije <i>Position</i>
Oštrej	1250	44°28'50"	16°23'46"	50	zapadna
Grmeč	950	44°33'57"	16°39'13"	50	zapadna
Bos. Grahovo	1170	44°11'32"	16°35'21"	50	zapadna
Troglav	1600	43°57'04"	16°33'46"	50	zapadna
Glamoč	1270	44°01'52"	16°50'08"	50	zapadna
Zavidovići	720	44°18'25"	18°15'46"	50	istočna
Očevija	970	44°10'14"	18°27'27"	50	istočna
Klis	1060	44°06'43"	18°41'51"	50	istočna
Knezina	1100	43°59'35"	18°45'50"	50	istočna
Romanija	1410	43°54'57"	18°39'10"	50	istočna

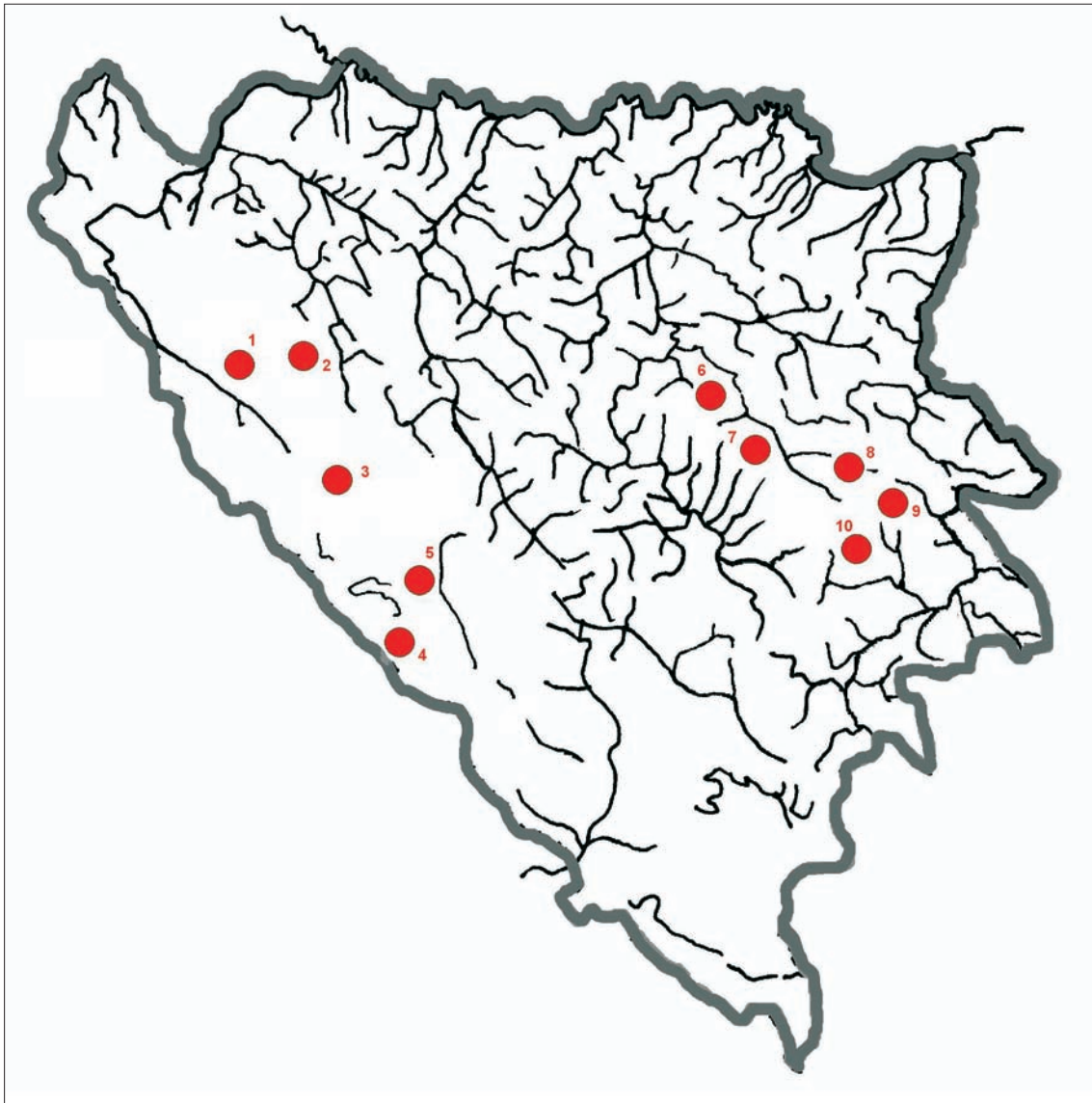
Prilikom sabiranja uzoraka za alozimski istraživanja vodilo se računa da udaljenost između stabala bude najmanje 50 m.

Istraživalo se 9 enzimskih sustava s ukupno 17 genskih lokusa (tablica 2). Postupci maceracije, priprave

gela, elektroforeze i bojenja gela bili su prilagođeni enzimskim sustavima (Konner 1999, 2004; Hüssendorf i sur. 1995).

Tablica 2. Enzimski sustavi, E.C. referentni broj, broj lokusa
Table 2 Enzyme systems, E. C. code, Gene loci

Enzimski sustavi – <i>Enzyme system</i>	E.C. broj – <i>E. C. code</i>	Genski lokusi – <i>Gene loci</i>
Phosphoglucose isomerase	5.3.1.9	<i>Pgi -A, -B</i>
Phosphoglucomutase	2.7.5.1	<i>Pgm -A, -B</i>
Isocitratdehidrogenase	1.1.1.42	<i>Idh -A, -B,</i>
Menadionreduktase	1.6.99.2	<i>Mnr -B,</i>
Shikimatdehidrogenase	1.1.1.25	<i>Sdh -A,</i>
Leucinaminopeptidase	3.4.11.1	<i>Lap -A, -B</i>
Fluorescent esterase	3.1.1.1	<i>Fest -A, -B</i>
Glutamatoxalacetattransaminase	2.6.1.1	<i>Got -A, -B, -C</i>
6-phosphoglucomatedehydrogenase	1.1.1.44	<i>6Pgdh -A, -B</i>
Ukupno – <i>Total</i>	9	17



Slika 1. Istraživane populacije, 1. Oštrelj, 2. Grmeč, 3. Bos. Grahovo, 4. Troglav, 5. Glamoč, 6. Zavidovići, 7. Očevija, 8. Klis, 9. Knežina, 10. Romanija.

Figure 1 Studied silver fir population, 1. Oštrelj, 2. Grmeč, 3. Bos. Grahovo, 4. Troglav, 5. Glamoč, 6. Zavidovići, 7. Očevija, 8. Klis, 9. Knežina, 10. Romanija.

