Genetska raznolikost hrasta lužnjaka (Quercus robur L.) u pokusnim nasadima s potomstvom iz odabranih sjemenskih sastojina

Morić, Maja

Doctoral thesis / Disertacija

2016

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Forestry / Sveučilište u Zagrebu, Šumarski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:108:894999

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-04-20**

Repository / Repozitorij:

University of Zagreb Faculty of Forestry and Wood Technology

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

ŠUMARSKI FAKULTET

Maja Morić

GENETSKA RAZNOLIKOST HRASTA LUŽNJAKA (*Quercus robur* L.) U POKUSNIM NASADIMA S POTOMSTVOM IZ ODABRANIH SJEMENSKIH SASTOJINA

DOKTORSKI RAD

Mentor: Izv. prof. dr. sc. Saša Bogdan

Zagreb, 2016

UNIVERSITY OF ZAGREB

FACULTY OF FORESTRY

Maja Morić

GENETIC DIVERSITY OF PEDUNCULATE OAK (*Quercus robur* L.) IN FIELD TRIALS WITH PROGENY FROM SELECTED SEED STANDS

DOCTORAL THESIS

Supervisor: Associate Professor Saša Bogdan

Zagreb, 2016

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

TI (naslov)	Genetska raznolikost hrasta lužnjaka (*Quercus robur* L.) u pokusnim nasadima s potomstvom iz odabranih sjemenskih sastojina
AU (autor)	Maja Morić
AD (adresa)	10 450 Jastrebarsko, Cvjetno naselje 41
SO (izvor)	Knjižnica Šumarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, Svetošimunska 25 Knjižnica Šumarskog instituta, Jastrebarsko, Cvjetno naselje 41
PY (godina objave)	2016
LA (izvorni jezik)	hrvatski
LS (jezik sažetka)	engleski
DE (kljucne rijeci)	Genetska raznolikost, kvantitativna fenotipska svojstva, unutarpopulacijska genetska varijabilnost, razina i obrazac kvantitativne genetske diferencijacije, interakcija genotipa sa okolišem, molekularne genetske analize, jezgrini i kloroplastni mikrosatelitni DNK biljezi
GE (zemlja objave)	Hrvatska
PT (vrsta objave)	doktorski rad
VO (obujam)	I-XXI + 243 str. + 76 tablica + 42 slike + 257 literat.
AB (sažetak)	Genetska raznolikost (varijabilnost, diverzitet) temeljni je dio ukupne biološke raznolikosti, a predstavlja bogatstvo različitih alela odnosno gena na razinama jedinki, populacija odnosno vrsta. Veća razina genetske raznolikosti omogućava populacijama veći kapacitet prilagođavanja putem prirodne selekcije i zbog toga je važan preduvjet njihova opstanka u promjenjivom okolišu. Stoga su upoznavanje i očuvanje genetske raznolikosti izuzetno važne aktivnosti za dugoročni opstanak vrsta šumskog drveća, posebice onih koje su nositelji ekosustava. Utvrđivanje razine, obrasca i uzroka genetske raznolikosti kod vrsta šumskog drveća moguće je putem dvaju metoda, a to su: 1. analizom kvantitativnih fenotipskih svojstava u genetičkim testovima i 2. analizom DNK biljega. Glavni cilj ovoga rada bio je utvrditi razinu i obrazac genetske raznolikosti populacija hrasta lužnjaka u Hrvatskoj korištenjem obje dostupne metode. Na tri različite lokacije osnovani su genetički testovi s potomstvom hrasta lužnjaka iz 16 sjemenskih i jedne gospodarske sastojine, koje reprezentiraju cjelokupan areal ove vrste u Hrvatskoj. Provedene su izmjere i ocjenjivanje raznovrsnih kvantitativnih fenotipskih svojstava: visinskog rasta, visinskog prirasta, preživljenja, zimske retencije lišća, intenziteta zaraze hrastovom pepelnicom, intenziteta oštećenosti biljaka kasnim proljetnim mrazem i fenologije listanja. Analizom varijance utvrđena je statistička značajnost ispitivanih izvora varijabilnosti (blokova, populacija, familija unutar populacija, interakcije blokova s populacijama i familijama), te su izračunati kvantitativni genetički parametri: nasljednost (individualna (h^2_i) i familijska (h^2_f)), koeficijent aditivne genetske varijacije (CV_A) i parametar kvantitativne genetske diferencijacije (Q_{ST}). Determinacija obrasca genetske diferencijacije provedena je multivarijatnom regresijskom stabalnom analizom (engl. *Multivariate Regression Tree analysis – MRT*). Vrijednosti CV_A i nasljednosti bile su kod većine svojstava niske, što upućuje na nisku razinu unutarpopulacijske genetske varijabilnosti istraživanih populacija. Međutim vjerojatno je da su niske vrijednosti genetičkih parametara bile uzrokovane visokom varijancom ostatka tj. neaditivnom genetskom i okolišnom varijancom uključujući i varijancu eksperimentalne pogreške. Stoga, izračunati genetički parametri nisu

dovoljno pouzdani za konačan zaključak o razini unutarpopulacijske aditivne genetske varijabilnosti hrasta lužnjaka u Hrvatskoj.

Izračunati Q_{ST} parametari ukazuju na značajnu kvantitativnu genetsku diferencijaciju istraživanih populacija hrasta lužnjaka i to vrlo vjerojatno uslijed djelovanja prirodne selekcije, na što je ukazala visina vrijednosti parametara.

Determinacija obrasca kvantitativne genetske diferencijacije pokazala je kako su se populacije razdvojile s obzirom na relativnu humidnost i toplinu staništa iz kojeg potječu. Populacije iz suših i toplijih staništa imale su bolje karakteristike za ispitivana svojstva u pokusnim nasadima Jastrebarsko i Koška, jer su klimatske prilike u tim pokusnim nasadima tijekom analiziranog perioda više odgovarale originalnim stanišnim prilikama tih populacija. S druge strane, populacije koje potječu i iz relativno humidnijih i iz relativno aridnijih staništa imale su bolje karakteristike visinskog rasta i preživljenja u pokusnom nasadu Vrbanja.

Genetska udaljenost između populacija izračunata analizama jezgrinih mikrosatelitnih biljega ukazuje kako većina populacija nije genetski značajno udaljena. Ipak, utvrđeno je da su populacije HR 609 i HR 387 nešto više genetski udaljene od ostalih. Kod tri populacije (HR: 609, 387 i 577) uočen je nedostatak očekivane heterozigotnosti, te visok F_{IS} parametar, ukazujući na križanje u srodstvu.

Analizom molekularne varijance (AMOVA) utvrđena je visoka unutarpopulacijska raznolikost, te statistički značajna komponenta varijance uzrokovana razlikama između populacija, ukazujući na postojanje neutralne genetske diferencijacije. Ipak, međupopulacijska diferencijacija zauzimala je samo 1,47% ukupne raznolikosti, što ukazuje na snažan utjecaj migracija gena između populacija. Uz proces prirodne migracije gena (posebice peludom) vrlo je vjerojatan i antropogeni utjecaj prijenosom šumskog reprodukcijskog materijala.

Prostorna udaljenost ima signifikantan udio u raspodjeli genetičke raznolikosti. Ukupno 19,6% genetske diferencijacije između analiziranih populacija može se objasniti njihovom prostornom udaljenošću (*IBD*), a srodnost jedinki se gubi nakon 240 km međusobne udaljenosti. Ipak, faktorijalnom analizom korespodencije nije utvrđena prava zemljopisna razdvojenost populacija.

Analizom kloroplastnih mikrosatelitnih biljega ukupna procijenjena raznolikost svih populacija bila je velika. Utvrđena raznolikost između populacija analizom molekularne varijance (AMOVA) bila je statistički visoko značajna i veća od unutarpopulacijske raznolikosti. Također, je ustanovljeno postojanje 66 haplotipova u istraživanim populacijama, koji su svrstani u tri rodoslovne linije: linija L2 koja ujedno sadržava i najveći broj haplotipova prostire se od istoka prema zapadu, linija L1 najviše je zastupljena u zapadnom dijelu rasprostranjenja hrasta lužnjaka u Hrvatskoj, dok L3 zauzima središnji dio areala.

BASIC DOCUMENTATION CARD

TI (Title)	Genetic diversity of pedunculated oak (*Quercus robur* L.) in field trials whit progeny from selected seeds stands
OT (Original Title)	Genetska raznolikost hrasta lužnjaka (*Quercus robur* L.) u pokusnim nasadima s potomstvom iz odabranih sjemenskih sastojina
AU (Author)	Maja Morić
AD (Address of Author)	10 450 Jastrebarsko, Cvjetno naselje 41, Croatia majap@sumins.hr
SO (Source)	Forestry Faculty library, University of Zagreb, Svetošimunska 25 Croatian Forest Research Institute library, Jastrebarsko, Cvjetno naselje 41
PY (Publication Year)	2016
LA (Language of text)	Croatian
LS (Language of Summary)	English
DE (Descriptors, key words)	Genetic diversity, quantitative genetic traits, intrapopulation genetic variability, interapopulation genetic diversity, levels and patterns of quantitative genetic differentiation, genotype by environment interaction, molecular genetic analysis, nuclear and chloroplast microsatellite DNA markers
GE (Geo Headings)	Republic of Croatia
PT (Publication Type)	Doctoral Thesis
VO (Volume)	I-XXI + 243 pg + 76 tables + 42 figures + 257 literature citations
AB (Abstract)	Genetic diversity (i.e. variability) is the basic part of the biological diversity and represents reaches of the alleles and genes of individuals, populations and species. Higher level of genetic diversity in populations able them higher capacity for adjustment through natural selection, and therefore it is an important part for their survival in a changing environment. Therefore, learn and preserve genetic diversity is extremely important for long-term survival of forest tree species, especially those which are the carriers of ecosystem. Determination of level, pattern and causes of genetic diversity in forest trees species is possible by two methods: 1. the analysis of quantitative phenotypic traits in genetic field trials, and 2. by analysis of DNA markers. The main objective of this study was to determine the level and pattern of genetic diversity of pedunculate oak populations in Croatia using both available methods. Three genetic field trials (Jastrebarsko, Koška and Vrbanja) were established on different locations with progeny from 16 seed stands and one normal managed stand, representing the distribution range of pedunculated oak in Croatia. Measurements of quantitative phenotypic traits such as height, survival, winter leaf retention, intensity of infection with powdery mildew, intensity of late spring frost damages and phenology were conducted to determinate genetic diversity and differentiation. Statistical significance of analyses of variance was calculated for sources of variability: blocks, populations, family within populations, interaction of blocks with populations and families. Based on percentage of variance components from ANOVA, heritability (individual (h^2_i) and family (h^2_f)) coefficient of additive genetic variation (CV_A) and parameter of quantitative genetic differentiation (Q_{ST}) were calculated. Multivariate regression tree analysis (MRT) was used to determine the pattern of genetic differentiation. Heritability (individual (h^2_i) and family (h^2_f)) and coefficient of additive genetic variation (CV_A) were low for almost all quantitative traits indicating a low level of intrapopulation genetic variability. However, low additive genetic variation was probably caused by high variance residual in ANOVA.

AB (Abstract)	Considering that calculated genetic parameters are not reliable enough for final conclusion about level of intrapopulation genetic variability in populations of pedunculated oak in Croatia. High Q_{ST} parameter reveals significant differences between populations, which confirm their genetic differentiation probably caused by natural selection. Statistical significance level for interaction effect of populations within blocks indicates a certain level of phenotypic plasticity for analyzed populations. Populations were clustered according to relative humidity and temperature of habitat of origin. Populations originating from more arid habitat showed higher phenotypic characteristics for survival and height in trials Jastrebarsko and Koška, probably because climatic in this field trials were favorable for population originating from more aridic habitat. Populations originating from more humid habitats and also from relatively arid habitats had the higher survival and height in field trial Vrbanja. Analysis with nuclear microsatellite markers showed a low level of genetic diversity between populations. Populations HR 609 and HR 387 are more diverse form other populations. Three populations (HR: 609, 387 and 577) have high F_{IS} parameter indicating inbreeding. Analysis of molecular variance (AMOVA) determine high level of intrapopulation diversity, also a statistically significance percentage of variance between populations indicate a neutral genetic differentiation. However, established interpopulation differences were only 1.47% of overall differences, referring to high migration of genes between populations. Beside the natural gene flow (especially by pollen), the highly plausible is anthropogenic influence by moving of forest reproductive material. Total of 19.6% of genetic differentiation among populations can be explained with isolation by distance (*IBD*). Relatedness of individuals is lost after 240 km mutual distance. Analysis with chloroplast microsatellite markers gave high overall diversity of populations. Diversity between populations in AMOVA was statisticaly highly significant, higher than intrapopulation diversity. Also, 66 haplotypes was determined, origination in three lines: line L2, with highest number of haplotypes extends from east to west, line L1 prevails in western part of distribution range, while line L3 is concentrated in central part.

PODACI O MENTORU

Izv. prof. dr. sc. Saša Bogdan rođen je 23. lipnja 1973. godine u Sisku, gdje je završio osnovno i srednješkolsko obrazovanje. Na Šumarskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu diplomirao je 1997. godine. Iste godine zapošljava se kao pripravnik u tvrtki "Hrvatske šume" d.o.o., u Upravi šuma podružnici Sisak. Od 7. rujna 1998. godine zaposlen je na Šumarskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu, na Zavodu za šumarsku genetiku, dendrologiju i botaniku. Poslijediplomski znanstveni studij pod nazivom "Oplemenjivanje šumskog drveća" upisao je 1998. godine, a magistarski rad obranio je 15. studenog 2002. godine. Doktorski rad obranio je 12. srpnja 2006. godine.

U suradničko zvanje višeg asistenta izabran je 20. listopada 2006. godine. 23. siječnja 2007. izabran je u znanstveno zvanje znanstvenog suradnika. U znanstveno-nastavno zvanje docenta, izabran je 25. travnja 2007. godine. 7. listopada 2008. godine izabran je u znanstveno zvanje višeg znanstvenog suradnika, 5. svibnja 2010. godine izabran u znanstveno zvanje znanstvenog savjetnika, a 14. prosinca 2011. godine u znanstveno-nastavno zvanje izvanrednog profesora u području biotehničkih znanosti, polje šumarstvo, grana genetika i oplemenjivanje šumskog drveća.

Na Šumarskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu predaje na preddiplomskim, diplomskim i poslijediplomskom doktorskom studiju. Nositelj je jednog obveznog i tri izborna kolegija. Obnašao je funkcije predstojnika Zavoda za šumarsku genetiku, dendrologiju i botaniku (2012. – 2016.) i voditelja Laboratorija za molekularnu biologiju šumskog drveća (2010. – 2012.). Član je Fakultetskog vijeća Šumarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

Do sada je bio član povjerenstava za obranu šesnaest diplomskih i završnih radova, a na dvanaest je bio mentor. Izabrani je mentor za četiri doktorska rada.

Ekspert u disciplini šumarske genetike, a posebice u području kvantitativne genetike i statističkih analiza podataka dobivenih iz genetičkih testova. Samostalno ili u koautorstvu, objavio je preko 60 znanstvenih radova iz područja genetike, oplemenjivanja i očuvanja genetske raznolikosti šumskog drveća. U travnju 2001. godine, u Austriji je završio međunarodni tečaj na temu očuvanja genofonda šumskih vrsta drveća, održanom pod pokroviteljstvom EUFORGEN organizacije i austrijskog Saveznog ministarstva poljoprivrede i šumarstva. U svibnju 2001. godine, boravi u istraživačkom laboratoriju švedske kompanije

Svalöf Weibull, gdje je upoznat s njihovim programom oplemenjivanja vrba za bioenergetske potrebe. Od 23. 5. do 10. 6. 2005. pohađao je tečaj iz kvantitativne šumarske genetike na švedskom Sveučilištu agronomskih znanosti (SLU, Umea - Research School Forest Genetics and Breeding). U Hrvatskoj je završio tečajeve iz: statističke obrade podataka uporabom SAS programskog paketa i posjeduje SAS licencu; metodološki tečaj DNA-RNA, tečaj analize molekularne raznolikosti, te izrade on-line tečaja pomoću WebCT alata. Sudjelovao je na preko 25 domaćih i međunarodnih znanstvenih skupova. Član je Hrvatskoga šumarskog društva, Hrvatskog genetičkog društva, Hrvatskoga ekološkog društva i Hrvatskog biometrijskog društva.

Bio je voditelj nacionalnog znanstvenog projekta (2010. – 2013.: "Procjena genetske raznolikosti hrasta lužnjaka u pokusnim nasadima s potomstvom iz sjemenskih sastojina"; Financijer: Hrvatske šume d.o.o.). Bio je suradnik na više nacionalnih (npr. 2006. – 2011.: "Očuvanje genofonda i oplemenjivanje glavnih vrsta drveća nizinskih šuma Hrvatske"; MZOŠ. (068-0242108-0425); 2001. – 2005.: "Očuvanje genofonda šumskih vrsta drveća"; Hrvatske šume d.o.o.) i EU znanstvenih projekata.

Trenutno se bavi znanstvenim radom u okviru istraživačkih projekata financiranih od strane: Hrvatske Zaklade za znanost (IP-2014-09-4686, „Fenotipski i epigenetski odgovor na sušni stres i prilagodljivost populacija hrasta lužnjaka (Quercus robur L.) uzduž gradijenta zemljopisne širine"); Ministarstva poljoprivrede RH ("Postavljanje pokusa za provođenje uzgojnih i genetsko meliorativnih zahvata u mladim sastojinama hrasta lužnjaka kao temelj za osnivanje i gospodarenje sjemenskim sastojinama"), kao i nastavnim radom na studijima Šumarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

ZAHVALA

Ovaj doktorski rad izrađen je na Hrvatskom šumarskom institutu, u Zavodu za genetiku, oplemenjivanje šumskog drveća i sjemenarstvo, a rezultat je istraživanja provedenih u sklopu projekta „Oplemenjivanje i šumsko sjemenarstvo“ (024-0242108-2099) kojeg je podupiralo Ministarstvo znanosti, obrazovanja i športa, a čiji je voditelj dr. sc. Mladen Ivanković. Ovom prilikom se želim zahvaliti upravo Predstojniku Zavoda, dr. sc. Mladenu Ivankoviću na ukazanom povjerenju prilikom izrade disertacije.

Posebno veliko *Hvala* upućujem svojem mentoru, izv. prof. dr. sc. Saši Bogdanu, sa Šumarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, za nebrojeno mnogo savjeta bez kojih ne bih mogla izraditi ovako opsežan rad. Hvala na nebrojeno mnogo mjeseci nesebične pomoći pri svim aspektima moga rada, te na dobronamjernim komentarima.

Hvala i dr. sc. Idi Katičić Bogdan, sa Šumarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, na pomoći u mojim laboratorijskim počecima i pomoći u završnoj fazi izrade doktorskog rada.

Prof. dr. sc. Zlatku Šatoviću, sa Agronomskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu zahvaljujem na ogromnoj pomoći pri statističkoj analizi molekularnih podataka i objašnjenima s molekularno-statističkog stajališta.

Hvala ravnateljici Hrvatskog šumarskog instituta, dr. sc. Dijani Vuletić i svim članovima Znanstvenog vijeća, što su mi omogućili sudjelovanje na mnogobrojnim radionicama i konferencijama u inozemstvu, gdje sam stekla nova znanja i vještine koji su mi značajno pomogli prilikom provedbe ovog istraživanja.

Hvala svim kolegama iz mog Zavoda koji su bili dio ovog istraživanja, a najviše zahvaljujem Brigiti, Dubravku, Tomislavu, Ani, Mladenu, Nikolini, Brankici, Božidaru i Josipi bez kojih ne bi bilo moguće provesti ovo istraživanje, te što su uvijek bili spremni pomoći, i omogućili mi bezbrižno provođenje terenskih izmjera.

Hvala i svim ostalim djelatnicima Hrvatskog šumarskog instituta koji su u raznoraznim trenucima sudjelovali u pojedinim segmentima izrade ovog rada.

Zahvaljujem i kolegama iz „Hrvatskih šuma“ d.o.o. Zagreb, osobito djelatnicima UŠP Karlovac, te šumarija Jastrebarsko, Koška i Vrbanja za pomoć prilikom osnivanja i njege pokusnih nasada.

Najdublju zahvalu upućujem cijeloj mojoj obitelji, a najprije se neizmjerno zahvaljujem svom ocu i majci, koji su mi omogućili da postignem ovakav uspjeh i postanem osoba kakva sam danas. Hvala bakama i djedovima što su uvijek vjerovali u mene i bili mi podrška, te mom bratu Vedranu na trenucima koje provodimo zajedno.

Posebno mjesto u mojem životu ima i moja teta Sanja, koja me oduvijek inspirira svojom svestranošću, energijom, znanjem i vještinama, a uvijek je tu uz mene, i kada mi je potrebna pomoć, te joj se ovim putem neizmjerno zahvaljujem.

Duboku zahvalu posvećujem i svom suprugu Marku koji me potiče da stalno idem naprijed i pomičem granice, čak i u trenutcima kad je najteže. Zahvaljujem se i svojoj svekrvi Senki na cjelokupnoj pomoći i razumijevanju.

Ovaj rad posvećujem svojoj djevojčici zbog koje sada sve ima smisla i ništa nije nemoguće ili preteško. *Maris, hvala ti, neizmjerno te volim.*

Maja Morić

SADRŽAJ

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA I
BASIC DOCUMENTATION CARD III
PODACI O MENTORU V
ZAHVALA VII
SADRŽAJ IX
POPIS TABLICA XIV
POPIS SLIKA XIX
1. UVOD 1
1.1. Taksonomski položaj hrasta lužnjaka (*Quercus robur* L.) 2
1.2. Rasprostranjenost hrasta lužnjaka 2
1.3. Osnovne biološko – ekološke osobine hrasta lužnjaka 4
1.4. Značaj i ugroženost hrasta lužnjaka 6
1.5. Razdjelba sjemenskih jedinica i prometovanje šumskim reprodukcijskim materijalom hrasta lužnjaka u Hrvatskoj 7
1.5.1. Sjemenske sastojine hrasta lužnjaka 13
1.6. Genetska raznolikost – definicija, značaj i uvjetovanost 14
1.7. Metode utvrđivanja genetske raznolikosti šumskog drveća 16
1.7.1. Utvrđivanje genetske raznolikosti putem analize kvantitativnih fenotipskih svojstava u genetičkim testovima 17
1.7.2. Utvrđivanje genetske raznolikosti putem analiza DNK biljega 19
1.7.2.1. Jezgrini mikrosatelitni biljezi 19
1.7.2.2. Uporaba jezgrinih mikrosatelitnih biljega 21
1.7.2.3. Kloroplastni mikrosatelitni biljezi (cpSSR) 23
1.7.2.4. Uporaba kloroplastnih mikrosatelita 25
1.7.2.5. Zaključno o mikrosatelitnim biljezima 26
1.8. Osnovni principi očuvanja genetske raznolikosti 26
1.8.1. *In situ* metoda očuvanja genetske raznolikosti 27
1.8.2. *Ex situ* metoda očuvanja genetske raznolikosti 27
1.9. Genetska raznolikost hrasta lužnjaka – dosadašnje spoznaje 28
1.10. Pretpostavke i ciljevi istraživanja 37
2. MATERIJAL I METODE 40
2.1. Uzorkovane populacije 41
2.2. Genetički nasadi 42
2.3. Izmjere kvantitativnih fenotipskih svojstava 47
2.3.1. Visinski rast 47

2.3.2. Zimska retencija lišća 47
2.3.3. Intenzitet zaraze hrastovom pepelnicom 48
2.3.4. Fenologija listanja 49
2.3.5. Oštećenost od mraza 51
2.4. Statistička obrada podataka dobivenih izmjerama kvantitativnih fenotipskih svojstava . 52
2.4.1. Deskriptivna analiza 52
2.4.2. Analiza varijance 52
2.4.3. Procjena kvantitativnih genetičkih parametara 54
2.4.4. Procjena obrasca međupopulacijske genetske diferencijacije 56
2.5. Analize DNK biljega 59
2.5.1. Uzorkovanje biljnog materijala 59
2.5.2. Izolacija DNK (deoksiribonukleinske kiseline) 60
2.5.3. Umnažanje jezgrinih mikrosatelitskih regija lančanom reakcijom polimerazom (PCR) 61
2.5.4. Umnažanje kloroplastnih mikrosatelitnih regija lančanom reakcijom polimerazom (PCR) 66
2.5.5. Razdvajanje i vizualizacija produkata PCR-a 69
2.6. Statističke analize DNK biljega 70
2.6.1. Jezgrini mikrosatelitni biljezi 70
2.6.1.1. Deskriptivna statistika 70
2.6.1.2. Nul aleli 72
2.6.1.3. Genetička diferencijacija 72
2.6.1.4. Mjerila genetičke udaljenosti i izrada stabla 73
2.6.1.5. Genetičko usko grlo 75
2.6.1.6. Analiza molekularne varijance (AMOVA) 76
2.6.1.7. Prostorna genetika 77
2.6.1.7.1. Analiza izolacije uslijed udaljenosti 77
2.6.1.7.2. Prostorna autokorelacijska analiza 78
2.6.1.8. Faktorijalna analiza korespodencije 79
2.6.2. Kloroplastni mikrosatelitni biljezi 80
2.6.2.1. Deskriptivna statistika i genetska diferencijacija 80
2.6.2.2. Analiza molekularne varijance (AMOVA) 83
2.6.2.3. Median-Joining (MJ) mreža haplotipova 83
2.6.2.4. Genetska udaljenost haplotipova i izrada stabla 84
3. REZULTATI 85
3.1. Deskriptivna statistika za kvantitativna fenotipska svojstva 86
3.1.1. Visinski rast 86
3.1.2. Visinski prirast 91

3.1.3. Preživljenje 92
3.1.4. Zimska retencija lišća 98
3.1.5. Intenzitet zaraze hrastovom pepelnicom 101
3.1.6. Fenologija listanja 103
3.1.7. Oštećenost biljaka kasnim proljetnim mrazem 105
3.2. Unutarpopulacijska kvantitativna genetska varijabilnost 107
3.2.1. Visinski rast 107
3.2.2. Visinski prirast 112
3.2.3. Preživljenje 114
3.2.4. Zimska retencija lišća 119
3.2.5. Intenzitet zaraze hrastovom pepelnicom 121
3.2.6. Fenologija listanja 123
3.2.7. Oštećenost biljaka kasnim proljetnim mrazem 127
3.3. Razina kvantitativne genetske diferencijacije populacija 128
3.3.1. Visinski rast 128
3.3.2. Visinski prirast 130
3.3.3. Preživljenje 131
3.3.4. Zimska retencija lišća 132
3.3.5. Intenzitet zaraze hrastovom pepelnicom 133
3.3.6. Fenologija listanja 134
3.3.7. Oštećenost biljaka kasnim proljetnim mrazem 134
3.4. Obrazac međupopulacijske kvantitativne genetske diferencijacije 136
3.4.1. Visinski rast 136
3.4.2. Preživljenje 137
3.4.3. Zimska retencija lišća 139
3.4.4. Intenzitet zaraze hrastovom pepelnicom 140
3.4.5. Odnos intenziteta zaraze hrastovom pepelnicom i prirasta 141
3.4.6. Fenologija listanja 142
3.4.7. Odnos fenologije listanja i intenziteta zaraze hrastovom pepelnicom 143
3.4.8. Oštećenost biljaka kasnim proljetnim mrazem 144
3.4.9. Odnos oštećenosti biljaka kasnim proljetnim mrazem i fenologije listanja 145
3.5. Interakcija genotip × okoliš 147
3.5.1. Visinski rast 147
3.5.2. Preživljenje 149
3.6. Statističke analize DNK biljega 151
3.6.1. Jezgrini mikrosatelitni biljezi 151

3.6.1.1. Deskriptivna statistika i nul-aleli ... 151
3.6.1.2. Genetička diferencijacija ... 153
3.6.1.4. Mjerila genetičke udaljenosti i izrada stabla ... 155
3.6.1.5. Genetičko usko grlo ... 156
3.6.1.6. Analiza molekularne varijance (AMOVA) ... 158
3.6.1.7. Prostorna genetika ... 158
3.6.1.7.1. Analiza izolacije uslijed udaljenosti ... 158
3.6.1.7.2. Prostorna autokorelacijska analiza ... 159
3.6.1.8. Faktorijalna analiza korespodencije ... 161
3.6.2. Kloroplastni mikrosatelitni biljezi ... 163
3.6.2.1. Deskriptivna statistika i genetska diferencijacija ... 163
3.6.2.2. Analiza molekularne varijance (AMOVA) ... 165
3.6.2.3. Median-Joining (MJ) mreža haplotipova ... 166
3.6.2.4. Genetska udaljenost haplotipova i izrada stabla ... 167
4. RASPRAVA ... 169
4.1. Analiza kvantitativnih fenotipskih svojstava istraživanih populacija hrasta lužnjaka ... 170
4.2. Razina unutarpopulacijske kvantitativne genetske varijabilnosti ... 172
4.2.1. Visinski rast ... 172
4.2.2. Preživljenje ... 175
4.2.3. Zimska retencija lišća ... 176
4.2.4. Intenzitet zaraze pepelnicom ... 177
4.2.5. Fenologija listanja ... 178
4.2.6. Oštećenost biljaka kasnim proljetnim mrazem ... 179
4.3. Razina kvantitativne genetske diferencijacije populacija ... 181
4.3.1. Visinski rast i prirast ... 181
4.3.2. Preživljenje ... 182
4.3.3. Zimska retencija lišća ... 183
4.3.4. Intenzitet zaraze hrastovom pepelnicom ... 183
4.3.5. Fenologija listanja ... 184
4.3.6. Oštećenost biljaka kasnim proljetnim mrazem ... 185
4.4. Obrazac međupopulacijske kvantitativne genetske diferencijacije ... 186
4.4.1. Visinski rast ... 186
4.4.2. Preživljenje ... 187
4.4.3. Zimska retencija lišća ... 188
4.4.4. Intenzitet zaraze pepelnicom ... 189
4.4.5. Fenologija listanja ... 190

4.4.6. Oštećenost biljaka kasnim proljetnim mrazem ... 191
4.5. Interakcija genotip × okoliš ... 193
4.5.1. Visinski rast i preživljenje ... 193
4.6. Analize DNK biljega ... 197
4.6.1. Jezgrini mikrosatelitni biljezi ... 197
4.6.2. Kloroplastni mikrosatelitni biljezi ... 201
4.7. Usporedba kvantitativnih fenotipskih svojstava i molekularnih analiza ... 203
5. ZAKLJUČCI ... 206
6. LITERATURA ... 209
7. SUMMARY ... 233
ŽIVOTOPIS ... 236
CURICULUM VITAE ... 237
POPIS OBJAVLJENIH DJELA ... 238
PRILOG I ... 240
PRILOG II ... 243

POPIS TABLICA

Tablica 1. Razdjelba sjemenskih jedinica hrasta lužnjaka (*Q. robur* L.) u Hrvatskoj, (NN 114/15).
Tablica 2. Podaci o sastojinama u kojima je sakupljen žir.
Tablica 3. Klimatski podaci o matičnim sastojinama iz kojih potječu analizirane populacije (CLIMATEEU).
Tablica 4. Geografski podaci o genetičkim testovima
Tablica 5. Klimatološki podaci o genetičkim testovima (CLIMATEEU).
Tablica 6. Korišteni jezgrini biljezi i početnice, izdvojeni iz izvorne literature.
Tablica 7. Korišteni kloroplastni biljezi i početnice, izdvojeni iz izvorne literature.
Tablica 8. Deskriptivni statistički parametri za visine populacija hrasta lužnjaka u pokusnom nasadu Jastrebarsko u dobi od 4 godine.
Tablica 9. Deskriptivni statistički parametri za visine populacija hrasta lužnjaka u pokusnom nasadu Jastrebarsko u dobi od 5 godina.
Tablica 10. Deskriptivni statistički parametri za visine populacija hrasta lužnjaka u pokusnom nasadu Jastrebarsko u dobi od 6 godina.
Tablica 11. Deskriptivni statistički parametri za visine populacija hrasta lužnjaka u pokusnom nasadu Koška u dobi od 6 godina.
Tablica 12. Deskriptivni statistički parametri za visine populacija hrasta lužnjaka u pokusnom nasadu Vrbanja u dobi od 6 godina.
Tablica 13. Deskriptivni statistički parametri za visinske priraste između 4. i 5. godine populacija hrasta lužnjaka u pokusnom nasadu Jastrebarsko.
Tablica 14. Deskriptivni statistički parametri za visinske priraste između 5. i 6. godine populacija hrasta lužnjaka u pokusnom nasadu Jastrebarsko.
Tablica 15. Deskriptivni statistički parametri za preživljenje populacija hrasta lužnjaka u dobi od 4 godine u pokusnom nasadu Jastrebarsko.
Tablica 16. Deskriptivni statistički parametri za preživljenje populacija hrasta lužnjaka u dobi od 5 godina u pokusnom nasadu Jastrebarsko.
Tablica 17. Deskriptivni statistički parametri za preživljenje populacija hrasta lužnjaka u dobi od 6 godina u pokusnom nasadu Jastrebarsko.
Tablica 18. Deskriptivni statistički parametri za preživljenje populacija hrasta lužnjaka u dobi od 6 godina u pokusnom nasadu Koška.
Tablica 19. Deskriptivni statistički parametri za preživljenje populacija hrasta lužnjaka u dobi od 6 godina u pokusnom nasadu Vrbanja.
Tablica 20. Deskriptivni statistički parametri za svojstvo zimske retencije lišća na razini populacija u pokusnom nasadu Jastrebarsko u dobi od 4 godine.
Tablica 21. Deskriptivni statistički parametri za svojstvo zimske retencije lišća na razini populacija u pokusnom nasadu Jastrebarsko u dobi od 5 godina.
Tablica 22. Deskriptivni statistički parametri za svojstvo zimske retencije lišća na razini populacija u pokusnom nasadu Jastrebarsko u dobi od 6 godina.
Tablica 23. Deskriptivni statistički parametri intenziteta zaraze hrastovom pepelnicom populacija hrasta lužnjaka u pokusnom nasadu Jastrebarsko u dobi od 5 godina.

Tablica 24. Deskriptivni statistički parametri intenziteta zaraze hrastovom pepelnicom populacija hrasta lužnjaka u pokusnom nasadu Jastrebarsko u dobi od 6 godina.
Tablica 25. Deskriptivni statistički parametri početka listanja populacija hrasta lužnjaka u pokusnom nasadu Jastrebarsko u dobi od 5 godina.
Tablica 26. Deskriptivni statistički parametri početka listanja populacija hrasta lužnjaka u pokusnom nasadu Jastrebarsko u dobi od 6 godina.
Tablica 27. Deskriptivni statistički parametri početka listanja populacija hrasta lužnjaka u pokusnom nasadu Jastrebarsko u dobi od 7 godina.
Tablica 28. Deskriptivni statistički parametri oštećenosti populacija hrasta lužnjaka kasnim proljetnim mrazem u dobi od 5 godina u pokusnom nasadu Jastrebarsko.
Tablica 29. Postoci komponenata varijance, individualna (h_i^2) i familijska (h_f^2) nasljednost, koeficijent aditivne genetske varijacije (CV_A) za svojstvo visine u dobi od 4 godine u pokusnom nasadu Jastrebarsko.
Tablica 30. Postoci komponenata varijance, individualna (h_i^2) i familijska (h_f^2) nasljednost, koeficijent aditivne genetske varijacije (CV_A) za svojstvo visine u dobi od 5 godina u pokusnom nasadu Jastrebarsko.
Tablica 31. Postoci komponenata varijance, individualna (h_i^2) i familijska (h_f^2) nasljednost, koeficijent aditivne genetske varijacije (CV_A) za svojstvo visine u dobi od 6 godina u pokusnom nasadu Jastrebarsko.
Tablica 32. Postoci komponenata varijance, individualna (h_i^2) i familijska (h_f^2) nasljednost, koeficijent aditivne genetske varijacije (CV_A) za svojstvo visine u dobi od 6 godina u pokusnom nasadu Koška.
Tablica 33. Postoci komponente varijance, individualna (h_i^2) i familijska (h_f^2) nasljednost, koeficijent aditivne genetske varijacije (CV_A) za svojstvo visina u dobi od 6 godina u pokusnom nasadu Vrbanja.
Tablica 34. Postoci komponenata varijance, individualna (h_i^2) i familijska (h_f^2) nasljednost, koeficijent aditivne genetske varijacije (CV_A) za svojstvo visinskog prirasta u dobi između 4. i 5. godine u pokusnom nasadu Jastrebarsko.
Tablica 35. Postoci komponenata varijance, individualna (h_i^2) i familijska (h_f^2) nasljednost, koeficijent aditivne genetske varijacije (CV_A) za svojstvo visinskog prirasta u dobi između 5. i 6. godine u pokusnom nasadu Jastrebarsko.
Tablica 36. Postoci komponenata varijance, familijska (h_f^2) nasljednost, koeficijent aditivne genetske varijacije (CV_A) za svojstvo preživljenja u dobi od 4 godine u pokusnom nasadu Jastrebarsko.
Tablica 37. Postoci komponenata varijance, familijska (h_f^2) nasljednost, koeficijent aditivne genetske varijacije (CV_A) za svojstvo preživljenja u dobi od 5 godina u pokusnom nasadu Jastrebarsko.
Tablica 38. Postoci komponente varijance, familijska (h_f^2) nasljednost, koeficijent aditivne genetske varijacije (CV_A) za svojstvo preživljenja u dobi od 6 godina u pokusnom nasadu Jastrebarsko.
Tablica 39. Postoci komponenata varijance, familijska (h_f^2) nasljednost, koeficijent aditivne genetske varijacije (CV_A) za svojstvo preživljenja u dobi od 6 godina u pokusnom nasadu Koška.

Tablica 40. Postoci komponenata varijance, familijska (h_f^2) nasljednost, koeficijent aditivne genetske varijacije (CV_A) za svojstvo preživljenja u dobi od 6 godina u pokusnom nasadu Vrbanja.
Tablica 41. Postoci komponenata varijance, familijska (h_f^2) nasljednost, koeficijent aditivne genetske varijacije (CV_A) za svojstvo zimske retencije lišća u dobi od 4 godine u pokusnom nasadu Jastrebarsko.
Tablica 42. Postoci komponenata varijance, familijska (h_f^2) nasljednost, koeficijent aditivne genetske varijacije (CV_A) za svojstvo zimske retencije lišća u dobi od 5 godina u pokusnom nasadu Jastrebarsko.
Tablica 43. Postoci komponenata varijance, familijska (h_f^2) nasljednost, koeficijent aditivne genetske varijacije (CV_A) za svojstvo zimske retencije lišća u pokusnom nasadu Jastrebarsko u dobi od 6 godina.
Tablica 44. Postoci komponenata varijance, familijska (h_f^2) nasljednost, koeficijent aditivne genetske varijacije (CV_A) za svojstvo intenziteta zaraze hrastovom pepelnicom u dobi od 5 godina u pokusnom nasadu Jastrebarsko.
Tablica 45. Postoci komponenata varijance, familijska (h_f^2) nasljednost, koeficijent aditivne genetske varijacije (CV_A) za svojstvo intenziteta zaraze hrastovom pepelnicom u dobi od 6 godina u pokusnom nasadu Jastrebarsko.
Tablica 46. Postoci komponenata varijance, familijska (h_f^2) nasljednost, koeficijent aditivne genetske varijacije (CV_A) za svojstvo početka listanja u dobi od 5 godina u pokusnom nasadu Jastrebarsko.
Tablica 47. Postoci komponenata varijance, familijska (h_f^2) nasljednost, koeficijent aditivne genetske varijacije (CV_A) za svojstvo početka listanja u dobi od 6 godina u pokusnom nasadu Jastrebarsko.
Tablica 48. Postoci komponenata varijance, familijska (h_f^2) nasljednost, koeficijent aditivne genetske varijacije (CV_A) za svojstvo početka listanja u dobi od 7 godina u pokusnom nasadu Jastrebarsko.
Tablica 49. Postoci komponenata varijance, familijska (h_f^2) nasljednost, koeficijent aditivne genetske varijacije (CV_A) stupnja oštećenosti kasnim proljetnim mrazem u pokusnom nasadu Jastrebarsko u dobi od 5 godina.
Tablica 50. Ukupna srednja vrijednost svojstva, postoci komponenata varijance i parametar kvantitativne genetske diferencijacije (Q_{ST}) za svojstvo visine u pokusnom nasadu Jastrebarsko u dobi od 4 do 6 godina.
Tablica 51. Ukupna srednja vrijednost svojstva, postoci komponenata varijance i parametar kvantitativne genetske diferencijacije (Q_{ST}) za svojstvo visine u dobi od 6 godina u pokusnom nasadu Koška.
Tablica 52. Ukupna srednja vrijednost svojstva, postotci komponente varijance i parametar kvantitativne genetske diferencijacije (Q_{ST}) za svojstvo visine u dobi od 6 godina u pokusnom nasadu Vrbanja.
Tablica 53. Ukupna srednja vrijednost svojstva, postoci komponente varijance i parametar kvantitativne genetske diferencijacije (Q_{ST}) za svojstvo prirasta u dobi od 4 do 6 godina u pokusnom nasadu Jastrebarsko.

Tablica 54. Ukupna srednja vrijednost svojstva, postoci komponente varijance i parametar kvantitativne genetske diferencijacije (Q_{ST}) za svojstvo preživljenja u dobi od 4 do 6 godina u pokusnom nasadu Jastrebarsko.
Tablica 55. Ukupna srednja vrijednost svojstva, postoci komponente varijance i parametar kvantitativne genetske diferencijacije (Q_{ST}) za svojstvo preživljenja u dobi od 6 godina u pokusnom nasadu Koška.
Tablica 56. Ukupna srednja vrijednost svojstva, postoci komponente varijance i parametar kvantitativne genetske diferencijacije (Q_{ST}) za svojstvo preživljenja u dobi od 6 godina u pokusnom nasadu Vrbanja.
Tablica 57. Ukupna srednja vrijednost svojstva, postoci komponente varijance i parametar kvantitativne genetske diferencijacije (Q_{ST}) za svojstvo zimske retencije lišća u pokusnom nasadu Jastrebarsko tijekom tri uzastopne godine.
Tablica 58. Ukupna srednja vrijednost svojstva, postoci komponente varijance i parametar kvantitativne genetske diferencijacije (Q_{ST}) za svojstvo intenziteta zaraze hrastovom pepelnicom u dobi od 5 i 6 godina u pokusnom nasadu Jastrebarsko.
Tablica 59. Ukupna srednja vrijednost svojstva, postoci komponente varijance i parametar kvantitativne genetske diferencijacije (Q_{ST}) za svojstvo početka listanja u dobi od 5 do 7 godina u pokusnom nasadu Jastrebarsko.
Tablica 60. Ukupna srednja vrijednost svojstva, postoci komponente varijance i parametar kvantitativne genetske diferencijacije (Q_{ST}) za svojstvo stupnja oštećenosti kasnim proljetnim mrazem u dobi od 5 godina u pokusnom nasadu Jastrebarsko.
Tablica 61. Ukupna srednja vrijednost i postoci komponenta varijance za svojstvo visine u dobi od 6 godina na razini sva tri pokusna nasada.
Tablica 62. Test 3 za fiksne izvore varijabilnosti.
Tablica 63. Ukupna srednja vrijednost i postotak komponenata varijance za svojstvo preživljenja u dobi od 6 godina, zbirno za sva tri pokusna nasada.
Tablica 64. Test 3 za fiksne izvore varijabilnosti.
Tablica 65. Genetska raznolikost mikrosatelitnih lokusa zabilježena na uzorku 17 populacija hrasta lužnjaka (*Quercus robur* L.).
Tablica 66. Genetska raznolikost 17 istraživanih populacija hrasta lužnjaka (*Quercus robur* L.) na osnovu 10 jezgrinih mikrosatelitnih lokusa.
Tablica 67. Procjena učestalosti nul-alela (f_{null}) po lokusu i populaciji.
Tablica 68. Matrica vrijednosti indeksa genetičke diferencijacije F_{ST} i $F_{ST(null)}$ koji isključuju učestalost nul-alela.
Tablica 69. Prosječna vrijednost F_{ST} i R_{ST}.
Tablica 70. Matrica genetske udaljenosti između populacija na temelju tetivne udaljenosti.
Tablica 71. Signifikntnost Wilcoxon-ovog testa za suvišak [*P(E)*] i nedostatak [*P(D)*] heterozigotnosti u odnosu na heterozigotnost populacija koja se nalazi u ravnoteži mutacija i pomaka na temelju tri mutacijska modela za populacije hrasta lužnjaka (*Quercus robur* L.).
Tablica 72. Raspodjela raznolikosti na temelju analize molekularne varijance: A) između i unutar populacija; B) između i unutar rodoslovnih linija.
Tablica 73. Prostorna analiza genetske udaljenosti između 11 zemljopisnih razreda udaljenosti i prosječnog koeficijenta srodstva $F_{Ritland}$ (RITLAND 1996) između parova jedinki.
Tablica 74. Genetska raznolikost na temelju kloroplastnih mikrosatelitnih biljaga.

Tablica 75. Razine raznolikosti i diferencijacije na temelju *a*) neuređenih alela, *b*) uređenih alela i *c*) razlika po Modelu postupnih mutacija (SMM).
Tablica 76. Podjela raznolikosti kloroplastnih mikrosatelitnih biljega za sastavnice varijance između i unutra populacija korištenjem dvije mjere genetske udaljenosti.

POPIS SLIKA

Slika 1. Rasprostranjenost hrasta lužnjaka u Europi (DUCOUSSO I BORDACS EUFORGEN 2004).
Slika 2. Rasprostranjenost hrasta lužnjaka u Hrvatskoj (NN 114/15).
Slika 3. Sjemenske regije hrasta lužnjaka (*Q. robur* L.) u Hrvatskoj, (NN 114/15).
Slika 4. Pokusni nasad hrasta lužnjaka Jastrebarsko, travanj 2011. godine, biljke u polipropilenskim štitnicima, tzv. Tulijeve cijevi.
Slika 5. Pokusni nasad hrasta lužnjaka Koška, svibanj 2011. godine.
Slika 6. Pokusni nasad hrasta lužnjaka Vrbanja, studeni 2012. god.
Slika 7. Shema pokusnog nasada Jastrebarsko, obilježene provenijencije (populacije), te ponavljanja (različitim bojama).
Slika 8. Izmjere visina u pokusnom nasadu hrasta lužnjaka Jastrebarsko.
Slika 9. Kategorije zimske retencije lišća – zadržavanja prošlogodišnjeg odumrlog lišća do novog listanja, redom od 0–biljke bez odumrlog lišća na granama, 1, 2, do 3–biljka potpuno prekrivena sa odumrlim lišćem.
Slika 10. Ocjene intenziteta zaraze lista micelijem gljive pepelnice (iz LIOVIĆ I ŽUPANIĆ 2006).
Slika 11.a),b) Primjer biljke sa pokusnog nasada Jastrebarsko a) najviši stupanj zaraženosti pepelnicom, b) primjer nezaražene biljke.
Slika 12. Faze listanja hrasta lužnjaka.
Slika 13. Prikaz biljaka oštećenih mrazem.
Slika 14. a,b - Prikupljanje biljnog materijala za izolaciju DNK u pokusom nasadu hrasta lužnjaka, Jastrebarsko.
Slika 15. Vaganje lisnog tkiva, stavljanje u mikroepruvetu sa čeličnom kuglicom, te stoj za usitnjavanje materijala (TissueLyser).
Slika 16. Postupci izolacija DNK, dodavanje kemikalija, vorteksiranje, inkubiranje, odvajanje otopina, centrifugiranje, te pohrana konačnog izlota DNK.
Slika 17. Prosječne visine u pokusnom nasadu Jastrebarsko od 2010. do 2012. godine.
Slika 18. Prosječne visine populacija hrasta lužnjaka u sva tri pokusna nasada za 2012. godinu (dob 6 godina).
Slika 19. Prosječno preživljenje u pokusnom nasadu Jastrebarsko za tri uzastopne godine (2010.-2012.).
Slika 20. Prosječno preživljenje u sva tri pokusna nasada za 2012. godinu.
Slika 21. Prosječna ocjena zimske retencije lišća populacija hrasta lužnjaka u pokusnom nasadu Jastrebarsko, u dobi od 4 do 6 godina.
Slika 22. Prosječan intenzitet zaraze hrastovom pepelnicom populacija hrasta lužnjaka u pokusnom nasadu Jastrebarsko u dobi od 5 i 6 godina.
Slika 23. Prosječan početak prolistavanja u dobi od 5 do 7 godina u pokusnom nasadu Jastrebarsko.
Slika 24. Prosječna ocjena oštećenosti biljaka kasnim proljetnim mrazem u dobi od 6 godina u pokusnom nasadu Jastrebarsko.

Slika 25. Razdvajanje analiziranih populacija multivarijatnom regresijskom stabalnom analizom za svojstvo visine u dobi od 4 do 6 godina u pokusnom nasadu Jastrebarsko; *bFFP* – dan u godini kada počinje period bez mraza; *NFFD* – prosječan broj dana u jednoj godini bez mraza. % OV – postotak (%) ukupno objašnjenje varijabilnosti.

Slika 26. Razdvajanje analiziranih populacija multivarijatnom regresijskom stabalnom analizom za svojstvo preživljenja u pokusnom nasadu Jastrebarsko u dobi od 4 do 6 godina; *Eref* – Hargreaves-ova referentna evaporacija; *Tave_wt* – prosječna temperatura u zimi. % OV – postotak (%) ukupno objašnjenje varijabilnosti.

Slika 27. Razdvajanje analiziranih populacija multivarijatnom regresijskom stabalnom analizom za svojstvo zimske retencije lišća u dobi od 4 do 6 godina u pokusnom nasadu Jastrebarsko; *Elevation* – nadmorska visina (m); *MSP* – prosječna količina oborina tijekom ljetnog perioda (svibanj – rujan). % OV – postotak (%) ukupno objašnjenje varijabilnosti.

Slika 28. Razdvajanje analiziranih populacija multivarijatnom regresijskom stabalnom analizom za svojstvo intenziteta zaraze hrastovom pepelnicom u dobi od 4 do 6 godina u pokusnom nasadu Jastrebarsko; *Eref* – Hargreaves-ova referentna evaporacija; *MWMT* – prosječna temperatura najtoplijeg mjeseca. % OV – postotak (%) ukupno objašnjenje varijabilnosti.

Slika 29. Razdvajanje analiziranih populacija multivarijatnom regresijskom stabalnom analizom odnosa za svojstava intenziteta zaraze hrastovom pepelnicom i visinskog prirasta u dobi od 5 godina u pokusnom nasadu Jastrebarsko; *Eref* – Hargreaves-ova referentna evaporacija; *FFP* – period bez mraza. % OV – postotak (%) ukupno objašnjenje varijabilnosti.

Slika 30. Klasteri analiziranih populacija dobiveni multivarijatnom regresijskom analizom za svojstvo listanja populacija hrasta lužnjaka u dobi od 5 do 7 godina u pokusnom nasadu Jastrebarsko; *Longitude* – geografska dužina; *MAT* – prosječna godišnja temperatura. % OV – postotak (%) ukupno objašnjenje varijabilnosti.

Slika 31. Klasteri analiziranih populacija dobiveni multivarijatnom regresijskom analizom za svojstvo listanja i intenziteta zaraze hrastovom pepelnicom populacija hrasta lužnjaka u dobi od 5 do 7 godina u pokusnom nasadu Jastrebarsko; *Longitude* – geografska dužina; *MAT* – prosječna godišnja temperatura. % OV – postotak (%) ukupno objašnjenje varijabilnosti.

Slika 32. Razdvajanje analiziranih populacija multivarijatnom regresijskom stabalnom analizom za svojstvo intenziteta oštećenosti biljaka kasnim proljetnim mrazem u dobi od 5 godina u pokusnom nasadu Jastrebarsko; *Eref* – Hargreaves-ova referentna evaporacija. % OV – postotak (%) ukupno objašnjenje varijabilnosti.

Slika 33. Razdvajanje analiziranih populacija multivarijatnom regresijskom stabalnom analizom za svojstva intenziteta oštećenosti biljaka kasnim proljetnim mrazem u dobi od 5 godina i početka listanja (dob 5 – 7 godina) u pokusnom nasadu Jastrebarsko; *Tmax_sp* – prosječna maksimalna temperatura u proljeće, *Tmin_sm* – prosječna minimalna temperatura ljeti. % OV – postotak (%) ukupno objašnjenje varijabilnosti.

Slika 34. Razdvajanje analiziranih populacija multivarijatnom regresijskom stabalnom analizom za svojstvo visine u tri pokusna testa u dobi od 6 godina; *Eref* – Hargreaves-ova referentna evaporacija, *Latitude* – geografska širina, *TD* – razlika u temperaturama između najhladnijeg i najtoplijeg mjeseca. % OV – postotak ukupno objašnjenje varijabilnosti.

Slika 35. Razdvajanje analiziranih populacija multivarijatnom regresijskom stabalnom analizom za svojstvo preživljenja u tri pokusna nasada u dobi od 6 godina; *Eref* – Hargreaves-ova referentna evaporacija, *Tmin02* – minimalna prosječna temperatura u veljači. % OV – postotak ukupno objašnjenje varijabilnosti.
Slika 36. Nezakorijenjeno stablo izrađeno metodom FITCH I MARGOLIASH na temelju matrice tetivne vrijednosti između populacija. Vrijednosti *bootstrap* veće od 50% dobivene na temelju 1000 pseudoponavljanja označene su na pojedinim granama.
Slika 37. Regresija genetske diferencijacije [$F_{ST}/(1-F_{ST})$] na zemljopisnu udaljenost [ln(km)] za sve parove populacija.
Slika 38. Korelogram 11 zemljopisnih razreda udaljenosti i prosječnog koeficijenta srodstva.
Slika 39. Prikaz odnosa analiziranih baricentara (sredina) populacija u koordinatnom sustavu određenom prvim dvjema osima faktorijalne analize korespondencije (FCA).
Slika 40. Median-Jojning mreža haplotipova. Haplotipovi: H01-H32, medijanski vektori: mv 1,2,4,7 i 8.
Slika 41. Aditivno stablo kloroplastnih haplotipova na temelju udjela zajedničkih alela (D_{PSA}). Pripadnost haplotipova različitim linijama označene su bojama i uokvirene isprekidanim linijama. Vrijednosti *bootstrap* podrške više od 50% na temelju 1000 pseudoponavljanja naznačene su iznad grana.
Slika 42. Distribucija rodoslovnih linija L1 – L3 po populacijama, linije su označene bojama.

1. UVOD

1.1. Taksonomski položaj hrasta lužnjaka (*Quercus robur* L.)

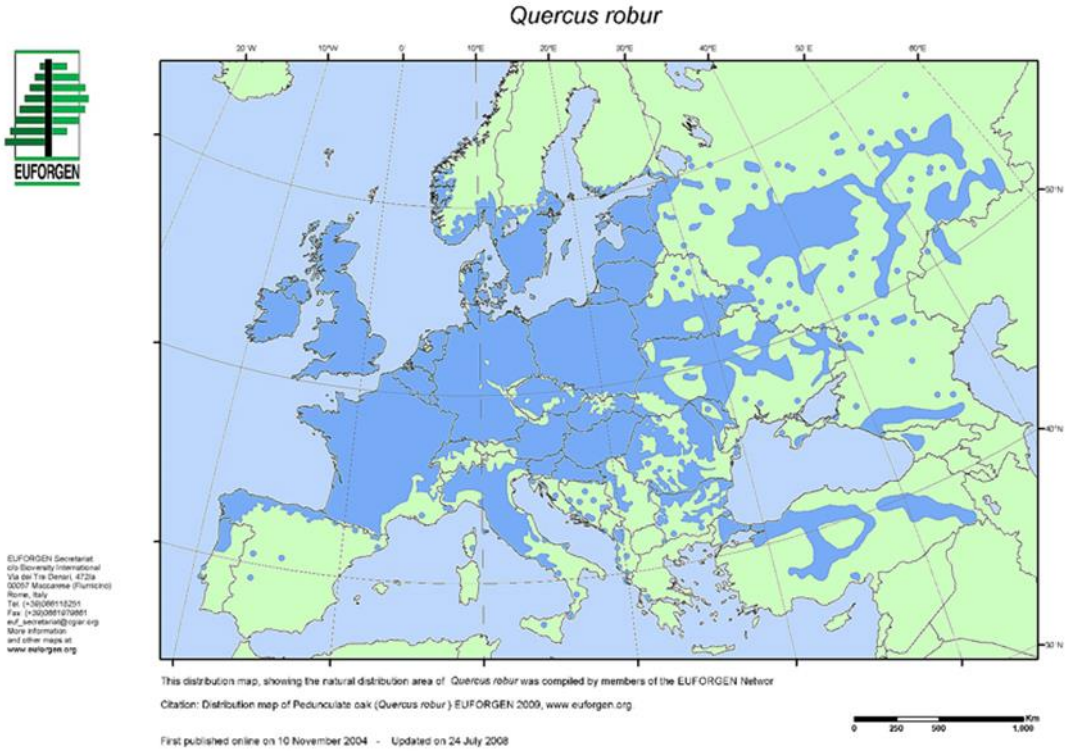
Taksonomski (THORNE 1992) se rod *Quercus* L. svrstava u odjeljak *Spermatophyta*, pododjeljak *Magnoliophytina* (*Angiospermae*), razred *Magnoliopsida* (*Dicotiledonae*), podrazred *Hamamelididae*, red *Fageles* i porodicu *Fagaceae*.

Hrastovi (*Quercus* L.) spadaju u najraširenije i ekonomski najvažnije vrste drveća sjeverne hemisfere. Ubrajamo ih u jedan od najbogatijih rodova, a broj vrsta unutar roda kreće se od 200 (ASCHERSON I GRAEBNER 1911 IZ TRINAJSTIĆ 1996) do 600 (MELCHIOR 1964 IZ TRINAJSTIĆ 1996). Hrastovi su listopadno ili vazdazeleno drveće, rjeđe grmovi. Rasprostranjeni su u Europi, Sjevernoj Americi, djelu tropske Južne Amerike, Sjevernoj Africi, te u umjerenoj i suptropskoj zoni Azije ne prelazeći ekvator. Opisano je mnogo fosilnih vrsta iz tercijara i krede. U flori Hrvatske zastupljeno je 8 autohtonih vrsta: *Q. robur, Q. petraea, Q. pubescens, Q. ilex, Q. cerris, Q. trojana, Q. virgiliana, Q. polycarpa* (TRINAJSTIĆ 1996).

Nazivom '*Quercus robur*' prvobitno su bile obuhvaćene vrste *Q. robur, Q. petraea, Q. pubescens, Q. brutia, Q. dalechampii* i *Q. appennina*, a dugo vremena upotrebljavao se i sinonim *Q. pedunculata*, ali se to ispravilo sredinom prošlog stoljeća. Tako se Linnéov naziv '*Quercus robur*' odnosi na hrastove golih izbojaka i listova, te cvjetova sakupljenih u klas s dužom ili kraćom osi (stapkom) (TRINAJSTIĆ 1996).

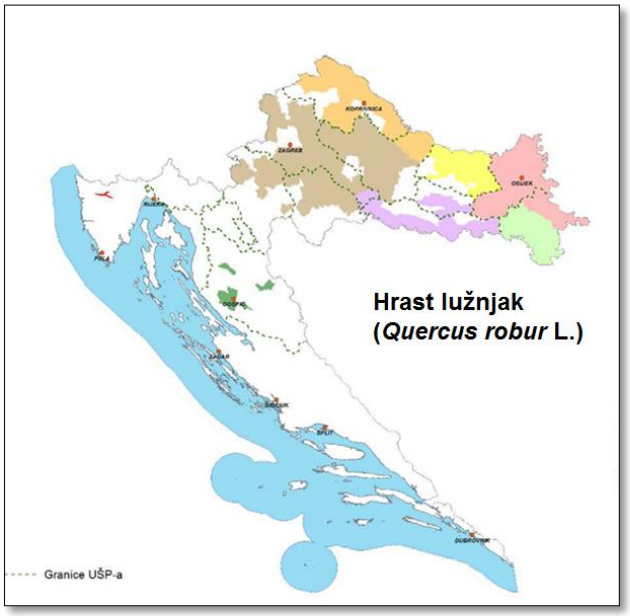
1.2. Rasprostranjenost hrasta lužnjaka

Hrast lužnjak zauzima najveći areal od svih europskih hrastova. Rasprostire se od sjevera Španjolske do južne Skandinavije, te od Irske do istočne Europe, a doseže i planine Urala (DUCOUSSO i BORDACS 2004). Na temelju flornog kartiranja UTM Mreže (TRINAJSTIĆ 1996) u Europi se hrast lužnjak proteže između 40° i 60° sjeverne geografske širine i od atlantske obale do zapadnoazijskih stepa (slika 1). Izvan Europe pridolazi i u sjeveroistočnoj Rusiji, Maloj Aziji i sjevernoj Africi (FRANJIĆ i ŠKVORC 2010; IDŽOJTIĆ 2009). Unutar svog velikog areala, hrast lužnjak je ipak ograničen na određene ekološke uvjete i rijetko ga se nalazi u toplijim dijelovima Europe i u Sredozemlju.



Slika 1. Rasprostranjenost hrasta lužnjaka u Europi (DUCOUSSO i BORDACS EUFORGEN 2004).

U Republici Hrvatskoj hrast lužnjak zauzima velike površine kao jedna od najvažnijih i najvrjednijih šumskogospodarskih vrsta. Rasprostranjen je u poplavnom dijelu porječja velikih rijeka Drave, Save i Kupe, te njihovih većih i manjih pritoka. Izvan toga područja razvija se u poplavnim dijelovima Ličkog, Imotskog, Sinjskog i Vrličkog polja, u porječju rijeke Mirne u Istri, te u Omišljanskom lugu na otoku Krku (TRINAJSTIĆ 1996; NN 114/2015) (slika 2).



Slika 2. Rasprostranjenost hrasta lužnjaka u Hrvatskoj (NN 114/15).

1.3. Osnovne biološko–ekološke osobine hrasta lužnjaka

Hrast lužnjak je anemofilna, heliofilna i mezofilna vrsta. Zahtjeva duboka, glinasta ili pjeskovita, plodna, pretežito vlažna tla s visokom razinom podzemne vode i uglavnom pridolazi na hidromorfnim tlima, od kojih je najrasprostranjeniji tip močvarno euglejno. Matični supstrati na kojima pridolaze lužnjakove sastojine u Hrvatskoj podijeljeni su na holocenske i pleistocenske sedimente, koji su često u krajoliku raspoređeni na holocenske, te mlađu i stariju, više izdignutu pleistocensku terasu. Najzastupljeniji supstrati u lužnjakovim sastojinama su teško glinasti holocenski sedimenti, zamočvareni prapor i pleistocenske ilovače (MAYER 1996; FRANJIĆ i ŠKVORC 2010).

Šume hrasta lužnjaka pridolaze u Hrvatskoj u nizinskom području i obodnim terasama, ponajprije zbog higrofilnih osobina staništa u koje se slijevaju velike količine vode iz viših dijelova porječja. Dolaze i na tlima nizinskih terasa zasićenih padalinama zbog nepropusnog matičnog supstrata ili na tlima ravnjaka velikog kapaciteta pristupačne vlage. Na takvim staništima višak se vode stvara u aktivnom profilu tla, kombinirano prekomjerno navlažuje i uzrokuje hidromorfizam redukcijom, oksidoredukcijom, anaerobiozisom, te se tako u raznim kombinacijama glinastog, ilovastog i pjeskovitog fluvijalnog nanosa, te močvarnog eolskog prapora stvaraju raznoliki tipovi vodnog režima i tipovi tala (MAYER 1996).

U Hrvatskoj hrast lužnjak dolazi u tri glavne zajednice koje su u sistematskom pogledu svrstane u asocijacije *Carpino betuli-Quercetum roboris* (Anić 1959) Rauš 1969 (šuma hrasta lužnjaka i običnog graba) s četiri subasocijacije, zatim *Genisto elatae-Quercetum roboris* Horvat 1938 (šuma hrasta lužnjaka i velike žutilovke) također s četiri subasocijacije, te *Carici pendulae-Fraxinetum angustifoliae* Pedrotti 1970 („Motovunska šuma“ poljskog jasena i hrasta lužnjaka s visećim šašem), (RAUŠ 1996; VUKELIĆ i dr. 2008; VUKELIĆ 2012).

Hrast lužnjak je vrsta šumskog drveća s vrlo izraženom varijabilnošću fizioloških i morfoloških svojstava (KRSTINIĆ 1996). Listopadna je, monoecijska vrsta sa jednospolnim cvjetovima smještenim u resama. Lista i cvjeta u travnju i svibnju, a plod sazrijeva tijekom rujna i listopada. Raste kao stablo visine 30-40 (50) m i promjera 2,5 m. Krošnja mu je široka, nepravilna i razgranata. Kora je u mladosti glatka, kasnije uzdužno ispucala, (u starosti uzdužno dubokim, a poprečno plitkim brazdama). Korjenov sustav je jako razvijen sa žilom srčanicom duljine nekoliko metara i bočnim korijenjem koje se prostire znatno u širinu. Pupovi su pokriveni brojnim, golim i spiralno raspoređenim ljuskama svijetlosmeđe boje, a

vršni pup je okružen s više manjih postranih pupova. Listovi su na debelim, golim i 2-10 mm dugim peteljkama. Plojka je 8-15 (20) cm duga a 3-10 cm široka, na bazi asimetrična, okruglasta ili uškasta. Cvjetovi su jednospolni. Muške rese 2-5 cm dužine, se pojavljuju prije listanja, na vrhu prošlogodišnjih izbojaka, obično blizu osnove produljenog izbojka. Ženski cvjetovi su oformljeni u veljači ili ožujku, a cvatovi se pojavljuju pri vrhu ovogodišnjih izbojaka. Plod (žir) je oko 1,5-5 cm dugačak, 0,7-2,7 cm širok s površinskim uzdužnim prugama, svijetlosmeđi ili žućkast. Viri iz kupole 1/2 do 2/3 dužine žira. Plodovi su pojedinačni ili po 2-5 plodova na 3-6(16) cm dugim zajedničkim stapkama (VIDAKOVIĆ 1996; FRANJIĆ i ŠKVORC 2010). Broj žireva u kilogramu kreće se od 150 do 250, a prosječno oko 170 žireva/kg (GRADEČKI i dr. 1993).

Hrast lužnjak kao i mnoge druge vrste hrastova proizvodi velike količine polena. Hrastov polen može biti nošen vjetrom na udaljenosti 60-70 km, a u visinu 2000-3000 m (VIDAKOVIĆ 1996). Pod utjecajem povoljnih meteoroloških prilika muške rese polen počinju trusiti 1 – 2 tjedna nakon otvaranja pupova, a trušenje polena završava za 2 – 4 dana (BACILIERI i dr. 1994 iz FRANJIĆ i dr. 2011). Disperzija polena je najveća kada je relativna vlaga najmanja. Najveća količina polena se proizvodi u gornjem dijelu krošnje. Trušenje polena se odvija dobrim dijelom noću (VIDAKOVIĆ 1996). Receptivnost ženskog cvata traje 10 – 14 dana, dok receptivnost pojedinog cvijeta unutar cvata traje najviše do šest dana (DUCOUSSO i dr. 1993 iz FRANJIĆ i dr. 2011).

Postotak zrelih žireva nije visok u odnosu na količinu oformljenih cvjetova. Samo mali broj cvjetova se razvije u plodove, dok veći dio otpada tijekom razvoja. Nezreli plodovi padaju zbog vanjskih ekoloških čimbenika koji primarno djeluju u vremenu između oprašivanja i oplodnje, te čimbenika koji se pojavljuju nakon oplodnje. Uvjeti za dobru cvatnju su povoljno fiziološko stanje stabla, povoljno stanje cvjetnih pupova u vrijeme njihova razvoja (vremenske prilike u ljeto, jesen i zimu godine prije uroda, temperaturni i oborinski odnosi), vrijeme odmora nakon punog uroda, dovoljan broj i povoljan odnos muških i ženskih cvjetova. Na cvatnju i urod žira utječe i dob stabla, njegova genetska konstitucija, zdravstveno stanje i razvijenost krošnje, te količina svjetla koje prodire u krošnju. Na uspjeh oprašivanja utječe i veličina sastojine. Ako je ona veća, uspjeh je bolji. Međutim, biotski i abiotski čimbenici utječu na uništenje ili smanjenje cvatnje (VIDAKOVIĆ 1996).

1.4. Značaj i ugroženost hrasta lužnjaka

Hrast lužnjak kao naša najvrjednija vrsta drveća od pamtivijeka je imala važnu ulogu kako u ekonomsko-socijalnom tako i u ekološkom smislu. Jedna desetina ukupne površine šuma u Hrvatskoj otpada na hrast lužnjak. Tvori biocenoze u kojima s pratećim vrstama tvori stabilne ekosustave. Procjenjuje se kako je ekološki učinak šuma hrasta lužnjaka nekoliko puta veći od gospodarskog. To najprije vrijedi za antierozijsku i hidrološku ulogu šuma. U svojem staništu hrast lužnjak održava ravnotežu vodnog režima procesima fotosinteze pri čemu nastaje velika transpiracija, te na taj način sprječava zamočvarenje terena i povoljno djeluje na vodni režim u tlu (KLEPAC 1996). Kako dolazi na hidromorfnim tlima (MAYER 1996), osjetljiv je na sušu. Intenzivno sušne godine, osobito ako slijede jedna za drugom, predstavljaju veoma nepovoljne ekološke uvjete za normalan rast hrasta lužnjaka. Padne li razina podzemne vode ispod normale, zaostaje u rastu, a vrhovi se suše. Za ovu vrstu je štetna i dugotrajna poplava, odnosno stagniranje vode, kao i visoka razina podzemne vode u vegetacijskom periodu. Posljedice nepovoljnih ekoloških uvjeta nisu jednako štetne za sve tipove sastojina i ovise o dobi, sklopu, smjesi, obrastu, podstojnom rašću itd. Važnu ulogu u procesima sušenja hrasta lužnjaka imaju razni štetnici, osobito defolijatori, kao gubar, zlatokraj, hrastov savijač, mrazovci, te hrastov četnjak. Na gradaciju tih štetnika u prvom redu utječe klima, odnosno vremenske prilike. Klima utječe i na ekstremne temperature i sušu, te poplavu. Negativno djelovanje klime očituje se u slabljenju fizioloških funkcija stabala, što omogućava da ostali čimbenici neposredno djeluju i izazovu sušenje šuma. Svi biotski i abiotski čimbenici sami za sebe ne mogu utjecati na sušenje hrastovih šuma, međutim kada sinhronizirano djeluju, mogu biti odlučujući (HARAPIN i ANDROIĆ 1996). Kako ovi autori navode, o sušenju hrasta lužnjaka na našim područjima izvješćivano je još od početka prošlog stoljeća. PRPIĆ (1996) navodi kako su velike sječe naših šuma tijekom 19. stoljeća, zbog potrebe za kvalitetnim drvetom hrasta lužnjaka, izazvale promjene u klimatskim i hidrološkim prilikama sječina i njihove okoline. Nestankom sklopa i stabala koja intenzivno transpiriraju, u nekada svježem i vlažnom staništu dolazi do zabarivanja uz veće zagrijavanje rizosfere, te se prirodni pomladak nalazi u barskim prilikama za koje nije prilagođen. Nakon velikih sječa nizinskih prašuma promijenile su se mikroklimatske prilike i povećala vlažnost staništa, te u nekadašnjem arealu hrasta lužnjaka dolazi do pojave vrsta drveća koje mogu uspijevati u barskim prilikama. No, obnovom prašuma davana je prednost hrastu lužnjaku i stvorene su monokulture u kojima je narušena biološka ravnoteža, te češće dolazi do intenzivnog razvoja

biotskih štetnika koji također uvelike narušavaju stabilnost. Međutim, presudan čimbenik čiji se utjecaj vrlo brzo odražava na vitalnost stabala hrasta lužnjaka je voda. Višak vode, zabarivanje i zamočvarenje kao i njezin manjak, pad razina podzemne vode i suša, odražavaju se na proizvodnju i vitalnost stabala (PRPIĆ 1996). Voda je osim uzgojnim zahvatima u sastojinama, ponajprije utjecana klimatskim čimbenicima. Ekstremne klimatske prilike u posljednjih nekoliko desetljeća, s obzirom na referentno razdoblje 1961.–1990. godine prema podacima DHMZ-a, sve intenzivnije utječu na stanje i obnovu šuma hrasta lužnjaka (MATIĆ i dr. 1996; GRADEČKI-POŠTENJAK i dr. 2011). Predviđa se da će se negativni trendovi globalne promjene klime u smislu porasta temperature, smanjenja količine oborina i veće učestalosti ekstremnih klimatskih pojava najviše pogoditi područje južne Europe, u koje pripada i cijela Hrvatska (PARRY 2007; LINDNER i dr. 2010). Recentne prognoze promjena u rasprostranjenosti vrsta drveća i šumskih ekosustava ukazuju na snažan negativan utjecaj klimatskih promjena na gospodarsku situaciju šumovlasnika (HANEWINKEL i dr. 2013).

1.5. Razdjelba sjemenskih jedinica i prometovanje šumskim reprodukcijskim materijalom hrasta lužnjaka u Hrvatskoj

Kategoriziranje šuma u Republici Hrvatskoj započelo je grubom razdjelbom područja na sjemenske jedinice. Ta razdjelba kao glavnu vodilju imala je značajke staništa u kojem se sakuplja sjeme i stanište u koje se ono prenosi, zbog već uočenog neuspjelog pošumljavanja sa materijalom koji nije prilagođen uvjetima staništa na koje se unosi (ŠAFAR 1958). Također, ŠAFAR (1958) u svom radu piše kako se sjemenske baze (sastojine) trebaju određivati s obzirom na stanište, biološko-ekološke značajke, kao i s obzirom na genetske, fiziološke i morfološke, osobine pojedinih vrsta drveća, a sve u skladu s gospodarskim zahtjevima i potrebama. Kao osnovne kriterije za razdjelbu na sjemenske jedinice navodi: geografsko-ekološke faktore – makroklimatske, makropedološke i makrohidrografske značajke, zatim regionalne klimatske i pedološke osobine, te razdjelbu na šumsko-privredna područja po SMILAJU (1957). Navodi i kako je sjemenska oblast nizinska vrlo specifična zbog vrlo mozaičnog mikroreljefa i mozaične ispremiješanosti različitih tipova tala, kao i zbog različite razine podzemne vode, tipovi šumske vegetacije često su i na manjim površinama vrlo ispremiješani i ne mogu se lako međusobno razlučiti, dok su drugdje razlike očigledne. Ova

razdjelba nije nikada primijenjena u šumarskoj operativi, međutim kriteriji za izdvajanje ostali su isti (GRADEČKI i dr. 1990).

Radna grupa za područje sjemenarstva donijela je 1988. godine među ostalim zaključcima prilikom izrade pravilnika o analizama šumskog sjemena kao prioritetni zadatak izradu jedinstvene metodologije razdjelbe područja cijele Jugoslavije (GRADEČKI i dr. 1990). Međutim prva konkretna razdjelba dogodila se 1993. godine.

Zakonom o šumskom sjemenu i šumskom sadnom materijalu (NN 11/90) propisana je rajonizacija šuma, što bi trebalo biti dovršeno do 30. ožujka 1995. godine. Time je prihvaćena podjela Republike Hrvatske na sjemenske oblasti, sjemenske zone i sjemenske rajone. Podjelu teritorija šuma i šumskih površina Republike Hrvatske dala je Komisija za rajonizaciju, sastavljena od eminentnih šumarskih stručnjaka od 9. prosinca 1993. godine (POPIJAČ i VREBČEVIĆ 2000).

Prema namjeni šume se dijele na gospodarske šume (89,8 %) te šume posebne namjene i zaštitne šume (10,2 %) (http://portal.hrsume.hr).

Prema Zakonu o šumama (NN 140/05) šume s posebnom namjenom jesu:

-šume i dijelovi šuma registrirani za proizvodnju šumskoga sjemena (šumski sjemenski objekti),

-šume unutar zaštićenih područja ili prirodnih vrijednosti zaštićene na temelju propisa o zaštiti prirode,

-šume namijenjene znanstvenim istraživanjima, nastavi, potrebama obrane Republike Hrvatske te potrebama utvrđenim posebnim propisima.

Radi zadovoljavanja potreba za šumskim reprodukcijskim materijalom za biološku obnovu šuma kao i za očuvanje genofonda i biološke raznolikosti naših šuma, iz kategorije gospodarskih šuma izdvajaju se najkvalitetniji dijelovi šuma (sastojine autohtonih i gospodarski značajnih vrsta šumskog drveća), zaštićuju se i izuzimaju iz redovitog gospodarenja. Upisuju se u kategoriju šuma posebne namjene te u kategoriju zaštitnih šuma, kojima se gospodari po posebnim propisima. Izdvajanjem tih šuma ujedno se provodi i očuvanje genofonda *'in situ'* metodom, odnosno na prirodnom staništu.

Sjemenska razdjelba šuma hrasta lužnjaka prema Pravilniku o područjima provenijencija svojti šumskog drveća od gospodarskog značaja (NN 147/11) propisuje smjernice za korištenje šumskog reprodukcijskog materijala (ŠRM). Navedena razdjelba (zonacija) određena je na temelju ekoloških razlika, produktivnosti sastojina i administrativno-gospodarskih posebnosti u području kontinentalnog i submediteranskog područja rasprostranjenosti vrste (BOGDAN 2009). Pravilnik je proizišao iz Zakona o šumskom

reprodukcijskom materijalu (NN 75/09) koji je usklađen s Uputom Europskog vijeća o prometovanju šumskim reprodukcijskim materijalom (COUNCIL DIRECTIVE 1999/105/EC).

Važeća razdioba šuma hrasta lužnjaka na područja provenijencija sastoji se od četiri sjemenske zone (1. Sjemenska zona nizinskih šuma Podravine i Podunavlja, 2. Zona nizinskih šuma Posavine, srednje Hrvatske i Pokuplja 3. Zona šuma hrasta kitnjaka i pitomog kestena, te 4. jugozapadna zona submediteranskih šuma – Motovunska šuma), i 8 sjemenskih regija (podzona) (NN 147/11, 96/12, 115/14 i 114/15) (tablica 1, slika 3). Propisani uvjeti korištenja ŠRM-a hrasta lužnjaka preporučuju njegovo korištenje unutar jedne sjemenske zone, a dozvoljeno je unutar jedne oblasti. Međutim, u oblasti brdsko-gorsko-planinskih te oblasti submediteranskih šuma, dozvoljeno je korištenje šumskog reprodukcijskog materijala samo unutar sjemenske regije.

Šumske zajednice hrasta lužnjaka u Hrvatskoj pridolaze u tri oblasti: nizinskoj (1.), oblasti brdsko-gorsko-planinskih šuma (3.) i submediteranskoj (4.).

1. Oblast nizinskih šuma (80–200 m n.v.)

1.1. Sjemenska zona nizinskih šuma Podravine i Podunavlja (80–200 m n.v.)

Glavno obilježje daje rijeka Drava. Svojom snagom, količinom vode, njezinim vodostajem i dinamikom plavljenja stvoreni su tipovi tala sa specifičnim obilježjima. Veliko učešće pijeska i šljunka stvaraju posebne hidrološke prilike što ova staništa čini različitim od onih u području Save. Direktna blizina sjevernog dijela Panonske nizine utječe na klimatske parametre koji su obilježeni s ne toliko toplijom, koliko sušom klimom. Utjecaj Alpa odnosno topljenje snijega u njima odrazio se i na vrijeme poplava koje su u ovim staništima prisutne nešto kasnije nego uz rijeku Savu, a najčešće u kasno proljeće.

1.1.1. Sjemenska regija Baranja, Đakovački i Vukovarski ravnjak

1.1.2. Sjemenska regija srednja Podravina

1.1.3. Sjemenska regija gornja Podravina

1.2. Sjemenska zona nizinskih šuma Posavine, srednje Hrvatske i Pokuplja (80–200 m n.v.)

Vodni odnosi u ovoj zoni ovisni su o rijeci Savi, koja ove prostore plavi najčešće u rano proljeće. Povratne vode nabujalih potoka često izazivaju poplave i tijekom vegetacijskog razdoblja. Osnovni činitelj rasporeda vode je mikroreljef koji je u ovim prostorima naročito izražen mikrouzvisinama i mikroudubinama, nazvan u narodu grede, nize i bare.

Raznolikost terena uvjetovao je mozaički raspored tala koja su u odnosu na podravsko – podunavsku sjemensku zonu težeg mehaničkog sastava, dubljeg ekološkog profila i duže zadržavaju akumuliranu vlagu. Različitost stanišnih prilika uvjetovala je pridolazak šumskih zajednica hrasta lužnjaka i poljskog jasena. U ovoj zoni prevladava kontinentalna klima opisana u oblasti nizinskih šuma.

1.2.1. Sjemenska regija donja Posavina

1.2.2. Sjemenska regija srednja Posavina

1.2.3. Sjemenska regija gornja Posavina i Pokuplje

3. Oblast brdsko-gorsko-planinskih šuma (150 – 1500 m n.v.)

3.1. Sjemenska zona šuma hrasta kitnjaka i pitomog kestena (150 – 400 m n.v.)

Obuhvaća zapadni dio naše zemlje na nižim položajima kontinentalne klime, što ju čini bitno različitom od zone u panonskom dijelu Hrvatske.

3.1.1. Sjemenska regija Lika

4. Oblast submediteranskih šuma (0 – 1 000 m n.v.)

4.1. Sjemenska zona jugozapadna (do Tijarice) (0 – 1000 m n.v.)

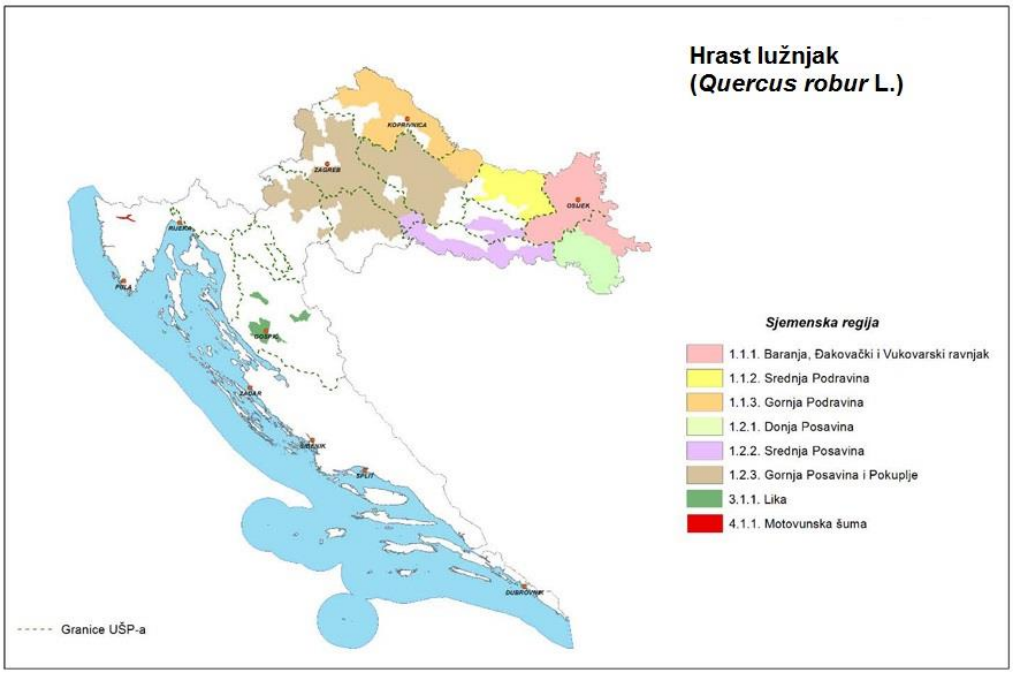
Sjemenska zona obuhvaća priobalni pojas sjevernog Hrvatskog primorja. Na otocima kvarnerskog zaljeva, u vapnenačkom dijelu Istre, duž priobalnog dijela podvelebitskog kanala i u Ravnim kotarima, na plitkoj kamenoj podlozi antiklinala zauzima velike površine. Obilježena je zajednicom medunca i bijelog graba u litoralnom pojasu, te šumama medunca i crnoga graba u montanskom pojasu. Ovakav razvitak u vertikalnom profilu upućuje na hladnije klimatske prilike, čime se potvrđuje i izostanak vazdazelenih mediteranskih elemenata.

4.1.1. Sjemenska regija Motovunska šuma

(NN 147/11, 96/12, 115/14 i 114/15).