Analiza gelova i očitavanje zimograma obavljeno je prema Konnertovoj (2004). Podaci su potom uneseni u računalni program Excel. Zatim su podaci složeni u računalnom programu D-basis, te obrađeni u statističkom programu SAS (Statistical Analysis System). Statističkim programom obrađeni su sljedeći parametri:

1. genetička raznolikost unutar populacija

Alelna učestalost
Srednja vrijednost alela

Srednja vrijednost genotipova

Genetička raznolikost
Odvajanje unutar populacije

2. genetička raznolikost između populacija

Genetička udaljenost između populacija
Genetičko odvajanje između populacija

REZULTATI ISTRAŽIVANJA I RASPRAVA – Research results and discussion

Genetička raznolikost enzimskih sustava – Genetic variability of enzyme system

Iz relativnih učestalosti alela (tablica 3) vidljivo je da je od 17 analiziranih genskih lokusa njih 9 polimorfno, a da su ostali relativno monomorfni. Tako kod lokusa Got-B, alel B₄ registriran je samo u populaciji Klis, a u svim

ostalim populacijama imamo monomorfizam. Visok stupanj polimorfnosti pokazuje sedam genskih lokusa, i to Pgm-B, Idh-B, Lap-A, Lap-B, Got-C, 6-Pgdh -A, 6-Pgdh-B, dok je sustav Fest potpuno monomorfan.

Za gen lokus Pgi-A u ovom istraživanju nije dobivena visoka polimorfnost, jer u četiri populacije imamo monomorfizam, što je osobitost istočnih populacija, s izuzetkom Klisa, dok zapadne pokazuju polimorfizam (tablica 3). Zapravo alel A₁ ima srednju vrijednost za istraživane populacije 0,02, a najveću učestalost u populaciji Gla-

moć. Slično se ponaša i alel A₂, s tim što je srednja veličina 0,98. Alel A₁ u prijašnjim istraživanjima (K o n n e r t i B e r g m a n n a 1995) nađen je samo u južnim područjima rasprostiranja jele, kao što su južni Karpati i Dinaridi, što je, čini, se osobito samo za ta područja.

Tablica 3. Relativne frekvencije alela

Table 3 Relative allele frequencies

Genski lokusi/aleli <i>Gene loci/allele</i>		Populacija – Population										
		Oštrelj	Grmeč	Bos. Grahovo	Troglav	Glamoč	Zavidovići	Očevija	Klis	Knežina	Romanija	Srednja veličina
Pgi	A1	0,01	0,03	0,02	0,06	0,09	0,00	0,00	0,02	0,00	0,00	0,02
	A2	0,99	0,97	0,98	0,94	0,91	1,00	1,00	0,98	1,00	1,00	0,98
Pgi	B2	1,00	1,00	1,00	1,00	0,98	1,00	1,00	1,00	0,99	1,00	0,99
	B3	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	0,01
Pgm	A2	0,95	1,00	1,00	0,97	0,98	0,98	1,00	0,98	0,96	0,96	0,97
	A3	0,05	0,00	0,00	0,03	0,02	0,02	0,00	0,02	0,01	0,04	0,02
	A4	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,03	0,01
Pgm	B1	0,10	0,07	0,03	0,11	0,09	0,16	0,00	0,04	0,20	0,06	0,09
	B2	0,90	0,93	0,97	0,89	0,91	0,84	1,00	0,96	0,80	0,94	0,91
Idh	A1	0,23	0,18	0,23	0,17	0,25	0,13	0,47	0,27	0,07	0,23	0,22
	A2	0,00	0,00	0,00	0,03	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01
	A3	0,57	0,59	0,47	0,57	0,51	0,65	0,49	0,60	0,70	0,61	0,58
	A4	0,20	0,23	0,30	0,22	0,24	0,21	0,04	0,14	0,22	0,16	0,20
Idh	B2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02	0,00	0,01
	B3	0,70	0,75	0,70	0,76	0,75	0,81	0,64	0,71	0,63	0,75	0,71
	B4	0,29	0,25	0,30	0,24	0,25	0,19	0,36	0,29	0,35	0,25	0,27
	B5	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01
Mnr	B2	0,07	0,00	0,02	0,00	0,01	0,00	0,02	0,07	0,00	0,06	0,02
	B3	0,93	1,00	0,98	1,00	0,99	1,00	0,98	0,93	1,00	0,94	0,98
Sdh	A1	0,97	0,98	1,00	0,99	0,84	0,98	1,00	1,00	1,00	1,00	0,98
	A2	0,03	0,02	0,00	0,01	0,16	0,02	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02
Lap	A2	0,00	0,00	0,06	0,02	0,04	0,08	0,00	0,06	0,02	0,02	0,03
	A3	0,98	0,99	0,89	0,92	0,95	0,91	0,98	0,93	0,97	0,98	0,95
	A5	0,02	0,01	0,05	0,06	0,01	0,01	0,02	0,01	0,01	0,00	0,02
Lap	B1	0,02	0,08	0,03	0,06	0,01	0,00	0,07	0,02	0,00	0,05	0,04
	B2	0,29	0,32	0,31	0,27	0,37	0,19	0,24	0,19	0,23	0,23	0,26
	B3	0,30	0,26	0,37	0,35	0,36	0,56	0,59	0,29	0,26	0,41	0,37
	B4	0,40	0,35	0,29	0,32	0,26	0,25	0,09	0,50	0,51	0,31	0,33
Fest	A2	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Fest	B1	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Got	A1	0,01	0,01	0,00	0,02	0,01	0,00	0,00	0,14	0,01	0,03	0,02
	A2	0,97	0,99	1,00	0,98	0,98	1,00	1,00	0,85	0,96	0,95	0,97
	A3	0,02	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,01	0,03	0,02	0,01
Got	B2	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	0,99	1,00	1,00	0,99
	B4	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,01
Got	C1	0,07	0,07	0,04	0,16	0,05	0,02	0,00	0,18	0,12	0,10	0,08
	C2	0,88	0,84	0,88	0,80	0,88	0,94	0,97	0,81	0,87	0,89	0,87
	C3	0,05	0,09	0,07	0,04	0,07	0,04	0,03	0,00	0,01	0,01	0,04
	C4	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,01
6-Pgdh	A2	0,43	0,48	0,32	0,39	0,40	0,36	0,45	0,33	0,42	0,42	0,40
	A3	0,57	0,52	0,68	0,61	0,60	0,64	0,55	0,67	0,58	0,58	0,60
6-Pgdh	B1	0,01	0,02	0,02	0,00	0,03	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01
	B2	0,95	0,94	0,92	0,97	0,92	0,96	0,86	0,96	0,98	0,96	0,94
	B3	0,04	0,04	0,06	0,03	0,05	0,04	0,14	0,04	0,02	0,04	0,05

Genski lokus Pgi-B pokazuje raznolikost samo u populaciji Glamoč i Knežina, a u drugim je populacijama monomorfan (tablica 3). Budući da ovaj lokus nije bio varijabilan u području južne Njemačke (Konnert 1996), rezultati dobiveni u ovom istraživanju upućuju na to da je taj gen lokus karakterističan samo za neke južne provenijencije. Kako su Konnert i Bergmann (1995) u svom istraživanju našli veće učestalost alela B₁ i B₂ samo u Bugarskoj, može se nakon ovog pretpostaviti da lokusa B₃ dopire do zapadne Bosne.

U ovom je istraživanju za genski lokus Pgm-A registrirana raznolikost u sedam populacije (tablica 3). Za alel A₂ dobivena je srednja veličina 0,97, za alel A₃ veličina 0,02, i za alel A₄ 0,01, budući da je alel svojstven samo za najistočniju populaciju Knežina, te se može upotrijebiti kao specifični alel te populacije. Ovaj genski lokus registriran je u južnoj Njemačkoj (Konnert 1996).

Pgm-B genski lokus u ovom istraživanju pokazuje veliku varijabilnost polimorfizam u svim istraživanim populacijama. Srednja veličina za alel B₁ iznosi 0,09, a za alel B₂ iznosi 0,91 (tablica 3). Zanimljivo je da je u istraživanju Konnert i Bergmann (1995) alel B₁ utvrđen s većom frekvencijom u području Tatra, Karpat, Dinarida i južne Italije (Kalabrije).

Kod genskog lokusa Idh-A srednja veličina za alel A₁ iznosi 0,22, A₂ 0,01, A₃ 0,58 i A₄ 0,20. Alel A₃ koji u zapadnom dijelu ima manje veličine od onih u istoč-

nom (tablica 3), te možemo smatrati da pokazuje klinalnu varijabilnost. Ovdje imamo i pojavu rijetkog alela A₂, koji nalazimo samo u populaciji Troglav, točnije u masivu planine Dinare. Ovaj genski lokus manje je istraživan te nije moguće usporediti dobivene rezultate s drugim istraživanjima (Möller 1986).

Za genski lokus Idh-B srednja veličina alel Idh-B₂ iznosila je 0,01, Idh-B₃ 0,71, Idh-B₄ 0,27, a Idh-B₅ 0,01 (tablica 3). Ako, pak, ove rezultate usporedimo s ranijim istraživanjima koja je proveo Longauer (1994) te Brus i Longauer (1995), može se zaključiti da alel B₄ pokazuje klinalnu varijabilnost, te da se vrijednosti povećavaju od sjeverozapada prema jugoistoku i jugu. Na Karpatima učestalost ovog alela iznosi 0,71 (Möller, 1986), a na jugu u Kalabriji 0,78 (Breitenbach-Dorfer i sur. 1992). Breitenbach-Dorfer i sur. (1997) prikazali su rezultate za Austriju i Bavarsku, a vrijednosti su od 0,44 na zapadu do 0,25 na istoku. Möller (1986) za alel B₁ navodi da se vrijednosti od sjevera prema jugu smanjuju, a za alel B₂ povećavaju, što pokazuje izrazitu klinalnu varijabilnost. Za alel Idh-B₄ dobili smo veličinu 0,39, i on se ponaša suprotno alelu Idh-B₃. U ovom istraživanju imamo pojavu rijetkih alela B₂ (populacija Knežina) i B₅ (populacija Oštrej), koji mogu poslužiti za detekciju tih dviju populacija.



Slika 2. Populacija obične jele iz istočne Bosne (populacija Klis).
Figure 2 Population of the silver fir from the East Bosnia (population Klis)



Slika 3. Populacija obične jele iz zapadne Bosne (populacija Glamoč).
Figure 3 Population of the silver fir from the West Bosnia (population Glamoč)

Genski lokus Mnr-B pokazuje raznolikost u šest istraživanih populacija (tablica 3), što može otežati diferenciranje istočnih i zapadnih populacija uporabom ovog lokusa. Srednja veličina za alel B_2 je 0,02, a alela B_3 0,98 (tablica 3). Očito je da se vrijednosti za alel B_2 povećavaju od sjeverozapada prema jugoistoku, što upućuje na klinalnu varijabilnost. Alel B_1 u južnoj Njemačkoj s veličinom od 0,00 do 0,19 (Konnert 1995 i 1995b), dok su Konnert i Bergmann (1995) alel B_1 registrirali s višom učestalošću u južnim populacijama (Bugarska, južni Karpati, Makedonija), a i u populacijama južne Njemačke, istočne Francuske i zapadne Austrije, dok visoku učestalost alela B_2 registriraju u južnoj Italiji. U Sloveniji Brus i Longauer (1995) utvrđuju visoke učestalosti alela B_1 , a Longauer (1994) u istočnoj Poljskoj i Ukrajini registrira monomorfizam.

Istraživani genski lokus Sdh-A pokazuje monomorfizam u populacijama Bosansko Grahovo, Klis, Očevija, Romanija, Knežina. Srednja veličina za alel A_1 iznosi 0,98, a za A_2 0,02 (tablica 3). Budući da je u istočnoj Bosni prisutniji monomorfizam, ovaj genski lokus može poslužiti jedino za utvrđivanje populacija sa šireg područja.

Genski lokus Lap-A pokazuje veliku varijabilnost (tablica 3). Interesantan je alel Lap- A_2 , sa srednjom učestalošću od 0,03, koja je mala u odnosu na rezultate dobivene u Sloveniji (Brus i Longauer 1995), a i u Češkoj (Longauer 1994), dok je u populacijama južnih Karpata registrirana je učestalost od 0,002, a u Bugarskoj 0,018. U populacijama zapadne Europe alel ima različite učestalosti (Breitenbach-Dorfer i sur. 1992, Breitenbach i Pinsker 1990, Konnert 1993). Za alel Lap- A_3 možemo reći da nije registriran u malim izoliranim populacijama centralnih Dinarida, kao što je Biokovo, Meka brda, Orjen i Crni vrh (Ballian 2003). Iz dobivenih rezultata vidljiva je slaba klinalna varijabilnost alela Lap- A_3 od jugoistoka prema sjeverozapadu. U Slovenije je dobivena učestalost od 0,028 do 0,081 (Brus i Longauer 1995), a u zapadnoj Europi nije registriran. Klinalnu varijabilnost ovog alela, od sjeverozapada prema jugoistoku registrirao je Longauer (1994).

Kod genskog lokusa Lap-B alel B_1 ima srednju učestalost od 0,04, B_2 0,26, B_3 0,37 i B_4 0,33. U populacijama zapadne Bosne imamo veći udio alela B_2 , a u istočnim alela B_3 i B_4 , a izostanak B_1 u dvije populacije, kao u manji udio alela B_2 (tablica 3). Konnert i Schmidt (1996) dobili su učestalost alela B_1 od 0,014 za analiziranu populaciju i učestalost od 0,017 kod sadnice proizvedene iz sjemena iste populacije. U ovom istraživanju učestalost alela B_2 povećava se od jugoistoka prema sjeverozapadu, kao i alela B_3 , dok alel B_4 ima tendenciju smanjenja prema sjeverozapadu.