Tablica 1. Razdjelba sjemenskih jedinica hrasta lužnjaka (*Q. robur* L.) u Hrvatskoj, (NN 114/15).

Sjemenska oblast	Sjemenska zona	Sjemenska regija	Meteorološka postaja (n/m)	Klimatološki podaci						Ekološki podaci		
				Temperatura (°C)			Oborina (mm)		Sred. datumi nastupa temp. praga 5°C (1971-2000)		Geološka podloga	Prevladavajući tip tla
				T. prosj.	T. min.	T. max.	Ukupno	U veg. razdoblju	Ulazni dio	Silazni dio		
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
1. Nizinskih šuma (80-200 m n.v.)	1.1.Podravine i Podunavlja (80-200 m n.v.)	1.1.1. Baranja, Đakovački i Vukovarski ravnjak	Brastovac - Belje (91)	10,8	-0,3	21	572,8	350,6	4.3.	15.11.	Les i lasoliki materijal	Euglej Luvisol, Pseudoglej, Eurtični kamisol
		1.1.2. Srednja Podravina	Valpovo (92)	10,8	-0,2	20,9	696,5	385,3	5.3.	17.11.	Les i lasoliki materijal, Aluvij	Fluvisol, Humofluvisol, Euglej
		1.1.3. Gornja Podravina	Koprivnica (141)	11	0	20,4	850	477,5	5.3.	15.11.	Lesoliki materijal, Pleistocene ilovine i glina, Aluvij	Euglej Pseudoglej, Humofluvisol, Fluvisol
	1.2. Posavine, srednje Hrvatske i Pokuplja (80-200 m n.v.)	1.2.1. Donja Posavina	Gradiška (97)	11,2	0,3	21,1	668,2	399,6	1.3.	20.11.	Pleistocene ilovine i gline, Aluvij	Euglej, Humofluvisol, Pseudoglej
		1.2. Srednja Posavina	Slavonski Brod (88)	10,7	-0,2	21	748,1	426,3	4.3.	16.11.	Pleistocene ilovine i gline, Aluvij	Euglej, Humofluvisol, Pseudoglej
		1.2.3. Gornja Posavina i Pokuplje	Sisak (98)	10,9	0,5	21,2	874,6	489,7	2.3.	17.11.	Pleistocene ilovine i gline, Aluvij	Euglej, Humofluvisol, Pseudoglej
3. Brdsko-gorsko-planinskih šuma (150-1500 m n.v.)	3.1. Šuma hrasta kitnjaka i pitomog kestena (150-750 m n.v.)	3.1.1. Lika	Gospić (564)	8,7	-0,8	18,5	1365,9	596,5	22.3.	9.11.	Vapnenci i dolomiti, Promina naslage i klastiti	Luvisol, Smeđa tla na vapnencima i dolomitima
4. Submediteranskih šuma (0-1000 m n.v.)	4.1. Jugozapadna (do Tijarice) (0-1000 m n.v.)	4.1.1. Motovunska šuma	Pazin (291)	11,3	3	20,8	993,9	526,3	29.2.	4.12.	Alivuj, Fliš	Euglej, Fluvisol



Slika 3. Sjemenske regije hrasta lužnjaka (*Q. robur* L.) u Hrvatskoj, (NN 114/15).

Temelj za pravilnu sjemensku razdjelbu trebale bi biti adaptivne genetske razlike unutar određene vrste drveća na geografskom području njene rasprostranjenosti. Ako takve razlike postoje, onda se područje rasprostranjenosti razdjeljuje na sjemenske zone odnosno područja provenijencija između kojih vrsta pokazuje adaptivne genetske razlike. Sjemenskom se razdjelbom preporučuje prometovanje šumskim reprodukcijskim materijalom unutar pojedine sjemenske zone odnosno područja provenijencije, jer se pretpostavlja kako su provenijencije genetski prilagođene na specifične okolišne uvjete unutar svojih područja (IVANKOVIĆ i dr. 2011).

Osnova razdjelbe na temelju ekoloških razlika je pretpostavka kako razlike u ekološkim uvjetima putem mehanizama prirodne selekcije uzrokuju genetsku diferencijaciju unutar vrste. Prema takvim pretpostavkama, populacije koje se rasprostiru na geografskom području u kojemu vladaju slični ekološki uvjeti prilagođene su upravo na takve uvjete, a ne na uvjete koji vladaju u drugim geografskim područjima. Stoga se preporučuje da se takva geografska područja proglašavaju područjima provenijencija i da se reprodukcijski materijal koristi isključivo unutar istog područja u kojemu mu je i podrijetlo. Međutim, proces prilagođavanja i genetske diferencijacije populacija nije uzrokovan samo mehanizmima selekcije, već ga oblikuju i drugi tzv. evolucijsko-adaptacijski čimbenici, a to su migracije gena, mutacije i genski drift (WHITE i dr. 2007). Ako takve razlike postoje one se jedino mogu

istražiti putem osnivanja pokusnih nasada tzv. dugoročnih genetičkih testova u kojima provenijencije u ujednačenim okolišnim uvjetima ispoljavaju genetske razlike.

Današnje gospodarenje šumama u Hrvatskoj bazira se na potrajnom gospodarenju te korištenju sjemena izvornih sastojina za podizanje novih generacija šuma. Međutim sve više pažnje se pridaje i umjetnoj obnovi šuma hrasta lužnjaka (FRANJIĆ i ŠKVORC 2001). Kako sve ekstremnije klimatske prilike negativno utječu na stabilnost i vitalitet šuma te njihovu biološku produkciju, potrebno je unositi dodatne količine žira u sastojine. Vrlo je važno voditi računa o ekološkim osobinama staništa (mikrookolišnim uvjetima) iz kojih se te dodatne količine sjemena sakupljaju. Ovakav način održivog gospodarenja vrlo je važna komponenta i u samom očuvanju genetske raznolikosti fitocenoza. Tako osim očuvanja genetske raznolikosti, čovjek svojim aktivnostima pravilnog korištenja šumskog reprodukcijskog materijala može uvelike utjecati na stabilnost i egzistenciju šuma.

1.5.1. Sjemenske sastojine hrasta lužnjaka

Izbor sjemenskih sastojina, tj. masovna selekcija, obavlja se zbog podmirivanja potreba za sjemenom određene vrste drveća u određenoj sjemenskoj jedinici, te očuvanja genofonda i biodiverziteta ekosustava.

Sjemenska sastojina je fenotipski iznadprosječna šumska sastojina, prostorno omeđena, kojom se gospodari kako bi zadovoljila kriterij proizvodnje kvalitetnog sjemena. Kategorija šumskog reprodukcijskog materijala (ŠRM) koji se dobiva iz sjemenskih sastojina je selekcioniran (SE) (NN 75/09; NN 56/13).

Za sjemenske sastojine izrađuje se desetogodišnji Program njege i genetske melioracije kojim se propisuje cilj i način gospodarenja sjemenskom sastojinom kao uređajnim razredom šuma s posebnom namjenom, prema Zakonu o šumama NN 140/2005. Provodi se intenzivnije gospodarenje, a cilj je što češća i što obilnija fruktifikacija, odnosno plodonošenje. Kako bi postigli što obilnije plodonošenje potrebna je što veća površina krošanja stabala, te se zbog toga provode intenzivniji zahvati, jer u ovakvim sastojinama primarni cilj nije pridobivanje drvnih sortimenata kao u gospodarskim šumama, već dobivanje što kvalitetnijeg sjemena. Stabla su nešto niže visine, ali sa većom površinom krošnje.

Osim toga, kada je riječ o jednodobnim sastojinama najpovoljniji je izbor sastojine koja se nalazi u dobi do polovice gospodarske ophodnje, jer je u tom stadiju razvoja još uvijek nazočan velik broj stabala i veća je mogućnost boljeg odabira (selekcije) nositelja sjemenske

proizvodnje, nego kad se radi o sastojini koja se nalazi pri kraju ophodnje s uobičajeno malim brojem stabala po 1 ha. U ranijoj dobi sastojinu je lakše privesti namjeni dobivanja sjemena. Broj i površina sjemenskih objekata iz godine u godinu variraju, stare sastojine se ispisuju, a nove upisuju i izdvajaju iz redovitog gospodarenja šumama. Kako bi sastojine priveli namjeni i postigli što češće i obilnije fruktifikacije potrebno je provoditi intenzivnije gospodarenje, jer je primarni cilj što češće i što obilnije plodonošenje i proizvodnja kvalitetnog sjemena.

1.6. Genetska raznolikost – definicija, značaj i uvjetovanost

Genetska raznolikost (genetska varijabilnost, genetski diverzitet) dio je ukupne biološke raznolikosti, a zapravo predstavlja bogatstvo različitih alela unutar jedinki, populacija odnosno vrsta. Viša razina genetske raznolikosti omogućava bolju prilagodbu jedinki, populacija odnosno vrsta u promjenjivom okolišu, odnosno sposobnosti njihovog prilagođavanja. Genetska varijabilnost je dakle temelj evolucijskog razvoja. Dugoročni opstanak vrste ovisi o njezinoj sposobnosti prilagođavanja promijenjenim uvjetima okoliša. Gubitak genetske varijabilnosti značio bi smanjenje dugoročne prilagodljivosti populacija odnosno vrsta.

Različiti prirodni čimbenici utječu na genetsku raznolikost neke vrste. Prirodna selekcija, genetski drift, mutacije i migracije gena između populacija pripadaju kategoriji tzv. evolucijsko-adaptacijskih čimbenika koji utječu na oblikovanje genetske strukture neke vrste i pridonose procesu evolucije, tj. prilagodbe populacija na različite okolišne uvjete (WHITE i dr. 2007; BOGDAN i dr. 2011).

Mutacije utječu na promjenu genetske strukture populacija stvaranjem novih alela. Mutacije su rijetka pojava i u kraćem vremenskom periodu imaju vrlo slab utjecaj na promjenu genetske kompozicije populacije. Međutim, dugoročno gledano, mutacije predstavljaju nezaobilazan izvor genetske raznolikosti u populacijama, te su u kombinaciji sa drugim evolucijsko-adaptacijskim čimbenicima, značajan čimbenik promjene genetske kompozicije populacije.

Migracije alela, odnosno izmjene alela između različitih populacija putem polena, sjemena ili vegetativnim načinom omogućavaju unos novih alela u populaciju, tj. povećavaju genetsku raznolikost populacije, dok kroz dulji vremenski period smanjuju genetske razlike između populacija. Promjena frekvencije (učestalosti) nekog alela u populaciji ovisi o

intenzitetu i količini migracije alela putem polena, sjemena i/ili izbojaka, te o razlikama u frekvencijama alela između dvije populacije.

Prirodna selekcija, odnosno prirodni odabir je temeljni mehanizam evolucijske prilagodbe populacija i vrsta na promjene okoliša. Jedinke se na promjene okoliša mogu kratkoročno aklimatizirati putem fizioloških promjena, dok se dugoročno mogu prilagođavati jedino putem promjena genetske kompozicije populacije. Selekcija je proces u kojemu se s vremenom mijenja genetska kompozicija populacije uslijed većeg reprodukcijskog doprinosa jedinki koje su bolje prilagođene okolišnim uvjetima u kojima žive.

Usprkos prirodnoj selekciji i prilagodbi populacija specifičnim okolišnim uvjetima, migracija gena uvelike utječe na smanjenje razlika između populacija. Kada bi uslijedila specifična adaptacija populacija ne bi smjelo biti izmjene gena među populacijama koje obitavaju u različitim stanišnim uvjetima. Naravno, takvo smanjenje razlika između populacija odnosi se ponajprije na susjedne populacije, kojima je manja međusobna raznolikost uvjetovana migracijom gena peludom pomoću vjetra. ERIKSSON i dr. (2006) smatraju kako je evolucijska prednost stvarati populacije koje mogu obitavati na različitim staništima, što znači kako veći raspon prilagodbe (tzv. fenotipska plastičnost) doprinosi dobrom stanju populacija.

Genetski drift je fenomen slučajnih promjena frekvencija alela koji djeluje u malim populacijama zbog slučajnog odabira alela iz roditeljske generacije koji se prenosi na potomstvo. Uslijed fiksacije jednog i istovremenog gubitka ostalih alela na nekom lokusu smanjuje se genetska raznolikost, a uslijed pada polimorfnosti smanjuje se heterozigotnost i dolazi do povećane homozigotnosti lokusa. Međutim istodobno slučajnom promjenom frekvencije alela nastaju značajne genetske razlike između različitih populacija. Tome treba još dodati i značajan utjecaj križanja u srodstvu unutar malih populacija.

Evolucijski čimbenici poput ograničenog protoka gena sjemenom ili peludom kod biljnih vrsta mogu dovesti do genetske strukturiranosti unutar populacija. U takvim slučajevima oplodnja više nije nasumična nego je uvjetovana udaljenošću između jedinki (WRIGHT 1969). Kod vrsta šumskog drveća rijetko se nailazi na izraženu genetsku strukturu unutar populacija. Ona je kod šumskog drveća slaba ili nikakva, katkad u literaturi navedena i kao „skoro nasumična“ (EPPERSON i ALLARD 1989; PERRY i KNOWLES 1991; MERZEAU i dr. 1994; LEONARDI i dr. 1995; LEONARDI i MENOZZI 1996 iz STREIFF I DR. 1998). Slaba genetska struktura populacija zamijećena je kod vrsta šumskog drveća različitih reproduktivnih sustava i povijesti što se može pripisati njihovom dugom životnom vijeku i jačim protokom gena u usporedbi s drugim biljnim vrstama (HAMRICK i GODT 1996).

Genetsku diferencijaciju uzrokuje i selekcija koja može doprinijeti stvaranju određenih genetskih prostornih obrazaca, te pojačati ili smanjiti genetsku diferencijaciju. Vrlo je bitno naglasiti kako selekcija zbog raznolikosti mikroekoloških uvjeta u sastojinama može potaknuti stvaranje prostornih obrazaca, dok npr. prilikom pojave inbreeding depresije selekcija potiče odumiranje jedinki nastalih samooplodnjom ili križanjem u srodstvu te dovodi do slabljenja genetske strukturiranosti populacije.

Povećanje genetskih razlika između populacija uzrokuju selekcija, genetski drift i mutacije, jer će na više različitih populacija rijetko djelovati jednaki selekcijski pritisci ili se dogoditi isti tip genetskog drifta ili mutacija. Različite populacije žive u različitim okolišnim uvjetima, stoga će selekcija u njima rezultirati povećanjem frekvencija različitih alela. Iz tog razloga selekcija postepeno dovodi do povećanja genetskih razlika između populacija. Genetski drift, poput selekcije, također uzrokuje ujednačavanje unutarpopulacijske genetske raznolikosti, odnosno njeno smanjenje (ERIKSSON i dr. 2006; WHITE i dr. 2007; BOGDAN 2009).

1.7. Metode utvrđivanja genetske raznolikosti šumskog drveća

Poznavanje razine, obrasca i uzroka genetske raznolikosti neke vrste nužna je informacija za njen uzgoj, oplemenjivanje, izradu programa očuvanja genetske raznolikosti ili pak za taksonomska evolucijska ili ekološka istraživanja vrste.

Utvrđivanje genetske raznolikosti vrsta šumskog drveća može se provesti pomoću dvije osnovne kategorije metoda (FALCONER i MACKAY 1996; ERIKSSON i dr. 2006; WHITE i dr. 2007; BOGDAN 2009):

1. putem analize kvantitativnih (poligenih, metričkih) fenotipskih svojstava u genetičkim testovima,
2. putem analize genetičkih biljega.

Različite metode utvrđivanja genetske raznolikosti odlikuju se specifičnim prednostima odnosno manama. Tako npr. poligena fenotipska svojstva ispoljavaju različite osobine, te upućuju na diferencijaciju koja je rezultat adaptacije na različite okolišne uvjete naročito ako je na oblikovanje genetske kompozicije populacija utjecala prirodna selekcija. Nasuprot tomu, većina DNK biljega je neutralna, odnosno nije utjecana prirodnom

selekcijom, te su mogućnosti utvrđivanja adaptivnih razlika uz njihovu pomoć ograničene. Svakako ta mogućnost se povećava sa povećanjem broja korištenih biljega (detalji o analizama DNK biljega u poglavlju 1.7.2.). Radi što preciznijeg utvrđivanja razine, a posebice obrasca i uzroka genetske raznolikosti poželjno je koristiti kombinacije različitih metoda. U ovom radu su korištene obje osnovne kategorije metoda utvrđivanja genetske raznolikosti tj. metoda analize kvantitativnih fenotipskih svojstava u genetičkim testovima i metoda analize genetičkih DNK biljega. Stoga će se korištene metode detaljnije objasniti u nastavku.

1.7.1. Utvrđivanje genetske raznolikosti putem analize kvantitativnih fenotipskih svojstava u genetičkim testovima

Utvrđivanje razine, obrasca i uzroka genetske raznolikosti kod vrsta šumskog drveća moguće je putem analiza kvantitativnih fenotipskih svojstava na jedinkama koje pripadaju grupama poznatog podrijetla (populacije) odnosno rodoslovlja (familije srodnika ili klonovi) i koje se uzgajaju u dizajniranim nasadima tj. genetičkim testovima.

Genetički testovi

Genetički testovi su posebno dizajnirani nasadi koji se osnivaju u relativno homogenim okolišnim uvjetima s ciljem analize varijabilnosti kvantitativnih fenotipskih svojstava biljaka. Ta je fenotipska varijabilnost uvjetovana genetskom i okolišnom komponentom. Genetska komponenta su genetske razlike između testiranih jedinki poznatog podrijetla ili koje dijele barem jednog roditelja (majčinsko stablo). Okolišna komponenta su razlike uvjetovane raznolikošću okolišnih čimbenika (biotskih i abiotskih) u kojima su biljke rasle. Prilagodba populacija njihovim stanišnim prilikama uvjetuje njihove genetske razlike. Ako utjecaj okolišne komponente svedemo na minimum, odnosno potomstvo testiramo u približno jednakim uvjetima okoliša, onda se varijabilnost praćenih fenotipskih svojstava može pripisati genetskim razlikama između potomstava odnosno između genetičkih čimbenika koje testirana potomstva reprezentiraju (populacije, familije, klonovi). Tako su genetički testovi jedini način koji omogućava istraživanja genetske uvjetovanosti fenotipske varijabilnosti kvantitativnih svojstava kod biljaka (FALCONER i MACKAY 1996; ERIKSSON i dr. 2006; WHITE i dr. 2007).

Genetički testovi obuhvaćaju testove provenijencija, testove familija potomstva kao i kombinaciju ovih dvaju tipova (u slučaju kada se potomstvima poznaje podrijetlo odnosno

provenijencija i barem jedan roditelj tj. familija). Testovi provenijencija daju informacije o geografskom obrascu adaptivne genetske varijabilnosti, koje pomažu u određivanju dovoljnog broja i distribucije populacija *in situ* metodom očuvanja te stvaranja *ex situ* kolekcija pokusnih nasada. Daju podlogu za upute o razdjelbi tzv. sjemenskih zona i smjernice o korištenju sjemenskog materijala. Testovi potomstava u kojima biljke dijele jednog ili oba roditelja, pogodni su za očuvanje genetske raznolikosti (*ex situ* očuvanje), pogotovo ako sadržavaju veliki broj familija uzrokujući odgovarajuće prirodne populacije (WHITE i dr. 2007).

Parametri za detekciju kvantitativne genetske raznolikosti

Podaci koji se prikupe izmjerama kvantitativnih fenotipskih svojstava u genetičkim testovima najčešće se obrađuju statističkom metodom analize varijance radi utvrđivanja vrijednosti i statističke značajnosti različitih poznatih izvora varijabilnosti. Izračunate komponente varijance služe za izračunavanje kvantitativnih genetičkih parametara kojima se određuje razina unutarpopulacijske genetske raznolikosti kao i razina međupopulacijske genetske diferencijacije. Navedeni parametri služe kao numerička kvantifikacija razine genetske raznolikosti za poligena fenotipska svojstva. Parametri koji se uobičajeno koriste u tu svrhu su: nasljednost (h^2) i koeficijent aditivne genetske varijabilnosti (CV_A), kao parametri kojima se opisuje razina unutarpopulacijske genetske raznolikosti, te koeficijent kvantitativne genetske diferencijacije (Q_{ST}) kao parametar kojime se opisuje razina međupopulacijske diferencijacije. Ovi parametri i postupci njihova izračunavanja su detaljnije opisani u poglavlju 2.4.3.

1.7.2. Utvrđivanje genetske raznolikosti putem analiza DNK biljega

Genetički biljezi predstavljaju: a) bilo koje fenotipsko svojstvo koje je determinirano malim brojem alela koji se nasljeđuju prema Mendelovim principima ili b) fragmente DNK molekule različitih veličina. Razlikuju se tri temeljne grupe genetičkih biljega:

1. Morfološki biljezi (tzv. Mendelovska fenotipska svojstva)
2. Biokemijski biljezi (npr. izoenzimi)
3. DNK biljezi.

Istraživanja genetske raznolikosti šumskog drveća putem analize genetičkih biljega u prošlosti su se temeljila isključivo na analizama biokemijskih biljega – izoenzima. Međutim, primjena izoenzima je bila ograničena njihovom relativno malom varijabilnošću unutar nekih populacija. Danas se za procjenu genetske raznolikosti najviše upotrebljavaju različiti DNK biljezi (usp. FINESCHI i dr. 1991; WAGNER 1992; AYAD i dr. 1995; KARP i dr. 1998 iz FRANJIĆ i LIBER 2001). DNK biljezi koriste se za proučavanje prirodnih i udomaćenih populacija kao i okolišnih utjecaja koji djeluju na populacije svojti šumskog drveća. Neke od važnijih primjena DNK biljega uključuju njihovu uporabu za: opis sustava razmnožavanja, razine inbreeding-a, prostorne i vremenske obrasce genetske raznolikosti unutar populacija, opis geografskih obrazaca genetske raznolikosti, zaključke o taksonomskim i filogenetskim odnosima među vrstama, procjene utjecaja gospodarenja i oplemenjivanja na genetsku raznolikost šumskog drveća, te stvaranje genetskih mapa (WHITE i dr. 2007, ERIKSSON i dr. 2006).

1.7.2.1. Jezgrini mikrosatelitni biljezi

Mikrosateliti kao ponavljajući motivi DNK molekule, varijabilnih dužina ovisno o jedinkama i vrstama, vrlo su učinkoviti su za istraživanje i određivanje genetske raznolikosti unutar i između populacija.

Mikrosateliti su ponavljajući kratki sljedovi nukleotida (1-6 pb), različitog i promjenjivog sastava. Nazivaju se još SSR (engl. *Simple Sequence Repeats*), VNTR (engl. *Variable Number Tandem Repeats*) i STR (engl. *Short Tandem Repeats*). Broj ponavljanja sljedova nukleotida mikrosatelitnog lokusa obično varira između 5 do 40, ali je zabilježeno i više. Najčešće mikrosatelite za većinu vrsta predstavljaju dinukleotidna ponavljanja, ali se u

istraživanjima koriste i tri- i tetranukleotidna ponavljanja, te ih nalazimo u sve tri vrste genoma – jezgrinom, kloroplastnom i mitohondrijskom. Učestalost ponavljajućih sljedova u genomu općenito ovisi o njihovom sastavu i dužini, varijabilnosti, prosječnom broju ponavljanja i stupnju mutacija (LI i dr. 2002, 2004; SELKOE i TOONEN 2006).

Eukarioti nose više ponavljajućih sljedova što najvjerojatnije pridonosi njihovoj bržoj mogućnosti prilagodbe novom okolišu (MARCOTTE i dr. 1999; KASHI i dr. 1997; KING i SOLLER 1999; WREN i dr. 2000 iz LI i dr. 2002). Istraživanja otkrivaju vrlo specifične obrasce u distribuciji različitih vrsta ponavljanja (od mono- do heksanukleotida) ovisno o svojti na različitim mjestima kodirajućih i nekodirajućih regija genoma. Također brojna kratka ponavljanja mogla bi biti iznimno važna zbog genomske stabilnosti (TÓTH i dr. 2000; FIELD i WILLS 1998 iz LI i dr. 2002).

Evolucijski procesi mikrosatelita kao polimorfnih isječaka vrlo su dinamični, mikrosatelitna ponavljanja (sekvence) mogu se skratiti a isto tako i produžiti tokom vremena (NAUTA i WEISSING 1996; ELLEGREN 2004). Također ne postoji uniformna stopa mutacija mikrosatelita, one se razlikuju između vrsta, unutar vrsta, te isto tako i između lokusa i alela (ELLEGREN 2000).

Postoje dvije glavne teorije koje nastoje objasniti pojavu visokog stupnja mutacije jezgrinih mikrosatelita. Jedna se zasniva na rekombinaciji između DNK molekula kroz nejednaki crossing-over ili konverzijom gena (JEFFREYS i dr. 1994), a druga na greškama pri nastanku novih lanaca prilikom replikacije DNK molekule (LEVINSON i GUTMAN 1987). Jedan od možda najbitnijih faktora mutacija mikrosatelita je sama dužina ponavljanja, tj. što je veći broj ponavljajućih motiva mikrosateliti su polimorfniji a time se povećava i stopa mutacija (NAUTA i WEISSING 1996; SCHUG i dr. 1997; PRIMMER i dr. 1998; ELLEGREN 2000; BECK i dr. 2003; ELLEGREN 2004). Istraživanja modelnih organizama pokazala su kako upravo greške prilikom replikacija, pri kojima se dodatno umnoži ili ispusti određeni kratki ponavljajući slijed, najvjerojatniji mehanizam nastanka mutacija dužine mikrosatelita. Takav klasičan model naziva se model postupnih mutacija (engl. *Stepwise Mutation Model (SMM)*) (OHTA i KIMURA 1973 iz ELLEGREN 2000; KIMURA i OHTA 1978). Međutim, promjene u broju ponavljanja mogu se objasniti i prvom teorijom rekombinacije DNK molekula (JARNE i LAGODA 1996). Postoje i istraživanja integriranih modela evolucije mikrosatelita koji uzimaju u obzir dužinu ponavljanja isto kao i supstituciju prilikom replikacija koji uzimaju širu sliku problema evolucije (KRUGLYAK i dr. 1998). Također, postoji naznaka kontrolirajućeg mehanizma umnažanja ponavljajućih nizova mikrosatelita, s obzirom kako je većina nizova duga do nekoliko desetaka ponavljanja (SAMADI i dr. 1998; TAYLOR i dr. 1999). Svakako

cjelokupni proces mutacije mikrosatelita vrlo je kompleksan, te različit i neujednačen kako između i unutar vrsta tako i između pojedinačnih lokusa i alela (ELLEGREN 2000).

1.7.2.2. Uporaba jezgrinih mikrosatelitnih biljega

Za većinu primjena mikrosatelita u istraživanjima mehanizam njihovih mutacija nije ključan, jer ne predstavlja važan čimbenik u statističkoj obradi (NEIGEL 1997). Međutim kako se analizama mikrosatelita želi procijeniti parametre genetske udaljenosti i diferencijacije populacija potrebni su teorijski modeli evolucije samih mikrosatelita. Proces evolucije vrlo je složen i nije još u potpunosti razjašnjen, ali neke statističke metode zahtijevaju uporabu teoretskih modela mutacija mikrosatelita, kako bi se mogla dobiti što jasnija slika genetske strukture istraživanih populacija (BALLOUX i LUGON-MOULIN 2002).

Dva su osnovna teoretska modela mutacijskog mehanizma mikrosatelita: model neograničenog alela (engl. *Infinite Allele Model (IAM)*) (KIMURA i CROW 1964) i model postupnih mutacija (engl. *Stepwise Mutation Model (SMM)*) (OHTA i KIMURA 1973 iz ELLEGREN 2000; KIMURA i OHTA 1978).

U modelu neograničenog alela mutacija će uvijek rezultirati novim alelom koji još ne postoji u populaciji bez obzira od kojeg broja uzastopnih ponavljanja se sastoji mikrosatelit. Ovaj model ne razmatra mogućnost homoplazije (prisustvo alela iste dužine, koji su nastali različitim evolucijskim putem), te se to u ovoj analizi ne može razabrati. Dakle, ključno je da se aleli razlikuju dok sama veličina alela nije važna. Također, veličina te razlike ne ukazuje na stupanj srodnosti. Statistička metoda za računanje genetske udaljenosti koja se koristi ovim modelom naziva se F_{ST} (NEI 1972 iz HARDY i dr. 2003) i detaljnije je opisana u poglavlju 2.6.

Kod šumskog drveća istraživanja evolucije i postojanosti mikrosatelita rađena su najviše na četinjačama i to na unutarvrsnoj i međuvrsnoj razini. Najčešće se pokušava umnožiti mikrosatelitna regija jedne vrste kod druge, a također se često primjenjuje međusobna usporedba sekvenciranih alela unutar populacija, te lokusa između vrsta. Također, o stupnju srodnosti između vrsta ovisi uspješnost umnažanja mikrosatelita različitih vrsta (naravno pomoću PCR-a). Grupa autora STEINKELLER i dr. 1997a, istraživala je primjenjivost izdvojenih regija (GA_n) pomoću početnica razvijenih iz hrasta kitnjaka unutar porodice *Fagaceae*, vrste iz roda *Quercus,* te iz rodova *Fagus* i *Castanea.* Uspjeh umnažanja početnica unutar roda bilo je značajan, no kod rodova *Fagus* i *Castanea* mogućnost primjene se smanjila na 24 % odnosno 47 %.

Dosadašnja brojna istraživanja mikrosatelitnih biljega donijela su značajan napredak istraživanjima stohastičkih procesa u populacijama, međutim kao većinom neutralni biljezi, ne govore nam o populacijskim procesima proizašlim iz selekcije ili adaptacije. Novija genomska istraživanja pronalaze mikrosatelitne regije vezane uz adaptivno važne dijelove genoma za važna kompleksna svojstva biljaka ili kako se još nazivaju kvantitativna svojstva, a kontroliraju ih lokusi za kvantitativna svojstva (engl. *QTL-Quantitative Trait Loci*). Neko kvantitativno poligenetsko svojstvo najčešće je kontrolirano većim brojem gena manjeg učinka, no kontinuiranu distribuciju nekog kvantitativnog svojstva može tvoriti i manji broj gena s jačim međusobnim djelovanjem.

Kartiranje lokusa za kvantitativna svojstva postalo je moguće pojavom DNK biljega i saturiranih genetskih karata. Ono se sastoji u izradi genetske karte i potrazi za vezom između svojstva i polimorfnih biljega (mikrosatelita). Cjelokupni proces tako detaljnih analiza sastoji se od odabira populacije za kartiranje koji zatim uključuje izbor roditelja i određivanje eksperimentalnog dizajna sa njihovim potomstvom. Genetska arhitektura kvantitativnih svojstava može se opisati na temelju broja, genomske lokacije i učinka *QTL*-a kao i interakcije alela *QTL*-a unutar (dominacija) i između (epistaza) lokusa, plejotropnih učinaka *QTL*-a i interacije *QTL*-a i okolišnih uvjeta (SAINTAGNE i dr. 2004; ŠATOVIĆ i dr. 2001). Kada je riječ o hrastu lužnjaku mikrosatelitne regije koje se najčešće koriste za ovu vrstu najprije su razvijene za hrast kitnjak (STEINKELLNER i dr. 1997b) te su se zbog dobre mogućnosti umnažanja između vrsta počele koristiti i kod lužnjaka. Genetsko mapiranje sa nekoliko različitih markera za hrast lužnjak napravili su BARRENECHE i dr. (1998), te KAMPFER i dr. (1998), koji se onda koriste za određivanje *QTL*-a. Ovakva vrsta istraživanja omogućuju bolji uvid u selekcijske ili adaptacijske procese populacija raznih vrsta drveća.

Prilikom analize rezultata mikrosatelitnih biljega nailazimo na poneke poteškoće koji uzrokuju distrakciju, te prilikom donošenja zaključaka treba biti oprezan. Prvi problem je pojava tzv. nul-alela, koji predstavlja zapravo smetnje ili potpuni nedostatak umnažanja nekog alela, a uzrokovane su supstitucijom ili insercijom baza u okolnim regijama lokusa za koje bi se trebale vezati početnice. Pri razdvajanju elektroforezom heterozigot koji nosi jedan nul-alel ne može se razlikovati od homozigota za taj umnoženi alel. To može dovesti do smanjenje procjene promatrane heterozigitnosti u odnosu na očekivanu, prema Hardy-Weinbergovim uvjetima ravnoteže. Indetifikacija nul-alela moguća je pomoću analize segregacije u familijama punih srodnika. Ukoliko se potvrdi pojava takvih alela, određene lokusa potrebno je isključiti iz više-lokusnih analiza. Stoga je analiza nasljeđivanja i segregacije ključan element ocjenjivanja upotrebljivosti mikrosatelita u analizama populacija (GILLET 1999).

Sljedeći problem je vezan uz *Taq* polimerazu i pogrešku koju može napraviti prilikom umnažanja mikrosatelitnog ulomka, te tako stvoriti poteškoće pri određivanju stvarne dužine alela. Greška se može dogoditi zbog pojave višestrukih umnoženih ulomaka na temelju istog predloška DNK, te zbog pogrešaka pri polimerizaciji, ovisno o vrsti elektroforeze nastajanje tzv. stutter bendova, koji su općenito kraći od alela koji umnažamo. Međutim, napretkom tehnologije i povećanjem preciznosti polimeraza, te mogućnosti ponavljanja analiza značajno se smanjuje utjecaj ovakvih pogrešaka na rezultate.

Iako pomoću varijabilnosti mikrosatelita određujemo genetsku diferencijaciju, ponekad hipervarijabilnost mikrosatelita ne pruža prednost. Ulomci mikrosatelita iste dužine ne moraju poticati iz iste nasljedne linije, odnosno ne nastaju istim evolucijskim putem. Ta pojava naziva se homoplazija, te može utjecati na točnost procjene genetskih parametara po svim spomenutim modelima. Povećanjem stupnja mutacije i vremenom odvajanja od zajedničkog pretka povećava se i stupanj homoplazije (ESTOUP i CORNUET 1999). Mogućnost ove pojave dodatno povećavaju i potencijalni mehanizmi selekcije koji ograničavaju raspon mogućih alela. Homoplazija tako dovodi do podcjenjivanja unutarpopulacijskih podjela (subpopulacijske podjele) i genetske diferencijacije između populacija i vrsta. Utjecaj homoplazije proučavan je i kod roda *Quercus*, usporednim sekvenciranjem mirosatelitnih lokusa (biljeg ssrQpZAG9, STEINKELLNER i dr. 1997b) na pet vrsta hrastova iz dvije sekcije *Robur* i *Cerris*. Neke od mjera genetske udaljenosti, utemeljene na SSM-u, uzimaju u obzir homoplaziju (GOLDSTEIN i dr. 1995a; GOLDSTEIN i dr. 1995b; SLATKIN 1995; ROUSSET 1996; FELDMAN i dr. 1997; ESTOUP i dr. 2002).

1.7.2.3. Kloroplastni mikrosatelitni biljezi (cpSSR)

Kako se kloroplasti nasljeđuju od jednog roditelja, te imaju nizak stupanj mutacija ponekad ne otkrivaju varijabilnost populacija. Međutim, jednostavni varijabilni ponavljajući sljedovi unutar genoma kloroplasta, ili kako se još u literaturi nazivaju kloroplastni mikrosateliti (engl. *chloroplast Short Sequence Repeat – cpSSR*) pokazuju visok nivo unutarpopulacijske varijabinosti. Prvi su kloroplastne mikrosatelite opisali POWELL i dr. 1995, te su od tada našli široku primjenu u populacijskoj genetici.

Kod kritosjemenjača se kloroplasti, a tako i kloroplastni mikrosateliti, većinom nasljeđuju po majčinskoj liniji, što znači kako se rasprostiru i u nove generacije prenose sjemenom. Ovakvo nasljeđivanje uvelike pridonosi istraživanjima postglacijalnih

migracijskih puteva, odnosno rekolonizacijskih puteva vrsta nakon zadnje oledbe (PETIT i dr. 1997). Majčinsko je nasljeđivanje testirano i potvrđeno kod obične bukve (*Fagus sylvatica*) (DEMESURE i dr. 1996), hrasta lužnjaka (*Quercus robur*) (DUMOLIN i dr. 1992), te jasena (MORAND-PRIEUR i dr. 2002), topole (RAJORA i DANCIK 1992) itd.

Kloroplastni mikrosateliti kao i jezgrini, izdvojeni za određenu vrstu primjenjuju se također za analize kod srodnika. Potpuno sekvenciranje kloroplastnog genoma nekih vrsta (npr. *Arabidopsis thaliana, Glycine soja, Nicotiana tabacum, Ozyza sativa, Pinus thunbergii, Zea mays*) kao i djelomične sekvence omogućilo je identifikaciju mnoštva motiva mikrosatelita (PROVAN i dr. 1999, 2001), te je tako njihova primjena postala vrlo raširena. Oko 96 % sačinjavaju mononukleotidna ponavljanja (A/T), oko 1,2 % (G/C), a oko 2,8 % otpada na ponavljanja di- (AT i GC), odnosno trinukleotida (ATT).

Biljezi dobiveni iz kloroplastnog genoma su vrlo dobro očuvani, odnosno imaju vrlo nisku stopu mutacija, za razliku od jezgrinih biljega. Stoga biljezi razvijeni iz kloroplasta mogu se primjenjivati kod evolucijski daleko udaljenih vrsta. Zanimljivo je kako su TABERLET i dr. (1991), razvili biljege iz nekodirajućih dijelova kloroplastnih genoma duhana, riže i mahovine koje su primijenili na razne vrste ali i rodove (Algae, Bryophytes, Pteridophytes, Gymnosperms, Angiosperms). Umnažanje biljega izvan vrste kod koje su pronađeni (kros-amplifikacija) omogućilo je očuvan poredak nukleotida unutar genoma, te sami položaj mikrosatelita. Kros-amplifikacija primijenjena je i kod roda *Quercus* (DEGUILLOUX i dr. 2003, 2004).

WEISING i GARNNER (1999), na osnovu sekvenci kloroplastnog genoma duhana (*Nicotiana tabacum*) dizajnirali su set od 10 univerzalnih početnica mononukleotidnih ponavljanja. Sa šest biljega uspješno su proizveli ulomke kod 30-ak vrsta šumskog drveća iz 10 različitih porodica. Podaci sekvenciranih ulomaka ukazuju na: I) nizovi mikrosatelita općenito su prisutni kod umnoženih ulomaka svih vrsta, II) neki mikrosateliti su kraći (< 8 baza) i prekinuti, III) mikrosateliti sa savršenim nizom ponavljanja su i najpolimorfniji, a varijabilnost se uglavnom sastoji u njihovom različitom broju, IV) mikrosateliti koji kod nekih vrsta pokazuju monomorfnost uglavnom su prekinuti, s kratkim (A/T) i/ili (G/C) nizovima. DEGUILLOUX i dr. (2004) pokazali su ovisnost polimorfnosti cpSSR biljega o dužini alela. Najveću unutar- i međuvrsnu varijabilnost pokazao je biljeg Ccmp 10 iz seta univerzalnih biljega amplificiran kod 15-ak šumskih vrsta (između ostalih *Quercus petraea* i *Q. pubescens*) predstavljen dugačkim neprekinutim nizom mononukleotida (A/T) (VENDRAMIN i dr. 2004).

Mogućnost kros-amplifikacije između vrsta čini kloroplasne mikrosetelite vrlo privlačnom metodom analize kod novih vrsta, dok su jezgrini mikrosateliti uglavnom ograničeni za uporabu kod blisko srodnih vrsta.

1.7.2.4. Uporaba kloroplastnih mikrosatelita

Zbog svoje očuvanosti i relativno niske raznolikosti kloroplastni mikrosateliti nisu osobito informativni za analize na razini jedinki, te također iste ili vrlo bliske haplotipove možemo očekivati i kod grupa jedinki ili populacija istog podrijetla.

Mnoga su istraživanja o raspodjeli raznolikosti mikrosatelita unutar i između populacija, tu je primjena kloroplastnih mikrosatelita puno šira. Rezultati se uglavnom odnose na učinke stohastičkog protoka gena putem peluda (četinjače) ili sjemena (kritosjemenjače), a ovise o pretpostavci neutralnosti cpSSR biljega. Kod četinjača ovi biljezi su vrlo slabi pokazatelji diferencijacije populacija zbog oprašivanja vjetrom na veće udaljenosti, očinskog nasljeđa kloroplastnih mikrosatelita, odnosno protoka gena peludom, što je potpuno suprotno od analiza majčinski nasljeđivanih biljega kod vrsta teškog sjemena.

Dakle, kod kritosjemenjača raspodjela haplotipske kloroplastne raznolikosti je potpuno drugačija. Zbog majčinskog nasljeđivanja, većina raznolikosti raspoređena je između populacija. Analiza populacija običnog jasena (*Fraxinus excelsior*), pomoću šest kloroplastnih mikrosatelita otkrilo je G_{ST} vrijednost oko 89 % (HEUERTZ i dr. 2004). Raspodjela haplotipova odražava migracijsku povijest različitih vrsta (postglacijalna rekolonizacija), što je potvrđeno i značajnim preklapanjem sa podacima analiza jezgrinih mikrosatelita (HEUERTZ i dr. 2003). Kod biljaka laganog sjemena (okriljenog ili kunadrastog) koji se rasprostire vjetrom, G_{ST} vrijednosti se spuštaju i ispod 10 % (npr. *Populus tremula*, SALVINI i dr. 2001), dok se kod vrsta teškog sjemena koje se širi pomoću gravitacije ili životinja G_{ST} vrijednosti penju preko 80% (HEUERTZ i dr. 2003; HEUERTZ i dr. 2004). Tako način prilagodbe vrsta, način rasprostiranja sjemena ima ključnu ulogu u oblikovanju raspodjele raznolikosti, analizirajući ih kloroplastnim biljezima.

Kloroplastni mikrosateliti su između nekih vrsta pokazali značajnu sposobnost razlikovanja. Tako je npr. ustanovljeno kako vrste *Fagus sylvatica* i *F. orientalis* ne dijele haplotipove (GAILING i VON WUEHLISCH 2004), dok su u slučaju hrastova *Quercus robur* i *Q. petraea* pronađeni isti haplotipovi cpSSR, što prema mišljenju autora upućuje na čestu hibridizaciju (DEGUILLOUX i dr. 2004). U prirodnoj sastojini u kojoj se miješaju četiri vrste hrasta (*Q. robur, Q. petraea, Q. frainetto* i *Q. pubescens*) ustanovljena su četiri haplotipa.

Iako su tri haplotipa prisutna kod svih vrsta učestalost haplotipova među vrstama ukazuju na značajnu diferencijaciju i mali stupanj hibridizacije. Četvrti haplotip bio je većinski za *Q. robur*, te nije bio prisutan kod drugih vrsta (CURTU i dr. 2007).

1.7.2.5. Zaključno o mikrosatelitnim biljezima

Odgovore na mnoga pitanja u šumarskoj genetici omogućila je široka primjena mikrosatelita. Obje kategorije, i jezgrini i kloroplastni mikrosateliti daju odgovore o genetskoj raznolikosti, a daljnjim razvitkom njihova primjena će se još proširiti. Ovakvi biljezi različitih značajki, stupnja mutacije i strukture mogu se primijeniti na razotkrivanje evolucijskih procesa na raznim vremenskim, kao i prostornim razinama. Razvoj genomike dovodi do otkrivanja sve većeg broja mikrosatelita i njihovog povezivanja sa genomskim regijama za određena svojstva od interesa (SCOTTTI-SAINTAGNE i dr. 2004; PORTH i dr. 2005; PARELLE i dr. 2007; BRENDEL i dr. 2008; DERORY i dr. 2010).

Osim u svrhu istraživanja, primjena mikrosatelita može koristit i u praksi za utvrđivanje podrijetla sjemenskog i drvnog materijala (DEGUILLOUX i dr. 2003a), što omogućuje kontrolu prometa šumskim reprodukcijskim materijalom, ali i borbu protiv ilegalne sječe.

1.8. Osnovni principi očuvanja genetske raznolikosti

Pritisci na prirodne ekosustave i pojedine biljne vrste poput degradacije staništa, onečišćenja tla, vode i zraka, prekomjernog iskorištavanja pojedinih vrjednijih vrsta šumskog drveća, djelovanja globalnih klimatskih promjena, dovode u pitanje stabilnost i opstanak šuma. Današnje nagle i sve stresnije promjene ekoloških prilika negativno utječu na šumske vrste drveća, dok prirodni čimbenici evolucije djeluju 'vrlo sporo' u smislu njihovog prilagođavanja novonastalim prilikama. Genetska raznolikost je vrlo važan temelj prilagodbenog potencijala (prilagodljivosti) šumskih svojti drveća u promjenjivim uvjetima okoliša. Stoga smišljeno djelovanje čovjeka u smjeru očuvanja genetske raznolikosti i pravilnog korištenja šumskog reprodukcijskog materijala (ŠRM) poprima sve veći značaj.

Proces očuvanja genetske raznolikosti sastoji se od tri glavne komponente: definiranja ciljeva, poznavanja genetske raznolikosti populacija i primjene metoda očuvanja. Najvažniji ciljevi su zaštita potencijala vrsta za prilagođavanje, te očuvanje sadašnje genetske

konstitucije populacija. Metode očuvanja moraju biti osmišljene tako da omoguće ciljanoj vrsti adekvatan odgovor na bilo kakve promjene u okolišu. Međutim za većinu ciljanih vrsta nam upravo nedostaje znanje o njihovoj genetskoj raznolikosti i strukturi, te su takva istraživanja od ključnog značaja (ERIKSSON i dr. 2006).

Očuvanje genetske raznolikosti u današnjim uvjetima i mogućnostima provodi se na dva osnovna načina: *in situ* i *ex situ* metodama.

1.8.1. *In situ* metoda očuvanja genetske raznolikosti

Prvi način očuvanja genetske raznolikosti provodi se *in situ* metodom odnosno na licu mjesta (u prirodnom staništu). *In situ* očuvanje gena znači očuvanje populacija šumskog drveća u njihovim prirodnim staništima, s njihovim biljnim zajednicama, životinjama i mikroorganizmima te s mogućnošću nastavka njihove evolucije na tim staništima. Metoda omogućuje održavanje cijelih ekosustava ako su područja uključena u očuvanje dovoljno velika (ERIKSSON i dr. 2006; WHITE i dr. 2007; BALLIAN i KAJBA 2011.).

Očuvanje populacija u njihovim prirodnim staništima uvjet je očuvanja sadašnje genetske konstitucije populacija koja je temelj prilagodbe jedinki uvjetima koji danas vladaju u okolišu. Međutim interakcijom čimbenika evolucije ostvaruje se prilagodba populacija na novonastale uvjete. 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 šumskog reprodukcijskog materijala presudna je za daljnju selekciju i osnivanje kvalitetnih nasada kao slijedećeg koraka u procesima očuvanja genetske raznolikosti i oplemenjivanja vrsta.

1.8.2. *Ex situ* metoda očuvanja genetske raznolikosti

Drugi način očuvanja genetske raznolikosti provodi se *ex situ* metodom. Ova metoda uključuje osnivanje nasada (plantaža) kao i čuvanje genetskog materijala u kontroliranim uvjetima koji obuhvaćaju različite tipove tzv. genetskih banaka i sjemenskih štedionica.

- Nasadi se mogu podijeliti u dvije skupine (WHITE i dr. 2007):

    a) Prvu skupinu čine sjemenski objekti kao što su:

    - klonske i generativne sjemenske plantaže
    - živi arhivi

    b) Drugu skupinu čine genetički testovi:

    - testovi provenijencija
    - testovi potomstava (familija punih srodnika ili familija polu srodnika)
    - klonski testovi.

- Banke za čuvanje genetskog materijala dijele se ovisno o vrsti materijala koji je u njima pohranjen na:

    a) DNK banke

    b) sjemenske banke.

Ex situ metoda očuvanja genetske raznolikosti podrazumijeva očuvanje vrsta šumskog drveća izvan njihovog prirodnog staništa, te se najčešće primjenjuje usporedno s *in situ* metodom. Eksperimentalni nasadi - pokusi provenijencija, testovi potomstava i klonski testovi osim u svrhu istraživanja služe i za očuvanje genetske raznolikosti, zajedno s bankama sjemena, peluda i biljnog tkiva (ERIKSSON i dr. 2006; WHITE i dr. 2007; BALLIAN i KAJBA 2011).

1.9. Genetska raznolikost hrasta lužnjaka – dosadašnje spoznaje

Kod hrasta lužnjaka postoji izrazita asimetričnost protoka gena peludom u usporedbi sa sjemenom, jer se oprašivanje kod ove vrste provodi vjetrom, dok se relativno krupno i teško sjeme na veće udaljenosti može prenijeti uglavnom posredstvom životinja (najviše ptica) ili čovjeka. Istraživanja su pokazala kako je migracija peludom otprilike 200 puta jača nego migracija sjemenom (PETIT i dr. 1993 iz STREIFF i dr. 1998; ZENETTO i dr. 1994; PETIT i dr. 2002a, 2002b). Razlika se manifestira kroz slabu diferencijaciju populacija za jezgrine biparentalno naslijeđene biljege, dok je istodobno diferencijacija za citoplazmatske, majčinski naslijeđene (u slučaju listača kloroplastne) biljege izrazita. Ograničena migracija sjemenom prouzročila je najvjerojatnije nastanak prostornih obrazaca, ali su oni pretpostavlja se uvelike poništeni konstantnim jakim protokom gena pomoću peluda.

Istraživanje skupine autora (KREMER i dr. 2002) o korelaciji raznolikosti kloroplastnih biljega sa raznolikošću jezgrinih molekularnih biljega i kvantitativnih svojstava, pokazali su potpunu nepovezanost majčinskih linija sa kvantitativnim svojstvima, ali i postojanje određene povezanosti sa alozimskim frekvencijama. Tako su doneseni neki zaključci o važnosti uloge migracijskih kretanja nakon glacijacije i selekcije u postojećoj genetskoj raznolikosti europskih listopadnih hrastova: I) Tijekom zadnjeg perioda glacijacije listopadni hrastovi su vjerojatno bili ograničeni na tri glavna pribježišta (Pirinejsko, Apeninsko i Balkansko), pri čemu su se genetski izdiferencirali jezgrini i kloroplastni geni. II) Pri kraju perioda glacijacije listopadni hrastovi migriraju prema sjeveru, pri čemu se uspostavlja prostorni obrazac raspodjele kloroplastnih gena koji ostaje skoro u potpunosti očuvan do današnjih dana. III) Kako hrastovi osvajaju srednje i sjeverne dijelove Europe, komunikacija između sastojina iz zapadnih odnosno istočnih pribježišta uspostavlja se migracijom peludi, što dovodi do postepenog gubitka izvorne diferencijacije jezgrinih gena. Pri tome diferencijacija kloroplastnih gena uspostavljena za vrijeme kolonizacije ostaje približno jednaka. IV) Lokalni selekcijski pritisci koji djeluju na uspostavljene populacije postepeno dovode do povećanja genetske diferencijacije za kvantitativna svojstva, a sadašnji obrasci potpuno su drugačiji od onih neposredno nakon kolonizacije. Tijekom cijelog tog razdoblja kloroplastna raznolikost ostaje očuvana, te se postepeno gubi svaka njezina veza sa kvantitativnim svojstvima, a ostaje eventualna slaba povezanost sa jezgrinim genetskim biljezima čija je raznolikost manje uvjetovana selekcijom.

Bitno je naglasiti kako studija (KREMER i PETIT 1993) na većini vrsta iz roda *Quercus*, pa tako i hrastu lužnjaku, pokazuje kako je većina raznolikosti nuklearnih gena distribuirana unutar populacija, čak 74 %.

Istraživanjima jezgrinih mikrosatelita kod neprekinutih kompleksa šuma hrasta kitnjaka utvrđena je velika unutarpopulacijska varijabilnost naspram male međupopulacijske diferencijacije, te slaba prostorna struktura populacija na većim udaljenostima (ALBERTO i dr. 2010). Sličan obrazac genetske raznolikosti na temelju analize jezgrinih mikrosatelita može se očekivati i kod hrasta lužnjaka. Kod fragmentiranih populacija sa sustavnim antropogenim utjecajem, međupopulacijska diferencijacija je značajna, premda niža od unutarpopulacijske varijabilnosti (BALLIAN i dr. 2010).

Prvi značajniji radovi na upoznavanju i očuvanju genetske raznolikosti hrasta lužnjaka u Hrvatskoj započeli su sredinom 1950-tih kategorizacijom šumskog reprodukcijskog materijala (ŠRM) i kategoriziranjem šuma, te razdjelbom šuma na sjemenske jedinice (ŠAFAR 1958). Nakon toga uslijedio je izbor najboljih sastojina na temelju fenotipskog izgleda, te

istraživanja raznolikosti svojstava populacija hrasta lužnjaka u pokusima provenijencija (GRAČAN 1996). Dosadašnja istraživanja morfološke i fiziološke varijabilnosti lužnjaka ukazuju na genetsku diferencijaciju populacija (FRANJIĆ 1993a, 1994, 1996a, iz FRANJIĆ i ŠKVORC 2001; FRANJIĆ 1993; FRANJIĆ 1996; GRAČAN i dr. 1991; KRSTINIĆ 1996; PERIĆ i dr. 2000; BOGDAN i dr. 2004). Sva istraživanja slažu se s postojanjem genetske diferencijacije populacija hrasta lužnjaka u Hrvatskoj, međutim rezultati o obrascu genetske diferencijacije nisu ujednačeni. S jedne strane, veći dio autora zaključio je da međupopulacijska diferencijacija nije odgovarala geografskom obrascu, već da utvrđeni karakter diferencijacije ukazuje na ekotipski obrazac genetskih razlika između provenijencija, koji podrazumijeva diferencijaciju s obzirom na slične okolišne uvjete koji vladaju u pojedinim sastojinama (FRANJIĆ 1994; FRANJIĆ 1996; FRANJIĆ 1996a; FRANJIĆ i ŠKVORC 2001; BOGDAN i dr. 2009; IVANKOVIĆ i dr. 2011). S druge strane, neka istraživanja ukazala su na geografsku diferencijaciju odnosno razlike između sjemenskih zona (ROTH 2003; KRSTINIĆ i dr. 1996).

Istraživanja varijabilnosti različitih morfoloških i fizioloških svojstava hrasta lužnjaka u Hrvatskoj do sada su se bazirala na prirodnim populacijama, kao i na dizajniranim genetičkim testovima osnovanim s potomstvom iz prirodnih populacija. Provedena istraživanja ukazala su na postojanje visokog nivoa varijabilnosti za analizirana fenotipska svojstva, kako između provenijencija tako i unutar svake (GRAČAN i dr. 1991; TRINAJSTIĆ i KRSTINIĆ 1993; PERIĆ i dr. 2000; BOGDAN i dr. 2004). Najviši nivo genetske varijabilnosti hrasta lužnjaka za izabrana morfološka svojstva utvrđen je između jedinki unutar populacija prema radu BOGDAN i dr. (2004), međutim potrebno je naglasiti kako se ovdje radilo o malom broju populacija s malog geografskog područja. Također se u istraživanju IVANKOVIĆ i dr. (2011) pokazalo kako se razina varijabilnosti morfoloških svojstava plodova smanjuje sa veličinom istraživanog prostora, što znači kako su najveće razlike utvrđene između jedinki unutar provenijencija, manje između provenijencija, dok razlike između sjemenskih zona nisu bile značajne. Međutim, iako se razina varijabilnosti smanjivala s veličinom prostora prvim su rezultatima istraživanja genetske raznolikosti u testu potomstva iz sjemenskih sastojina u Hrvatskoj utvrđene statistički značajne razlike koje jasno ukazuju na genetsku diferencijaciju između provenijencija (BOGDAN i dr. 2009; IVANKOVIĆ i dr. 2011; POPOVIĆ i dr. 2014).

Prvi genetički test lokalnih hrvatskih provenijencija osnovan je 1988. godine (GRAČAN I DR. 1991). Posljednjih dvadesetak godina istraživanja varijabilnosti morfoloških i fizioloških svojstava hrasta lužnjaka ukazuju kako postoji vrlo izražena varijabilnost spomenutih svojstava među lokalnim populacijama i unutar svake populacije (FRANJIĆ 1993a, 1994, 1996a, iz FRANJIĆ i ŠKVORC 2001; FRANJIĆ 1993; FRANJIĆ 1996, GRAČAN 1996). Izražena

varijabilnost edafskih i hidroloških uvjeta staništa na kojima dolazi hrast lužnjak, dovodi do izdiferenciranosti populacija i do izražene varijabilnosti morfoloških i fizioloških svojstava (KLEINSCHMIT 1993; KRSTINIĆ 1996; KRSTINIĆ i dr. 1996). Istraživanjima morfoloških karakteristika hrasta lužnjaka dobiven je oblik razdvajanja provenijencija udruživanjem u klastere. Pretpostavke su takvih istraživanja da je različita genotipska struktura svake populacije vrlo vjerojatno posljedica razlika u staništu. Udruživanjem populacija sličnijih ekoloških mikroklimatski uvjeta, geografski udaljenijih, kao npr. podravske i zapadnoposavske, može se tvrditi kako su baš ekološki uvjeti od presudnog značaja za njihovu diferencijaciju (FARNJIĆ 1996a iz FRANJIĆ i ŠKVORC 2001, FRANJIĆ 1996).

PERIĆ i dr. (2000) prate fenologiju listanja provenijencija hrasta lužnjaka u pokusnom nasadu 'Gajno', u sedam faza, od još zatvorenih pupova do potpuno razvijenih listova ukazujući na genetsku varijabilnost s obzirom na različitu dinamiku listanja provenijencija. Kod hrasta lužnjaka početak otvaranja pupova je pod velikom genetskom kontrolom (STOJKOVIĆ 1991 iz FRANJIĆ i dr. 2011) što omogućuje istraživanje genetske diferencijacije populacija hrasta lužnjaka na temelju praćenja ovog svojstva.

Istraživanje genetske varijabilnosti na temelju svojstava rasta u testu potomstva od 21 plus stabla hrasta lužnjaka sa središnjeg područja doline rijeke Drave (BOGDAN i dr. 2004), pokazalo je da nema statistički značajne razlike za istraživana svojstva visine i prsnog promjera između populacija, međutim utvrđena je statistički značajna unutarpopulacijska varijabilnost.

Prvi rezultati istraživanja genetske raznolikosti na temelju kvantitativnih fenotipskih svojstava u testu potomstva iz sjemenskih sastojina u Hrvatskoj, pokazali su statistički značajne razlike koje jasno ukazuju na genetsku diferencijaciju između populacija (BOGDAN i dr. 2009; IVANKOVIĆ i dr. 2011; POPOVIĆ i dr. 2014), međutim međupopulacijska diferencijacija nije odgovarala geografskom obrascu. Iako neka prijašnja istraživanja ukazuju na geografsku diferencijaciju i diferencijaciju između sjemenskih zona hrasta lužnjaka (ROTH 1999; ROTH 2003; KRSTINIĆ i dr. 1996), utvrđeni karakter diferencijacije istraživanja BOGDAN i dr. (2009), IVANKOVIĆ i dr. (2011), te POPOVIĆ i dr. (2014) ukazuje na ekotipski obrazac genetskih razlika između populacija, koji podrazumijeva diferencijaciju s obzirom na slične okolišne uvjete koji vladaju u pojedinim sastojinama.

Diferencijacija populacija i adaptivna genetska varijabilnost hrasta lužnjaka istraživana je u genetičkom testu Koška za kvantitativna svojstva visinskog rasta i preživljenja u dobi od 6 godina (BOGDAN i dr. 2016, u tisku). Pokusni nasad bio je izložen dvogodišnjoj suši, te su upravo ti uvjeti poslužili za istraživanja mogućnosti prilagodljivosti populacija,

procjeni ukupne unutarpopulacijske varijabilnosti i nasljednosti, te međupopulacijske diferencijacije. Upravo o adaptivnoj genetskoj varijabilnosti ovisi kapacitet populacija za prilagodbu putem prirodne selekcije. Za kvantitativna svojstva određena je nasljednost koja procjenjuje stupanj sličnosti između srodnika za dotično svojstvo, preko odnosa ukupne (fenotipske) varijance i aditivne genetske varijance. Nasljednost istraživanih svojstava uglavnom je bila niska. Koeficijent aditivne genetske varijacije (CV_A), parametar procjene unutarpopulacijske raznolikosti, ujedno i pokazatelj potencijala populacija za adaptaciju također je bio relativno nizak. Moguće je, kako Hrvatske populacije posjeduju niži stupanj unutarpopulacijske varijabilnosti od litvanskih populacija hrasta lužnjaka istraživanih u istoj dobi (BALIUCKAS i PLIURA 2003, 2008). Međutim, CV_A kao mjera varijabilnosti standardizirana je aritmetičkom sredinom za određeno fenotipsko svojstvo, te time snažno ovisi o okolišnim uvjetima koji vladaju u pokusnim nasadima (BALIUCKAS i PLIURA 2003, 2008), te je moguće kako su ekstremni sušni uvjeti u testu Koška uzrokovali razlike u varijabilnosti između hrvatskih i litvanskih populacija. Diferencijacija između populacija pokazala se kao statistički značajna, a izračunat parametar kvantitativne genetske diferencijacije (Q_{ST}) također ukazuje na međupopulacijsku diferencijaciju. Analiza međupopulacijskih razlika razdvojila je populacije u dva klastera s obzirom na Hargreaves-ovu referentnu evapotranspiraciju, odnosno s obzirom na humidnost staništa iz kojih potječu populacije. Populacije iz humidnijih staništa imale su u prosjeku manje visine kao i slabije preživljenje, dok je kod populacija iz suših staništa situacija bila obrnuta. Iako se pokazalo kako populacije posjeduju nisku genetsku varijabilnost za oba svojstva, uočena genetska diferencijacija najvjerojatnije je uzrok utjecaja prirodne selekcije s obzirom na dostupnu vlagu unutar staništa, te upućuje na ekotipski obrazac diferencijacije (BOGDAN i dr. 2016, u tisku).

Molekularnih istraživanja na hrastu lužnjaku kod nas je vrlo malo (ZOLDOŠ i dr. 1995, 1995a iz FRANJIĆ i ŠKVORC 2001; BESENDORFER i dr. 1996; SLADE 1999, 2001; SLADE i dr. 2007; KATIČIĆ BOGDAN 2012).

ZOLDOŠ i dr. (1995) i BESENDORFER i dr. (1996) istražuju primjenjivost citogenetskih i biokemijskih analiza u utvrđivanju oštećenja šuma hrasta lužnjaka. Pokazalo se kako su dobri biokemijski bioindikatori stresa spavajući pupovi i mladi listovi biljaka koji zbog stabilnosti u ekspresiji, te zbog razlika u količinama izoenzima peroksidaze upućuju na neke vrste oštećenja. Usporedbe populacija iz Hrvatske i Francuske, unatoč velikoj udaljenosti i razlici ekoloških uvjeta u kojima obitavaju populacije pokazale su uniformne DNK vrijednosti (ZOLDOŠ i dr. 1998).

SLADE (2001) je proveo analize kloroplastne DNK populacija hrasta lužnjaka i ostalih vrsta hrastova u Hrvatskoj grupe *Quercus sensu stricto*, te ustanovio puteve postglacijalne kolonizacije vrsta iz pribježišta. Raznolikost između populacija hrastova bila je 67 % za kloroplastne biljege, te je pronađeno pet haplotipova koji dolaze na području Hrvatske.

Istraživanje polimorfizma sekcije bijelih hrastova na području Balkana, od Hrvatske do Albanije i Makedonije, pomoću klorplastnih DNK mikrosatelita, pokazalo je kako hrast lužnjak na tom području ima najmanju genetsku diferencijaciju populacija s obzirom na druge istraživane vrste hrastova. Zbog visoke ekonomske vrijednosti, hrast lužnjak je pod najvećim antropogenim utjecajem, što podrazumijeva intenzivno gospodarenje i umjetnu obnovu sastojina gdje je potrebno. Tako se umjetnom migracijom gena, povećava unutarpopulacijska raznolikost, a smanjuje diferencijacija između populacija (SLADE i dr. 2007).

KATIČIĆ BOGDAN (2012) pomoću jezgrinih i kloroplastnih mikrosatelita istraživala je genetsku raznolikost hrasta lužnjaka u klonskim sjemenskim plantažama podrijetlom iz tri sjemenske regije. Analiza jezgrinih mikrosatelita koji se nasljeđuju od oba roditelja, pokazala je kako razlika između tri regije nije statistički značajna, što ukazuje na postojanje migracije gena između regija, zbog protoka gena peludom odnosno oprašivanja vjetrom na veće udaljenosti. Analiza kloroplastnih mikrosatelita koji se nasljeđuju samo od majke, utvrđena je značajna diferencijacija između regija, i izdvojene su majčinske linije, koje potvrđuju rekolonizacijske puteve iz pribježišta prethodnih istraživanja.

U susjednoj BiH BALLIAN i dr. (2010) proveo je istraživanje u 12 prirodnih populacija hrasta lužnjaka pomoću jezgrinih mikrosatelita. Utvrđena je visoka unutarpopulacijska raznolikost (92,49 % razlikovnost između individua), i statistički značajna međupopulacijska diferencijacija, međutim utvrđen je i veći stupanj križanja u srodstvu zbog izoliranosti populacija što može dovesti do negativnih posljedica smanjenja raznolikosti gena u sljedećim generacijama i pojavu tzv. inbreeding depresije.

U pregledu KREMER i PETIT (1993) nuklearna unutarpopulacijska genetska raznolikost za hrast lužnjak pokazala se višom (0,267), što je objašnjeno širokim arealom rasprostranjenosti, dok su vrste s ograničenim arealom imale nižu genetsku raznolikost.

Na sjevernoj granici rasprostranjenosti u Finskoj populacije hrasta lužnjaka su marginalne. Pomoću enzima određena je genetska diferencijacija između populacija od 5,5 %, što je nešto niže od ostalih istraživanja, upućujući na marginalu izoliranost populacija i slabiji protok gena nego u populacijama sa širim područjem rasprostranjenja (MATTILA i dr. 1994).

Usporedba dvaju populacija hrasta lužnjaka u Njemačkoj, također je pokazala značajnu unutarpopulacijsku raznolikost, dok međupopulacijska diferencijacija nije bila statistički značajna (DEGEN i dr. 1999).

LAXER i dr. (2000) istraživali su genetsku raznolikost potomstva preko peludnih donatora. Genetska raznolikost bila je značajna, a mikrosatelitni markeri su ukazali kako u populaciji gotovo nije bilo križanja u srodstvu. Uz to, određeni su mikrosateliti koji su vezani zajedno na genskoj karti hrasta lužnjaka, te tako usko povezani markeri mogu s visokom sigurnošću odrediti broj donatora polena, a time i pretpostaviti razinu genetske raznolikosti potomstva.

Populacije hrastova središnje i istočne Europe po parametrima raznolikosti i diferencijacije ne razlikuju se od ostatka Europe. Istraživanja izoenzimima pokazala su kako se veća raznolikost nalazi unutar populacija u regijama, dok je raznolikost između regija manja (GÖMÖRY i dr. 2001).

Genetska diferencijacija populacija šumskih svojti ovisi i o primijenjenoj vrsti genetskih biljega i načinu mjerenja i procjene genetske diferencijacije. Permutacija analiza otkriva kako broj populacija i broj uzoraka unutar populacije, odnosno razina varijabilnosti, utječu na veličinu diferencijacije između populacija. Ova matematička metoda opovrgava općeprihvaćeno mišljenje kako su mali stupnjevi diferencijacije na mnogim lokusima rezultat opsežnog protoka gena ili novije zajedničke povijesti. Mikrosatelitni lokusi dosljedno pokazuju značajnu diferencijaciju što se može objasniti mehanizmima ne-ponavljajućih mutacija (GREGORIUS i dr. 2006).

Istraživanja kvantitativnih svojstava populacija hrasta lužnjaka u Europi na malom geografskom području ukazuju na postojanje različitih ekotipova, dok je prilikom usporedbe populacija sa šireg Europskog područja utvrđen klinalni obrazac za određena fenotipska svojstva (JENSEN 2000; BALIUCKAS i dr. 2001; JENSEN i DEANS 2004; JENSEN i HANSEN 2008, 2010).

Istraživanja na sjevernoeuropskim populacijama hrasta lužnjaka izvješćuju o njihovoj ekoklinalnoj diferencijaciji obzirom na svojstva listanja i prestanka rasta (JENSEN 1993). Za određivanje varijabilnosti fenotipskih svojstava hrasta lužnjaka iz gotovo sto različitih populacija (podrijetlom iz Danske, Nizozemske, Norveške, Njemačke, Švedske, te južne i istočne Europe) unutar 17 pokusnih nasada u Danskoj provedene su opsežne izmjere u razdoblju 1990.-1998. godine. Uočeno je kako je svojstvo fenologije pod jakom genetskom kontrolom s visokom nasljednosti ($h^2 = 0,87$) i bez razlika između nasada, odnosno interakcija genotip × okoliš nije bila signifikantna. Najveća varijabilnost pokazala se između jedinki

unutar provenijencija. Također, sjeverne provenijencije iz Švedske i Norveške listale su ranije, dok su Nizozemske provenijencije kasnije započinjale s otvaranjem pupova, upućujući na klinalnu varijabilnost, ali između populacija koje dolaze s velikog područja rasprostranjenosti. Unutarpopulacijska varijabilnost fenologije Danskih populacija objašnjena je s obzirom na udaljenost njihovih matičnih sastojina od Sjevernog mora. Klinalni obrazac diferencijacije dobiven je za svojstvo visina i volumena. Geografska širina, odnosno klimatski parametri temperature i dužine dana jasno su razdvojili provenijencije. Svojstvo rasta (visina) također je pod jakom genetskom kontrolom s visokom nasljednosti h^2 = 0,87. Svojstvo volumena je niže nasljednosti i ovisi o načinu gospodarenja i uzgojnim mjerama. Pod vrlo jakom genetskom kontrolom pokazalo se i svojstvo pravnosti debla s vrlo visokom nasljednosti (h^2 = 0,95), (JENSEN 2000).

Istraživanja švedskih populacija hrasta lužnjaka pokazala su kako je fenologija vrlo nasljedno, ali i stabilno svojstvo, iako je CV_A za svojstvo listanja bio najviši u odnosu na ostala istraživana svojstva. Koeficijent aditivne varijacije (CV_A) koristi se za određivanje sposobnosti populacija da akumuliraju adaptivnu genetsku raznolikost i tako se mijenjaju putem prirodne selekcije. Visok koeficijent CV_A ukazuje na mogućnost adaptacije populacija novim uvjetima, naročito za svojstvo listanja. U ranim godinama razvoja listanje i visina su pozitivno korelirane i pokazuju međuovisnost, dok se sa starošću ta povezanost gubi. Niti za jedno svojstvo nije uočen klinalni obrazac razdvajanja populacija (BALIUCKAS i dr. 2001).

Populacije hrasta lužnjaka koje potječu s malog geografskog područja pokazale su grupiranje odnosno postojanje ekotipova, s obzirom na otpornost na rani jesenski mraz. Rezultati pokazuju kako su populacije dobro adaptirane na klimatske uvjete unatoč snažnoj migraciji gena (JENSEN i DEANS 2004).

Daljnja istraživanja populacija sa šireg područja rasprostranjenosti pokazala su vrlo visoku međupopulacijsku diferencijaciju za kvantitativno svojstvo fenologije listanja. Južnije populacije listale su kasnije, ali se razlike u početku listanja između provenijencija nisu mogle objasniti niti prosječnim temperaturama u ožujku, travnju i svibnju kao niti akumuliranim dnevnim temperaturama kroz cijelo proljeće njihovih matičnih sastojina. Također, razlike između populacija u početku listanja ne utječu na dužinu vegetacijske periode ili proizvodnju biomase. Uzimajući u obzir populacije s relativno širokog područja rasprostranjenosti sjeverne, srednje i zapadne Europe, najvjerojatnije su razlike u listanju između istraživanih populacija uzrokovane kompleksnim interakcijama klimatskih faktora koji vladaju u matičnim sastojinama. Parametar kvantitativne genetske diferencijacije (Q_{ST}) koji ukazuje na razinu genetske međupopulacijske diferencijacije upućuje kako je prirodna selekcija bila glavni

razdvajajući faktor, te isto tako upućuje na jaku adaptacijsku sposobnost populacija kada je riječ o fenologiji listanja. Za svojstvo rasta uočena je velika unutarpopulacijska varijabilnost, dok je međupopulacijska diferencijacija bila niža. Diferencijacija se nije mogla objasniti niti promjenom geografske dužine niti nadmorske visine. Postojala je negativna korelacija između visinskog rasta i geografske širine te su populacije iz južnijih područja pokazale brži rast, kako je također prikazano u prijašnjim istraživanjima (JENSEN 2000). Obzirom kako su populacije tijekom istraživanja bile u plasteniku u kontinuirano kontroliranim uvjetima, te je utjecaj okoliša izostavljen, do izražaja je došla visoka nasljednost za istraživana svojstva, uz vrlo visoku prilagodljivost populacija na koju upućuje visok koeficijent aditivne varijance CV_A (JENSEN i HANSEN 2008).

Zbog sve ekstremnijih i vidljivijih promjena u okolišnim uvjetima pristupilo se istraživanjima odgovora već ranije navedenih populacija hrasta lužnjaka s obzirom na različitu količinu vode u tlu (niska zasićenost tla vodom, srednja i visoka). Razlike u tretiranjima bile su visoko statistički značajne za sva istraživana svojstva (visine, promjer). Razlike između populacija unutar tretiranja bile su značajne. Za visinski rast populacije su se razdvojile s obzirom na geografsku širinu. Snažna interakcija uočena je i između tretiranja i genotipova, ali razlika u količini nije promijenila rangiranje populacija ukazujući na određenu stabilnost populacija u njihovom odgovoru na stres uzrokovan sušom. Prilikom vrlo niske zasićenosti supstrata vodom sve populacije prestale su sa rastom. Unutarpopulacijska varijabilnost danskih populacija hrasta lužnjaka bila je značajna s obzirom na različitu količinu vode u tlu, ukazujući na dovoljnu razinu raznolikosti unutar populacija koja dugoročno omogućava adaptaciju i opstanak (JENSEN i HANSEN 2010).

Istraživanja litvanskih populacija hrasta lužnjaka pokazala su vrlo jaku međusobnu povezanost potomstva i matičnih stabala za svojstvo listanja, odnosno visoku nasljednost, te isto tako i stabilnost ekspresije tog svojstva tijekom vremena. Također su između geografski bliskih populacija dobivene statistički značajne razlike za svojstvo listanja. Osim toga značajna korelacija uočena je između listanja i oštećenosti biljaka kasnim proljetnim mrazem (R^2 = 0,95). Kako prilagodljivost i brzina prilagodbe ovisi o količini aditivne varijance, izračunat visok koeficijent varijance za adaptivna svojstva hrasta lužnjaka u ovom istraživanju upućuje na dovoljnu razinu prilagodljivosti istraživanih populacija (BALIUCKAS 2000).

Stabilnost ekspresije i visoku nasljednost fenologije listanja pokazale su litvanske populacije lužnjaka i nakon sadnje u pokusne nasade. Slično je procijenjeno i za svojstvo visine. Istraživani efekt familija bio je značajan za oba svojstva (listanje i visine), dok je efekt populacija bio značajan kod listanja, ali ne kod visina, ukazujući na znatnu

unutarpopulacijsku i međupopulacijsku varijabilnost fenologije listanja, ali bez klinalnog obrasca diferencijacije. Za svojstvo visine veća je bila unutarpopulacijska varijabilnost. Fiksni efekti nasada i blokova bili su značajni kod svih svojstava ukazujući na određeni nivo plastičnosti populacija. Velike klimatske razlike između nasada uzrokovale su statistički visoko značajne razlike za svojstvo listanja ukazujući opet na visoku plastičnost za ovo svojstvo. Teško je procijeniti je li odgovor smanjenog rasta pod nepovoljnim okolišnim uvjetima povećanje adaptiranosti populacija ili pogoršavanje njihovog zdravstvenog stanja i vitalnosti. Međutim, statistički značajan efekt interakcije nasad × familije za visinski rast ukazuje na postojanje specifične adaptiranosti. Postojala je i slaba korelacija između listanja i visinskog rasta, što potvrđuje pretpostavku iz istraživanja švedskih populacija (BALIUCKAS i dr. 2001) kako se ta ovisnost gubi sa starošću biljaka. Oštećenost biljaka kasnim proljetnim mrazem pokazala je statističku značajnost za efekt populacija, i visoku korelaciju sa fenologijom, najviše utječući na populacije intermedijalnih formi, što može upućivati na selekcijski proces povećavanja udjela ekstremnih fenoloških formi. Na različite mogućnosti prilagode za pojedine populacije na nove i različite okolišne uvjete ukazale su razlike u koeficijentima aditivne genetske varijacije (CV_A) između populacija. Autori ovog istraživanja zaključuju kako vrsta ima visoku plastičnost, te se prilagodba na kompleksne stanišne uvjete događa najvjerojatnije vrlo brzo, uzajamnim djelovanjem genetske raznolikosti i fenotipske plastičnosti (BALIUCKAS i PLIURA 2003).

1.10. Pretpostavke i ciljevi istraživanja

Genetska raznolikost važan je preduvjet opstanka populacija u promjenjivom okolišu, odnosno njihove prilagodljivosti. Genetska raznolikost je dakle temelj sposobnosti evolucijskog razvoja. Dugoročni opstanak vrste kritično ovisi o njezinoj sposobnosti da se prilagodi promijenjenim uvjetima okoliša. Gubitak genetske varijabilnosti značio bi gubitak temelja za dugoročnu prilagodljivost populacija.

Vrlo aktualnu temu u kontekstu klimatskih promjena predstavlja poznavanje genetske raznolikosti vrsta u različitim i promjenjivim uvjetima okoliša. Predviđa se kako će globalne klimatske promjene donijeti više ekstreme u temperaturama i padalinama, što će povećati stresni utjecaj na prirodne resurse. Sposobnost šumskog drveća da se nosi s izravnim i neizravnim posljedicama globalnih klimatskih promjena teško je predvidljiva. Na promjene u

okolišu biljke najprije odgovaraju izmjenom fenotipa, ukoliko posjeduju određeni nivo fenotipske plastičnosti, što je najvjerojatnije uvjetovano individualnom genetskom raznolikošću (heterozigotnost). Dugoročnije, populacije se pod utjecajem okolišnih promjena, prilagođavaju procesom prirodne selekcije, opet samo ako posjeduju određeni nivo genetske raznolikosti. To znači kako se bolja prilagođenost postiže višim stupnjem preživljenja i razmnožavanja prilagođenijih jedinki, dok one lošije prilagođene postepeno izumiru dajući niži reproduktivni doprinos populaciji. Prostorno različiti pritisci uvjetuju stvaranje razlika u učestalosti alela i genotipova između populacija putem prirodne selekcije. Pretpostavlja se kako su genetska raznolikost i fenotipska plastičnost pozitivno korelirane, te kako se ne isključuju, već djeluju zajedno pri kompleksnim utjecajima klimatskih promjena u osiguranju opstanka populacija i vrsta (FALCONER i MACKAY 1996, BALIUCKAS i PLIURA 2003).

Cilj ovog istraživanja je procijeniti razinu i obrazac genetske raznolikosti populacija u genetičkom testu hrasta lužnjaka s uzgojenim potomstvom iz 17 hrvatskih sastojina, kombinacijom analiza kvantitativnih fenotipskih svojstava te DNK analiza jezgrinih i kloroplastnih mikrosatelita. Izabrane sjemenske sastojine pokrivaju gotovo cjelokupno područje rasprostranjenosti hrasta lužnjaka u Hrvatskoj, a nalaze se unutar tri zakonski određene sjemenske zone, te sedam sjemenskih regija. Svaka regija zastupljena je najmanje sa jednom populacijom (sjemenskom sastojinom). Prvi vid istraživanja genetske raznolikosti analizama kvantitativnih svojstava u genetičkom testu će dati uvid u adaptivnu diferencijaciju populacija odnosno u njihovu prilagodljivost mikrookolišnim uvjetima matičnih sastojina, te plastičnosti populacija i eventualnu prilagodbu uvjetima pokusnih nasada. Drugi vid istraživanja genetske raznolikosti provesti će se analizama jezgrinih i kloroplastnih mikrosatelita. Jezgrini mikrosatelitni biljezi su neutralni, visoko polimorfni biljezi koji se nasljeđuju biparentalno, te upućuju na protok gena i sjemenom i peludom. Kloroplastni mikrosatelitni biljezi nasljeđuju se uniparentalno, majčinskom linijom i upućuju na protok gena sjemenom. Velika genetska raznolikost roditelja i potomstva procijenjena pomoću jezgrinih mikrosatelitnih biljega, iako su neutralni biljezi pod malim utjecajem selekcije, vjerojatno upućuju na širok adaptacijski potencijal biljaka koji je iznimno važan u kontekstu promjena stanišnih uvjeta.

Zbog samog poznavanja položaja izvornih populacija jedan od ciljeva je istraživanje obrasca genetske raznolikosti, odnosno određivanje prostornog rasporeda genetske raznolikosti između odabranih populacija, te unutar sjemenskih regija. Postoji li naznaka geografske strukture diferencijacije ili je diferencijacija određena više ekološkim parametrima u kojima rastu izvorne populacije. Analiza razdvajanja i grupiranja populacija provest će se

usporedbom raznovrsnih klimatskih parametara njihovih matičnih sastojina, te pomoću jezgrinih mikrosatelitnih biljega s obzirom na stupanj srodnosti potomstva pojedinih populacija u testu.

S obzirom na biološko-ekološke karakteristike hrasta lužnjaka, evolucijsko-adaptacijske čimbenike koji uvjetuju oblikovanje genetske strukture populacija, uglavnom kontinuiranu rasprostranjenost hrasta lužnjaka u Hrvatskoj (izolirane regije 3.1.1. Lika i 4.1.1. Motovunska šuma) kao i na temelju dosadašnjih istraživanja, može se očekivati veća unutarpopulacijska raznolikost naspram manje međupopulacijske diferencijacije, s obzirom na analize kvantitativnih fenotipskih svojstava. Također, očekuje se mala diferencijacija između istraživanih regija pomoću jezgrinih mikrosatelitnih biljega. Moguće je očekivati značajnu diferencijaciju populacija s obzirom na kloroplastne mikrosatelite koji ukazuju na nekadašnje rekolonizacijske puteve, te na njih ne utječe migracija gena peludom.

Rezultati će omogućiti bolje razumijevanje prilagodbenog potencijala istraživanih populacija te potvrdu ili redefiniranje smjernica za korištenje šumskog reprodukcijskog materijala (ŠRM) i postojeće sjemenske razdiobe hrasta lužnjaka u Hrvatskoj.

2. MATERIJAL I METODE

2.1. Uzorkovane populacije

Sjemenski materijal sakupljen je u rujnu i listopadu 2006. godine, u šesnaest sjemenskih i jednoj gospodarskoj sastojini. Brojnošću i geografskim položajem odabrane sastojine reprezentiraju cjelokupan areal hrasta lužnjaka u Hrvatskoj (tablica 2). U svakoj odabranoj sastojini žirevi su sakupljeni s tla ispod krošanja 25 stabala koja su međusobno bila udaljena najmanje 50 m, radi izbjegavanja srodstvene povezanosti.

Tablica 2. Podaci o sastojinama u kojima je sakupljen žir.

Broj	Oznaka populacije	Uprava šuma Podružnica	Šumarija	Gospodarska jedinica; odjel/odsjek	Važeća sjemenska zona
1	HR 12	Vinkovci	Gunja	Trizlovi-Rastovo; 9b, 9d	1.2. Nizinske šume Posavine, srednje Hrvatske i Pokuplja
2	HR 16	Vinkovci	Otok	Slavir; 35d, 48g, 48h	1.2. Nizinske šume Posavine, srednje Hrvatske i Pokuplja
3	HR 58	Osijek	Darda	Haljevo-Kozaračke šume; 52a	1.1. Nizinske šume Podravine i Podunavlja
4	HR 160	Nova Gradiška	Trnjani	Ilijanska-Jelas; 13a, 14b, 15b,26a,b	1.2. Nizinske šume Posavine, srednje Hrvatske i Pokuplja
5	HR 163	Nova Gradiška	Stara Gradiška	Ljeskovača; 18e	1.2. Nizinske šume Posavine, srednje Hrvatske i Pokuplja
6	HR 203	Bjelovar	Vrbovec	Česma; 72a	1.2. Nizinske šume Posavine, srednje Hrvatske i Pokuplja
7	HR 317	Zagreb	Kutina	Kutinske nizinske šume; 30b	1.2. Nizinske šume Posavine, srednje Hrvatske i Pokuplja
8	HR 318	Zagreb	Lipovljani	Josip Kozarac; 43a, 54a, 113a	1.2. Nizinske šume Posavine, srednje Hrvatske i Pokuplja
9	HR 330	Zagreb	Velika Gorica	Turopoljski lug; 8a, 9b	1.2. Nizinske šume Posavine, srednje Hrvatske i Pokuplja
10	HR 368	Sisak	Sunja	Posavske šume; 123a, 124a,b,c,d	1.2. Nizinske šume Posavine, srednje Hrvatske i Pokuplja
11	HR 387	Karlovac	Karlovac	Rečićki lugovi; 26a,b,c,e, 48a,c,d,e	1.2. Nizinske šume Posavine, srednje Hrvatske i Pokuplja
12	HR 389	Karlovac	Karlovac	Domačaj-Kovačevački lug; 14a,b	1.2. Nizinske šume Posavine, srednje Hrvatske i Pokuplja
13	HR 577	Požega	Požega	Poljadijske šume; 48c	1.2. Nizinske šume Posavine, srednje Hrvatske i Pokuplja
14	HR 609	Buzet	Buzet	Mirna; 8d	4.1. Submediteranske šume jugozapadne zone (do Tijarice)
15	HR 627	Koprivnica	Repaš	Repaš Gabajeva greda; 20a,f, 25a	1.1. Nizinske šume Podravine i Podunavlja
16	HR 88	Našice	Koška	Lacić Gložđe; 69a	1.1. Nizinske šume Podravine i Podunavlja
17	HR AM[1]	Vinkovci	Otok	Lože; 65a	1.2. Nizinske šume Posavine, srednje Hrvatske i Pokuplja

Sakupljan je zdrav i neoštećen žir bez obzira na dimenzije. Svaka sjemenska podzona (regija) zastupljena je najmanje s jednim uzorkom, dok su neke podzone zastupljene i s više uzoraka.

Žirevi su zasijani u gredice rasadnika Hrvatskog šumarskog instituta u Jastrebarskom. Pri zasijavanju pazilo se da se očuva podrijetlo svake pojedine biljke, te su žirevi zasijani odvojeno s obzirom na majčinska stabla, odnosno sastojine. Tijekom prva dva vegetacijska razdoblja provedene su uzgojne mjere mehaničkog uklanjanja korova i kemijskog tretiranja fungicidima protiv hrastove pepelnice (*Microsphaera alphitoides*).

[1] Gospodarska sastojina

2.2. Genetički nasadi

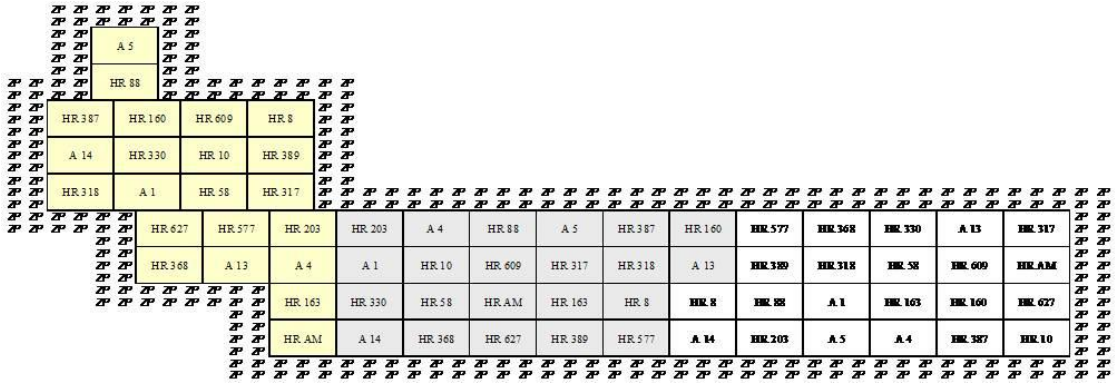
Potomstvo uzgojeno u rasadniku poslužilo je za osnivanje genetičkih nasada na tri različite lokacije u Hrvatskoj. Nasadi su osnovani sukladno dizajnu randomiziranog potpunog blok sustava s tri ponavljanja (bloka). U svakom ponavljanju nalazi se potomstvo iz 17 odabranih hrvatskih populacija hrasta lužnjaka kao i 5 austrijskih populacija koje nisu predmet ovog rada (slika 7). Svaka je populacija u pojedinom bloku reprezentirana s 20 familija (jednu familiju čine potomci koji dijele zajedničko majčinsko stablo), a svaka je familija reprezentirana s pet biljaka posađenih u linearnom rasporedu. U konačnici to je 3 ponavljanja sa 17 populacija, 20 familija po populaciji i 5 biljaka po familiji, tj. ukupno 5100 mjernih biljaka u svakom nasadu. Biljke su sađene u razmaku 2,0 m unutar redova i 2,5 m između redova. Oko mjernih biljaka zasađena su i dva reda tzv. zaštitnog pojasa biljaka, sa istim potomstvom iz uzorkovanih sjemenskih sastojina kao i mjerne biljke. Sve mjerne biljke, kao i biljke prvog reda zaštitnog pojasa zaštićene su neposredno nakon sadnje polipropilenskim štitnicima (tzv. Tuley-evim cijevima). Polipropilenski štitnici su biorazgradivi i mladu biljku štite u prvim godinama razvoja od korovne vegetacije, te glodavaca (slika 4). Svaki nasad zauzima površinu od gotovo 4ha.

Tijekom studenog i prosinca 2008. godine osnovan je nasad na području gospodarske jedinice Jastrebarski lugovi (Šumarija Jastrebarsko, Uprava Šuma Podružnica Karlovac), odjel/odsjek 19b, sa dvogodišnjim sadnicama (2+0) (slika 4). Ostala dva nasada osnovana su s trogodišnjim sadnicama u rano proljeće 2010. godine, a nalaze se na području UŠP Našice, Šumarija Koška, gospodarska jedinica Budigošće-Breza Lugovi odsjek 4b (slika 5) i UŠP Vinkovci, Šumarija Vrbanja gospodarska jedinica Vrbanjske šume, odsjek 126ab (slika 6).

Slika 4. Pokusni nasad hrasta lužnjaka Jastrebarsko, travanj 2011. godine, biljke u polipropilenskim štitnicima (Tulijeve cijevi).

Slika 5. Pokusni nasad hrasta lužnjaka Koška, svibanj 2011. godine.

Slika 6. Pokusni nasad hrasta lužnjaka Vrbanja, studeni 2012. godine.



Slika 7. Shema pokusnog nasada Jastrebarsko, obilježene provenijencije (populacije), te ponavljanja (različitim bojama).

Tablica 3 prikazuje klimatske parametre sastojina iz kojih potječu analizirane populacije preuzeti iz programa CLIMATEEU. Na temelju geografske širine i dužine te nadmorske visine za određene sjemenske sastojine iz kojih je sakupljano sjeme za osnivanje pokusnih nasada te njihovih izmjerenih klimatskih parametara za razdoblje 1981.-2009., program izračunava sezonske i godišnje klimatske varijable koje daju uvid u okolišne karakteristike staništa (prosječna godišnja temperatura, količina oborina, Hargreaves-ova referentna evaporacija, itd.). Hargreaves-ova referentna evaporacija (*Eref*) klimatska je varijabla koja upućuje na evapotranspiracijski potencijal nekog staništa. Više vrijednosti parametra *Eref* ukazuju na potencijalno suše stanište, te veći raspon ekstremnih temperatura.

Tablica 3. Klimatski podaci o matičnim sastojinama iz kojih potječu analizirane populacije (CLIMATEEU).

Populacija	Geografska širina (°)	Geografska dužina (°)	Nadmorska visina (m)	Pr. god. temp. zraka (°C)	Pr. god. količina oborina (mm)	Broj dana bez mraza	Hergreaves-ova referentna evaporacija (*Eref*)
HR 12	44,916	18,833	85	12	770	287	903
HR 16	45,033	18,9	81	12	746	286	902
HR 58	45,733	18,583	90	11,8	675	284	859
HR 160	45,133	18,116	86	11,5	785	279	883
HR 163	45,183	17,183	98	11,8	862	285	888
HR 203	45,833	16,666	105	11,3	784	280	840
HR 317	45,433	16,683	95	11,5	851	283	858
HR 318	45,433	16,816	96	11,6	861	284	863
HR 330	45,674	16,16	99	11,1	873	277	829
HR 368	45,266	16,716	97	11,6	902	284	868
HR 387	45,55	15,733	108	11,9	917	292	842
HR 389	45,483	15,7	114	11,9	980	294	843
HR 577	45,35	17,8	168	11,2	802	277	859
HR 609	45,347	13,817	22	14,9	941	352	758
HR 627	46,15	17,183	115	11,5	763	285	838
HR 88	45,566	18,233	95	11,7	719	283	861
HR AM	45,095	18,813	92	11,8	744	284	898

Genetički pokusni nasadi osnovani su na površinama različitih nadmorskih visina i tipa tla (tablica 4), a prema tablici 5. mogu se uočiti i razlike u klimatološkim uvjetima.

Tijekom vegetacijskog perioda najveća količina oborina pada na području genetičkog nasada Jastrebarsko, koji je postavljen ujedno i na najvišoj nadmorskoj visini gdje najveći utjecaj na razvoj biljaka ima podzemna voda. Ovaj nasad nalazi se prema Hargreaves-ovoj referentnoj evaporaciji u najhumidnijim uvjetima. Nasad Koška ima najnižu godišnju količinu odborina, najnižu prosječnu godišnju temperaturu zraka, te najniže prosječne temperature najtoplijeg i najhladnijeg mjeseca. Također ima i najmanji broj dana bez mraza. Najviša prosječna godišnja temperatura zraka je izračunata za nasad Vrbanja, koji se prema Hargreaves-ovoj referentnoj evaporaciji nalazi u aridnijem području do ostala dva nasada, međutim ovdje veliki utjecaj na rast i razvoj biljaka ima poplavna voda (CLIMATEEU).

Tablica 4. Geografski podaci o genetičkim testovima.

Test	Geografska širina (°)	Geografska dužina (°)	Nadmorska visina (m)	Tip tla
Jastrebarsko	45.644	15.699	111	amfiglej
Koška	45.528	18.319	95	pseudoglej obrončani
Vrbanja	45.014	18.996	85	močvarno glejno, pseudoglej obrončani

Tablica 5. Klimatološki podaci o genetičkim testovima (CLIMATEEU).

Test / Klimatske varijable	Jastrebarsko	Koška	Vrbanja
Prosječna godišnja temp. (°C) (MAT)	11,9	11,6	12
Prosječna temp. najtoplijeg mjeseca (°C) (MWMT)	22,2	21,9	22,2
Prosječna temp. najhladnijeg mjeseca (°C) (MCMT)	1,4	0,3	1
Prosječna godišnja količina oborina (mm) (*MAP*)	932	719	737
Prosječna ljetna količina oborina (mm) (*MSP*)	440	344	345
Broj dana iznad 5°C (broj dana rasta) (*DD5*)	2872	2862	2933
Broj dana bez mraza (*NFFD*)	292	282	286
Hargreaves-ova referentna evaporacija (*Eref*)	839	864	898

Na službenim stranicama DHMZ-a (http://klima.hr/ocjene_arhiva.php) dostupni su podaci o klimatskim prilikama za područjima na kojima su osnovani nasadi tijekom istraživanog razdoblja od 2010. godine do 2012. Mjesečne, sezonske i godišnje srednje vrijednosti temperatura i padalina uspoređuju se s višegodišnjim srednjacima za razdoblje od 1961. do 1990. kako bi se ocijenila odstupanja.

Srednja godišnja temperatura zraka u 2010. godini bila je viša od višegodišnjeg prosjeka (1961-1990). Prema raspodjeli percentila temperaturne prilike u najvećem dijelu Hrvatske bile su više od prosjeka. Područje nasada Jastrebarsko i Vrbanja tijekom 2010. godine prema raspodjeli percentila i odstupanja svrstani su u kategoriju toplo, dok je kategorija normalno određena za područje nasada Koška. Analiza oborinskih prilika pokazala je kako su u 2010. godini oborine u cijeloj Hrvatskoj bile više od prosjeka. Nasad Jastrebarsko nalazi se u kategoriji kišnog vremena, dok su nasadi Koška i Vrbanja svrstani u kategoriju ekstremno kišno. Srednja godišnja temperatura zraka u 2011. godini na području Hrvatske također je bila viša od višegodišnjeg prosjeka. Prema raspodjeli percentila, toplinske prilike u Hrvatskoj za 2011. godinu opisane su sljedećim kategorijama: ekstremno toplo za područje nasada Jastrebarsko, te vrlo toplo za područja ostala dva nasada. Analiza godišnjih količina oborina u cijeloj Hrvatskoj bile su manje od prosjeka, a sva tri nasada svrstana su u kategoriju ekstremno sušno. I u 2012. godini temperature su bile više od prosjeka, a sva tri nasada su svrstani u kategoriju ekstremno toplog područja. Analiza godišnjih količina oborine koje su izražene u postotcima (%) višegodišnjeg prosjeka (1961-1990) pokazuje da su u 2012. godini u većini Hrvatske oborine bile manje od prosjeka. Međutim, samo područje nasada 'Koška' svrstano je u kategoriju sušnog vremena, dok su na ostala dva nasada oborine bile normalne (DHMZ http://klima.hr/ocjene_arhiva.php).

Iz navedenog može se zaključiti kako je 2010. bila topla godina s najviše oborina, 2011. godina ekstremno sušna, dok je 2012. bila ekstremno topla, ali i sa relativno normalnom količinom oborina. Takve vremenske prilike utjecale su također i na rast i razvoj istraživanih populacija.

2.3. Izmjere kvantitativnih fenotipskih svojstava

2.3.1. Visinski rast

Prve izmjere visina u pokusnom nasadu Jastrebarsko provedene su nakon završetka vegetacijskog perioda 2010. godine, u dobi biljaka od 4 godine. Mjerene su sve biljke u pokusnom nasadu, uz pomoć mjernih letvi na 1 cm točnosti. Izmjere su se provodile uzastopno tri godine, do starosti biljaka od 6 godina, zaključno sa krajem 2012. godine. Visine svih mjernih biljaka u pokusnim nasadima Koška i Vrbanja izmjerene su potkraj 2012. godine, u dobi od šest godina.

Slika 8. Izmjere visina u pokusnom nasadu hrasta lužnjaka Jastrebarsko.

2.3.2. Zimska retencija lišća

Pojava zimske retencije lišća (*engl. Winter Leaf Retention*) odnosno zadržavanja prošlogodišnjeg odumrlog lišća do novog listanja, poznati je fenomen unutar rodova *Quercus, Fagus, Carpinus* i dr. Da li je ovo svojstvo prilagodbeno vrijedno i koji su uzroci te pojave još su otvorena pitanja. Nekoliko se istraživanja bavilo okolišnim uzrocima zimske retencije lišća kod hrastova i bukve. DUNBERG (1982) je pokušao objasniti pojavu kao fiziološku posebnost u juvenilnom stadiju razvoja, dok su drugi autori naznačili pojavu retencije lišća preko zime kao prilagodbu na različite okolišne čimbenike, kao što su neplodno tlo, mraz, suhe ili solju zasićene vjetrove kao i na međuvrsnu kompeticiju (NILSSON 1983, ESCUDERO i ARCO 1987).

Rijetka su istraživanja genetskih uzroka ove pojave na hrastu lužnjaku (HERZOG i KRABEL 1996).

Ocjenjivanje zimske retencije lišća biljaka provodilo se na svim mjernim biljkama u nasadu Jastrebarsko kroz tri uzastopne godine (2010., 2011. i 2012. godine). Ocjenjivalo se ordinalnom skalom od 0 do 3: 0 – potpuna odsutnost odumrlog lišća, 1 – prisutan poneki odumrli list, 2 – umjerena pokrivenost odumrlim lišćem, 3 – mnogo odumrlog lišća.

Slika 9. Kategorije zimske retencije lišća – zadržavanja prošlogodišnjeg odumrlog lišća do novog listanja, redom od 0–biljke bez odumrlog lišća na granama, 1, 2, do 3–biljka potpuno prekrivena odumrlim lišćem.

2.3.3. Intenzitet zaraze hrastovom pepelnicom

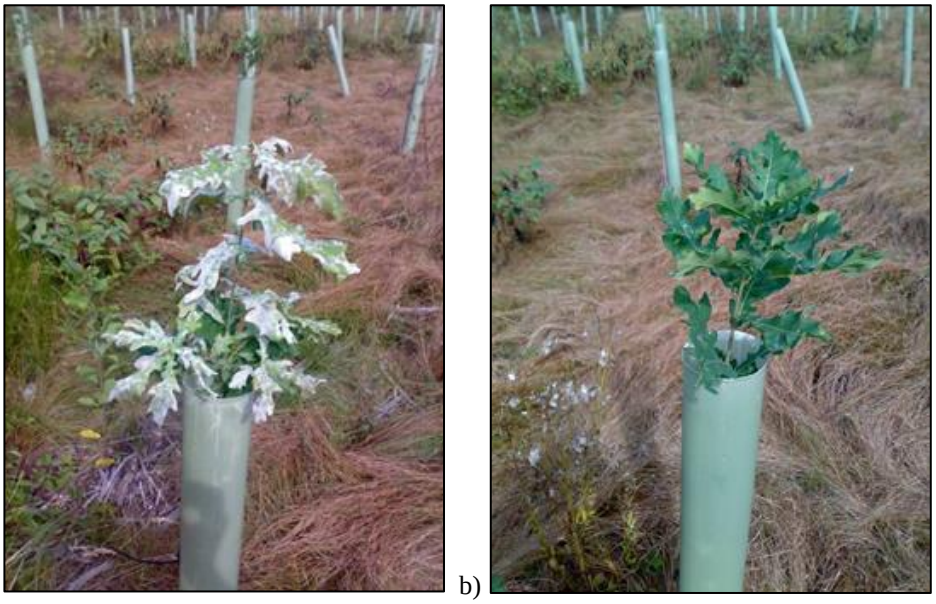
Pepelnica ili hrastova medljika (*Microsphaera alphitoides*) već je stoljeće poznata kao bolest koja ima snažan utjecaj u procesu sušenja hrasta lužnjaka, ali i uzroka stresa te smanjenja rasta naročito kod mladih biljaka zbog smanjene mogućnosti fotosinteze radi prekrivanja lista vegetativnim tijelom, odnosno micelijem gljive. GLAVAŠ (1999) navodi kako se kod srednjeg napada asimilacija smanjuje za čak 50 %.

Intenzitet zaraze pepelnicom temeljem pokrivene površine lista micelijem gljive ocjenjivan je na mjernim biljakama u nasadu Jastrebarsko tijekom dvije uzastopne godine (2011. i 2012.) ordinalnom skalom od 0 do 4, prema LIOVIĆ i ŽUPANIĆ (2006) (slika 10):

- 0 = nezaražen list
- 1 = 1-15 % lista zaraženo
- 2 = 16-30 % lista zaraženo
- 3 = 31-45 % lista zaraženo
- 4 = > 45 % lista zaraženo.

Slika 10. Ocjene intenziteta zaraze lista micelijem gljive pepelnice (iz LIOVIĆ i ŽUPANIĆ 2006).

a) b)



Slika 11.a),b) Primjer biljke sa pokusnog nasada Jastrebarsko a) najviši stupanj zaraženosti pepelnicom, b) primjer nezaražene biljke.

2.3.4. Fenologija listanja

Monitoring fenologije listanja proveden je na svim mjernim biljkama u nasadu Jastrebarsko tijekom 2011., 2012. i 2013. godine. Ocjenjivanje je provedeno jedanput tjedno od početka travnja do završetka listanja svih biljaka. Tako je 2011. godine monitoring trajao četiri tjedna, dok se 2012. i 2013. godine fenologija pratila pet tjedana. Ocjenjivanje faza listanja je provedeno ordinalnom skalom od 1 do 7 prema PERIĆ i dr. (2000).

Ocjene fenologije listanja:

1 – spavajući pup - ljuske pupova su potpuno zatvorene, pupovi sitniji, tamnije boje

2 – pupovi izduženi i povećani, svjetliji, ljuske razmaknute

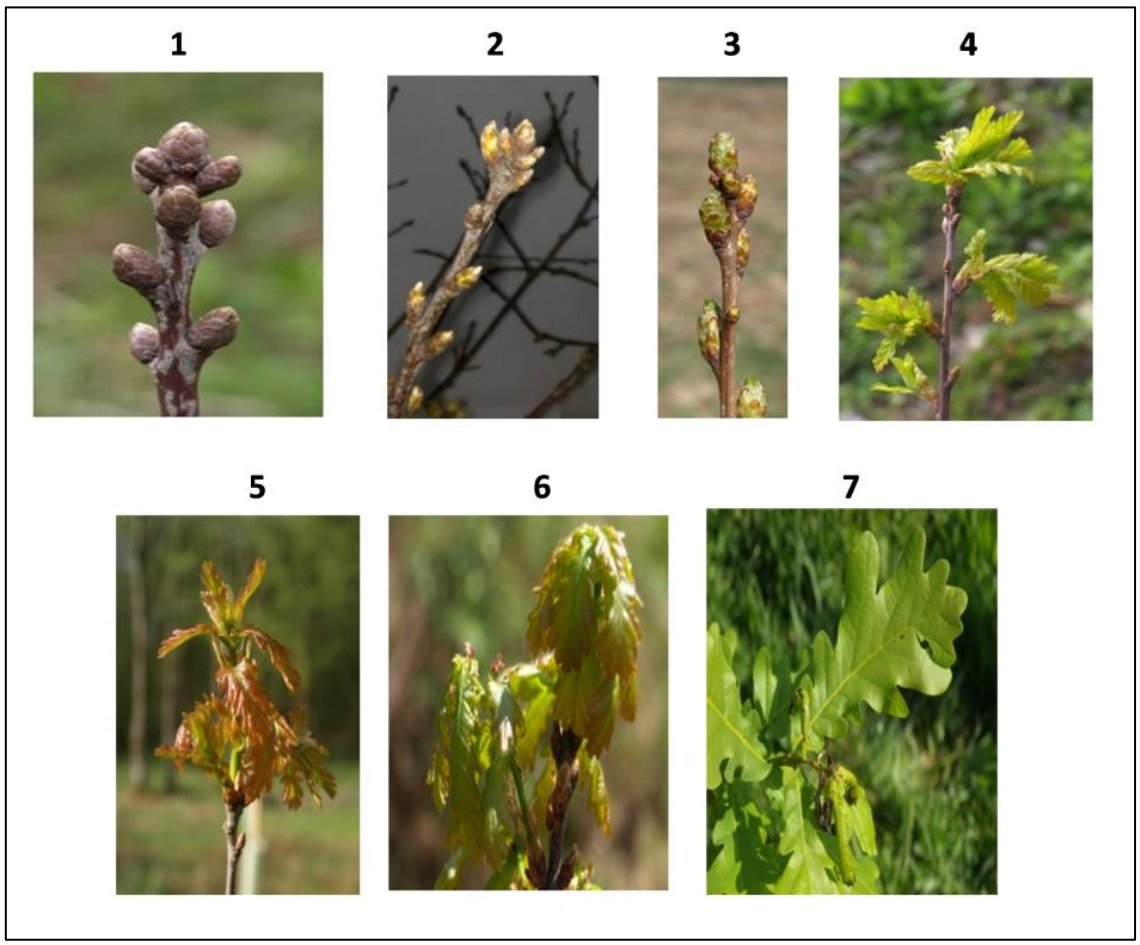
3 – ljuske znatno jače razmaknute, vidljivi zeleni vršci listova

4 – faza pojave prvih vidljivih listića, koji se drže skupljeni u hrpi

5 – formiranje vidljivih listića sa peteljčicom, ali su listići još uzdužno savijeni, vidljivi razmaknuti pojedinačni listići hrapavih plojki

6 – listovi su formirani, ali još tanki, malo savijeni na rubovima

7 – potpuno razvijeni listovi u punoj veličini.



Slika 12. Faze listanja hrasta lužnjaka.

2.3.5. Oštećenost od mraza

U svibnju 2011. godine genetički nasad u Jastrebarskim lugovima pogodio je kasni proljetni mraz, te je provedena ocjena oštećenosti biljaka mrazem. Prema terenskom izvidu određeni su stupnjevi oštećenosti listova biljaka mrazem, te su sve mjerne biljke ocjenjene ordinalnom skalom od 1 do 3 (slika 13).

Stupnjevi oštećenosti:

1 – potpuno neoštećena lisna masa

2 – djelomično nekrotični listovi

3 – potpuno nekrotični listovi

Slika 13. Prikaz biljaka oštećenih mrazem.

2.4. Statistička obrada podataka dobivenih izmjerama kvantitativnih fenotipskih svojstava

2.4.1. Deskriptivna analiza

Provjera normalnosti podataka dobivenih izmjerama i ocjenjivanjem kvantitativnih fenotipskih svojstava provedena je pomoću UNIVARIATE procedure u SAS ENTERPRISE GUIDE statističkom paketu (SAS EG ver. 5 2012).

Deskriptivna statistička analiza, odnosno utvrđivanje prosječnih vrijednosti analiziranih svojstava, njihovih minimalnih i maksimalnih vrijednosti, kao i pripadajućih varijanci i standardnih devijacija provedena je pomoću MEANS procedure u SAS statističkom paketu SAS 9.3 (SAS/STAT® software, SAS INSTITUTE).

2.4.2. Analiza varijance

Analiza varijance provedena je PROC MIXED procedurom u SAS-u, najprije zbirno za sve populacije (ANOVA model 1), te zasebno za svaku populaciju (ANOVA model 2). Izračunate su komponente varijance i statistička značajnost slučajnih efekata tj. izvora varijabilnosti. Analizirani izvori varijabilnosti bili su: blokovi, populacije, familije unutar populacija, interakcija blokova i populacija, te interakcija blokova s familijama unutar populacija.

Analiza varijance je provedena prema slijedećem linearnom modelu (ANOVA model 1):

$$y_{ijkl} = \mu + B_i + P_k + F(P)_{jk} + BP_{ik} + BF_{ijk} + \varepsilon_{ijkl} \qquad (1)$$

gdje su:

y_{ijkl} – individualna vrijednost svojstva;

μ - ukupna sredina svih izmjera za promatrano svojstvo;

B_i – slučajni efekt bloka *i* (*i* = 1,2,3);

P_k – slučajni efekt populacije k, (*k* = 1,2,3...17);

$F(P)_{jk}$ - slučajni efekt familije *j* unutar populacije *k,(j=1,2,…20);*

BP_{ik} – slučajni efekt interakcije populacija s blokovima

BF_{ijk} – slučajni efekt interakcije familija s blokovima

ε_{ijk} - ostatak ili eksperimentalna greška.

Analiza varijance podataka za svaku populaciju zasebno provedena je prema linearnom modelu (ANOVA model 2):

$$y_{ijk} = \mu + B_i + F_j + BF_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

gdje su:

y_{ijk} – individualna vrijednost svojstva;

μ - ukupna sredina svih izmjera za promatrano svojstvo;

B_i – slučajni efekt bloka *i* (*i* = 1,2,3);

F_j - slučajni efekt familije *j* (*j*=1,2,…20)

BF_{ij} – slučajni efekt interakcije familija s blokovima

ε_{ijk} - ostatak ili eksperimentalna greška.

Kvantitativni genetički parametri analizirani su i zbirno za tri pokusna nasada analizom varijance prema linearnom modelu (ANOVA model 3):

$$y_{ajkl} = \mu + n_a + P_k + F(P)_{jk} + nP_{ak} + nF_{ajk} + \varepsilon_{ajkl} \quad (3)$$

- populacija kao slučajni efekt

y_{ijkl} – individualna vrijednost svojstva;

μ - ukupna sredina svih izmjera za promatrano svojstvo;

n_a – fiksni efekt nasad *a* (*a* = 1,2,3)

P_k – slučajni efekt populacije k, (*k* = 1,2,3...17);

$F(P)_{jk}$ - slučajni efekt familije *j* unutar populacije *k,(j=1,2,…20);*

nP_{ak} – slučajni efekt interakcije populacija s nasadima

nF_{ajk} – slučajni efekt interakcije familija s nasadima.

ε_{ijk} - ostatak ili eksperimentalna greška.

Izračunom analize varijance za određeno svojstvo dobivene su vrijednosti na temelju kojih su izračunati postotci komponenti varijance i postotci standardne greške varijance. Statistička značajnost slučajnih efekata (izvora varijabilnosti) izračunata je Wald-ovim z-testom koristeći PROC MIXED.

2.4.3. Procjena kvantitativnih genetičkih parametara

Komponente varijance koriste se za izračunavanje kvantitativnih genetičkih parametara kojima se određuje razina unutarpopulacijske genetske raznolikosti kao i razina međupopulacijske genetske diferencijacije. Ti parametri služe kao numerička kvantifikacija razine genetske raznolikosti za poligena fenotipska svojstva. Na temelju dobivene matrice parametara kovarijance zbirno za sve populacije u testu izračunati su genetski parametri kojima se opisuje razina unutarpopulacijske genetske raznolikosti, to su nasljednost (individualna nasljednost u užem smislu (h_i^2) i familijarna nasljednosti (h_f^2)) i koeficijent aditivne varijacije (CV_A), te Q_{ST} kao parametar kojime se opisuje razina međupopulacijske diferencijacije (LANDE 1992 iz JENSEN i HANSEN 2008; HOULE 1992; ERIKSSON i dr. 2006).

Nasljednost (h^2) je kvantitativni genetički parametar koji pokazuje koliki je utjecaj genetske kontrole, odnosno utjecaj nasljeđa na neko poligeno fenotipsko svojstvo u populaciji. Određuje se kao omjer aditivne genetske varijance σ_A^2 i ukupne (fenotipske) varijance σ_P^2 .

$$h^2 = \frac{\sigma_A^2}{\sigma_P^2}$$

Aditivna genetska varijanca (σ_A^2) dio je varijance koji ukazuje na glavni uzrok sličnosti između srodnika za promatrano svojstvo, a izračunata je prema formuli:

$$\sigma_A^2 = 3\sigma_f^2$$

gdje je: σ_f^2 – kompenenta varijance efekta familija (ANOVA model 2);

Unutar svake populacije određena je individualna nasljednosti (h_i^2), te nasljednost familija (h_f^2), kao i pripadajuće standardne greške nasljednosti (st. greška h_i^2, st. greška h_f^2). Nasljednost je izračunata iz matrice parametara kovarijance za analizirano svojstvo, dobivene PROC MIXED procedurom u SAS statističkom paketu, prema formulama:

$$h_i^2 = \frac{3\sigma_f^2}{\sigma_f^2+\sigma_{bf}^2+\sigma_\varepsilon^2} \quad ; \qquad h_f^2 = \frac{3\sigma_f^2}{\sigma_f^2+\left(\sigma_{bf}^2/b\right)+\left(\sigma_e^2/nb\right)}$$

gdje su:

σ_f^2 – kompenenta varijance efekta familija (ANOVA model 2);

σ_{bf}^2 – komponenta varijance interakcije efekata familija unutar blokova (ANOVA model 2),

σ_ε^2 – komponenta varijance ostatka (ANOVA model 2);

n – broj opservacija po plohici, b – broj blokova.

Za analizu varijance ordinalnih varijabli (preživljenja, zimske retencije lišća, intenziteta zaraze pepelnicom, oštećenosti biljaka mrazem, te fenologije listanja) koristile su se sredine plohica kao ulazni podaci (JENSEN 1993; JENSEN 2000). To znači, kako se najprije odredila aritmetička sredina familije unutar svakog bloka, te se nakon toga pristupilo analizi varijance i određivanju familijske nasljednosti $\left(h_f^2\right)$.

Koeficijent aditivne genetske varijabilnosti (CV_A) parametar je koji procjenjuje unutarpopulacijsku raznolikost. Mjera je varijabilnosti standardizirana aritmetičkom sredinom za određeno fenotipsko svojstvo, te snažno ovisi o okolišnim uvjetima koji vladaju u pokusnim nasadima, a ujedno je i pokazatelj potencijala populacija za adaptaciju.

$$CV_A = \frac{\sqrt{3\sigma_f^2}}{\bar{x}} * 100$$

gdje su:

σ_f^2 – kompenenta varijance efekta familija (ANOVA model 2);

$\bar{x}$ – aritmetička sredina populacije za određeno svojstvo.

Određivanje razine međupopulacijske diferencijacije za kvantitativna svojstva procjenjuje se pomoću parametra kvantitativne genetske diferencijacije (Q_{ST}). Ovaj parametar određuje se kao omjer varijance između populacija i aditivne genetičke varijance. Odnosno određivanje razine međupopulacijske diferencijacije zasnovano je na određivanju varijabilnosti između populacija i varijabilnosti familija unutar populacija, sukladno formuli:

$$Q_{ST} = \frac{\sigma_p^2}{\sigma_p^2 + (2V_A)}$$

σ_p^2 – komponenta varijance uzrokovana efektom populacija (ANOVA model 1);

σ_A – aditivna genetska varijanca (ANOVA model 1), ($\sigma_A = 3\sigma_f^2$).

2.4.4. Procjena obrasca međupopulacijske genetske diferencijacije

Prilikom određivanja obrasca genetske diferencijacije koristila se multivarijatna regresijska stabalna analiza (engl. *MRT – Multivariate Regression Tree analysis*). Ova relativno nova statistička metoda svrstavanja populacija u klastere prvi puta je kod šumskog drveća upotrjebljena za određivanje sjemenske razdjelbe u HAMANN i dr. (2011). MRT analiza provedena je pomoću R statističkog paketa ver. 3.0.3. (R DEVELOPMENT CORE TEAM 2014), uporabom MVPART procedure.

MRT je modificirana klasifikacijska i regresijska stabalna analiza (engl. *Classification and regression trees (CART)*, DE'ATH 2002) u kojoj se populacije odnosno genetski čimbenici svrstavaju u grupe za istraživana kvantitativna svojstva potomstva, a u našem slučaju ovisno o okolišnim varijablama matičnih izvornih sastojina. Dakle, kao prediktorske varijable koristili su se klimatske varijable matičnih sastojina iz kojih potječe istraživano potomstvo. Ove prediktorske varijable izračunate su na temelju klimatskih podataka za referentno razdoblje od 1981. do 2009. koristeći CLIMATE EU softverski paket ver. 4.63 (HAMANN, A., WANG T., SPITTLEHOUSE D.L., MURDOCK T.Q. 2013; CLIMATEEU, još neobjavljeni softverski paket za Europu dostupan na http://www.ualberta.ca/~ahamann/data/climateeu.html).

CLIMATE EU softverski paket standardiziran je za rad kao MS Windows® aplikacija koja koristi izmjerene mjesečne klimatske podatke u referentnom razdoblju određenog područja na temelju geografske širine i dužine, te nadmorske visine, za izračunavanje i procjenu sezonskih i godišnjih klimatskih varijabli (DALY i dr. 2002; MITCHELL i JONES 2005). Na temelju 36 osnovnih mjesečnih klimatskih varijabli izračunatih mjesečnih prosječnih temperatura, minimuma i maksimuma, te mjesečnih oborina, softver određuje 4 mjesečne, 16 sezonskih i 20 godišnjih varijabli. Osam godišnjih varijabli se direktno izračunava iz mjesečnih podataka dok se ostale varijable određuju pomoću jednadžbi. Prosječna godišnja temperatura (engl. *mean annual temperature – MAT*), prosječna temperatura najhladnijeg mjeseca (engl. mean coldest-month temperature – *MCMT*), prosječna temperatura najtoplijeg mjeseca (engl. *mean warmest month temperature – MWMT*), kontinentalnost odnosno razlika između prosječnih vrijednosti najtoplijeg i najhladnijeg mjeseca (engl. *continentality – TD*), prosječna godišnja količina oborina (engl. *mean annual precipitation – MAP*), prosječna količina oborina od svibnja do rujna (engl. *mean May-to-September precipitation – MSP*), godišnji indeks između topline i vlage (engl. *annual heat-to-moisture index – AH:M*) i sezonski indeks između topline i vlage (engl. *and summer heat-to-moisture index – SH:M*) varijable su izračunate direktno iz podataka.

Varijable zimskog perioda izračunavaju se s podacima siječnja i veljače tekuće godine i prosinca prethodne godine. Mjesečne varijable koriste se i za procjenu klimatskih varijabli koje se obično dobivaju iz dnevnih podataka a biološki su važne. To su procjene sume toplinskih jedinica ispod 0 °C (engl. *degree-days below 0 °C – DD < 0*), sume toplinskih jedinica iznad 5 °C (engl. *degree-days above 5 °C – DD > 5*), sume toplinskih jedinica ispod 18 °C (engl. *degree-days below 18 °C – DD < 18*), sume toplinskih jedinica iznad 18 °C (engl. *degree-days above 18 °C – DD > 18*), broj dana bez mraza (engl. *number of frost-free days – NFFD*), period bez mraza (engl. *frost-free period – FFP*), početak perioda s mrazem (engl. *beginning of FFP – bFFP*), datum kraja perioda s mrazem (engl. *ending date of FFP – eFFP*), procjena ekstremne minimalne temperature za 30 godišnji referentni period (engl. *estimated extreme minimum temperature over a 30-yr normal period – EMT*) i udio snijega u količini padalina (engl. *proportion of precipitation as snow – PAS*). Od varijabli značajna je još klimatska varijabla evaporacije nazvana Hargreaves-ova referentna evaporacija (engl. *Hargreaves reference evaporation – Eref*) koja se računa na temelju temperature i geografske širine. Više vrijednosti Hargreaves-ove evaporacije staništa ukazuju na više temperature, veći raspon ekstremnih mjesečnih temperatura i južnije geografske pozicije matičnih staništa. Ovaj parametar ukazuje koliko je visoka potencijalna evaporacija nekog područja, a ovisi o intenzitetu solarne radijacije i temperature, što znači kako više vrijednosti *Eref* ukazuju na potencijalno suše stanište, osobito ako gubitak vode transpiracijom biljke ne mogu nadoknaditi oborinama ili podzemnom vodom. Detaljan opis i izračun klimatskih varijabli nalazi se u WANG i dr. (2012), te WANG i HAMANN (2012).

Na temelju izračunatih klimatskih varijabli matičnih sastojina istraživanih populacija hrasta lužnjaka i standardiziranih aritmetičkih sredina njihovih izmjerenih kvantitativnih svojstava utvrđivao se obrazac genetske diferencijacije. Populacije tvore klastere s obzirom na klimatske parametre matičnih sastojina, te na temelju vrijednosti standardizirane aritmetičke sredine kvantitativnih svojstava. One populacije kojima se određeno svojstvo ispoljilo kao ispodprosječno, prikazani su na slikama stupićima ispod crte koja predstavlja prosjek svih istraživanih populacija u testu, odnosno obrnuto stupići iznad crte predstavljaju populacije sa nadprosječnim vrijednostima istraživanog svojstva.

Korištena je formula standardizacije aritmetičke sredine populacija za sva istraživana kvantitativna svojstva korištenih kao zavisne varijable:

$$z_{ip_{std.}} = \frac{\bar{x}_{ip} - \bar{X}_{\iota}}{\sigma_i}$$

$z_{ip_{std.}}$ – standardizirana varijabla određenog svojstva *i* za populaciju *p (p=1,…17);*

$\bar{x}_{ip}$ – srednja vrijednost svojstva *i* za populaciju *p;*

$\bar{X}_{\iota}$ – ukupna aritimetička sredina svojstva *i* za sve populacije;

σ_i – standardna devijacija svojstva *i.*

2.5. Analize DNK biljega

2.5.1. Uzorkovanje biljnog materijala

Tijekom svibnja 2012. godine sakupljen je biljni materijal za molekularne analize. Uzorkovan je po jedan potpuno razvijen i neoštećen list po jednoj biljci u svakoj od 20 familija unutar svake od 17 populacija (slika 14 a,b). Na taj način prikupljeno je ukupno 340 listova (20 jedinki × 17 populacija). Uzorkovani su mlađi listovi jer sadrže najmanje polifenola i polisaharida pa je izolacija DNK uspješnija i izolat čišći. Uzorkovani listovi su za transport pohranjeni u zaštićene posude sa Silika-gelom u granulama (amorfni silicijev dioksid – SiO_2)) kako bi se absorbirao višak vlage. Listovi su nakon toga sušeni u sušioniku, te pohranjeni su na -20 °C do postupka izolacije DNK.

a)

b)

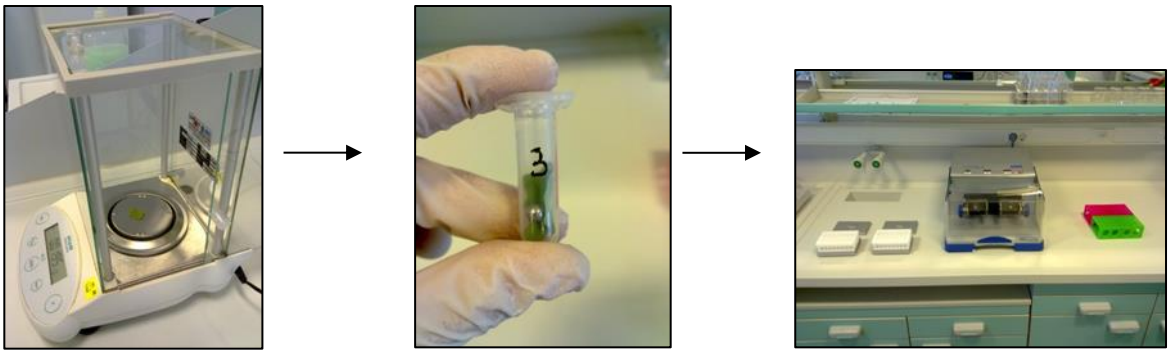
Slika 14. a,b - Prikupljanje biljnog materijala za izolaciju DNK u pokusnom nasadu hrasta lužnjaka, Jastrebarsko.

2.5.2. Izolacija DNK (deoksiribonukleinske kiseline)

Izolacija sveukupne stanične DNK provedena je pomoću *DNeasy Plant Mini Kit* (QIAGEN®, VALENCIA, CALIFORNIA, USA) kompleta za izolaciju biljne DNK.

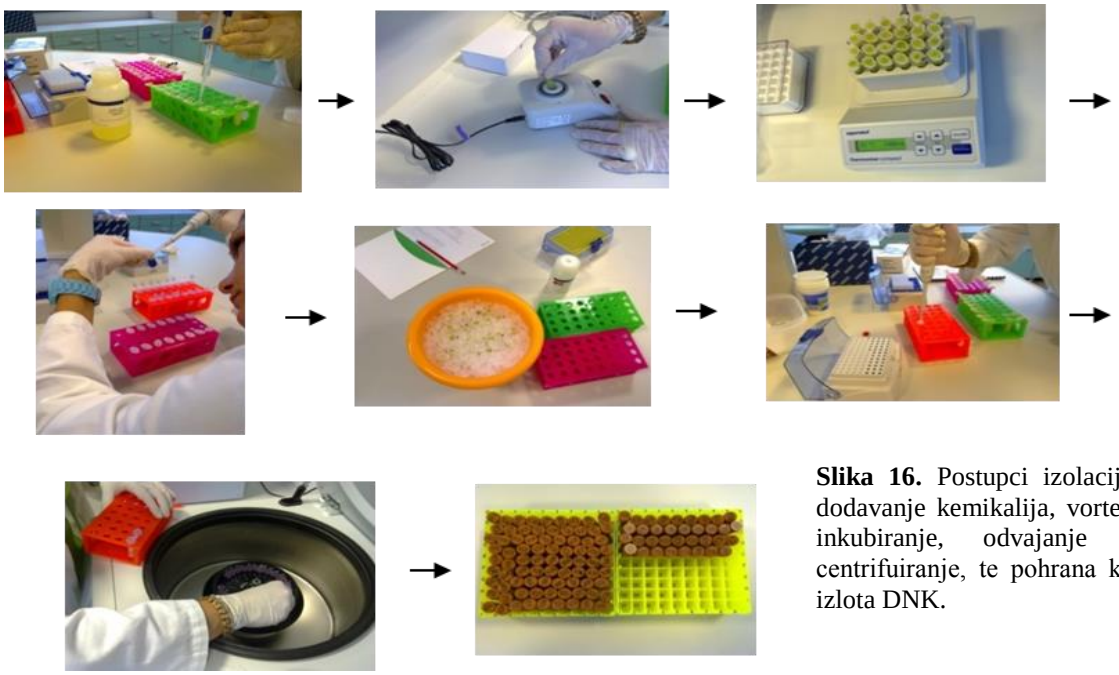
Priprema uzoraka:

Otprilike 20 mg suhog lisnog tkiva svakog uzorka stavljeno je u posebno označene 2.0 ml mikroepruvete (EPPENDORF®). U epruvete je dodana po jedna čelična kuglica za usitnjavanje biljnog materijala. Uzorci su u zatvorenim mikroepruvetama uronjeni u tekući dušik i tako zamrznuti usitnjeni pomoću TissueLyser II uređaja (QIAGEN®).



Slika 15. Vaganje lisnog tkiva, stavljanje u mikroepruvetu sa čeličnom kuglicom, te stoj za usitnjavanje materijala (TissueLyser).

Qiagen DNeasy Plant Mini Kit komplet sadrži pisani protokol za postupak izolacije biljne DNK.



Slika 16. Postupci izolacija DNK, dodavanje kemikalija, vorteksiranje, inkubiranje, odvajanje otopina, centrifuiranje, te pohrana konačnog izlota DNK.

2.5.3. Umnažanje jezgrinih mikrosatelitskih regija lančanom reakcijom polimerazom (PCR)

Jezgrini mikrosatelitni biljezi korišteni u ovom istraživanju izdvojeni su iz nekoliko vrsta roda *Quercus*, i to sedam biljega iz vrste *Quercus robur* (KAMPFER i dr. 1998), šest biljega izdvojenih iz vrste *Quercus petraea* (STEINKELLNER i dr. 1997b), te jedan biljeg izdvojen iz vrste *Quercus macrocarpa* (DOW i ASHLEY 1996). Tablica 6 sadrži detaljan prikaz biljega, njihovih početnica, ponavljajućih sljedova nukleotida, te očekivanih duljina alela.

Radi veće ekonomičnosti, spojeno je nekoliko mikrosatelitnih biljega u jednu PCR reakciju. Takvo spajanje biljega naziva se multipleks ili višestruki PCR. Koriste se dva ili više parova početnica s ciljem istovremenog umnožavanja dva ili više odsječaka DNK. Kod kapilarne elektroforeze koriste se različito obojane početnice kako bi se razlikovali produkti. Također, najčešće se koristi veći broj ponavljajućih ciklusa (35-40) zbog istovremenog umnažanja nekoliko različitih odsječaka DNK kada koristimo PCR multiplekse (AMBRIOVIĆ RISTOV i dr. 2007).

Tablica 6. Korišteni jezgrini biljezi i početnice, izdvojeni iz izvorne literature.

Br.	Naziv biljega	Početnice (slijed u smjeru 5' – 3') F početnice obilježene (Stigma® Proligo)		Ponavljajući motiv	Procjena duljine alela
1	ssrQrZAG96	**F - ned**	CCCAGTCACATCCACTACTGTCC	$(TC)_{20}$	135-194
		R	GGTTGGGAAAAGGAGATCAGA		
2	ssrQrZAG7	**F - vic**	CAACTTGGTGTTCGGATCAA	$(TC)_{17}$	115-153
		R	GTGCATTTCTTTTATAGCATTCAC		
3	ssrQrZAG87	**F - ned**	TCCCACCACTTTGGTCTCTCA	$(TC)_{20}$	110-131
		R	GTTGTCAGCAGTGGGATGGGTA		
4	ssrQrZAG112	**F - ned**	TTCTTGCTTTGGTGCGCG	$(GA)_{32}$	85-96
		R	GTGGTCAGAGACTCGGTAAGTATTC		
5	ssrQrZAG11	**F - ned**	CCTTGAACTCGAAGGTGTCCTT	$(TC)_{22}$	238-267
		R	GTAGGTCAAAACCATTGGTTGACT		
6	ssrQrZAG101	**F - fam**	CCTGCACAATCAAATCCTTCACTT	$(TC)_{20}(AC)_{15}$	136-160
		R	GCCATGAACAACGGAGGTATCTAG		
7	ssrQrZAG30	**F - vic**	TGCTCCGTCATAATCTTGCTCTGA	$(GA)_{26}$	172-248
		R	GCAATCCTATCATGCACATGCACAT		
8	ssrQpZAG9	**F - vic**	GCAATTACAGGCTAGGCTGG	$(AG)_{12}$	182-210
		R	GTCTGGACCTAGCCCTCATG		
9	ssrQpZAG110	**F - fam**	GGAGGCTTCCTTCAACCTACT	$(AG)_{15}$	206-262
		R	GATCTCTTGTGTGCTGTATTT		

10	ssrQpZAG1/5	**F - fam**	GCTTGAGAGTTGAGATTTGT	$(GA)_5(GA)_9$	160-190
		R	GCAACACCCTTTAACTACCA		
11	ssrQpZAG15	**F - vic**	CGATTTGATAATGACACTATGG	$(AG)_{23}$	108-152
		R	CATCGACTCATTGTTAAGCAC		
12	ssrQpZAG16	**F - fam**	CTTCACTGGCTTTTCCTCCT	$(AG)_{21}$	164-199
		R	TGAAGCCCTTGTCAACATGC		
13	ssrQpZAG104	**F - ned**	ATAGGGAGTGAGGACTGAATG	$(AG)_{16}AT(GA)_3$	176-196
		R	GATGGTACAGTAGCAACATTC		
14	MSQ13	**F - vic**	TGGCTGCACCTATGGCTCTTAG	$(TC)_{12}$	222-246
		R	ACACTCAGACCCACCATTTTTCC		

U izvornoj literaturi nalazi se nekoliko već optimiziranih PCR reakcija za multiplekse jezgrinih mikrosatelitnih biljega koji se mogu koristiti, te su poslužili kao predložak po kojemu su se sastavili multipleksi biljega korišteni u ovom istraživanju. Provjera optimizacije PCR reakcija rađena je elektroforezom na agaroznom gelu. Svaki uzorak sadržavao je 5 µl uzorka PCR produkta s 1 µl boje. Elektroforeza se odvijala oko 45 minuta pri 55 V, u otopini 1X TBE pufera (Lonza AccuGENE®) s dodatnim bojilom (Lonza GelStar™ Nucletic Acid Gel Stain). Nakon provjere PCR protokola za određene biljege radi optimizacije napravljeni su multipleksi, koji su uspješno umnoženi i pripremljeni za denaturaciju kapilarnom elektroforezom na automatskom sekvenceru, te poslani u MACROGEN EUROPE INC., Nizozemska.

MULTIPLEKS 1 (biljezi ssrQpZAG9, ssrQrZAG11, ssrQrZAG101)

PCR reakcijska smjesa:

U PCR reakcijskoj smjesi volumena 20 µl po uzorku upotrijebljeno je 1 µl genomske DNA, u 10 mM PCR pufera, uz 0,025 U/µl *Taq* DNK Polimeraze, te 0,2 mM svakog dNTP-a i po 0,2 µM Forward i Reverse početnica biljega ssrQpZAG9 i ssrQrZAG101, te po 0,3 µM Forward i Reverse početnica biljega ssrQrZAG11 (LIFE TECHNOLOGIES®). Do punog volumena koristila se sterilizirana i deionizirana H_20.

PCR protokol:

Prvi stupanj PCR reakcije, denaturacije odvijala se pri 94 °C u vremenu trajanja od 3 minute. Amplifikacija DNK se odvijala u 30 ciklusa s temperaturama denaturacije (engl. *denaturation*) 94 °C u trajanju 40 sekundi i nalijeganja početnica (engl. *annealing*) na 50 °C u trajanju od po 40 sekundi, i elongacijom, tj. produživanjem DNK na temperaturi od 65 °C u trajanju od 80 sekundi. Nakon što su svi ciklusi završeni, uslijedila je produžena elongacija u trajanju od 5 minuta pri 65 °C.

MULTIPLEKS 2 (ssrQpZAG15, ssrQpZAG104, ssrQpZAG110)

PCR reakcijska smjesa:

U PCR reakcijskoj smjesi volumena 20 µl po uzorku upotrijebljeno je 1 µl genomske DNA, u 10 mM PCR pufera, uz 0,025 U/µl Taq DNK Polimeraze, te 0,2 mM svakog dNTP-a i po 0,3 µM Forward i Reverse početnica biljega ssrQpZAG15, po 0,22 µM Forward i Reverse početnica biljega ssrQpZAG104, te po 0,4 µM Forward i Reverse početnica biljega ssrQpZAG110 (LIFE TECHNOLOGIES®). Do punog volumena koristila se sterilizirana i deionizirana H_20.

PCR protokol:

Tri minute početne denaturacije pri 94 °C. Amplifikacija DNK se odvijala u 30 ciklusa s temperaturama denaturacije 94 °C u trajanju 40 sekundi i nalijeganja početnica na 50 °C u trajanju od po 40 sekundi, te elongacijom DNK na temperaturi od 65 °C u trajanju od 80 sekundi. Nakon što su svi ciklusi završeni, uslijedila je produžena elongacija u trajanju od 5 minuta pri 65 °C.

MULTIPLEKS 3 (ssrQpZAG16, ssrQrZAG30, ssrQrZAG87)

PCR reakcijska smjesa:

U PCR reakcijskoj smjesi volumena 20 µl po uzorku upotrijebljeno je 1 µl genomske DNA, u 10 mM PCR pufera, uz 0,025 U/µl Taq DNK Polimeraze, te 0,2 mM svakog dNTP-a i po 0,4 µM Forward i Reverse početnica biljega ssrQpZAG16, po 0,3 µM Forward i Reverse početnica biljega ssrQrZAG30, te po 0,15 µM Forward i Reverse početnica biljega ssrQrZAG87 (LIFE TECHNOLOGIES®). Do punog volumena koristila se sterilizirana i deionizirana H_20.

PCR protokol:

Tri minute početne denaturacije pri 94 °C. Amplifikacija DNK se odvijala u 30 ciklusa s temperaturama denaturacije 94 °C u trajanju 40 sekundi i nalijeganja početnica na 50 °C u trajanju od po 40 sekundi, te elongacijom DNK na temperaturi od 65 °C u trajanju od 80 sekundi. Nakon što su svi ciklusi završeni, uslijedila je produžena elongacija u trajanju od 5 minuta pri 65 °C.

MULTIPLEKS 4 (ssrQrZAG7, ssrQrZAG96, ssrQpZAG1/5, MSQ13)

PCR reakcijska smjesa:

U PCR reakcijskoj smjesi volumena 20 µl po uzorku upotrijebljeno je 1 µl genomske DNA, u 10 mM PCR pufera, uz 0,025 U/µl Taq DNK Polimeraze, te 0,2 mM svakog dNTP-a i po 0,22 µM Forward i Reverse početnica biljega ssrQrZAG7, po 0,15 µM Forward i Reverse početnica biljega ssrQrZAG96, te po 0,3 µM Forward i Reverse početnica biljega ssrQpZAG1/5 i po 0,22 µM Forward i Reverse početnica biljega MSQ13 (LIFE TECHNOLOGIES®). Do punog volumena koristila se sterilizirana i deionizirana H_20.

PCR protokol:

Tri minute početne denaturacije pri 94 °C. Amplifikacija DNK se odvijala u 30 ciklusa s temperaturama denaturacije 94 °C u trajanju 40 sekundi i nalijeganja početnica na 50 °C u trajanju od po 40 sekundi, te elongacijom DNK na temperaturi od 65 °C u trajanju od 80 sekundi. Nakon što su svi ciklusi završeni, uslijedila je produžena elongacija u trajanju od 5 minuta pri 65 °C.

BILJEG ssrQrZAG112

Zbog specifičnog protokola za biljeg ssrQrZAG112, umnažanje tog biljega je rađeno zasebno prema GUICHOUX i dr. 2011, bez mogućnosti njegovog uklapanja u jedan od multipleksa.

PCR reakcijska smjesa:

U PCR reakcijskoj smjesi volumena 10 µl po uzorku upotrijebljeno je 1 µl genomske DNA, u 10 mM PCR pufera, uz 0,025 U/µl Taq DNK Polimeraze, te 0,2 mM svakog dNTP-a i po 0,4 µM Forward i Reverse početnica biljega ssrQrZAG112 (LIFE TECHNOLOGIES®). Do punog volumena koristila se sterilizirana i deionizirana H_20.

PCR protokol:

Prvi stupanj PCR reakcije, denaturacije odvijala se pri 95 °C u vremenu trajanja od 15 minuta. Amplifikacija DNK se odvijala u 30 ciklusa s temperaturama denaturacije (engl. *denaturation*) 94 °C u trajanju 30 sekundi i jednominutnom nalijeganju početnica (engl. *annealing*) na 56 °C, te elongacijom, tj. produživanjem DNK na temperaturi od 72 °C u trajanju od 45 sekundi. Nakon što su svi ciklusi završeni, uslijedila je produžena elongacija u trajanju od 10 minuta pri 60 °C.

2.5.4. Umnažanje kloroplastnih mikrosatelitnih regija lančanom reakcijom polimerazom (PCR)

Kloroplastni mikrosatelitni biljezi korišteni u ovom istraživanju izdvojeni su iz vrsta *Quercus robur* i *Quercus petraea*, sedam biljega (DEGUILLOUX i dr. 2003) te tri biljega karakteristična za očuvane regije kod svih kritosjemenjača dvosupnica (WEISING i GARDNER 1999). Tablica 7 sadrži detaljan prikaz biljega, njihovih početnica, ponavljajućih sljedova nukleotida, te očekivanih duljina alela.

Tablica 7. Korišteni kloroplastni biljezi i početnice, izdvojeni iz izvorne literature.

Br.	Naziv biljega	Početnice (slijed u smjeru 5' – 3') F početnice obilježene (Stigma® Proligo)		Ponavljajući motiv	Procjena duljine alela
1	µdt3	**F - ned**	TGTTAGTAATCCTTTCGTTT	$(A)_{11}$	126
		R	AGGTATAAAGTCTAAGGTAA		
2	ccmp10	**F –vic**	TTTTTTTTTAGTGAACGTGTCA	$(T)_{14}$	103
		R	TTCGTCGDCGTAGTAAATAG		
3	µcd5	**F – fam**	CCCCCGGATCTCTGTCAACTG	$(A)_8$	77
		R	TAATAAACGAGAATCACATAA		
4	µdt1	**F - fam**	ATCTTACACTAAGCTCGGAA	$(A)_{11}$	86
		R	TTCAATAACTTGTTGATCCC		
5	µkk3	**F - ned**	TTAGATCGGGTAATCGTTCAA	$(T)_{10}$	99
		R	AAGTGAATAAATGGATAGAGC		
6	ccmp6	**F - vic**	CGATGCATATGTAGAAAGCC	$(T)_5C(T)_{17}$	103
		R	CATTACGTGCGACTATCTCC		
7	µcd4	**F - hex**	TTATTTGTTTTTGGTTTCACC	$(T)_{12}$	97
		R	TTTCCCATAGAGAGTCTGTAT		
8	µdt4	**F – vic**	GATAATATAAAGAGTCAAAT	$(A)_9$	147
		R	CCGAAAGGTCCTATACCTCG		
9	ccmp2	**F - ned**	GATCCCGGACGTAATCCTG	$(A)_{11}$	189
		R	ATCGTACCGAGGGTTCGAAT		
10	µkk4	**F - fam**	TTGTTTACCTATAATTGGAGC	$(T)_9$	114
		R	TAGCGGATCGGTTCAAAACTT		

Optimizacija i PCR reakcije kloroplastnih mikrosatelitnih biljega korišteni su na isti način i sa istim uređajima kao i jezgrini biljezi. Također, zbog uštede i mogućnosti sparivanja biljega na osnovu kompatibilnosti temperatura te različite duljine kako bi ih mogli jasno razlikovati, formirano je tri multipleksa, dok je za jedan biljeg lančana reakcija polimerazom provedena zasebno (cd4).

MULTIPLEKS 1 (µcd5, µdt3, ccmp10)

PCR reakcijska smjesa:

U PCR reakcijskoj smjesi volumena 20 µl po uzorku upotrijebljeno je 1 µl genomske DNA, u 10 mM PCR pufera, uz 0,025 U/µl Taq DNK Polimeraze, te 0,2 mM svakog dNTP-a i po 0,2 µM svih Forward i Reverse početnica (LIFE TECHNOLOGIES®). Do punog volumena koristila se sterilizirana i deionizirana H_20.

PCR protokol:

Prvi stupanj PCR reakcije, denaturacije odvijala se pri 94 °C u vremenu trajanja od 3 minute. Amplifikacija DNK se odvijala u 30 ciklusa s temperaturama denaturacije (engl. *denaturation*) 94 °C u trajanju 40 sekundi i nalijeganja početnica (engl. *annealing*) na 50 °C u trajanju od po 40 sekundi, i elongacijom, tj. produživanjem DNK na temperaturi od 65 °C u trajanju od 80 sekundi. Nakon što su svi ciklusi završeni, uslijedila je produžena elongacija u trajanju od 5 minuta pri 65 °C.

MULTIPLEKS 2 (µkk3, µdt1, ccmp6)

PCR reakcijska smjesa:

U PCR reakcijskoj smjesi volumena 20 µl po uzorku upotrijebljeno je 1 µl genomske DNA, u 10 mM PCR pufera, uz 0,025 U/µl Taq DNK Polimeraze, te 0,2 mM svakog dNTP-a i po 0,2 µM Forward i Reverse početnica biljega µkk3, µdt1 i po 0,6 µM Forward i Reverse početnica biljega ccmp6 (LIFE TECHNOLOGIES®). Do punog volumena koristila se sterilizirana i deionizirana H_20.

PCR protokol:

Tri minute denaturacije odvijala se pri temperaturi 94 °C. Amplifikacija DNK se odvijala u 30 ciklusa s temperaturama denaturacije 94 °C u trajanju 40 sekundi i nalijeganja početnica na 50 °C u trajanju od po 40 sekundi, i elongacijom, tj. produživanjem DNK na temperaturi od 65 °C u trajanju od 80 sekundi. Nakon što su svi ciklusi završeni, uslijedila je produžena elongacija u trajanju od 5 minuta pri 65 °C.

MULTIPLEKS 3 (µdt4, µkk4, ccmp2) i BILJEG µcd4

PCR reakcijska smjesa:

U PCR reakcijskoj smjesi volumena 20 µl po uzorku upotrijebljeno je 1 µl genomske DNA, u 10 mM PCR pufera, , uz 0,025 U/µl Taq DNK Polimeraze, te 0,2 mM svakog dNTP-a i po 0,5 µM Forward i Reverse početnica biljega µcd4, po 0,5 µM Forward i Reverse početnica biljega µdt4, 0,4 µM Forward i Reverse početnica biljega µkk4 i po 0,1 µM Forward i Reverse početnica biljega ccmp2 (LIFE TECHNOLOGIES®). Do punog volumena koristila se sterilizirana i deionizirana H_20.

PCR protokol:

Tri minute denaturacije odvijala se pri temperaturi 94 °C. Amplifikacija DNK se odvijala u 30 ciklusa s temperaturama denaturacije 94 °C u trajanju 40 sekundi i nalijeganja početnica na 50 °C u trajanju od po 40 sekundi, i elongacijom, tj. produživanjem DNK na temperaturi od 65 °C u trajanju od 80 sekundi. Nakon što su svi ciklusi završeni, uslijedila je produžena elongacija u trajanju od 5 minuta pri 65 °C.

Uspješnost umnažanja svih biljega prvo je provjerena elektroforezom na agaroznom gelu i vizualizirana uz pomoć uređaja Mini BIS Pro, DNr Bio-Imaging System sa UV svjetlosti.

2.5.5. Razdvajanje i vizualizacija produkata PCR-a

Svi PCR produkti poslani su na analizu kapilarnom elektroforezom u MACROGEN EUROPE INC., Nizozemska.

Za razdvajanje i vizualizaciju PCR produkata koristi se najčešće kapilarni sekvencer koji zahtijeva fluorescentno označene početnice. Opremljen je sa dugačkim kapilarama (tanke cjevčice) koje omogućuju istovremenu analizu nekoliko uzorka. Kapilare su napunjene polimerom koji u polju istosmjerne struje omogućuje razdvajanje DNA fragmenata prema njihovoj veličini (broju parova baza, bp-a). Detekcija DNA fragmenata bazirana je na principu fluorescencije, odnosno karakteristike da specijalne fluorescentne boje osvijetljene laserom emitiraju svjetlost (fluorescenciju). Uzorci putuju kapilarom do mjesta gdje uređaj detektira prolazak flourescentno označenog produkta i bilježi jačinu signala i dužinu produkta. Potrebno je koristiti standardnu veličinu (engl. *size standard*) poznate veličine fragmenta pomoću kojeg se softverski izračunava veličina ostalih fragmenata.

U trenutku prolaska uzorka uređaj bilježi prisustvo produkta u obliku vrha krivulje (engl. *peak*). Visina vrha ovisi o jačini signala tj. količini produkta, a položaj vrha u odnosu na standard ovisi o dužini alela.

Nakon završene elektroforeze i dobivenih podataka iz MACROGEN EUROPE INC., podaci su analizirani pomoću softverskog paketa GENEMAPPER 4.0 (APPLIED BIOSYSTEMS®). Pravi vrhovi odabrani su ručno na temelju očekivanog raspona dužine alela i karakterističnog izgleda mikrosatelita. Dužine alela i ostale značajke odabranih vrhova iz programa su u obliku tablice prebačeni u Excel.

2.6. Statističke analize DNK biljega

Uporabom genetičkih biljega identificira se raznolikost na nivou pojedinačnih genskih lokusa, što omogućuje precizniju informaciju o genetskoj raznolikosti. Međutim genetskim biljezima utvrđuje se tzv. neutralna genetska raznolikost, što znači da utvrđena genetska raznolikost ne ukazuje na razlike između populacija uvjetovane prilagodbenim procesima nastalih uslijed razlika u okolišnim uvjetima. Genetski biljezi koji se danas koriste ne pripadaju lokusima koji su pod utjecajem selekcijskih procesa. Međutim, nezaobilazno su sredstvo analize evolucijsko-adaptacijskih čimbenika, i to utjecaja genetskog drifta na populacije i analize migracije alela između populacija.

2.6.1. Jezgrini mikrosatelitni biljezi

Analiza jezgrinih mikrosatelitnih biljega provedena je na temelju 340 jedinki i 10 mikrosatelitnih biljega. Biljezi ssrQpZAG15, ssrQpZAG104, ssrQpZAG110 i ssrQpZAG1/5 nisu uvršteni u analize zbog monomorfnosti i nedostatka podataka.

2.6.1.1. Deskriptivna statistika

Analize informativnosti mikrosatelitnih biljega kao i raznolikosti unutar populacija provode se nizom jednostavnih statističkih parametara. Za određivanje unutarpopulacijske raznolikosti najčešće se koriste različiti parametri koji služe za kvantifikaciju genetske raznolikosti na temelju podataka dobivenih analizom DNK biljega.

Ukupan broj alela (*Na*) i genska raznolikost (H_E) svakog mikrosatelitnog biljega izračunat je u programu POWERMARKER ver. 3.23 (LIU i MUSE 2005).

Prosječan broj alela po lokusu za pojedinu populaciju (*Nav*), zapažena heterozigotnost (engl. *observed heterozigosity* – H_O) koja predstavlja udio heterozigotnih jedinki u analiziranim populacijama, te očekivana heterozigotnost (engl. *expected heterozygosity* – H_E) odnosno genska raznolikost (engl. *gene diversity*) definirana kao udio jedinki u skupini analiziranih genotipova koje bi bile heterozigtne nakon jedne generacije slobodne oplodnje, odnosno vjerojatnost da su dva nasumično izabrana alela iz analizirane skupine međusobno različita, izračunati su pomoću programa GENEPOP 4.0 (RAYMOND I ROUSSET 1995).

Jedinstveni aleli (engl. *private alleles – Npa*) definirani su kao aleli koji se pojavljuju u jedinkama samo jedne od analiziranih populacija, a izračunati su u programu MICROSAT ver. 1.5d (MINCH i dr. 1997).

Ujedno se ispitalo jesu li promatrane populacije u Hardy-Weinberg-ovoj ravnoteži ili postoji određeno odstupanje. Ukoliko odstupanje postoji, može biti uzrokovano samooplodnjom unutar populacija ili genetskom diferencijacijom između njih.

Fiksacijski indeks – F_{IS} (WHIGHT 1931) označava manjak ili višak heterozigotnosti, a mjera je odstupanja stvarnih alelnih frekvancija od frekvencija kakve bi bile prisutne pri panmiksiji. U stranoj literaturi se najčešće naziva *inbreeding coefficient* koji predstavlja indeks unutarpopulacijske endogamije odnosno koeficijentom samooplodnje, tj. mogućnost da su dva alela kod iste jedinke identičnog postanka ili podrijetla. Vrijednost se kreće između -1 i 1. U usporedbi s populacijama u Hardy-Weinberg-ovoj ranoteži ($F_{IS} = 0$) što su vrijednosti koeficijenta negativnije (F_{IS} >0 do -1) to znači kako u populaciji ima viška heterozigota (*outbreeding*), dok pozitivne vrijednosti ukazuju na njihov manjak (*inbreeding*).

$$F_{IS} = 1 - \frac{H_0}{H_E}$$

gdje je,

H_0 – zapažena heterozigotnost,

H_E – očekivana heterozigotnost.

Izračun nepristranog procjenitelja fiksacijskog indeksa (*f*) provodi se po metodi WEIR i COCKERHAM (1984). Za testiranje signifikantnosti odstupanja od Hardy-Weinberg-ove ravnoteže korišten je također GENEPOP, na temelju metode Markovljevih lanaca (*Markov chain method*) (GUO i THOMPSON 1992). Određivanje signifikantnosti ($P_{(FIS)}$) provedeno je pomoću postupnog Bonferroni-jevog testa (HOLM 1979; RICE 1989) u svrhu kontrole utjecaja višestrukog testiranja programskim paketom SAS ver. 9.2 (SAS INSTITUTE 2004).

2.6.1.2. Nul aleli

Postojanje nul-alela testirano je pomoću programa MICRO-CHECKER ver. 2.2.3 (VAN OOSTERHOUT i dr. 2004). Učestalost nul-alela (f_{null}) procijenjena je pomoću algoritma Očekivanja i maksimizacije (engl. *Expectation-Maximization algorithm – EM*, DEMPSTER i dr. 1977) u programu FREENA (CHAPUIS i ESTOUP 2007). Prinačene novo izračunate alelne učestalosti korištene su za određivanje očekivane heterozigotnosti populacija ($H_{E(null)}$) i indeks genetičke diferencijacije između populacija ($F_{ST(null)}$) uporabom metode ENA (engl. *Excluding Null Alleles*) koja iz izračuna isključuje učestalosti nul-alela. Određivanje statističke značajnosti između H_E i $H_{E(null)}$ testirano je pomoću Wilcoxon-ovog testa signifikantnosti u SAS statističkom paketu (SAS INSTITUTE 2004).

2.6.1.3. Genetička diferencijacija

F_{ST} ili indeks genetske diferencijacije (WRIGHT 1931), udio je ukupne genetske varijabilnosti koja je uzrokovana diferencijacijom između populacija u odnosu na ukupnu genetsku varijabilnost, odnosno razlikama u alelnim učestalostima pojedinih podpopulacija od kojih se neka populacija sastoji. Kao mjera opisuje smanjenje heterozigotnosti u metapopulaciji zbog utjecaja genetskog drifta. Koristi se i za izračunavanje protoka gena između populacija, kao i genetske udaljenosti između dvije populacije (NEI 1972). U literaturi se navodi kao *coancestry coefficient (q)* ili *fixation indeks*, a računa se uz omjer prosječne heterozigotnosti podpopulacije i očekivane heterozigotnosti metapopulacije.

$$F_{ST} = 1 - \frac{H_S}{H_T}$$

gdje je:

F_{ST} – indeks genetičke diferencijacije,

H_S – prosječna očekivana heterozigotnost podpopulacija,

H_T – očekivana heterozigotnost populacije.

Kada nema genetičke diferencijacije između podpopulacija $F_{ST} = 0$, a kreće se od 1 odnosno potpune diferencijacije, ali ne može biti negativne vrijednosti jer je prosječna

očekivana heterozigotnost podpopulacija (H_S) uvijek manja od očekivane heterozigotnosti populacije (H_T). Ukoliko ima negativnih vrijednosti one se tretiraju kao 0 (nula).

Također indeks genetičke diferencijacije (F_{ST}) može se procijeniti na temelju parametra θ prema metodi WEIR i COCKERHAM (1984), a signifikantnost je utvrđena pomoću permutacija u programu FSTAT ver. 2.9.3.2 (GOUDET 1995).

Indeks genetičke diferencijacije (F_{ST}) temelji se na modelu beskonačnog broja alela. Kako bi odredili signifikantnost postupnih mutacija u genetičkoj diferencijaciji između populacija koristimo model postupnih mutacija (R_{ST}) (SLATKIN 1985; GOLDSTEIN i dr. 1995a, 1995b; SLATKIN 1995; ROUSSET 1996), te za utvrđivanje signifikantnosti modela permutacijski test alelnih duljina na 10.000 permutacija u programu SPAGeDi 1.2g (HARDY i VEKEMANS 2002, 2007). Odnosno, želi se utvrditi jesu li postupne mutacije značajno pridonijele genetičkoj diferencijaciji između populacija.

Vrijednost R_{ST} trebala bi biti jednaka vrijednosti F_{ST} ukoliko postupne mutacije nemaju značajnu ulogu u diferencijaciji populacija kada se usporede s utjecajem genetičkog drifta (pomaka) i migracijama. Ukoliko pak postupne mutacije znatno pridonose diferencijaciji vrijednost R_{ST} trebala bi pak biti veća od vrijednosti F_{ST}. Signifikantnost u razlikama vrijednosti R_{ST} i F_{ST} utvrđuje se neparametarski, pomoću permutacija alelnih duljina.

2.6.1.4. Mjerila genetičke udaljenosti i izrada stabla

Genetička udaljenost određuje se s obzirom na tip molekularnih biljega, evolucijski model, te razinu analize. Podaci koji se koriste za analizu genetičke udaljenosti su kodominantni i dominantni biljezi. Analiza genetičke udaljenosti svih molekularnih biljega provodi se na temelju modela beskonačnog broja alela, dok je pretpostavljeni evolucijski model u slučaju mikrosatelitnih biljega model postupnih mutacija. Na temelju alelnih učestalosti gena u populaciji, genetičku udaljenost možemo analizirati na razini populacija ili temeljem višelokusnih genotipova na razini jedinki.

Mjerila genetičke udaljenosti dijele se na evolucijska i geometrijska mjerila udaljenosti.

Genetska udaljenost po Nei-u (D) (NEI 1972) uobičajeno je i najčešće korišteno evolucijsko mjerilo udaljenosti. Udaljenost između populacija određuje se na temelju alelnih

učestalosti analiziranih biljega između parova populacija. Primjenjujući Nei-evu standardnu genetsku udaljenost, udaljenost između populacija ovisi o broju genetskih supstitucija po lokusu koje su se dogodile nakon odvajanja dvije populacije. Genetska udaljenost kreće se od 0 do beskonačno (NEI 1972). Što su vrijednosti *D* bliže nuli to je genetska udaljenost između tog para populacija manja.

Genetska udaljenost između populacija procjenjena je na temelju preinačene tetivne udaljenosti (engl. *chord distance,* CAVALLI-SFORZA i EDWARDS 1967; FELSENSTEIN 2004):

$$D^2_{CHORD} = \frac{4\left(\sum_{l=1}^{L}\sum_{a=1}^{A}\sqrt{p_{al1}p_{al2}}\right)}{\sum_{l=1}^{L}A_l - 1}$$

gdje su:

D^2_{CHORD} *– preinačena standardna genetička udaljenost po Nei-u između populacije 1 i 2,*

p_{al1} *– učestalost alela a lokusa 1 u populaciji 1,*

p_{al2} *– učestalost alela a lokusa 2 u populaciji 2,*

a – alel,

A – ukupni broj alela,

l – lokus,

L – ukupan broj lokusa.

Genetički odnosi udaljenosti između populacija ili jedinki prikazuju se na temelju izračunatih matrica različitih multivarijatnih metoda u obliku grafičkih prikaza. Populacije (odnosno jedinke) mogu se prikazati u obliku stabala ili u koordinatnom sustavu.

Stablo koje se uzima kao najvjerodostojnije izrađeno je prema metodi FITCH i MARGOLIASH (1967), a temelji se na procjeni svih mogućih stabala i izboru onoga s najkraćom ukupnom duljinom grana. Na temelju svake topologije moguće je izračunati udaljenosti između svojti na stablu. Međutim, prilikom zbrajanja duljina grana koje povezuju dvije svojte na stablu često postoji određena nepodudarnost između udaljenosti na stablu (engl. *partistic distance* – partistička udaljenost) i udaljenosti u izvornoj matrici zbog odstupanja od aditivnosti. Aditivno stablo izrađuje se algoritmom Fitch-a i Margoliash-a na temelju prilagodbe izvornih udaljenosti u matrici partističkim udaljenostima (engl. *goodness-of-fit*). Koristi sa metoda najmanjih kvadrata (engl. *least-square means*) prema formuli:

$$F = \sum_{i,j}^{P} \frac{\left(D_{ij} - d_{ij}\right)^2}{D_{ij}^2}$$

gdje je:

F – ocjena prilagodbe (engl. goodnes-of-fit),

d_{ij} – izvorna udaljenost između svojti i i j,

D_{ij} – partistička udaljenost između svojti i i j,

P – ukupan broj parova svojti u analizi.

Neparametrijskom tehnikom tzv. metodom *bootstrap* utvrđuje se pouzdanost pojedinih grananja na stablu (FELSENSTEIN 1985). Postupak se temelji na poduzorkovanju u svrhu utvrđivanja pogreške uzrokovanja prilikom izrade stabla, i to: (1) izradom niza poduzoraka iste veličine kao i izvorni set podataka na način da se neki podaci ispuštaju, a neki pojavljuju više puta, (2) izračunom matrica udaljenosti i izradom stabala na temelju većeg broja pseudoponavljanja *bootstrap* (obično više od 1000), te (3) usporedbom stabala *bootstrap* s izvornim stablom: broj *bootstrap* stabala koja sadrže pojedinu skupinu izvornog stabla. Udio pseudoponavljanja koja su rezultirala stablima koja sadrže istovjetnu skupinu kao i izvorno stablo, predstavlja vrijednost *bootstrap* određene skupine (engl. *bootstrap support value*) i mjera su njezine pouzdanosti. Ukoliko je vrijednosti bootstrap manja od 50 % skupina nije pouzdana, te nije moguće sa sigurnošću utvrditi održava li nastala skupina stvarnu genetičku sličnost između jedinki ili je rezultat slučajnosti. Slabo pouzdanima smatraju se vrijednosti od 50 do 75 %, pouzdanima vrijednosti od 75 od 89 %, dok su vrijednosti veće od 90 % vrlo pouzdane. Za izradu korišten je programski paket PHYLIP ver. 3.6b (FELSENSTEIN 2004).

2.6.1.5. Genetičko usko grlo

Populacije mogu imati mali broj različitih alela i nisku raznolikost, te tada možemo pretpostaviti kako je ta populacija prošla kroz tzv. efekt uskog grla (engl. *genetic bottleneck*). Za analizu postojanja genetičkog uskog grla korišten je program BOTTLENECK ver. 1.2.02 (CORNUET i LUIKART 1996; PIRY i dr. 1999). Očekivana heterozigotnost (H_E) uspoređuje se s očekivanom heterozigotnošću populacije koja je u ravnoteži mutacija i pomaka (engl. *mutation-drift equilibrium*) (H_{EQ}) na temelju zapaženog broja alela. Koriste se tri mutacijska modela: 1) model beskonačnog broja alela (engl. *Infinite Allele Model* – IAM, KIMURA i

CROW 1964) koji pretpostavlja kako svakom novom mutacijom nastaje jedan novi alel; 2) model postupnih mutacija (engl. *Stepwise Mutation Model*, OHTA i KIMURA 1973) koji pretpostavlja kako je varijabilnost mikrosatelitnih biljega najčešće uzrokovana greškom prilikom replikacije DNK što uglavnom ima za posljedicu povećenje ili smanjivanje broja ponavljenja svojstvenog motiva za jedan (+1 ili -1); 3) dvofazni model mutacija (engl. *Two-phased model*, DI RIENZO i dr. 1994) je sastavljeni evolucijski model koji uzima u obzir oba prethodna modela, sa većim postotnim udjelom SMM modela od IAM modela. Signifikantnost suviška odnosno nedostatka heterozigotnosti utvrđena je Wilcoxon-ovim testom signifikantnosti.

2.6.1.6. Analiza molekularne varijance (AMOVA)

Analizom molekularne varijance (engl. *Analysis of Molecular Variance* – AMOVA, EXCOFFIER i dr. 1992) moguće je varijancu udaljenosti između jedinki raščlaniti na njezine sastavnice: dio varijance uzrokovan razlikama između populacija i dio varijance uzrokovanu razlikama između jedinki unutar populacija.

Klasična analiza varijance (ANOVA) izračunava sume kvadrata pojedinih izvora varijabilnosti, kod analize molekularne varijance (AMOVA) koriste se sume kvadretnih odstupanja (engl. *sums of squared deviations* – SSD). Kako se u analizi koriste udaljenosti između parova jedinki a ne vrijednosti samih jedinki, sume kvadratnih odstupanja definirane su kao odstupanja od centroida u multidimenzionalnom prostoru. Na temelju suma kvadratnih odstupanja svake razine strukture: A) između i unutar populacija, B) raznolikost jezgrinih mikrosatelitnih biljega unutar i između rodoslovnih linija, tri rodoslovne linije dobivene na temelju analize kloroplastnih haplotipova, može se izračunati prosječna suma kvadratnih odstupanja, procijeniti sastavnice varijance, te utvrditi postotak ukupne varijance koji je objašnjen određenom razinom strukture. Izračunom parametra ϕ utvrđuje se signifikantnost pretpostavljenih razina strukture:

$$\emptyset = \frac{\sigma_a^2}{\sigma_T^2}$$

σ_a^2 – sastavnica varijance uzrokovana razlikama između populacija,

σ_T^2 – ukupna varijanca.

U klasičnoj analizi varijance parametar *F* uspoređuje se s teorijskom *F*-raspodjelom, međutim nulta raspodjela parametra ϕ nije poznata, te se stoga raspodjela izrađuje neparametarski na temelju većeg broja permutacija originalne matrice udaljenosti. Vrijednost ϕ_{ST} između svakog pojedinog para populacija izračunava se analizom molekularne varijance zasebno za sve parove populacija, uz testiranje signifikantnosti. Analiza je provedena u programu ALERQUIN ver. 3.5 (EXCOFFIER i dr. 2005), a signifikantnost ϕ_{ST} vrijednosti izračunata je na 10.000 permutacija.

2.6.1.7. Prostorna genetika

Analiziranje povezanosti između genetičke i geografske udaljenosti između jedinki odnosno populacija i opisivanje prostorne raspodjele genetičke raznolikosti obuhvaća grana populacijske genetike – prostorna genetika (engl. *spatial genetics*) (HEYWOOD 1991; ESCUDERO i dr. 2003; GUILLOT i dr. 2009). Biljke kao živa bića imaju ograničenu mobilnost, te se njihova genetička struktura uglavnom podudara s prostornom strukturom. Takva fizička distribucija, odnosno prostorni i genetski obrasci rezultat su djelovanja okolišnih čimbenika i selekcijskih pritisaka (LOVELESS i HAMRICK 1984).

Zajednička analiza genetske i geografske udaljenosti koristi neke statističke metode: (1) analiza izolacije uslijed udaljenosti (engl. *isolation by distance – IBD*) (ROUSSET 1997) pomoću Mantel-ovog testa (MANTEL 1967), (2) prostorna autokorekcijska analiza (engl. *spatial autocorrelation analysis*) (MORAN 1950; SOKAL i ODEN 1978; SMOUSE i PEAKALL 1999), i (3) Bayesovsko prostorno modeliranje genetičke strukture populacija (engl. *Bayesian spatial modeling of genetic population structure*) (CORANDER i dr. 2003; FRANÇOIS i dr. 2006; CHEN i dr. 2007; CORANDER i dr. 2008).

Obzirom da su u disertaciji korištene metode izolacije uslijed udaljenosti i prostorna autokorelacijska analiza, samo će one biti opisane.