Za genski lokus Got-A u ovom istraživanju samo populacije Bos. Grahovo, Zavidovići i Očevija ne pokazuju varijabilnost, što je u Sloveniji registrirano od

strane Brusa i Longauera (1995). Srednja učestalost za alel A_1 iznosi 0,02, za alel A_2 0,97 i za alel A_3 0,01 (tablica 3). U istraživanjima Longauera (1994) gen lokus Got-A pokazuje monomorfizam u sjevernim i južnim populacijama, a slabu učestalost alela A_3 samo u južnim Karpatima. U ovom istraživanju javlja se u populaciji Oštrelj, Glamoč, Klis, Romanija i nešto većom učestalošću u populaciji Knežina. U Bavarskoj je registrirana mala varijabilnost ovoga genskog lokusa (Konnert 1996), a u istraživanjima iz 1993. malu varijabilnost u južnim za samo dva alela, A_1 i A_2 , što potvrđuje Breitenbach-Dorfer i sur. (1997).

U ovom istraživanju Bosanskih populacija gen lokusa Got-B ne pokazuje raznolikost kod devet populacija. Srednja učestalost dobivena za alel B_2 , s učestalošću od 0,99, za alel B_4 0,01, koji je registriran samo u istočnoj populaciji Klis (tablica 3). Zato ovaj rijetki alel može poslužiti za određivanje ove populacije. U istraživanjima provedenim u Sloveniji nije registriran alel B_1 (Brus i Longauer 1995), a registriran je u populacijama Poljske i Ukrajine (Longauer 1994).

Kod genskog lokusa Got-C dobivena je učestalost alel C_1 od 0,08, alel C_2 0,87, alel C_3 0,04, i alela C_4 0,01 (tablica 3). Prema Mölleru (1986) učestalost alela C_1 povećava se od zapada prema istoku i jugu, što u ovom istraživanju nismo potvrdili. Razlog je možda u specifičnom rasprostriranju bosanskohercegovačkih populacija obične jele. Konnert i Bergmann (1995) u svom istraživanju navode postojanu klinu varijabilnost za taj genski lokus, a Konnert (1995b) dobiva sličan rezultat za središnju, istočnu i južnu Europu. U ovom istraživanju je registriran rijetki alel C_4 , a može poslužiti za određivanje populacija Bosansko Grahovo i Klis.

Genski lokus 6-Pgdh-A predstavljen je s dva alela. Alel A_2 je u istraživanim populacijama imao srednju učestalost od 0,40 (tablica 3), a alel A_3 0,60. Za južnu Njemačku Konnert (1995b) navodi učestalost za alel A_1 od 0,11 do 0,56. Prema Longaueru (1994) i Konnertovoj (1995b) u Europi je ustanovljena izrazita klinalna varijabilnost ovog genskog lokusa. Alelne učestalosti se od sjeverozapada prema jugoistoku smanjuju, tako da je učestalost u Češkoj 0,58, a u Bugarskoj 0,27, što nije ustanovljeno u ovom istraživanju.

Kod genskog lokusa 6-Pgdh-B registrirana su tri alela. Alel B_1 ima prilično malu srednju učestalost od 0,01, dok alel B_2 ima 0,94, a alel B_3 0,05 (tablica 3). Inače, alel B_1 je registriran u četiri od pet zapadnobosanskih populacija, što ukazuje na njegovo zapadno podrijetlo. Alel B_2 i B_3 registrirani su u svim istraživanim populacijama (tablica 3). Konnert i Bergmann (1995) u svom istraživanju s 48 provenijencija, u populaciji iz Bosne (vjerojatno s područja Olova) i Hrvatske (Papuk) registrirali su alel B_3 . U istraživanjima Longauera (1994) i Brusa i Longauera (1995) registrirana su dva alela za ovaj genski lokus, a poka-

zuju kinalnu raznolikost. Za razliku od njih Breitenbach-Dorfer i sur. (1997) u svom istraživanju nalaze tri alela za gen lokus 6-Pgdh-B, što također imamo u ovom istraživanju. Dobivene razlike između učesta-

losti alela u ovom istraživanju mogu poslužiti kod određenja i razdvajanja zapadnih i istočnih populacija u Bosni i Hercegovini.

Genetička raznolikost unutar populacija – *Genetics diversity within population*

Raznolikost alela – *Allel diversity*

Najveću raznolikost alela imamo u populaciji Glamoč u zapadnoj Bosni, a najmanji broj alela po lokusu nalazimo u populaciji Očevija. Populacija Očevija je kroz povijest bila pod stalnom djelovanjem čovjeka, sustavnim sječama bukve (Ballian i Bogunić 2008) u odnosu spram drugih populacija (tablica 4).

U istraživanjima provedenim u Sloveniji prosječan broj alela bio je od 1,8 do 2,0 (Brusi Longauer 1995). Konner (1995a) za područje južne Njemačke

navodi podatke za broj alela po lokusu od 1,62 do 1,84. Za niz europskih populacija vidljivo je postojanje kinalne varijabilnosti prema prosječnom broju alela po lokusu (A/L), tako da su vrijednosti od 1,66 u sjeverozapadnim područjima rasprostiranja obične jele do 2,30 u jugoistočnim dijelovima rasprostiranja (Konner 1995b). Paule i sur. (2002) u svom istraživanju navode podatak za Karpatu sa prosječnom alelnom veličinom od 2,0 do 2,2.

Tablica 4. Prosječan broj alela i genotipova po lokusu; prikaz raznolikosti i diferenciranosti

Table 4 Average number of alleles and genotypes per locus, diversity, differentiation

Populacija <i>Population</i>	Prosječan broj alela po lokusu <i>Average number of alleles per locus A/L</i>	Prosječan broj genotipova po lokusu <i>Average number of genotypes per locus G/L</i>	Raznolikost <i>Diversity</i>		Diferenciranost <i>Differentiation</i> δ_T
			V_{gem}	V_p	
Oštrej	2,17	2,70	65,88	1,22	0,18
Grmeč	1,94	2,58	52,42	1,19	0,16
Bos. Gragovo	2,00	2,64	57,37	1,20	0,17
Troglav	2,05	2,82	72,81	1,22	0,18
Glamoč	2,23	2,88	90,70	1,24	0,19
Zavidovići	1,82	2,11	28,80	1,17	0,15
Očevija	1,65	2,00	28,42	1,16	0,14
Klis	2,11	2,82	61,55	1,22	0,18
Knežina	2,05	2,58	45,16	1,20	0,16
Romanija	1,94	2,41	46,35	1,19	0,16
sredina	2,00	2,55			

Raznolikost genotipova – *Genotypes diversity*

Uz srednji broj alela po lokusu za prikazivanje raznolikosti unutar populacija, kao i između populacija može poslužiti i srednji broj genotipova po lokusu (G/L). U usporedbi s alelskom raznolikošću, mora se obratiti pozornost na to da su broj i količina mogućih genotipova veći, a time i broj mogućih klasa. To ima smisla ako su

posrijedi rijetki genotipovi (aleli), a što je slučaj s ovim istraživanjem. Tako su, u ovom istraživanju, vrijednosti iznosile od 2,00 kod populacije Očevija do 2,88 u populacije Glamoča (tablica 4). Ti su rezultati u skladu su s rezultatima za srednji broj alela po lokusu.