2.6.1.7.1. Analiza izolacije uslijed udaljenosti

Genetička diferencijacija između populacija pod pretpostavkom izolacije uslijed udaljenosti (*IBD*) (ROUSSET 1997) raste linearno s prirodnim logaritmom geografske udaljenosti u dvodimenzionalnom prostoru. Analiza izolacije uslijed udaljenosti uključuje

regresiju matrice $F_{ST}/(1-F_{ST})$ vrijednosti i matrice vrijednosti prirodnih logaritama geografskih udaljenosti (u km) između analiziranih populacija, a u svrhu utvrđivanja signifikantnosti korelacije provodi sa Mantel-ov test između navedenih matrica na 10.000 permutacija. Udio genetičke diferencijacije je koeficijent determinacije (R^2) objašnjen prostornom udaljenošću. Nedostatak ove metode je što isključivo utvrđuje postojanje linearnog odnosa genetičke i prostorne udaljenosti što kod prirodnih populacija biljaka ne mora biti slučaj (HEYWOOD 1991). Metoda je izračunata pomoću programa NTSYS-PC ver. 2.10s (ROHLF 2000).

2.6.1.7.2. Prostorna autokorelacijska analiza

Odnos između određenih mjerila autokorelacije u različitim zemljopisnim razredima (engl. *distance class*) predstavlja prostorna autokorelacijska analiza, a prikazuje se pomoću korelograma odnosno distograma. Signifikantnost mjerila autokorelacije moguće je testirati za svaki pojedinačni zemljopisni razred. Razne koeficijente i mjerila genetske udaljenosti moguće je koristiti kao mjerila autokorelacije, poput koeficijenta srodstva (engl. *kinship coefficijent*) čiji točan izračun ovisi o vrsti i prirodi biljega koji se koriste (LOISELLE i dr. 1995; RITLAND 1996; HARDY i VEKEMANS 2002; HARDY 2003).

Geografske širine i dužine matičnih sastojina i njihove međusobne udaljenosti korištene su za izračunavanje matrice zemljopisnih udaljenosti između svih parova jedinki i svrstavanje parova u geografske razrede. Parovi jedinki su razvrstani u 11 geografskih razreda na način da u svakom razredu postoji približno jednak broj parova jedinki. Nasumičnim permutacijama matrice koeficijenta srodstva možemo ustanoviti empirijsku raspodjelu koeficijenta srodstva pojedinog razreda. Vjerojatnosti prosječnih koeficijenata pojedinih razreda određuju približnu zamljopisnu udaljenost pri kojoj dolazi do izolacije zbog udaljenosti (engl. *isolation-by-distance*) kod analiziranih jedinki.

Kako su u ovom istraživanju korišteni jezgrini mikrosatelitski biljezi, upotrebljen je koeficijent srodnosti za kodominantne biljege (engl. *kinship coefficient for co-dominant markers*, $F_{Ritland}$) (RITLAND 1996), uporabom programskog paketa SPAGEDI 1.2g (HARDY i VEKEMANS 2002).

2.6.1.8. Faktorijalna analiza korespodencije

Kada su podaci većeg obima postaje nemoguće jednostavno interpretirati njihov sadržaj, stoga je poželjna njihova vizualizacija. U tu svrhu koriste se grafički prikazi koji omogućuje smještanje višestrukih podataka unutar koordinatnog sustava koji predstavlja razdvajanje ili grupiranje uzoraka. U ovom radu za vizualizaciju odnosa između analiziranih genotipova provedena je faktorijalna analiza korespodencije (engl. *Factorial Correspondence Analysis* – FCA). To je multivarijatna metoda koja se koristi upravo u svrhu sažimanja informacija i prikaza odnosa između opažanja (jedinki i genotipova) na temelju simultane analize više kvalitativnih svojstava (biljega). FCA ponderira utjecaj alela ovisno o tome koji aleli više utječu na razlike u populacijama, a temelji se na tablicama kontigencije nastalim unakrsnim tabeliranjem (engl. *cross-tabulation*). Provedena je pomoću programa GENETIX 4.05 (BELKHIR i dr. 2004) uzimajući u obzir regionalnu pripadnost jedinki u analizi.

2.6.2. Kloroplastni mikrosatelitni biljezi

Analizirano je 325 jedinki koje su imale potpune veličine alela za devet lokusa, dok biljeg *ccmp2* nije uključen u analize zbog nedostatka velikog broja umnoženih isječaka.

2.6.2.1. Deskriptivna statistika i genetska diferencijacija

Genetska raznolikost procjenjena je za svaku populaciju posebno, te na nivou metapopulacije svih populacija zajedno kao broj haplotipova (n_h), broj haplotipova po broju jedinki (n_h/n), broj privatnih haplotipova (n_{ph}), odnosno haplotipovi nađeni samo u jednoj populaciji), efektivni broj haplotipova (n_E), bogatstvo haplotipova (n_{hr}) i raznolikost haplotipova (H_E).

Efektivni broj haplotipova (n_E) procjenjen je na temelju:

$$n_E = \frac{1}{\sum_{i=1}^{I} p_i^2}$$

gdje je: p_i– frekvencija i-tog haplotipa u populaciji.

Bogatstvo haplotipova (n_{hr}) izračunat je metodom rarefakcije (PETIT i dr. 1998) u sklopu programa CONTRIB (http://www.pierroton.inra.fr/genetics/labo/Software/Contrib/). Ova mjera predstavlja broj haplotipova po populaciji neovisno o veličini uzorka.

Nepristrana procjena raznolikosti haplotipova (H_E, NEI 1987) izračunata je na temelju:

$$H_E = \frac{n}{(n-1)}\left(1 - \sum_{i=1}^{I} p_i^2\right)$$

gdje je: p_i – frekvencija i-tog haplotipa u populaciji,

n – broj populacija.

Genetska diferencijacija analizirana je s tri različite metode, detaljno opisane u PONS i PETIT (1995, 1996), koristeći program PERMUTCPSSR ver. 2.0 (http://www.pierroton.inra.fr/genetics/labo/Software/PermutCpSSR/):

a) nepristrana procjena G_{ST} vrijednosti (NEI 1987) po PONS i PETIT (1995), uzimajući samo frekvencije haplotipova (neuređenih haplotipova),
b) procjena N_{ST} vrijednosti (PONS i PETIT 1996) uzimajući u obzir genetske sličnosti između haplotipova na temelju udjela zajedničkih fragmeneta (alela) (uređeni haplotipovi),
c) procjena R_{ST} vrijednosti (SLATKIN 1995), na temelju genetske udaljenosti za pojedine mikrosatelitne lokuse uzimajući u obzir Model postupnih mutacija (engl. *Stepwise Mutation Model – SMM*).

a) Nepristrana procjena G_{ST} vrijednosti uključivala je izračun raznolikosti za svaku populaciju (h_k), prosječnu unutarpopulacijsku raznolikost (h_S) i ukupnu raznolikost (h_t) na temelju formula:

Raznolikost *k*-te populacije (nepristrana raznolikost haplotipova, NEI 1987):

$$\widehat{h_k} = \frac{n_k}{n_k - 1}\left(1 - \sum_i^I x_{ki}^2\right)$$

gdje su:

n_k – broj jedinki uzorkovan u *k*-toj populaciji,

x_{ki} – učestalost alela *i* u populaciji *k*.

Prosječna unutarpopulacijska raznolikost:

$$\widehat{h_s} = \frac{\sum_k^K \widehat{h_k}}{K}$$

gdje je: *K* – broj populacija.

Ukupna raznolikost:

$$\widehat{h_t} = 1 - \sum_i^I x_i^2 + \frac{1}{K(K-1)}\sum_k^K\sum_i^I (x_{ki} - x_i)^2$$

Nastavno proizlazi genetska diferencijacija G_{ST}:

$$G_{ST} = 1 - \frac{\widehat{h_s}}{\widehat{h_t}}$$

b) Procjena N_{ST} vrijednosti uključuje izračun raznolikosti za svaku populaciju (v_k) uzimajući u obzir sličnosti između haplotipova, prosječnu unutarpopulacijsku raznolikost (v_s) i ukupnu raznolikost (v_t) koristeći formule:

Raznolikost *k*-te populacije na temelju uređenih haplotipova:

$$\widehat{v_k} = \frac{n_k}{n_k - 1} \sum \pi_{ij} x_{ki} x_{kj}$$

gdje su:

n_k – broj jedinki uzorkovan iz *k*-te populacije,

π_{ki} – težine definirane kao udaljenosti između haplotipova *i* i *j*, izračunate kao udio različitih ulomaka (alela) između haplotipova, pri čemu je $\pi_{ii} = 0$, $\pi_{ij} = \pi_{ji}$,

x_{ki} – učestalost alela *i* u populaciji *k*.

Prosječna unutarpopulacijska raznolikost:

$$\widehat{v_s} = \frac{\sum_k^K \widehat{v_k}}{K}$$

gdje je *K* – broj populacija.

Ukupna raznolikost:

$$\widehat{v_t} = \frac{1}{K(K-1)} \sum_{k \neq l} \sum_{ij} \pi_{ij} x_{ki} x_{lj}$$

Iz čega proizlazi genetska diferencijacija (N_{ST}):

$$N_{ST} = 1 - \frac{\widehat{v_s}}{\widehat{v_t}}$$

c) Procjena R_{ST} vrijednosti uključuje izračun sličan onome za procjenu N_{ST} vrijednosti, ali je udaljenost između haplotipova izračunata kao zbroj kvadrata razlike u broju ponavljanja kroz sve lokuse prema SLATKIN (1995). Ova metoda je specifično dizajnirana za mikrosatelitne biljege uzimajući u obzir model postupnih mutacija (SMM). Metoda za procjenu N_{ST} vrijednosti uzima u obzir manje pretpostavki o prirodi i složenosti uzoraka mutacija otkrivenih analizama duljina ulomaka (alela) (PONS i PETIT 1996).

d) Provedena je usporedba mjera genetske diferencijacije i raznolikosti između uređenih (N_{ST} i R_{ST}) i neuređenih haplotipova (G_{ST}) prema PONS i PETIT (1996). Signifikantnost razlika testirana je na osnovu 1.000 nasumičnih permutacija programom PERMUTCPSSR.

2.6.2.2. Analiza molekularne varijance (AMOVA)

Raspodjela raznolikosti kloroplastnih mikrosatelita unutar i između populacija utvrđena je pomoću Analize molekularne varijance (engl. *Analysis of Molekular Vriance – AMOVA*, EXCOFFIER i dr. 1992) u sklopu programa ALERQUIN (SCHNEIDER i dr. 2000). Značajnost analize testirana je pomoću 10.000 permutacija haplotipova između populacija. Korištene su dvije mjere genetske udaljenosti između parova haplotipova: (1) na osnovu broja različitih alela (F_{ST}) i (2) na osnovu zbroja kvadrata razlika u duljini alela (R_{ST}).

2.6.2.3. Median-Joining (MJ) mreža haplotipova

Median-Joining (MJ) mreža (BANDELT i dr. 1999) je metoda otkrivanja čak i vrlo komplaksnih uzoraka haplotipova. Koristi kriterij 'očuvanosti' (engl. *parimony*) za pronalaženje medijanskih vektora (engl. *median vectors*), tj. konsenzusnih vektora ili međusobno bliskih sekvenci biljega, koje su biološki ekvivalent mogućih neuzorkovanih ili izumrlih predačkih haplotipova. Mreža haplotipova konstruirana je na temelju 9 najćešćih haplotipova koji su bilo prisutni u najmanje 10 jedinki, koristeći program NETWORK 4.5.1.6. (http://www.fluxus-engineering.com/sharenet.htm).

2.6.2.4. Genetska udaljenost haplotipova i izrada stabla

Genetska udaljnost između parova haplotipova izračunata je pomoću udaljenosti na temelju udjela zajedničkih alela (engl. *proportion-of-shared-alleles distance* – D_{PSA}, BOWCOCK i dr. 1994) u programu MICROSAT (MINCH i dr. 1997). Udio zajedničkih alela kao mjera genetske sličnosti izračunata je pomoću formule:

$$P_{SA} = \frac{\sum_{l=1}^{L} S}{2L}$$

Gdje je:

S – broj zajedničkih alela,

L – ukupan broj lokusa.

Udaljenost na temelju udjela zajedničkih alela izračunata je kao:

$$D_{PSAM} = 1 - P_{SA}$$

Analiza skupina na temelju matrice udaljenosti provedena je metodom po FITCH-u i MARGOLIASH-u (1967) u programskom paketu PHYLIP ver. 3.6b (FELSENSTEIN 2004).

3. REZULTATI

3.1. Deskriptivna statistika za kvantitativna fenotipska svojstva

3.1.1. Visinski rast

U tablicama 8, 9 i 10 su prikazani deskriptivni statistički parametri za visine populacija u dobi od 4 do 6 godina u pokusnom nasadu Jastrebarsko (izmjere 2010., 2011. i 2012. godine).

Vrijednosti visina prve izmjere 2010. godine kretale su se od pojedinačne minimalne visine od 18 cm (populacija HR 203 UŠP Bjelovar, Šumarija Vrbovec), do maksimalne visine od 303 cm (populacija HR 627 UŠP Koprivnica, Šumarija Repaš). Prosječne visine populacija kretale su se od 154,80 cm (HR 12 UŠP Vinkovci, Šumarija Gunja) do 179,30 cm (HR 88 UŠP Našice, Šumarija Koška) (tablica 8).

Tablica 8. Deskriptivni statistički parametri za visine populacija hrasta lužnjaka u pokusnom nasadu Jastrebarsko u dobi od 4 godine.

Populacija	N	N opažanja	Minimum	Maksimum	Aritmetička sredina	Std. Dev.	St.greška aritm. sredine	Koeficijent varijacije
HR 12	300	292	50	225	154,80	28,50	1,67	18,408
HR 16	300	298	30	268	161,06	34,22	1,98	21,247
HR 160	300	299	42	269	168,04	33,80	1,96	20,114
HR 163	300	293	21	263	157,33	31,81	1,86	20,221
HR 203	300	294	18	250	155,81	29,93	1,75	19,209
HR 317	300	298	28	265	166,61	32,38	1,88	19,436
HR 318	300	299	22	249	166,19	30,62	1,77	18,423
HR 330	300	297	25	241	158,73	30,31	1,76	19,095
HR 368	300	296	20	259	157,91	33,92	1,97	21,483
HR 387	300	296	29	270	163,11	32,81	1,91	20,116
HR 389	300	296	50	249	163,82	30,18	1,75	18,423
HR 577	300	299	20	225	155,34	34,76	2,01	22,379
HR 58	300	299	24	265	159,82	30,67	1,77	19,187
HR 609	300	295	23	261	161,41	38,92	2,27	24,113
HR 627	300	296	33	303	164,19	33,68	1,96	20,511
HR 88	300	295	24	280	179,30	34,90	2,03	19,462
HR AM	300	300	30	256	164,97	29,93	1,73	18,145

U dobi od 5 godina prosječne vrijednosti visina populacija kretale su se od 168,11 (HR 330 UŠP Zagreb, Šumarija Velika Gorica) do 205,40 cm (HR 88 UŠP Našice, Šumarija Koška) (tablica 9).

Tablica 9. Deskriptivni statistički parametri za visine populacija hrasta lužnjaka u pokusnom nasadu Jastrebarsko u dobi od 5 godina.

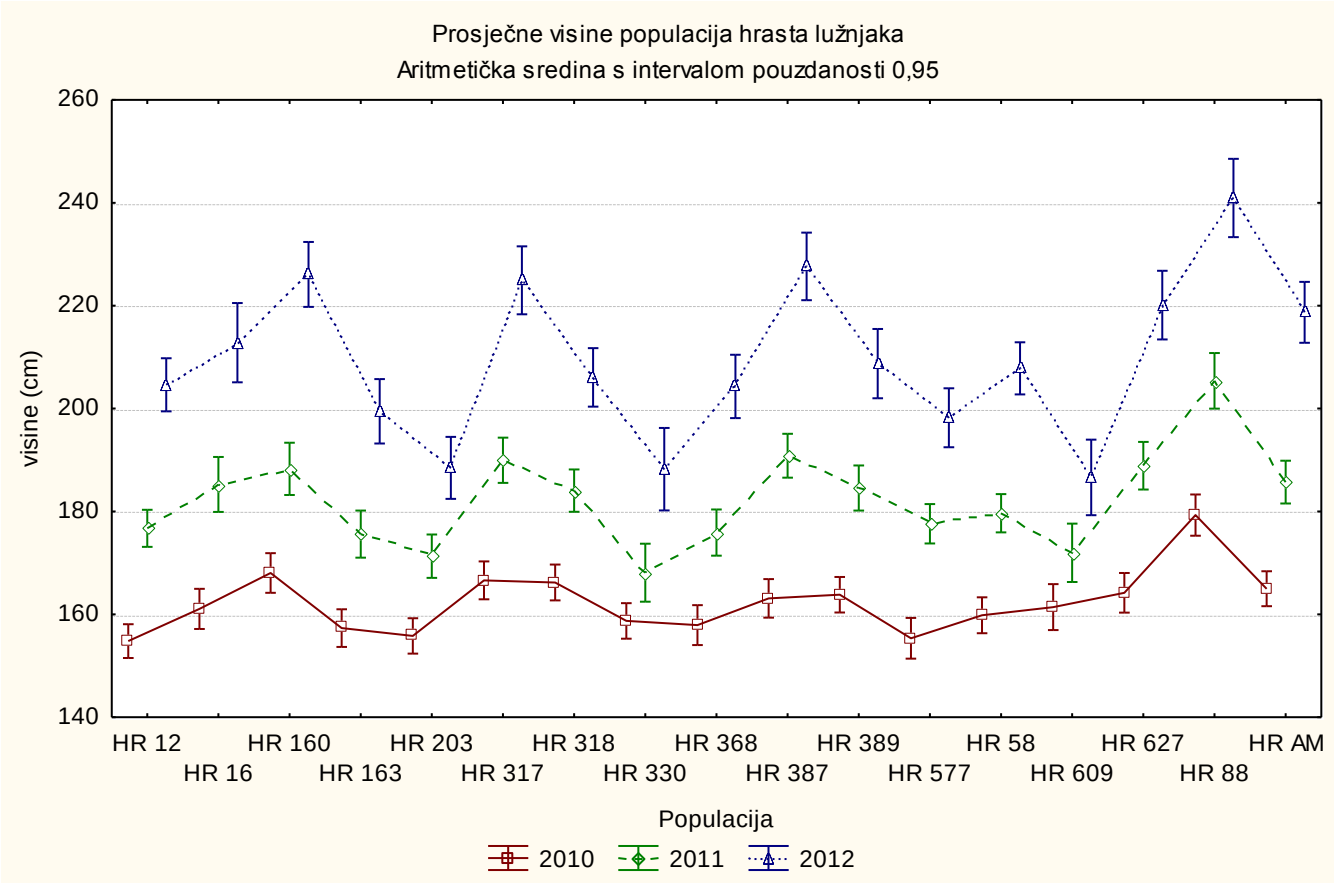
Populacija	N	N opažanja	Minimum	Maksimum	Aritmetička sredina	Std. Dev.	St.greška aritm. sredine	Koeficijent varijacije
HR 12	300	288	61	274	176,73	31,12	1,83	17,610
HR 16	300	250	38	353	185,26	42,94	2,72	23,176
HR 160	300	281	26	322	188,28	43,30	2,58	22,997
HR 163	300	274	46	310	175,60	38,48	2,33	21,915
HR 203	300	245	45	272	171,31	33,47	2,14	19,538
HR 317	300	272	25	297	189,94	36,82	2,23	19,387
HR 318	300	267	41	275	184,06	34,07	2,09	18,511
HR 330	300	206	37	265	168,11	41,02	2,86	24,400
HR 368	300	277	30	292	175,91	37,96	2,28	21,580
HR 387	300	286	105	380	190,83	36,74	2,17	19,250
HR 389	300	262	35	301	184,56	35,98	2,22	19,496
HR 577	300	279	86	290	177,62	32,46	1,94	18,272
HR 58	300	289	60	308	179,66	32,07	1,89	17,851
HR 609	300	230	30	318	171,96	43,71	2,88	25,416
HR 627	300	280	65	325	188,90	39,37	2,35	20,844
HR 88	300	265	63	320	205,40	44,67	2,74	21,749
HR AM	300	281	65	302	185,70	35,43	2,11	19,081

U dobi od 6 godina prosječne visine populacija kretale su se od 186, 62 cm (HR 609 UŠP Buzet, Šumarija Buzet) do 240,94 cm (HR 88 UŠP Našice, Šumarija Koška) (tablica 10).

Tablica 10. Deskriptivni statistički parametri za visine populacija hrasta lužnjaka u pokusnom nasadu Jastrebarsko u dobi od 6 godina.

Populacija	N	N opažanja	Minimum	Maksimum	Aritmetička sredina	Std. Dev.	St.greška aritm. sredine	Koeficijent varijacije
HR 12	300	286	20	315	204,62	44,33	2,62	21,667
HR 16	300	229	50	405	212,82	59,16	3,91	27,800
HR 160	300	267	68	410	226,08	52,34	3,20	23,151
HR 163	300	263	29	356	199,46	51,50	3,18	25,820
HR 203	300	238	27	302	188,47	47,22	3,06	25,053
HR 317	300	264	33	392	224,94	54,53	3,36	24,242
HR 318	300	254	35	374	206,06	46,03	2,89	22,338
HR 330	300	197	32	348	188,22	57,01	4,06	30,290
HR 368	300	272	23	342	204,31	51,50	3,12	25,205
HR 387	300	275	34	407	227,64	55,35	3,34	24,316
HR 389	300	263	14	387	208,74	55,48	3,42	26,577
HR 577	300	272	13	340	198,21	47,96	2,91	24,195
HR 58	300	278	20	347	207,83	43,00	2,58	20,691
HR 609	300	216	35	360	186,62	54,72	3,72	29,323
HR 627	300	276	42	407	220,12	56,31	3,39	25,582
HR 88	300	257	22	405	240,94	62,08	3,87	25,767
HR AM	300	271	40	405	218,70	49,52	3,01	22,644

Slika 17 prikazuje prosječne visine populacija kroz tri uzastopne godine, sa pripadajućim standardnim devijacijama za interval pouzdanosti 95 %. Može se uočiti kroz sve tri istraživane godine relativno jednako rangiranje populacija. To se posebno odnosi na posljednje dvije godine.



Slika 17. Prosječne visine u pokusnom nasadu Jastrebarsko od 2010. do 2012. godine.

Izmjere visinskog rasta u pokusnom nasadu Koška provedene su 2012. godine u dobi biljaka od 6 godina (od čega su tri godine rasle u nasadu). Deskriptivni statistički parametri prikazani su u tablici 11. Kao prosječno najniža pokazala se populacija HR 627 (UŠP Koprivnica, Šumarija Repaš) sa prosječnom visinom biljaka 129,02 cm, dok je prosječno najviša bila populacija HR 12 UŠP Vinkovci, Šumarija Gunja (151,78 cm).

Tablica 11. Deskriptivni statistički parametri za visine populacija hrasta lužnjaka u pokusnom nasadu Koška u dobi od 6 godina.

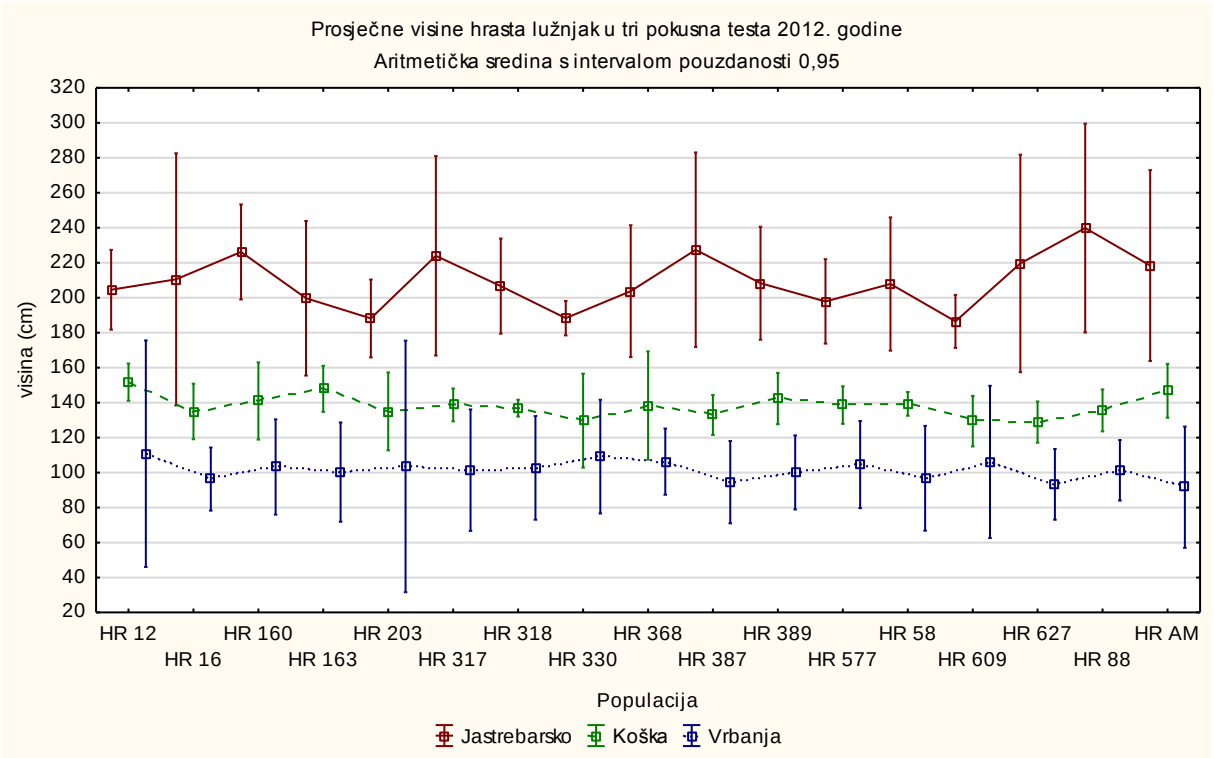
Populacija	N	N opažanja	Minimum	Maksimum	Aritmetička sredina	Std. Dev.	St.greška aritm. sredine	Koeficijent varijacije
HR 12	300	271	18	220	151,78	31,49	1,91	20,744
HR 16	300	269	24	197	134,90	31,54	1,92	23,378
HR 160	300	268	32	252	140,94	35,12	2,15	24,922
HR 163	300	261	19	217	147,37	29,83	1,85	20,242
HR 203	300	244	45	226	134,89	32,38	2,07	24,007
HR 317	300	283	38	202	138,69	26,43	1,57	19,055
HR 318	300	260	33	201	136,82	28,64	1,78	20,934
HR 330	300	252	31	203	130,13	31,86	2,01	24,484
HR 368	300	272	55	200	138,38	29,41	1,78	21,256
HR 387	300	233	38	200	132,74	31,19	2,04	23,500
HR 389	300	258	27	214	142,15	30,56	1,90	21,501
HR 577	300	268	13	200	138,82	32,46	1,98	23,381
HR 58	300	278	45	225	139,28	30,72	1,84	22,054
HR 609	300	238	19	207	129,61	34,17	2,22	26,364
HR 627	300	242	32	198	129,02	33,79	2,17	26,186
HR 88	300	244	37	212	135,93	30,69	1,97	22,575
HR AM	300	256	32	203	146,33	28,89	1,81	19,743

U tablici 12 su prikazani deskriptivni statistički parametri za visine populacija u pokusnom nasadu Vrbanja u dobi od 6 godina. Visine biljaka u tom pokusnom nasadu izmjerene su potkraj 2012. godine. Prosječno najnižom se pokazala populacija HR AM UŠP Vinkovci, Šumarija Otok (92,55 cm), dok je najviša bila populacija HR 12 UŠP Vinkovci, Šumarija Gunja (114,61 cm).

Tablica 12. Deskriptivni statistički parametri za visine populacija hrasta lužnjaka u pokusnom nasadu Vrbanja u dobi od 6 godina.

Populacija	N	N opažanja	Minimum	Maksimum	Aritmetička sredina	Std. Dev.	St.greška aritm. sredine	Koeficijent varijacije
HR 12	300	240	14	175	114,61	33,52	2,16	29,246
HR 16	292	223	24	152	97,19	31,04	2,08	31,941
HR 160	300	240	22	167	102,93	31,03	2,00	30,145
HR 163	262	198	20	153	103,37	29,04	2,06	28,096
HR 203	300	217	27	170	109,23	35,88	2,44	32,851
HR 317	299	233	34	165	101,68	29,18	1,91	28,700
HR 318	299	234	15	159	103,39	29,54	1,93	28,571
HR 330	300	271	30	185	109,70	31,57	1,92	28,774
HR 368	300	257	14	158	106,30	28,31	1,77	26,627
HR 387	288	204	22	153	95,29	34,68	2,43	36,387
HR 389	297	220	12	160	100,89	31,48	2,12	31,205
HR 577	300	230	31	193	106,00	28,86	1,90	27,229
HR 58	300	236	24	154	97,49	31,33	2,04	32,137
HR 609	300	238	24	177	106,42	32,63	2,12	30,664
HR 627	300	213	25	153	94,86	32,25	2,21	33,992
HR 88	293	242	30	158	102,19	30,18	1,94	29,535
HR AM	287	220	25	190	92,55	28,18	1,90	30,450

Slika 18 prikazuje prosječne visine populacija u sva tri pokusna nasada (u dobi od 6 godina), sa pripadajućim standardnim devijacijama. Uočava se kako je pokusni nasad Vrbanja imao najniže prosječne visine populacija, nasad Koška nešto više, dok su najveći visinski rast imale populacije na lokaciji nasada Jastrebarsko. Prosječno najviša populacija u pokusnom nasadu Vrbanja imala je 114,61 cm, dok je prosječno najviša populacija u pokusnom nasadu Jastrebarsko imala 240,94 cm.



Slika 18. Prosječne visine populacija hrasta lužnjaka u sva tri pokusna nasada za 2012. godinu (dob 6 godina).

3.1.2. Visinski prirast

Godišnji visinski prirasti biljaka izračunati su na temelju vrijednosti visina tokom tri uzastopne godine. U tablicama 13 i 14 prikazani su deskriptivni statistički parametri za prirast populacija u pokusnom nasadu Jastrebarsko između 4. i 5. godine, te 5. i 6. godine rasta.

Najniži prosječni prirast između 4. i 5. godine imala je populacija HR 609 UŠP Buzet, Šumarija Buzet (10,243 cm), dok je najveći prirast izračunat kod populacije HR 88 UŠP Našice, Šumarija Koška (27,115 cm) (tablica 13).

Tablica 13. Deskriptivni statistički parametri za visinske priraste između 4. i 5. godine populacija hrasta lužnjaka u pokusnom nasadu Jastrebarsko.

Populacija	N	N opažanja	Minimum	Maksimum	Aritmetička sredina	Std. Dev.	St.greška aritm. sredine	Koeficijent varijacije
HR 12	300	280	-116	97	21,632	24,35	1,46	112,550
HR 16	300	248	-84	125	24,750	28,80	1,83	116,370
HR 160	300	281	-145	124	19,573	33,56	2,00	171,450
HR 163	300	270	-130	90	17,759	27,30	1,66	153,740
HR 203	300	241	-92	150	17,855	25,46	1,64	142,570
HR 317	300	270	-138	138	23,119	26,65	1,62	115,260
HR 318	300	266	-136	88	17,222	22,18	1,36	128,810
HR 330	300	203	-120	92	13,739	29,87	2,10	217,430
HR 368	300	274	-76	119	18,255	24,14	1,46	132,250
HR 387	300	286	-64	246	26,787	26,33	1,56	98,295
HR 389	300	262	-174	141	20,172	32,45	2,01	160,870
HR 577	300	279	-84	190	21,695	27,64	1,65	127,380
HR 58	300	288	-94	188	19,573	26,04	1,53	133,030
HR 609	300	226	-145	178	10,243	37,25	2,48	363,660
HR 627	300	277	-102	139	23,838	28,65	1,72	120,170
HR 88	300	261	-137	132	27,115	34,57	2,14	127,480
HR AM	300	281	-81	119	20,060	23,57	1,41	117,500

U visinskom prirastu između 5. i 6. godine ponovno su se istaknule populacije HR 609 UŠP Buzet, Šumarija Buzet sa najnižim prosječnim prirastom (16,723 cm) i populacija HR 88 UŠP Našice, Šumarija Koška sa najvišim prosječnim prirastom (36,044 cm) (tablica 14). Pojava negativnih vrijednosti za minimalne visinske priraste uzrokovana je sušenjem dijela stabljike kod određenog broja biljaka i ponovnog rasta terminalnog izbojka ispod mjesta sušenja.

Tablica 14. Deskriptivni statistički parametri za visinske priraste između 5. i 6. godine populacija hrasta lužnjaka u pokusnom nasadu Jastrebarsko.

Populacija	N	N opažanja	Minimum	Maksimum	Aritmetička sredina	Std. Dev.	St.greška aritm. sredine	Koeficijent varijacije
HR 12	300	283	-144	193	29,230	31,23	1,86	106,850
HR 16	300	224	-88	114	28,710	28,68	1,92	99,883
HR 160	300	264	-116	177	36,405	34,57	2,13	94,944
HR 163	300	257	-92	117	25,957	27,61	1,72	106,370
HR 203	300	231	-144	127	19,333	32,57	2,14	168,460
HR 317	300	261	-214	227	35,667	36,77	2,28	103,100
HR 318	300	249	-87	133	22,112	28,37	1,80	128,280
HR 330	300	186	-130	129	22,344	31,71	2,33	141,890
HR 368	300	270	-177	125	27,700	31,21	1,90	112,690
HR 387	300	270	-67	163	38,652	28,69	1,75	74,234
HR 389	300	256	-165	171	28,066	32,46	2,03	115,660
HR 577	300	265	-145	139	22,864	30,62	1,88	133,910
HR 58	300	277	-214	138	27,332	30,93	1,86	113,160
HR 609	300	206	-121	135	16,723	36,52	2,54	218,350
HR 627	300	270	-63	193	32,648	31,70	1,93	97,097
HR 88	300	251	-98	174	36,044	36,00	2,27	99,874
HR AM	300	268	-113	128	33,951	27,64	1,69	81,394

3.1.3. Preživljenje

Rezultati deskriptivne statističke analize preživljenja populacija u pokusnom nasadu Jastrebarsko prikazana su tablicama 15, 16 i 17.

U dobi od 4 godine, nakon dvije godine rasta biljaka u pokusnom nasadu (2+2), populacije HR 160, HR 318, HR 577, HR 58 i HR AM imale su 100 %-tno preživljenje, dok je najslabije preživljenje, ali ipak visoko, imala populacija HR 12 (UŠP Vinkovci, Šumarija Gunja) (tablica 15).

Tablica 15. Deskriptivni statistički parametri za preživljenje populacija hrasta lužnjaka u dobi od 4 godine u pokusnom nasadu Jastrebarsko.

Populacija	N	N opažanja	Minimum	Maksimum	Aritmetička sredina	Std. Dev.	St.greška aritm. sredine	Koeficijent varijacije
HR 12	300	300	0	1	0,97	0,161	0,009	16,580
HR 16	300	300	0	1	0,99	0,082	0,005	8,206
HR 160	300	300	0	1	1,00	0,058	0,003	5,793
HR 163	300	300	0	1	0,98	0,151	0,009	15,482
HR 203	300	300	0	1	0,98	0,140	0,008	14,310
HR 317	300	300	0	1	0,99	0,082	0,005	8,206
HR 318	300	300	0	1	1,00	0,058	0,003	5,793
HR 330	300	300	0	1	0,99	0,100	0,006	10,067
HR 368	300	300	0	1	0,99	0,115	0,007	11,644
HR 387	300	300	0	1	0,99	0,115	0,007	11,644
HR 389	300	300	0	1	0,99	0,115	0,007	11,644
HR 577	300	300	0	1	1,00	0,058	0,003	5,793
HR 58	300	300	0	1	1,00	0,058	0,003	5,793
HR 609	300	300	0	1	0,98	0,128	0,007	13,041
HR 627	300	300	0	1	0,99	0,115	0,007	11,644
HR 88	300	300	0	1	0,98	0,128	0,007	13,041
HR AM	300	300	1	1	1,00	0,000	0,000	0,000

Druge godine izmjera (2011.) u dobi biljaka od 5 godina, dogodio se značajniji pad preživljenja kod nekih populacija. U tome se istakla populacija HR 330 (UŠP Zagreb, Šumarija Velika Gorica) s najslabijim preživljenjem, dok su najbolje preživljenje imale populacije HR 12 i HR 58 (tablica 16).

Tablica 16. Deskriptivni statistički parametri za preživljenje populacija hrasta lužnjaka u dobi od 5 godina u pokusnom nasadu Jastrebarsko.

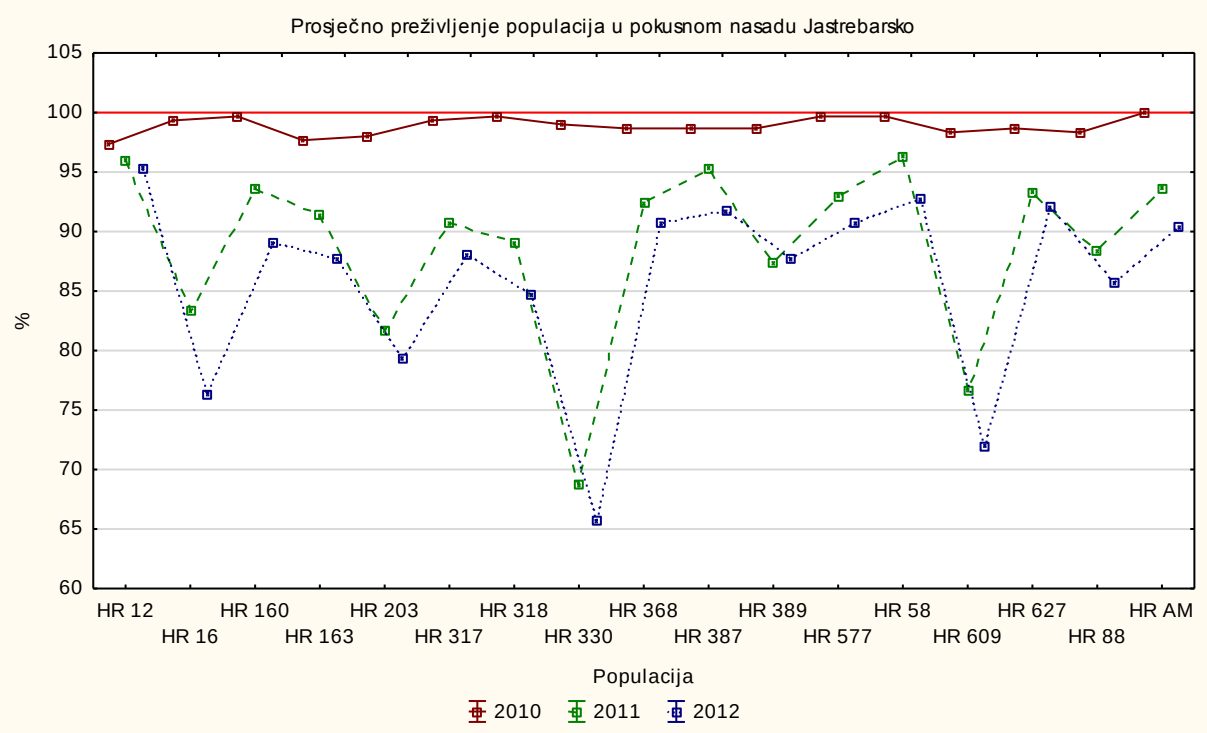
Populacija	N	N opažanja	Minimum	Maksimum	Aritmetička sredina	Std. Dev.	St.greška aritm. sredine	Koeficijent varijacije
HR 12	300	300	0	1	0,96	0,196	0,011	20,447
HR 16	300	300	0	1	0,83	0,373	0,022	44,796
HR 160	300	300	0	1	0,94	0,244	0,014	26,046
HR 163	300	300	0	1	0,91	0,282	0,016	30,856
HR 203	300	300	0	1	0,82	0,388	0,022	47,460
HR 317	300	300	0	1	0,91	0,291	0,017	32,138
HR 318	300	300	0	1	0,89	0,313	0,018	35,215
HR 330	300	300	0	1	0,69	0,465	0,027	67,664
HR 368	300	300	0	1	0,92	0,267	0,015	28,864
HR 387	300	300	0	1	0,95	0,211	0,012	22,162
HR 389	300	300	0	1	0,87	0,333	0,019	38,148
HR 577	300	300	0	1	0,93	0,256	0,015	27,481
HR 58	300	300	0	1	0,96	0,188	0,011	19,542
HR 609	300	300	0	1	0,77	0,424	0,024	55,260
HR 627	300	300	0	1	0,93	0,250	0,014	26,771
HR 88	300	300	0	1	0,88	0,322	0,019	36,403
HR AM	300	300	0	1	0,94	0,244	0,014	26,046

Tablica 17 prikazuje preživljenje populacija u pokusnom nasadu Jastrebarsko u dobi od 6 godina. Najniže prosječno preživljenje imala je populacija HR 330 (UŠP Zagreb, Šumarija Velika Gorica), dok je najbolje preživljenje 2012. godine imala populacija HR 12 (UŠP Vinkovci, Šumarija Gunja).

Tablica 17. Deskriptivni statistički parametri za preživljenje populacija hrasta lužnjaka u dobi od 6 godina u pokusnom nasadu Jastrebarsko.

Populacija	N	N opažanja	Minimum	Maksimum	Aritmetička sredina	Std. Dev.	St.greška aritm. sredine	Koeficijent varijacije
HR 12	300	300	0	1	0,95	0,211	0,012	22,162
HR 16	300	300	0	1	0,76	0,426	0,025	55,775
HR 160	300	300	0	1	0,89	0,313	0,018	35,215
HR 163	300	300	0	1	0,88	0,329	0,019	37,571
HR 203	300	300	0	1	0,79	0,406	0,023	51,125
HR 317	300	300	0	1	0,88	0,326	0,019	36,989
HR 318	300	300	0	1	0,85	0,361	0,021	42,627
HR 330	300	300	0	1	0,66	0,476	0,027	72,429
HR 368	300	300	0	1	0,91	0,291	0,017	32,138
HR 387	300	300	0	1	0,92	0,277	0,016	30,202
HR 389	300	300	0	1	0,88	0,329	0,019	37,571
HR 577	300	300	0	1	0,91	0,291	0,017	32,138
HR 58	300	300	0	1	0,93	0,261	0,015	28,178
HR 609	300	300	0	1	0,72	0,450	0,026	62,465
HR 627	300	300	0	1	0,92	0,272	0,016	29,538
HR 88	300	300	0	1	0,86	0,351	0,020	40,973
HR AM	300	300	0	1	0,90	0,296	0,017	32,767

Slika 19 prikazuje prosječno preživljenje populacija hrasta lužnjaka u pokusnom nasadu Jastrebarsko kroz tri uzastopne godine (2010–2012). Može se uočiti kako populacije HR 330 (UŠP Zagreb, Šumarija Velika Gorica) i HR 609 (UŠP Buzet, Šumarija Buzet) imaju najveći pad preživljenja između 4. i 5. godine.



Slika 19. Prosječno preživljenje u pokusnom nasadu Jastrebarsko za tri uzastopne godine (2010.-2012.).

Rezultati deskriptivne statističke analize preživljenja populacija hrasta lužnjaka u pokusnom nasadu Koška prikazani su u tablici 18.

U dobi od 6 godina, nakon tri godine rasta biljaka u pokusnom nasadu (3+3), populacija HR 317 (UŠP Zagreb, Šumarija Kutina) imala je prosječno najviše, dok je populacija HR 387 (UŠP Karlovac, Šumarija Karlovac) imala najniže preživljenje.

Tablica 18. Deskriptivni statistički parametri za preživljenje populacija hrasta lužnjaka u dobi od 6 godina u pokusnom nasadu Koška.

Populacija	N	N opažanja	Minimum	Maksimum	Aritmetička sredina	Std. Dev.	St.greška aritm. sredine	Koeficijent varijacije
HR 12	300	300	0	1	0,90	0,296	0,017	32,767
HR 16	300	300	0	1	0,90	0,305	0,018	34,004
HR 160	300	300	0	1	0,89	0,309	0,018	34,612
HR 163	300	300	0	1	0,87	0,337	0,019	38,720
HR 203	300	300	0	1	0,81	0,390	0,023	47,987
HR 317	300	300	0	1	0,94	0,232	0,013	24,550
HR 318	300	300	0	1	0,87	0,341	0,020	39,289
HR 330	300	300	0	1	0,84	0,367	0,021	43,716
HR 368	300	300	0	1	0,91	0,291	0,017	32,138
HR 387	300	300	0	1	0,78	0,417	0,024	53,714
HR 389	300	300	0	1	0,86	0,348	0,020	40,415
HR 577	300	300	0	1	0,89	0,309	0,018	34,612
HR 58	300	300	0	1	0,93	0,261	0,015	28,178
HR 609	300	300	0	1	0,79	0,406	0,023	51,125
HR 627	300	300	0	1	0,81	0,396	0,023	49,038
HR 88	300	300	0	1	0,81	0,390	0,023	47,987
HR AM	300	300	0	1	0,85	0,354	0,020	41,527

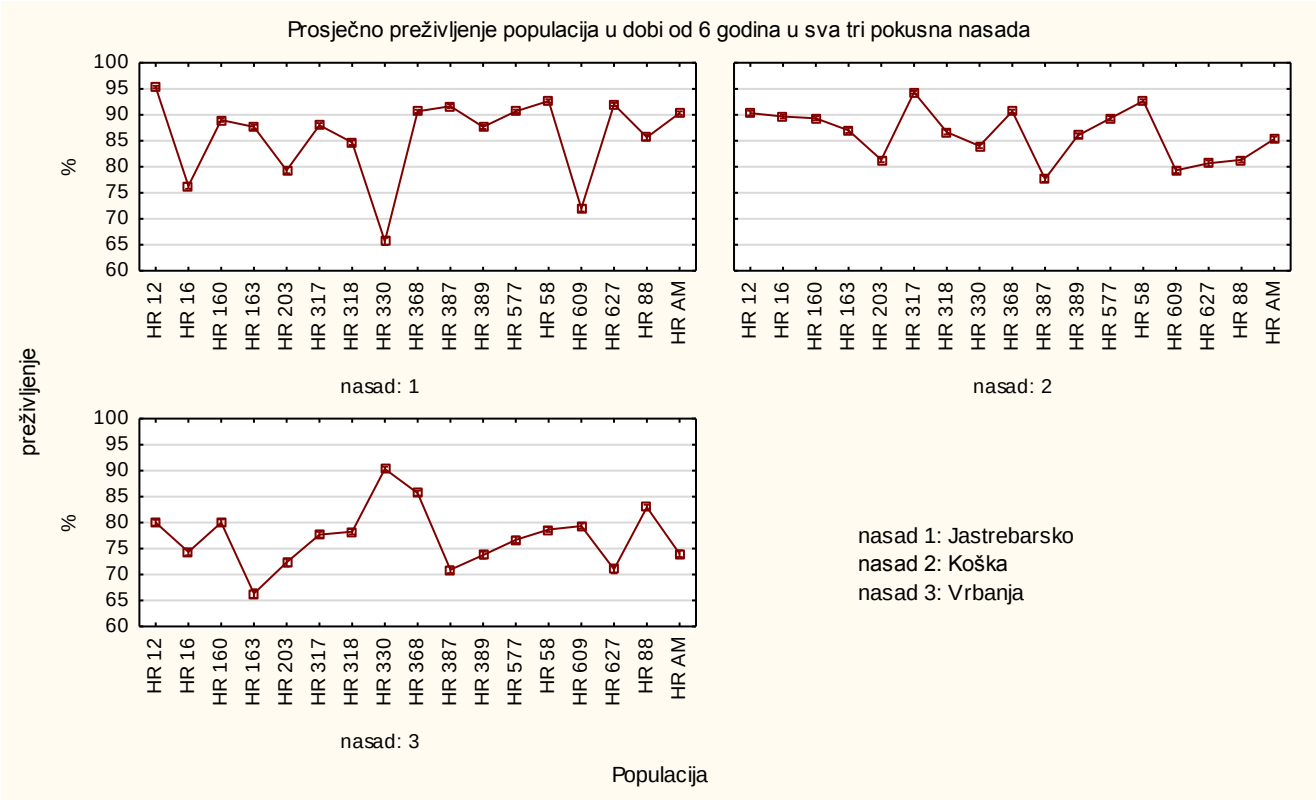
Tablica 19 prikazuje rezultate deskriptivne statističke analize preživljenja populacija hrasta lužnjaka u pokusnom nasadu Vrbanja u dobi od 6 godina. Najbolje preživljenje imala je populacija HR 330 (UŠP Zagreb, Šumarija Velika Gorica), dok su najniže preživljenje pokazale populacije HR 387 (UŠP Karlovac, Šumarija Karlovac) i HR 627 (UŠP Koprivnica, Šumarija Repaš).

Tablica 19. Deskriptivni statistički parametri za preživljenje populacija hrasta lužnjaka u dobi od 6 godina u pokusnom nasadu Vrbanja.

Populacija	N	N opažanja	Minimum	Maksimum	Aritmetička sredina	Std. Dev.	St.greška aritm. sredine	Koeficijent varijacije
HR 12	300	300	0	1	0,80	0,401	0,023	50,084
HR 16	292	292	0	1	0,76	0,426	0,025	55,721
HR 160	300	300	0	1	0,80	0,401	0,023	50,084
HR 163	262	262	0	1	0,76	0,430	0,027	56,962
HR 203	300	300	0	1	0,72	0,448	0,026	61,949
HR 317	299	299	0	1	0,78	0,415	0,024	53,312
HR 318	299	299	0	1	0,78	0,413	0,024	52,793
HR 330	300	300	0	1	0,90	0,296	0,017	32,767
HR 368	300	300	0	1	0,86	0,351	0,020	40,973
HR 387	288	288	0	1	0,71	0,455	0,027	64,281
HR 389	297	297	0	1	0,74	0,439	0,025	59,261
HR 577	300	300	0	1	0,77	0,424	0,024	55,260
HR 58	300	300	0	1	0,79	0,410	0,024	52,163
HR 609	300	300	0	1	0,79	0,406	0,023	51,125
HR 627	300	300	0	1	0,71	0,455	0,026	64,017
HR 88	293	293	0	1	0,83	0,380	0,022	45,985
HR AM	287	287	0	1	0,77	0,424	0,025	55,282

Uspoređujući prosječne vrijednosti u sva tri popusna nasada 2012. godine (slika 20) može se uočiti kako preživljenje populacija varira ovisno o nasadu, npr. prosječno najniže preživljenje u pokusnom nasadu Jastrebarsko imale su populacije HR 330 i HR 609, u pokusnom nasadu Koška HR 387 i HR 609, dok su se u pokusnom nasadu Vrbanja populacije HR 387 i HR 627 pokazale kao najlošije.

Općenito, prosječno najmanje preživljenje zabilježeno je u pokusnom nasadu Vrbanja (od 71 % do 91 %), dok su populacije najveće razlike u uspjehu preživljenja pokazale u pokusnom nasadu Jastrebarsko (od 66 % HR 330 do 95 % HR 12).



Slika 20. Prosječno preživljenje u sva tri pokusna nasada za 2012. godinu.

3.1.4. Zimska retencija lišća

Rezultati deskriptivne statističke analize za svojstvo zimska retencija lišća na razini populacija u pokusnom nasadu Jastrebarsko prikazana je u tablicama 20, 21 i 22. Ocjenjivanje ovog svojstva je provedeno u dobi od 4. do 6. godine, ocjenama od 0 do 3.

Prosječna ocjena za zimsku retenciju lišća 2010. godine kretala se od 0,17 (HR 163 UŠP Nova Gradiška, Šumarija Stara Gradiška) do 1,19 (HR 627 UŠP Koprivnica, Šumarija Repaš) (tablica 20).

Tablica 20. Deskriptivni statistički parametri za svojstvo zimske retencije lišća na razini populacija u pokusnom nasadu Jastrebarsko u dobi od 4 godine.

Populacija	N	N opažanja	Minimum	Maksimum	Aritmetička sredina	Std. Dev.	St.greška aritm. sredine	Koeficijent varijacije
HR 12	300	285	0	3	0,50	0,812	0,048	161,830
HR 16	300	292	0	3	0,24	0,543	0,032	223,230
HR 160	300	292	0	3	0,49	0,839	0,049	171,370
HR 163	300	287	0	3	0,17	0,513	0,030	294,510
HR 203	300	293	0	3	0,21	0,513	0,030	242,490
HR 317	300	294	0	3	0,24	0,570	0,033	239,570
HR 318	300	298	0	3	0,25	0,537	0,031	216,220
HR 330	300	295	0	3	0,31	0,667	0,039	216,330
HR 368	300	296	0	3	0,20	0,489	0,028	249,730
HR 387	300	297	0	3	0,97	1,145	0,066	117,630
HR 389	300	292	0	3	1,09	1,182	0,069	108,920
HR 577	300	297	0	3	0,57	0,935	0,054	165,360
HR 58	300	293	0	3	0,39	0,771	0,045	199,820
HR 609	300	289	0	3	0,32	0,695	0,041	215,940
HR 627	300	297	0	3	1,19	1,188	0,069	99,707
HR 88	300	288	0	3	0,41	0,732	0,043	178,580
HR AM	300	298	0	3	0,25	0,566	0,033	231,020

Druge godine izmjera (2011.) u dobi od 5 godina prosječne ocjene zimske retencije lišća populacija hrasta lužnjaka kretale su se od 0,19 (HR 203 UŠP Bjelovar, Šumarija Vrbovec) do 1,18 (HR 627 UŠP Koprivnica, Šumarija Repaš) (tablica 21).

Tablica 21. Deskriptivni statistički parametri za svojstvo zimske retencije lišća na razini populacija u pokusnom nasadu Jastrebarsko u dobi od 5 godina.

Populacija	N	N opažanja	Minimum	Maksimum	Aritmetička sredina	Std. Dev.	St.greška aritm. sredine	Koeficijent varijacije
HR 12	300	288	0	3	0,68	0,975	0,057	143,210
HR 16	300	250	0	3	0,44	0,821	0,052	184,840
HR 160	300	281	0	3	0,57	0,924	0,055	163,290
HR 163	300	274	0	3	0,20	0,530	0,032	259,100
HR 203	300	245	0	3	0,19	0,512	0,033	266,940
HR 317	300	272	0	3	0,25	0,624	0,038	245,950
HR 318	300	267	0	3	0,32	0,599	0,037	190,530
HR 330	300	205	0	3	0,31	0,707	0,049	226,520
HR 368	300	277	0	3	0,23	0,527	0,032	231,740
HR 387	300	286	0	3	1,11	1,166	0,069	105,220
HR 389	300	262	0	3	1,18	1,196	0,074	101,060
HR 577	300	279	0	3	0,56	0,891	0,053	160,450
HR 58	300	289	0	3	0,47	0,862	0,051	181,860
HR 609	300	230	0	3	0,28	0,569	0,038	204,550
HR 627	300	280	0	3	1,18	1,213	0,072	103,220
HR 88	300	265	0	3	0,42	0,719	0,044	173,130
HR AM	300	281	0	3	0,31	0,634	0,038	202,350

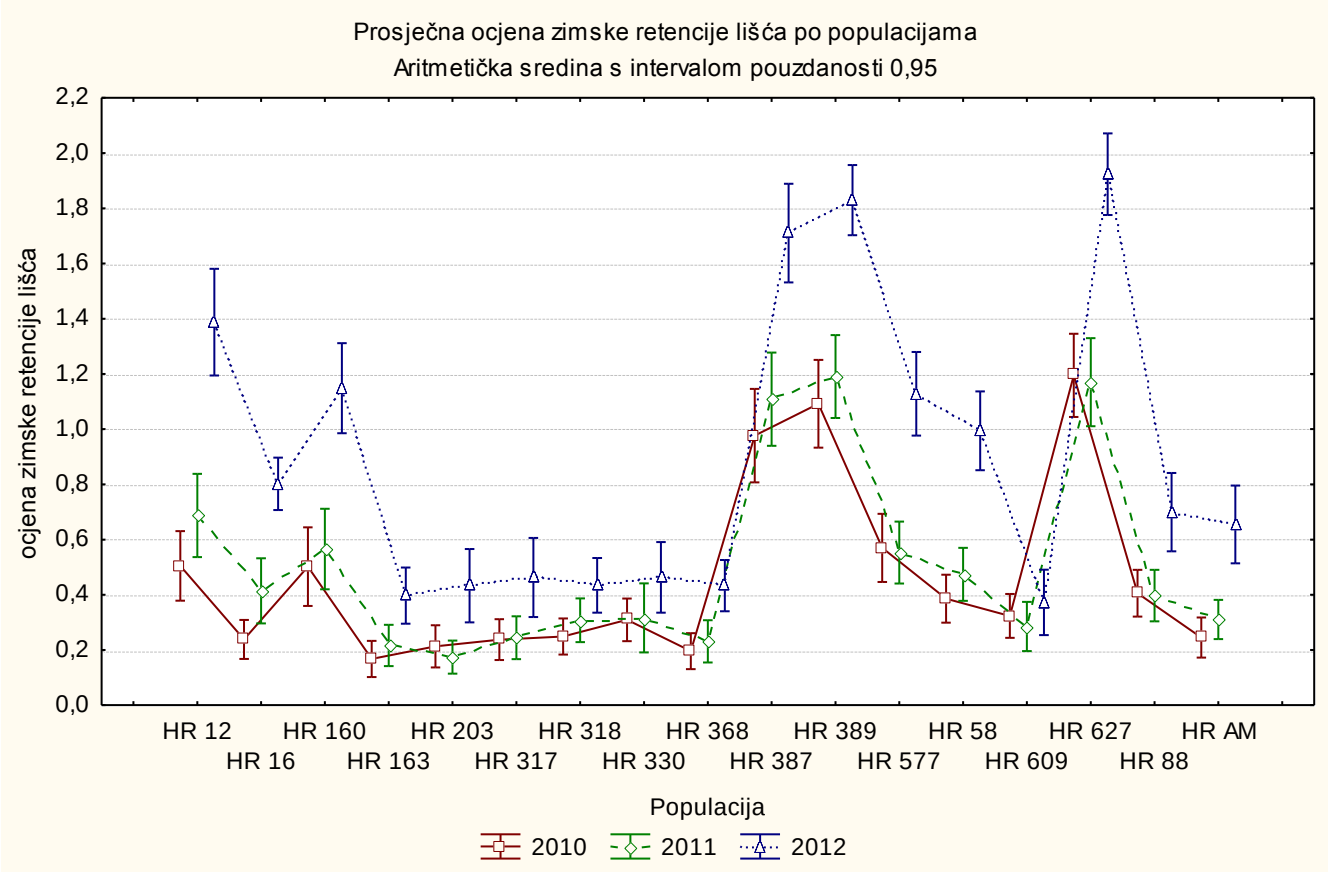
U dobi od 6 godina najnižu prosječnu ocjenu zimske retencije lišća (0,37) imala je populacija HR 609 (UŠP Buzet, Šumarija Buzet) dok je najvišu vrijednost 1,92 imala populacija HR 627 (UŠP Koprivnica, Šumarija Repaš) (tablica 22).

Tablica 22. Deskriptivni statistički parametri za svojstvo zimske retencije lišća na razini populacija u pokusnom nasadu Jastrebarsko u dobi od 6 godina.

Populacija	N	N opažanja	Minimum	Maksimum	Aritmetička sredina	Std. Dev.	St.greška aritm. sredine	Koeficijent varijacije
HR 12	300	282	0	3	1,36	1,247	0,074	91,802
HR 16	300	239	0	3	0,81	0,696	0,045	86,135
HR 160	300	269	0	3	1,15	1,171	0,071	102,250
HR 163	300	258	0	3	0,40	0,732	0,046	183,470
HR 203	300	235	0	3	0,40	0,735	0,048	183,740
HR 317	300	272	0	3	0,48	0,888	0,054	184,470
HR 318	300	260	0	3	0,46	0,767	0,048	167,670
HR 330	300	216	0	3	0,46	0,770	0,052	168,100
HR 368	300	271	0	3	0,43	0,673	0,041	157,260
HR 387	300	273	0	3	1,70	1,221	0,074	71,827
HR 389	300	256	0	3	1,83	1,215	0,076	66,462
HR 577	300	268	0	3	1,12	1,156	0,071	102,950
HR 58	300	276	0	3	1,00	1,102	0,066	110,210
HR 609	300	221	0	3	0,37	0,785	0,053	211,570
HR 627	300	276	0	3	1,92	1,239	0,075	64,528
HR 88	300	256	0	3	0,70	0,953	0,060	135,490
HR AM	300	270	0	3	0,65	0,975	0,059	150,390

Slika 21 prikazuje prosječne ocjene zimske retencije lišća za populacije u pokusnom nasadu Jastrebarsko za 2010., 2011. i 2012. godinu. Ističu se tri populacije koje su uzastopno imale prosječno najviši stupanj zadržavanja prošlogodišnjeg odumrlog lišća, a to su populacije: HR 627 (UŠP Koprivnica, Šumarija Repaš), HR 389 (UŠP Karlovac, Šumarija

Karlovac g.j. Domačaj-Kovačevački lug) i HR 387 (UŠP Karlovac, Šumarija Karlovac g.j. Rečićki lugovi). Vrlo niska prosječna ocjena zimske retencije lišća zabilježena je kod populacija HR 163 (UŠP Nova Gradiška, Šumarija Stara Gradiška), HR 203 (UŠP Bjelovar, Šumarija Vrbovec) i HR 368 (UŠP Sisak, Šumarija Sunja). Populacija HR 609 (UŠP Buzet, Šumarija Buzet) imala je najmanje variranje prosječne ocjene zimske retencije lišća kroz sve istraživane godine. Sa slike se također može uočiti kako je kod svih populacija prosječna ocjena zimske retencije lišća rasla tijekom tri promatrane godine, što znači kako su biljke iz godine u godinu zadržavale sve više odumrlog lišća na granama, a naročito je taj porast vidljiv između 2011. i 2012. godine. Nadalje, može se i uočiti kako je rangiranje populacija bilo identično kroz sve tri analizirane godine.



Slika 21. Prosječna ocjena zimske retencije lišća populacija hrasta lužnjaka u pokusnom nasadu Jastrebarsko, u dobi od 4 do 6 godina.

3.1.5. Intenzitet zaraze hrastovom pepelnicom

Prosječna ocjena intenziteta zaraze hrastovom pepelnicom na razini populacija u pokusnom nasadu Jastrebarsko u proljeće 2011. godine kretala se u rasponu od 0,99 (HR 609) do 1,97 (HR 12) (tablica 23). Može se uočiti se kako je 2011. godine intenzitet zaraze bio relativno slab kod svih populacija u pokusnom nasadu.

Tablica 23. Deskriptivni statistički parametri intenziteta zaraze hrastovom pepelnicom populacija hrasta lužnjaka u pokusnom nasadu Jastrebarsko u dobi od 5 godina.

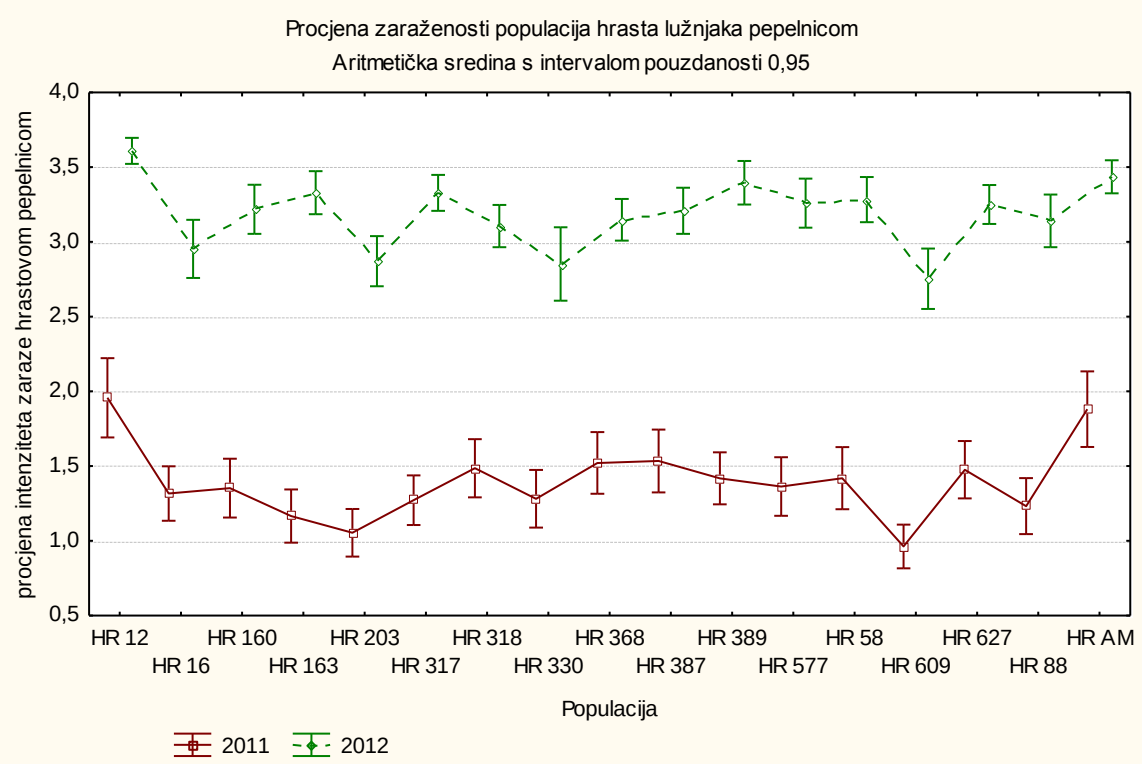
Populacija	N	N opažanja	Minimum	Maksimum	Aritmetička sredina	Std. Dev.	St.greška aritm. sredine	Koeficijent varijacije
HR 12	300	284	0	4	1,97	1,481	0,088	75,242
HR 16	300	276	0	4	1,33	1,078	0,065	80,820
HR 160	300	283	0	4	1,36	1,054	0,063	77,471
HR 163	300	279	0	4	1,18	1,190	0,071	100,610
HR 203	300	261	0	4	1,10	1,054	0,065	96,148
HR 317	300	279	0	4	1,27	1,046	0,063	82,701
HR 318	300	287	0	4	1,48	1,017	0,060	68,501
HR 330	300	244	0	4	1,30	0,989	0,063	75,865
HR 368	300	286	0	4	1,52	1,160	0,069	76,434
HR 387	300	284	0	4	1,55	1,070	0,064	68,928
HR 389	300	279	0	4	1,42	1,014	0,061	71,453
HR 577	300	279	0	4	1,36	1,167	0,070	85,663
HR 58	300	284	0	4	1,42	1,279	0,076	89,944
HR 609	300	248	0	4	0,99	0,827	0,053	83,721
HR 627	300	289	0	4	1,48	1,080	0,064	72,783
HR 88	300	277	0	4	1,22	0,881	0,053	71,971
HR AM	300	289	0	4	1,89	1,352	0,080	71,563

U proljeće sljedeće godine intenzitet zaraze bio je prilično izraženiji, a kretao se u rasponu od 2,71 (HR 609 UŠP Buzet, Šumarija Buzet) do 3,61 (HR 12 UŠP Vinkovci, Šumarija Gunja). Unutar svih populacija zabilježen je i maksimalni intenzitet zaraze kada micelij gljive prekriva više od 45% površine lista određeno ocjenom 4 (tablica 24).

Tablica 24. Deskriptivni statistički parametri intenziteta zaraze hrastovom pepelnicom populacija hrasta lužnjaka u pokusnom nasadu Jastrebarsko u dobi od 6 godina.

Populacija	N	N opažanja	Minimum	Maksimum	Aritmetička sredina	Std. Dev.	St.greška aritm. sredine	Koeficijent varijacije
HR 12	300	280	0	4	3,61	0,695	0,042	19,269
HR 16	300	222	0	4	2,98	1,051	0,071	35,275
HR 160	300	264	0	4	3,22	0,961	0,059	29,871
HR 163	300	262	0	4	3,33	0,939	0,058	28,180
HR 203	300	230	0	4	2,89	1,102	0,073	38,127
HR 317	300	263	0	4	3,32	0,837	0,052	25,185
HR 318	300	255	0	4	3,11	1,027	0,064	32,971
HR 330	300	190	0	4	2,87	1,274	0,092	44,348
HR 368	300	273	0	4	3,16	0,986	0,060	31,215
HR 387	300	274	0	4	3,20	0,932	0,056	29,165
HR 389	300	258	0	4	3,40	0,945	0,059	27,842
HR 577	300	270	0	4	3,28	1,050	0,064	32,000
HR 58	300	282	0	4	3,28	1,001	0,060	30,470
HR 609	300	206	0	4	2,71	1,322	0,092	48,706
HR 627	300	271	0	4	3,26	0,830	0,050	25,468
HR 88	300	249	0	4	3,15	1,040	0,066	32,986
HR AM	300	272	0	4	3,43	0,843	0,051	24,564

Iz slike 22 vidljiva je razlika u prosječnom intenzitetu zaraze populacija između dvije uzastopne godine. Važno je istaknuti kako je rangiranje populacija s obzirom na prosječnu ocjenu bilo slično u obje godine, ali ne potpuno isto.



Slika 22. Prosječan intenzitet zaraze hrastovom pepelnicom populacija hrasta lužnjaka u pokusnom nasadu Jastrebarsko u dobi od 5 i 6 godina.

3.1.6. Fenologija listanja

Deskriptivna statistička analiza početka listanja u pokusnom nasadu Jastrebarsko provedena je za razdoblje od 2011. do 2013. godine, odnosno za dob biljaka od 5 do 7 godine. Početak listanja određen je kao broj dana od 1.1. tekuće godine do dana kada je zabilježeno da se nalaze u fenofazi 3 – otvaranje pupova (v. poglavlje 2.3.4.).

Prosječno najranije listanje u proljeće 2011. godine imala je populacija HR 88 (UŠP Našice, Šumarija Koška) koja je započela listati od 90. do 123. dana tekuće godine (prosječno 101,66). Populacija HR 12 (UŠP Vinkovci, Šumarija Gunja) imala je prosječno najkasniji početak listanja 114. dan (tablica 25).

Tablica 25. Deskriptivni statistički parametri početka listanja populacija hrasta lužnjaka u pokusnom nasadu Jastrebarsko u dobi od 5 godina.

Populacija	N	N opažanja	Minimum	Maksimum	Aritmetička sredina	Std. Dev.	St.greška aritm. sredine	Koeficijent varijacije
HR 12	300	289	104	123	114,14	2,812	0,165	2,463
HR 16	298	294	97	123	105,29	5,744	0,335	5,456
HR 58	299	289	100,5	123	112,93	3,652	0,215	3,234
HR 88	297	293	90	123	101,66	3,073	0,18	3,023
HR 160	299	290	97	123	106,45	5,606	0,329	5,266
HR 163	300	291	99,333	123	111,35	4,163	0,244	3,739
HR 203	300	291	97	117	104,57	4,86	0,285	4,648
HR 317	299	286	98,75	123	107,04	4,704	0,278	4,394
HR 318	297	292	97	123	106,21	4,905	0,287	4,618
HR 330	297	291	97	123	102,71	4,707	0,276	4,583
HR 368	299	291	97	123	108,4	4,744	0,278	4,376
HR 387	299	289	97	114	103,79	4,008	0,236	3,862
HR 389	299	290	97	123	104,33	3,984	0,234	3,819
HR 577	299	293	98,75	123	108,17	4,765	0,278	4,405
HR 609	296	287	97	117	102,17	3,784	0,223	3,703
HR 627	300	293	97	117	107,64	4,753	0,278	4,416
HR AM	300	292	97	123	111,86	4,32	0,253	3,862

U dobi od 6 godina prosječno najranije listanje imale su populacije HR 330 (UŠP Zagreb, Šumarija Velika Gorica) i HR 88 (UŠP Našice, Šumarija Koška) (prosječno 110. dan), a prosječno najkasnije listanje populacije HR 12 (UŠP Vinkovci, Šumarija Gunja) (118. dan) i HR 58 (UŠP Osijek, Šumarija Darda) (117. dan) (tablica 26).

Tablica 26. Deskriptivni statistički parametri početka listanja populacija hrasta lužnjaka u pokusnom nasadu Jastrebarsko u dobi od 6 godina.

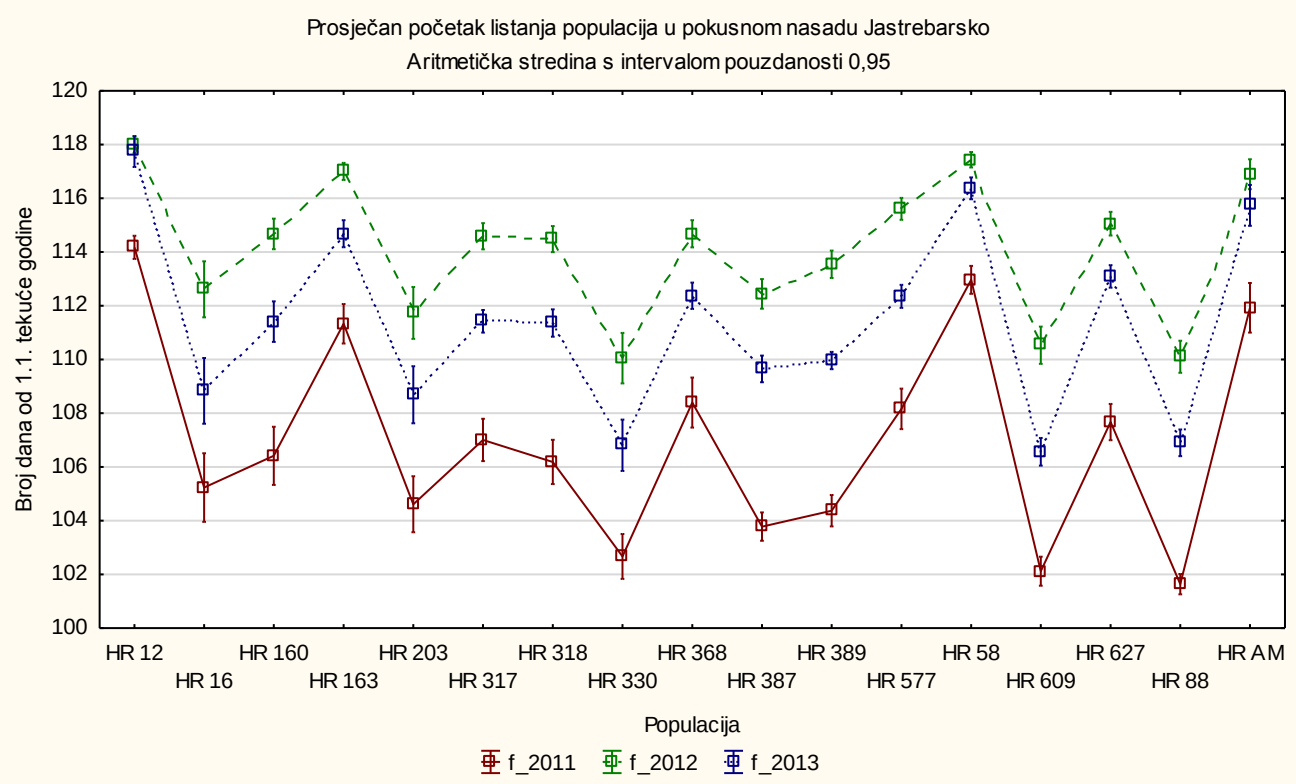
Populacija	N	N opažanja	Minimum	Maksimum	Aritmetička sredina	Std. Dev.	St.greška aritm. sredine	Koeficijent varijacije
HR 12	294	275	108	124	117,97	2,03	0,122	1,721
HR 16	233	163	104,5	123,25	113,35	4,864	0,381	4,291
HR 58	289	264	108	130	117,46	2,335	0,144	1,987
HR 88	225	178	104,5	121	110,02	3,145	0,236	2,858
HR 160	286	250	104,5	124	114,74	2,932	0,185	2,555
HR 163	293	252	108	125,5	117,04	1,939	0,122	1,656
HR 203	273	204	103,33	124	112,05	4,478	0,314	3,997
HR 317	281	249	108	122,8	114,51	3,013	0,191	2,632
HR 318	279	231	104,5	122,8	114,6	2,832	0,186	2,471
HR 330	252	151	103,33	123,25	110,24	4,355	0,354	3,951
HR 368	294	260	104,5	122,8	114,67	3,008	0,187	2,624
HR 387	268	249	104,5	122,8	112,44	3,483	0,221	3,097
HR 389	289	241	108	124	113,53	3,171	0,204	2,793
HR 577	283	251	103,33	125,5	115,65	2,664	0,168	2,303
HR 609	253	158	103,33	124	110,66	3,696	0,294	3,34
HR 627	286	261	108	130	114,99	3,035	0,188	2,64
HR AM	298	266	108	124	116,9	2,678	0,164	2,291

Treće uzastopne godine ocjenjivanja fenologije, najranije listanje započelo je 102. dana, a najkasnije 122. dana od početka tekuće godine (tablica 27). Najranije prosječno listanje imale su populacije HR 330 (UŠP Zagreb, Šumarija Velika Gorica), HR 609 (UŠP Buzet, Šumarija Buzet) i HR 88 (UŠP Našice, Šumarija Koška) (prosječno 106. dan), a najkasnije populacija HR 12 (UŠP Vinkovci, Šumarija Gunja) (118. dan) i HR 58 (UŠP Osijek, Šumarija Darda) (116. dan).

Tablica 27. Deskriptivni statistički parametri početka listanja populacija hrasta lužnjaka u pokusnom nasadu Jastrebarsko u dobi od 7 godina.

Populacija	N	N opažanja	Minimum	Maksimum	Aritmetička sredina	Std. Dev.	St.greška aritm. sredine	Koeficijent varijacije
HR 12	287	275	108	129	117,75	3,097	0,187	2,631
HR 16	286	219	102,75	122	109,07	5,303	0,358	4,862
HR 58	276	258	108	122	116,41	2,628	0,164	2,257
HR 88	264	237	102,4	115	106,88	2,88	0,187	2,695
HR 160	283	255	102,75	122	111,45	3,766	0,236	3,379
HR 163	277	241	103,33	122	114,64	2,76	0,178	2,407
HR 203	255	204	102,75	122	108,87	4,563	0,32	4,192
HR 317	296	257	108	122	111,39	2,511	0,157	2,254
HR 318	283	241	108	118,5	111,43	2,727	0,176	2,447
HR 330	274	178	102,4	122	106,95	4,415	0,331	4,128
HR 368	289	263	103,33	118,5	112,37	2,701	0,167	2,404
HR 387	292	270	102,75	118,5	109,53	3,296	0,201	3,01
HR 389	255	228	103,33	116,75	109,96	2,255	0,149	2,051
HR 577	280	249	108	122	112,31	2,822	0,179	2,513
HR 609	277	192	102,75	115	106,47	2,665	0,192	2,503
HR 627	277	256	103,33	118,5	113,04	3,062	0,191	2,709
HR AM	288	263	103,33	129	115,81	3,457	0,213	2,985

Slika 23 prikazuje prosječan početak otvaranja pupova tri uzastopne godine. Tijekom perioda praćenja fenologije iste populacije su pokazale isti trend ranijeg odnosno kasnijeg prolistavanja.



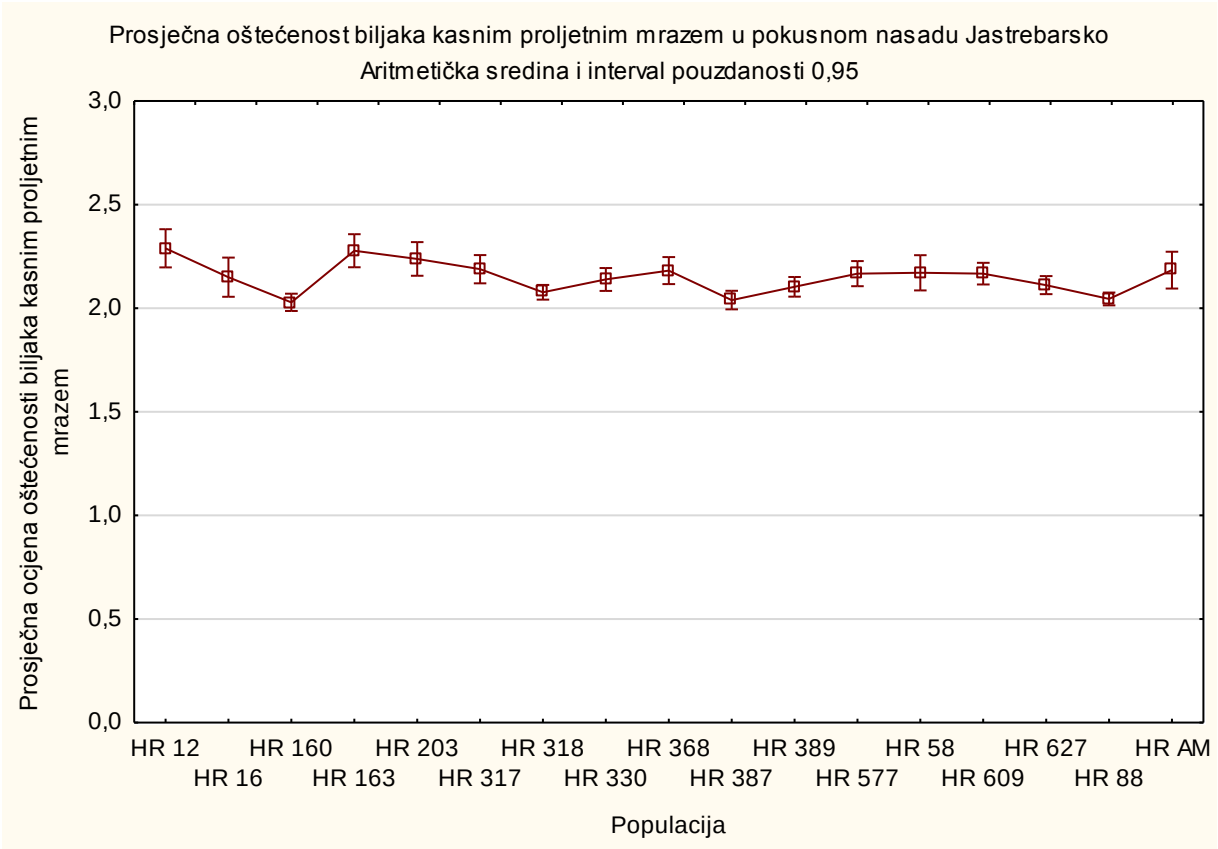
Slika 23. Prosječan početak prolistavanja u dobi od 5 do 7 godina u pokusnom nasadu Jastrebarsko.

3.1.7. Oštećenost biljaka kasnim proljetnim mrazem

Oštećenost mrazem ocjenjivala se u pokusnom nasadu Jastrebarsko u svibnju 2011. Godine, kada je mraz pogodio šire područje kontinentalne Hrvatske. Rezultati deskriptivne statističke analize prikazani su u tablici 28 i slici 24. Najnižu prosječnu oštećenost biljaka imala je populacija HR 160 (UŠP Nova Gradiška, Šumarija Trnjani) – 2,03, a populacija HR 12 (UŠP Vinkovci, Šumarija Gunja) najvišu – 2,30.

Tablica 28. Deskriptivni statistički parametri oštećenosti populacija hrasta lužnjaka kasnim proljetnim mrazem u dobi od 5 godina u pokusnom nasadu Jastrebarsko.

Populacija	N	N opažanja	Minimum	Maksimum	Aritmetička sredina	Std. Dev.	St.greška aritm. sredine	Koeficijent varijacije
HR 12	300	287	1	3	2,30	0,567	0,033	24,677
HR 16	300	296	1	3	2,15	0,544	0,032	25,341
HR 160	300	292	1	3	2,03	0,314	0,018	15,470
HR 163	300	288	1	3	2,28	0,471	0,028	20,696
HR 203	300	291	0	3	2,24	0,500	0,029	22,372
HR 317	300	282	1	3	2,19	0,403	0,024	18,394
HR 318	300	292	1	3	2,08	0,277	0,016	13,351
HR 330	300	294	1	3	2,14	0,410	0,024	19,169
HR 368	300	291	1	3	2,18	0,404	0,024	18,517
HR 387	300	287	1	3	2,04	0,316	0,019	15,508
HR 389	300	288	1	3	2,10	0,338	0,020	16,085
HR 577	300	289	1	3	2,17	0,403	0,024	18,559
HR 58	300	292	1	3	2,18	0,538	0,031	24,720
HR 609	300	286	1	3	2,16	0,407	0,024	18,818
HR 627	300	291	1	3	2,11	0,335	0,020	15,861
HR 88	300	288	1	3	2,05	0,253	0,015	12,385
HR AM	300	295	1	3	2,19	0,500	0,029	22,813



Slika 24. Prosječna ocjena oštećenosti biljaka kasnim proljetnim mrazem u dobi od 6 godina u pokusnom nasadu Jastrebarsko.

3.2. Unutarpopulacijska kvantitativna genetska varijabilnost

3.2.1. Visinski rast

Kvantitativni genetički parametri koji determiniraju razinu unutarpopulacijske genetske varijabilnosti za svojstvo visine u pokusnom nasadu Jastrebarsko tijekom tri uzastopne godine prikazani su u tablicama 29, 30 i 31.

Statistička značajnost za visinu 2010. godine uočena je uglavnom kod efekta interakcije blok × familija za populacije HR 318 (UŠP Zagreb, Šumarija Lipovljani) i HR 330 (UŠP Zagreb, Šumarija Velika Gorica). Manja značajnost istog efekta pojavila se i kod populacija HR 368 i HR 627. Samo je populacija HR 577 (UŠP Požega, Šumarija Požega) imala statističku značajnost za efekt familija. Individualna nasljednost bila je vrlo je niska kod svih populacija i kretala se u rangu od 0,00 do 0,24. Iako je familijska nasljednost bila nešto viša od individualne – (0,00-0,57), gotovo sve populacije su imale nisku nasljednost, osim populacija HR 577 (UŠP Požega, Šumarija Požega) i HR 88 (UŠP Našice, Šumarija Koška), sa umjereno visokom familijskom nasljednosti. Koeficijent aditivne genetske varijacije (CV_A), kao i nasljednost, je parametar za određivanje razine unutarpopulacijske genetske raznolikosti. Za ovo svojstvo u dobi od 4 godine populacije nisu pokazale značajnu unutarpopulacijsku diferencijaciju. Parametar CV_A bio je nešto istaknutiji kod populacija HR 88 i HR 577 (tablica 29).

Tablica 29. Postoci komponenata varijance, individualna (h_i^2) i familijska (h_f^2) nasljednost, koeficijent aditivne genetske varijacije (CV_A) za svojstvo visine u dobi od 4 godine u pokusnom nasadu Jastrebarsko.

Populacije	Komponente varijance (%)			h_i^2 (2010)	h_f^2 (2010)	CV_A (%) 2010
	σ^2_b	σ^2_f	$\sigma^2_{b\times f}$			
HR 12	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00
HR 16	4,15 ± 5,44	0,00 ± 0,00	8,02 ± 5,09	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00
HR 58	4,31 ± 5,57	0,00 ± 0,00	7,36 ± 4,96	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00
HR 88	0,47 ± 1,42	6,35 ± 4,15	0,00 ± 0,00	0,19 ± 0,02	0,51 ± 0,08	8,51
HR 160	6,88 ± 8,14	0,51 ± 3,46	8,20 ± 5,99	0,02 ± 0,01	0,07 ± 0,19	2,53
HR 163	6,40 ± 7,40	3,19 ± 3,52	1,88 ± 4,81	0,10 ± 0,01	0,34 ± 0,11	6,33
HR 203	0,00 ± 0,00	2,54 ± 3,57	2,80 ± 5,20	0,08 ± 0,01	0,27 ± 0,12	5,30
HR 317	4,20 ± 5,20	2,54 ± 3,32	1,30 ± 4,84	0,08 ± 0,01	0,28 ± 0,12	5,41
HR 318	4,45 ± 6,07	0,00 ± 0,00	16,49 ± 6,42**	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00
HR 330	0,13 ± 1,81	1,07 ± 4,61	16,02 ± 7,66**	0,03 ± 0,02	0,11 ± 0,20	3,42
HR 368	0,84 ± 2,34	0,53 ± 4,06	12,14 ± 6,97*	0,02 ± 0,02	0,06 ± 0,21	2,72
HR 387	7,61 ± 8,54	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00
HR 389	0,87 ± 2,35	0,00 ± 0,00	11,37 ± 5,67	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00
HR 577	0,00 ± 0,00	8,06 ± 4,84*	0,34 ± 4,52	0,24 ± 0,02	0,57 ± 0,09	11,02
HR 609	5,41 ± 6,61	0,90 ± 3,15	3,56 ± 5,32	0,03 ± 0,01	0,12 ± 0,16	4,00
HR 627	8,25 ± 9,63	0,00 ± 0,00	10,95 ± 5,40*	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00
HR AM	2,50 ± 3,47	0,55 ± 2,34	0,00 ± 0,00	0,02 ± 0,01	0,08 ± 0,10	2,34

σ^2_b – komponenta varijance efekta bloka; **σ^2_f** – komponenta varijance efekta familija; **$\sigma^2_{b\times f}$** – komponenta varijance efekta interakcije familija unutar blokova.
*značajnost na nivou 0,01-0,05; **značajnost na nivou 0,0001-0,01; ***značajnost na nivou <0,0001.

Efekt interakcije blok × familija i u dobi od 5 godina (izmjere 2011.) pokazao je ponovno višu statističku značajnost kod populacije HR 318 (UŠP Zagreb, Šumarija Lipovljani), dok su populacije HR 16, HR 160, HR 368 i HR 389 također pokazale statističku značajnost ovog efekta, ali na nižoj razini. Niti jedan drugi izvor varijabilnosti nije bio statistički značajan. Individualne nasljednosti, kao i familijske bile su izrazito niske (<0,5), niže nego godinu ranije. Populacija HR 88 kao i prethodne godine imala je viši koeficijent aditivne genetske varijacije, isto kao i populacija HR 330 (tablica 30).

Tablica 30. Postoci komponenata varijance, individualna (h_i^2) i familijska (h_f^2) nasljednost, koeficijent aditivne genetske varijacije (CV_A) za svojstvo visine u dobi od 5 godina u pokusnom nasadu Jastrebarsko.

Populacije	Komponente varijance (%)			$h_i^{2\,(2011)}$	$h_f^{2(2011)}$	CV_A (%)
	σ^2_b	σ^2_f	$\sigma^2_{b\times f}$			2011
HR 12	0,45 ± 1,49	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00
HR 16	19,88 ± 21,13	0,00 ± 0,00	7,97 ± 4,83*	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00
HR 58	15,64 ± 16,65	0,00 ± 0,00	3,26 ± 4,09	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00
HR 88	4,78 ± 6,00	5,52 ± 4,61	2,74 ± 5,56	0,17 ± 0,02	0,43 ± 0,11	8,94
HR 160	2,16 ± 3,73	0,00 ± 0,00	13,19 ± 6,15*	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00
HR 163	9,65 ± 10,89	1,31 ± 3,70	6,68 ± 6,10	0,04 ± 0,02	0,15 ± 0,17	4,42
HR 203	8,82 ± 10,11	5,14 ± 4,94	6,88 ± 6,60	0,17 ± 0,03	0,38 ± 0,11	7,80
HR 317	8,29 ± 9,29	0,64 ± 2,82	0,23 ± 5,03	0,02 ± 0,01	0,09 ± 0,14	2,71
HR 318	7,11 ± 8,90	0,00 ± 0,00	17,41 ± 7,01**	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00
HR 330	0,00 ± 0,00	5,86 ± 6,76	8,75 ± 8,03	0,18 ± 0,04	0,34 ± 0,13	10,29
HR 368	3,94 ± 5,44	1,54 ± 4,51	12,16 ± 6,93*	0,05 ± 0,02	0,15 ± 0,18	4,67
HR 387	16,91 ± 17,94	0,00 ± 0,00	3,89 ± 4,05	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00
HR 389	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	12,33 ± 6,14*	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00
HR 577	2,67 ± 3,65	3,60 ± 3,36	0,00 ± 0,00	0,11 ± 0,01	0,35 ± 0,08	6,03
HR 609	2,80 ± 4,01	1,30 ± 3,30	0,00 ± 0,00	0,04 ± 0,01	0,14 ± 0,11	5,05
HR 627	7,01 ± 8,33	0,00 ± 0,00	8,73 ± 5,33	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,02	0,00
HR AM	17,09 ± 17,94	2,82 ± 2,78	0,00 ± 0,00	0,10 ± 0,01	0,33 ± 0,08	5,72

σ^2_b – komponenta varijance efekta bloka; **σ^2_f** – komponenta varijance efekta familija; **$\sigma^2_{b\times f}$** – komponenta varijance efekta interakcije familija unutar blokova.
*značajnost na nivou 0,01-0,05; **značajnost na nivou 0,0001-0,01; ***značajnost na nivou <0,0001.

U dobi od 6 godina jedino je statističku značajnost pokazao efekt interakcije blok × familija i to kod populacija HR 16 (UŠP Vinkovci, Šumarija Otok), HR 160 (UŠP Nova Gradiška, Šumarija Trnjani) i HR 330 (UŠP Zagreb, Šumarija Velika Gorica), dok su njihove nasljednosti bile izrazito niske. Familijske nasljednosti populacija HR 577 (UŠP Požega, Šumarija Požega) i HR 163 (UŠP Nova Gradiška, Šumarija Stara Gradiška) bile su nešto više, dok su ostale populacije imale vrlo niske nasljednosti, kako familijske tako i individualne. CV_A je kod populacija HR 577, HR 163, HR 609 i HR 203 bio viši (tablica 31).

Tablica 31. Postoci komponenata varijance, individualna (h_i^2) i familijska (h_f^2) nasljednost, koeficijent aditivne genetske varijacije (CV_A) za svojstvo visine u dobi od 6 godina u pokusnom nasadu Jastrebarsko.

Populacije	Komponente varijance (%)			h_i^2 (2012)	h_f^2 (2012)	CV_A (%) 2012
	σ^2_b	σ^2_f	$\sigma^2_{b\times f}$			
HR 12	3,27 ± 4,26	0,95 ± 2,53	0,00 ± 0,00	0,03 ± 0,01	0,12 ± 0,10	3,68
HR 16	20,01 ± 21,45	2,61 ± 4,72	10,74 ± 6,53*	0,10 ± 0,03	0,23 ± 0,15	8,01
HR 58	10,92 ± 12,19	0,00 ± 0,00	7,49 ± 4,94	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00
HR 88	12,83 ± 14,23	1,35 ± 3,83	8,78 ± 6,61	0,05 ± 0,02	0,14 ± 0,15	5,30
HR 160	2,93 ± 4,44	0,00 ± 0,00	10,75 ± 5,97*	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00
HR 163	11,66 ± 12,72	7,71 ± 5,32	2,98 ± 4,97	0,26 ± 0,03	0,54 ± 0,11	12,76
HR 203	2,33 ± 3,68	5,84 ± 5,29	5,71 ± 6,35	0,18 ± 0,03	0,40 ± 0,11	10,54
HR 317	15,73 ± 16,71	5,12 ± 4,03	1,13 ± 4,77	0,18 ± 0,02	0,45 ± 0,10	9,78
HR 318	3,95 ± 5,45	0,00 ± 0,00	7,54 ± 5,82	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00
HR 330	0,00 ± 0,00	1,72 ± 7,22	19,95 ± 10,89*	0,05 ± 0,05	0,11 ± 0,20	6,88
HR 368	7,22 ± 8,56	3,06 ± 4,39	8,30 ± 6,15	0,10 ± 0,02	0,29 ± 0,14	7,74
HR 387	14,52 ± 15,64	0,00 ± 0,00	4,76 ± 4,54	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00
HR 389	3,72 ± 5,17	0,00 ± 0,00	8,06 ± 5,38	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00
HR 577	3,03 ± 4,01	10,22 ± 5,41	0,00 ± 0,00	0,32 ± 0,03	0,62 ± 0,08	13,50
HR 609	0,00 ± 0,00	4,72 ± 4,29	0,00 ± 0,00	0,14 ± 0,02	0,35 ± 0,08	11,04
HR 627	17,54 ± 18,71	0,00 ± 0,00	7,43 ± 4,79	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00
HR AM	17,82 ± 18,77	4,99 ± 3,92	2,32 ± 4,56	0,18 ± 0,02	0,46 ± 0,11	9,05

σ^2_b – komponenta varijance efekta bloka; **σ^2_f** – komponenta varijance efekta familija; **$\sigma^2_{b\times f}$** – komponenta varijance efekta interakcije familija unutar blokova.
*značajnost na nivou 0,01-0,05; **značajnost na nivou 0,0001-0,01; ***značajnost na nivou <0,0001.

Vrijednosti nasljednosti kao i koeficijenata aditivne genetske varijacije za svojstvo visinskog rasta iz godine u godinu (2010.–2012.) su općenito rasle, međutim ne pravilno kod istih populacija (tablice 29, 30 i 31).

U pokusnom nasadu Koška (tablica 32) individualne nasljednosti populacija bila su niske (0,00-0,30), dok je raspon familijske nasljednosti bio nešto veći (0,00-0,58). Iako su gotovo sve populacije imale uglavnom niske nasljednosti (<0,5), populacija HR 387 (UŠP Karlovac, Šumarija Karlovac) se istakla s relativno najvišom nasljednosti kao i koeficijentom aditivne genetske varijacije. Srednje visoke nasljednosti, kao i više CV_A parametre imale su populacije HR 203 i HR 318.

Tablica 32. Postoci komponenata varijance, individualna (h_i^2) i familijska (h_f^2) nasljednost, koeficijent aditivne genetske varijacije (CV_A) za svojstvo visine u dobi od 6 godina u pokusnom nasadu Koška.

Populacije	Komponente varijance (%)			h_i^2	h_f^2	CV_A (%)
	σ^2_b	σ^2_f	$\sigma^2_{b\times f}$			
HR 12	0,7 ± 1,8	2,1 ± 3,4	0,6 ± 5,2	0,06 ± 0,01	0,22 ± 0,11	5,20
HR 16	1,8 ± 3,6	1,9 ± 5,0	16,1 ± 8,1	0,06 ± 0,02	0,16 ± 0,16	5,70
HR 58	0,0 ± 0,0	0,3 ± 4,7	16,9 ± 8,1	0,01 ± 0,02	0,03 ± 0,19	2,10
HR 88	0,8 ± 2,5	0,0 ± 0,0	8,7 ± 5,9	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00
HR 160	5,0 ± 6,2	5,1 ± 4,4	4,1 ± 5,8	0,16 ± 0,02	0,40 ± 0,10	9,80
HR 163	2,1 ± 3,9	5,3 ± 5,8	14,8 ± 7,6	0,16 ± 0,03	0,36 ± 0,13	8,10
HR 203	5,5 ± 6,8	8,3 ± 5,7	5,4 ± 6,1	0,26 ± 0,03	0,53 ± 0,10	12,10
HR 317	1,0 ± 2,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00
HR 318	0,0 ± 0,0	7,9 ± 5,0	0,0 ± 0,0	0,24 ± 0,02	0,53 ± 0,09	10,20
HR 330	8,0 ± 9,1	5,6 ± 4,8	3,0 ± 6,3	0,18 ± 0,02	0,44 ± 0,12	10,50
HR 368	15,5 ± 16,6	0,0 ± 0,0	5,8 ± 4,6	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00
HR 387	0,4 ± 1,7	10,0 ± 6,4	1,8 ± 6,0	0,30 ± 0,04	0,58 ± 0,11	12,90
HR 389	2,0 ± 3,4	2,4 ± 4,4	7,1 ± 6,9	0,07 ± 0,02	0,22 ± 0,14	5,90
HR 577	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	7,5 ± 5,6	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00
HR 609	1,2 ± 2,8	3,8 ± 5,4	7,4 ± 8,0	0,12 ± 0,03	0,31 ± 0,16	8,90
HR 627	0,7 ± 2,5	2,0 ± 5,3	14,6 ± 7,9	0,06 ± 0,03	0,17 ± 0,18	6,50
HR AM	3,2 ± 4,8	0,0 ± 0,0	11,8 ± 6,3	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00

σ^2_b – komponenta varijance efekta bloka; σ^2_f – komponenta varijance efekta familija; $\sigma^2_{b\times f}$ – komponenta varijance efekta interakcije familija unutar blokova.
*značajnost na nivou 0,01-0,05; **značajnost na nivou 0,0001-0,01; ***značajnost na nivou <0,0001.

Viša statistička značajnost uočena je kod populacije HR 203 (UŠP Bjelovar, Šumarija Vrbovec) za efekt interakcije blok × familija u pokusnom nasadu Vrbanja (tablica 33). Individualne nasljednosti kretale su se u rasponu od 0,00 do 0,66. Umjerene familijske nasljednosti imale su populacije HR 12, HR 160, HR 163, HR 368, HR 389, HR 577 i HR AM (tablica 33), dok su ostale populacije imale relativno niže nasljednosti. Navedene populacije imale su i viši koeficijent aditivne genetske varijacije.

Tablica 33. Postoci komponente varijance, individualna (h_i^2) i familijska (h_f^2) nasljednost, koeficijent aditivne genetske varijacije (CV_A) za svojstvo visina u dobi od 6 godina u pokusnom nasadu Vrbanja.

Populacije	Komponente varijance (%)			$h_i^{2(2012)}$	$h_f^{2\,(2012)}$	CV_A (%)
	σ^2_b	σ^2_f	$\sigma^2_{b\times f}$			
HR 12	46,83 ± 47,47	7,37 ± 3,74	1,10 ± 3,06	0,42 ± 0,04	0,65 ± 0,09	15,32
HR 16	3,98 ± 5,62	4,51 ± 5,81	12,05 ± 8,18	0,14 ± 0,03	0,30 ± 0,13	11,82
HR 58	12,09 ± 13,81	0,44 ± 4,68	14,85 ± 8,05*	0,02 ± 0,03	0,04 ± 0,20	3,78
HR 88	3,94 ± 5,09	1,53 ± 3,33	0,00 ± 0,00	0,05 ± 0,01	0,16 ± 0,11	6,37
HR 160	10,09 ± 11,19	11,54 ± 6,20*	1,68 ± 4,95	0,38 ± 0,04	0,63 ± 0,09	18,06
HR 163	13,30 ± 14,86	10,84 ± 6,03*	0,00 ± 0,00	0,38 ± 0,04	0,59 ± 0,08	16,53
HR 203	50,41 ± 51,77	0,00 ± 0,00	10,53 ± 4,13**	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00
HR 317	20,45 ± 21,73	0,00 ± 0,00	7,24 ± 5,25	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00
HR 318	14,19 ± 15,36	1,34 ± 3,43	0,50 ± 5,39	0,05 ± 0,01	0,16 ± 0,15	5,89
HR 330	15,36 ± 16,57	0,00 ± 0,00	6,32 ± 4,97	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00
HR 368	5,97 ± 7,15	8,84 ± 5,73	4,21 ± 5,55	0,28 ± 0,03	0,55 ± 0,10	13,90
HR 387	5,10 ± 6,36	20,84 ± 9,38*	0,00 ± 0,00	0,66 ± 0,08	0,74 ± 0,09	29,29
HR 389	6,13 ± 7,46	6,63 ± 4,80	0,00 ± 0,00	0,21 ± 0,02	0,46 ± 0,08	14,11
HR 577	10,40 ± 11,81	6,48 ± 5,17	3,13 ± 5,80	0,22 ± 0,03	0,47 ± 0,11	12,32
HR 609	24,95 ± 26,07	0,00 ± 0,00	3,52 ± 4,15	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00
HR 627	4,49 ± 6,10	0,88 ± 3,93	0,05 ± 6,27	0,03 ± 0,02	0,09 ± 0,16	5,59
HR AM	21,80 ± 22,82	6,81 ± 4,66	0,31 ± 5,15	0,26 ± 0,03	0,51 ± 0,10	14,33

σ^2_b – komponenta varijance efekta bloka; **σ^2_f** – komponenta varijance efekta familija; **$\sigma^2_{b\times f}$** – komponenta varijance efekta interakcije familija unutar blokova.
*značajnost na nivou 0,01-0,05; **značajnost na nivou 0,0001-0,01; ***značajnost na nivou <0,0001.

Kada CV_A uspoređujemo po populacijama između pokusnih nasada jasno je vidljivo kako je taj koeficijent vrlo intenzivno varirao ovisno o nasadu. Znatno viši koeficijenti aditivne genetske varijacije uočljivi su u pokusnom nasadu Vrbanja u usporedbi s vrijednostima tog parametra u ostalim nasadima (tablice 31, 32 i 33).

3.2.2. Visinski prirast

Za visinski prirast između 4. i 5. godine u pokusnom nasadu Jastrebarsko većinom nije dobivena statistička značajnost niti za jedan analizirani efekt, izuzev značajnosti efekta interakcije blok × familija za populaciju HR 577 (UŠP Požega, Šumarija Požega). Individualne i familijske nasljednosti su bile niske (<0,5), osim za populaciju HR 387 (UŠP Karlovac, Šumarija Karlovac) kod koje je familijska nasljednost bila umjerena (0,51). Koeficijent aditivne genetske varijacije za ovo svojstvo kod većine populacija bio je prilično visok, naročito kod populacija HR 609, HR 163, HR 387, HR 389 i HR 330 (tablica 34).

Tablica 34. Postoci komponenata varijance, individualna (h_i^2) i familijska (h_f^2) nasljednost, koeficijent aditivne genetske varijacije (CV_A) za svojstvo visinskog prirasta u dobi između 4. i 5. godine u pokusnom nasadu Jastrebarsko.

Populacije	Komponente varijance (%)			h_i^2 (2010-2011)	h_f^2 (2010-2011)	CV_A (%) 2010-2011
	σ^2_b	σ^2_f	$\sigma^2_{b\times f}$			
HR 12	0,39 ± 1,51	0,00 ± 0,00	0,61 ± 4,55	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00
HR 16	9,59 ± 10,79	0,56 ± 3,54	3,20 ± 5,76	0,02 ± 0,01	0,07 ± 0,16	15,38
HR 58	4,80 ± 5,79	1,28 ± 2,54	0,00 ± 0,00	0,04 ± 0,01	0,16 ± 0,09	26,34
HR 88	3,01 ± 4,27	0,28 ± 3,31	1,45 ± 5,98	0,01 ± 0,01	0,03 ± 0,17	11,66
HR 160	0,71 ± 2,06	0,00 ± 0,00	6,94 ± 5,27	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00
HR 163	4,52 ± 5,66	3,81 ± 4,06	3,28 ± 5,42	0,12 ± 0,02	0,35 ± 0,12	52,39
HR 203	7,58 ± 8,65	0,00 ± 0,00	0,22 ± 4,88	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00
HR 317	1,79 ± 2,89	0,00 ± 0,00	1,15 ± 4,59	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00
HR 318	0,45 ± 1,86	0,00 ± 0,00	5,21 ± 6,17	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00
HR 330	0,00 ± 0,00	0,95 ± 4,92	3,81 ± 7,35	0,03 ± 0,02	0,08 ± 0,17	36,78
HR 368	1,13 ± 2,41	2,13 ± 4,06	5,20 ± 6,14	0,06 ± 0,02	0,22 ± 0,15	33,51
HR 387	5,82 ± 6,80	6,49 ± 4,35	0,62 ± 4,60	0,21 ± 0,02	0,51 ± 0,09	43,87
HR 389	0,00 ± 0,00	1,88 ± 3,77	2,37 ± 5,87	0,06 ± 0,01	0,19 ± -0,02	38,20
HR 577	2,82 ± 4,41	0,62 ± 4,33	13,79 ± 7,54*	0,02 ± 0,02	0,07 ± 0,20	17,50
HR 609	0,73 ± 2,18	2,19 ± 4,32	1,73 ± 6,62	0,07 ± 0,02	0,19 ± 0,13	93,30
HR 627	1,34 ± 2,46	0,00 ± 0,00	1,12 ± 4,54	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00
HR AM	17,15 ± 18,00	2,54 ± 2,73	0,00 ± 0,00	0,09 ± 0,01	0,31 ± 0,09	33,40

σ^2_b – komponenta varijance efekta bloka; **σ^2_f** – komponenta varijance efekta familija; **$\sigma^2_{b\times f}$** – komponenta varijance efekta interakcije familija unutar blokova.
*značajnost na nivou 0,01-0,05; **značajnost na nivou 0,0001-0,01; ***značajnost na nivou <0,0001.

Tablica 35 prikazuje postotke komponenti varijance, individualne i familijske nasljednosti, te koeficijente aditivne genetske varijacije za visinske priraste u dobi između 5. i 6. godine. Statističku značajnost pokazao je efekt interakcije blok × familija za populacije HR 163, HR 317, HR 330 i HR 389. Nasljednost svih populacija je bila niska, izuzev populacije HR 16 (UŠP Vinkovci, Šumarija Otok) koja je imala umjerenu vrijednost nasljednosti (0,57). Iako je nasljednost kod većine populacija bila niska, koeficijent aditivne genetske varijacije bio je relativno viši kod populacija: HR 16, HR 203, HR 577 i HR 609. CV_A za visinski prirast između 5. i 6. godine bio je niži nego za prirast između 4. i 5. godine (usp. tablice 34 i 35).

Tablica 35. Postoci komponenata varijance, individualna (h_i^2) i familijska (h_f^2) nasljednost, koeficijent aditivne genetske varijacije (CV_A) za svojstvo visinskog prirasta u dobi između 5. i 6. godine u pokusnom nasadu Jastrebarsko.

Populacije	Komponente varijance (%)			h_i^2 (2011-2012)	h_f^2 (2011-2012)	CV_A (%) 2011-2012
	σ^2_b	σ^2_f	$\sigma^2_{b\times f}$			
HR 12	0,58 ± 1,63	0,12 ± 2,36	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,01	0,02 ± 0,11	6,42
HR 16	4,28 ± 5,48	10,15 ± 6,13	0,09 ± 5,71	0,32 ± 0,04	0,57 ± 0,10	55,74
HR 58	3,43 ± 4,63	0,00 ± 0,00	4,08 ± 4,93	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00
HR 88	10,23 ± 11,67	0,00 ± 0,00	9,49 ± 5,46	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00
HR 160	0,00 ± 0,00	0,05 ± 3,38	3,30 ± 6,17	0,00 ± 0,01	0,01 ± 0,17	3,50
HR 163	0,00 ± 0,00	3,11 ± 5,57	14,63 ± 7,92**	0,09 ± 0,03	0,24 ± 0,16	32,49
HR 203	1,53 ± 2,84	3,24 ± 3,76	0,00 ± 0,00	0,10 ± 0,01	0,29 ± 0,09	52,71
HR 317	7,53 ± 9,19	0,00 ± 0,00	13,81 ± 5,93**	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00
HR 318	4,32 ± 5,42	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00
HR 330	0,13 ± 2,60	0,00 ± 0,00	17,01 ± 7,99*	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00
HR 368	8,32 ± 9,37	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00
HR 387	2,72 ± 3,84	0,00 ± 0,00	2,10 ± 4,88	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00
HR 389	1,16 ± 2,72	0,00 ± 0,00	9,66 ± 5,80*	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00
HR 577	8,87 ± 9,87	5,56 ± 4,01	0,00 ± 0,00	0,18 ± 0,02	0,46 ± 0,08	55,65
HR 609	2,68 ± 4,11	1,41 ± 3,30	0,00 ± 0,00	0,04 ± 0,01	0,13 ± 0,08	45,20
HR 627	11,50 ± 12,47	0,19 ± 2,62	0,14 ± 4,91	0,01 ± 0,01	0,03 ± 0,16	7,43
HR AM	6,54 ± 7,74	0,00 ± 0,00	3,71 ± 4,67	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00

σ^2_b – komponenta varijance efekta bloka; σ^2_f – komponenta varijance efekta familija; $\sigma^2_{b\times f}$ – komponenta varijance efekta interakcije familija unutar blokova.
*značajnost na nivou 0,01-0,05; **značajnost na nivou 0,0001-0,01; ***značajnost na nivou <0,0001.

Koeficijenti aditivne genetske varijacije za ovo svojstvo bili su viši u usporedbi sa svojstvom visinskog rasta, dok familijske nasljednosti nisu bile bitno drugačije.

3.2.3. Preživljenje

Za svojstvo preživljenja u dobi od 4 godine u pokusnom nasadu Jastrebarsko niti jedna populacija hrasta lužnjaka nije imala statističku značajnost niti za jedan istraživani izvor varijabilnosti (efekt). Kao što je već ranije napomenuto, prilikom analiziranja ordinalnih varijabli i preživljenja koristila se metoda analize na temelju određivanja sredina plohica. Zbog toga je određivana samo familijska nasljednost koja je kod većine populacija iznosila nula (0,00). Samo su tri populacije imale nisku nasljednost, a raspon se kretao od 0,00 do 0,44. Koeficijent aditivne genetske varijacije kod većine populacija bio je 0,00, te su također samo tri populacije imale vrlo nizak CV_A. Populacija HR AM (UŠP Vinkovci, Šumarija Otok) nije imala mortaliteta, zbog čega uslijed nepostojanja varijabilnosti niti jedan parametar nije mogao biti izračunat (tablica 36).

Tablica 36. Postoci komponenata varijance, familijska (h_f^2) nasljednost, koeficijent aditivne genetske varijacije (CV_A) za svojstvo preživljenja u dobi od 4 godine u pokusnom nasadu Jastrebarsko.

Populacije	Komponente varijance (%)			$h_f^{2\,(2010)}$	CV_A (%) (2010)
	σ^2_b	σ^2_f	$\sigma^2_{b\times f}$		
HR 12	2,76 ± 7,20	9,88 ± 14,31	0,00 ± 0,00	0,25 ± 0,12	5,29
HR 16	5,25 ± 10,05	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00
HR 58	0,00 ± 5,10	0,00 ± 13,20	0,07 ± 22,96	0,00 ± 0,00	0,00
HR 88	9,79 ± 13,44	17,38 ± 14,62	0,00 ± 0,00	0,42 ± 0,10	4,19
HR 160	0,00 ± 5,10	0,00 ± 13,20	0,07 ± 22,96	0,00 ± 0,00	0,00
HR 163	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	1,00 ± 18,41	0,00 ± 0,00	0,00
HR 203	3,44 ± 7,92	8,28 ± 13,98	0,00 ± 0,00	0,22 ± 0,12	3,63
HR 317	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,14 ± 18,39	0,00 ± 0,00	0,00
HR 318	0,00 ± 5,10	0,00 ± 13,20	0,07 ± 22,96	0,00 ± 0,00	0,00
HR 330	0,18 ± 5,28	0,00 ± 0,00	0,20 ± 18,67	0,00 ± 0,00	0,00
HR 368	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,28 ± 18,41	0,00 ± 0,00	0,00
HR 387	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,28 ± 18,41	0,00 ± 0,00	0,00
HR 389	8,78 ± 13,35	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00
HR 577	0,00 ± 5,10	0,00 ± 13,20	0,07 ± 22,96	0,00 ± 0,00	0,00
HR 609	2,57 ± 7,50	0,00 ± 0,00	5,33 ± 18,26	0,00 ± 0,00	0,00
HR 627	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,28 ± 18,41	0,00 ± 0,00	0,00
HR AM	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A

σ^2_b – komponenta varijance efekta bloka; **σ^2_f** – komponenta varijance efekta familija; **$\sigma^2_{b\times f}$** – komponenta varijance efekta interakcije familija unutar blokova.
*značajnost na nivou 0,01-0,05; **značajnost na nivou 0,0001-0,01; ***značajnost na nivou <0,0001.

Statističke značajnosti istraživanih izvora varijabilnosti za 2011. godinu nije bilo. Izračunate familijske nasljednosti kretale su se u rasponu 0,00-0,45. CV_A su bili nešto viši kod populacija HR 16 i HR 330 (tablica 37).

Tablica 37. Postoci komponenata varijance, familijska (h_f^2) nasljednost, koeficijent aditivne genetske varijacije (CV_A) za svojstvo preživljenja u dobi od 5 godina u pokusnom nasadu Jastrebarsko.

Populacije	Komponente varijance (%)			$h_f^{2\,(2011)}$	CV_A (%) (2011)
	σ^2_b	σ^2_f	$\sigma^2_{b\times f}$		
HR 12	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,88 ± 18,41	0,00 ± 0,00	0,00
HR 16	30,25 ± 33,01	14,85 ± 11,54	0,00 ± 0,00	0,45 ± 0,10	18,00
HR 58	0,00 ± 0,00	12,82 ± 15,06	0,00 ± 0,00	0,31 ± 0,11	5,05
HR 88	31,19 ± 34,64	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00
HR 160	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	1,23 ± 18,42	0,00 ± 0,00	0,00
HR 163	2,11 ± 6,83	5,18 ± 13,69	0,00 ± 0,00	0,14 ± 0,13	5,86
HR 203	13,01 ± 17,36	0,49 ± 11,59	0,00 ± 0,00	0,02 ± 0,15	3,07
HR 317	25,21 ± 28,82	2,82 ± 10,29	0,00 ± 0,00	0,11 ± 0,14	4,51
HR 318	8,72 ± 13,31	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00
HR 330	8,66 ± 13,13	2,54 ± 12,44	0,00 ± 0,00	0,08 ± 0,14	11,12
HR 368	12,43 ± 16,83	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00
HR 387	7,05 ± 11,73	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00
HR 389	10,50 ± 14,75	5,00 ± 12,55	0,00 ± 0,00	0,15 ± 0,13	7,46
HR 577	3,25 ± 8,13	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00
HR 609	4,45 ± 9,11	3,69 ± 13,16	0,00 ± 0,00	0,11 ± 0,14	9,23
HR 627	11,78 ± 16,21	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00
HR AM	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	1,26 ± 18,41	0,00 ± 0,00	0,00

σ^2_b – komponenta varijance efekta bloka; **σ^2_f** – komponenta varijance efekta familija; **$\sigma^2_{b\times f}$** – komponenta varijance efekta interakcije familija unutar blokova.
*značajnost na nivou 0,01-0,05; **značajnost na nivou 0,0001-0,01; ***značajnost na nivou <0,0001.

Familijske nasljednosti bile su niske (<0,5), no koeficijenti aditivne genetske varijacije su bili nešto viši, naročito kod populacija HR 16 i HR 203 (tablica 38).

Tablica 38. Postoci komponente varijance, familijska (h_f^2) nasljednost, koeficijent aditivne genetske varijacije (CV_A) za svojstvo preživljenja u dobi od 6 godina u pokusnom nasadu Jastrebarsko.

Populacije	Komponente varijance (%)			h_f^2 (2012)	CV_A (%) (2012)
	σ^2_b	σ^2_f	$\sigma^2_{b\times f}$		
HR 12	0,02 ± 5,11	0,00 ± 0,00	1,07 ± 18,73	0,00 ± 0,00	0,00
HR 16	12,38 ± 15,89	17,73 ± 14,34	0,00 ± 0,00	0,43 ± 0,10	21,85
HR 58	0,00 ± 0,00	6,04 ± 14,00	0,00 ± 0,00	0,16 ± 0,13	5,59
HR 88	6,13 ± 9,96	17,91 ± 15,18	0,00 ± 0,00	0,41 ± 0,10	18,01
HR 160	0,00 ± 0,00	21,44 ± 16,53	0,00 ± 0,00	0,45 ± 0,10	11,74
HR 163	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	3,02 ± 18,41	0,00 ± 0,00	0,00
HR 203	5,89 ± 10,21	8,55 ± 13,69	0,00 ± 0,00	0,23 ± 0,12	15,09
HR 317	9,87 ± 13,72	13,63 ± 13,98	0,00 ± 0,00	0,35 ± 0,11	11,95
HR 318	10,98 ± 15,46	0,12 ± 11,81	0,00 ± 20,40	0,00 ± 0,16	1,21
HR 330	6,03 ± 10,76	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00
HR 368	17,37 ± 21,50	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00
HR 387	17,46 ± 20,99	12,09 ± 12,74	0,00 ± 0,00	0,34 ± 0,11	10,04
HR 389	3,67 ± 8,24	6,21 ± 13,63	0,00 ± 0,00	0,17 ± 0,13	7,73
HR 577	9,43 ± 13,98	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00
HR 609	0,06 ± 5,07	2,25 ± 13,54	4,73 ± 22,41	0,06 ± 0,13	8,43
HR 627	2,28 ± 7,22	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00
HR AM	4,44 ± 9,12	3,10 ± 13,08	0,00 ± 0,00	0,09 ± 0,14	4,26

σ^2_b – komponenta varijance efekta bloka; **σ^2_f** – komponenta varijance efekta familija; **$\sigma^2_{b\times f}$** – komponenta varijance efekta interakcije familija unutar blokova.
*značajnost na nivou 0,01-0,05; **značajnost na nivou 0,0001-0,01; ***značajnost na nivou <0,0001.

U pokusnom nasadu Jastrebarsko vidljiv je porast nasljednosti i koeficijenata aditivne genetske varijacije s porastom dobi, međutim ne kod istih populacija. U dobi od 4 godine više vrijednosti navedenih parametara imale su populacije HR 12, HR 88 i HR 203, sljedeće godine populacije HR 16, HR 330, HR 609 i HR 389, te zadnje istraživane godine HR 16, HR 88, HR 203, HR 160 i HR 317 (usp. tablice 36, 37 i 38).

Kvantitativni genetički parametri koji opisuju razinu unutarpopulacijske genetske varijabilnosti za svojstvo preživljenja u dobi od 6 godina u pokusnom nasadu Koška prikazani su u tablici 39. Familijske nasljednosti bile su kod svih populacija manje od 0,5, osim kod populacije HR 368 (UŠP Sisak, Šumarija Sunja) čija je familijska nasljednost iznosila 0,50, te populacije HR 627 (UŠP Koprivnica, Šumarija Repaš) sa vrijednosti 0,55. Populacije HR 627 i HR 387 imale su viši CV_A parametar.

Tablica 39. Postoci komponenata varijance, familijska (h_f^2) nasljednost, koeficijent aditivne genetske varijacije (CV_A) za svojstvo preživljenja u dobi od 6 godina u pokusnom nasadu Koška.

Populacije	Komponente varijance (%)			h_f^2	CV_A (%)
	σ^2_b	σ^2_f	$\sigma^2_{b\times f}$		
HR 12	5,5 ± 9,8	10,1 ± 14,0	0,0 ± 0,0	0,15 ± 0,13	10,80
HR 16	0,0 ± 0,0	5,4 ± 13,9	0,0 ± 0,0	0,26 ± 0,12	6,10
HR 58	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	1,7 ± 18,4	0,00 ± 0,00	0,00
HR 88	16,5 ± 20,7	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,00 ± 0,00	0,00
HR 160	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	2,4 ± 18,4	0,00 ± 0,00	0,00
HR 163	41,5 ± 44,3	2,1 ± 8,0	0,0 ± 0,0	0,10 ± 0,14	6,00
HR 203	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	3,4 ± 18,4	0,00 ± 0,00	0,00
HR 317	0,0 ± 0,0	2,9 ± 13,5	0,0 ± 0,0	0,08 ± 0,14	3,30
HR 318	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	3,5 ± 18,4	0,00 ± 0,00	0,00
HR 330	6,1 ± 10,8	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,00 ± 0,00	0,00
HR 368	5,9 ± 9,4	23,2 ± 16,1	0,0 ± 0,0	0,50 ± 0,10	12,10
HR 387	3,5 ± 7,3	19,7 ± 15,8	0,0 ± 0,0	0,43 ± 0,10	22,10
HR 389	12,1 ± 16,5	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,00 ± 0,00	0,00
HR 577	15,3 ± 19,6	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,00 ± 0,00	0,00
HR 609	18,9 ± 22,9	2,2 ± 11,0	0,0 ± 0,0	0,08 ± 0,14	7,20
HR 627	11,2 ± 14,3	26,0 ± 16,0	0,0 ± 0,0	0,55 ± 0,10	25,10
HR AM	17,2 ± 21,4	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,00 ± 0,00	0,00

σ^2_b – komponenta varijance efekta bloka; σ^2_f – komponenta varijance efekta familija; $\sigma^2_{b\times f}$ – komponenta varijance efekta interakcije familija unutar blokova.
*značajnost na nivou 0,01-0,05; **značajnost na nivou 0,0001-0,01; ***značajnost na nivou <0,0001.

Statistička značajnost nije uočena niti za jedan ispitivani efekt u pokusnom nasadu Vrbanja. Familijske nasljednosti svih populacija bile su vrlo niske u rasponu od 0,00 do 0,36. Koeficijenti aditivne genetske varijacije bili su viši kod populacija HR 627, HR 160 i HR 16 (tablica 40).

Tablica 40. Postoci komponenata varijance, familijska (h_f^2) nasljednost, koeficijent aditivne genetske varijacije (CV_A) za svojstvo preživljenja u dobi od 6 godina u pokusnom nasadu Vrbanja.

Populacije	Komponente varijance (%)			h_f^2	CV_A (%)
	σ^2_b	σ^2_f	$\sigma^2_{b\times f}$		
HR 12	53,24 ± 55,49	1,83 ± 6,44	0,00 ± 0,00	0,11 ± 0,14	6,91
HR 16	29,12 ± 32,41	5,05 ± 10,10	0,00 ± 0,00	0,19 ± 0,13	13,02
HR 58	12,92 ± 17,30	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00
HR 88	0,32 ± 5,39	0,00 ± 0,00	4,42 ± 18,83	0,00 ± 0,00	0,00
HR 160	26,86 ± 29,94	11,65 ± 11,44	0,00 ± 0,00	0,36 ± 0,11	18,27
HR 163	57,98 ± 60,05	0,17 ± 5,59	0,00 ± 0,00	0,01 ± 0,16	3,30
HR 203	54,98 ± 57,16	0,99 ± 6,10	0,00 ± 0,00	0,06 ± 0,15	7,67
HR 317	0,00 ± 0,00	1,99 ± 13,41	4,04 ± 21,91	0,05 ± 0,13	6,83
HR 318	11,13 ± 15,60	0,00 ± 0,00	0,04 ± 16,64	0,00 ± 0,00	0,00
HR 330	10,50 ± 14,75	5,12 ± 12,57	0,00 ± 0,00	0,15 ± 0,13	7,21
HR 368	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	3,83 ± 18,41	0,00 ± 0,00	0,00
HR 387	21,92 ± 25,83	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00
HR 389	24,74 ± 28,50	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00
HR 577	41,66 ± 44,32	5,05 ± 8,45	0,00 ± 0,00	0,22 ± 0,12	12,85
HR 609	7,74 ± 12,38	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00
HR 627	41,60 ± 44,04	9,71 ± 9,20	0,00 ± 0,00	0,37 ± 0,11	24,01
HR AM	5,02 ± 9,80	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00

σ^2_b – komponenta varijance efekta bloka; **σ^2_f** – komponenta varijance efekta familija; **$\sigma^2_{b\times f}$** – komponenta varijance efekta interakcije familija unutar blokova.
*značajnost na nivou 0,01-0,05; **značajnost na nivou 0,0001-0,01; ***značajnost na nivou <0,0001.

Iako su nasljednosti za analizirane populacije hrasta lužnjaka u sva tri pokusna nasada bile općenito niske, izračunati CV_A parametri kod određenih populacija bili su relativno viši. Prilikom usporedbe vrijednosti parametara za iste populacije populacija ovisno o pokusnom nasadu, vidljivo je njihovo intenzivno variranje. Najveći CV_A u pokusnom nasadu Jastrebarsko imala je populacija HR 16 (UŠP Vinkovci, Šumarija Otok) – 21,85, u nasadu Koška populacija HR 627 (UŠP Koprivnica, Šumarija Repaš) – 25,10, dok se u pokusnom nasadu Vrbanja također istakla populacija HR 627 (24,01). Zanimljivo je istaknuti kako je CV_A u pokusnom nasadu Koška i Vrbanja bio relativno viši kod istih populacija (npr. HR 627 i HR 387) (usp. tablice 39 i 40).

3.2.4. Zimska retencija lišća

Tablice 41, 42 i 43 prikazuju komponente varijance i kvantitativne genetičke parametre za svojstvo zimske retencije lišća u pokusnom nasadu Jastrebarsko.

Statističku značajnost efekata familija za ovo svojstvo u dobi od 4 godine, pokazale su populacije HR: 88, 160, 317 i 577. Ostali istraživani izvori varijabilnosti nisu bili statistički značajni. Navedene populacije imale su i relativno višu razinu familijske nasljednosti (>0,5). Familijska nasljednost svih populacija kretala se u rasponu 0,00-0,72. Koeficijent aditivne genetske varijacije također je bio vrlo visok (HR: 160, 317, 16, 88 i 577 – tablica 41).

Tablica 41. Postoci komponenata varijance, familijska (h_f^2) nasljednost, koeficijent aditivne genetske varijacije (CV_A) za svojstvo zimske retencije lišća u dobi od 4 godine u pokusnom nasadu Jastrebarsko.

Populacije	Komponente varijance (%)			$h_f^{2\,(2010)}$	CV_A (%) (2010)
	σ^2_b	σ^2_f	$\sigma^2_{b\times f}$		
HR 12	0,00 ± 0,00	13,26 ± 15,13	0,00 ± 0,00	0,31 ± 0,11	61,05
HR 16	0,00 ± 0,00	20,52 ± 16,37	0,00 ± 0,00	0,44 ± 0,10	90,52
HR 58	2,29 ± 7,12	2,74 ± 13,31	7,06 ± 21,78	0,07 ± 0,12	25,08
HR 88	2,09 ± 5,15	37,59 ± 19,28*	0,00 ± 0,00	0,65 ± 0,09	86,81
HR 160	0,00 ± 0,00	46,09 ± 21,16*	0,00 ± 0,00	0,72 ± 0,09	130,11
HR 163	0,00 ± 0,00	2,44 ± 13,47	5,25 ± 21,81	0,06 ± 0,12	41,02
HR 203	12,44 ± 16,44	8,14 ± 12,77	0,00 ± 0,00	0,24 ± 0,12	70,17
HR 317	0,00 ± 0,00	39,67 ± 19,91*	0,00 ± 0,00	0,66 ± 0,09	132,00
HR 318	0,00 ± 0,00	13,20 ± 15,12	0,00 ± 0,00	0,31 ± 0,11	64,23
HR 330	0,00 ± 0,00	13,18 ± 15,12	0,00 ± 0,00	0,31 ± 0,11	60,89
HR 368	10,24 ± 14,56	4,00 ± 12,44	0,00 ± 0,00	0,12 ± 0,14	45,21
HR 387	1,86 ± 5,67	23,31 ± 16,67	0,00 ± 0,00	0,48 ± 0,10	56,54
HR 389	15,30 ± 19,55	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00
HR 577	0,00 ± 0,00	33,97 ± 18,81*	0,00 ± 0,00	0,61 ± 0,09	85,17
HR 609	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	9,63 ± 18,41	0,00 ± 0,00	0,00
HR 627	0,84 ± 5,88	0,00 ± 0,00	26,42 ± 18,57	0,00 ± 0,00	0,00
HR AM	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	8,13 ± 18,41	0,00 ± 0,00	0,00

σ^2_b – komponenta varijance efekta bloka; **σ^2_f** – komponenta varijance efekta familija; **$\sigma^2_{b\times f}$** – komponenta varijance efekta interakcije familija unutar blokova.
*značajnost na nivou 0,01-0,05; **značajnost na nivou 0,0001-0,01; ***značajnost na nivou <0,0001.

U dobi od 5 godina populacije HR 12, HR 160 i HR 317 pokazale su statističku značajnost samo za efekt familija, a njihova familijska nasljednost bila je umjerena za razliku od ostalih populacija koje su pokazale nisku ili vrlo nisku nasljednost. Izrazito visok CV_A parametar imale su populacije HR 317, HR 203, HR 609, HR 12 i HR 160 (tablica 42).

Tablica 42. Postoci komponenata varijance, familijska (h_f^2) nasljednost, koeficijent aditivne genetske varijacije (CV_A) za svojstvo zimske retencije lišća u dobi od 5 godina u pokusnom nasadu Jastrebarsko.

Populacije	Komponente varijance (%)			h_f^2 (2011)	CV_A (%) (2011)
	σ^2_b	σ^2_f	$\sigma^2_{b\times f}$		
HR 12	1,10 ± 3,99	42,10 ± 20,27*	0,00 ± 0,00	0,69 ± 0,09	96,47
HR 16	2,22 ± 7,17	0,00 ± 0,00	16,32 ± 18,32	0,00 ± 0,00	0,00
HR 58	0,00 ± 0,00	9,57 ± 14,55	0,00 ± 20,22	0,24 ± 0,15	41,98
HR 88	17,58 ± 21,13	11,66 ± 12,65	0,00 ± 0,00	0,33 ± 0,11	55,53
HR 160	0,00 ± 0,00	29,92 ± 18,06*	0,00 ± 0,00	0,56 ± 0,10	94,92
HR 163	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	8,37 ± 18,41	0,00 ± 0,00	0,00
HR 203	17,96 ± 21,07	19,96 ± 14,02	0,00 ± 0,00	0,49 ± 0,10	106,70
HR 317	1,41 ± 4,09	45,90 ± 20,97*	0,00 ± 0,00	0,72 ± 0,09	146,19
HR 318	0,00 ± 0,00	7,15 ± 14,17	0,00 ± 0,00	0,19 ± 0,12	46,16
HR 330	5,42 ± 9,73	12,30 ± 14,37	0,00 ± 0,00	0,31 ± 0,11	93,31
HR 368	0,00 ± 0,00	7,36 ± 14,20	0,00 ± 0,00	0,19 ± 0,12	60,35
HR 387	0,00 ± 0,00	25,91 ± 17,33	0,00 ± 0,00	0,51 ± 0,10	52,15
HR 389	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	26,49 ± 18,41	0,00 ± 0,00	0,00
HR 577	0,00 ± 0,00	5,19 ± 13,87	12,71 ± 21,20	0,11 ± 0,10	31,07
HR 609	0,00 ± 0,00	23,05 ± 16,80	0,00 ± 0,00	0,47 ± 0,10	100,86
HR 627	1,67 ± 6,65	0,00 ± 0,00	27,92 ± 18,42	0,00 ± 0,00	0,00
HR AM	14,68 ± 18,96	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00

σ^2_b – komponenta varijance efekta bloka; **σ^2_f** – komponenta varijance efekta familija; **$\sigma^2_{b\times f}$** – komponenta varijance efekta interakcije familija unutar blokova.
*značajnost na nivou 0,01-0,05; **značajnost na nivou 0,0001-0,01; ***značajnost na nivou <0,0001.

U 2012. godini statističku značajnost efekta familija za svojstvo zimske retencije lišća imale su populacije HR: 12, 163, 317, 368 i 387. Istovremeno su njihove familijske nasljednosti bile umjereno visoke. Ostale populacije imale su nisku nasljednost. Koeficijent aditivne genetske varijacije (CV_A) za ovo svojstvo bio je visok kod populacija HR 317, HR 163, HR 368 i HR 203 (tablica 43).

Tablica 43. Postoci komponenata varijance, familijska (h_f^2) nasljednost, koeficijent aditivne genetske varijacije (CV_A) za svojstvo zimske retencije lišća u pokusnom nasadu Jastrebarsko u dobi od 6 godina.

Populacije	Komponente varijance (%)			$h_f^{2\,(2012)}$	CV_A (%) (2012)
	σ^2_b	σ^2_f	$\sigma^2_{b\times f}$		
HR 12	5,11±7,62	45,26±20,42*	0,00±0,00	0,73±0,09	62,69
HR 16	28,57±31,96	3,82±10,00	00,00±0,00	0,14±0,13	16,10
HR 58	0,00±0,00	14,57±15,35	0,00±0,00	0,34±0,11	36,67
HR 88	15,22±18,94	10,80±12,82	0,00±0,00	0,30±0,11	45,91
HR 160	0,00±0,00	12,76±15,05	10,82±19,51	0,26±0,10	33,99
HR 163	3,84±7,13	31,26±17,86*	0,00±0,00	0,59±0,09	96,41
HR 203	14,79±18,27	15,90±13,72	0,00±0,00	0,41±0,10	90,20
HR 317	3,88±5,71	59,71±23,48**	0,00±0,00	0,83±0,09	157,45
HR 318	17,84±21,70	5,37±11,64	0,00±0,00	0,17±0,13	34,46
HR 330	10,85±14,93	8,23±12,99	0,00±0,00	0,23±0,12	54,50
HR 368	0,25±3,40	38,36±19,66*	0,00±0,00	0,65±0,09	90,26
HR 387	0,45±3,47	40,38±20,02*	0,00±0,00	0,67±0,09	45,13
HR 389	2,27±6,90	6,69±13,89	13,82±20,89	0,14±0,09	12,17
HR 577	1,89±6,39	9,68±14,39	16,98±20,28	0,19±0,08	28,40
HR 609	0,00±0,00	9,30±14,50	6,74±20,42	0,21±0,11	65,00
HR 627	0,00±0,00	0,00±0,00	26,86±18,41	0,00±0,00	0,00
HR AM	0,80±5,84	0,00±0,00	23,44±18,58	0,00±0,00	0,00

σ^2_b – komponenta varijance efekta bloka; **σ^2_f** – komponenta varijance efekta familija; **$\sigma^2_{b\times f}$** – komponenta varijance efekta interakcije familija unutar blokova.
*značajnost na nivou 0,01-0,05; **značajnost na nivou 0,0001-0,01; ***značajnost na nivou <0,0001.

Može se uočiti kako se s povećanjem starosti biljaka povećao i broj populacija s statističkom značajnosti efekta familija kao i razina njegove značajnosti. Nasljednosti i koeficijenti aditivne genetske varijacije su iz godine u godinu rasli, međutim ne pravilno kod istih populacija. Također, CV_A parametar je za ovo svojstvo bio izrazito viši nego kod ostalih analiziranih svojstava.

3.2.5. Intenzitet zaraze hrastovom pepelnicom

Rezultati analiza varijance, izračunate nasljednosti i koeficijenti aditivne varijacije za svojstvo intenziteta zaraze hrastovom pepelnicom u pokusnom nasadu Jastrebarsko prikazani su tablicama 44 i 45.

Populacija HR 203 (UŠP Bjelovar, Šumarija Vrbovec) jedina je pokazala statističku značajnost efekta familija za ovo svojstvo, te je jedino za ovu populaciju familijska nasljednost bila umjereno visoka (0,63). CV_A parametri bili su relativno viši kod populacija HR 203, HR 160 i HR 577 (tablica 44).

Tablica 44. Postoci komponenata varijance, familijska (h_f^2) nasljednost, koeficijent aditivne genetske varijacije (CV_A) za svojstvo intenziteta zaraze hrastovom pepelnicom u dobi od 5 godina u pokusnom nasadu Jastrebarsko.

Populacije	Komponente varijance (%)			h_f^2 (2011)	CV_A (%) (2011)
	σ^2_b	σ^2_f	$\sigma^2_{b\times f}$		
HR 12	49,04 ± 51,59	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00
HR 16	11,01 ± 15,48	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00
HR 58	23,97 ± 27,49	5,93 ± 10,91	0,00 ± 0,00	0,02 ± 0,12	24,89
HR 88	45,71 ± 48,38	0,94 ± 7,32	0,00 ± 0,00	0,05 ± 0,15	10,70
HR 160	41,19 ± 43,39	14,73 ± 10,12	0,00 ± 0,00	0,50 ± 0,10	40,30
HR 163	5,21 ± 9,99	0,00 ± 0,00	25,77 ± 17,76	0,00 ± 0,00	0,00
HR 203	10,41 ± 13,28	32,44 ± 17,27*	0,00 ± 0,00	0,63 ± 0,09	58,88
HR 317	31,68 ± 34,67	8,67 ± 10,30	0,00 ± 0,00	0,30 ± 0,11	27,15
HR 318	35,17 ± 38,41	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00
HR 330	8,24 ± 12,86	0,00 ± 0,00	19,37 ± 17,19	0,00 ± 0,01	0,00
HR 368	24,78 ± 28,14	8,08 ± 11,14	0,00 ± 0,00	0,27 ± 0,12	26,94
HR 387	58,00 ± 59,94	3,18 ± 6,01	0,00 ± 0,00	0,20 ± 0,13	18,19
HR 389	26,19 ± 29,69	4,35 ± 10,39	0,00 ± 0,00	0,16 ± 0,13	17,94
HR 577	17,38 ± 20,84	13,72 ± 13,02	0,00 ± 0,00	0,37 ± 0,11	36,82
HR 609	10,56 ± 15,06	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00
HR 627	33,20 ± 36,37	3,12 ± 9,28	0,00 ± 0,00	0,13 ± 0,13	16,33
HR AM	45,54 ± 47,86	8,04 ± 8,42	0,00 ± 0,00	0,34 ± 0,11	27,70

σ^2_b – komponenta varijance efekta bloka; **σ^2_f** – komponenta varijance efekta familija; **$\sigma^2_{b\times f}$** – komponenta varijance efekta interakcije familija unutar blokova.
*značajnost na nivou 0,01-0,05; **značajnost na nivou 0,0001-0,01; ***značajnost na nivou <0,0001.

Statističku značajnost ispitivanih izvora varijabilnosti u dobi od 6 godina pokazale su dvije populacije, i to HR 609 (UŠP Buzet, Šumarija Buzet) za efekt familija, te HR 577 (UŠP Požega, Šumarija Požega) za efekt interakcije blok × familija. Nasljednost familija kod populacija HR 609 i HR AM bila je osrednja (0,58, odnosno 0,54). Koeficijent aditivne genetske varijacije bio je relativno nizak kod svih populacija, nešto viši kod HR 609 i HR 330 (tablica 45).

Tablica 45. Postoci komponenata varijance, familijska (h_f^2) nasljednost, koeficijent aditivne genetske varijacije (CV_A) za svojstvo intenziteta zaraze hrastovom pepelnicom u dobi od 6 godina u pokusnom nasadu Jastrebarsko.

Populacije	Komponente varijance (%)			$h_f^{2\,(2012)}$	CV_A (%) (2012)
	σ^2_b	σ^2_f	$\sigma^2_{b\times f}$		
HR 12	2,53 ± 7,46	0,00 ± 0,00	8,64 ± 18,25	0,00 ± 0,00	0,00
HR 16	14,04 ± 18,15	4,16 ± 11,96	0,00 ± 0,00	0,13 ± 0,13	9,22
HR 58	20,29 ± 23,78	10,24 ± 12,07	0,00 ± 0,00	0,31 ± 0,11	10,22
HR 88	16,42 ± 20,33	5,87 ± 11,90	0,00 ± 0,00	0,18 ± 0,13	9,37
HR 160	12,20 ± 16,61	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00
HR 163	3,58 ± 8,18	5,83 ± 13,59	15,37 ± 20,78	0,13 ± 0,09	7,06
HR 203	19,83 ± 23,09	15,28 ± 12,96	0,00 ± 0,00	0,41 ± 0,10	15,84
HR 317	8,58 ± 13,17	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00
HR 318	0,00 ± 0,00	0,02 ± 13,14	23,62 ± 22,36	0,00 ± 0,07	0,47
HR 330	5,06 ± 9,10	17,65 ± 15,39	20,95 ± 17,88	0,31 ± 0,08	24,28
HR 368	10,24 ± 14,56	4,00 ± 12,44	0,00 ± 0,00	0,12 ± 0,14	2,81
HR 387	7,23 ± 11,90	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00
HR 389	0,72 ± 5,76	0,00 ± 0,00	23,97 ± 18,60	0,00 ± 0,00	0,00
HR 577	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	32,87 ± 18,41*	0,00 ± 0,00	0,00
HR 609	5,75 ± 9,01	29,59 ± 17,31*	0,00 ± 0,00	0,58 ± 0,10	27,14
HR 627	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	21,99 ± 18,41	0,00 ± 0,00	0,00
HR AM	0,00 ± 0,00	28,11 ± 17,72	0,00 ± 0,00	0,54 ± 0,10	11,48

σ^2_b – komponenta varijance efekta bloka; σ^2_f – komponenta varijance efekta familija; $\sigma^2_{b\times f}$ – komponenta varijance efekta interakcije familija unutar blokova.
*značajnost na nivou 0,01-0,05; **značajnost na nivou 0,0001-0,01; ***značajnost na nivou <0,0001.

Ne može se uočiti povećanje nasljednosti kao niti CV_A parametara za svojstvo intenziteta zaraze hrastovom pepelnicom. Koeficijenti aditivne genetske varijacije bili su općenito niži 2012. nego 2011. godine.

3.2.6. Fenologija listanja

Većina populacija hrasta lužnjaka u pokusnom nasadu Jastrebarsko imala je statistički značajan efekt familija, a gotovo sve populacije imale su statistički značajan efekt interakcije blok × familija u dobi od 5 godina. Umjereno visoku razinu familijske nasljednosti pokazale su populacije HR: 160, 163, 318, 330, 368 i 577, a visoku populacije HR: 12, 16, 203 i AM. Raspon familijske nasljednosti kretao se od 0,00 (HR 389 i HR 609) do 0,90 (HR 203). CV_A parametri bili su vrlo niski kod svih populacija (tablica 46).

Tablica 46. Postoci komponenata varijance, familijska (h_f^2) nasljednost, koeficijent aditivne genetske varijacije (CV_A) za svojstvo početka listanja u dobi od 5 godina u pokusnom nasadu Jastrebarsko.

Populacije	Komponente varijance (%)			$h_f^{2\,(2011)}$	CV_A (%) (2011)
	σ^2_b	σ^2_f	$\sigma^2_{b\times f}$		
HR 12	5,65 ± 7,51	57,49 ± 22,81**	2,65 ± 8,76	0,80 ± 0,10	1,96
HR 16	8,70 ± 9,62	72,92 ± 25,68**	14,21 ± 4,22	0,82 ± 0,07	7,14
HR 58	8,00 ± 11,09	30,51 ± 17,21	41,66 ± 14,11**	0,39 ± 0,05	1,74
HR 88	9,26 ± 12,48	26,73 ± 16,34	23,93 ± 14,69	0,42 ± 0,07	1,32
HR 160	9,76 ± 11,35	58,51 ± 22,55**	26,18 ± 7,28***	0,68 ± 0,06	5,35
HR 163	0,00 ± 0,00	49,02 ± 21,75*	37,65 ± 11,40***	0,54 ± 0,05	3,13
HR 203	5,54 ± 6,19	81,48 ± 27,86**	6,85 ± 2,98*	0,90 ± 0,09	6,16
HR 317	45,03 ± 47,35	8,73 ± 8,59	37,67 ± 10,61***	0,18 ± 0,03	1,58
HR 318	4,87 ± 7,31	46,84 ± 20,75*	39,44 ± 11,08***	0,52 ± 0,05	3,62
HR 330	8,11 ± 10,18	50,60 ± 21,12**	32,55 ± 9,47***	0,59 ± 0,05	3,98
HR 368	4,68 ± 6,70	55,34 ± 22,49**	32,55 ± 9,47***	0,61 ± 0,05	4,36
HR 387	18,90 ± 22,73	4,78 ± 11,41	58,19 ± 17,51***	0,07 ± 0,03	0,77
HR 389	35,82 ± 39,03	0,00 ± 0,00	47,71 ± 12,02***	0,00 ± 0,00	0,00
HR 577	31,59 ± 33,08	38,51 ± 15,89**	16,46 ± 6,86**	0,65 ± 0,06	3,09
HR 609	40,67 ± 43,64	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00
HR 627	29,17 ± 31,87	17,07 ± 12,07	41,82 ± 12,33***	0,27 ± 0,04	1,83
HR AM	0,99 ± 1,90	81,09 ± 28,28	10,34 ± 4,11**	0,86 ± 0,08	5,06

σ^2_b – komponenta varijance efekta bloka; **σ^2_f** – komponenta varijance efekta familija; **$\sigma^2_{b\times f}$** – komponenta varijance efekta interakcije familija unutar blokova.
*značajnost na nivou 0,01-0,05; **značajnost na nivou 0,0001-0,01; ***značajnost na nivou <0,0001.

Efekti familija i interakcije blok × familija za većinu istraživanih populacija u dobi od 6 godina pokazali su statističku značajnost. Familijska nasljednost je kod većine populacija bila umjereno visoka (HR: 16, 58, 163, 203, 318, 330 i AM) odnosno visoka (HR: 160, 12 i 368). Koeficijenti aditivne genetske varijacije i za ovu analiziranu godinu bili su niski (tablica 47).

Tablica 47. Postoci komponenata varijance, familijska (h_f^2) nasljednost, koeficijent aditivne genetske varijacije (CV_A) za svojstvo početka listanja u dobi od 6 godina u pokusnom nasadu Jastrebarsko.

Populacije	Komponente varijance (%)			$h_f^{2\,(2012)}$	CV_A (%) (2012)
	σ^2_b	σ^2_f	$\sigma^2_{b\times f}$		
HR 12	12,83 ± 14,99	44,08 ± 19,25*	0,00 ± 0,00	0,75 ± 0,09	1,23
HR 16	0,22 ± 2,24	61,47 ± 24,29**	32,37 ± 9,10***	0,64 ± 0,06	4,73
HR 58	1,82 ± 4,88	37,97 ± 19,38*	0,19 ± 13,82	0,65 ± 0,12	1,02
HR 88	23,51 ± 27,59	0,69 ± 10,41	60,50 ± 10,41***	0,01 ± 0,02	0,31
HR 160	3,63 ± 5,35	62,32 ± 24,04**	14,94 ± 7,81*	0,75 ± 0,07	2,68
HR 163	2,31 ± 5,34	38,03 ± 19,34*	0,00 ± 0,00	0,66 ± 0,09	1,13
HR 203	3,93 ± 5,45	65,84 ± 24,74**	23,48 ± 6,94***	0,72 ± 0,06	4,78
HR 317	20,97 ± 24,96	1,47 ± 11,09	56,33 ± 18,10***	0,02 ± 0,03	0,36
HR 318	0,00 ± 0,00	46,45 ± 21,24*	25,22 ± 11,97*	0,57 ± 0,06	1,96
HR 330	0,00 ± 0,00	52,09 ± 22,39*	40,75 ± 10,94***	0,55 ± 0,05	4,08
HR 368	0,00 ± 0,00	54,47 ± 22,85**	0,00 ± 0,00	0,78 ± 0,09	2,21
HR 387	5,00 ± 8,87	18,48 ± 15,42	59,13 ± 17,55***	0,22 ± 0,03	1,42
HR 389	13,66 ± 17,97	0,72 ± 11,53	66,18 ± 19,64***	0,01 ± 0,02	0,26
HR 577	5,17 ± 8,95	19,89 ± 15,65	47,11 ± 17,19**	0,26 ± 0,04	1,07
HR 609	8,34 ± 12,39	12,57 ± 14,16	67,32 ± 18,38***	0,15 ± 0,03	1,50
HR 627	12,37 ± 16,77	0,00 ± 0,00	64,50 ± 16,42***	0,00 ± 0,00	0,00
HR AM	2,97 ± 4,87	59,38 ± 23,51**	13,59 ± 8,64	0,73 ± 0,08	2,49

σ^2_b – komponenta varijance efekta bloka; **σ^2_f** – komponenta varijance efekta familija; **$\sigma^2_{b\times f}$** – komponenta varijance efekta interakcije familija unutar blokova.
*značajnost na nivou 0,01-0,05; **značajnost na nivou 0,0001-0,01; ***značajnost na nivou <0,0001.

U dobi od sedam godina utvrđena je statistička značajnost efekta familija i efekta interakcije blok × familija kod gotovo svih populacija. Familijske nasljednosti bile su relativno visoke. Umjereno visoku razinu nasljednosti pokazale su populacije HR: 58, 163, 203, 317, 318, 368 i 577, dok je visoka nasljednost uočena kod populacija HR: 12, 16, 160, 330 i AM. CV_A vrijednosti su i kod ove dobi bili niski (tablica 48).

Tablica 48. Postoci komponenata varijance, familijska (h_f^2) nasljednost, koeficijent aditivne genetske varijacije (CV_A) za svojstvo početka listanja u dobi od 7 godina u pokusnom nasadu Jastrebarsko.

Populacije	Komponente varijance (%)			$h_f^{2\,(2013)}$	CV_A (%) (2013)
	σ^2_b	σ^2_f	$\sigma^2_{b\times f}$		
HR 12	22,26 ± 23,98	43,30 ± 17,97	0,00 ± 0,00	0,79 ± 0,09	2,25
HR 16	1,49 ± 1,96	89,00 ± 29,91**	5,22 ± 2,18**	0,93 ± 0,09	7,25
HR 58	0,00 ± 0,00	46,36 ± 21,22*	0,00 ± 0,00	0,72 ± 0,09	1,61
HR 88	28,39 ± 32,09	0,00 ± 0,00	48,78 ± 13,53***	0,00 ± 0,00	0,00
HR 160	1,95 ± 2,99	77,34 ± 27,38**	9,55 ± 4,75*	0,85 ± 0,08	4,06
HR 163	5,99 ± 8,53	43,54 ± 19,96*	27,38 ± 11,58**	0,55 ± 0,06	1,97
HR 203	0,82 ± 2,49	68,51 ± 25,90**	24,69 ± 7,27***	0,72 ± 0,06	5,41
HR 317	10,13 ± 12,67	39,40 ± 18,64*	20,92 ± 11,58*	0,56 ± 0,07	1,63
HR 318	1,74 ± 3,84	56,77 ± 23,12**	14,30 ± 9,52	0,71 ± 0,08	2,34
HR 330	0,00 ± 0,00	73,48 ± 26,88**	19,07 ± 6,15**	0,77 ± 0,07	5,03
HR 368	2,98 ± 5,02	56,78 ± 22,98**	13,58 ± 9,23	0,72 ± 0,08	2,23
HR 387	1,34 ± 4,83	30,16 ± 17,97*	47,64 ± 15,71**	0,36 ± 0,04	1,68
HR 389	0,35 ± 5,07	7,46 ± 14,26	53,85 ± 21,15**	0,10 ± 0,04	0,53
HR 577	0,00 ± 0,00	39,63 ± 19,90*	26,35 ± 13,50*	0,51 ± 0,06	1,62
HR 609	0,00 ± 0,00	17,42 ± 16,01	62,73 ± 18,68***	0,20 ± 0,03	1,34
HR 627	7,06 ± 11,74	0,24 ± 12,34	65,69 ± 21,27**	0,00 ± 0,03	0,12
HR AM	0,00 ± 0,00	83,37 ± 28,87**	0,95 ± 3,72	0,93 ± 0,10	4,08

σ^2_b – komponenta varijance efekta bloka; **σ^2_f** – komponenta varijance efekta familija; **$\sigma^2_{b\times f}$** – komponenta varijance efekta interakcije familija unutar blokova.
*značajnost na nivou 0,01-0,05; **značajnost na nivou 0,0001-0,01; ***značajnost na nivou <0,0001.

Iz dobivenih rezultata kroz tri analizirane godine može se uočiti kako je svojstvo početka listanja pokazalo visoku razinu unutarpopulacijske genetske varijabilnosti kod istraživanih populacija. Nasljednost se pokazala visoka i umjerena kod istih populacija tokom cijelog analiziranog perioda (usp. tablice 46, 47 i 48). Međutim, koeficijenti aditivne genetske varijacije (CV_A) kroz sve tri godine bili su izrazito niski, i to najniži od svih ostalih analiziranih svojstava. Statistička značajnost efekta interakcije blok × familija ukazuje na određeni nivo plastičnosti većeg broja istraživanih populacija.

3.2.7. Oštećenost biljaka kasnim proljetnim mrazem

Za svojstvo oštećenosti biljaka kasnim proljetnim mrazem nije utvrđena statistička značajnost niti jednog efekta kod većine populacija, osim kod populacije HR 16 (UŠP Vinkovci, Šumarija Otok) za efekt familija. Jedino je kod ove populacije dobivena umjerena razina nasljednosti (0,66), dok su sve ostale populacije imale nisku ili vrlo nisku familijsku nasljednost (0,00-0,35). CV_A parametar bio je vrlo nizak kod svih populacija osim kod HR 16 (tablica 49).

Tablica 49. Postoci komponenata varijance, familijska (h_f^2) nasljednost, koeficijent aditivne genetske varijacije (CV_A) stupnja oštećenosti kasnim proljetnim mrazem u pokusnom nasadu Jastrebarsko u dobi od 5 godina.

Populacije	Komponente varijance (%)			$h_f^{2\,(2011)}$	CV_A (%) (2011)
	σ^2_b	σ^2_f	$\sigma^2_{b\times f}$		
HR 12	47,28 ± 49,90	0,27 ± 7,02	0,00 ± 0,00	0,02 ± 0,15	1,53
HR 16	49,25 ± 50,79	19,87 ± 10,07*	0,00 ± 0,00	0,66 ± 0,09	14,43
HR 58	34,31 ± 37,59	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00
HR 88	11,90 ± 16,33	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00
HR 160	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	2,62 ± 18,41	0,00 ± 0,00	0,00
HR 163	43,24 ± 45,84	4,69 ± 8,19	0,00 ± 0,00	0,21 ± 0,12	5,49
HR 203	39,43 ± 42,39	1,41 ± 8,21	0,00 ± 0,00	0,07 ± 0,15	3,10
HR 317	38,58 ± 41,17	9,47 ± 9,56	0,00 ± 0,00	0,35 ± 0,11	6,89
HR 318	1,41 ± 6,40	0,00 ± 0,00	1,64 ± 18,47	0,00 ± 0,00	0,00
HR 330	29,23 ± 32,78	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00
HR 368	27,73 ± 31,34	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00
HR 387	21,94 ± 25,85	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,01	0,00
HR 389	8,44 ± 12,83	4,46 ± 12,74	0,00 ± 0,00	0,13 ± 0,14	3,23
HR 577	39,51 ± 42,35	3,89 ± 8,56	0,00 ± 0,00	0,17 ± 0,13	3,97
HR 609	9,62 ± 13,49	13,57 ± 14,00	0,00 ± 0,00	0,35 ± 0,11	6,07
HR 627	35,34 ± 38,08	9,78 ± 10,03	0,00 ± 0,00	0,35 ± 0,11	4,59
HR AM	46,13 ± 48,78	1,04 ± 7,27	0,00 ± 0,00	0,06 ± 0,15	3,02

σ^2_b – komponenta varijance efekta bloka; σ^2_f – komponenta varijance efekta familija; $\sigma^2_{b\times f}$ – komponenta varijance efekta interakcije familija unutar blokova.
*značajnost na nivou 0,01-0,05; **značajnost na nivou 0,0001-0,01; ***značajnost na nivou <0,0001.

3.3. Razina kvantitativne genetske diferencijacije populacija

3.3.1. Visinski rast

U tablici 50 su prikazani rezultati analize varijance provedene zbirno za sve populacije prema ANOVA modelu 1 (v. poglavlje 2.4.2.) kao i parametri kvantitativne genetske diferencijacije za svojstvo visine u pokusnom nasadu Jastrebarsko u dobi od 4 do 6 godina.

Tablica 50. Ukupna srednja vrijednost svojstva, postoci komponenata varijance i parametar kvantitativne genetske diferencijacije (Q_{ST}) za svojstvo visine u pokusnom nasadu Jastrebarsko u dobi od 4 do 6 godina.

		Komponente varijance (%)					Q_{ST}
Svojstvo	**Sredina**	σ^2_b	σ^2_P	$\sigma^2_{f(P)}$	$\sigma^2_{b\times P}$	$\sigma^2_{b\times f}$	
visine 2010	162,3 ± 1,5	1,6 ± 1,8	2,3 ± 1,2*	0,7 ± 0,8	1,7 ± 0,7**	6,1 ± 1,4***	**0,354**
visine 2011	182,3 ± 2,2	3,3 ± 3,6	3,8 ± 2,0*	0,1 ± 0,8	3,9 ± 1,3**	7,0 ± 1,5***	**0,865**
visine 2012	209,6 ± 3,7	3,0 ± 3,4	5,2 ± 2,8*	2,1 ± 1,0*	5,8 ± 1,7***	6,3 ± 1,4***	**0,294**

σ^2_b – komponenta varijance efekta bloka; σ^2_P – komponenta varijance efekta populacija; $\sigma^2_{f(P)}$ – komponenta efekta familija unutar populacija; $\sigma^2_{b\times P}$ – komponenta varijance efekta interakcije populacija unutar blokova; σ^2_f – komponenta varijance efekta familija; $\sigma^2_{b\times f}$ – komponenta varijance efekta interakcije familija unutar blokova.
*značajnost na nivou 0,01-0,05;**značajnost na nivou 0,0001-0,01,***značajnost na nivou <0,0001.

U prve dvije godine (2010. i 2011.) utvrđene su statistički značajne razlike uzrokovane ispitivanim izvorima varijabilnosti, izuzev efekata blokova i familija unutar populacija, dok u 2012. godini samo efekt blokova nije bio statistički značajan. Vidljivo je kako je efekt populacija bio statistički značajan u sve tri analizirane godine, dok efekt familija (ugniježđen unutar populacija) nije bio statistički značajan. To znači da je utvrđena viša razina genetske varijabilnosti između populacija nego između familija unutar populacija. Statistička značajnost efekta populacija ukazuje na genetsku diferenciranost populacija. Efekti interakcije (interakcija blok × populacije, blok × familije unutar populacija) bili su statistički visoko značajni. Statistička značajnost efekta interakcije blok × populacija ukazuje na određeni nivo fenotipske plastičnosti analiziranih populacija. Izračunati koeficijenti kvantitativne genetske diferencijacije (Q_{ST}) također ukazuju na međupopulacijsku genetsku diferencijaciju, naročito kad se uzme u obzir da su značajno viši u usporedbi Nei-evim genetičkim udaljenostima izračunatim na temelju analiza neutralnih jezgrinih mikrosatelitnih biljega za hrvatske populacije hrasta lužnjaka koje daje KATIČIĆ BOGDAN (2012).

U tablici 51 prikazane su komponente varijance za analizirane izvore varijabilnosti, te kvantitativni genetički parametar koji opisuje razinu međupopulacijske diferencijacije istraživanih populacija u pokusnom nasadu Koška za svojstvo visine u dobi od 6 godina.

Efekt blokova nije bio statistički značajan, međutim efekt populacije jest. To, kao i dosta visok koeficijent genetske diferencijacije (Q_{ST}), upućuje na značajnu genetsku diferencijaciju populacija za ovo svojstvo i u tom pokusnom nasadu. Utvrđena statistička značajnost efekata interakcije blok × populacija i blok × familija ukazuje na određeni nivo fenotipske plastičnosti analiziranih populacija.

Tablica 51. Ukupna srednja vrijednost svojstva, postoci komponenata varijance i parametar kvantitativne genetske diferencijacije (Q_{ST}) za svojstvo visine u dobi od 6 godina u pokusnom nasadu Koška.

		Komponente varijance (%)					Q_{ST}
Svojstvo	**Sredina**	σ^2_b	σ^2_P	$\sigma^2_{f(P)}$	$\sigma^2_{b\times P}$	$\sigma^2_{b\times f}$	
visine 2012	137,8 ± 0,4	1,4 ± 1,5	4,1 ± 1,6**	2,1 ± 0,9*	1,1 ± 0,6*	7,4 ± 1,4***	**0,247**

σ^2_b – komponenta varijance efekta bloka; σ^2_P – komponenta varijance efekta populacija; $\sigma^2_{f(P)}$ – komponenta efekta familija unutar populacija; $\sigma^2_{b\times P}$ – komponenta varijance efekta interakcije populacija unutar blokova; σ^2_f – komponenta varijance efekta familija; $\sigma^2_{b\times f}$ – komponenta varijance efekta interakcije familija unutar blokova.
*značajnost na nivou 0,01-0,05; **značajnost na nivou 0,0001-0,01; ***značajnost na nivou <0,0001.

Parametar međupopulacijske genetske diferencijacije analiziranih populacija hrasta lužnjaka u pokusnom nasadu Vrbanja za svojstvo visine u dobi od 6 godina, kao i pripadajuće komponente varijance prikazani su u tablici 52.

Vrlo visoku statističku značajnost pokazao je efekt familija unutar populacija, a visoku značajnost pokazali su i efekti interakcije blok × populacija i blok × familija. Efekti blokova i populacija nisu bili statistički značajni, a i parametar genetske diferencijacije bio je znatno niži nego u ostala dva pokusna nasada. Dakle, u ovom pokusnom nasadu nije utvrđena međupopulacijska diferencijacija za svojstvo visine.

Tablica 52. Ukupna srednja vrijednost svojstva, postotci komponente varijance i parametar kvantitativne genetske diferencijacije (Q_{ST}) za svojstvo visine u dobi od 6 godina u pokusnom nasadu Vrbanja.

		Komponente varijance (%)					Q_{ST}
Svojstvo	**Sredina**	σ^2_b	σ^2_P	$\sigma^2_{f(P)}$	$\sigma^2_{b\times P}$	$\sigma^2_{b\times f}$	
visine 2012	102,6 ± 1,4	12,2 ± 12,5	0,5 ± 1,2	4,8 ± 1,1***	5,6 ± 1,7**	3,4 ± 1,3**	**0,018**

σ^2_b – komponenta varijance efekta bloka; σ^2_P – komponenta varijance efekta populacija; $\sigma^2_{f(P)}$ – komponenta efekta familija unutar populacija; $\sigma^2_{b\times P}$ – komponenta varijance efekta interakcije populacija unutar blokova; σ^2_f – komponenta varijance efekta familija; $\sigma^2_{b\times f}$ – komponenta varijance efekta interakcije familija unutar blokova.

*značajnost na nivou 0,01-0,05; **značajnost na nivou 0,0001-0,01; ***značajnost na nivou <0,0001.

3.3.2. Visinski prirast

Parametri kvantitativne genetske diferencijacije i rezultati analize varijance za svojstvo visinskog prirasta u pokusnom nasadu Jastrebarsko, u dobi od 4 do 6 godina prikazani su u tablici 53.

Analizom varijance za prirast između sukcesivnih godina (2010-2011, 2011-2012) utvrđene su statistički značajne razlike samo za efekte blok × populacije i blok × familije unutar populacija, što ukazuje na fenotipsku plastičnost populacija odnosno familija. Parametar kvantitativne genetske diferencijacije bio je vrlo visok, pogotovo za prirast 2010-2011 godine (0,977) (tablica 53). To jasno ukazuje na visoku razinu međupopulacijske diferencijacije za ovo svojstvo.

Tablica 53. Ukupna srednja vrijednost svojstva, postoci komponente varijance i parametar kvantitativne genetske diferencijacije (Q_{ST}) za svojstvo prirasta u dobi od 4 do 6 godina u pokusnom nasadu Jastrebarsko.

		Komponente varijance (%)					Q_{ST}
Svojstvo	**Sredina**	σ^2_b	σ^2_P	$\sigma^2_{f(P)}$	$\sigma^2_{b\times P}$	$\sigma^2_{b\times f}$	
prirast 2010-2011	20,2 ± 1,1	0,6 ± 0,8	0,9 ± 0,9	0,0 ± 0,8	2,6 ± 1,0**	4,3 ± 1,5**	**0,977**
prirast 2011-2012	28,5 ± 1,6	1,3 ± 1,5	2,2 ± 1,4	0,6 ± 0,9	3,2 ± 1,1**	4,1 ± 1,5**	**0,397**

σ^2_b – komponenta varijance efekta bloka; σ^2_P – komponenta varijance efekta populacija; $\sigma^2_{f(P)}$ – komponenta efekta familija unutar populacija; $\sigma^2_{b\times P}$ – komponenta varijance efekta interakcije populacija unutar blokova; σ^2_f – komponenta varijance efekta familija; $\sigma^2_{b\times f}$ – komponenta varijance efekta interakcije familija unutar blokova.

*značajnost na nivou 0,01-0,05; **značajnost na nivou 0,0001-0,01; ***značajnost na nivou <0,0001.

3.3.3. Preživljenje

U tablici 54 su prikazane vrijednosti komponenata varijance i parametara kvantitativne genetske diferencijacije za svojstvo preživljenja u pokusnom nasadu Jastrebarsko kroz tri uzastopne godine. U dobi od 4 godine, nakon 2 sezone rasta biljaka u terenskim uvjetima niti jedan analizirani efekt nije bio statistički značajan. U sljedećim analiziranim godinama efekt populacija bio je statistički značajan, što uz visoke koeficijente genetske diferencijacije ukazuje na međupopulacijsku genetsku diferencijaciju. Također se i interakcija blok × populacija pokazala kao statistički značajna.

Tablica 54. Ukupna srednja vrijednost svojstva, postoci komponente varijance i parametar kvantitativne genetske diferencijacije (Q_{ST}) za svojstvo preživljenja u dobi od 4 do 6 godina u pokusnom nasadu Jastrebarsko.

Svojstvo	Sredina	Komponente varijance (%)					Q_{ST}
		σ^2_b	σ^2_P	$\sigma^2_{f(P)}$	$\sigma^2_{b\times P}$	$\sigma^2_{b\times f}$	
preživljenje 2010	0,99 ± 0,00	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	1,2 ± 3,2	1,5 ± 1,3	0,0 ± 0,0	**0,000**
preživljenje 2011	0,89 ± 0,02	1,3 ± 2,0	14,4 ± 6,7*	0,7 ± 2,4	9,4 ± 3,3**	0,0 ± 0,0	**0,779**
preživljenje 2012	0,86 ± 0,02	0,0 ± 0,0	15,1 ± 6,5*	4,4 ± 2,7*	5,1 ± 2,2**	0,0 ± 0,0	**0,366**

σ^2_b – komponenta varijance efekta bloka; σ^2_P – komponenta varijance efekta populacija; $\sigma^2_{f(P)}$ – komponenta efekta familija unutar populacija; $\sigma^2_{b\times P}$ – komponenta varijance efekta interakcije populacija unutar blokova; σ^2_f – komponenta varijance efekta familija; $\sigma^2_{b\times f}$ – komponenta varijance efekta interakcije familija unutar blokova.
*značajnost na nivou 0,01-0,05; **značajnost na nivou 0,0001-0,01; ***značajnost na nivou <0,0001.