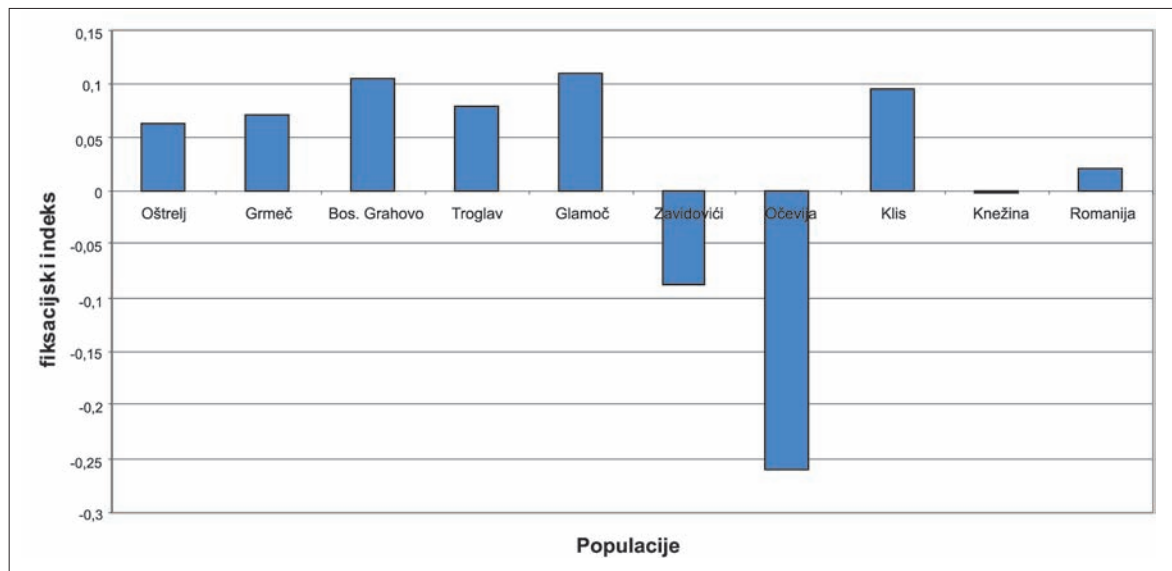
Fiksacijski indeks (Wrightov koeficijent inbridinga) – *Fixation index*

Fiksacijski indeks osigurava određivanje postojanja stupnja inbridinga u populacijama, i to na taj način da negativne i nulte vrijednosti pokazuju njegovu odsutnost, a povezane su i s većim stupnjem heterozigotnosti u populacijama. Pozitivne vrijednosti fiksnosti koeficijenta (F) upućuju na prisutnost inbridinga (Bergmann i sur. 1990), a označavaju mjeru odstupanja promatrane heterozigotnosti od očekivane Hardy-Weinbergove ravnoteže (Morgenstern, 1996). Promatramo li heterozigotnost na temelju fiksnosti indeksa, primijetiti ćemo na slici 3 da je u populaciji Očevija i Za-

vidovići srednja vrijednost negativna, što pokazuje da je stvarna heterozigotnost u tim populacijama veća od očekivane, te da u njima samo neki genski lokusi pokazuju postojanje inbridinga. Schroeder (1989) je pri istraživanju s dva enzimska sustava (Idh i 6-Pgdh) dobila je pozitivne srednje vrijednosti s malim fiksnosti indeksom. U istraživanju s tri enzimska lokusa (Got, Idh i Shd) Giannini i sur. (1994) dobili su pozitivne vrijednosti fiksnosti indeksa, što govori da je istraživana populacija Campolina u sjevernim Apeninima opterećena inbridingom.

Ako analiziramo genski lokus Pgm-B, on u sedam populacija pokazuje negativan fiksacijski indeks, a slijede Got-B i Got-C sa šest populacija, pa se primijeti da

su ti genski lokusi glavni nositelji heterozigotnosti u istraživanim populacijama.



Slika 4. Srednji fiksacijski indeks za populacije

Figure 4 Average fixation index for the population

Raznolikost – Diversity

Ovo je svojstvo složeno s obzirom na to da ga grade alelna i genotipska veličina, odnosno najbolji pokazatelj je multilokusna raznolikost (v_{gen}) i gene pool raznolikost (v_p). Multilokusna raznolikost (v_{gen}) pokazuje da populacija Glamoč ima jako veliku raznolikost u odnosu na populaciju Očevija (tablica 4) zbog izrazitog antropogenog utjecaja kroz povijest (Ballian i Bogunić 2008). Druge populacije zauzimaju intermedijalne položaje. U svom istraživanju Konner (1995b) daje manje vrijednosti multilokusne raznolikosti, pa

tako navodi vrijednosti za v_{gen} od 7,4 u Hrvatskoj i 9,7 u Bosni (materijal iz pokusa provenijencija) do 54 u južnom Schwarzwald, s izuzetkom Bugarske, gdje se zbog vjerojatnog utjecaja hibridizacije s grčkom jelom dobivaju visoke vrijednosti (49,85). Vrijednosti gene pool raznolikosti dobivene su kao harmonijska sredina, a ponašaju se identično kao i multilokusna raznolikost. Vrijednosti iznose od 1,16 u populaciji Očevija do 1,24 u populaciji Glamoč (tablica 4).

Odvajanje unutar populacija – Differentiation within population

Srednje vrijednosti populacijske diferencijacije δ_T i vrijednosti za genske lokuse pokazuju vrijednost raznolikosti u samim populacijama. U ovom istraživanju najveću veličinu unutarpopulacijske diferencijacije (δ_T) pokazuje populacija Glamoč, sa 0,19, a najmanju populacija Očevija sa 0,14 (tablica 4). Taj rezultat pokazuje da su, u jednom funkcionalnom sklopu genetičke raznolikosti, svi odnosi matematički popraćeni (Gregorius

i Roberds 1986). Konner (1993 i 1996b) u svojim istraživanjima za populacije u Bavarskoj navodi vrijednosti srednje populacijske diferenciranosti od 0,17 do 0,32 i od 0,20 do 0,28, što su vrijednosti osjetno veće nego što su dobivene ovom istraživanju. Ovo ukazuje na potpuno drukčiju strukturu bosanskih populacija, s obiljem rijetkih alela i nezavršenom diferencijacijom na manjem području.

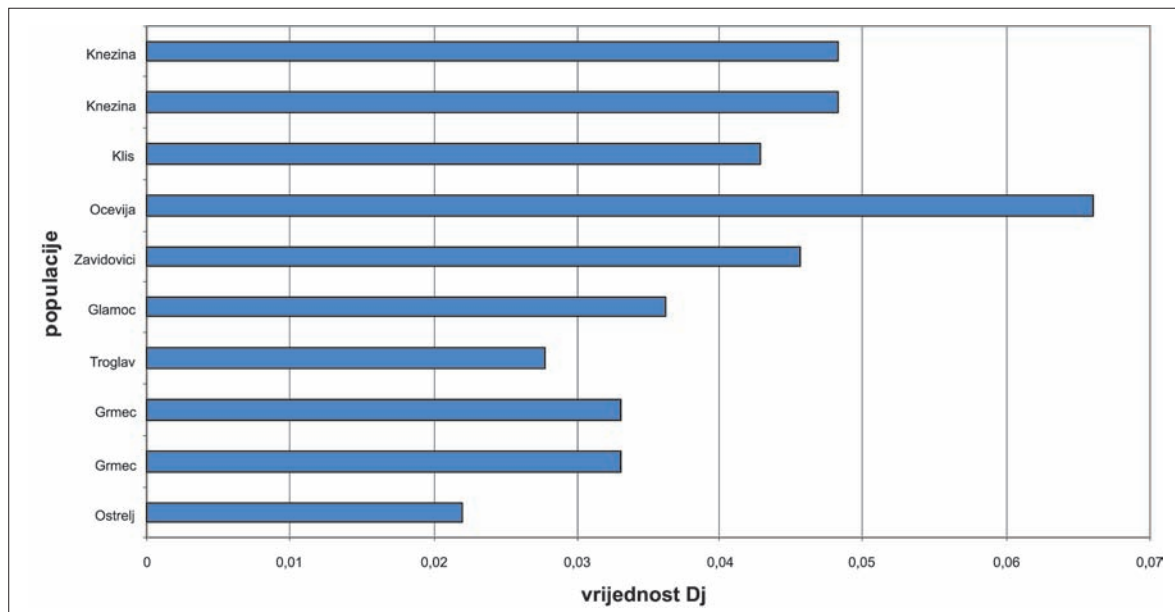
Genetičko odvajanje između populacija – Genetic differentiation between population

Gen pool odvajanje – Gene pool differentiation

Na međupopulacijskoj razini najveća gen pool odvajanje (D_j) je kod lokusa Lap-B, s veličinom 0,12, a slijedi Idh-A sa 0,09. Vrijednosti za genske lokuse koje je dobila Konner (1995b) iznosile su od 0,17 za Idh-B do 0,09 za Got-C, te 0,11 za 6-Pgdh-A, što su prilično niske vrijednosti.

Najveće srednje gene pool odvajanje unutar populacije (D_j) pokazuje populacija Očevija, sa 0,06, a najma-

nju populacija Oštrej sa 0,02, kao što je vidljivo na slici 4. Srednja je vrijednost D_j 0,03 i označava među populacijsko odvajanje. Konner (1993) je u svom istraživanju dobila vrijednosti odvajanja između genskih lokusa od 0,02 do 0,13, a u istraživanju 1995(b) godine vrijednosti su iznosile od 0,03 do 0,07, dakle bile su nešto niže nego u ovom istraživanju. Pri istraživanju genetičke varijabilnosti obične jele u Bavarskoj



Slika 5. Gene pool odvajanje (Dj) u populacijama obične jele
Figure 5 Gene pool differentiation (Dj) in population on the silver fir

Konnert (1996) dobila je srednje vrijednosti genetičkog odvajanja od 3,0 % do 6,4 %, ovisno o populaciji. Rezultat dobiven u ovom istraživanju pokazuje da od

ukupne prosječne genetičke raznolikosti, njih 0,03 možemo pripisati odvajanju između populacija, a ostalih 0,96 alelnoj raznolikosti između jedinki u populacijama.

Genetička udaljenost – Genetic distances

Računanje genetičke udaljenosti obavljeno je prema Gregoriusu (1974), iako se dobiju veće vrijednosti (tablica 5) nego prema Neiju (1978). Tako su dobivena najveća odstupanja između populacije Očevija i Knežine s vrijednošću 0,1878 iako su obje populacije u istočnoj Bosni, a najmanja između populacija Oštreja i Troglava, što je i za očekivati. Vidljivo je da su najveća odstupanja između populacije Očevija, s jedne strane, i ostalih populacija, s druge strane, jer je u populaciji

Očevije stoljećima djeluje čovjek (Ballian i Bogunić 2008). Ipak se, u načelu, može reći da postoji grupiranje na istočne i zapadne populacije na temelju odstojanja koja su između zapadnih populacija manja u odnosu na istočne populacije, što se može vidjeti u tablici 5.

Brus i Longauer (1995) za Sloveniju su dobili prilično niske vrijednosti genetičkog odstupanja. Razlog je vjerojatno zemljopisna bliskost istraživanih populacija.

Tablica 5. Multilokusna odstojanja
Table Multilokus distances

Populacija Population	Oštrej	Grmeč	Bos. Grahovo	Troglav	Glamoč	Zavidovići	Očevija	Klis	Knežina	Romanija
Oštrej	0									
Grmeč	0,0531	0								
Bos. Grahovo	0,0819	0,0744	0							
Troglav	0,0580	0,0629	0,0852	0						
Glamoč	0,0745	0,0758	0,0722	0,0694	0					
Zavidovići	0,0938	0,104	0,0932	0,0864	0,0892	0				
Očevija	0,1665	0,1522	0,1509	0,1809	0,1841	0,1712	0			
Klis	0,0726	0,0884	0,0843	0,0832	0,1029	0,1168	0,1740	0		
Knežina	0,0770	0,0947	0,1121	0,0841	0,1080	0,0872	0,1878	0,1008	0	
Romanija	0,0594	0,0759	0,0899	0,0749	0,0858	0,0799	0,1642	0,0766	0,0728	0

ZAKLJUČCI – Conclusions

Provedenom molekularnogenetičkom analizom pri uporabi 17 izoenzimskih genskih lokusa dobili smo razlike između zapadnih i istočnih populacija obične jele u Bosni i Hercegovini. Varijabilnost je kod nekih genskih

lokusa pokazala klinalni karakter, iako je stanje na terenu takvo da je vrlo teško donijeti pravi zaključak. Neke od analiziranih populacija kod obje grupe, za određene genske lokuse, pokazuju određeni stupanj sličnosti, što treba

pripisati “hibridnoj zoni” kod obične jele, jer se u zapadnoj Bosni sučeljava jela iz dva glacijalna pribježišta.

Prosječan broj alela po lokusu kretao se od 1,65 kod Očevije do 2,17 kod populacije Oštrej, dok se prosječan broj genotipova po lokusu kretao od 2,00 kod Očevije do 2,88 kod populacije Glamoč. Tako su se odnosile i raznolikosti (V_{gem} i V_p), dok je najveće odvajanje bilo u populaciji Glamoč sa 0,1984.

Neke od analiziranih populacija u svojoj genetičkoj strukturi sadržavaju rijetke alele, što je vrlo cijenjeno kod kasnijih utvrđivanja istih populacija, a detaljnim analizama tih populacija s većim uzorkom trebalo bi se doći do pravog stanja. To utvrđivanje rijetkih alela nužno je za određivanje reproduktivnog materijala, a i pri provođenju mjera gospodarenja.