Tablica 55 prikazuje vrijednosti komponenata varijance i parametre kvantitativne genetske diferencijacije istraživanih populacija u pokusnom nasadu Koška za svojstvo preživljenja u dobi od 6 godina.

Statistička značajnost utvrđena je za efekte populacija, familija unutar populacija, te izrazito visoka značajnost efekata interakcije blok × populacija. Ovi rezultati ukazuju na značajnu razinu međupopulacijske genetske diferencijacije istraživanih populacija.

Tablica 55. Ukupna srednja vrijednost svojstva, postoci komponente varijance i parametar kvantitativne genetske diferencijacije (Q_{ST}) za svojstvo preživljenja u dobi od 6 godina u pokusnom nasadu Koška.

		Komponente varijance (%)					Q_{ST}
Svojstvo	**Sredina**	σ^2_b	σ^2_P	$\sigma^2_{f(P)}$	$\sigma^2_{b\times P}$	$\sigma^2_{b\times f}$	
preživljenje 2012	0,86 ± 0,01	0,0 ± 0,0	7,4 ± 3,8*	7,3 ± 2,6**	8,5 ± 2,6***	0,0 ± 0,0	**0,145**

σ^2_b – komponenta varijance efekta bloka; σ^2_P – komponenta varijance efekta populacija; $\sigma^2_{f(P)}$ – komponenta efekta familija unutar populacija; $\sigma^2_{b\times P}$ – komponenta varijance efekta interakcije populacija unutar blokova; σ^2_f – komponenta varijance efekta familija; $\sigma^2_{b\times f}$ – komponenta varijance efekta interakcije familija unutar blokova.

*značajnost na nivou 0,01-0,05; **značajnost na nivou 0,0001-0,01; ***značajnost na nivou <0,0001.

Populacije hrasta lužnjaka u pokusnom nasadu Vrbanja u dobi od 6 godina pokazale su statističku značajnost jedino za efekte interakcija blok × populacija i blok × familija, što ukazuje na njihovu plastičnost za ovo svojstvo. Parametar kvantitativne genetske diferencijacije iznosio je 0,000, što ukazuje kako u ovom testu nije utvrđena diferencijacija populacija (tablica 56).

Tablica 56. Ukupna srednja vrijednost svojstva, postoci komponente varijance i parametar kvantitativne genetske diferencijacije (Q_{ST}) za svojstvo preživljenja u dobi od 6 godina u pokusnom nasadu Vrbanja.

		Komponente varijance (%)					Q_{ST}
Svojstvo	**Sredina**	σ^2_b	σ^2_P	$\sigma^2_{f(P)}$	$\sigma^2_{b\times P}$	$\sigma^2_{b\times f}$	
preživljenje 2012	0,78 ± 0,01	5,0 ± 5,2	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,7	3,5 ± 1,0**	5,8 ± 1,3***	**0,000**

σ^2_b – komponenta varijance efekta bloka; σ^2_P – komponenta varijance efekta populacija; $\sigma^2_{f(P)}$ – komponenta efekta familija unutar populacija; $\sigma^2_{b\times P}$ – komponenta varijance efekta interakcije populacija unutar blokova; σ^2_f – komponenta varijance efekta familija; $\sigma^2_{b\times f}$ – komponenta varijance efekta interakcije familija unutar blokova.

*značajnost na nivou 0,01-0,05; **značajnost na nivou 0,0001-0,01; ***značajnost na nivou <0,0001.

3.3.4. Zimska retencija lišća

Za svojstvo zimske retencije lišća u dobi od 4 do 6 godina u pokusnom nasadu Jastrebarsko u tablici 57 prikazani su rezultati analize varijance i parametri razine kvantitativne genetske diferencijacije.

Efekt populacija pokazao se kao statistički značajan, uz visoko statistički značajan efekt familija za sve tri analizirane godine. Rezultati jasno ukazuju na međupopulacijsku diferencijaciju, uz ujednačene Q_{ST} vrijednosti tijekom tri uzastopne godine.

Tablica 57. Ukupna srednja vrijednost svojstva, postoci komponente varijance i parametar kvantitativne genetske diferencijacije (Q_{ST}) za svojstvo zimske retencije lišća u pokusnom nasadu Jastrebarsko tijekom tri uzastopne godine.

Svojstvo	Sredina	Komponente varijance (%)					Q_{ST}
		σ^2_b	σ^2_P	$\sigma^2_{f(P)}$	$\sigma^2_{b\times P}$	$\sigma^2_{b\times f}$	
zimska retencija lišća 2010	0,46 ± 0,08	0,0 ± 0,0	37,3 ± 13,8**	8,4 ± 2,3***	1,2 ± 0,9	0,0 ± 0,0	**0,425**
zimska retencija lišća 2011	0,51 ± 0,08	0,5 ± 0,7	36,0 ± 13,2**	8,6 ± 2,3***	0,2 ± 0,8	0,0 ± 0,0	**0,411**
zimska retencija lišća 2012	0,90 ± 0,13	0,1 ± 0,4	48,8 ± 17,9**	9,9 ± 1,9***	2,3 ± 1,1*	0,0 ± 0,0	**0,450**

σ^2_b – komponenta varijance efekta bloka; σ^2_P – komponenta varijance efekta populacija; $\sigma^2_{f(P)}$ – komponenta efekta familija unutar populacija; $\sigma^2_{b\times P}$ – komponenta varijance efekta interakcije populacija unutar blokova; σ^2_f – komponenta varijance efekta familija; $\sigma^2_{b\times f}$– komponenta varijance efekta interakcije familija unutar blokova.

*značajnost na nivou 0,01-0,05; **značajnost na nivou 0,0001-0,01; ***značajnost na nivou <0,0001.

3.3.5. Intenzitet zaraze hrastovom pepelnicom

Intenzitet zaraze hrastovom pepelnicom svojstvo je koje je istraživano tijekom 2011. i 2012. godine.

Statistička značajnost u obje godine utvrđena je za efekt interakcije blok × populacija (tablica 58). U dobi od 6 godina (2012.) utvrđena je i statistička značajnost efekata populacija i familija, što pokazuje kako su populacije genetski diferencirane za ovo svojstvo, kao i da je unutarpopulacijska raznolikost značajna.

Tablica 58. Ukupna srednja vrijednost svojstva, postoci komponente varijance i parametar kvantitativne genetske diferencijacije (Q_{ST}) za svojstvo intenziteta zaraze hrastovom pepelnicom u dobi od 5 i 6 godina u pokusnom nasadu Jastrebarsko.

Svojstvo	Sredina	Komponente varijance (%)					Q_{ST}
		σ^2_b	σ^2_P	$\sigma^2_{f(P)}$	$\sigma^2_{b\times P}$	$\sigma^2_{b\times f}$	
pepelnica 2011	1,40 ± 0,06	12,9 ± 14,1	2,4 ± 3,9	2,6 ± 2,2	18,2 ± 5,4***	0,0 ± 0,0	**0,134**
pepelnica 2012	3,19 ± 0,05	2,8 ± 3,3	8,8 ± 4,2*	7,5 ± 3,0**	4,1 ± 2,0*	0,0 ± 0,1	**0,165**

σ^2_b – komponenta varijance efekta bloka; σ^2_P – komponenta varijance efekta populacija; $\sigma^2_{f(P)}$ – komponenta efekta familija unutar populacija; $\sigma^2_{b\times P}$ – komponenta varijance efekta interakcije populacija unutar blokova; σ^2_f – komponenta varijance efekta familija; $\sigma^2_{b\times f}$– komponenta varijance efekta interakcije familija unutar blokova.

*značajnost na nivou 0,01-0,05; **značajnost na nivou 0,0001-0,01; ***značajnost na nivou <0,0001.

3.3.6. Fenologija listanja

Tablica 59 prikazuje postotke komponenata varijance za svojstvo početka listanja, njihovu statističku značajnost, te parametre koji opisuju razinu genetske diferencijacije. Svi istraživani izvori varijabilnosti bili su statistički značajni kroz cijelo analizirano razdoblje izuzev efekta blokova. Visoka statistička značajnost efekta populacija jasno ukazuje na genetsku diferencijaciju populacija. Izračunati parametri kvantitativne genetske diferencijacije također ukazuju na međupopulacijsku diferencijaciju, a može se primijetiti njihova ujednačenost tijekom tri analizirane godine.

Tablica 59. Ukupna srednja vrijednost svojstva, postoci komponente varijance i parametar kvantitativne genetske diferencijacije (Q_{ST}) za svojstvo početka listanja u dobi od 5 do 7 godina u pokusnom nasadu Jastrebarsko.

		Komponente varijance (%)					Q_{ST}
Svojstvo	**Sredina**	σ^2_b	σ^2_P	$\sigma^2_{f(P)}$	$\sigma^2_{b\times P}$	$\sigma^2_{b\times f}$	
fenologija 2011	107,0 ± 0,9	3,6 ± 3,8	58,4 ± 21,4**	20,7 ± 2,1***	1,9 ± 0,7**	11,1 ± 0,9***	**0,320**
fenologija 2012	114,2 ± 0,6	0,6 ± 0,8	57,7 ± 19,3**	19,6 ± 2,3***	1,8 ± 0,8**	16,4 ± 1,4***	**0,309**
fenologija 2013	111,4 ± 0,8	0,1 ± 0,2	63,0 ± 22,9**	23,1 ± 2,2***	1,1 ± 0,4**	6,9 ± 0,7***	**0,312**

σ^2_b – komponenta varijance efekta bloka; σ^2_P – komponenta varijance efekta populacija; $\sigma^2_{f(P)}$ – komponenta efekta familija unutar populacija; $\sigma^2_{b\times P}$ – komponenta varijance efekta interakcije populacija unutar blokova; σ^2_f – komponenta varijance efekta familija; $\sigma^2_{b\times f}$ – komponenta varijance efekta interakcije familija unutar blokova.
*značajnost na nivou 0,01-0,05; **značajnost na nivou 0,0001-0,01; ***značajnost na nivou <0,0001

3.3.7. Oštećenost biljaka kasnim proljetnim mrazem

Za svojstvo stupnja oštećenosti biljaka kasnim proljetnim mrazem u pokusnom nasadu Jastrebarsko, statistička značajnost utvrđena je za efekt familija unutar populacija, a visoka statistička značajnost za efekt interakcije blok × populacija. Parametar kvantitativne genetske diferencijacije bio je nizak, a efekt populacije nije bio statistički značajan (tablica 60).

Tablica 60. Ukupna srednja vrijednost svojstva, postoci komponente varijance i parametar kvantitativne genetske diferencijacije (Q_{ST}) za svojstvo stupnja oštećenosti kasnim proljetnim mrazem u dobi od 5 godina u pokusnom nasadu Jastrebarsko.

		Komponente varijance (%)					Q_{ST}
Svojstvo	**Sredina**	σ^2_b	σ^2_P	$\sigma^2_{f(P)}$	$\sigma^2_{b\times P}$	$\sigma^2_{b\times f}$	
mraz 2011	2,15 ± 0,02	19,9 ± 21,1	1,3 ± 3,2	3,6 ± 2,1*	16,5 ± 4,9***	0,0 ± 0,0	**0,055**

σ^2_b – komponenta varijance efekta bloka; σ^2_P – komponenta varijance efekta populacija; $\sigma^2_{f(P)}$ – komponenta efekta familija unutar populacija; $\sigma^2_{b\times P}$ – komponenta varijance efekta interakcije populacija unutar blokova; σ^2_f – komponenta varijance efekta familija; $\sigma^2_{b\times f}$ – komponenta varijance efekta interakcije familija unutar blokova.

*značajnost na nivou 0,01-0,05; **značajnost na nivou 0,0001-0,01; ***značajnost na nivou <0,0001.

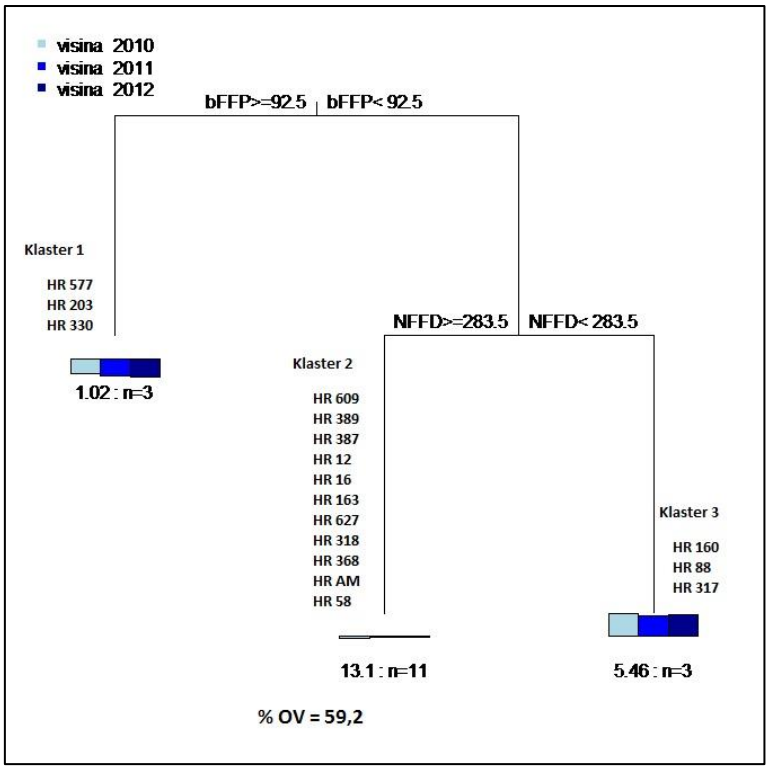
Vrijednosti parametara kvantitativne genetske diferencijacije (Q_{ST}) gotovo svih istraživanih svojstava bili su relativno visoki, i to značajno viši u usporedbi s Nei-vim genetičkim udaljenostima izračunatim na temelju neutralnih jezgrinih mikrosatelitnih biljega za hrvatske populacije hrasta lužnjaka koje je izvijestila KATIČIĆ BOGDAN (2012). To ukazuje na značajnu razinu genetskih razlika između istraživanih populacija za većinu analiziranih fenotipskih svojstava. Relativno niska vrijednost Q_{ST}-a utvrđena je samo za svojstvo stupnja oštećenosti biljaka kasnim proljetnim mrazem. Zimska retencija lišća, intenzitet zaraze hrastovom pepelnicom i fenologija proljetnog listanja su svojstva koja su imala ujednačen Q_{ST} kroz cijelo analizirano razdoblje, dok je kod ostalih svojstava ovaj parametar znatno varirao od godine do godine.

3.4. Obrazac međupopulacijske kvantitativne genetske diferencijacije

S obzirom da je za većinu analiziranih fenotipskih svojstava utvrđena relativno visoka razina međupopulacijskih genetskih razlika, pristupilo se daljnjim analizama s ciljem determinacije obrasca genetske diferencijacije.

3.4.1. Visinski rast

Slika 25 prikazuje razdvajanje populacija u tri klastera za svojstvo visine tokom tri uzastopne godine s obzirom na godišnje klimatske varijable matičnih sastojina iz kojih potječe potomstvo u genetičkim testovima. Prva razina razdiobe temelji se na razlikama u početku perioda bez mraza (varijabla *bFFP*), gdje su u prvi klaster izdvojene populacije HR 577 (UŠP Požega), HR 203 (UŠP Bjelovar) i HR 330 (UŠP Zagreb) kojima period bez mraza počinje u prosjeku kasnije nego ostalima, tj. na lokalitetima njihovih matičnih sastojina razdoblje bez proljetnih mrazeva nastupa prosječno kasnije. Ove populacije imale su nižu prosječnu visinu kroz sve tri godine u pokusnom nasadu Jastrebarsko (visine 2010 = 156,6 ± 1,1 cm; visine 2011 = 172,3 ± 2,8 cm; visine 2012 = 191,6 ± 3,3 cm). Ostale populacije su u sljedećoj razdiobi podijeljene na dva klastera (klaster 2 i 3), s obzirom na prosječan broj dana u godini bez mraza (varijabla *NFFD*). Staništa koja imaju prosječno manje od 283 dana u godini bez mraza, a istovremeno gdje kasni proljetni mrazevi nastupaju ranije su područja gdje i rani jesenski mrazevi nastupaju u prosjeku ranije. Populacije koje potječu iz takvih klimatskih prilika (klaster3) imale su više prosječne vrijednosti visina od ostalih grupa (visina 2010 = 171,3 ± 4,0 cm; visina 2011 = 194,5 ± 5,5 cm; visina 2012 = 230,7 ± 5,2 cm).

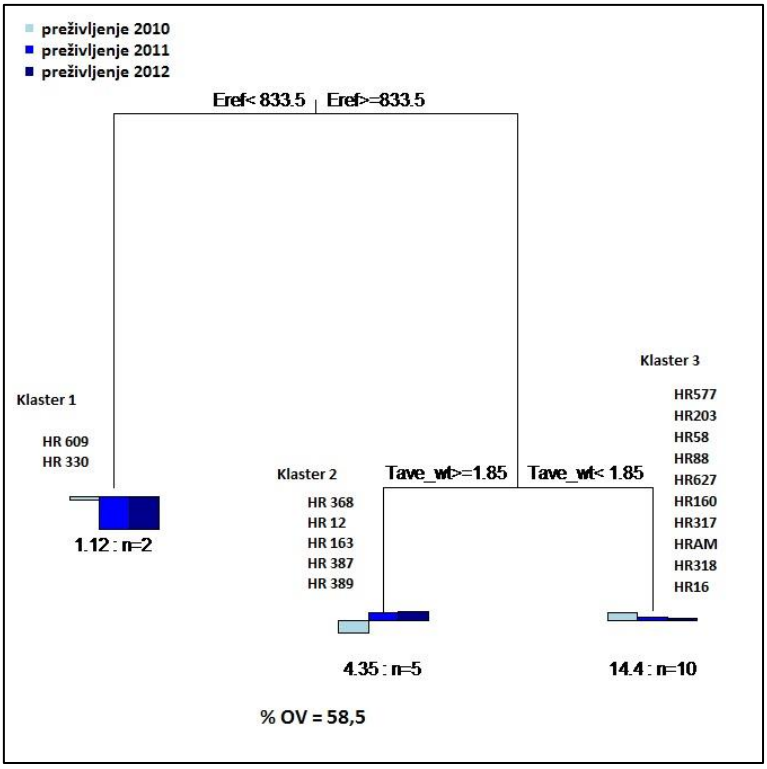


Slika 25. Razdvajanje analiziranih populacija multivarijatnom regresijskom stabalnom analizom za svojstvo visine u dobi od 4 do 6 godina u pokusnom nasadu Jastrebarsko; *bFFP* – dan u godini kada počinje period bez mraza; *NFFD* – prosječan broj dana u jednoj godini bez mraza. % OV – postotak (%) ukupno objašnjene varijabilnosti.

3.4.2. Preživljenje

Za svojstvo preživljenja populacije su razdvojene u tri klastera. Populacije su se prvo razdijeljene s obzirom na klimatsku varijablu nazvanu Hargreaves-ova referentna evaporacija (*Eref*), (slika 27). U prvi klaster izdvojene su dvije populacije koje potječu iz relativno najhumidnijih staništa (HR 609 UŠP Buzet i HR 330 UŠP Zagreb), a imale su niže prosječno preživljenje od ostalih populacija, posebice u 2011. i 2012. godini. U drugom koraku razdvajanja, populacije su razdijeljene s obzirom na prosječnu temperaturu u zimskom periodu i to na populacije (klaster2) čije matične sastojine imaju prosječnu zimsku temperaturu iznad 1,85 °C (relativno toplija staništa zimi), odnosno na populacije koje potječu iz relativno hladnijih staništa u zimi s prosječnim temperaturama ispod 1,85 °C (klaster 3). Obje grupe su imale iznad prosječno preživljenje, osim klastera 2 za 2010. godinu (0,98 ± 0,00). Preživljenje u 2010. godini bilo je izuzetno visoko kod svih populacija, stoga je zanimljivije obratiti pozornost na preživljenje u 2011. i 2012. godini, kada su se populacije počele izraženije razlikovati. S tim u svezi, može se uočiti (slika 26) da su prosječno najbolje

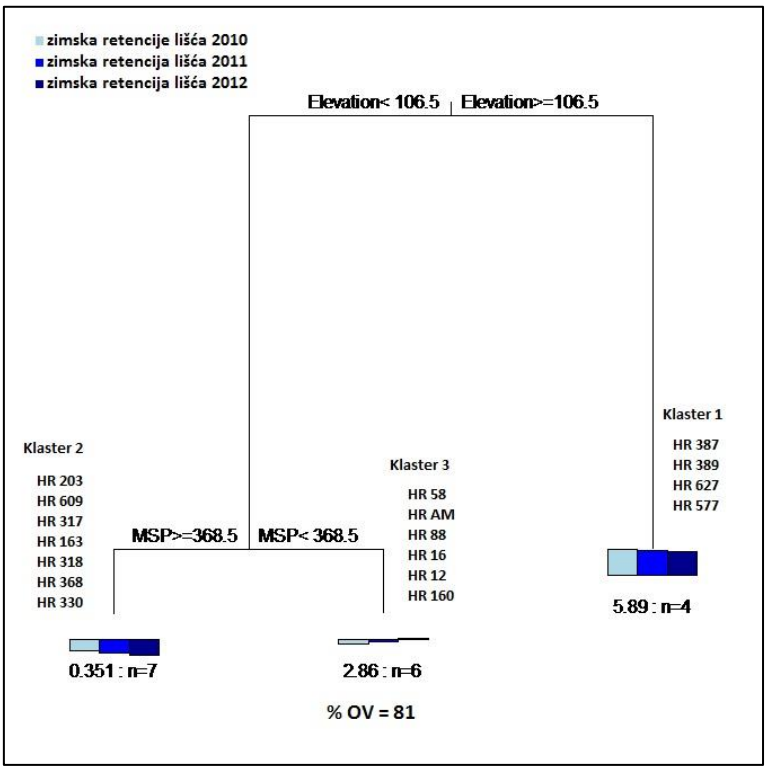
preživljenje ostvarile populacije koje potječu iz relativno suših, ali zimi relativno toplijih staništa (klaster 2), dok su najslabije preživljenje pokazale populacije koje potječu iz relativno vlažnijih staništa (klaster 1).



Slika 26. Razdvajanje analiziranih populacija multivarijatnom regresijskom stabalnom analizom za svojstvo preživljenja u pokusnom nasadu Jastrebarsko u dobi od 4 do 6 godina; *Eref* – Hargreaves-ova referentna evaporacija; *Tave_wt* – prosječna temperatura u zimi. % OV – postotak (%) ukupno objašnjene varijabilnosti.

3.4.3. Zimska retencija lišća

Nadmorska visina bila je prva varijabla razdiobe populacija za svojstvo zimske retencije lišća. Populacije koje potječu s viših nadmorskih visina (iznad 106,5 m – klaster 1) prosječno su zadržale više odumrlog lišća. S druge strane, populacije čije se matične sastojine nalaze na nižim n.v. grupirane su prema prosječnoj količini oborina tijekom ljetnog perioda (varijabla *MSP*). Populacije koje potječu sa staništa nižih nadmorskih visina i s većom količinom oborina u ljetnom razdoblju (klaster 2) u prosjeku su zadržale najmanje odumrlog lišća na granama (slika 27).

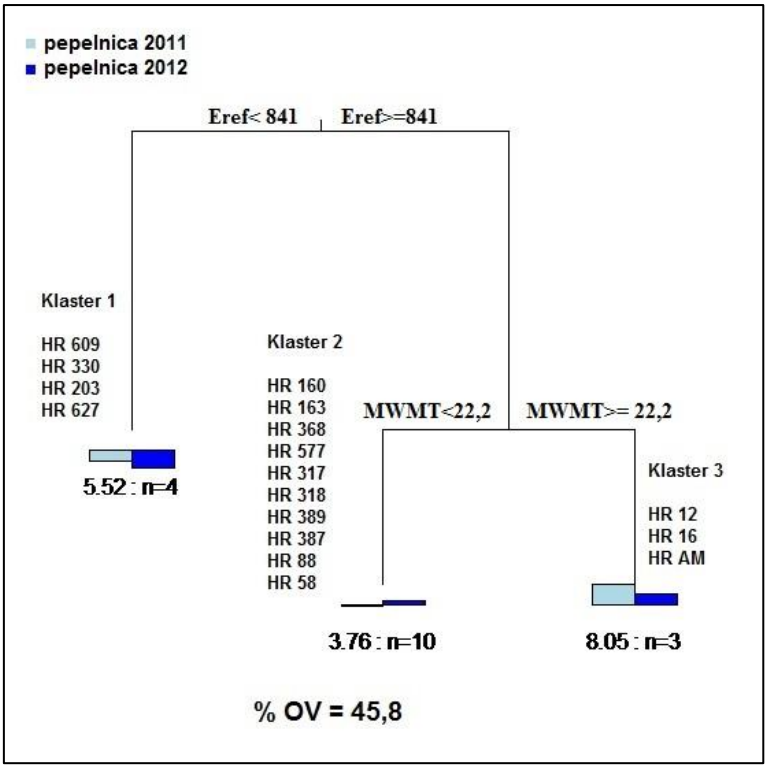


Slika 27. Razdvajanje analiziranih populacija multivarijatnom regresijskom stabalnom analizom za svojstvo zimske retencije lišća u dobi od 4 do 6 godina u pokusnom nasadu Jastrebarsko; *Elevation* – nadmorska visina (m); *MSP* – prosječna količina oborina tijekom ljetnog perioda (svibanj – rujan). % OV – postotak (%) ukupno objašnjene varijabilnosti.

3.4.4. Intenzitet zaraze hrastovom pepelnicom

Prva razdioba za svojstvo intenziteta zaraze hrastovom pepelnicom izdvojila je četiri populacije (klaster 1) s ispodprosječnim intenzitetom zaraze, a razdioba se temeljila na klimatskoj varijabli nazvanoj Hargreaves-ova referentna evaporacija (*Eref*). Ova varijabla ukazuje koliko je visoka potencijalna evaporacija nekog područja, a ovisi o intenzitetu solarne radijacije i temperature. To znači kako niže *Eref* vrijednosti upućuju na vlažnija staništa iz kojih potječu populacije (HR: 609, 330, 627 i 203) grupirane u klaster 1.

Populacije koje potječu iz relativno suših staništa (više vrijednosti *Eref*) su se nadalje razdvojile s obzirom na prosječnu temperaturu najtoplijeg mjeseca (varijabla MWMT, engl. *mean warmest month temperature*). Populacije HR 12, HR 16 i HR AM (UŠP Vinkovci) potječu sa staništa gdje je prosječna temperatura najtoplijeg mjeseca iznad 22,2 °C, što upućuje na relativno toplija staništa, potencijalno suša gdje se hrastova pepelnica vjerojatno ne razvija u značajnom intenzitetu. Ove su populacije (klaster 3) u pokusnom nasadu Jastrebarsko bile najintenzivnije zaražene pepelnicom (slika 28).



Slika 28. Razdvajanje analiziranih populacija multivarijatnom regresijskom stabalnom analizom za svojstvo intenziteta zaraze hrastovom pepelnicom u dobi od 4 do 6 godina u pokusnom nasadu Jastrebarsko; *Eref* – Hargreaves-ova referentna evaporacija; *MWMT* – prosječna temperatura najtoplijeg mjeseca. % OV – postotak (%) ukupno objašnjene varijabilnosti.

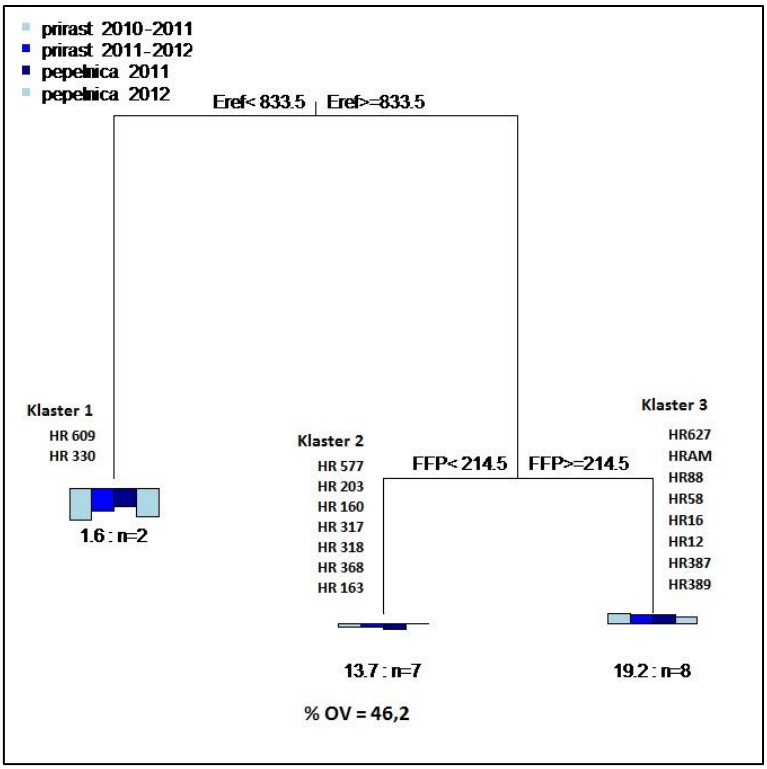
3.4.5. Odnos intenziteta zaraze hrastovom pepelnicom i prirasta

Promatrajući odnos svojstava intenziteta zaraze hrastovom pepelnicom i prirasta za obje istraživane godine uočava su kako su populacije (HR 609 i HR 330) iz relativno humidnijih staništa (niži *Eref*) imale niži intenzitet zaraze pepelnicom ali istovremeno i najmanji visinski prirast (slika 29). Iz poglavlja 3.1.6. uočava se kako te populacije i ranije listaju. To upućuje na vjerojatnost objašnjenja kako su populacije koje ranije završavaju proces listanja i stvaraju zrele listove, otpornije na zarazu pepelnicom, jer gljiva zarazu provodi najlakše na mladim još potpuno nerazvijenim listovima. GLAVAŠ (1999) piše kako pepelnica na površini lista razvije svoje vegetativno tijelo, a u stanice lista prodiru jedino sisaljke (haustoriji) kojima gljiva uzima potrebna hraniva iz lista. Infektivne hife ulaze u tkivo lista izravno probijajući kutikulu. Njihova je snaga takva da mogu probiti samo tanku kutikulu na mladom lišću, te zato one inficiraju list dok je još mlad. Uz to, moguće je i da u relativno vlažnijim staništima ova gljiva ima bolje okolišne uvjete za razvoj, a zbog toga i češće može „napadati" populacije hrasta lužnjaka koje rastu na takvim staništima. Zbog toga je prirodna selekcija mogla oblikovati genetsku kompoziciju na način da su populacije koje potječu s relativno vlažnijih staništa otpornije na infekciju pepelnicom.

Niži visinski prirast populacija koje potječu iz humidnijih područja (i time vjerojatno prilagođenijih na višu dostupnost vlage) vjerojatno je uzrokovan smanjenom vlažnošću na lokaciji pokusnog nasada u istraživanom razdoblju.

Iznadprosječan visinski prirast imale su populacije koje dolaze sa staništa koja su relativno suša i toplija odnosno gdje je period bez mraza duži (klaster 3). Istovremeno, iste su populacije imale i veći intenzitet zaraze pepelnicom. Iz ovoga se može zaključiti kako u analiziranom razdoblju intenzitet zaraze pepelnicom nije imao značajno negativan utjecaj na visinski prirast navedenih populacija.

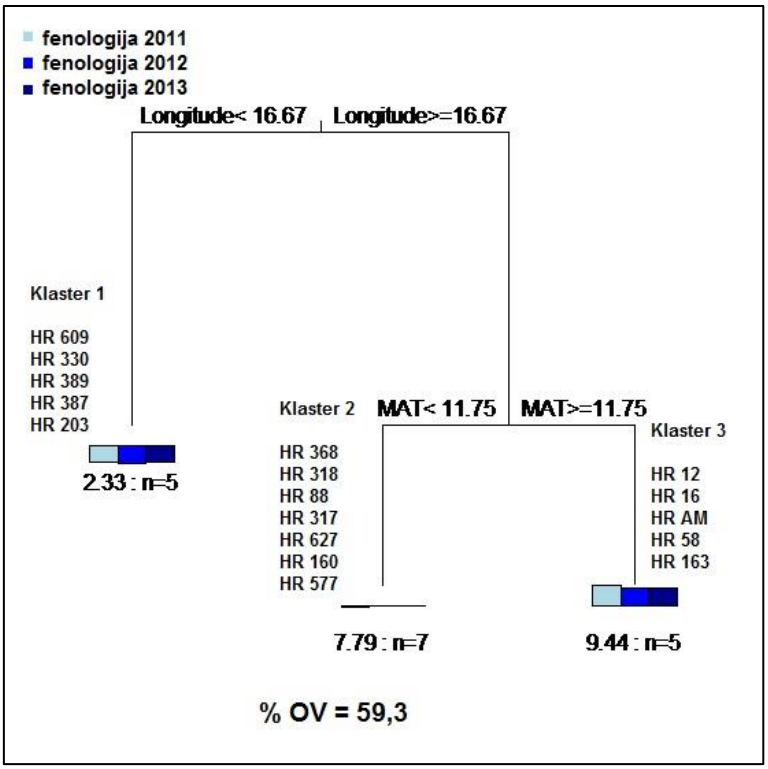
Potrebno je naglasiti kako su nasadi bili tretirani fungicidom radi sprječavanja zaraze pepelnicom, dva puta tijekom 2010. godine, te u svibnju 2011. i lipnju 2012. godine, što je najvjerojatnije razlog zašto pelenica nije značajno utjecala na visinski prirast populacija.



Slika 29. Razdvajanje analiziranih populacija multivarijatnom regresijskom stabalnom analizom odnosa za svojstava intenziteta zaraze hrastovom pepelnicom i visinskog prirasta u dobi od 5 godina u pokusnom nasadu Jastrebarsko; *Eref* – Hargreaves-ova referentna evaporacija; *FFP* – period bez mraza. % OV – postotak (%) ukupno objašnjene varijabilnosti.

3.4.6. Fenologija listanja

Zapadnije populacije (klaster 1 – HR 609 (UŠP Buzet), HR 389 i HR 387 (UŠP Karlovac), HR 330 (UŠP Zagreb) i HR 203 (UŠP Bjelovar)) pokazale su se kao ranije listajuće u odnosu na prosijek svih populacija u pokusnom nasadu. Najistočnije populacije HR 12, HR 16 i HR AM (UŠP Vinkovci), HR 58 (UŠP Osijek) i HR 163 (UŠP Nova Gradiška) imale su najkasniji početak listanja (klaster 3). Matična staništa potonjih populacija ujedno imaju prosječne godišnje temperature više od 11,75 °C, što upućuje na relativno toplija staništa njihovih matičnih sastojina. Može se pretpostaviti da im je zbog toga na hladnijem staništu nasada Jastrebarsko bio potreban duži period kako bi akumulirale dovoljno topline za početak listanja (slika 30).

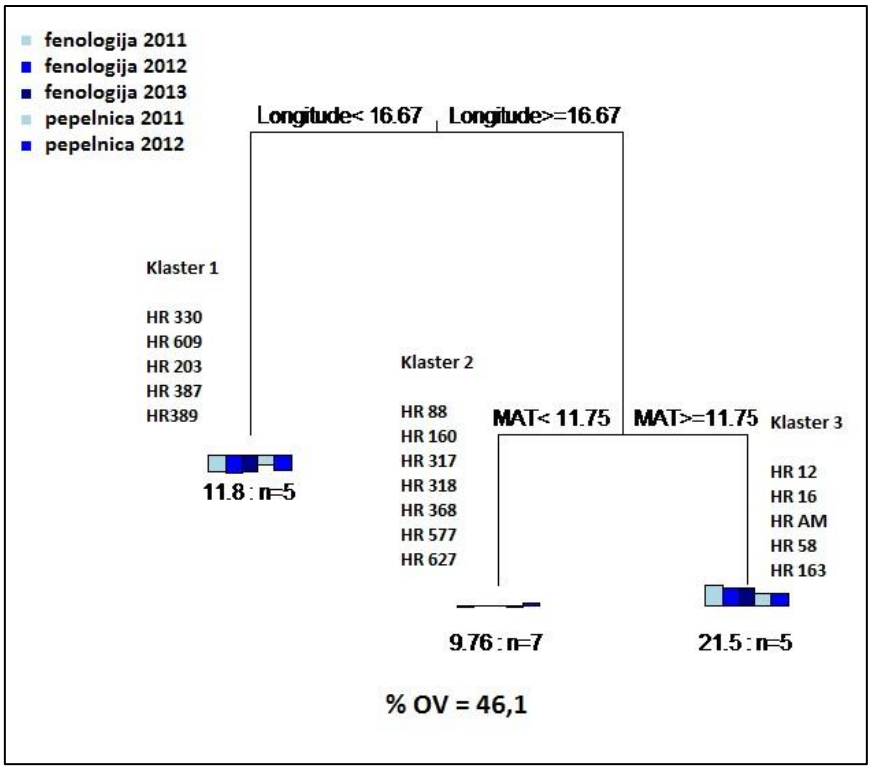


Slika 30. Klasteri analiziranih populacija dobiveni multivarijatnom regresijskom analizom za svojstvo listanja populacija hrasta lužnjaka u dobi od 5 do 7 godina u pokusnom nasadu Jastrebarsko; *Longitude* – geografska dužina; *MAT* – prosječna godišnja temperatura. % OV – postotak (%) ukupno objašnjene varijabilnosti.

3.4.7. Odnos fenologije listanja i intenziteta zaraze hrastovom pepelnicom

Populacije su se razdvojile s obzirom na geografsku dužinu i prosječnu godišnju temperaturu (slika 31). Klaster 3 čine populacije koje dolaze sa relativno toplijih staništa istočnijeg geografskog položaja. Ove su populacije imale iznadprosječan intenzitet zaraze pepelnicom, a ujedno su i kasnolistajuće. Populacije intermedijarnog listanja (kaster 2) imale su prosječan intenzitet zaraze pepelnicom, dok su ranolistajuće populacije (kaster 1) imale ispodprosječan intenzitet zaraze.

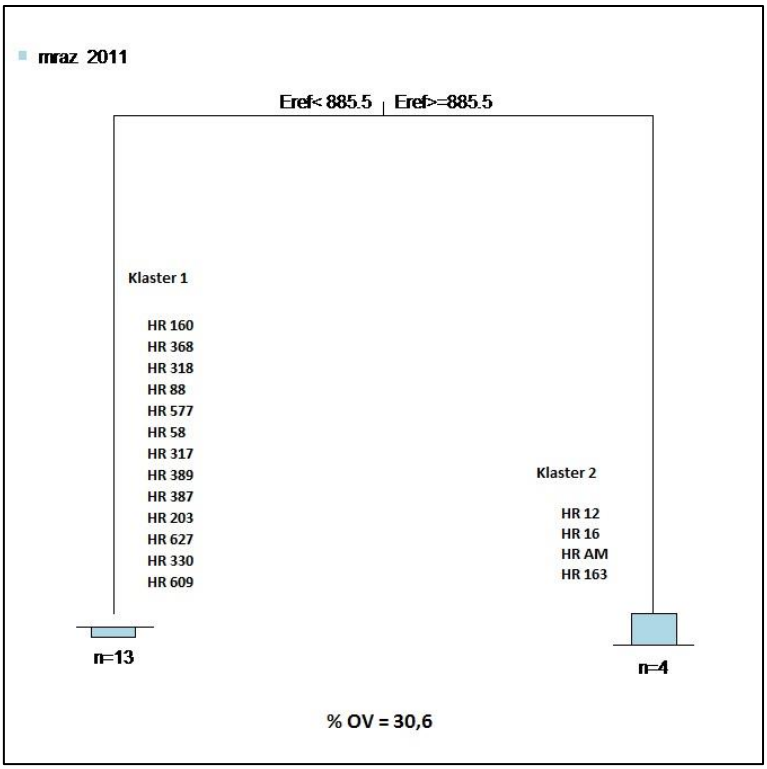
Iz ovoga se može zaključiti kako intenzitet zaraze pepelnicom ovisi o fenologiji listanja, odnosno o razvojnom stadiju lista u vrijeme kada su najpovoljniji uvjeti za razvoj pepelnice. Kako pepelnica preferira vlažno i toplo vrijeme, zaraza je najintezivnija u vrijeme kada razvoj lišća kasnolistajućih formi tek započinje, a prema GLAVAŠU (1999), pepelnica može izvršiti zarazu samo kroz tanku kutikulu mladog lista. Iako intenzitet zaraze ovisi o fenologiji listanja, iz poglavlja 3.4.5. možemo vidjeti kako pepelnica nije utjecala na razvoj i prirast biljaka u pokusnom nasadu Jastrebarsko.



Slika 31. Klasteri analiziranih populacija dobiveni multivarijatnom regresijskom analizom za svojstvo listanja i intenziteta zaraze hrastovom pepelnicom populacija hrasta lužnjaka u dobi od 5 do 7 godina u pokusnom nasadu Jastrebarsko; *Longitude* – geografska dužina; *MAT* – prosječna godišnja temperatura. % OV – postotak (%) ukupno objašnjene varijabilnosti.

3.4.8. Oštećenost biljaka kasnim proljetnim mrazem

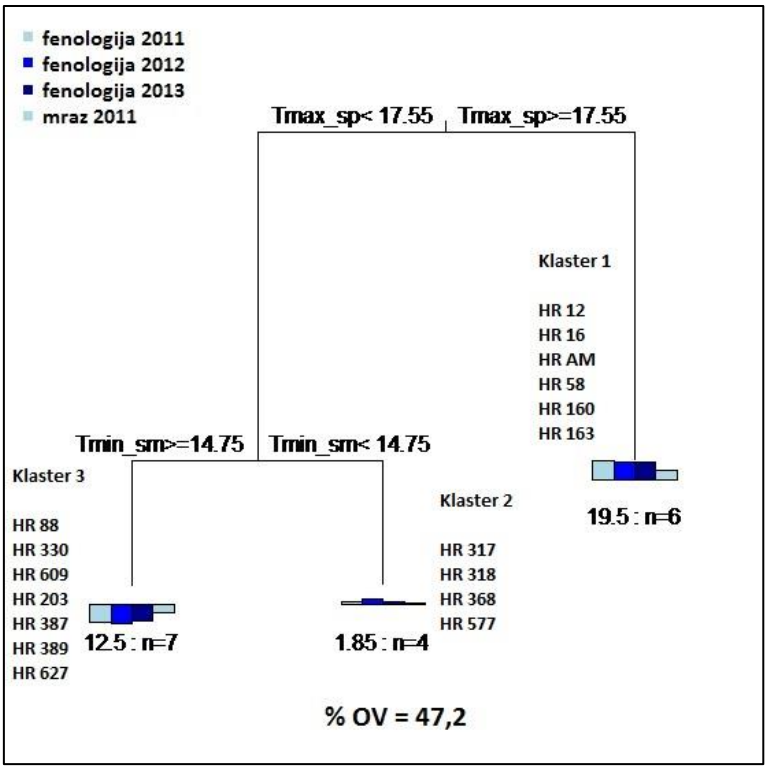
Glavna podjela populacija s obzirom na oštećenost biljaka kasnim proljetnim mrazem temeljila se na Hargreaves-ovoj referentnoj evaporaciji (*Eref*). Populacije HR 12, HR 16 i HR AM (UŠP Vinkovci) i HR 163 (UŠP Nova Gradiška) potječu sa staništa koje imaju više *Eref* vrijednosti, odnosno sa suših i toplijih staništa, te su ujedno imale veću oštećenost biljaka kasnim proljetnim mrazem (slika 32).



Slika 32. Razdvajanje analiziranih populacija multivarijatnom regresijskom stabalnom analizom za svojstvo intenziteta oštećenosti biljaka kasnim proljetnim mrazem u dobi od 5 godina u pokusnom nasadu Jastrebarsko; *Eref* – Hargreaves-ova referentna evaporacija. % OV – postotak (%) ukupno objašnjene varijabilnosti.

3.4.9. Odnos oštećenosti biljaka kasnim proljetnim mrazem i fenologije listanja

Analizirajući odnos fenologije i oštećenosti populacija kasnim proljetnim mrazem uočava se kako podjela populacija s obzirom na fenologiju listanja korespondira s oštećenjem od mraza (slika 33). To znači kako su ranije listajuće populacije (klaster 3) imale najnižu oštećenost mrazem, dok su kasno listajuće populacije (klaster 1) imale nadprosječnu oštećenost lisne mase. Potrebno je napomenuti kako je mraz pogodio područje pokusnog nasada u drugoj polovini svibnja 2011. godine tj. u vrijeme kada su upravo kasnije listajuće populacije bile u osjetljivijim (nižim) fazama listanja, dok su ranije listajuće populacije do tada već formirale potpuno razvijenu lisnu masu. Vidljivo je kako su populacije koje su kasnije započele sa listanjem i imale iznadprosječno oštećenje listova kasnim proljetnim mrazem, upravo one populacije koje potječu iz toplijih staništa u proljetnom razdoblju.



Slika 33. Razdvajanje analiziranih populacija multivarijatnom regresijskom stabalnom analizom za svojstva intenziteta oštećenosti biljaka kasnim proljetnim mrazem u dobi od 5 godina i početka listanja (dob 5 – 7 godina) u pokusnom nasadu Jastrebarsko; *Tmax_sp* – prosječna maksimalna temperatura u proljeće, *Tmin_sm* – prosječna minimalna temperatura ljeti. % OV – postotak (%) ukupno objašnjene varijabilnosti.

Uočava se kao su glavni okolišni razlikovni čimbenici za većinu istraživanih kvantitativnih fenotipskih svojstava humidnost, te temperatura, odnosno relativna toplina staništa iz kojih potječu populacije.

3.5. Interakcija genotip × okoliš

3.5.1. Visinski rast

Tablice 61 i 62 prikazuju rezultate analize varijance za svojstvo visine zbirno za sve pokusne nasade (Jastrebarsko, Koška, Vrbanja) u dobi od 6 godina.

Fiksni efekt nasada bio je statistički visoko značajan, kao i efekt blokova unutar nasada, što upućuje na vrlo veliki utjecaj raznolikih okolišnih uvjeta u kojima su rasle populacije (tablica 62). Od slučajnih izvora varijabilnosti efekt populacija nije bio statistički značajan. Statistički značajni su bili efekti familija te interakcije nasad × populacija i nasad × familija (tablica 61). Statistička značajnost efekata interakcije nasada s populacijama jasno ukazuje na značajnost interakcije genotip × okoliš tj. različito rangiranje istraživanih populacija s obzirom na svojstvo visinskog rasta u analiziranim pokusnim nasadima.

Tablica 61. Ukupna srednja vrijednost i postoci komponenta varijance za svojstvo visine u dobi od 6 godina na razini sva tri pokusna nasada.

		Komponente varijance (%)			
Svojstvo	**Sredina**	σ^2_P	$\sigma^2_{f(P)}$	$\sigma^2_{n\times P}$	$\sigma^2_{n\times f}$
visine 2012	152,0 ± 1,6	0,0 ± 0,0	2,1 ± 0,5***	6,0 ± 1,3***	2,3 ± 0,5***

σ^2_P – komponenta varijance efekta populacija; $\sigma^2_{f(P)}$ – komponenta varijance efekta familija unutar populacija; $\sigma^2_{n\times P}$ – komponenta varijance efekta interakcije populacija unutar nasada; $\sigma^2_{n\times f}$ – komponenta varijance efekta interakcije familija unutar nasada.

*značajnost na nivou 0,01-0,05; **značajnost na nivou 0,0001-0,01; ***značajnost na nivou <0,0001.

Tablica 62. Test 3 za fiksne izvore varijabilnosti.

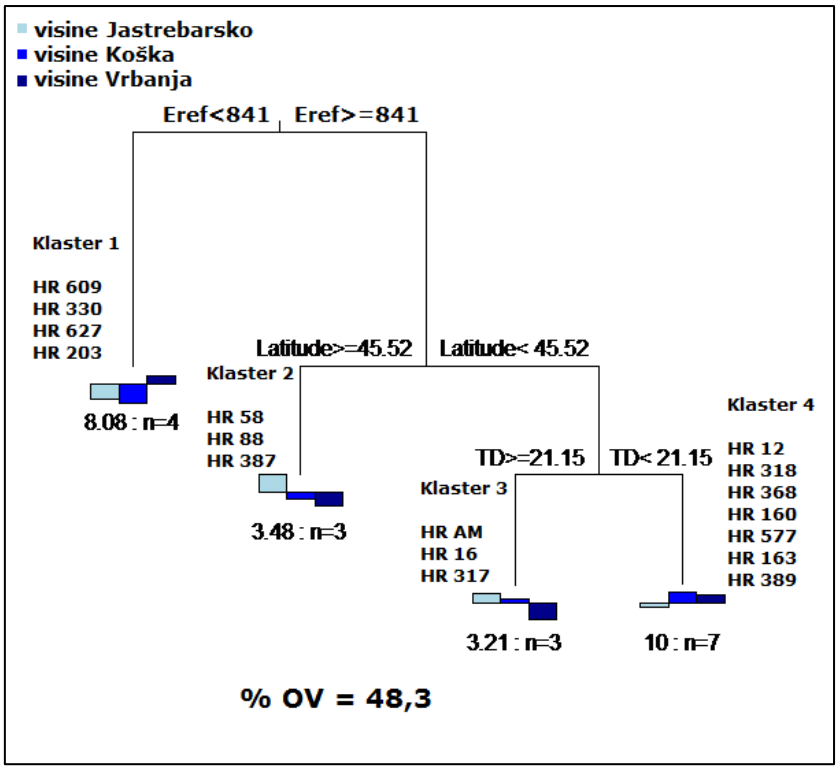
Test tipa 3 za fiksne efekte				
Efekt	Br.stupnjeva slobode	Den DF	Vrijednost F	Pr > F
nasad	2	46,9	485,18	<,0001
blok(nasad)	6	12000	74,89	<,0001

Slika 34 prikazuje razdvajanje populacija za svojstvo visine 2012. godine u sva tri pokusna nasada, dobiveno multivarijatnom stabalnom analizom. Kako je već objašnjeno razdvajanje se temelji na standardiziranim aritmetičkim sredinama populacija za izmjerene visine u 2012. godini. Populacije su najprije razdvojene s obzirom na klimatsku varijablu Hargreaves-ove referentne evaporacije – *Eref*. Populacije koje potječu iz relativno humidnijih staništa imale niže prosječne visine u nasadima Jastrebarsko i Koška, dok su istovremeno u nasadu Vrbanja bile iznadprosječnih visina. To se može objasniti razlikama u okolišnim

uvjetima pokusnih nasada u istraživanom razdoblju, ponajprije u nasadu Vrbanja gdje zaostaje poplavna voda, što je stvorilo humidnije i time povoljnije uvjete za rast populacija iz klastera 1 (HR: 609, 330, 627 i 203).

Populacije iz sjevernijih područja (HR: 58, 88 i 387) imale su nadprosječne vrijednosti za visinski rast u pokusnom nasadu Jastrebarsko, dok su u nasadima Koška i Vrbanja bile ispodprosječne. Zanimljivo je za istaknuti kako je lokalna populacija HR 88 u pokusnom nasadu Koška bila ispodprosječna za svojstvo visina i prosječna za svojstvo preživljenja.

U zadnjem koraku populacije su se razdvojile s obzirom na temperaturne razlike između najhladnijeg i najtoplijeg mjeseca. One populacije u čijim su matičnim sastojinama razlike između najtoplijeg i najhladnijeg mjeseca više, imale su nadprosječne visine u pokusnom nasadu Jastrebarsko. Populacije koje potječu iz staništa s manjim temperaturnim razlikama imale su nadprosječne visine u nasadima Koška i Vrbanja (HR: 12, 318, 368, 160, 577, 163 i 389).



Slika 34. Razdvajanje analiziranih populacija multivarijatnom regresijskom stabalnom analizom za svojstvo visine u tri pokusna testa u dobi od 6 godina; *Eref* – Hargreaves-ova referentna evaporacija, *Latitude* – geografska širina, *TD* – razlika u temperaturama između najhladnijeg i najtoplijeg mjeseca. % OV – postotak ukupno objašnjene varijabilnosti.

3.5.2. Preživljenje

Rezultati zbirne analize varijance za sve pokusne nasade (Jastrebarsko, Koška, Vrbanja), za svojstvo preživljenja u dobi od 6 godina prikazani su u tablicama 63 i 64.

Fiksni efekti (nasad i blok unutar nasada) bili su statistički visoko značajni, što upućuje na veliki utjecaj različitih okolišnih uvjeta nasada na preživljenje istraživanih populacija (tablica 64). Statistički značajan bio je slučajni efekt interakcije nasad × populacija, što jasno upućuje na značajnost interakcije genotip × okoliš i za svojstvo preživljenja.

Tablica 63. Ukupna srednja vrijednost i postotak komponenata varijance za svojstvo preživljenja u dobi od 6 godina, zbirno za sva tri pokusna nasada.

		Komponente varijance (%)			
Svojstvo	**Sredina**	σ^2_P	$\sigma^2_{f(P)}$	$\sigma^2_{n\times P}$	$\sigma^2_{n\times f}$
preživljenje 2012	0,8 ± 0,0	0,1 ± 1,5	0,9 ± 0,9	8,8 ± 2,6**	0,0 ± 0,0

σ^2_P – komponenta varijance efekta populacija; $\sigma^2_{f(P)}$ – komponenta varijance efekta familija unutar populacija; $\sigma^2_{n\times P}$ – komponenta varijance efekta interakcije populacija unutar nasada; $\sigma^2_{n\times f}$ – komponenta varijance efekta interakcije familija unutar nasada.

*značajnost na nivou 0,01-0,05; **značajnost na nivou 0,0001-0,01; ***značajnost na nivou <0,0001

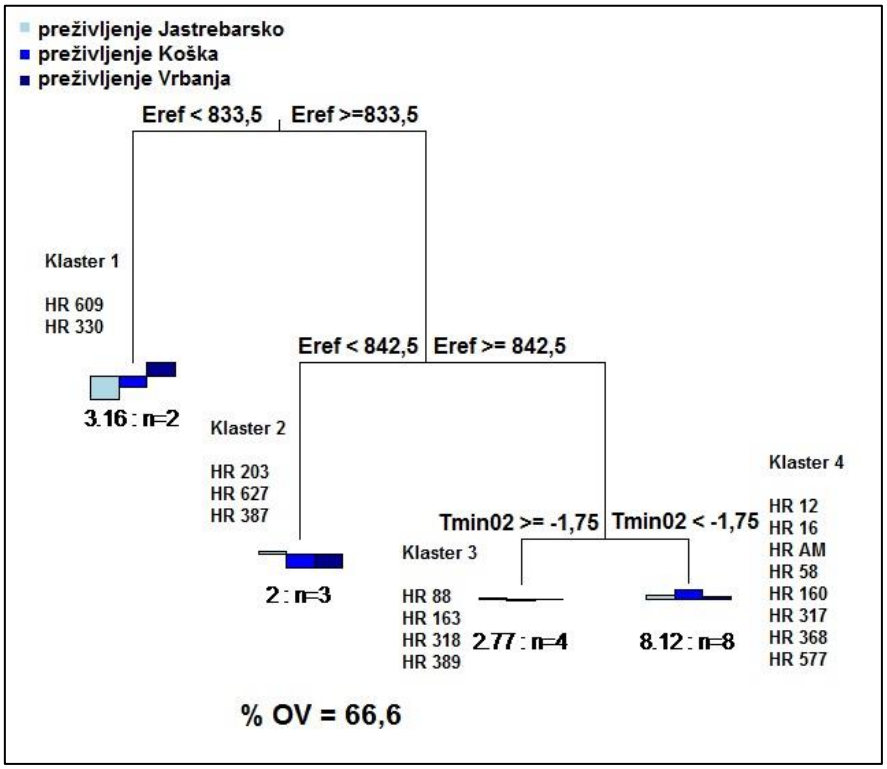
Tablica 64. Test 3 za fiksne izvore varijabilnosti.

Test tipa 3 za fiksne efekte				
Efekt	Br.stupnjeva slobode	Den DF	Vrijednost F	Pr > F
nasad	2	32	10,99	0,0002
blok(nasad)	6	2679	35,8	<,0001

Na temelju statističke značajnosti fiksnih izvora varijabilnosti (efekti nasada i blokova) za analizirana svojstva visine i preživljenja koji znatno variraju između nasada, može se pretpostaviti kako su na istraživane populacije veliki utjecaj imali raznovrsni okolišni čimbenici, odnosno različitost klimatskih uvjeta u analiziranom razdoblju u pokusnim nasadima.

Hargreaves-ova referentna evaporacija za svojstvo preživljenja razdvojila je populacije za tri razine (slika 35). Najprije su se razdvojile populacije koje potječu iz najhumidnijeg područja HR 609 i HR 330. U nasadima Jastrebarsko i Koška imale su ispodprosječno, dok su u nasadu Vrbanja imale nadprosječno preživljenje. Drugi klaster činile su populacije također iz relativno humidnih područja (HR: 203, 627 i 387), ali su u testovima Koška i Vrbanja pokazale ispodprosječne vrijednosti za svojstvo preživljenja, dok su u testu Jastrebarsko bile prosječne. Zadnje razdvajanje temelji se na prosječnoj minimalnoj temperaturi u veljači

(varijabla *Tmin02*). Populacije čije matične sastojine imaju prosječne temperature tijekom veljače ispod -1,75 °C potencijalno su hladnija staništa, i imale su nadprosječno preživljenje u sva tri nasada. Dok su populacije koje dolaze iz područja gdje su prosječne minimalne temperature tokom veljače iznad -1,75 °C, relativno toplija staništa, te je njihovo preživljenje bilo relativno prosječno (slika 35). Iz ovoga se može zaključiti kako su na preživljenje populacija utjecali humidnost nasada, odnosno odstupna količina vode (i količina padalina), te temperature nasada tokom zime (veljače).



Slika 35. Razdvajanje analiziranih populacija multivarijatnom regresijskom stabalnom analizom za svojstvo preživljenja u tri pokusna nasada u dobi od 6 godina; *Eref* – Hargreaves-ova referentna evaporacija, *Tmin02* – minimalna prosječna temperatura u veljači. % OV – postotak ukupno objašnjene varijabilnosti.

3.6. Statističke analize DNK biljega

3.6.1. Jezgrini mikrosatelitni biljezi

3.6.1.1. Deskriptivna statistika i nul-aleli

Tablica 65 prikazuje parametre genetske raznolikosti po analiziranim jezgrinim mikrosatelitnim lokusima. Analizom deset mikrosatelitnih lokusa ukupno je detektiran 251 alel. Najveći broj alela imao je biljeg ssrQrZAG30 (42), dok je najniži broj alela zabilježen kod ssrQpZAG9 (13). Prosječan broj alela iznosio je 25,10. Genetska ranolikost kretala se od 0,422 kod biljega ssrQrZAG96 do 0,946 kod biljega ssrQrZAG30, a prosječno je iznosila 0,826.

Tablica 65. Genetska raznolikost mikrosatelitnih lokusa zabilježena na uzorku 17 populacija hrasta lužnjaka (*Quercus robur* L.).

Biljeg	Ponavljajući motiv	Raspon dužina umnoženih ulomaka (pb)	N_a	H_E
ssrQrZAG7	$(TC)_{17}$	101-169	25	0,894
ssrQpZAG9	$(AG)_{12}$	181-205	13	0,872
ssrQrZAG11	$(TC)_{22}$	247-295	25	0,910
ssrQpZAG16	$(AG)_{21}$	143-181	20	0,880
ssrQrZAG30	$(GA)_{26}$	174-264	42	0,946
ssrQrZAG87	$(TC)_{20}$	104-154	24	0,882
ssrQrZAG96	$(TC)_{20}$	126-190	24	0,422
ssrQrZAG101	$(TC)_{20}(AC)_{15}$	121-165	20	0,873
ssrQrZAG112	$(GA)_{32}$	76-148	34	0,879
MSQ13	(TC)	200-278	24	0,706
Prosjek			25,10	0,826
Ukupno			251	

Na – ukupan broj alela, H_E – genska raznolikost (očekivana heterozigotnost).

Osnovni populacijski parametri koji opisuju unutarpopulacijsku raznolikost svih 17 populacija hrasta lužnjaka prikazani su u tablici 66.

Prosječan broj alela po lukusu u populacijama kretao se od 10,30 (HR 389) do 13,70 (HR AM). Ukupno je utvrđeno 44 jedinstvenih alela, a najveći broj imala je populacija HR 609 (10), dok populacije HR 330, HR 368 i HR 58 nisu imale jedinstvenih alela.

Zapažena heterozigotnost (H_O) kretala se 0,760 (HR 12) do 0,814 (HR 160), s prosječnom vrijednosti 0,782. Kod svih populacija vrijednosti očekivane heterozigotnosti (H_E) bile su više i kretale su se od 0,797 (HR 16) do 0,846 (HR 163) s prosječnom vrijednosti 0,828. Razlike između očekivane heterozigotnosti (H_E) i očekivane heterozigotnosti nakon

procjene nul-alela ($H_{E(null)}$) testirane su Wilcoxon-ovim testom i nisu bile signifikantne, te se može zaključiti kako nul-aleli nisu imali znatnog utjecaja na vrijednosti očekivane heterozigotnosti.

Multilokusnim testom utvrđeno je signifikantno odstupanje od Hardy-Weinberg-ove ravnoteže kod sedam populacija (F_{IS}, $P_{(FIS)}$): HR 609, HR 387, HR 318, HR 163, HR 577, HR 88 i HR 12.

Tablica 66. Genetska raznolikost 17 istraživanih populacija hrasta lužnjaka (*Quercus robur* L.) na osnovu 10 jezgrinih mikrosatelitnih lokusa.

Populacija	n	*Nav*	*Npa*	H_O	H_E	$H_{E(null)}$	F_{IS}	$P_{(FIS)}$
HR 609	20	11,90	10	0,782	0,839	0,840	0,067	***
HR 389	20	10,30	2	0,790	0,825	0,831	0,042	ns
HR 387	20	12,10	6	0,768	0,846	0,854	0,092	***
HR 330	20	10,70	0	0,785	0,809	0,817	0,029	ns
HR 203	20	11,50	3	0,785	0,812	0,816	0,033	ns
HR 317	20	12,20	1	0,785	0,817	0,822	0,040	ns
HR 368	20	11,80	0	0,790	0,827	0,833	0,045	ns
HR 318	20	11,80	1	0,770	0,840	0,847	0,084	**
HR 627	20	11,60	3	0,794	0,816	0,819	0,027	ns
HR 163	20	13,00	2	0,765	0,846	0,849	0,096	**
HR 577	20	13,00	2	0,760	0,831	0,840	0,086	**
HR 160	20	11,80	4	0,814	0,844	0,826	0,036	ns
HR 88	20	10,80	3	0,770	0,820	0,830	0,061	**
HR 58	20	11,90	0	0,785	0,839	0,855	0,064	ns
HR AM	20	13,70	4	0,807	0,836	0,846	0,035	ns
HR 12	20	13,10	2	0,760	0,838	0,849	0,093	***
HR 16	20	12,10	1	0,785	0,797	0,801	0,015	ns
Prosjek		11,96	2,59	0,782	0,828	0,834	0,056	

Nav – prosječan broj alela po lokusu za pojedinu populaciju, *Npa* – jedinstveni aleli, H_O – zapažena heterozigotnost, H_E – očekivana heterozigotnost, $H_{E(null)}$ – očekivana heterozigotnost nakon procjene učestalosti nul-alela, F_{IS} – fiksacijski indeks.
$P_{(FIS)}$ –signifikantnosti (Bonferroni): ns > 0,05; * značajnost na nivou 0,01-0,05; ** značajnost na nivou 0,01-0,001; *** značajnost na nivou < 0,001.

U ukupnom broju analiza (170) utvrđena je prisutnost nul-alela u 18 slučajeva (10,59 %) (tablica 67). Najviše nul-alela pronađeno je u populaciji HR 163 (3), dok u populacijama HR 330, HR 203, HR 627, HR AM i HR 16 nisu pronađeni. Ostale populacije posjeduju jedan ili dva nul-alela. Lokusi ssrQrZAG87, ssrQrZAG96 i MSQ13 imaju najveći broj nul-alela, četiri (4). Ostali lokusi imaju po jedan nul-alel, a ssrQrZAG7 i ssrQpZAG9 ne posjeduju nul-alele.

Tablica 67. Procjena učestalosti nul-alela (f_{null}) po lokusu i populaciji.

Populacija	Biljeg										Ukupno nul-alela
	ssrQr ZAG7	ssrQp ZAG9	ssrQr ZAG11	ssrQp ZAG16	ssrQr ZAG30	ssrQr ZAG87	ssrQr ZAG96	ssrQr ZAG101	ssrQr ZAG112	MSQ13	
HR 609	-	-	-	-	-	-	0.107	-	-	-	1
HR 389	-	-	-	0.085	-	-	-	-	-	-	1
HR 387	-	-	-	-	-	-	0.187	-	-	0.145	2
HR 330	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
HR 203	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
HR 317	-	-	-	-	-	0.086	-	-	-	-	1
HR 368	-	-	-	-	-	-	-	0.075	-	-	1
HR 318	-	-	0.070	-	-	0.083	-	-	-	-	2
HR 627	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
HR 163	-	-	0.065	-	0.043	-	-	-	0.055	-	3
HR 577	-	-	-	-	-	0.080	-	-	-	0.142	2
HR 160	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.141	1
HR 88	-	-	-	-	-	-	0.061	-	-	-	1
HR 58	-	-	-	-	-	-	0.124	-	-	0.144	2
HR AM	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
HR 12	-	-	-	-	-	0.155	-	-	-	-	1
HR 16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
Ukupno nul-alela	0	0	2	1	1	4	4	1	1	4	18

Lokusi kod kojih je utvrđeno postojanje nul-alela pomoću programa MICRO-CHECKER (VAN OOSTERHOUT i dr. 2004).

3.6.1.2. Genetička diferencijacija

Matrica vrijednosti indeksa genetičke diferencijacije (F_{ST}) i preinačenih vrijednosti indeksa genetičke diferencijacije između parova populacija s obzirom na prisutnost nul-alela ($F_{ST(null)}$) prikazani su u tablici 68.

Populacija HR 609 statistički se značajno razlikuje od svih populacija osim HR 163. Statistički se još od većeg broja populacija razlikuju i populacija HR 389 (od 12 populacija), HR 330 (od 11 populacija) i HR 387 (od 10 populacija). Ove populacije nalaze se na zapadnom dijelu rasprostranjenja hrasta lužnjaka u Hrvatskoj. Populacija HR 163 statistički se značajno razlikuje se jedino od populacije HR 627.

Najviša F_{ST} vrijednost zabilježena je između para populacija HR 609 i HR 16 (0,050) koja je ujedno bila i visoko statistički značajna na nivou >0,001. Kod nekih parova populacija F_{ST} vrijednost bila je jednaka nuli (tablica 68).

Prinačene vrijednosti indeksa genetičke diferencijacije između parova populacija koje isključuju učestalost nul-alela ($F_{ST(null)}$) kretale su se od 0,000 do 0,052. Razlike između vrijednosti F_{ST} i $F_{ST(null)}$ nisu bile značajne ($P_{Wilcoxon}$ = 0,214), te iz toga se može zaključiti

kako nul-aleli nisu imali znatnog utjecaja na vrijednsoti indeksa genetičke diferencijacije između populacija.

Tablica 68. Matrica vrijednosti indeksa genetičke diferencijacije F_{ST} i $F_{ST(null)}$ koji isključuju učestalost nul-alela.

Populacija	HR 609	HR 389	HR 387	HR 330	HR 203	HR 317	HR 368	HR 318	HR 627	HR 163	HR 577	HR 160	HR 88	HR 58	HR AM	HR 12	HR 16
HR 609		0.044	0.026	0.032	0.030	0.037	0.036	0.035	0.041	0.025	0.030	0.026	0.048	0.024	0.043	0.049	0.052
HR 389	0.046***		0.018	0.029	0.018	0.028	0.021	0.017	0.024	0.016	0.015	0.023	0.012	0.016	0.012	0.019	0.023
HR 387	0.026**	0.018**		0.023	0.022	0.030	0.020	0.019	0.020	0.011	0.017	0.011	0.031	0.015	0.015	0.026	0.036
HR 330	0.031**	0.030***	0.021*		0.018	0.025	0.018	0.017	0.025	0.005	0.016	0.020	0.037	0.012	0.021	0.022	0.029
HR 203	0.029**	0.018*	0.018	0.018**		0.007	0.005	0.005	0.002	0.006	0.003	0.014	0.018	0.010	0.012	0.014	0.012
HR 317	0.034***	0.029***	0.027**	0.024**	0.007		0.001	0.007	0.000	0.000	0.008	0.014	0.013	0.008	0.009	0.006	0.012
HR 368	0.036***	0.021**	0.017*	0.018*	0.005	0.000		0.002	0.000	0.000	0.005	0.007	0.018	0.000	0.003	0.008	0.015
HR 318	0.034***	0.016**	0.015*	0.016	0.005	0.007	0.002		0.000	0.000	0.007	0.007	0.003	0.005	0.002	0.008	0.004
HR 627	0.040***	0.025***	0.017	0.025***	0.003	0.000	0.000	0.000		0.000	0.005	0.006	0.014	0.008	0.008	0.015	0.010
HR 163	0.024	0.016	0.009	0.005	0.006	0.000	0.000	0.000	0.000		0.000	0.005	0.008	0.000	0.002	0.003	0.011
HR 577	0.029***	0.014	0.016	0.015**	0.003	0.007	0.005	0.007	0.004	0.000		0.011	0.014	0.005	0.008	0.005	0.010
HR 160	0.026**	0.024*	0.009	0.018	0.012	0.013	0.007	0.006	0.004	0.003	0.011		0.022	0.008	0.006	0.013	0.019
HR 88	0.048***	0.012	0.028***	0.037***	0.018***	0.012*	0.016	0.001	0.013*	0.007	0.012	0.018		0.013	0.015	0.016	0.011
HR 58	0.024**	0.016**	0.015*	0.011	0.008	0.005	0.000	0.003	0.005	0.000	0.004	0.005	0.011*		0.003	0.012	0.014
HR AM	0.043***	0.013	0.014	0.022**	0.012	0.009	0.002	0.001	0.008	0.002	0.008	0.005	0.014	0.002		0.004	0.006
HR 12	0.049***	0.020*	0.025**	0.022**	0.013	0.005	0.008	0.008	0.014	0.003	0.005	0.012	0.015	0.010	0.003		0.013
HR 16	0.050***	0.023***	0.031*	0.029***	0.012*	0.011	0.014	0.003	0.010	0.011	0.008	0.016	0.009	0.011	0.006	0.012	

Ispod dijagonale matrica vrijednosti F_{ST} između populacija, iznad dijegonale matrica vrijednosti $F_{ST(null)}$ između populacija na temelju preinačenih alelnih učestalosti.
* značajnost na nivou 0,05-0,01; ** značajnost na nivou 0,01-0,001, *** značajnost na nivou >0,001.

Prosječna vrijednost F_{ST} na razini svih populacija iznosi 0,014, a prosječni indeks genetičke diferencijacije pretpostavljajući model postupnih mutacija (R_{ST}) iznosi 0,015 (tablica 69). Vrijednost R_{ST} trebala bi biti jednaka vrijednosti F_{ST} ukoliko postupne mutacije nemaju značajnu ulogu u diferencijaciji populacija kada se usporede s utjecajem genetičkog drifta (pomaka) i migracijama. Ovdje vrijednost R_{ST} nije značajno viša od vrijednosti F_{ST}, što znači kako postupne mutacije nemaju značajnu ulogu u diferencijaciji populacija kada se usporede s utjecajem genetičkog drifta (pomaka) i migracijama.

Signifikantnost u razlikama vrijednosti R_{ST} i F_{ST} utvrđuje se neparametarski, pomoću permutacija alelnih duljina. Utvrđena *P* vrijednost je veća od 0,05 što znači kako prihvaćamo H_0 hipotezu, odnosno analizirani mikrosateliti ne slijede u potpunosti model postupnih mutacija.

Tablica 69. Prosječna vrijednost F_{ST} i R_{ST}.

Parametar	Vrijednost
F_{ST}	0,014
zapaženi R_{ST}	0,015
očekivani R_{ST} (= prosječni pR_{ST})	0,014
standardna devijacija pR_{ST}	0,006
95%-tni interval pouzdanosti pR_{ST}	0,003-0,028
P	0,412

F_{ST} – indeks genetske diferencijacije pretpostavljejući model beskonačnog broja alela (engl. *Infinite Allele Model* – IAM) (WEIR I COCKERHAM 1984).
zapaženi R_{ST} – indeks genetske diferencijacije pretpostavljejući model postupnih mutacija (engl. *Stepwise Mutation Model* – SMM) (SLATKIN 1995).
očekivani R_{ST} – prosječni pR_{ST} (prosječna vrijednsot R_{ST} na temelju 10,000 slučajnih permutacija alelnih duljina).
standardna devijacija pR_{ST} – standardna devijacija R_{ST} na temelju 10,000 slučajnih permutacija alelnih duljina.
P – signifikantnost testa alelnih permutacija; pri čemu je H_0: zapaženi R_{ST} = očekivani R_{ST}, a H_1: zapaženi R_{ST} > očekivani R_{ST}.

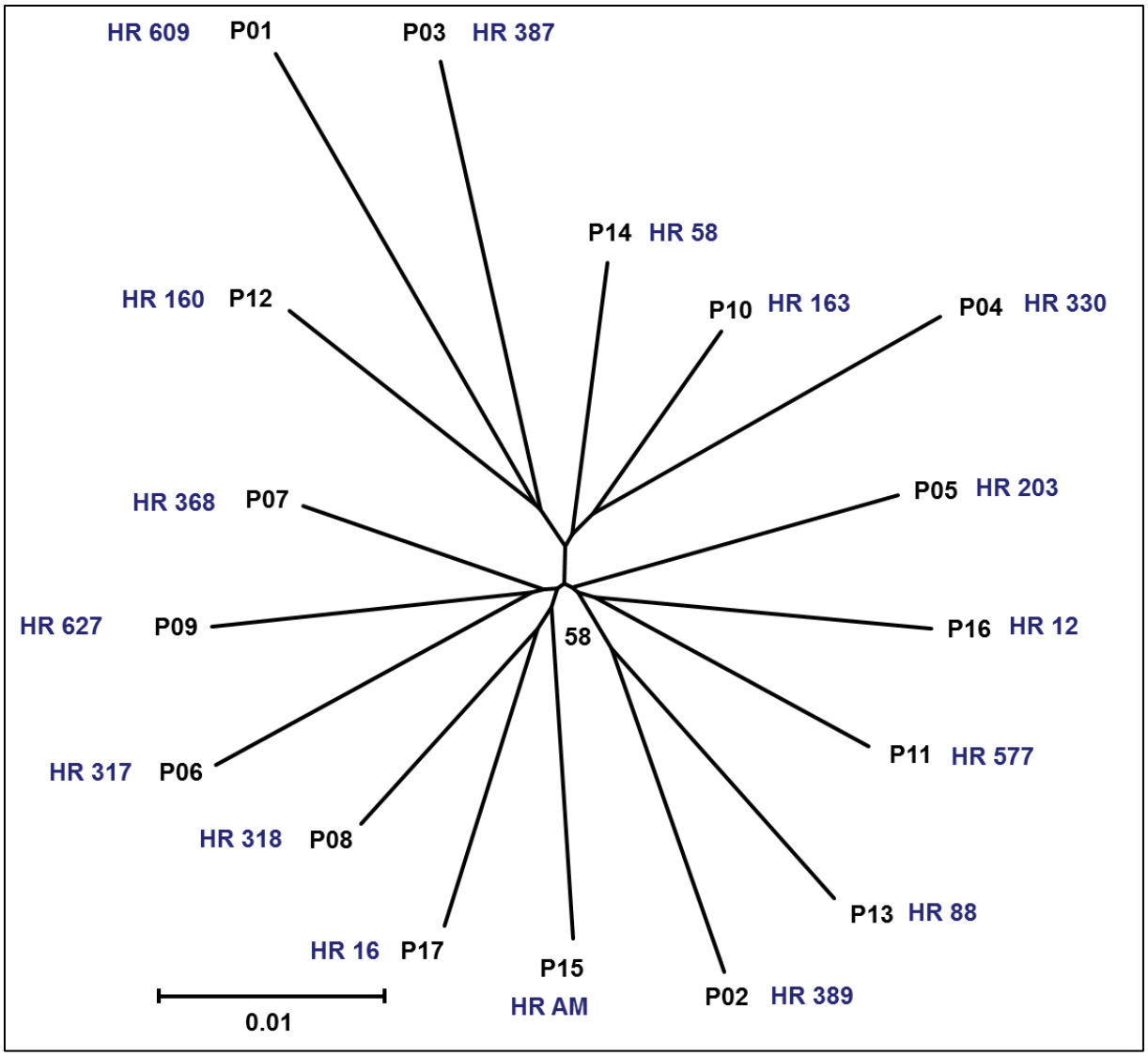
3.6.1.4. Mjerila genetičke udaljenosti i izrada stabla

Genetska udaljenost između populacija (D_{CHORD}) procjenjena je na temelju preinačene tetivne udaljenosti (engl. *chord distance*, CAVALLI-SFORZA I EDWARDS 1967, FELSENSTEIN 2004) (tablica 70). Prosječna vrijednost za sve parove populacija iznosila je 0,035, a kretala se od 0,023 između populacija HR 368 i HR 58, do 0,049 između populacija HR 609 i HR 16.

Tablica 70. Matrica genetske udaljenosti između populacija na temelju tetivne udaljenosti.

	HR 609	HR 389	HR 387	HR 330	HR 203	HR 317	HR 368	HR 318	HR 627	HR 163	HR 577	HR 160	HR 88	HR 58	HR AM	HR 12	HR 16
HR 609																	
HR 389	0.047																
HR 387	0.045	0.040															
HR 330	0.043	0.038	0.041														
HR 203	0.039	0.031	0.036	0.036													
HR 317	0.043	0.039	0.045	0.039	0.033												
HR 368	0.042	0.034	0.040	0.033	0.029	0.028											
HR 318	0.042	0.034	0.039	0.033	0.032	0.033	0.026										
HR 627	0.046	0.037	0.039	0.040	0.029	0.031	0.027	0.028									
HR 163	0.037	0.032	0.036	0.028	0.031	0.028	0.026	0.027	0.032								
HR 577	0.043	0.032	0.041	0.039	0.029	0.034	0.029	0.033	0.031	0.029							
HR 160	0.038	0.037	0.035	0.036	0.035	0.038	0.030	0.035	0.032	0.030	0.032						
HR 88	0.046	0.031	0.044	0.045	0.036	0.038	0.031	0.028	0.036	0.033	0.033	0.037					
HR 58	0.036	0.035	0.038	0.031	0.031	0.035	0.023	0.029	0.034	0.024	0.031	0.030	0.034				
HR AM	0.049	0.036	0.038	0.041	0.033	0.034	0.028	0.030	0.033	0.030	0.033	0.033	0.035	0.029			
HR 12	0.048	0.035	0.042	0.041	0.035	0.032	0.031	0.031	0.035	0.029	0.029	0.034	0.034	0.033	0.031		
HR 16	0.049	0.039	0.042	0.043	0.036	0.033	0.029	0.026	0.029	0.031	0.029	0.034	0.035	0.033	0.028	0.029	

Nezakorijenjeno stablo (slika 36) izrađeno je metodom po FITCH-u i MARGOLIASH-u koristeći genetičku udaljenost na temelju matrice tetivne udaljenosti, D_{CHORD} vrijednosti.



Slika 36. Nezakorijenjeno stablo izrađeno metodom FITCH i MARGOLIASH na temelju matrice tetivne vrijednosti između populacija. Vrijednosti *bootstrap* veće od 50 % dobivene na temelju 1.000 pseudoponavljanja označene su na pojedinim granama.

3.6.1.5. Genetičko usko grlo

Pretpostavka kako je populacija u nedavnoj prošlosti prošla kroz genetički usko grlo (engl. *genetic bottleneck*) temelji se na pojavi suviška očekivana heterozigotnost (H_E) u odnosu na očekivanu heterozigotnost populacije koja je u ravnoteži mutacija i potomaka (engl. *mutation-drift equilibrium*) (H_{EQ}). Ukoliko se pak dokaže nedostatak očekivane heterozigotnosti (H_E) u odnosu na očekivanu heterozigotnost populacije koja je u ravnoteži mutacija i pomaka (H_{EQ}), to upućuje kako se populacija nalazi u ekspanziji. Rezultati postojanja genetičkog uskog grla prikazani su u tablici 71.

Suvišak očekivane heterozigotnosti utvrđen je kod pet populacija (HR: 389, 203, 627, 163 i 160), ali pod pretpostavkom modela beskonačnog broja alela (IAM). Nedostatak heterozigotnosti statistički je signifikantan kod 10 populacija uzimajući u obzir model postupnih mutacija (SMM). Za neke populacije (HR: 389, 163, 160) dobiveni su suprotni rezultati ovisno o mutacijskom modelu (genetički usko grlo kod IAM i ekspanzija populacija kod SMM). Međutim, kako je ranije ustanovljeno kod analize R_{ST} kako model postupnih mutacija (SMM) nije dobar za opisivanje evolucije analiziranih biljega, na temelju ovih rezultata ne možemo tvrditi kako su populacije u ekspanziji.

Pretpostavka je kako je dvofazni model mutacija (TPM) najvjerojatniji model po kojem se odvija evolucija istraživanih populacija. Ovim modelom utvrđeno je kako se tri populacije nalaze u ekspanziji (HR: 609, 387 i 577), odnosno uočen je nedostatak očekivane heterozigotnosti u odnosu na heterozigotnost populacije koja je u ravnoteži mutacija i pomaka, no kod većine populacija nije utvrđena signifikantnost između H_E i H_{EQ}.

Tablica 71. Signifikntnost Wilcoxon-ovog testa za suvišak [*P(E)*] i nedostatak [*P(D)*] heterozigotnosti u odnosu na heterozigotnost populacija koja se nalazi u ravnoteži mutacija i pomaka na temelju tri mutacijska modela za populacije hrasta lužnjaka (*Quercus robur* L.).

	Mutacijski model					
	IAM	**IAM**	**TPM**	**TPM**	**SMM**	**SMM**
Populacija	*P(D)*	*P(E)*	*P(D)*	*P(E)*	*P(D)*	*P(E)*
HR 609	0,348	0,688	**0,012**	0,991	**0,005**	0,997
HR 389	0,998	**0,003**	0,246	0,784	**0,012**	0,991
HR 387	0,652	0,385	**0,002**	0,999	**0,000**	1,000
HR 330	0,862	0,161	0,246	0,784	0,053	0,958
HR 203	0,984	**0,042**	0,313	0,722	0,053	0,958
HR 317	0,958	0,053	0,722	0,313	**0,005**	0,997
HR 368	0,958	0,053	0,461	0,577	0,065	0,947
HR 318	0,958	0,053	0,754	0,278	0,500	0,539
HR 627	0,984	**0,042**	0,500	0,539	0,097	0,920
HR 163	0,984	**0,042**	0,116	0,903	**0,007**	0,995
HR 577	0,615	0,423	**0,009**	0,993	**0,001**	1,000
HR 160	0,984	**0,042**	0,423	0,615	**0,012**	0,991
HR 88	0,903	0,116	0,423	0,615	0,161	0,862
HR 58	0,958	0,053	0,138	0,884	**0,016**	0,988
HR AM	0,813	0,216	0,385	0,652	0,138	0,884
HR 12	0,784	0,246	0,097	0,920	**0,002**	0,999
HR 16	0,652	0,385	0,138	0,884	**0,009**	0,993

IAM – model beskonačnog broja alela (engl. *Infinite Allele Model*); TPM – dvofazni model mutacija (engl. *Two-phased model*); SMM – model postupnih mutacija (engl. *Stepwise Mutation Model*).
P(E) – signifikantnost Wilcoxonovog testa za suvišak heterozigotnosti u odnosu na heterozigotnost populacije koja je u ravnoteži mutacija i pomaka ($H_E > H_{EQ}$): genetsko usko grlo.
P(D) – signifikantnost Wilcoxonovog testa za nedostatak heterozigotnosti u odnosu na heterozigotnost populacije koja je u ravnoteži mutacija i pomaka ($H_E < H_{EQ}$): populacija u ekspanziji.
Vrijednosti signifikantnog suviška i nedostatka heterozigotnosti ($P < 0,01$) označene su podebljanim slovima.