Positivne vrijednosti fiksacijskog indeksa u istraživanih populacija spram populacija iz središnje Europe, pokazuje potrebu za suptilnijim gospodarenjem istim, jer bi u budućnosti mogle izgubiti mnogo od svoga genetičkog potencijala za adaptaciju, iako nisu suviše udaljene od svoga prvobitnog pribježišta na Balkanu, a ipak, pojedine istraživane populacije posjeduju još dovoljno genetičke varijabilnosti, o čemu svjedoči populacija Glamoč.

Zahvala – Acknowledgement

Ovo istraživanje realizirano je uz financijsku potporu Federalnog ministarstva za poljoprivredu, vodu, privredu i šumarstvo, odnosno Federalne uprave za šumarstvo Bosne i Hercegovine, u okviru projekta “Istraživane genetičke strukture, genetičkog diverziteta

Aktivnosti na održavanja autohtonih genskih izvora trebalo bi usmjeriti na organiziranje što gušće mreže banaka gena *in situ* i *ex situ*, koje će biti nužne za održanje genetičke raznolikosti populacija obične jele, s obzirom na to da je prilično ugrožena u zapadnoj Bosni. Na temelju toga možemo preporučiti za svaku ekološku nišu obične jele njezinu banku gena, uz minimalno potreban broj fiziološki zrelih jedinki provjerene genetičke strukture, da bi se uspješno očuvala ekološko-fiziološka svojstvenost.

Kako je ovim istraživanjem zaokružena genetička struktura obične jele u Bosni i Hercegovini i može se napraviti razdjelba sjemenskih jedinica ove vrste, sada bi pažnju trebalo usmjeriti na razgraničenje provenijencija, a aktivnosti usmjeriti na pokuse s provenijencijama u cilju eksperimentalnog rajoniranja, kroz istraživanja ekološko-fizioloških svojstava.

Metode s uporabom biokemijskih biljega za određivanje genetičke strukture obične jele dale su dobru sliku o istraživanim populacijama, kao i o cijelom rasprostranju ove vrste u Bosni i Hercegovini. Ovo omogućuje da se na temelju dobivenih preciznih rezultata preporučuje potrebne mjere za očuvanje genetičkih izvora.

i genetičke diferenciranosti prirodnih populacija obične jele (*Abies alba* Mill.) u dijelu prirodnog rasprostranja u Bosni i Hercegovini”, pa kolegama iz Ministarstva dugujem veliku zahvalnost, posebno direktoru Omeru Pašaliću, dipl. ing. šum.

LITERATURA – References

- Ballian, D. 2000: Kvaliteta sadnog materijala u rasadnicima Federacije BiH, Seminar: Sjemenkorsadnička proizvodnja u BiH – Aktualno stanje i perspektive, Brčko, str. 67–70.
- Ballian, D. 2003: Procjena genetičke varijabilnosti obične jele (*Abies alba* Mill.) analizom izoenzima u dijelu prirodnih populacija Bosne i Hercegovine i Hrvatske, Šumarski list br. 3–4: 135–151, Zagreb.
- Ballian, D., F. Bogunić, 2008: Genetička struktura obične jele (*Abies alba* Mill.) sa područja Očevija. Skup u povodu 60 godina Šumarskog fakulteta u Sarajevu, 08–10. 10. 2008. (u tisku).
- Bilela, S., D. Ballian, 2008: Genetska varijabilnost obične jele (*Abies alba* Mill.) iz središnjeg dijela Bosne i Hercegovine na temelju analize biokemijskih biljega. Rad. – Šum. inst. Jastrebarsko, 43 (1): 5–18.
- Bergmann, F., H. R. Gregorius, J. B. Larsen, 1990: Levels of genetic variation in European silver fir (*Abies alba* Mill.) are they related to the species decline. *Genetica*, 82 (1): 1–10.
- Beus, V. 1984: Vertikalno raščlanjenje šuma u svjetlu odnosa realne i primarne vegetacije Jugoslavije. Radovi ANUBiH, odjeljenje prirodnih i matematičkih nauka. Sarajevo, 23: 23–32.
- Breitenbach, M., W. Pinsker, 1990: Genetic variation in *Abies alba*. In: Hattemer, H. H., Fineschi, S., Cannata, F., Malvolti, M. E. (ed): *Biochemical markers in the population genetics of forest trees*. SPB Academic Publishing Bv, Haag, str. 223.
- Breitenbach-Dorfer, M., Pinsker, W., Hacker, R., Müller, F. 1992: Clone identification and clinal allozyme variation in populations of *Abies alba* from the Eastern Alps (Austria). *Plant Systematics and Evolution*, 181: 109–120.
- Breitenbach-Dorfer, M., M. Konnert, W. Pinsker, F. Starlinger, T. Geburek, 1997: The contact zone between two migration routes of silver fir, *Abies alba* (*Pinaceae*), revealed by allozyme studies. *Plant Systematics and Evolution*, 206: 259–272.
- Brus, R., R. Longauer, 1995: Nekaterne genetske značilnosti jelke (*Abies alba* Mill.) v Sloveniji, Zbornik gozdarstva in lesarstva, 46: 45–74.