3.6.1.6. Analiza molekularne varijance (AMOVA)

Rezultati analize molekularne varijance (AMOVA, tablica 72) izračunati su za dvije pretpostavljene razine strukture: A) između i unutar populacija, B) raznolikost jezgrinih mikrosatelitnih biljega unutar i između rodoslovnih linija, tri rodoslovne linije dobivene na temelju analize kloroplastnih haplotipova.

Većina ukupne genetičke raznolikosti uzrokovana je unutarpopulacijskom raznolikošću (98,53 %), analiza A. Iako je postotak varijance uzrokovan razlikama između populacija mali, visoko je signifikantan ($P < 0{,}0001$), ukazujući na postojanje genotipske diferencijacije. Također, je raznolikost jezgrinih biljega viša unutar rodoslovnih linija (99,62 %). Postotak varijance uzrokovan razlikama između rodoslovnih linija visoko je signifikantan ($P < 0{,}0001$), ukazujući kako gotovo nema nikakve povezanosti između raznolikosti haplotipova i raznolikosti jezgrinih biljega.

Tablica 72. Raspodjela raznolikosti na temelju analize molekularne varijance: A) između i unutar populacija; B) između i unutar rodoslovnih linija.

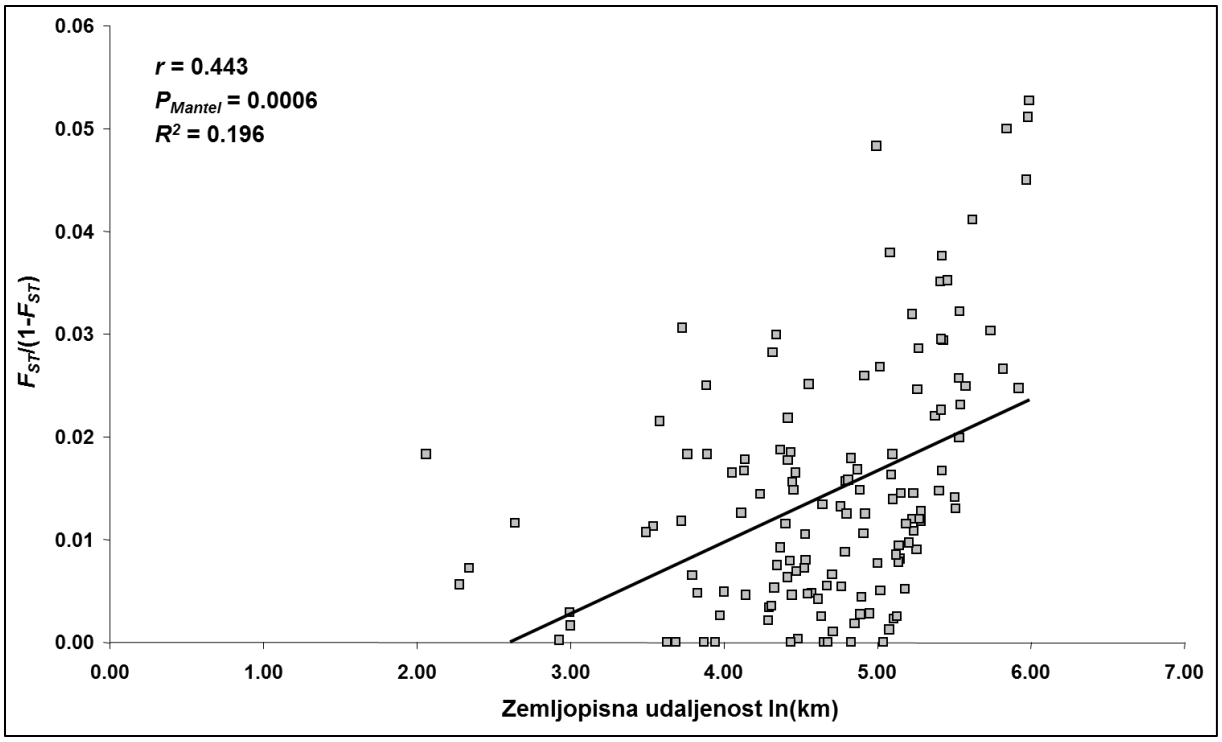
	Izvor varijabilnosti	df	Sastavnice varijance	% ukupne varijance	ϕ-*statistika*	*P*(ϕ)
A	Između populacija	16	0,060	1,47	0,015	< 0,0001
	Unutar populacija	663	4,057	98,53		
B	Između rodoslovnih linija	2	0,016	0,38	0,0038	< 0,0001
	Unutar rodoslovnih linija	647	4,101	99,62		

P(ϕ) – signifikantnost ϕ-statistike nakon 10,000 slučajnih permutacija.

3.6.1.7. Prostorna genetika

3.6.1.7.1. Analiza izolacije uslijed udaljenosti

Analizom izolacije uslijed udaljenosti (*IBD*) utvrđena korelacija između matrice [F_{ST}/(1-F_{ST})] vrijednosti i matrice prirodnih logaritama zemljopisnih udaljenosti između analiziranih populacija ($r = 0{,}443$) bila je visoko signifikantna ($P_{Mantel} < 0{,}0001$) nakon 10.000 permutacija Mantel-ovim testom. Koeficijent determinacije iznosio je $R^2 = 0{,}196$, odnosno 19,6 % genetske diferencijacije između analiziranih populacija može se objasniti njihovom prostornom udaljenošću (slika 37).



Slika 37. Regresija genetske diferencijacije [$F_{ST}/(1-F_{ST})$] na zemljopisnu udaljenost [ln(km)] za sve parove populacija.
r – korelacija između matrice [$F_{ST}/(1-F_{ST})$] vrijednosti i matrice prirodnih logaritama zemljopisnih udaljenosti između analiziranih populacija.
P_{Mantel} – signifikantnost nakon 10.000 permutacija Mantel-ovim testom.
R^2 – koeficijent determinacije.

3.6.1.7.2. Prostorna autokorelacijska analiza

Prostornom autokorelacijskom analizom parovi jedinki svrstani su u 11 zemljopisnih razreda (tablica 73). Prikazane su donje i gornje granice udaljenosti razreda u kilometrima i njihov prosjek, prosječan koeficijent srodstva po RITLAND-u ($F_{Ritland}$), te njihova signifikantnost (p). Navedeni parametri i odnosi prikazani su i slikom 38.

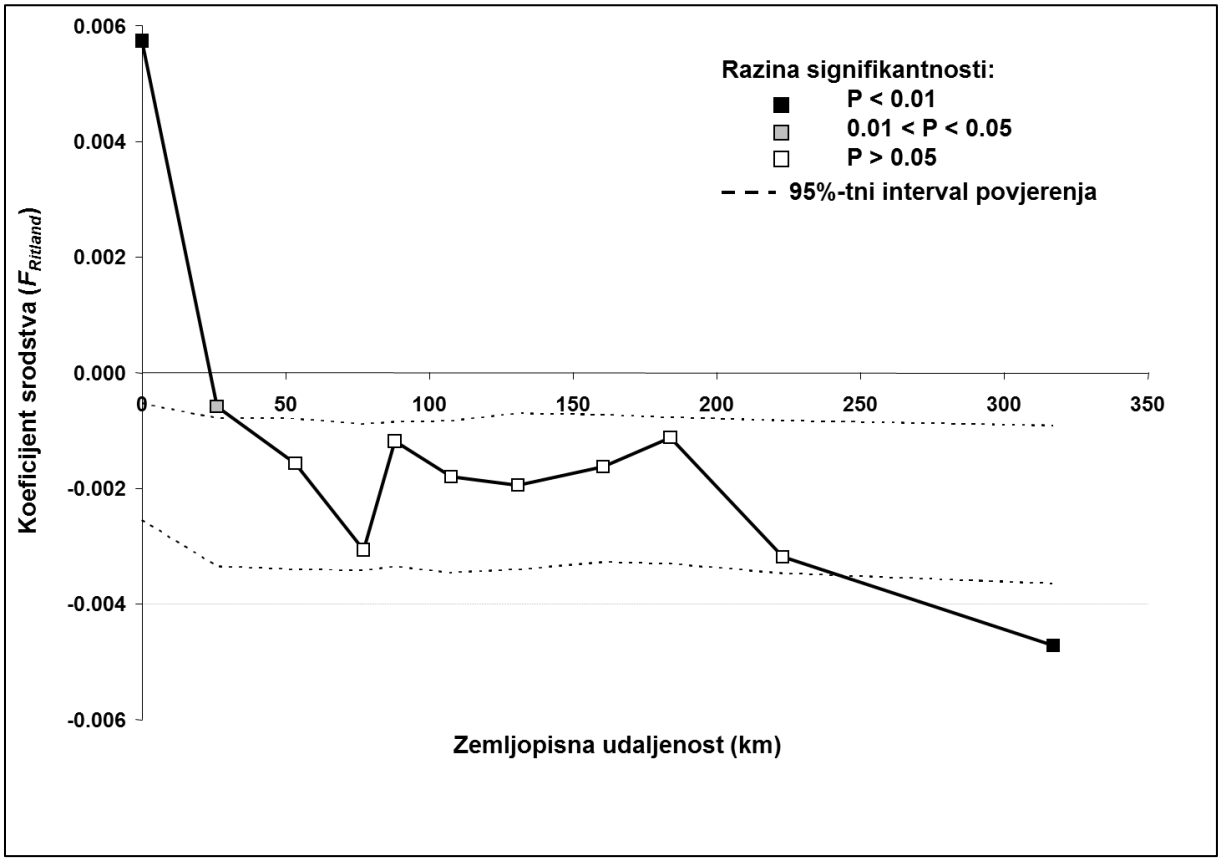
Na slici su također navedene donje i gornje granice 95 % – nih intervala pouzdanosti za koeficijente srodstva. Predstavljaju granicu iznad koje odnosno ispod za određenu zemljopisnu udaljenost su parovi jedinki više odnosno manje međusobno srodni od parova slučajno odabranih jedinki.

Iz tablice i slike može se uočiti kako su za prva dva razreda parovi jedinki međusobo srodniji od slučajno odabranih jedinki, odnosno parovi jedinki su srodniji do udaljenosti od 40 km. Parovi jedinki potpuno su s 95 % – nom sigurnošću nesrodni u zadnjem zemljopisnom razredu (10), odnosno srodnost između jedinki se gubi nakon 245 km međusobne udaljenosti.

Tablica 73. Prostorna analiza genetske udaljenosti između 11 zemljopisnih razreda udaljenosti i prosječnog koeficijenta srodstva $F_{Ritland}$ (RITLAND 1996) između parova jedinki.

	Udaljenost (km)			Prosječni koeficijent srodstva	
Razred	Donja granica	Gornja granica	Prosjek	$F_{Ritland}$	*p*-vrijednost
0	0,00	0,00	0,00	0,006	0,000
1	0,00	41,72	26,12	-0,001	0,017
2	41,72	63,09	53,38	-0,002	0,779
3	63,09	83,15	77,13	-0,003	0,074
4	83,15	94,52	87,99	-0,001	0,922
5	94,52	120,65	107,62	-0,002	0,661
6	120,65	141,87	130,72	-0,002	0,561
7	141,87	171,14	160,50	-0,002	0,724
8	171,14	195,18	183,87	-0,001	0,923
9	195,18	247,98	222,99	-0,003	0,055
10	247,98	400,88	317,10	-0,005	0,000

Signifikantnost na temelju 1.000 permutacija.

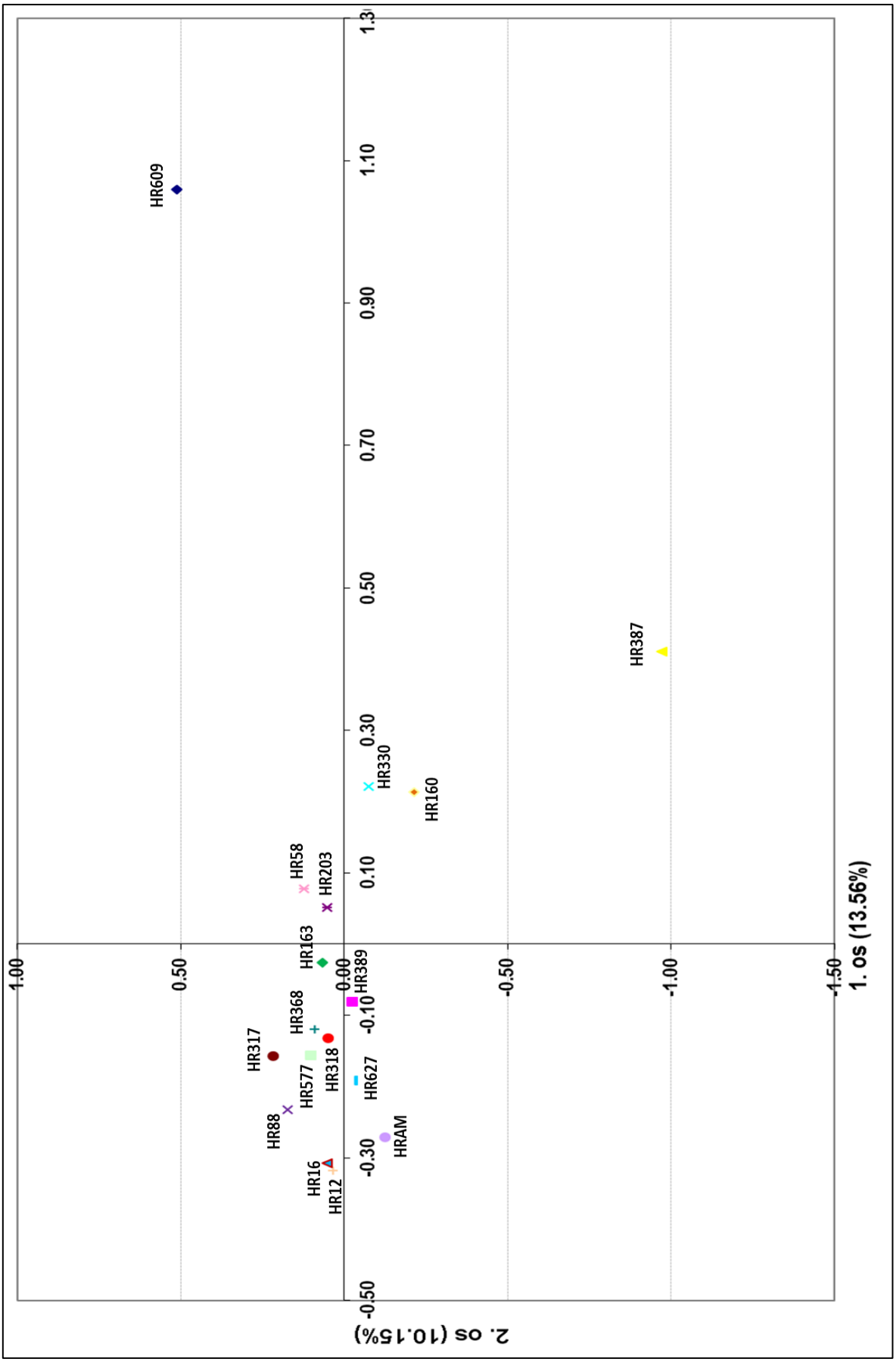


Slika 38. Korelogram 11 zemljopisnih razreda udaljenosti i prosječnog koeficijenta srodstva.

3.6.1.8. Faktorijalna analiza korespodencije

Grafički prikaz odnosa između analiziranih populacija dan je u slici 39. Faktorijalna analiza korespondencije napravljena je pomoću programa GENETIX 4.05 (BELKHIR i dr. 2004), a provedena uzimajući u obzir regionalnu pripadnost jedinki unutar populacija u analizi. Slika prikazuje projekciju baricentara svake populacije u koordinatnome sustavu, odnosno središnju točku genotipova svake populacije, određenom prvim dvjema osima. Prva os objašnjava 13,56 % ukupne inercije, a druga 10,15 %, što predstavlja ukupnu objašnjenost grafičkim prikazom od 23,71 %. Prva os izdvaja jedinke populacije HR 609 od ostalih populacija u analizi, dok je populacija HR 387 izvojena po obje osi. Populacije HR 330 i HR 160 razdvojene su također po prvoj osi.

Može se uočiti kako su genotipovi jedinki populacija HR 609 i HR 387 najudaljeniji od ostalih populacija. Iste populacije posjeduju najveći broj privatnih alela i visok stupanj križanja u srodstvu (tablica 66). Statistički se značajno razlikuju od gotovo svih ostalih populacija prema vrijednostima genetičke diferencijacije (tablica 68), a izradom stabla također je vidljivo njihovo izdvajanje od ostalih populacija (slika 36). Zemljopisno bliske populacije HR AM, HR 12 i HR 16 u koordinatnome su se sustavu grupirale zajedno, upućujući na genetsku sličnost. Ipak, ne postoji prava zemljopisna razdvojenost populacija.



Slika 39. Prikaz odnosa analiziranih baricentara (sredina) populacija u koordinatnom sustavu određenom prvim dvjema osima faktorijalne analize korespondencije (FCA).

3.6.2. Kloroplastni mikrosatelitni biljezi

Analizom svih 325 jedinki dobiveno je 66 različitih haplotipova. Od toga 9 haplotipova je najučestalije i nalaze se u 196 jedinki, što čini više od 60 % ukupnog analiziranog uzorka. 34 haplotipa nađeno je samo u po jednoj jedinci.

3.6.2.1. Deskriptivna statistika i genetska diferencijacija

Parametri genetske raznolikosti za istraživane populacije na temelju kloroplastnih mikrosatelitnih biljega dani su u tablici 74. Najveći broj haplotipova (12) nađen je u populaciji HR 368 (UŠP Sisak), dok je najveća raznolikost haplotipova (n_h/n) zabilježena u populaciji HR 318 (UŠP Zagreb, g.j. Josip Kozarac) (0,733 haplotipa po jedinki). Najuniformnija populacija sa samo 0,150 haplotipa po jedinki je HR 330 (UŠP Zagreb, g.j. Turopoljski lug). Populacija HR 160 (UŠP Nova Gradiška, g.j. Ilijanska-Jelas) ističe se sa navećim brojem privatnih haplotipova (n_{ph}), dok za ostale parametre raznolikosti najviše vrijednosti ima populacija HR 318, a HR 330 najniže.

Tablica 74. Genetska raznolikost na temelju kloroplastnih mikrosatelitnih biljaga.

Populacija	n	n_h	n_h/n	n_{ph}	n_E	n_{hr}	H_E
HR 609	18	7	0,389	2	2,894	5,294	0,693
HR 389	19	4	0,211	2	2,559	2,754	0,643
HR 387	20	9	0,450	5	6,678	6,921	0,895
HR 330	20	3	0,150	0	1,227	1,500	0,195
HR 203	19	5	0,263	1	2,841	3,575	0,684
HR 317	20	11	0,550	2	5,701	7,939	0,868
HR 368	18	12	0,667	4	8,987	9,496	0,941
HR 318	15	11	0,733	2	9,791	10,000	0,962
HR 627	19	9	0,474	1	5,086	6,873	0,848
HR 163	20	5	0,250	1	2,467	3,636	0,626
HR 577	20	9	0,450	2	6,062	6,877	0,879
HR 160	18	11	0,611	7	6,235	8,627	0,889
HR 88	20	7	0,350	3	3,778	4,947	0,774
HR 58	20	9	0,450	3	4,645	6,636	0,826
HR AM	19	11	0,579	3	5,539	8,246	0,865
HR 12	20	4	0,200	2	2,467	2,697	0,626
HR 16	20	8	0,400	1	2,985	5,645	0,700
Metapopulacija	325	66	0,203	-	19,947	-	0,953
Uk. prosjek	19,118	7,941	0,422	2,412	4,702	5,980	0,760

n – broj jedinki, n_h - broj haplotipova, n_h/n - broj haplotipova po broju jedinki, n_{ph} - broj privatnih haplotipova, n_E - efektivni broj haplotipova, n_{hr} - bogatstvo haplotipova, H_E - raznolikost haplotipova.

Na razini metapopulacije raznolikost haplotipova (n_h/n) iznosila je 0,203, efektivni broj haplotipova (n_E) 19,947, a nepristrana raznolikost haplotipova (H_E) na razini metapopulacije bio je 0,953, što je više od istog parametra izračunatog kod većine populacija.

U tablici 75 prikazani su parametri prosječne unutarpopulacijske raznolikosti, ukupne raznolikosti i genetske diferencijacije:

- *a*) neuređeni alel, na temelju samo frekvencije haplotipova (NEI 1987, PONS i PETIT 1995) – G_{ST}
- *b*) uređeni aleli, uzimajući u obzir genetske sličnosti između haplotipova, odnosno udio zajedničkih alela (PONS i PETIT 1996) – N_{ST}
- *c*) na temelju genetske udaljenosti za pojedine mikrosatelitne lokuse uzimajući u obzir model postupnih mutacija (SMM) (SLATKIN 1995) – R_{ST}

Izračunata je statistička značajnost odnosno testiranje hipoteza razlika između ove tri različite metode izračuna genetske diferencijacije. U oba slučaja nije bilo statističke značajnosti između korištenih metoda za izračun parametara raznolikosti. To upućuje na zaključak da ne postoji filogeografska struktura populacija. Kako se kloroplasti i njihovi biljezi nasljeđuju majčinskom linijom, odnosno sjemenom, možemo pretpostaviti kako ovi rezultati upućuju na značajan antropogeni utjecaj prijenosom genetskog materijala unutar areala hrasta lužnjaka u Hrvatskoj, odnosno kako analizirane sjemenske sastojine nisu u pravom smislu prirodne populacije.

Tablica 75. Razine raznolikosti i diferencijacije na temelju *a*) neuređenih alela, *b*) uređenih alela i *c*) razlika po Modelu postupnih mutacija (SMM).

Parametar	(*a*) neuređeni aleli	(*b*) uređeni aleli [1]	(*c*) SMM [2]
Prosječna unutarpopulacijska raznolikost	$h_S = 0{,}760$	$v_S = 0{,}768$ [ns]	$v_S = 0{,}877$ [ns]
Ukupna raznolikost	$h_T = 0{,}953$	$v_T = 0{,}952$ [ns]	$v_T = 0{,}946$ [ns]
Genetska diferencijacija	$G_{ST} = 0{,}203$	$N_{ST} = 0{,}193$ [ns]	$R_{ST} = 0{,}073$ [ns]

[1] testiranje hipoteze da se v_S, v_T i N_{ST} značajno razlikuju od h_S, h_T i $G_{ST.}$

[2] testiranje hipoteze da se v_S, v_T i R_{ST} značajno razlikuju od h_S, h_T i $G_{ST.}$

[ns] nije značajno > 0,05; *značajnost na nivou 0,01-0,05; **značajnost na nivou 0,001-0,01; ***značajnost na nivou <0,001.

3.6.2.2. Analiza molekularne varijance (AMOVA)

Analiza molekularne varijance (tablica 76) provedena je korištenjem dvije mjere genetske udaljenosti između parova haplotipova:

(1) na osnovu broja različitih alela (F_{ST}),

(2) na osnovu zbroja kvadrata razlika u duljini alela (R_{ST}).

Raznolikost između populacija pokazala se visoko statistički značajnom, što upućuje na genetsku diferencijaciju između populacija. Parametar R_{ST} nije značajno veći od vrijednosti parametra F_{ST} što također upućuje na antropogeni utjecaj na populacije hrasta lužnjaka u Hrvatskoj.

Tablica 76. Podjela raznolikosti kloroplastnih mikrosatelitnih biljega za sastavnice varijance između i unutra populacija korištenjem dvije mjere genetske udaljenosti.

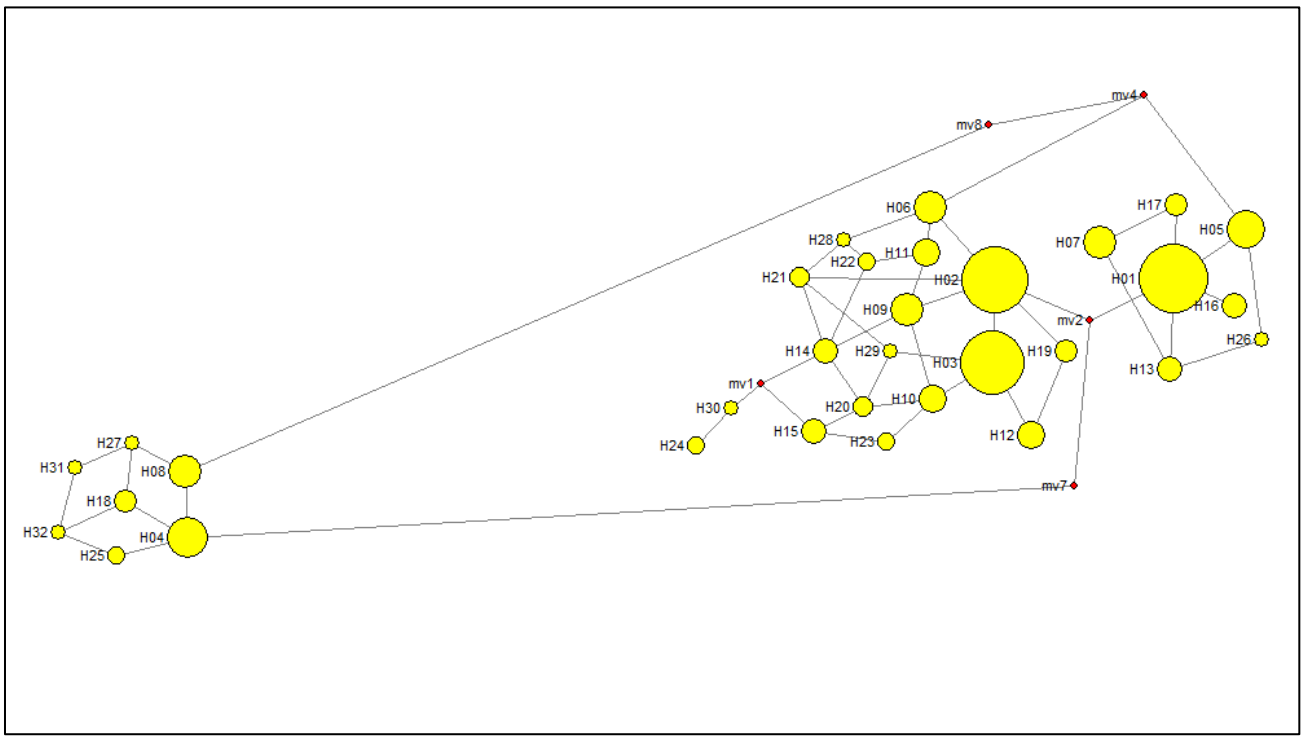
Analiza	Izvor raznolikosti	Broj st. slobode	Komponente varijance	% ukupne varijabilnosti	ϕ_{ST}
(1) na temelju broja različitih alela (F_{ST})	Između populacija	16	1,053	51,65	0,517***
	Unutar populacija	308	0,985	48,35	
(2) na temelju kvadrata razlika u duljini alela (R_{ST})	Između populacija	16	27,774	56,48	0,565***
	Unutar populacija	308	21,401	43,52	

[ns] nije značajno > 0,05; *značajnost na nivou 0,01-0,05; **značajnost na nivou 0,001-0,01; ***značajnost na nivou <0,0001

3.6.2.3. Median-Joining (MJ) mreža haplotipova

Slika 40 prikazuje mrežu haplotipova H01-H32, odnosno one haplotipove koji su nađeni u više od jedne jedinke (n > 1). Može se primijetiti kako su se haplotipovi grupirali u 3 linije. Veličina krugova koji označavanju haplotipove razmjerna je broju jedinki koje predstavljaju taj haplotip. Vidljivo je kako prva četiri haplotipa zapravo radi glavnu os mreže. Haplotipovi koji su pronađeni u samo jednoj individui nisu prikazani na slici, zbog nepotrebnog 'šuma' koji stvaraju prilikom vizualizacije.

Na slici su prikazani i medijanski vektori (mv 1-8), koji predstavljaju biološke ekvivalente mogućih neuzorkovanih ili izumrlih predačkih haplotipova najčešće na prijelazu između skupina uzorkovanih haplotipova.



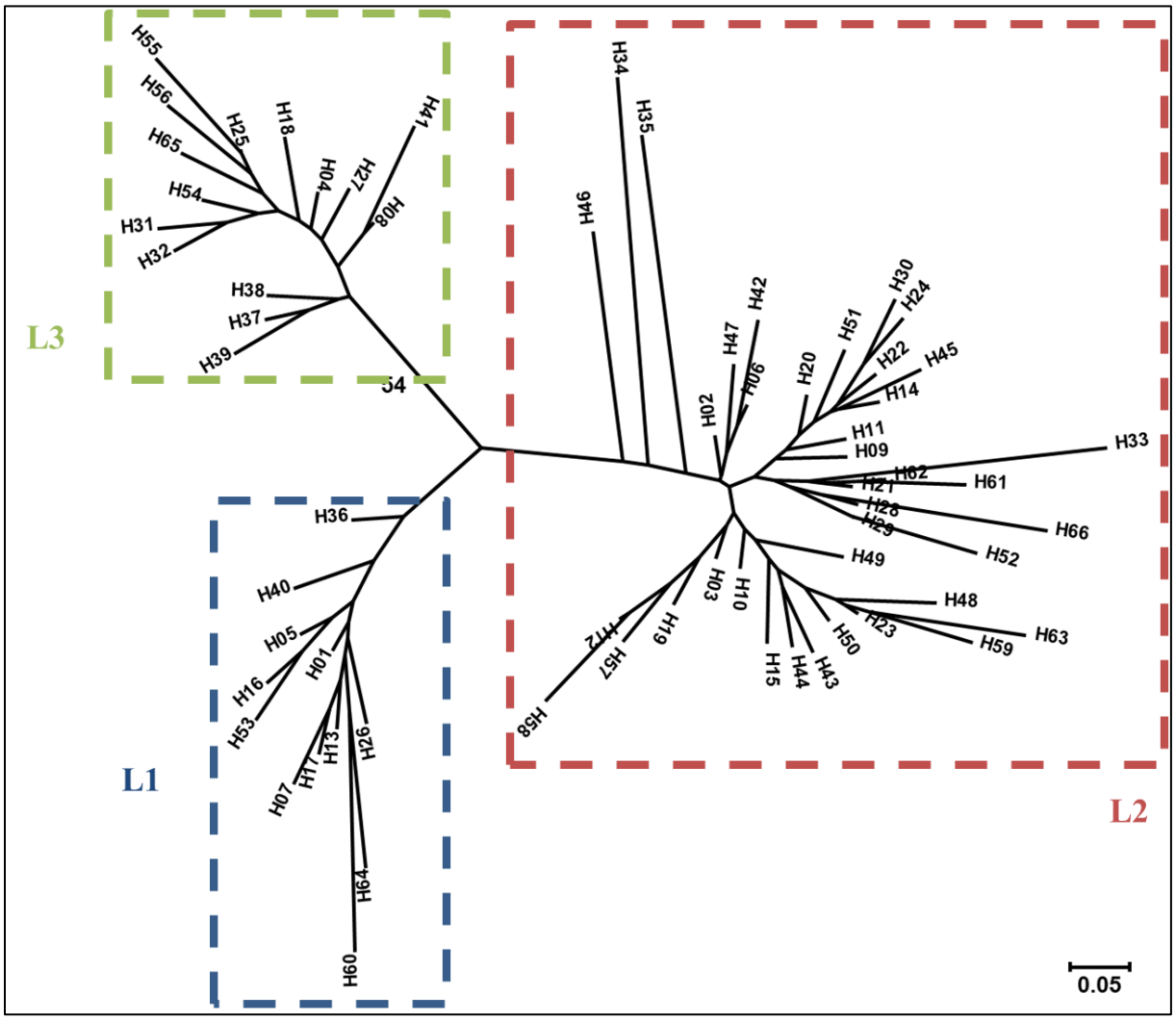
Slika 40. Median-Jojning mreža haplotipova. Haplotipovi: H01-H32, medijanski vektori: mv 1,2,4,7 i 8.

3.6.2.4. Genetska udaljenost haplotipova i izrada stabla

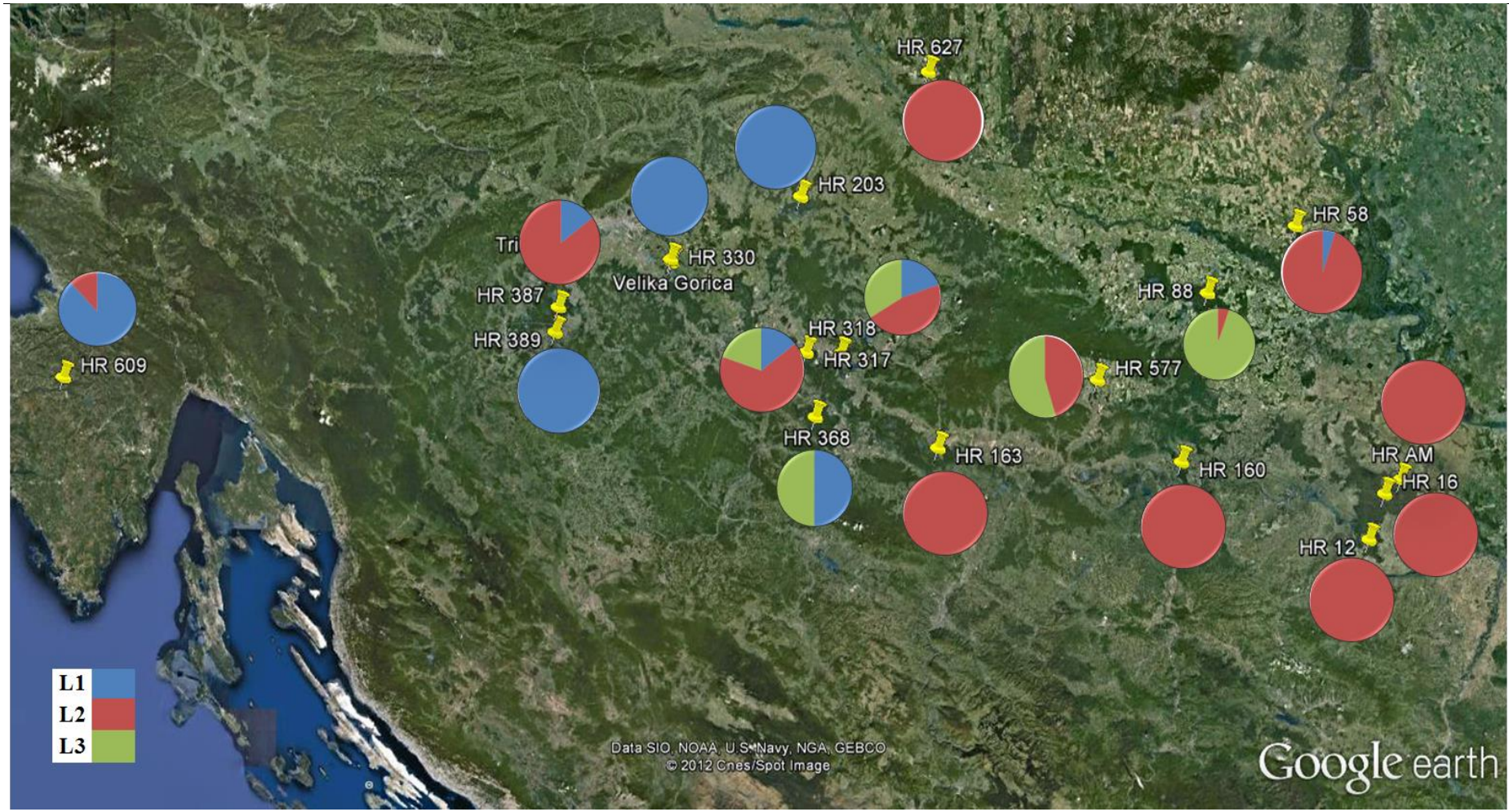
Pomoću udaljenosti na temelju udjela zajedničkih alela (D_{PSA}, BOWCOCK i dr. 1994) izračunata je genetska udaljnost između parova haplotipova. Na temelju matrice udaljenosti provedena je analiza skupina haplotipova metodom po FITCH-u i MARGOLIASH-u (1967) i izrađeno stablo (slika 41). Haplotipovi su svrstani u tri rodoslovne linije (L1, L2 i L3) što je vidljivo i kod Median-Joining mreže (3.6.2.3.).

Distribucija rodoslovnih linija po populacijama prikazana je slikom 42. Populacije HR 389, HR 330 i HR 203 pripadaju samo liniji L1, a populacije HR: 16, 12, AM, 163, 160 i 627 samo liniji L2. Linija L3 se u populacijama pojavljuje isključivo u udjelu sa ostale dvije linije, a najveći udio ima u populaciji HR 88.

Popis svih utvrđenih haplotipova u populacijama i rodoslovnim linijama dan je u prilogu I., a distribucija devet najfrekventnijih haplotipova u prilogu II.



Slika 41. Aditivno stablo kloroplastnih haplotipova na temelju udjela zajedničkih alela (D_{PSA}). Pripadnost haplotipova različitim linijama označene su bojama i uokvirene isprekidanim linijama. Vrijednosti *bootstrap* podrške više od 50% na temelju 1.000 pseudoponavljanja naznačene su iznad grana.



Slika 42. Distribucija rodoslovnih linija L1–L3 po populacijama, linije su označene bojama.

4. RASPRAVA

4.1. Analiza kvantitativnih fenotipskih svojstava istraživanih populacija hrasta lužnjaka

U pokusnom nasadu Jastrebarsko najboljima su se pokazale populacije HR 88 (UŠP Našice), HR 160 (UŠP Nova Gradiška), HR 317 (UŠP Zagreb) i HR 387 (UŠP Karlovac). Ove su populacije uz prosječno najveće visine i visinske priraste imale i dobro preživljenje. Uz to, ove su populacije imale niski do umjeren intenzitet zaraze pepelnicom, te niski intenzitet oštećenosti biljaka kasnim proljetnim mrazom. Intenzitet zaraze pepelnicom bio je nizak najvjerojatnije zbog ranog početka listanja ovih populacija u pokusnom nasadu Jastrebarsko, te je list bio gotovo u potpunosti razvijen u vrijeme kada su u pokusnom nasadu vladali najpovoljniji uvjeti za zarazu pepelnicom. Jer kako piše GLAVAŠ (1999) pepelnica najlakše provodi zarazu na mladim još potpuno nerazvijenim listovima, stoga su populacije koje su kasnije listale (HR 12, AM, 16, 163, 58 imale i veći intenzitet zarazom (slika 22).

Najlošijima su se pokazale populacije HR 330 (UŠP Zagreb) i HR 609 (UŠP Buzet) s najnižim prosječnim visinama i preživljenjem. Najveći pad preživljenja ovih ali i većine ostalih populacija dogodio se 2011. i 2012. godine (slika 19). Prema podacima DHMZ-a (http://klima.hr/ocjene_arhiva.php) u tom razdoblju vladali su nepovoljni klimatski uvjeti, dugotrajnih suša i visokih temperatura koji su najvjerojatnije uzrokovali tako nagli pad preživljenja.

Populacije HR 330 i HR 609 potječu iz relativno humidnijih staništa, dok npr. populacije HR 12, HR 16 i HR AM potječu sa relativno aridnijeg područja, a npr. populacija HR 88 koja je imale najviše prosječne vrijednosti za visinski rast potječe iz područja s najnižom prosječnom količinom godišnjih oborina (tablica 3). Kako su na području nasada Jastrebarsko u analiziranom razdoblju vladali nepovoljni uvjeti suše i visokih temperatura, vjerojatno je kako ti uvjeti nisu bili povoljni za populacije koje dolaze iz relativno humidnijih uvjeta (HR: 330 i 609), dok su populacije koje dolaze iz aridnijih područja i područja gdje je prosječna godišnja količina oborina niža, bolje prilagođene uvjetima koji su vladali u pokusnom nasadu.

U pokusnom nasadu Koška najboljima su se pokazale populacije HR 12 i HR AM, te HR 163 sa najvećim prosječnim visinama i prosječnim preživljenjem, dok su se najlošijima pokazale populacije HR 203, HR 387 i HR 609 zbog prosječno nižih visina i najnižeg preživljenja. Može se uočiti kako populacije koje su imale prosječno najveće visine i preživljenje potječu iz relativno aridnijih staništa, dok su populacije koje potječu iz relativno humidnijih staništa imale slabiji uspjeh u visinskom rastu i preživljenju (tablice 10, 17 i 3). Podaci DHMZ-a za 2011. i 2012. godinu (http://klima.hr/ocjene_arhiva.php) pokazuju kako

su u području gdje se nalazi pokusni nasad obje godine bile izrazito sušne i vruće. Može se pretpostaviti kako su dugotrajni sušni uvjeti uzrokovali da su populacije koje potječu s humidnijih staništa imale niže prosječne visine i preživljenje. Dakle, ovakvi rezultati ukazuju na mogućnost kako je prirodna selekcija oblikovala genetsku kompoziciju u smjeru bolje prilagođenosti na sušne uvjete onih populacija koje potječu iz prosječno aridnijih lokaliteta, isto možemo zaključiti iz gore navedenih rezultata sa pokusnog nasada Jastrebarsko.

U pokusnom nasadu Vrbanja populacije HR 12, HR 330 i HR 609 imale su prosječno najviše preživljenje, dok su populacije HR AM, HR 387 i HR 627 imale prosječno najniže preživljenje (tablica 18). Visinski rast populacija u ovom testu bio je ujednačen, tj. niti jedna se populacija nije istakla izrazito višim odnosno nižim rastom. Kod preživljenja se dogodilo veće variranje, te se populacija HR 330 istaknula kao najbolja. Ova populacija potječe iz relativno humidnijeg staništa (tablica 3), te je zaostajanje poplavne vode na području pokusnog nasada Vrbanja najvjerojatnije povoljno utjecalo na rast i razvoj ove populacije. Također u prilog tome idu i podaci o rastu i razvoju populacija HR 609 i HR 203 koje su se pokazale prosječno više preživljenje (tablice 11 i 18), a isto potječu iz humidnjijih staništa (tablica 3).

Može se uočiti kako neke populacije u jednim uvjetima pokazuju više prosječne vrijednosti za određeno svojstvo, a u drugim ispodprosječno i obrnuto. Tako npr. populacija HR 609 na dvije lokacije ispodprosječna za svojstva visinskog rasta i preživljenja (Jastrebarsko i Koška) dok je na trećoj bila nadprosječna (Vrbanja). Isto tako populacija HR 387 koja se u nasadu Jastrebarsko pokazala nadprosječnom, u ostala dva testa je ispodprosječna za svojstva visinskog rasta i preživljenja.

Na temelju nadprosječnog visinskog rasta i preživljenja, te ispodprosječnog intenziteta zaraze pepelnicom i oštećenosti lisne mase kasnim proljetnim mrazem za praktičnu primjenu na lokalitetima sličnih klimatskih prilika kao nasad Jastrebarsko mogu se preporučiti populacije koje potječu iz relativno aridnijih staništa kao npr.: HR 88, HR 160. Ali i populacija HR 387 koja iako potječe iz prosječno humidnijeg područja sa relativno većom količinom oborina (tablica 3), pokazala je nadprosječne vrijednosti za visinski rast i preživljenje. Klimatske prilike matičnog staništa (tablica 3) ove lokalne populacije slične su klimatskim prilikama pokusnog nasada Jastrebarsko (tablica 5) što je najvjerojatnije povoljno utjecalo na razvoj ove populacije u nasadu Jastrebarsko.

4.2. Razina unutarpopulacijske kvantitativne genetske varijabilnosti

Genetska raznolikost (genetska varijabilnost), kao bogatstvo različitih alela na razinama jedinki, populacija i vrsta, omogućuje veći kapacitet prilagođavanja na svim spomenutim razinama. Viša razina genetske varijabilnosti znači sigurniji opstanak populacija i vrsta, jer sa višom genetskom raznolikosti populacije imaju mogućnost oblikovanja genetske strukture u smjeru prilagođavanja ekstremnim klimatskim uvjetima. Gubitak genetske raznolikosti značio bi smanjenje dugoročne prilagodljivosti populacija i vrsta, te u konačnici i njihovo vjerojatnije izumiranje. Stoga je poznavanje razine genetske varijabilnosti populacija neizostavan preduvjet za procjenu njihove sposobnosti prilagođavanja tj. prilagodljivosti.

Razlike u vrijednostima unutarpopulacijske genetske varijabilnosti uočene su za sva istraživana svojstva. Općenito, razina unutarpopulacijske genetske varijabilnosti izražava se pomoću genetskih parametara: nasljednosti (h^2) i koeficijenta aditivne genetske varijabilnosti (CV_A). Populacije se mogu kategorizirati prema izračunatim vrijednostima nasljednosti (h^2) na: visoke razine genetske varijabilnosti ($h^2 > 0,75$), umjerene varijabilnosti (h^2 od 0,50 do 0,75), niske (h^2 od 0,25 do 0,50) i vrlo niske genetske varijabilnosti ($h^2 < 0,25$). Neki autori smatraju kako je CV_A bolji parametar za procjenu razine genetske raznolikosti populacija, jer je ta mjera varijabilnosti standardizirana aritmetičkom sredinom fenotipskog svojstva (HOULE 1992).

4.2.1. Visinski rast

Uočene su razlike u razini unutarpopulacijske varijabilnosti za svojstvo visinskog rasta u pokusnom nasadu Jastrebarsko za sve tri istraživane godine – (tablice 29, 30 i 31), kao i za visine 2012. godine u ostala dva nasada (tablice 32 i 33). Premda je većina populacija imala nisku ili vrlo nisku razinu genetske varijabilnosti u pokusnom nasadu Jastrebarsko, nekoliko je populacija pokazalo umjerenu varijabilnost kroz istraživačko razdoblje. Npr. takva je populacija HR 88 čija se razina varijabilnosti ipak smanjivala iz godine u godinu, dok je istovremeno imala najveće prosječne visine tijekom cijelog istraživanog perioda. Populacija HR 577 istakla se s umjerenom razinom varijabilnosti u dobi od 4 i 6 godina, dok je populacija HR 163 imala umjerenu varijabilnost samo u dobi od 6 godina. Populacije HR 203, HR 330, HR 317 i HR 609 imale su relativno visok koeficijent aditivne genetske varijabilnosti (tablice 30 i 31). Navedene populacije su, unatoč relativno većoj razini varijabilnosti, imale

vrlo male prosječne visine, što ukazuje kako te populacije nisu dobro prilagođene uvjetima koji su vladali u pokusnim nasadima tijekom analiziranog perioda, ali posjeduju relativno veći potencijal prilagođavanja.

U pokusnom nasadu Koška populacije HR 203, HR 318, HR 387 imale su umjerenu, dok su ostale populacije imale nisku i vrlo nisku razinu genetske varijabilnosti.

Populacije s umjerenom razinom varijabilnosti u pokusnom nasadu Vrbanja bile su: HR 12, HR 160, HR 163, HR 368, HR AM, HR 389 i HR 577, a samo je populacija HR 387 pokazala visoku razinu genetske varijabilnosti.

Parametri nasljednosti i CV_A bili su kod većine populacija pozitivno korelirani, odnosno sa povećanjem razine nasljednosti povećavao se i parametar aditivne genetske varijabilnosti. No većina populacija imala je nisku ili vrlo nisku genetsku varijabilnost, što upućuje na nisku razinu prilagodljivosti prirodnom selekcijom (HOULE 1992). Smatra se kako su populacije koje se odlikuju višom razinom genetske varijabilnosti prilagodljivije promjenama okolišnih uvjeta nego populacije s nižom razinom genetske varijabilnosti (BOGDAN I DR. 2016, U TISKU). Treba naglasiti kako to ne znači da su takve populacije bolje prilagođene specifičnim uvjetima pokusnih staništa tijekom promatranog razdoblja, već samo da posjeduju veći potencijal za prilagodbu, tj. veću prilagodljivost. Tako je na primjer HR 387 u nasadu Vrbanja imala ispodprosječnu visinu, ali se jedina odlikovala visokom razinom genetske varijabilnosti. Iz toga se može zaključiti kako u prosjeku ta populacija nije dobro prilagođena prevladavajućim okolišnim uvjetima konkretnog staništa u promatranom razdoblju, ali posjeduje visok potencijal za prilagodbu. To znači kako bi se identificiranjem familija koje iskazuju veće prosječne visine mogla „proizvesti“ znatno bolje prilagođena subpopulacija. Isto tako populacije HR 577, HR 163, HR 203, te HR 330 imale su ispodprosječne visine u pokusnom nasadu Jastrebarsko, ali više vrijednosti koeficijenata CV_A. To znači kako te populacije posjeduju relativno veću prilagodljivost za prevladavajuće uvjete tog staništa u promatranom razdoblju, ali se ne mogu smatrati trenutno dobro prilagođenim populacijama. Ovo je vrlo važno za praktične preporuke koje populacije koristiti za obnovu u stanišnim uvjetima koji su slični uvjetima u pokusnim nasadima tijekom istraživanog razdoblja. Naime, one populacije koje su se odlikovale nadprosječno pozitivnim vrijednostima fenotipskih svojstava (npr. visina ili preživljenje) u specifičnom pokusnom nasadu, mogu se smatrati i dobro prilagođenima i preporučiti za obnovu sličnih staništa. Međutim, mogle bi se preporučiti i one populacije koje nisu pokazale dobru prilagođenost (npr. ispodprosječnih visina), ali su istovremeno posjedovale relativno visoku razinu genetske raznolikosti jer posjeduju kapacitet prilagođavanja na specifične stanišne uvjete.

Kod sjevernoeuropskih populacija hrasta lužnjaka su na fenotipsku varijabilnost za svojstvo visine značajan utjecaj imale genetski uvjetovane razlike (JENSEN 2000), što je potvrđeno njihovom visokom nasljednošću (h^2 = 0,87). Nasljednosti za svojstvo visinskog rasta u ovom istraživanju nisu bili toliko visoki, štoviše većina je istraživanih populacija imala nisku do umjerenu nasljednost. Međutim, potrebno je istaknuti kako je izračunavanje parametara nasljednosti značajno uvjetovano preciznošću procjene pripadajućih komponenata varijance odnosno snagom kontrole okolišnih čimbenika u pokusnom nasadu. Fenotipska varijabilnost, naročito kvantitativnih morfoloških svojstava kakva je i visina biljaka, pod velikim je utjecajem kompleksnih interakcija raznovrsnih okolišnih čimbenika (svjetlost, toplina, vlaga, štetnici, kompeticija i brojni drugi) koji djeluju na biljke tijekom rasta. Djelovanja okolišnih čimbenika mogu uzrokovati visoku razinu fenotipske varijabilnosti i time „zamaskirati" genetski uvjetovane razlike. Ova je pojava relativno učestala kod prostorno velikih pokusnih nasada s vrstama šumskog drveća osnovanim na heterogenom staništu i to posebice s obzirom na fenotipska svojstva koja su i inače pod velikim utjecajem okoliša. Konkretni simptomi takvog maskiranja genetski uvjetovanih razlika odnosno inflacije utjecaja okoliša na fenotipsku varijabilnost, su izrazito visoke vrijednosti komponenata varijance za efekte interakcija blok × familija kao i varijance ostatka (varijance uzrokovane razlikama biljaka unutar blokova i familija). U skladu s navedenim, opravdano je pretpostaviti da su neočekivano niske nasljednosti procijenjene za većinu istraživanih populacija bile uzrokovane velikom raznovrsnošću okolišnih utjecaja na biljke u velikim pokusnim nasadima osnovanim na heterogenom šumskom staništu. Ova se pretpostavka može potkrijepiti i tablicama (29. do 33.) u kojima je vidljivo kako je za sve populacije, u sva tri pokusna nasada i tijekom cijelog istraživanog razdoblja, najveći dio fenotipske varijabilnosti zauzimala upravo komponenta varijance ostatka, dok su i varijance uzrokovane efektom interakcije blok × familije također zauzimale relativno veći udio fenotipske varijabilnosti kod velike većine populacija. S tim u svezi, HOULE (1992) iznosi kako određena svojstva imaju visok koeficijent aditivne varijabilnosti unatoč niskoj nasljednosti zbog visoke varijance ostatka (tj. neaditivne genetske i okolišne varijance uključujući i varijancu greške), a ne osiromašenu aditivnu genetsku varijancu uslijed jake usmjerene selekcije.

Koeficijenti aditivne varijabilnosti (CV_A) za svojstvo visine u sva tri pokusna nasada bili su niži od koeficijenata litvanskih populacija u istraživanjima BALIUCKAS (2000), BALIUCAKS i PLIURA (2003, 2008). Moguće je kako hrvatske populacije hrasta lužnjaka posjeduju niži stupanj unutarpopulacijske varijabilnosti od litvanskih. Koeficijent CV_A izraženo ovisi o okolišnim uvjetima jer je standardiziran aritmetičkom sredinom određenog

fenotipskog svojstva, te može značajno varirati kod istih populacija ako se nalaze u različitim uvjetima. Ovakva zavisnost i promjena vrijednosti koeficijenta CV_A uočena je i kod šest litvanskih populacija na tri različita staništa u istraživanjima BALIUCKAS i PLIURA (2003, 2008). Isto tako promjena vrijednosti koeficijenta CV_A uočena je za svojstvo visinskog rasta kada ih uspoređujemo između tri pokusna nasada (tablice od 31 do 33).

U ovoj studiji vrijednosti nasljednosti i koeficijenta CV_A su uglavnom bile pozitivno korelirane, odnosno populacije s višom nasljednosti imale su i više vrijednosti CV_A. Veličina aditivne genetske varijance prikazuje odgovor populacija na usmjerenu selekciju, a u ovom istraživanju je za većinu populacija i svojstava bila niska. Dakle, može se pretpostaviti kako su za većinu istraživanih populacija niske aditivne genetske varijance u kombinaciji s visokom varijancom ostatka bile uzrok niske nasljednosti. To naravno ne znači da je utvrđeno kako te populacije ne posjeduju dovoljnu razinu varijabilnosti potrebnu za prilagođavanje.

4.2.2. Preživljenje

Nakon prve godine rasta u pokusnom nasadu preživljenje populacija bilo je izvrsno (od 97 do 100 %), ali se već slijedeće godine dogodio značajni pad. U tom razdoblju najbolje preživljenje imala je populacija HR 12, dok je veliki pad preživljenja zabilježen kod populacija HR 609 i HR 330 (tablice 15, 16 i 17). Sve populacije imale su nisku i vrlo nisku genetsku varijabilnost i niti jedna populacija u pokusnom nasadu Jastrebarsko nije pokazala visoku razinu genetske varijabilnosti za ovo svojstvo (tablice 36–38).

U pokusnom nasadu Koška jedino su populacije HR 368 i HR 627 imale umjerenu genetsku varijabilnost (tablica 39), dok su u nasadu Vrbanja relativno više koeficijente aditivne genetske varijacije imale populacije HR 627, HR 160 i HR 16 (tablica 40).

Unatoč vrlo niskoj procijenjenoj razini genetske varijabilnosti za svojstvo preživljenja, većina populacija (izuzev HR 609 i HR 330) u pokusnom nasadu Jastrebarsko imala je visoko prosječno preživljenje. Nizak nivo varijabilnosti ukazuje kako populacije imaju manju sposobnost prilagođavanja. Međutim, preživljenje je specifično svojstvo jer se ocjenjuje binarnom skalom (0 – nije živa; 1 – živa biljka), stoga je poželjno imati populacije koje se odlikuju relativno visokim preživljenjem i male varijabilnosti (tj. većina familija dobro preživljava). Relativno viša razina genetske varijabilnosti je poželjna pak kod populacija koje se odlikuju ispodprosječnim preživljenjem jer im to pruža sposobnost prilagođavanja putem prirodne ili umjetne selekcije. Relativno visoko prosječno preživljenje većine populacija

govori kako su relativno dobro prilagođene uvjetima pokusnog nasada Jastrebarsko u promatranom razdoblju. Naravno, za preporučiti pri obnovi su one populacije koje su pokazale najviše prosječne vrijednosti i najmanju varijabilnost (HR: 12, 58 i 627).

Za preporuku pri obnovi staništa sličnih uvjeta kao nasad Koška istakle su se populacije HR 12, HR 58 i HR 317 (tablice 18 i 39). Za pokusni nasad Vrbanja takve karakteristike imale su populacije HR 330, HR 368 i HR 88 (tablice 19 i 40).

Međutim, prilikom preporuke za obnovu određenog područja potrebno je izabrati populacije koje su dobro prilagođene određenim uvjetima staništa na temelju nekoliko svojstava (npr. visine i preživljenja). Populacije HR 12, HR 58 su unatoč nadprosječnom preživljenju imale ispodprosječne visine, a populacije HR 88 i HR 317 su imale nadprosječne visine i srednje preživljenje. HR 627 je populacija sa prosječnim visinama i nadprosječnim preživljenjem, dok je za oba svojstva nadprosječne vrijednosti imale populacije HR 387 i HR 160. Sve navedene populacije imale su nižu razinu varijabilnosti ukazujući na to kako je većina familija zapravo dobro prilagođena uvjetima u pokusnom nasadu. Uspoređujući tako razinu genetske varijabilnosti i prosječne vrijednosti za svojstva visinskog rasta i preživljenja dobro prilagođenim populacijama za obnovu sastojina sličnih ekoloških uvjeta kao pokusni nasad Jastrebarsko modu se smatrati populacije HR 387, HR 160, HR 627, HR 317 i HR 88.

Za pokusni nasad Koška preporuka mogu biti populacije HR 12, HR 58, HR 368 i HR 317, a za područja sličnih ekoloških karakteristika kao nasad Vrbanja populacije HR 368 i HR 330.

4.2.3. Zimska retencija lišća

Zadržavanje prošlogodišnjeg odumrlog lišća do novog listanja, odnosno zimska retencija lišća fenomen je rodova *Quercus, Fagus, Carpinus* i dr. Razni autori razloge pojave ovog svojstva tumače na razne načine, no ADDICOTT (1982) iz HERZOG i KRABEL (1996) naznačuje kako ovaj fenomen ne ovisi o starosti sastojina niti o klimatskim prilikama. Nakon provedene studije HERZOG i KRABEL (1996) navode kako je zimska retencija lišća genetski uvjetovan fenomen, proučavajući dvije sastojine hrasta lužnjaka. Istraživane sastojine su se genetski razlikovale na temelju izoenzimskih genetskih biljega, također sastojina s jedinkama koje su pokazale fenomen zimske retencije lišća imale su više rijetkih alela. Kako navode autori možda je genetski drift uvjetovao izmijenjenu genetsku strukturu ili je selekcija imala

takav utjecaj na istraživane sastojine. No da li je to svojstvo prilagodbeno vrijedno i što je rezultat pojave tog svojstva tek treba ustanoviti.

Za svojstvo zimske retencije lišća, kroz istraživano razdoblje, veći je broj populacija imao višu razinu nasljednosti nego za ostala istraživana fenotipska svojstva (tablice 41 – 43). Kako je nasljednost kvantitativni genetički parametar koji ukazuje na relativni utjecaj genetske kontrole na neko poligeno svojstvo (BOGDAN 2009), može se zaključiti kako je svojstvo zimske retencije lišća pod većom genetskom kontrolom.

4.2.4. Intenzitet zaraze pepelnicom

Za svojstvo intenziteta zaraze pepelnicom utvrđene su razlike u razinama genetske varijabilnosti istraživanih populacija. Većina je populacija unutar dvije analizirane godine imala nisku i vrlo nisku genetsku varijabilnost (tablice 44 i 45). Umjerenu unutarpopulacijsku genetsku varijabilnost pokazale su populacije HR 160 i HR 203 u 2011., te populacije HR 609 i HR AM u 2012. godini. Populacija HR 609 imala je ujedno i najnižu prosječnu zarazu u obje godine. Razlika u intenzitetu zaraze razlikovala se između dvije godine, tj. 2012. godine je intenzitet bio znatno viši. Međutim, rangiranje populacija od najnižeg do najvišeg intenziteta zaraze bilo je vrlo slično u obje godine (slika 22). Populacije koje su uz prosječno niži intenzitet zaraze imale i višu razinu genetske varijabilnosti su dobro prilagođene na iskušane uvjete, ali posjeduju i veću prilagodljivost na okolišne promjene (HR: 16, 203, 330 i 609 – slika 22 i tablica 45). Populacija HR AM je uz visok intenzitet zaraze imala i višu razinu varijabilnosti što znači kako posjeduje relativno višu prilagodljivost uvjetima dotičnog staništa, ali se ne može smatrati dobro prilagođenom populacijom. Populacija HR 12 imala je u obje istraživane godine najviši intenzitet zaraze, i nije pokazala nikakvu genetsku varijabilnost što ukazuje kako ova populacija za ovo svojstvo nema mogućnost prilagođavanja.

Populacije koje su imale nižu razinu zaraze (slika 22), ranije su započinjale listanje (slika 23), a kako pepelnica najlakše provodi zarazu na mladim još potpuno nerazvijenim listovima (GLAVAŠ 1999), to je najvjerojatnije rani početak listanja uzrok niskog intenziteta zaraze takvih populacija. Također, populacije HR 203, HR 330 i HR 609 potječu iz humidnijih staništa (tablica 3), dok populacija HR 16 potječe iz relativno aridnijeg staništa ali je također ranije započinjala listanje te imala niži intenzitet zaraze. To ukazuje kako je

fenologija listanja najvažnija za relativnu otpornost odnosno osjetljivost populacija na zarazu hrastovom pepelnicom.

4.2.5. Fenologija listanja

Populacije HR 609, HR 330 i HR 88 su tijekom čitavog analiziranog razdoblja u nasadu Jastrebarsko najranije listale, dok su populacije HR 12, HR AM i HR 58 najkasnije započinjale listanje (slika 23). Stabilnost ekspresije fenologije listanja tokom vremena potvrđuju i istraživanja BALIUCKAS (2000) i BALIUCKAS I DR. (2001). Relativno najviše vrijednosti nasljednosti ukazuju na visoku unutarpopulacijsku genetsku varijabilnost te potvrđuje fenologiju listanja kao visoko nasljedno svojstvo (tablice 46–48). Visok udio komponenti varijance efekta familija i njihova statistička značajnost kod većine populacija upućuje kako postoji značajna unutarpopulacijska varijabilnost za svojstvo fenologije. Također, visoke vrijednosti komponenata varijance za efekte interakcije blok × familije najvjerojatnije su uzrok djelovanja heterogenih okolišnih čimbenika unutar pokusnog nasada. Kod prostorno velikih pokusnih nasada s vrstama šumskog drveća osnovanim na heterogenom staništu nije neočekivano za pretpostaviti kako će velik udio fenotipske varijabilnosti otpadati na varijancu uzrokovanu efektom interakcije blok × familije.

Razina nasljednosti za svojstvo fenologije listanja kod većine je populacija bila umjerena do visoka, što upućuje na genetski nasljedno svojstvo. STOJKOVIĆ (1991) u svom istraživanju navodi kako je nasljednost fenologije određena s 3 para gena, te kako je potomstvo za svojstvo fenologije dobiva veću vrijednost križanja po majčinskoj liniji. Odnosno, utvrđivanjem početka listanja potomstva u pokusnom nasadu, možemo zaključiti i kojoj formi pripadaju populacije iz kojih potječu. Također kako navodi STOJKOVIĆ (1991) statistički značajna korelacija između majki i potomstva upućuje i na selektivnu oplodnju unutar određenog tipa ranije odnosno kasnije listajućih populacija.

Visoka nasljednost početka listanja uočena je i u istraživanju JENSEN (2000) (h^2 = 0,87). Kod BALIUCKAS i PLIURA (2003) efekti familija bili su značajni u gotovo svim populacijama, iako je niža razina značajnosti u ovom istraživanju (nivo od 0,01 do 0,0001). Također, u navedenom istraživanju CV_A za svojstvo listanja bio je visok (11,3–75,4) (kao i u istraživanjima BALIUCKAS 2000; BALIUCKAS i dr. 2001), dok je u ovom istraživanju CV_A bio izrazito niži (0,00–7,25). Koeficijent CV_A značajno ovisi o okolišnim uvjetima jer je standardiziran aritmetičkom sredinom fenotipskog svojstva ispoljenog u određenim uvjetima

pokusnog nasada, te je vjerojatno to utjecalo na tako nizak CV_A. No visok koeficijent aditivne varijacije upućuje i na mogućnost adaptacije populacija u novim uvjetima (BALIUCKAS i dr. 2001; JENSEN i HANSEN 2008).

Populacije koje su ranije listale (HR: 16, 203, 330 i 609 – slika 23) imale su i niži intenzitet zaraze pepelnicom (slika 22), ali su imale niske vrijednosti za visinski rast (slika 17), te se ne mogu preporučiti za obnovu površina kao što je pokusni nasad Jastrebarsko. Populacije HR 88 i HR 387 su ranije listale, imale su prosječan intenzitet zaraze pepelnicom i nadprosječne visine, te se mogu preporučiti prilikom obnove površina ekoloških prilika sličnih pokusu Jastrebarsko. Dakako, tretiranja fungicidima protiv hrastove pepelnice vrlo vjerojatno su imali značajan utjecaj na konačni visinski rast populacija, te ostaje pitanje kako bi populacije reagirale bez višekratnog tretiranja fungicidima. Kasnije listajuće populacije (HR: 12, AM, 58, 163) ne mogu se preporučiti za korištenje prilikom obnove zbog višeg intenziteta zaraze, te ispodprosječnog visinskog rasta.

4.2.6. Oštećenost biljaka kasnim proljetnim mrazem

Umjerenu razinu genetske varijabilnosti za otpornost biljaka na kasni proljetni mraz imala je jedino populacija HR 16 (tablica 49). Ostale su populacije imale nisku i vrlo nisku genetsku varijabilnost. Populacija HR 16 imala je prosječnu oštećenost biljaka, ali umjerena varijabilnost izdvaja ovu populaciju kao onu koja posjeduje relativno veću prilagodljivost na promjene okolišnih uvjeta.

Prosječno i kasnije listajuće populacije imale su veći intenzitet oštećenosti lisne mase od ranije listajućih (slike 23 i 24), slično kao što je i intenzitet zaraze pepelnicom pratio ovakav trend (slike 22, 23 i 24).

Kasni proljetni mraz proučavao se i na litvanskim populacijama hrasta lužnjaka (BALIUCKAS 2000; BALIUCKAS i PLIURA 2003, 2008), gdje je također utvrđena značajna korelacija između listanja i oštećenosti biljaka kasnim proljetnim mrazem. Mraz je kod litvanskih populacija najviše utjecao na one koje su bile intermedijarne, što po njihovim zaključcima upućuje na selekcijski proces povećanja udjela ekstremnih fenoloških formi (kasno i rano listajućih populacija). Proljetni mraz je pogodio područje pokusnog nasada Jastrebarsko u svibnju, dakle vrlo kasno, što je uvjetovalo da su u ovom istraživanju najviše stradale baš kasnije listajuće populacije koje su tada prolistavale ili netom prolistale. Nakon djelomičnog ili potpunog stradavanja lisne mase od strane mraza, nastupilo je toplo vrijeme

povoljno za razvoj pepelnice. To je najvjerojatniji razlog što su onda iste te populacije (kasnije listajuće) imale najveću zarazu pepelnicom, jer su obnovile lisnu masu u najpovoljnijim uvjetima za zarazu.

Litvanske populacije imale su i značajnu unutarpopulacijsku genetsku varijabilnost, te potencijal populacija za adaptaciju i reagiranje na klimatske promjene. Nasljednosti i koeficijenti CV_A kod hrvatskih istraživanih populacija su bili niski (tablica 49). Niska razina nasljednosti najvjerojatnije je posljedica visoke varijance ostatka tj. neaditivne genetske i okolišne varijance uključujući i varijancu greške, a ne osiromašena aditivna genetska varijanca uslijed jake usmjerene selekcije (HOULE 1992).

4.3. Razina kvantitativne genetske diferencijacije populacija

Kako je u prethodnom poglavlju napomenuto, genetska raznolikost osnovni je mehanizam prilagodbe populacija i vrsta promjenama koje se zbivaju u okolišu. Genetska diferencijacija populacija, odnosno međupopulacijske razlike također su vrlo važna komponenta genetskog bogatstva neke vrste.

4.3.1. Visinski rast i prirast

Za svojstvo visinskog rasta utvrđen je statistički značajan efekt populacija i visok parametar kvantitativne genetske diferencijacije (Q_{ST}), što upućuje na genetsku izdiferenciranost populacija. Efekt familija unutar populacija nije bio statistički značajan, što znači kako je utvrđena viša razina genetske varijabilnosti između nego unutar populacija (tablica 50). POPOVIĆ i dr. (2014) su za svojstvo visina jednogodišnjih sadnica istih populacija također utvrdili statističku značajnost efekata populacija.

I u pokusnom nasadu Koška utvrđena je genetska izdiferenciranost populacija za svojstvo visina (tablica 51). Međutim, u pokusnom testu Vrbanja nije utvrđena međupopulacijska genetska raznolikost već izrazita unutarpopulacijska varijabilnost, te fenotipska plastičnost istraživanih populacija (tablica 52). Također utvrđena je statistička značajnost efekta interakcije blok × familija, što upućuje kako se genetske razlike između populacija za ovo svojstvo vjerojatno umanjene zbog velikog utjecaja okolišnih uvjeta.

BALIUCKAS i PLIURA (2003) utvrdili su statističku značajnost slučajnog efekta familija istraživajući svojstvo visinskog rasta kod litvanskih populacija hrasta lužnjaka. Fiksni efekt populacija nije bio statistički značajan, dok je efekt blokova u većini slučajeva bio statistički značajan. Odnosno utvrdili su unutarpopulacijsku raznolikost, dok međupopulacijske diferencijacije za ovo svojstvo nije bilo. Ali također je utvrđena statistička značajnost efekta interakcije blok × familija. Ova značajnost najvjerojatnije ukazuje kako su genetske razlike između populacija potisnute, odnosno nisu mogle doći od izražaja zbog vrlo jakog utjecaja okoliša na svojstvo visinskog rasta. Slične rezultate dobili su BALIUCKAS i PLIURA (2008) i u istraživanju istih populacija u starijoj dobi.

Za svojstvo visinskog prirasta u testu Jastrebarsko nije utvrđena statistički značajna međupopulacijska varijabilnost, već se statistički značajnim pokazao efekt interakcije blok × populacija ukazujući na fenotipsku plastičnost populacija. Parametar Q_{ST} bio je prilično visok što ipak ukazuje na postojanje međupopulacijske diferencijacije (tablica 53). Procijenjena komponenta varijance efekta populacija za prirast 2010.–2011. godine bila je relativno velika (7,5253), dok je komponenta varijance familija bila izrazito mala (0,02919). To je uzrokovalo visoku vrijednost parametra Q_{ST}, iako komponenta varijance efekta populacija nije bila statistički značajna. Iz deskriptivne statistike ipak se može uočiti kako se populacije poprilično razlikuju s obzirom na visinski prirast (tablice 13 i 14).

Izrazito visoke vrijednosti varijance ostatka (varijanca uzrokovana razlikama između biljaka unutar blokova i familija) najvjerojatnije su nastale zbog djelovanja heterogenih okolišnih čimbenika na visinski prirast populacija. Svojstvo visinskog prirasta kao i ostala kvantitativna morfološka svojstva poput visine, pod velikim su utjecajem kompleksnih interakcija raznovrsnih okolišnih čimbenika (svjetlost, toplina, vlaga, štetnici, kompeticija i brojni drugi) koji djeluju na biljke tijekom rasta. Procjene pripadajućih komponenata varijance značajno su uvjetovane snagom kontrole okolišnih čimbenika u pokusnom nasadu. Kada su nasadi osnovani na velikoj površini dolazi do heterogenosti stanišnih uvjeta, te djelovanje okolišnih čimbenika može uzrokovati visoku razinu fenotipske varijabilnosti i time potisnuti genetski uvjetovane razlike. Opravdano je za pretpostaviti kako je izostanak statističke značajnosti za efekte populacija i familija unutar populacija bio uzrokovan velikom raznovrsnošću okolišnih utjecaja na biljke.

4.3.2. Preživljenje

Kako je preživljenje prve istraživane godine u testu Jastrebarsko kod svih populacija bilo iznimno visoko, nije se mogla ispoljiti njihova genetska diferenciranost. Međutim, kasnije se ispoljila njihova međupopulacijska diferencijacija. Utvrđen je i određeni nivo fenotipske plastičnosti populacija, što je vidljivo iz statističke značajnosti efekata interakcije blokova s populacijama (tablica 54).

U pokusnom nasadu Koška također su uočene statistički značajne razlike između populacija, kao i značajna fenotipska plastičnost populacija (tablica 55). Dok su u pokusnom nasadu Vrbanja statistički značajne bile samo efekti interakcije blok × populacija i blok × familija (tablica 56). Utvrđena statistička značajnost efekta interakcije blok × familija upućuje

kako su genetske razlike između populacija najvjerojatnije potisnute zbog velike heterogenosti okolišnih uvjeta u nasadu Vrbanja.

4.3.3. Zimska retencija lišća

Ovim su istraživanjem potvrđene međupopulacijske genetske razlike, te značajna unutarpopulacijska genetska varijabilnost za ovo svojstvo kod hrasta lužnjaka (tablica 57). Međutim, interakcije bloka s familijama i populacijama nisu bile statistički značajne, što upućuje kako je ovo svojstvo pod velikom genetskom kontrolom, što potvrđuje i visok koeficijent CV_A (tablice 41–43), kao i istraživanje HERZOG i KRABEL (1996).

4.3.4. Intenzitet zaraze hrastovom pepelnicom

Kako bi se donekle suzbio negativan utjecaj pepelnice, moguće je identificirati populacije i/ili familije koje posjeduju veću razinu otpornosti, te njihov genetski materijal proširiti u sastojine koje su pod utjecajem opetovanih jakih zaraza, ako ekološki uvjeti to dozvoljavaju.

Genetska raznolikost unutar i između populacija za svojstvo intenziteta zaraze hrastovom pepelnicom utvrđena je 2012. godine (tablica 58), kada je i intenzitet zaraze bio znatno viši (slika 22). 2011. godine statistički visoko značajna bila je interakcija blok × populacija ukazujući na ovisnost položaja populacija unutar nasada o intenzitetu zaraze (tablica 58). Kada se populacije promatraju zasebno (tablice 44 i 45) može se uočiti variranje nasljednosti i koeficijenta CV_A po populacijama i između analiziranih godina. Populacije su najvjerojatnije zbog razlika u počecima listanja imale različite intenzitete zaraze (slike 22 i 23), odnosno veći intenzitet zaraze imale su kasnije listajuće populacije. Također su vjerojatno i mikroklimatske prilike unutar blokova uzrokovale statističku značajnost interakcije. Detaljne analize tih mikrostanišnih razlika nisu provedene i može se samo pretpostaviti da su se stanišni uvjeti blokova mogli razlikovati zbog različitog položaja populacija u blokovima i utjecaja starije sastojine hrasta lužnjaka koja se nalazi uz pokusni nasad.

4.3.5. Fenologija listanja

Statistički značajan efekt populacija ukazuje na genetski uvjetovane razlike u početku listanja između populacija. Visok parametar kvantitativne genetske diferencijacije također jasno ukazuje na postojanje međupopulacijske genetske diferencijacije. Ovdje su opet efekti interakcija familija i populacija s blokovima bili statistički značajni što ukazuje na fenotipsku plastičnost populacija, odnosno na mogućnost njihove prilagodbe na mikro razlike koje se pojavljuju u nasadu Jastrebarsko (tablica 59).

BALIUCKAS i PLIURA (2003, 2008) za svojstvo fenologije listanja analizirajući litvanske populacije hrasta lužnjaka u tri pokusna nasada utvrdili su statističku značajnost efekata familija i populacija, odnosno i unutar populacijsku varijabilnost i međupopulacijsku diferencijaciju. Kako navode BALIUCKAS i PLIURA (2003), međupopulacijsku diferencijaciju najvjerojatnije je uzrokovalo pristrano oprašivanje rano listajućih populacija sa ranolistajućim i obrnuto, kasnolistajućih sa kasnije listajućim populacijama. Također, tim je istraživanjem utvrđena i visoka korelacija između početka listanja i oštećenosti kasnim proljetnim mrazem.

U istraživanju JENSEN (2000) utvrđena je visoka unutarpopulacijska varijabilnost fenologije listanja, kao i u ovom istraživanju gdje je nivo statističke značajnosti efekta familija unutar populacija bio viši od efekta populacija, ukazujući na visoku razinu unutarpopulacijske genetske varijabilnosti za ovo svojstvo (tablica 59). JENSEN (2000) je utvrdio i stabilnost početka listanja populacija između godina, kao što je slučaj i u ovom istraživanju (slika 23).

JENSEN i HANSEN (2008) izvješćuju kako su populacijske razlike za svojstvo fenologije listanja bile statistički značajne za populacije hrasta lužnjaka sa šireg područja rasprostranjenosti (sjeverne, srednje i zapadne Europe). Visok parametar kvantitativne genetske diferencijacije (Q_{ST}) za svojstvo fenologije, kako navode autori označava kako je prirodna selekcija bila glavni čimbenik oblikovanja strukture populacija za ovo svojstvo, te isto tako upućuje na jaku adaptaciju populacija njihovim lokalnim uvjetima. Iako ovo istraživanje obuhvaća značajno manje područje rasprostranjenosti nego kod JANSEN i HANSEN (2008), također je uočen visok Q_{ST} (tablica 59). To upućuje na utjecaj prirodne selekcije na ovo svojstvo, čak i na geografski manjem području kao što je Hrvatska.

4.3.6. Oštećenost biljaka kasnim proljetnim mrazem

Populacije su za svojstvo oštećenosti kasnim proljetnim mrazem pokazale znatnu ovisnost položaja populacija unutar pokusnog nasada, što pokazuje kako su zapravo mikookolišni uvjeti, poput prostornog položaja i utjecaja okolne starije sastojine hrasta lužnjaka uzrokovali razlike u svjetlosno–toplinskim uvjetima i time u intenzitetu oštećenja. Međupopulacijska genetska diferencijacija nije utvrđena (tablica 60), iako se iz slika 23 i 24 može naslutiti kako su kasnije listajuće i intermedijarne populacije bile više oštećene kasnim proljetnim mrazem od ranolistajućih. Međutim, razlike nisu bile dovoljne za utvrđivanje statističke značajnosti genetskih razlika između populacija.

BALIUCKAS i PLIURA (2003) utvrdili su statistički značajan efekt populacija za svojstvo oštećenosti biljaka kasnim proljetnim mrazem. Međupopulacijske razlike objašnjene su početkom listanja, no kod litvanskih populacija najoštećenije su bile intermedijarne populacije, što autore navodi na konstataciju kako će selekcija ići u smjeru favoriziranja rano i kasno listajućih populacija.

Na sjeveru Europe kasni proljetni mraz nema veliki utjecaj na hrast lužnjak, već rani jesenski mraz, stoga kao svojstvo nije značajnije analizirano. No istraživanje JENSEN (2000) uključilo je evidenciju oštećenosti biljaka kasnim proljetnim mrazem, gdje su ranije listajuće nordijske populacije bile više oštećene mrazem.

4.4. Obrazac međupopulacijske kvantitativne genetske diferencijacije

Sva dosadašnja istraživanja provedena na hrastu lužnjaku u Hrvatskoj slažu se s postojanjem genetske diferencijacije populacija, međutim rezultati o obrascu genetske diferencijacije nisu ujednačeni. S jedne strane, veći dio autora zaključio je da međupopulacijska diferencijacija nije odgovarala geografskom obrascu, već da utvrđeni karakter diferencijacije ukazuje na ekotipski obrazac genetskih razlika između provenijencija, koji podrazumijeva diferencijaciju s obzirom na slične okolišne uvjete koji vladaju u pojedinim sastojinama (FRANJIĆ 1994, 1996, 1996A; FRANJIĆ i ŠKVORC 2001; BOGDAN i dr. 2009; IVANKOVIĆ i dr. 2011; POPOVIĆ i dr. 2014). S druge strane, neka istraživanja ukazala su na geografsku diferencijaciju odnosno razlike između sjemenskih zona (ROTH 2003; KRSTINIĆ i dr. 1996).

Analizirane populacije u ovom istraživanju predstavljaju zapravo područje rasprostranjenosti hrasta lužnjaka u Hrvatskoj, a postojanje međupopulacijskih genetskih razlika nameće pitanje na koji se način te populacije međusobno razlikuju. Sa ciljem determinacije obrasca genetske diferencijacije, pristupilo se daljnjim analizama multivarijatnom regresijskom stabalnom analizom (MRT). Prilikom analize genetički čimbenici, odnosno populacije svrstavaju se u klastere s obzirom na klimatske parametre matičnih sastojina iz kojih potječu i na temelju vrijednosti standardizirane aritmetičke sredine kvantitativnih svojstava.

4.4.1. Visinski rast

Utvrđena genetska diferencijacija između populacija sa svojstvo visinskog rasta barem se djelomično može objasniti klimatskim uvjetima koji su prosječno vladali u njihovim matičnim sastojinama, u referentnom razdoblju od 1981. do 2009. godine. Naime, populacije koje potječu s područja gdje period bez mraza započinje kasnije (tj. kasni proljetni mrazevi se u prosjeku pojavljuju do kasnijeg datuma tekuće godine) imale su prosječno najslabiji rast (slika 25). S druge strane, populacije koje potječu s lokacija gdje period završetka proljetnih mrazeva započinje prosječno ranije, a istovremeno i rani jesenski mrazevi nastupaju ranije imale su najveće prosječne visine (slika 25). Zbog toga se opravdano može pretpostaviti kako je genetska kompozicija istraživanih populacija oblikovana prirodnom selekcijom za veću otpornost prema kasnim proljetnim odnosno ranim jesenskim mrazevima. Vjerojatno je da su

populacije otpornije na kasne proljetne mrazeve genetski oblikovane za kasniji početak rasta (radi izbjegavanja kasnih mrazova), dok su populacije otpornije na rane jesenske mrazeve genetski oblikovale na raniji završetak rasta. Isto tako, opravdano je za pretpostaviti kako je u istraživanom razdoblju na lokaciji pokusnog nasada Jastrebarsko dominantan selekcijski pritisak na visinski rast bio upravo utjecaj ranih jesenskih mrazeva. Stoga su i bolje prilagođene populacije na takav selekcijski pritisak (HR: 88, 160 i 317 – slika 25) imale najveći visinski rast u nasadu Jastrebarsko jer su ranije započinjale s rastom ali i završavale ranije, te zbog toga bolje iskoristile trajanje vegetacijskog perioda, pritom izbjegavajući negativne posljedice jesenskog mraza.

Analize visinskog rasta populacija u pokusnom nasadu Koška (BOGDAN i dr. 2016, u tisku) također ukazuju na značaj klimatskih uvjeta područja s kojeg potječu. S obzirom kako je taj pokusni nasad bio izložen dugotrajnom sušnom razdoblju, tada se može opravdano pretpostaviti kako je tamo sušni stres dio dominantan selekcijski pritisak. Zbog toga su prosječno niži visinski rast imale populacije koje potječu iz relativno humidnijih staništa. One populacije koje su bolje prilagođene aridnijim uvjetima imale su prosječno veći visinski rast. Na slične zaključke ukazuju i dobiveni rezultati ovog istraživanja (slika 34).

Klinalni obrazac razdvajanja za svojstvo rasta utvrđen je kod populacija koje su potjecale iz šireg područje Europe (JENSEN 2000). Međutim kod usporedbe populacija s manjeg geografskog područja najčešće se ne uočava klinalni, već ekotipski obrazac razdvajanja (BALIUCKAS i dr. 2001; JENSEN i HANSEN 2008; BALIUCKAS i PLIURA 2003), što je i ovdje potvrđeno. JENSEN i HANSEN (2008) navode kako se inferioran rast populacija hrasta lužnjaka iz centralnog i zapadnog dijela Europe može pojasniti njihovim kasnijim završetkom rasta (engl. *budset*), jer na njih značajno utječe rani jesenski mraz koji se na sjeveru Europe pokazao kao limitirajući faktor za visinski rast.

4.4.2. Preživljenje

Genetska diferencijacija utvrđena je i za svojstvo preživljenja (tablica 53 i slika 26). Prvi klaster čine populacije HR 609 i HR 330 koje prema Hargreaves-ovoj referentnoj evaporaciji dolaze iz relativno humidnijeg staništa. Usporedbom slika 25 i 26 može se zaključiti kako su populacije (HR 609 – UŠP Buzet i HR 330 – UŠP Zagreb) imale ispodprosječno preživljenje i visinski rast u odnosu na prosjek svih populacija u pokusnom nasadu Jastrebarsko.