- Ducci, F. 1991: Morphological variation in silver fir (*Abies alba* Mill.) seedlings from provenances in central and southern Italy. *Annali del 'Istituto Sperimentale per la Selvicoltura*, publ. 1994, 22: 53–73.
- Elling, W. 1993: Immission im Ursachenkomplex von Tannenschädigung und Tannensterben. *Allgemeine Forst-Zeitschrift* 48: 87–95.
- Elling, W., M. Bretschneider, C. Schwarzfischer, 1999: Zuwachsdpression an Tanne durch Schwefel-Emissionen. *Allgemeine Forst-Zeitschrift* 54: 896–898.
- Eriksson, G., I. Ekberg, 2001: An Introduction to Forest Genetics. SLU Repro, Uppsala.
- Giannini, R., L. Parducci, P. Rossi, F. Villani, 1994: Genetic structure and mating system of silver fir in the Campolino reserve (North Apennines, Italy), *Jur. Genet. & Breed.* 48: 335–338.
- Gömöry, D., D. Longauer, S. Liepelt, D. Ballian, R. Brus, H. Kraigher, V. I. Parpan, P. I. Stupar, L. Paule, B. Ziegenhagen, 2004: Variation patterns of mitochondrial DNA of *Abies alba* Mill. in suture zones of postglacial migration in Europe. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*, Vol. 73, No. 3: 203–206.
- Gregorius, H. R. 1974: Genetischer Abstand zwischen Populationen. I. Zur Konzeption der genetischen Abstandsmessung. *Silvae Genetica*, 23: 22–27.
- Gregorius, H. R., J. H. Roberds, 1986: Measurement of genetical differentiation among subpopulations, *Theor. Appl. Genet.*, 72: 826–834.
- Hussendörfer, E., M. Konnert, F. Bergmann, 1995: Inheritance and linkage of isozyme variants of silver fir (*Abies alba* Mill.), *Forest Genetics*, 2 (1): 29–40.
- Konnert, M. 1993: Genetic variation of silver fir in Bavaria, *Allgemeine Forst und Jagdzeitung*, 164 (9–10): 162–169.
- Konnert, M. 1995a: Genetische Variation der Weißtanne (*Abies alba* Mill.) in Bayern und Baden – Württemberg. *Genetik und Waldbau der Weißtanne*, Kolloquium, Freistaat Sachsen, 36–45.
- Konnert, M. 1995b: Ergebnisse isoenzymatischer Untersuchungen bei der Weißtanne als Entscheidungshilfen für forstliche Maßnahmen. 7 IUFRO Tannensymposium, “Ökologie und Waldbau der Weißtanne”, Altensteig, 30–43.
- Konnert, M. 1996: Beeinflussen Nutzungen einzelner Bäume die genetische Struktur von Beständen? *Die Wald*, 23: 1284–1291.
- Konnert, M. 1999: Herkunftsüberprüfung mit biochemisch-genetischen Methoden. *Der Weihnachtsbaum*, 5: 4–9.
- Konnert, M. 2004: Handbücher für Isoenzymanalyse. www.genre.de/fgrdeu/blag/iso-handbuecher. Konnert, M., F. Bergmann, 1995: The geographical distribution of genetic variation of silver fir (*Abies alba*, *Pinaceae*) in relation to a migration history. *Plant systematics and Evolution*, 196 (1–2): 19–30.
- Konnert, M., S. Schmidt, 1996: Genetische Konsequenzen der Grössensortierung in der Baumschule: Erste Ergebnisse. In: Müller-Starck (ed): *Biodiversität und nachhaltige Forstwirtschaft*, 222–238.
- Larsen, J. B. 1986: Geography variation in silver fir (*Abies alba*) growth rate and frost resistance. *Fortwissenschaftliches Centralblatt*, Göttingen, 105 (5): 396–406.
- Larsen, J. B., J. Fridrich, 1988: Growth reactions of different provenances of silver fir (*Abies alba*) after SO₂ fumigation during the winter, *European Journal of Forest Pathology*, 18 (3–4): 190–199.
- Larsen, J. B., F. Mekić, 1991: The geographic variation in European silver fir (*Abies alba*) gas exchange and needle cast in relation to needle age, growth rate dry matter partitioning and wood density by 15 different-provenances at age 6, *Silvae Genetica*, 40(5–6): 118–198.
- Liepelt, S., R. Bialozyt, B. Ziegenhagen, 2002: Wind-dispersed pollen mediates postglacial gene flow among refugia. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 99 (22): 14590–14594.
- Longauer, R. 1994: Genetic differentiation and diversity of European silver fir in Eastern part of its natural range. Published 7-IUFRO Tannensymposiums, Baden – Württemberg.
- Möller, K. 1986: Genetische Untersuchungen bei der Tanne mit Hilfe von Enzyme Genmarkern. *Allgemeine forstzeitung*, 97 (3): 60–61.
- Morgenstern, E. K. 1996: *Geographic Variation in Forest Trees*, University of British Columbia, str. 209.
- Nei, M. 1978: Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* 89: 583–590.
- Paule, L., D. Gömöry, R. Longauer, D. Krajerová, 2002: Patterns of genetic diversity distribution in three main Central European montane tree species: *Picea abies* Karst., *Abies alba* Mill. and *Fagus sylvatica* L., *J. FOR. SCI.*, article in press.
- Schroeder, S. 1989: Isoenzyme variation in 16 European provenances of silver fir (*Abies alba*), Freiburg, *Mitteilungen des Vereins für forstliche Standortskunde und Forstpflanzenzüchtung*, 34: 77–81.

- Urlich, B. 1989: Effect of acid precipitation on forest ecosystems in Europe, *Advances in Environmental Science*, 27: 189–272.
- Usčuplić, M. 1992: Uticaj sistema gazdovanja na pojavu imele (*Viscum album* L.), *Glasnik šumarskog fakulteta u Beogradu*. str. 7–18.
- Usčuplić, M., M. Dautbašić, T. Trešić, E. Selman, O. Mujezinović, T. Nišić, B. Jokanović, 2007: Bolesti i štetnici obične jele (*Abies alba* Mill.) u Bosni i Hercegovini. *Društvo za zaštitu bilja u BiH*. Sarajevo, str 115.
- Wentzel, K. F. 1980: Weißtanne = immissionsempfindlichste heimische Baumart. *Allgemeine Forst-Zeitschrift* 35: 373–374.
- Ziegenhagen, B., B. Fady, V. Kuhlenkanp, S. Liepelt, 2005: Differentiating Groups of *Abies* Species With a Simple Molecular Marker. *Silvae Genetica* 54 (3): 123–126.

SUMMARY: Molecular and genetic analysis of Silver Fir (Abies alba Mill.) was carried out by acknowledged and verified biochemical markers. Analysed material is from 10 natural populations out of which five populations is from eastern and five from western Bosnia.

Conducted genetic analysis using 9 enzyme systems and 17 allozyme gene loci with 44 alleles showed differences between western and eastern populations of Silver Fir. Variability at some gene loci showed clinal character, although situation at the field is such that it is very difficult to make a right conclusion. However, some populations from both groups showed certain degree of similarity for certain gene loci due to hybrid zone of Silver Fir where two glacial refugia in western Bosnia are met.

Average number of alleles per loci ranged from 1,65 at Očevija to 2,17 at Oštrelj population, while average number of genotypes per loci ranged from 2,00 at Očevija to 2,88 at Glamoč population. The same ratio was in diversities (V_{gem} and V_p) while biggest differentiation was in Glamoč population with 0,1984.

Some analysed populations in their genetic structure contain rare alleles what is highly appreciated in later identification of same populations. Detailed analyses on those populations with bigger sample should show right condition. That identification of rare alleles would be used for identification of reproductive material, and during conducting management measures.

Positive values of fixation index in analysed populations in relation to population from central Europe showed that it is necessary to manage them in a more subtle way, because in future they could lose much of their genetic potential for adaptation, although they are not distant from their original refugium in the Balkan, while situation with Apennine refugium is different due to distance. However, analysed populations still have enough genetic variability, as observed in Glamoč population.

Methods with biochemical markers, which are used to determine genetic structure in Silver Fir, gave good image on analysed populations as well as on entire distribution of this species in Bosnia and Herzegovina. Obtained precise results enable us to recommend necessary measures for preserving genetic sources.

Obtained results will ensure good basis for control of reproductive material in Silver Fir, as well as for conducting activities for its conservation using in situ and ex situ methods. Thus, activities in regards to maintaining autochthonic genetic sources should be directed to organisation of denser networks of gene banks, in situ and ex situ, which will be necessary to maintain genetic diversity of populations of Silver Fir having in mind that it is quite endangered in western Bosnia. Based on all that, we can recommend that every ecological niche of Silver Fir should have its gene bank with minimal number of necessary fertile units whose genetic structure was checked in order to successfully preserve ecological and physiological characteristics.

This research encompasses genetic structure of Silver Fir in Bosnia and Herzegovina and genetic regional division of this species can be done. Further attention should be directed to distinction of provenances, and activities should be focused on experiments with provenances with the purpose of experimental regional division by analysing their ecological and physiological characteristics.