Kako su sve populacije imale izrazito visoko preživljenje u 2010. godini, za utvrđivanje obrasca razdvajanja zanimljivije je obratiti pozornost na 2011. i 2012. godinu. U te dvije godine dolazi do značajnijeg pada preživljenja populacija koje potječu iz humidnijih područja, dok su prosječno najbolje preživljenje ostvarile su populacije koje potječu iz relativno suših, ali zimi relativno toplijih staništa. Te su populacije vrlo vjerojatno bolje prilagođene uvjetima koji vladaju na pokusnom nasadu Jastrebarsko. Kako je već napomenuto, prema izvještaju DHMZ-a (http://klima.hr/ocjene_arhiva.php), 2011. godina bila je vrlo sušna i vruća što je značajno utjecalo na lošije preživljenje populacija iz relativno humidnijih staništa, dok istovremeno takvi vremenski uvjeti nisu negativno utjecali na populacije prilagođene toplijim i sušnim staništima.

BOGDAN i dr. (2016, u tisku) također su utvrdili ovisnost preživljenja o humidnosti staništa iz kojih potječu analizirane populacije. U tom su istraživanju niže preživljenje također imale populacije HR 330 i HR 609, što samo potvrđuje značajnost klimatskih uvjeta staništa s kojih potječu populacije. JENSEN i HANSEN (2008) navode kako je lošije preživljenje uzrokovano kasnijim završetkom rasta, ta kako na te populacije negativan utjecaj ima rani jesenski mraz. No, oni su istraživali populacije hrasta lužnjaka sa šireg Europskog područja. Iz svega navedenog možemo zaključiti kako su osnovni selekcijski pritisci oblikovanju genetske strukture sastojina bili ekološki uvjeti staništa iz kojih potječu.

4.4.3. Zimska retencija lišća

Iako je zimska retencija lišća ponajprije genetski uvjetovano svojstvo namjera je bila utvrditi obrazac genetskog razdvajanja populacija s obzirom na klimatske parametre matičnih sastojina iz kojih potječu istraživane populacije. Utvrđeni obrazac međupopulacijske diferencijacije (slika 27) prvo ukazuje na razlike uvjetovane nadmorskom visinom, dok je sljedeći nivo razdvajanja uzrokovan prosječnom količinom oborina tijekom ljetnog perioda. Tako su populacije iznad 107 m n.v. imale više ocjene retencije, dok su sastojine iz područja sa većom količinom oborina od svibnja do rujna imale manje odumrlog lišća na granama. HERZOG i KRABEL (1996) u svom istraživanju navode kako je na međupopulacijske razlike najvjerojatnije utjecala selekcija i sustav oplodnje.

Kada promatramo populacije iz klastera 2 (HR: 163, 368, 318, 317, 203, 330 i 609 – tablica 2 i slika 27) možemo uočiti kako one pripadaju zapadnom dijelu rasprostranjenosti hrasta lužnjaka u Hrvatskoj. Dakle, osim što je u matičnim staništima tih populacija više

oborina tijekom ljetnog perioda, najvjerojatnije je na ovakav obrazac razdvajanja utjecao i pristrani sustav oplodnje. Osim toga, ovo svojstvo tijekom cijelog istraživanog perioda ima visok i ujednačen parametar kvantitativne genetske diferencijacije (tablica 57), što također potvrđuje visoku genetsku uvjetovanost ovog svojstva.

4.4.4. Intenzitet zaraze pepelnicom

Prva razdioba za svojstvo intenziteta zaraze hrastovom pepelnicom izdvojila je četiri populacije (slika 28) čiji je intenzitet zaraze bio ispodprosječan, a koje potječu sa humidnijih staništa (HR: 609, 330, 627 i 203). Niže vrijednosti *Eref* varijable ukazuju na potencijalno humidnija staništa, odnosno obrnuto više vrijednosti evaporacije staništa (*Eref*) ukazuju na više temperature, veći raspon ekstremnih mjesečnih temperatura i na potencijalno suše stanište, osobito ako gubitak vode transpiracijom biljke ne mogu nadoknaditi oborinama ili podzemnom vodom.

Sa takvih staništa populacije su se nadalje grupirale s obzirom na prosječnu temperaturu najtoplijeg mjeseca. Populacije HR 12, HR 16 i HR AM (UŠP Vinkovci) potječu sa staništa gdje je prosječna temperatura najtoplijeg mjeseca iznad 22,2 °C, što upućuje na relativno toplija staništa, potencijalno suša gdje se hrastova pepelnica vjerojatno ne razvija u značajnom intenzitetu, te su one bile i najintenzivnije zaražene pepelnicom (slika 28).

Populacije HR 12 i HR AM su kasnije listajuće, dok je populacija HR 16 intermedijarna, a GLAVAŠ (1999) iznosi kako pepelnica inficira list dok je još mlad jer hifama prodire u tkivo lista izravno probijajući kutikulu, samo dok je ona tanka na mladom lišću. Stoga populacije koje su imale najveći intenzitet zaraze, nisu imale isti razvojni stadij lišća kada se dogodila zaraza. Staništa sa kojih potječu navedene populacije su aridnija i time relativno nepovoljna za masovni razvoj pepelnice. Kako navodi GLAVAŠ (1999) za razvoj pepelnice potrebna je visoka zračna vlaga, te izmjena toplog i vlažnog vremena za masovnu zarazu lišća hrasta pepelnicom. Staništa populacija HR 12, HR 16 i HR AM imaju karakteristike relativno aridnijih uvjeta, odnosno prosječno u tim staništima ne vladaju optimalni vremenski uvjeti za razvoj zaraze. S druge strane, populacije iz relativno humidnijih područja, gdje pepelnica ima optimalne uvjete za razvoj imale su niži intenzitet zaraze. Iz toga se može naslutiti kako je najvjerojatnije selekcija oblikovala genetsku strukturu populacija s obzirom na intenzitet zaraze hrastovom pepelnicom.

Iznadprosječan visinski prirast, ali i veći intenzitet zaraze pepelnicom imale su populacije koje dolaze sa područja gdje je period bez mraza duži, odnosno ima manje mraza (slika 29). Potrebno je naglasiti kako je nasad bio tretiran fungicidom radi sprječavanja zaraze pepelnicom, dva puta tijekom 2010. godine, te u svibnju 2011. i lipnju 2012. godine, što je najvjerojatnije razlog zašto pepelnica nije značajno utjecala na visinski prirast populacija.

Niži visinski prirast populacija koje potječu iz humidnijih područja najvjerojatnije je uzrokovan nedostatkom količine oborina u pokusnom nasadu, zbog sušnog perioda 2011. i 2012. godine (DHMZ, http://klima.hr/ocjene_arhiva.php), što je uvjetovalo lošiji prirast ali i nizak visinski rast tih populacija.

4.4.5. Fenologija listanja

Utvrđeni obrazac genetske diferencijacije populacija za svojstvo početka listanja (slika 30) ukazuje na obrazac razdvajanja geografskom dužinom, tj. zapadne populacije su prosječno ranije listale od istočnih. Istočne populacije (HR: 12, AM, 58 i 163) koje su u prosjeku najkasnije listale dolaze sa relativno toplijih staništa (tablica 3), te im je vjerojatno trebao duži period akumulacije dovoljne količine topline za prolistavanje, uz iznimku HR 16 koja je započela listati u prosječno vrijeme s obzirom na sve istraživane populacije.

U istraživanjima BALIUCKAS i dr. (2004), nije uočen klinalni obrazac genetskog razdvajanja švedskih populacija, međutim prilikom istraživanja danskih populacija varijabilnost je objašnjena s obzirom na udaljenost matičnih sastojina od Sjevernog mora, odnosno utjecajem maritimne klime na svojstvo prolistavanja populacija (JENSEN 2000). Kada se promatraju populacije sa šireg Europskog područja uočen je klinalni obrazac genetske diferencijacije uzrokovan geografskom širinom (JENSEN 2000; JENSEN i HANSEN 2008). Prilikom istraživanja fenologije litvanskih populacija (BALIUCKAS 2000; BALIUCKAS i PLIURA 2003) uočena je značajna međupopulacijska diferencijacija, ali bez uočenog klinalnog obrasca. U ovom je istraživanju potvrđen ekotipski obrazac genetskih razlika između populacija hrasta lužnjaka za svojstvo početka listanja na manjem geografskom području, kojeg su uglavnom utvrdili i ostali autori. Kod hrvatskih populacija, vjerojatni uzrok genetske diferencijacije je prirodna selekcija uslijed razlika u toplini staništa. Naime, rezultati ukazuju da je populacijama koje potječu s relativno toplijih staništa istočne Hrvatske u prosjeku potrebno više topline za početak listanja. Stoga u relativno hladnijim staništima zapadne Hrvatske ove populacije prosječno kasnije listaju.

Rezultati su pokazali kako intenzitet zaraze pepelnicom ovisi o fenologiji listanja (slika 31). Kasnije listajuće populacije imale su i veći intenzitet zaraze dok su ranije listajuće populacije imale niži intenzitet zaraze hrastovom pepelnicom. Iz toga se može zaključiti kako intenzitet zaraze pepelnicom ovisi o razvojnom stadiju lista u vrijeme kada su najpovoljniji uvjeti za razvoj pepelnice. Kako pepelnica preferira vlažno i toplo vrijeme, evidentno su uvjeti za infekciju tijekom 2011. i 2012. godine u nasadu Jastrebarsko bili najpovoljniji baš u vrijeme kada je razvitak lišća kasnije listajućih populacija tek započinjao. Iako intenzitet zaraze ovisi o fenologiji listanja, iz poglavlja 3.4.4. i slike 28 uočava se kako intenzitet zaraze ovisi o toplini staništa. Odnosno populacije najintenzivnije zaražene pepelnicom (HR 12, HR 16 i HR AM) potječu sa relativno toplijih staništa, potencijalno suših (slika 28), ali u različito vrijeme započinju sa listanjem (slika 30). Stoga ove populacije nisu imale isti razvojni stadij lišća kada se dogodila zaraza.

4.4.6. Oštećenost biljaka kasnim proljetnim mrazem

Međupopulacijska genetska diferencijacija populacija za ovo svojstvo nije bila statistički značajna (tablica 60). Međutim MRT analizom su populacije grupirane u klastere s obzirom na humidnost i toplinu staništa (*Eref* varijabla – slika 32). Istočnije populacije HR 12, HR 16, HR AM i HR 163 potječu sa sušeg odnosno toplijeg staništa, jer su *Eref* vrijednosti njihovih matičnih sastojina prosječno više. Ujedno, iste su populacije kasnijeg listanja (slika 30) i imale relativno veću oštećenost kasnim proljetnim mrazem (slika 32). Treba napomenuti kako je 2011. godine proljetni mraz u nasadu Jastrebarsko nastupio u svibnju (tj. vrlo kasno). Očito su u to vrijeme kasnije listajuće populacije bile u osjetljivijim fazama listanja i vjerojatno im je zbog toga lisna masa relativno više oštećena.

KLEINSCHMIT (1993) navodi kako populacije koje ranije listaju su i najčešće podvrgnute štetnom utjecaju kasnog proljetnog mraza, što rezultira oštećenjima i deformacijom oblika debla. U istraživanjima litvanskih populacija hrasta lužnjaka utvrđena je vrlo visoka korelacija između početka listanja i njihove oštećenosti kasnim proljetnim mrazem (R^2 = 0,95) (BALIUCKAS 2000). U tom se istraživanju pokazalo kako kasni mraz najviše utječe na ranije listajuće familije.

Opravdano je za pretpostaviti, kako bi eventualnom pojavom kasnog proljetnog mraza u nešto ranijem periodu (npr. od sredine do kraja travnja) više bile oštećene populacije koje listaju ranije, dok bi kasnije listajuće izbjegle značajna oštećenja. To treba imati na umu

prilikom davanja preporuka za korištenje šumskog reprodukcijskog materijala iz istraživanih sjemenskih sastojina u obnovi šumskih staništa, gdje proljetni mrazevi predstavljaju učestali selekcijski pritisak.

4.5. Interakcija genotip × okoliš

Kada genotip (populacija/familija/klon) iskazuje različite fenotipske vrijednosti ovisno o različitim okolišnim uvjetima, to se naziva interakcija genotip × okoliš (engl. *Genotipe by Environment Interaction*). Sposobnost biljaka da fenotipski reagiraju na različite okolišne uvjete naziva se fenotipska plastičnost (engl. *phenotypic plasticity*). Genotipovi (populacije/familije) posjeduju različiti nivo plastičnosti, a kada mijenjaju rang s obzirom na vrijednosti fenotipskog svojstva u različitim okolišnim uvjetima, tada postoji interakcija genotip × okoliš. Utvrđivanje te interakcije važno je za korištenje istraživanih genotipova (populacija/familija), davanje preporuka prilikom određivanja sjemenskih zona, očuvanja genetske raznolikosti, te prometovanja šumskim reprodukcijskim materijalom (BOGDAN 2009; ERIKSSON i dr. 2006; WHITE i dr. 2007).

4.5.1. Visinski rast i preživljenje

Analiza varijance provedena zbirno za sva tri pokusna nasada za svojstvo visinskog rasta (tablica 61) pokazala je kako je efekt nasada bio visoko statistički značajan, što ukazuje na izrazite razlike u visinskom rastu istraživanih populacija na različitim staništima pokusnih nasada. Uspoređujući klimatske parametre pokusnih nasada iz tablica 4 i 5 (CLIMATEEU) pokusni nasad Jastrebarsko ima najveću količinu oborina tijekom vegetacijskog perioda, a i prema Hargreaves-ovoj referentnoj evaporaciji spada u područje sa najhumidnijim uvjetima. Također se nalazi na najvišoj nadmorskoj visini gdje najveći utjecaj na razvoj biljaka ima podzemna voda. Pokusni nasad Koška ima najnižu godišnju količinu oborina, najnižu prosječnu godišnju temperaturu zraka, te najniže prosječne temperature najtoplijeg i najhladnijeg mjeseca. Također ima i najmanji broj dana bez mraza. Najviša prosječna godišnja temperatura zraka je izračunata za nasad Vrbanja, koji se prema Hargreaves-ovoj referentnoj evaporaciji nalazi u aridnijem području do ostala dva testa, međutim ovdje veliki utjecaj na rast i razvoj biljaka ima poplavna voda.

Analizom varijance utvrđena je i visoka statistička značajnost efekta interakcije nasada s populacijama, što ukazuje na fenotipsku plastičnost populacija i postojanje interakcije populacije × okoliš.

Iz rezultata multivarijatne regresijske analize (slika 34) može se vidjeti kako su populacije koje dolaze iz relativno najhumidnijih staništa imale prosječno manje visine u

nasadima Jastrebarsko i Koška, dok su u nasadu Vrbanja bile iznadprosječne (klaster 1 – slika 34). To je najvjerojatnije uzrokovano okolišnim uvjetima koji su tada vladali u nasadima. Mikrookolišni uvjeti koji su vladali u nasadu Vrbanja, gdje zaostaje poplavna voda, stvorili su humidnije uvjete i time bolje uvjete za rast populacija HR 609, HR 330, HR 627 i HR 203. Populacije iz kontinentalnijeg područja (HR: 58, 88 i 387) imale su nadprosječne vrijednosti za visinski rast u pokusnom nasadu Jastrebarsko, dok su u nasadima Koška i Vrbanja bile ispodprosječne. Kontinentalnije populacije u matičnim sastojinama imaju više razlike između najtoplijeg i najhladnijeg mjeseca. Populacije koje potječu iz staništa s manjim temperaturnim razlikama imale su nadprosječne visine u nasadima Koška i Vrbanja (HR: 12, 318, 368, 160, 577, 163 i 389). Razlike u prosječnim temperaturama između najtoplijeg i najhladnijeg mjeseca u pokusnom nasadu Jastrebarsko su najniže (tablica 5), što vjerojatno povoljno djeluje na rast populacija koje potječu iz područja gdje su te razlike više. Također, populacije koje dolaze iz relativno najtoplijih područja, su imale prosječno više visine u nasadima Koška i Vrbanja gdje su klimatske prilike u analiziranom razdoblju bile sličnije prilikama njihovih matičnih sastojina. Tijekom 2011. i 2012. godine na području Hrvatske zabilježene su ekstremne temperature i suše (DHMZ http://klima.hr/ocjene_arhiva.php), te su zbog takvih klimatskih prilika prosječno više visine u nasadima Koška i Vrbanja imale populacije koje dolaze iz relativno najtoplijih područja.

Za ovo svojstvo utvrđena je niska nasljednost populacija hrasta lužnjaka (tablice 29–33), no kako je već ranije napomenuto visinski rast biljaka je pod velikim utjecajem kompleksnih interakcija raznovrsnih okolišnih čimbenika, te njihovo djelovanje može uzrokovati visoku razinu fenotipke varijabilnosi i „zamaskirati“ genetski uvjetovane razlike. To je vjerojatno uzrok izostanka statističke značajnosti za efekt populacija, dok je istovremeno efekt nasad × populacija bio statistički visoko značajan (tablica 61).

U istraživanju BALIUCKAS i PLIURA (2003) utvrđena je statistička značajnost efekata nasada i blokova za litvanske populacije hrasta lužnjaka ukazujući na mogućnost populacija da se prilagode različitim okolišnim uvjetima. Utvrđena statistička značajnost efekta nasad × populacije za svojstvo visinskog rasta u ovom istraživanju, ukazuje na postojanje specifične adaptacije hrvatskih populacija hrasta lužnjaka na različite stanišne uvjete. Ovim istraživanjem nije utvrđena statistička značajnost efekta populacija kada se uspoređuju sva tri pokusna nasada (tablica 61), dok su fiksni efekti nasada i blokova (tablica 62) kao i kod litvanskih populacija bili statistički značajni.

U istraživanju odgovora danskih populacija na različitu dostupnost vlage u tlu (visoku i umjerenu) uočeno je kako su populacije pokazale isto rangiranje za svojstvo visinskog rasta (JENSEN i HANSEN 2010). No, u ovom istraživanju određene populacije (npr. HR 330 i HR 609) pokazuju iznimno različito rangiranje ovisno o nasadima, što upućuje na njihovu prilagođenost specifičnim uvjetima matičnih staništa.

KLEINSCHMIT i SVOLBA (1982) iz BALIUCKAS i PLIURA (2008) za populacije breze utvrdili su kako se interakcija između genotipa i okoliša povećava sa smanjenjem genetske varijabilnosti. Odnosno prilagodbom na specifične uvjete okoliša smanjuje se genetska raznolikost populacije, te se pod utjecajem okoliša određeni aleli fiksiraju u populacijama, a ostali se gube. Dolazi do povećanje frekvencije određenog alela i smanjenja raznolikosti.

Za svojstvo preživljenja statistički visoko značajni bili su: efekt nasada (tablica 64), kao i interakcije nasada s populacijama (tablica 63) ukazujući na velike razlike u preživljenju populacija ovisno o specifičnim stanišnim uvjetima koji su u analiziranom razdoblju vladali u pokusnim nasadima.

Populacije podrijetlom iz relativno najhumidnijih lokaliteta imale su prosječno najlošije preživljenje u nasadima Jastrebarsko i Koška (klaster 1 – slika 35). Populacije koje potječu sa lokaliteta prosječne humidnosti (klaster 2 – slika 35) su u nasadima Koška i Vrbanja imale niže preživljenje (HR: 203, 627 i 387). Populacije iz relativno najaridnijih, a istovremeno u zimskom razdoblju relativno hladnijih lokaliteta (tj. sa staništa veće tzv. kontinentalnosti) imale su relativno najbolje preživljenje u nasadu Koška (klaste 4 – slika 35).

Najvjerojatnije su sušne godine (2011. i 2012.) u nasadima Jastrebarsko i Koška, uzrokovale smanjeno preživljenje onih populacija koje su prilagođenije relativno najhumidnijim staništima. Međutim, u ova dva nasada sušne godine nisu imale podjednak intenzitet stresa. Naime, u Koški je, osim manje količine padalina, razina podzemnih voda bila ispod mjerljivih dva metra, pa se može zaključiti da su najveću relativnu sušu istraživane populacije iskusile upravo u nasadu Koška. Zbog toga su u tom nasadu najbolje preživljenje pokazale populacije koje potječu iz relativno najaridnijih lokacija (najistočniji dijelovi Hrvatske – HR: 12, 16, 58 i AM), dok su u Jastrebarskom u kategoriju populacija s nadprosječnim preživljenjem ušle i one koje potječu s relativno blaže aridnih lokacija (npr. HR: 163, 368, 387, 389). U nasadu Vrbanja je zbog zaostajanja poplavnih voda (u kraćem razdoblju na cijeloj površini nasada, a u najnižim dijelovima nasada i u duljem razdoblju) nastala specifična situacija, gdje su se istovremeno najboljima pokazale i populacije iz

relativno najhumidnijih kao i one iz relativno suhih staništa, vjerojatno uslijed položaja koje su imale u nasadu.

Za humidna područja gdje značajan utjecaj na uspjeh hrasta lužnjaka ima podzemna voda, kao u pokusnom nasadu Jastrebarsko materijal koji se preporučuje koristiti jer pokazuje nadprosječne vrijednosti za svojstva preživljenja i visnskog rasta sa populacije HR 88, HR 58, HR AM, HR 16 i HR 317. Također iz analiza (slika 25) može se zaključiti kako je broj dana bez mraza također vrlo važan faktor prilikom uspjeha populacija na ovakvom području. Iz tablice 3, navedene populacije potječu iz područja gdje je dužina perioda mraza bila slična onome na području pokusnog nasada Jastrebarsko (tablica 5).

Relativno aridnija područja, poput pokusnog nasada Koška trebala bi koristiti populacije iz područja s višim *Eref* vrijednostima (tablica 3), jer osim količine oborina na ovakvom području na uspjeh utječe i temperatura tijekom zime (neprikazani rezultati). Iz tablice 5 možemo vidjeti kako se pokusni nasad nalazi u području s relativno niskom prosječnom temperaturom najhladnijeg mjeseca. Za korištenje šumskog reprodukcijskog materijala prilikom obnove sastojina mogu se preporučiti populacije HR: 12, AM, 16, 160, 577 i 317.

Za područja gdje jak utjecaj ima poplavna voda, glavni ograničavajući faktor uspjeha populacija je zapravo količina oborina u njihovim matičnim sastojinama (neprikazani rezultati). Stoga za područja poput pokusnog nasada Vrbanja trebalo bi koristiti populacije koje imaju veću količinu oborina u matičnim staništima poput HR 609, HR 330, HR 368, HR 577, te lokalnu HR 12.

4.6. Analize DNK biljega

4.6.1. Jezgrini mikrosatelitni biljezi

Velika raznolikost alela i velika ukupna genetička raznolikost utvrđena je analizom deset mikrosatelitnih jezgrinih biljega prirodnih populacija hrasta lužnjaka. Raspon dužina umnoženih ulomaka za mikrosatelitne biljege (tablica 65) u skladu je sa navodima u literaturi iz koje su preuzeti (KAMPFER i dr. 1998; STEINKELLNER i dr. 1997b; DOW i ASHLEY 1996). Genetska raznolikost (očekivana heterozigotnost) za biljeg ssrQrZAG7 u ovom istraživanju (H_E = 0,849) je u sredini očekivane heterozigotnosti za taj biljeg koji navode NEOPHYTOU i dr. (2010), dok je vrlo visok u usporedbi s STEINKELLNER i dr. (1997b), (H_E = 0,65). Biljeg ssrQpZAG9 ima više vrijednosti H_E nego u istraživanju NEOPHYTOU I DR. 2010, a manje nego u STEINKELLNER i dr. (1997b). Vrijednosti očekivane heterozigotnosti u ovom istraživanju za biljege ssrQrZAG11, ssrQpZAG16 i ssrQrZAG101 su u sredini navedenih vrijednosti za te biljege u NEOPHYTOU i dr. (2010), dok su za biljege ssrQrZAG30, ssrQrZAG87, ssrQrZAG96 i ssrQrZAG112 vrijednosti H_E su u ovom istraživanju više od navoda u NEOPHYTOU i dr. (2010).

Razlike između očekivane heterozigotnosti (H_E) i očekivane heterozigotnosti nakon procjene nul-alela ($H_{E(null)}$) testirane Wilcoxon-ovim testom nisu bile signifikantne, što dovodi do zaključka kako nul-aleli nisu imali znatnog utjecaja na vrijednosti očekivane heterozigotnosti (tablica 66). Odstupanje od Hardy-Weinberg-ove ravnoteže Multilokusnim testom utvrđeno je kod sedam populacija (tablica 66). Populacije HR 609, HR 387 i HR 12 imale su najvišu statističku značajnost ($P_{(FIS)} < 0,001$) za vrijednosti koeficijenta samooplodnje (tablica 66) što ukazuje na povećano križanje u srodstvu. Populacija HR 609 nalazi se na lokaciji Šumarija Buzet, g.j. Mirna (tzv. Motovunska šuma) i geografski je izolirana od ostalih populacija hrasta lužnjaka u Hrvatskoj, što je najvjerojatnije uzrok manjka heterozigota i križanja u srodstvu. Populacije HR 387, HR 318, HR 163 i HR 577 posjeduju od dva od tri nul-alela za pojedine biljege (tablica 67) što bi mogao biti razlog odstupanja od Hardy-Weinberg-ove ravnoteže. Populacija HR 12 je kasnije listajuća populacija i kasnije cvate, što uzrokuje favoriziranu oplodnju s kasnije listajućim i cvjetajućim jedinkama, odnosno križanje samo unutar populacije, budući da su okolne populacije ranije listajuće. Kako navodi ŠAFAR (1966) između kasnije i ranije listajućih jedinki nema međusobnog križanja. Visoke koeficijente samooplodnje kod hrasta lužnjaka navode BALLIAN i dr. (2010), što tumače velikim antropogenim utjecajem i fragmentacijom sastojina kroz povijest. U svojoj

disertaciji KATIČIĆ BOGDAN (2012) navodi kako su nul-aleli značajno utjecali na visoke vrijednosti F_{IS} za mikrosatelitne biljege, što u ovom istraživanju nije slučaj (tablice 67 i 68).

Populacije koje su se značajno statistički razlikovale od većine ostalih populacija za dobivene vrijednosti genetičke diferencijacije F_{ST} nalaze se zapadnije (HR: 609, 389, 387 i 330 – tablica 68). Najviša vrijednost zabilježena je između para najudaljenijih populacija HR 609 i HR 16 (0,050) koja je bila i visoko statistički značajna. Niske vrijednosti genetičke diferencijacije utvrđene su između parova populacija koje se nalaze u nizinskom kontinentalnom dijelu rasprostranjenja u Hrvatskoj.

Vrijednost R_{ST} pokazao je kako veličine alela nisu imale bitnu ulogu pri evoluciji mikrosatelitnih biljega, odnosno sugerira kako indeks F_{ST} bolje opisuje genetičku diferencijaciju (tablica 69). Ovakvi rezultati u skladu su s teoretskim očekivanjima, gdje se kod geografski i genetički bližih populacija preferira F_{ST}, a R_{ST} kod visokodivergentnih i izoliranih populacija (NYBOM 2004). Također, kod malih uzoraka i malog broja lokusa F_{ST} bolje procjenjuje genetičku diferencijaciju (GAGGIOTTI i dr. 1999). Ovi rezultati ukazuju na značajan protok gena duž cijelog areala hrasta lužnjaka u Hrvatskoj. Analiza molekularne varijance (3.6.1.6.) potvrđuje ovakve rezultate budući kako je većina genetske raznolikosti uzrokovana unutarpopulacijskom raznolikošću (tablica 72).

Genetska udaljenost između populacija (D_{CHORD}) (tablica 70) i nezakorijenjeno stablo (slika 36) ukazuju kako je većina populacija nije genetski vrlo udaljena, te kako su populacije HR 609 i HR 387 više udaljene od ostalih. Ove dvije populacije također imaju najviši broj privatnih alela i visok udio homozigota (tablica 66), te se statistički značano razlikuju od većine ostalih populacija na temelju vrijednosti genetičke diferencijacije (tablica 68).

Prilikom testiranja genetičkog uskog grla kao najvjerojatniji model po kojem se odvijala evolucija istraživanih populacija odabran je dvofazni model mutacija mikrosatelitnih biljega (*TPM*) (tablica 71). Također, ranije je ustanovljeno kod analize R_{ST} kako model postupnih mutacija (*SMM*) nije dobar za opisivanje evolucije analiziranih biljega (tablica 69), a za neke populacije (HR: 389, 163, 160) su dobiveni suprotni rezultati ovisno o mutacijskom modelu (genetički usko grlo kod *IAM* i ekspanzija populacija kod *SMM*). Iz navedenog možemo zaključiti kako je TPM najvjerojatniji model po kojem su se odvijale mutacije odabranih mikrosatelitnih biljega. Dosadašnji empirijski podaci potvrđuju kako većina mikrosatelita mutira u skladu s dvofaznim modelom (DI RIENZO i dr. 1994). Tim modelom

utvrđeno je kako se tri populacije nalaze u ekspanziji (HR: 609, 387 i 577), odnosno uočen je nedostatak očekivane heterozigotnosti u odnosu na heterozigotnost populacije koja je u ravnoteži mutacija i pomaka. Iste populacije imaju vrlo visok F_{IS}, odnosno suvišak homozigota (tablica 66), što ukazuje na križanje u srodstvu, te se preporučuje daljnje praćenje kretanja genetičke raznolikosti zbog prisutnosti čimbenika koji negativno utječe na bioraznolikost populacija.

Analizom molekularne varijance utvrđena je visoka unutarpopulacijska raznolikost (98,53 %), te mali postotak varijance uzrokovan razlikama između populacija, ali statistički značajan (tablica 72), ukazujući na postojanje genetske diferencijacije. KATIČIĆ BOGDAN (2012) navodi kako AMOVA između istraživanih regija nije značajna, te kako općenito između regija nema diferencijacije. Takvi rezultati su očekivajući budući kako uzorkovanje za to istraživanje nije bio nepristrano jer su istraživani klonovi u klonskim sjemenskim plantažama iz tri susjedne regije, a selekcionirani su na nizu zajedničkih kriterija superiornosti. Budući kako u ovom radu istraživane populacije predstavljaju cijelokupno područje rasprostranjenosti hrasta lužnjaka u Hrvatskoj (od Istre do krajnjeg istoka), vrlo je vjerojatno za očekivati kako će postojati genetska diferencijacija između populacija.

Raznolikost jezgrinih mikrosatelitnih biljega između rodoslovnih linija, na temelju tri rodoslovne linije dobivene analizom kloroplastnih haplotipova (slika 41), je visoko statistički značajna (tablica 72), no iznosi samo 0,38 %. Takvi rezultati ukazuju kako gotovo nema nikakve povezanosti između raznolikosti haplotipova i raznolikosti jezgrinih biljega. To je za očekivati budući da PETIT i dr. (2005) navode kako je diferencijacija majčinski nasljeđenih biljega uglavnom neovisna o diferencijaciji utemeljenoj na jezgrinim biljezima. Isto navodi i KATIČIĆ BOGDAN (2012) kako je zapravo jak protok gena peludom izbrisao nekadašnje obrasce jezgrine genetske raznolikosti uvjetovane rekolonizacijskim putevima.

Prostorna struktura genetske raznolikosti kod biljaka uvelike ovisi o sustavu oplodnje i životnom vijeku. Hrastovi spadaju u skupinu šumskog drveća koje su pretežito stranooplodne i dugog životnog vijeka, te kao takve pokazuju slabu prostornu strukturu procijenjenu biparentalno nasljeđenim biljezima (STREIFF i dr. 1998). Na takve rezultate vjerojatno djeluju dvije suprotstavljene sile (ograničeno rasprostranjenje teškim sjemenom koje uzrokuje križanje u srodstvu i dovodi od genetske diferencijacije, te jak protok gena peludom koji umanjuje genetsku diferencijaciju).

Korelacijom između matrica [F_{ST}/(1-F_{ST})] vrijednosti i prirodnih logaritama zemljopisnih udaljenosti [*ln*(km)] između svih parova analiziranih populacija utvrđeno je kako prostorna udaljenost ima signifikantan udio u raspodjeli genetičke raznolikosti istraživanih populacija (slika 37). Detektirano je kako se ukupno 19,6 % genetske diferencijacije između analiziranih populacija može objasniti njihovom prostornom udaljenošću (*IBD*). Prostornom autokorelacijskom analizom parovi jedinki svrstani su u 11 zemljopisnih razreda (tablica 73 i slika 38). Za prva dva razreda parovi jedinki su međusobno srodniji od slučajno odabranih jedinki. Parovi jedinki su srodniji do udaljenosti od 40 km, dok se srodnost između jedinki gubi nakon 245 km međusobne udaljenosti. U istraživanju KATIČIĆ BOGDAN (2012) prostornom autokorelacijskom analizom istraživani parovi jedinki nisu bili više međusobno srodni odnosno nesrodni od slučajno odabranih jedinki. Sve analizirane jedinke u tom istraživanju međusobno su udaljene do 43 km. Srodnost se utvrđivala na temelju klonova odabranih plus stabala u sjemenskim sastojinama, te je njihov položaj u prirodnim sastojinama na terenu gdje se nastojala izbjeći srodstvena povezanost, najvjerojatnije bila uzrok što parovi jedinki nisu bili više međusobno srodni odnosno nesrodni od slučajno odabranih jedinki.

Iz ovog istraživanja možemo uočiti kako su jedinke srodne upravo do granice oko 40 km međusobne udaljenosti, odnosno srodnije su jedinke unutar istraživanih sastojina, a srodnost prestaje nakon oko 240 km međusobne udaljenosti. Ovakvi rezultati su za očekivati budući da je područje istraživanja bilo široko, odnosno analizom je obuhvaćeno cijelokupno područje rasprostranjenosti hrasta lužnjaka u Hrvatskoj. Također, radi se o vrsti koja se sjemenom rasprostire na male udaljenosti, dok oprašivanje vjetrom uvjetuje jak i dalji protok gena.

Faktorijalna analiza korespondencije (slika 39) prikazuje projekciju jedinki u koordinatnome sustavu, a ukupna objašnjenost grafičkim prikazom je 23,71 %. Genotipovi jedinki populacija HR 609, HR 387, HR 330 i HR 160 vidljivo se izdvajaju u koordinatnome sustavu. Zemljopisno bliske populacije HR AM, HR 12 i HR 16 u koordinatnome su se sustavu grupirale zajedno, upućujući na genetsku sličnost, što je za očekivati budući je prostornom autokorelacijskom analizom utvrđeno kako su jedinke srodnije do 40 km međusobne udaljenosti (tablica 73 i slika 38). Ipak, ne postoji prava zemljopisna razdvojenost populacija.

4.6.2. Kloroplastni mikrosatelitni biljezi

Većina raznolikosti kod kloroplastnih mikrosatelitnih biljega zbog majčinskog nasljeđivanja rasprostranjena je između populacija, stoga su korisni prilikom analiza geografske strukture i diferencijacije populacija.

Ukupna genetska raznolikost (h_T) procijenjena na temelju devet kloroplastnih biljega i 325 jedinki za sve populacije dosta je visoka (h_T = 0,953, tablica 75). Ovaj rezultat u skladu je s rezultatima istraživanja KATIČIĆ BOGDAN (2012), koja navodi ukupnu raznolikost klonskih sjemenskih plantaža h_T = 0,945. I ostali parametri prosječne unutarpopulacijske raznolikosti, ukupne raznolikosti i genetske diferencijacije za sve tri metode usporedivi su između ova dva istraživanja. Manje odstupanje vrijednosti vidljivo je prilikom korištenja metode uređenih alela, uzimajući u obzir genetske sličnosti između haplotipova, odnosno udio zajedničkih alela (PONS i PETIT 1996) za vrijednost N_{ST} koji je u istraživanju KATIČIĆ BOGDAN (2012) statistički značajan na nivou od 0,05 do 0,01, upućujući tako na genetsku diferencijaciju između plantaža. Oba istraživanja imaju više vrijednosti raznolikosti u odnosu na genetsku diferencijaciju.

SLADE i dr. (2007) u svome istraživanju koristili su metodu polimorfizma duljine restrikcijskih fragmenata za analize četiri odsječka kloroplastne DNK (cpRFLP). Zbog korištene metode podaci nisu kompatibilni za usporedbu, no prosječna unutarpopulacijska raznolikost za hrast lužnjak u tom istraživanju iznosila je 0,200, dok je u ovom istraživanju h_S = 0,760. Također se i genetska diferencijacije razlikovala i bila dosta viša u istraživanju SLADE i dr. (2007) G_{ST} = 0,717, a ovdje G_{ST} = 0,203.

Istraživanje hrasta lužnjaka u Poljskoj (CHMIELEWSKI i dr. 2015), na 3938 jedinki i s 14 kloroplastnih mikrosatelitnih biljega izdvojilo je 67 haplotipova. Efektivni broj haplotipova iznosio je n_E = 5,543, a raznolikost haplotipova (H_E = 0,820). Rezultati se mogu usporediti sa rezultatima dobivenim u ovome istraživanju za ukupni prosjek svih jedinki za sve lokuse (n_E = 4,702; H_E = 0,760 – tablica 74). Očekivano su vrijednosti nešto niže zbog manjeg uzorka nego u istraživanju CHMIELEWSKI I DR. (2015).

DEGUILLOUX i dr. (2004) pokazali su kako je moguća usporedba različitih kloroplastnih markera (cpRFLP i cpSSR). Isto tako u novijem istraživanju CHMIELEWSKI I DR. (2015) navode kako unatoč većem broju haplotipova i većoj polimorfnosti kloroplastnih mikrosatelitnih biljega (u daljnjem tekstu cpSSR), naspram polimorfizma duljine restrikcijskih fragmenata (u daljnjem tekstu cpRFLP) jasno se mogu usporediti, te cpSSR

svrstati u tri glavne linije koje su potekle iz glacijalnih pribježišta (DUMOLIN-LAPÈGUE i dr. 1997; BORDÁCS i dr. 2002; PETIT i dr. 2002a).

U istraživanju SLADE i dr. (2007) nađeno je sedam halotipova i pet podtipova za cpRFLP za područje središnjeg Balkana. Kako su cpRFLP manje polimorfni od cpSSR očekivano je broj haplotipova bio značajno manji, no podrijetlo je isto (tri glavna glacijalna pribježišta). Kako autori navode, na području Hrvatske susreću se različite rekolonizacijske linije (balkanski i apeninski), te je za očekivati veliki broj haplotipova (n_h = 66, tablica 74), a također kako filogeografska struktura populacija nije utvrđena možemo pretpostaviti jak antropogeni utjecaj na sastojine hrasta lužnjaka.

Analiza molekularne varijance pokazala je visoko statistički značajnu raznolikost između populacija, što upućuje na genetsku diferencijaciju između populacija. Raznolikost između populacija za oba parametra (F_{ST} i R_{ST}) bila je veća od unutarpopulacijske raznolikosti. U istraživanju KATIČIĆ BOGDAN (2012) bio je obrnuto, odnosno raznolikost unutar klonskih sjemenskih plantaža bila je veća nego između njih. Takvi rezultati su zapravo za očekivati upravo zato što se radilo o potpuno drugačijem načinu i metodi uzorkovanja jedinki. Naime, radilo se o uzorkovanju selekcioniranih plus stabala u klonskim sjemenskim plantažama, od kojih se svaka sastoji od više populacija u užem smislu, s većim brojem jedinki, te je za očekivati veću unutarpopulacijsku raznolikost. Analogno tome u ovom istraživanju parametar R_{ST} nije značajno veći od vrijednosti parametra F_{ST} što upućuje na vjerojatni antropogeni utjecaj na hrast lužnjak u Hrvatskoj (ŠATOVIĆ osobno priopćenje).

Median-Joining mreža haplotipova (slika 40), te njihova genetska udaljenost i izrađeno stablo (slika 41), razdvojili su 66 detektiranih haplotipova u tri rodoslovne linije. Distribucija rodoslovnih linija po istraživanim populacijama prikazana na slici 42, ističe kako se linija L2, koja ujedno sadržava i najveći broj haplotipova (slika 41), prostire od istoka prema zapadu, linija L1 najviše je zastupljena u zapadnom dijelu rasprostranjenja hrasta lužnjaka u Hrvatskoj, dok L3 zauzima samo središnji dio areala.

4.7. Usporedba kvantitativnih fenotipskih svojstava i molekularnih analiza

Populacije hrasta lužnjaka obuhvaćene ovim istraživanjem na temelju fenotipskih svojstava analizom varijance (ANOVA) pokazale su nisku do umjerenu nasljednost i genetsku varijaciju unutar populacija, ali statistički značajnu. Međupopulacijska raznolikost je također bila statistički značajna. Strana istraživanja (JENSEN 2000; BALIUCKAS i dr. 2001; BALIUCKAS i PLIURA 2003) potvrđuju značajnu unutarpopulacijsku raznolikost i međupopulacijske razlike za hrast lužnjak.

Analizom molekularne varijance (AMOVA) jezgrinih mikrosatelitnih biljega utvrđeno je kako je većina genetske raznolikosti uzrokovana unutarpopulacijskom raznolikošću (tablica 72). Međutim, utvrđene su i statistički značajne razlike između populacija koje ukazuju na postojanje genotipske diferencijacije. To nije neobično budući kako u ovom radu istraživane populacije predstavljaju cjelokupno područje rasprostranjenosti hrasta lužnjaka u Hrvatskoj, odnosno šire geografsko područje. Genetska udaljenost između populacija ukazuje kako je većina populacija nije genetski vrlo udaljena, no prostorna udaljenost ima signifikantan udio u raspodjeli genetičke raznolikosti istraživanih populacija. Ipak faktorijalnom analizom korespondencije nije utvrđena prava zemljopisna razdvojenost populacija. Sve to ukazuje na snažan protok gena duž cijelog areala hrasta lužnjaka, te na antropogeni utjecaj. KLEINSCHMIT (1993) navodi kako se obrasci prirodne varijabilnosti uvelike preklapaju s antropogenim utjecajem prilikom transfera reprodukcijskog materijala tako gospodarski važne vrste u Europi, što uvelike komplicira određivanje prirodne varijabilnosti hrasta lužnjaka.

Obrazac genetske diferencijacije na temelju kvantitativnih fenotipskih svojstava ukazuje kako je na populacije djelovala prirodna selekcija s obzirom na različite klimatske uvjete njihovih matičnih staništa. Isto tako, utvrđeno je da između istraživanih populacija postoji i snažna izmjena gena (analizama DNK biljega). Istraživanje JENSEN i DEANS (2004) utvrdilo je postojanje ekotipova adaptiranih na klimatske uvjete unatoč snažnoj migraciji gena, što je također vidljivo i u ovom istraživanju uspoređujući dvije metode istraživanja genetske raznolikosti i diferencijacije (putem fenotipskih svojstava i DNK biljezima).

Istražujući postojanje interakcije genotipa s okolišem pristupilo se analizi varijance fenotipskih svojstava iz sva tri pokusna nasada. Utvrđena je ovisnost ispoljavanja fenotipskih svojstava o okolišnim parametrima potvrđujući postojanje interakcije genotipa s okolišem, i također ukazujući još jednom na postojanje ekotipskog obrasca diferencijacije populacija hrasta lužnjaka. KLEINSCHMIT (1993) navodi kako je kod hrasta lužnjaka učestala ekotipska varijacija uzrokovana prilagodbom populacija na specifične okolišne uvjete. Navodi još i

kako neke provenijencije imaju sposobnost prilagodbe vrlo različitim klimatskim uvjetima, te ističe kako se na području naše Slavonije nalaze upravo takve populacije. To saznanje ide u prilog i tvrdnjama HAMPE i PETIT (2005) kako populacije koje se nalaze na rubu distribucije areala vrste i obitavanju na nižim geografskim širinama (i bliže su glacijalnim pribježištima) posjeduju veliku genetsku raznolikost, a time i veću mogućnost prilagodbe različitim ekološkim uvjetima.

Većina raznolikosti kod kloroplastnih mikrosatelitnih biljega zbog majčinskog nasljeđivanja rasprostranjena je između populacija, stoga su korisni prilikom analiza geografske strukture i diferencijacije populacija. Raznolikost između populacija na temelju analize molekularne varijance kloroplastnih biljega u ovom istraživanju bila je veća od unutarpopulacijske raznolikosti. No, prosječna unutarpopulacijska raznolikost i genetska diferencijacija nisu bili statistički značajni što ukazuje kako između populacija nema genetske diferencijacije za ovaj tip biljega. Velik antropogeni utjecaj putem gospodarenja hrastom lužnjakom (MATIĆ 1990), najvjerojatniji je uzrok zašto istraživane sastojine nemaju u potpunosti prirodnu strukturu. Također, R_{ST} parametar nije bio značajno veći od vrijednosti parametra F_{ST} (tablica 76), što isto upućuje na jak antropogeni utjecaj na populacije hrasta lužnjaka u Hrvatskoj. Također, iako u ovom istraživanju nije utvrđena značajna diferencijacija između populacija, utvrđeno je 66 haplotipova. Mnoštvo cpSSR haplotipova nisu od velikog značaja prilikom istraživanja filogenetskog podrijetla vrsta i mogu predstavljati problem prilikom prikaza i interpretacije rezultata, no identifikacija specifičnih cpSSR haplotipova može naći svoju primjenu prilikom identifikacije šumskog reprodukcijskog materijala ili trgovine drvnom sirovinom (CHMIELEWSKI i dr. 2015), te ovi detektirani haplotipovi u budućnosti mogu poslužiti uprvo za navedenu svrhu.

PETIT i dr. (2002a) navode kako se području Hrvatske najvjerojatnije nalazilo sekundarno glacijalno pribježište, a SLADE i dr. (2007) kako se na području Hrvatske također susreću različite rekolonizacijske linije, jer su dva glavna pribježišta (Apeninsko i Blakansko) vrlo blizu, te je za očekivati bogatstvo genetske raznolikosti i mnoštvo haplotipova. Populacije koje danas obitavaju na rubovima arela iz kojih je krenula rekolonizacija imale su ključnu ulogu u očuvanju genetske raznolikosti i opstanka vrsta tijekom Kvartara (SVENNING 2003 iz HAMPE i PETIT 2005), stoga autori zaključuju kako su takve populacije od presudnog značaja za uspješno očuvanje unutar i međupopulacijske raznolikosti pod utjecajima očekivanih klimatskih promjena.

Neutralnim molekularnim biljezima u ovom istraživanju utvrđena je značajna unutarpopulacijska raznolikost, a između populacija postoji razlika, ali ona nije vrlo visoka.

Međutim, mikrosatelitni biljezi predstavljaju neutralne biljege neovisne o selekcijskim pritiscima, stoga ne mogu otkriti adaptaciju populacija na specifične ekološke uvjete. Budući da rezultati molekularnim biljezima ukazuju kao istraživane populacije nisu u potpunosti prirodne, možemo samo pretpostaviti kako se u doba kada još nije bilo organiziranog šumarstva u Hrvatskoj reprodukcijski materijal prenosio i na veće udaljenosti, a ne samo isključivo lokalno. To najvjerojatnije objašnjava rezultate dobivene molekularnim analizama DNK biljega koje upućuju na antropogeni utjecaj za istraživane populacije. Nasuprot tome, istraživanje provedeno na kvantitativnim fenotipskim svojstvima pokazuje kako su populacije postigle prilagodbu na specifične okolišne prilike uvjetovane humidnošću i toplinom stanišnih uvjeta, unatoč jakoj migraciji gena i antropogenom utjecaju.

5. ZAKLJUČCI

Provedenim istraživanjem genetske raznolikosti na potomstvu hrasta lužnjaka, koje potječe iz sedamnaest odabranih sastojina koje dobro reprezentiraju cjelokupan areal ove vrste u Hrvatskoj, i to putem analize kvantitativnih fenotipskih svojstava u pokusnim nasadima kao i putem analize DNK biljega, moguće je zaključiti slijedeće:

1. Kod istraživanih populacija hrasta lužnjaka utvrđena je statistički značajna, ali niska do umjerena razina unutarpopulacijske adaptivne genetske varijabilnosti. Uzroci tome mogu biti: 1) smanjena razina aditivne genetske varijance zbog djelovanja prirodne selekcije u odabranim sastojinama; 2) visoka razina neaditivne genetske varijance za istraživana fenotipska svojstva; 3) visoka okolišna varijanca zbog heterogenih uvjeta u pokusnim nasadima. Na prvi i treći uzrok ukazuju rezultati ovog rada, ali potvrda drugog uzroka zahtijeva dodatna istraživanja. Stoga se ne može donijeti konačan i nedvosmislen zaključak o razini adaptivne genetske varijabilnosti u populacijama hrasta lužnjaka u Hrvatskoj.
2. Utvrđene su statistički visoko značajne razlike između populacija za istraživana kvantitativna fenotipska svojstva kao i relativno visoka razina adaptivne genetske diferencijacije između populacija.
3. U pokusnim nasadima Jastrebarsko i Koška pozitivno su se istaknule populacije koje potječu iz relativno suših i toplijih staništa jer su uz prosječno najveće visine i visinske priraste imale i nadprosječno preživljenje. Uz to, te su populacije imale niski do umjeren intenzitet zaraze pepelnicom, te niži intenzitet oštećenosti biljaka kasnim proljetnim mrazem. Potrebno je naglasiti da su u spomenuta dva pokusna nasada u istraživanom vremenskom razdoblju vladali značajno suši i topliji uvjeti od uobičajenih prosjeka za te lokalitete.
4. U pokusnom nasadu Vrbanja pozitivne osobine ispoljile su populacije koje potječu iz relativno humidnijih, ali i iz relativno aridnijih staništa, usprkos tomu što referentni parametri za lokaciju tog pokusnog nasada ukazuju na relativno suše i toplije stanište. Vjerojatan razlog tomu je zaostajanje poplavne vode i položaj koje su populacije zauzimale u tom pokusnom nasadu.
5. Utvrđeni obrazac adaptivne genetske diferencijacije ukazuje na zaključak da se radi o ekotipskom obrascu tj. da se populacije genetski razlikuju uslijed različitog djelovanja prirodne selekcije u njihovim matičnim sastojinama, ponajviše s obzirom na razlike u vlažnosti i toplini staništa.

6. Utvrđena je statistički značajna i vrlo visoka razina unutarpopulacijske neutralne genetske raznolikosti svih istraživanih populacija. S druge strane, utvrđena je i statistički značajna neutralna genetska diferencijacija populacija, iako niske razine.
7. Utvrđen je značajan utjecaj migracija gena između istraživanih populacija. Taj utjecaj bio je visoko statistički značajan do udaljenosti od približno 40 km, a prisutan do udaljenosti od približno 245 km.
8. Utvrđen je nedostatak očekivane heterozigotnosti odnosno suvišak homozigota kod nekih istraživanih populacija. Povećan udio homozigota predstavlja potencijalnu opasnost zbog depresije uslijed križanja u srodstvu (tzv. inbreeding depresije). Stoga se preporučuje praćenje i razmatranje strategije očuvanja genetske raznolikosti takvih populacija.
9. Utvrđena je statistički značajna diferencijacija s obzirom na kloroplastne mikrosatelitne (cpDNK) biljege analizom molekularne varijance, ali ne i filogeografska strukura populacija. Stoga se može zaključiti kako je time potvrđen značajan antropogeni utjecaj na populacije hrasta lužnjaka putem prijenosa šumskog reprodukcijskog materijala.
10. Analizom cpDNK biljega ustanovljeno je postojanje 66 haplotipova koji su svrstani u tri rodoslovne linije (L1, L2 i L3). Navedene rodoslovne linije su karakteristične za različita geografska područja u Hrvatskoj. Rodoslovna linija L1 je zastupljenija u zapadnom dijelu Hrvatske, L2 u istočnoj Hrvatskoj, dok je linija L3 isključivo zastupljena u središnjem dijelu kontinentalne Hrvatske. Karakter zastupljenosti utvrđenih rodoslovnih linija, kao i postojanje njihovih tipičnih haplotipova omogućuju praktičnu primjenu korištenih cpDNK biljega za praćenje podrijetla reprodukcijskog materijala hrasta lužnjaka.

6. LITERATURA

ADDICOTT, F. T., 1982: Abscission. University of California Press, Berkeley, Los Angeles, London.

ALBERTO, F., J. NIORT, J. DERORY, O. LEPAIS, R. VITALIS, D. GALOP, A. KREMER, 2010: Population differentiation of sessile oak at the altitudinal front of migration in the French Pyrenees. Molecular Ecology, 19: 2626-2639.

AMBRIOVIĆ RISTOV, A. (GL. UR.), A. BROZOVIĆ, B. BRUVO MADARIĆ, H. ČETKOVIĆ, M. HERAK BOSNAR, D. HRANILOVIĆ, S. KATUŠIĆ HEĆIMOVIĆ, N. MEŠTROVIC RADAN, S. MIHALJEVIĆ, N. SLADE, D. VUJAKLIJA (UR.), 2007: Metode u molekularnoj biologiji, priručnik, Institut Ruđer Bošković, Zagreb.

AYAD, W. G., T. HODGKIN, A. JARADAT, V. R. RAO, 1995: Molecular genetic techniques for plant genetic resources. IPGRI. Rome, Italy.

ASHERSON, P., GRAEBNER, P. 1911: *Quercus* L. Synopsis der Mitteleuropaischen Flora, 4: 445-544. Leipzig.

BACILIERI, B. R., A. DUCOUSSO, A. KREMER, 1994: Genetic, Morphological, Ecological and Phenological Differentiation between *Quercus patreae* (Matt.) Liebel. and *Quercus robur* L. in mixed Stand of Northwest of France. Silvae Genetica, 44 (1): 1-10.

BALIUCKAS, V., 2000: Eco-genetic variation of the Lithuaninan *Quercus robur* L. Populations and Families and its Consequences on Gene Conservation. Baltic Forestry, 6(2): 78-80.

BALIUCKAS, V., T. LAGERSTROM, G. ERIKSSON, 2001: Within-population variation in juvenile growth rhythm and growth in *Quercus robur* L. and *Fagus sylvatica* L. Forest Genetics, 8(4): 259-269.

BALIUCKAS, V., A. PLIURA, 2003: Genetic variation and ecological sensitivity of *Quercus robur* populations and open pollinated families. Scandinavian Journal of Forest Research, 18: 305-319.

BALIUCKAS, V., A. PLIURA, 2008: Phenogenetic variation pattern in adaptive traits of *Betula pendula*, *Alnus glutinosa* and *Quercus robur* in Lithuania. Biologija, 54: 60–65.

BALLIAN, D., P. BELLETTI, D. FERRAZZINI, F. BOGUNIĆ, D. KAJBA, 2010: Genetic variability of Pedunculate Oak (*Quercus robur* L.) in Bosnia and Herzegovina. Periodicum Biologorum, 112(3): 353-362.

BALLIAN, D., D. KAJBA, 2011: Oplemenjivanje šumskog drveća i očuvanje njegove genetske raznolikosti, Šumarski fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Šumarski fakultet Univerziteta u Sarajevu, Zagreb – Sarajevo, str. 299.

BALLOUX, F., N. LUGON-MOULIN, 2002: The estimation of population differentiation with microsatelite markers. Molecular Ecology, 11: 155-165.

BANDELT, H.J., P. FORSTER, A. RÖHL, 1999: Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. Mol Biol Evol., 16(1): 37-48.

BARRENECHE, T., C. BODENES, C. LEXER, J.-F. TRONTIN, S. FLUCH, R. STREIFF, C. PLOMION, G. ROUSSEL, H. STEINKELLNER, K. BURG, J.-M. FAVRE, J. GLOSSL, A. KREMER, 1998: A genetic linkage map of *Quercus robur* L. (pedunculate oak)based on RAPD, SCAR, microsatellite, minisatellite, isozyme and 5S rDNA markers. Theor. Appl. Genet., 97: 1090-1103.

BECK, N. R., M. C. DOUBLE, A. COCKBURN, 2003: Microsatellite evolution at two hypervariable loci revealed by extensive avian pedigrees. Mol. Biol. Evol., 20: 54–61.

BELKHIR, K., P. BORSA, L. CHIKHI, N. RAUFASTE, F. BONHOMME, 2004: GENETIX 4.05, logici el sous Windows TM pour la génétique des populations, Laboratoire Génome, Populations, Interactions, CNRS UMR 5000, Université Montpellier II.

BESENDORFER, V., V. ZOLDOS, T. PESKAN, M. KRSNIK-RASOL, T. LITTVAY, D. PAPEŠ, 1996: Identification of potential cytogenetical and biochemical markers in bioindication of common oak forests. - Phyton (Horn, Austria), 36(3): 139-146.

BOGDAN, S., I. KATIČIĆ-TRUPČEVIĆ, D. KAJBA, 2004: Genetic Variation in Growth Traits in a *Quercus robur* L. Open-Pollinated Progeny Test of the Slavonian Provenance. Silvae Genetica, 53(5-6): 198-201.

BOGDAN, S., A. JELUŠIĆ, M. IVANKOVIĆ, 2009: Testiranje genetske varijabilnosti hrasta lužnjaka (*Quercus robur* L.) iz sjemenskih sastojina u Hrvatskoj – prvi rezultati. U: Matić, S., Anić, I. (ur.) Zbornik radova sa znanstvenog skupa "Šume hrasta lužnjaka u promijenjenim stanišnim i gospodarskim uvjetima", HAZU, IUFRO, Akademija šumarskih znanosti, Hrvatske šume d.o.o., 169-181, Zagreb.

BOGDAN, S., 2009: Genetika s oplemenjivanjem drveća i grmlja (interna skripta). Šumarski fakultet, Sveučilište u Zagrebu, p207.

BOGDAN, S., D. KAJBA, M. IVANKOVIĆ, J. GRAČAN, 2011: Očuvanje genetske raznolikosti crnog bora (*Pinus nigra* Arnold). U: Matić, S. (ur.) Šume Hrvatskog sredozemlja. Akademija šumarskih znanosti, Hrvatske šume d.o.o., Hrvatsko šumarsko društvo, 352-358, Zagreb.

BOGDAN, S., M. IVANKOVIĆ, M. TEMUNOVIĆ, M. POPOVIĆ, J. FRANJIĆ, I. KATIČIĆ BOGDAN, 2016: Adaptive genetic variability and differentiation of southeastern *Quercus robur* L. populations exposed to drought in a field trial. U TISKU

BORDÁCS, S., F. POPESCU, D. SLADE, U. M. CSAIKL, I. LESUR, A. BOROVICS, P. KÉZDY, A. O. KÖNIG, D. GÖMÖRY, S. BREWER, K. BURG, R. J. PETIT, 2002: Chloroplast DNA variation of white oaks in northern Balkans and in the Carpathian Basin. Forest Ecology and Management, 156: 197-209.

BOWCOCK, A. M., A. RUIZ-LINARES, J. TOMFOHRDE, E. MINCH, J. R. KIDD, L. L. CAVALLI-SFORZA, 1994: High resolution of human evolutionary trees with polymorphic microsatellites. Nature, 368: 455-457.

BRENDEL, O., D. LE THIEC, C. SCOTTI-SAINTAGNE, C. BODÉNÈS, A. KREMER, J.-M. GUEHL, 2008: Quantitative trait loci controlling water use efficiency and related traits in *Quercus robur* L.. Tree Genetics & Genomes, 4: 263-278.

CAVALLI-SFORZA, L.L., EDWARDS, A.W.F., 1967: Phylogenetic analysis: models and estimation procedures. Evolution, 32: 550–570.

CHAPUIS, M.P., A. ESTOUP, 2007: Microsatellite null alleles and estimation of population differentiation. Molecular Biology and Evolution, 24: 621 – 631.

CHEN, C., E. DURAND, F. FORBES, O. FRANÇOIS, 2007: Bayesian Clustering Algorithms Ascertaining Spatial Population Structure: A New Computer Program and a Comparison Study. Molecular Ecology Notes, 7: 747–756.

CHMIELEWSKI, M., K. MEYZA, I. J. CHYBICKI, A. DZIALUK, M. LITKOWIEC, J. BURCZYK, 2015: Chloroplast microsatellites as a tool for phylogeographic studies: the case of white oaks in Poland. iForest, 8: 765-771. – doi: 10.3832/ifor1597-008 [online 2015-07-19].

CLIMATE EU 4.63 http://www.ualberta.ca/~ahamann/data/climateeu.html

CONTRIB http://www.pierroton.inra.fr/genetics/labo/Software/Contrib/

CORANDER, J., P. WALDMANN, M.J. SILLANPÄÄ, 2003: Bayesian analysis of genetic differentiation between populations. Genetics, 163: 367-374.

CORANDER, J., J. SIRÉN, E. ARJAS, 2008: Bayesian spatial modeling of genetic population structure. Computational Statistics, 23: 111–129.

CORNUET, J.M., G. LUIKART, 1996: Description and power analysis of two tests for detecting recent population bottlenecks from allele frequency data. Genetics, 144: 1119-1127.

COUNCIL DIRECTIVE 1999/105/EC, 1999: Official Journal of the European Communities. p 24.

CURTU, A.L., O. GAILING, R. FINKELDEY, 2007: Evidence for hybridization and introgression within a species-rich oak (*Quercus* spp.) community. BMC Evolutionary Biology, 7(218): 1-15.

DALY, C., W. P. GIBSON, G. H. TAYLOR, G. L. JOHNSON, P. PASTERIS, 2002: A knowledge-based approach to the statistical mapping of climate. Climate Research, 22: 99-113.

DE'ATH, G., 2002: Multivariate regression trees: a new technique for modeling species–environment relationships. Ecology, 83(4): 1105–1117.

DEGEN, B., R. STREIFF, B. ZIEGENHAGEN, 1999: Comparative study of genetic variation and differentiation of two pedunculate oak (*Quercus robur*) stands using microsatellite and allozyme loci. Heredity, 83(5): 597-603.

DEGUILLOUX, M.-F., S. DUMOLIN-LAPÈGUE, L. GIELLY, D. GRIVET, R. J. PETIT, 2003: A set of primers for the amplification of chloroplast microsatellites in *Quercus*. Molecular Ecology Notes, 3: 24-27.

DEGUILLOUX, M.-F., M. H. PEMONGE, L. BERTEL, A. KREMER, R.J. PETIT, 2003a: Checking the geographical origin of oak wood: molecular and statistical tools. Molecular Ecology, 12: 1629-1636.

DEGUILLOUX, M.-F., M.-H. PEMONGE, R.J. PETIT, 2004: Use of chloroplast microsatellites to differentiate oak populations. Ann. For. Sci., 61: 825-830.

DEMESURE, B., B. COMPS, R. J. PETIT, 1996: Chloroplast DNA Phylogeography of the Common Beech (*Fagus sylvatica* L.) in Europe. Evolution, 50(6): 2515-2520.

DEMPSTER, A.P., N.M. LAIRD, D.B. RUBIN, 1977: Maximum likelihood from incomplete data via the EM algorithm. J Roy. Stat. Soc., B 39:1-38.

DERORY, J., C. SCOTTI-SAINTAGNE, E. BERTOCCHI, L. LE DANTEC, N. GRAIGNIC, A. JAUFFRES, M. CASASOLI, E. CHANCEREL, C. BODÉNÈS, F. ALBERTO, A. KREMER, 2010: Constrasting relations between diversity of candidate genes and variation of bud burst in natural and segregating populations of European oaks. Heredity, 104: 438–448.

DHMZ: Odstupanje od klimatskog prosjeka 1961.-1990. za razdoblje 2010.-2012. godine. http://klima.hr/ocjene_arhiva.php

DI RIENZO, A., A. C. PETERSON, J. C. GARZA, A. M. VALDES, M. SLATKIN, N. B. FREIMER, 1994: Mutational processes of simple-sequence repeat loci in human populations. USA. Proc. Nati. Acad. Sci., 91: 3166-3170.

DOW, B.D., M.V. ASHLEY, 1996: Microsatellite analysis of seed dispersial and parentage of saplings in bur oak, *Quercus macrocarpa*. Mol. Ecol., 5: 615-627.

DUCCOUSSO, A., H. MICHAUD, R. LUMARET, 1993: Reproduction and gene flow in the genus *Quercus* L. Ann. Sci. For., 50(1): 91-106.

DUCOUSSO, A., S. BORDACS, 2004: EUFORGEN Technical guideline for conservation and use for pendunculate and sessile oaks (*Quercus robur* and *Q. petrea*) International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy, p6

DUMOLIN, S., B. DEMESURE, R. J. PETIT, 1992: Inheritance of chloroplast and mitochondrial genomes in pedunculate oak investigated with an efficient PCR method. Teor. Appl. Genet., 91(8): 1253-1256.

DUMOLIN-LAPÈGUE, S., B. DEMESURE, S. FINESCHI, V. LE COME, R. J. PETIT, 1997: Phylogeographic Structure of White Oaks Throughout the European Continent. Genetics, 146 (4): 1475-1487.

DUNBERG, A., 1982: Why beech and oak trees retain leaves until spring: a comment on the contribution by Otto and Nilsson. Oikos, 39(2): 275-277.

ELLEGREN, H., 2000: Microsatellite mutations in the germline: implications for evolutionary inference. Trends. Genet., 16: 551-558.

ELLEGREN, H., 2004: Microsatellites: Simple Sequences with complex evolution. Nature Reviews, Genetics, 5: 435-445.

EPPERSON, B. K., R. W. ALLARD, 1989: Spartial autocorrelation analysis of the distribution of genotypes whitin populations of Lodgepole pine. Genetics, 121: 369-377.

ERIKSSON, G., I. EKBERG, D. CLAPHAM, 2006: An introduction to Forest Genetic. Second Edition. Uppsala, Sweden.

ESCUDERO, A., J.M. IRIONDO, M.E. TORRES, 2003: Spatial analysis of genetic diversity as a tool for plant conservation. Biological Conservation, 113: 351-356.

ESTOUP, A., J.-M. CORNUET, 1999: Microsatellite evolution: inferences from population data, U: Microsatellites: Evolution and Applications, D.B. Golstein i C. Schlotterer (ur.) Oxford University Press, Oxford: 49-65.

ESTOUP, A., P. JARNE, J.-M. CORNUET, 2002: Homoplasy and mutation model at microsatellite loci and their consequences for population genetics analysis. Molecular Ecology, 11: 1591-1604.

EXCOFFIER, L., P. E. SMOUSE, J. M. QUATTRO, 1992: Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction sites. Genetics, 131: 479-491.

EXCOFFIER, L., G. LAVAL, S. SCHNEIDER, 2005: ARLEQUIN ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. Evolutionary Bioinformatics Online, 1:47-50.

FALCONER, D. S., T. F. C. MACKAY, 1996: Introduction to Quantitative Genetics, Ed 4. Longmans Green, Harlow, Essex, UK.

FELDMAN, M.W., A. BERGMAN, D.D. POLLOCK, D.B. GOLDSTEIN, 1997: Mikrosatelite genetic distances with range constraints: Analytic description and problems of estimation. Genetics, 145: 207-216.

FELSENSTEIN, J., 1985: Confidence limits on phylogenesis: An approach using the bootstrap. Evolution, 39: 783 – 791.

FELSENSTEIN, J., 2004: PHYLIP (Phylogeny Inference Package) version 3.6. Distributed by the author. Department of Genome Sciences, University of Washington, Seattle. (http://evolution.genetics.washington.edu/phylip.html)

FINESCHI, S., M. E. MALVOLTI , F. CANNATA, H. H. HATTEMER, 1991: Biochemical markers in the population genetics of forest trees. SPB Academic Publishing. Hague, Netherlands.

FIELD, D., C. WILLS, 1998: Abundant microsatellite polymorphism in Saccharomyces cerevisiae, and the different distributions of microsatellites in eight prokaryotes and S. cerevisiae, result from strong mutation pressures and a variety of selective forces. Proceedings of the National Academy of Sciences USA, 95: 1647–1652.

FITCH, W. M., MARGOLIASH E., 1967: Construction of phylogenetic trees. Science, 155 (3760): 279-84.

FRANÇOIS, O, S. ANCELET, G. GUILLOT, 2006: Bayesian Clustering Using Hidden Markov Random Fields in Spatial Population Genetics. Genetics, 174: 805–816.

FRANJIĆ, J., 1993: Veličina žira kao pokazatelj individualne varijabilnosti hrasta lužnjaka (*Quercus robur* L.). Glas. šum. Pokuse, posebno izd. 4: 195-205.

FRANJIĆ, J., 1993a: Morfometrijska analiza lista i ploda hrasta lužnjaka (*Quercus robur* L.) u Hrvatskoj. Magistarski rad – PMF. Zagreb.

FRANJIĆ, J., 1994: Morphometric leaf analysis as an indicator of common oak (*Quercus robur* L.) variability in Croatia. Ann. Forest., 19(1): 1-32.

FRANJIĆ, J., 1996: Morfometrijska analiza varijabilnosti lista posavskih i podravskih populacija hrasta lužnjaka (*Quercus robur* L., *Fagaceae*) u Hrvatskoj. Glas. šum. Pokuse, 32: 153-214.

FRANJIĆ, J., 1996a: Multivariaty analysis of leaf properties in the common oak (*Quercus robur* L., *Fagaceae*) populations of Posavina and Podravina in Croatia. Ann. Forest., 21(2): 23-60.

FRANJIĆ, J., Z. ŠKVORC, 2001: Dosadašnji rezultati istraživanja varijabilnosti hrasta lužnjaka (*Quercus robur* L., *Fagaceae*) u Hrvatskoj. U: S. Matić, A. P. B. Krpan, J. Gračan (ur.) Znanost u potrajnom gospodarenju hrvatskim šumama. Šumarski fakultet Zagreb, Šumarski institut Jastrebarsko, Hrvatske šume Zagreb, 53-59.

FRANJIĆ. J., Z. LIBER, 2001: Molekularna biologija u šumarstvu. Zagreb. Šumarski list, 9-10: 495-500.

FRANJIĆ, J., Ž. ŠKVORC, 2010: Šumsko drveće i grmlje Hrvatske. Sveučilište u Zagrebu – Šumarski fakultet. Zagreb

FRANJIĆ, J., K. SEVER, S. BOGDAN, Ž. ŠKVORC, D. KRSTONOŠIĆ, I. ALEŠKOVIĆ, 2011: Phenological Asynchronization as a Restrictive Factor of Efficient Pollination in Clonal Seed Orchard of Pedunculate Oak (*Quercus robur* L.). Croatian Journal of Forest Engineering, 32(1): 141-156.

GAGGIOTTI, O.E., O. LANGE, K. RASSMANN, C. GLIDDON, 1999: A comparison of two indirect methods for estimating average levels of gene flow using microsatellite data. Molecular Ecology, 8(9): 1513.

GAILING, O., G. VON WUEHLISCH, 2004: Nuclear Markers (AFLPs) and Chloroplast Microsatellites Differ Between *Fagus sylvatica* and *F. orientalis*. Silvae Genetica, 53(3): 105-110.

GENEMAPPER 4.0 APPLIED BIOSYSTEMS®

GILLET, E. M. (UR.), 1999: „Which Marker for Which Purpose?“ Final Compendium of the Research Priject „Development, optimisation and validation of molecular tools for assessment of biodiversity in forest trees“. http://webdoc.sub.gwdg.de/ebook/y/1999/whichmarker/index.

GLAVAŠ, M., 1999: Gljivične bolesti šumskog drveća. Sveučilište u Zagrebu, Šumarski fakultet, Zagreb.

GOLDSTEIN, D. B., A. R. LINARES, L. L. CAVALLI-SFORZA, M. W. FELDMAN, 1995a: An Evaluation of Genetic Distances for Use With Microsatellite Loci. Genetics, 139: 463-471.

GOLDSTEIN, D. B., A. R. LINARES, L. L. CAVALLI-SFORZA, M. W. FELDMAN, 1995b: Genetic absolute dating based on microsatellites and the origin of modern humans. USA. Proc. Natl. Acad. Sci., 92: 6723-6727.

GOUDET, J., 1995: FSTAT (vers. 1.2): a computer program to calculate F-statistics. J. Hered., 86: 485-486.

GÖMÖRY, D., I. YAKOVLEV, P. ZHELEV, J. JEDINÁKOVÁ, L. PAULE, 2001: Genetic differentiation of oak populations within the *Quercus robur*/*Quercus petraea* complex in Central and Eastern Europe. Heredity, 86: 557–563.

GRAČAN, J., N. KOMLENOVIĆ, P. RASTOVSKI, 1991: Pokus provenijencija hrasta lužnjaka (*Quercus robur* L.). Zagreb. Šumarski list, 6-9: 245-260.

GRAČAN, J., 1996: Masovna selekcija. U: D. Klepac (ur.), Hrast lužnjak u Hrvatskoj, HAZU i „Hrvatske šume“p.o., Vinkovci – Zagreb, 96-144.

GRADEČKI, M., K. POŠTENJAK, B. REGENT 1990: Osnivanje, rad i razvoj organiziranog šumskog sjemenarstva u Hrvatskoj u razdoblju od trideset godine (1959-1989). Zagreb. Šumarski list, 6-8: 295-306.

GRADEČKI, M., K. POŠTENJAK, V. TOPOLOVEC, 1993: Analiza nekih kvalitativnih osobina sjemena hrasta lužnjaka iz sjemenskih sastojina u Hrvatskoj. Jastrebarsko. Radovi, 28(1-2): 37-54.

GRADEČKI-POŠTENJAK, M., S. NOVAK AGBABA, R. LICHT, D. POSARIĆ, 2011: Dinamika plodonošenja i kvaliteta uroda sjemena hrasta lužnjaka (*Quercus robur* L.) u narušenim ekološkim uvjetima. Šumarski list – Poseban broj: 169-181.

GREGORIUS, H.R., B. DEGEN, A. KÖNIG, 2007: Problems in the analysis of genetic differentiation among populations – a case study in *Quercus robur*. Silvae Genetica, 56: 190-199.

GUILLOT, G., R. LEBLOIS, A. COULON, A.C. FRANTZ, 2009: Statistical methods in spatial genetics. Molecular Ecology, 18: 4734–4756.

GUO, S.W., E.A. THOMPSON, 1992: Performing the exact test of Hardy-Weinberg proportions for multiple alleles. Biometrics, 48: 361-372.

HAMANN, A., T. GYLANDER, P. CHEN, 2011: Developing seed zones and transfer guidelines with multivariate regression trees. Tree Genetics & Genomes, 7: 399-408.

HAMANN, A., T. WANG, D.L. SPITTLEHOUSE, T.Q. MURDOCK, 2013: CLIMATEEU. još neobjavljeni softverski paket za Europu odstupan na http://www.ualberta.ca/~ahamann/data/climateeu.html

HAMRICK, J. L., M. J. W. GODT, 1996: Effects of Life History Traits on Genetic Diversity in Plant Species. Phil. Trans. R. Soc. Lond. B, 351: 1291-1298.

HAMPE, A., R. J. PETIT, 2005: Conserving biodiversity under climate change: the rear edge matters. Ecology Letters, 8 (5): 461–467.

HANEWINKEL, M., D. A. CULLMANN, M.-J. SCHELHAAS, G.-J. NABUURS, N. E. ZIMMERMANN, 2013: Climate change may cause severe loss in the economic value of European forest land. Nature Climate Change, 3: 203–207.

HARAPIN, M., M. ANDROIĆ, 1996: Sušenje i zaštita šuma hrasta lužnjaka. U: D. Klepac (ur.), Hrast lužnjak u Hrvatskoj, HAZU i „Hrvatske šume“p.o., Vinkovci – Zagreb, 227-256.

HARDY, O.J., X. VEKEMANS, 2002: SPAGeDi: a versatile computer program to analyse spatial genetic structure at the individual or population levels. Molecular Ecology Notes, 2: 618-620.

HARDY, O.J., 2003: Estimation of pairwise relatedness between individuals and characterisation of isolation by distance processes using dominant genetic markers. Molecular Ecology, 12: 1577-1588.

HARDY, O.J., N. CHARBONNEL, H. FREVILLE, M. HEUERTZ, 2003: Microsatellite Allele Sizes: A Simple Test to Assess Their Significance on Genetic Differentiation. Genetics, 163: 1467-1482.

HARDY O.J., X.VEKEMANS, 2007: SPAGeDi 1.2: a program for Spatial Pattern Analysis of Genetic Diversity - User’s manual. Laboratoire Eco-éthologie Evolutive, Université Libre de Bruxelles, Bruxelles

HERZOG, S., D. KRABEL, 1996: Genetic studies on leaf retention in *Quercus robur*. Silvae Genetica, 45(5-6): 272-276.

HEUERTZ, M., J.-F. OISHAUSMAN, O. J. HARDY, G. G. VENDRAMIN, N. FRASCARIA-LACOSTE, X. VEKEMANS, 2003: Nuclear microsatellites reveal contrasting patterns of genetic structure between western and southeastern european populations of the common ash (*Fraxinus excelsior* L.). Evolution, 58(5): 976-988.

HEUERTZ, M., S. FINESCHI, M. ANZIDEI, R. PASTORELLI, D. SALVINI, L. PAULE, N. FRASCARIA-LACOSTE, O. J. HARDY, X. VEKEMANS, G. G. VENDRAMIN, 2004: Chloroplast DNA variation and postglacial recolonization of common ash (*Fraxinus excelsior* L.) in Europe. Molecular Ecology, 13: 3437-3452.

HEYWOOD, J.S., 1991: Spatial analysis of genetic variation in plant populations. Annu. Rev. Ecol. Syst., 22: 335-55.

HOLM, S., 1979: A simple sequentially rejective multiple test procedure. Scandinavian Journal of Statistics, 6: 65–70.

HOULE, D., 1992: Comparing Evolvability and Variability of Quantitative Traits. Genetics, 130: 195-204.

IDŽOJTIĆ, M. 2009: Dendrologija – list, Šumarski fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Suizdavači: Hrvatske šume d.o.o., Zagreb i Akademija šumarskih znanosti, Zagreb, p904.

IVANKOVIĆ, M., M. POPOVIĆ, S. BOGDAN, 2011: Varijabilnost morfometrijskih svojstava žireva i visina sadnica hrasta lužnjaka (*Quercus robur* L.) iz sjemenskih sastojina u Hrvatskoj. Zagreb. Šumarski list - Poseban broj: 46-58.

JARNE, P., P.J. LAGODA, 1996: Microsatellites, from molecules to populations and back. Trends Ecol Evol., 11(10):424-9.

JEFFEREYS, A.J., K. TAMAKI, A. MACLEOD, G. MONCKTON, D.L. NEIL, J.A.L. ARMOUR, 1994: Complex gene conversion events in germline mutation at human minisatellites. Nat. Genet., 6: 136-145.

JENSEN, J.S., 1993: Provenienser af stilkeg og vintereg i Denmark. The Royal Agriculture and Veterinary University, Copenhagen & The Danish Forest nad Landscape Research Institute, Dissertation. Forskningsserien, 2: 275.

JENSEN, J.S., 2000: Provenance Variation in Phenotypic Traits in *Quercus robur* and *Quercus petraea* in Danish Provenance Trials. Scand. J. For. Res., 15: 297-308.

JENSEN, J.S., J.D. DEANS, 2004: Late Autumn Frost Resistance of Twelve North European Provenances of *Quercus* Species. Scand. J. For. Res., 19: 390-399.

JENSEN, J.S., J.. HANSEN, 2008: Geographical variation in phenology of *Quercus petraea* (Matt.) Liebl and *Quercus robur* L. oak grown in greenhouse. Scand. J. For. Res., 23(2): 179-188.

JENSEN, J.S., J. K. HANSEN, 2010: Genetic variation in responses to different soil water treatments in *Quercus robur* L. Scan. J. For. Res., 25: 400-411.

KAMPFER, S., C. LEXER, J. GLOSSL, H. STEINKELLNER, 1998: Characterization of (GA), microsatellite loci from *Quercus robur*. Hereditas, 129: 183-186.

KARP, A., P.G. ISAAC, D. S. INGRAM, 1998: Molecular tools for screening biodiversity. Chapman & Hall. London.

KASHI, Y., D.G. KING, M. SOLLER, 1997: Simple sequence repeats as a source of quantitative genetic variation. Trends in Genetics, 13: 74–78.

KATIČIĆ BOGDAN, I., 2012: Genetska raznolikost hrasta lužnjaka (*Quercus robur* L.) u klonskim sjemenskim plantažama u Hrvatskoj. Disertacija – Šumarski fakultet. p 165.

KIMURA, M., J.F. CROW, 1964: The number of alleles that can be maintained in a finite population. Genetics, 49: 725-738.

KIMURA M., OHTA, T., 1978: Stepwise mutation model and distribution of allelic frequencies in a finite population. USA. Proc. Nati. Acad. Scd., 75(6): 2868-2872.

KING, D.G., M. SOLLER, 1999: Variation and fidelity: The evolution of simple sequence repeats as functional elements in adjustable genes. In: Evolutionary Theory and Processes: Modern Perspectives (ed. Wasser SP), pp. 65–82. Kluwer Academic Publisher, the Netherlands.

KLEINSCHMIT, J., J. SVOLBA: 1982: Der Forst- und Holzwirt. 10: 2 57–63.

KLEINSCHMIT, J., 1993: Intraspecific variation of growth and adaptive traits in European oak species. Ann. Sci. For., 50: 166-185.

KLEPAC, D., 1996: Uvod. U: D. Klepac (ur.), Hrast lužnjak u Hrvatskoj, HAZU i „Hrvatske šume“p.o., Vinkovci – Zagreb, 9-12.

KREMER, A., R. J. PETIT, 1993: Gene diversity in natural populations of oak species. Ann. For. Sci., 50: 186-202.

KREMER, A., J. KLEINSCHMIT, J. COTTRELL, E. P. CUNDALL, J. D. DEANS, A. DUCOUSSO, A. O. KONIG, A. J. LOWE, R. C. MUNRO, R. J. PETIT, B. RICHARD STEPHAN, 2002: Is there a correlation between chloroplastic and nuclear divergence, or what are the roles of history and selection on genetic diversity in European oaks?. Forest Ecology and Management, 156: 75–87.

KRSTINIĆ, A., 1996: Unutarpopulacijska i međupopulacijska varijabilnost hrasta lužnjaka. U: Klepac, D. (ur.), Hrast lužnjak u Hrvatskoj. HAZU i Hrvatske šume d.o.o. Vinkovci – Zagreb, 96-101.

KRSTINIĆ, A., I. TRINAJSTIĆ, J. GRAČAN, J. FRANJIĆ, D. KAJBA, M. BRITVEC, 1996: Genetska izdiferenciranost lokalnih populacija hrasta lužnjaka (*Quercus robur* L.) u

Hrvatskoj. U: Matić, S., J. Gračan, (ur.), Skrb za hrvatske šume od 1846. do 1996. Zaštita šuma i pridobivanje drva 2, Hrvatsko šumarsko društvo, Zagreb. 159-168.

KRUGLYAK, S., R.T. DURRETT, M.D. SCHUG, C.F. AQUADRO, 1998: Equilibrium distributions of microsatellite repeat length resulting from a balance between slippage events and point mutations. USA. Proc. Natl Acad. Sci., 95: 10774-10778.

LANDE, R., 1992: Neutral theory of quantitative genetic variance in an island model with local extinction and colonization. Evolution, 46: 381-389.

LEONARDI, S., S. RADDI, M. BORGHETTI, 1995: Spartial autocorrelation of allozyme traits in Norway spruce (*Picea abies*) population. Canadian Journal of Forest Research, 26: 63-71.

LEONARDI, S., P. MENOZZI, 1996: Spartial structure of genetic variability in natural stands of *Fagus sylvatica* L. (beech) in Italy. Heredity, 77: 359-368.

LEVINSON, G., G.A. GUTMAN, 1987: Slipped-strand mispairing: A major mechanism for DNA sequence evolution. Mol. Biol. Evol., 4: 203-221.

LEXER, C., B. HEINZE, S. GERBER, S. MACALKA-KAMPFER, H. STEINKELLNER, A. KREMER, J. GLÖSSL, 2000: Microsatellite analysis of maternal half-sib families of *Quercus robur*, pedunculate oak: II. inferring the number of pollen donors from the offspring. Theor. App. Genet., 100(6): 858-865.

LI, Y-C., A.B. KOROL, T. FAHIMA, A. BEILES, E. NEVO, 2002: Microsatellites: genomic distribution, putative functions and mutational mechanisms: a review. Molecular Ecology, 11: 2453-2465.

LI, Y-C., A. B. KOROL, T. FAHIMA, E. NEVO, 2004: Microsatellites Within Genes: Structure, Function, and Evolution. Mol. Biol. Evol., 21(6): 991–1007.

LINDNER, M., M. MAROSCHEK, S. NETHERER, A. KREMER, A. BARBATI, J. GARCIA-GONZALO, R. SEIDL, S. DELZON, P. CORONA, M. KOLSTRÖM, M.J. LEXER, M. MARCHETTI, 2010: Climate change impacts, adaptive capacity, and vulnerability of European forest ecosystems. Forest Ecology and Management, 259: 698–709.

LIOVIĆ, B., M. ŽUPANIĆ, 2006: Ispitivanje djelotvornosti fungicida za suzbijanje gljive *Microsphaera alphitoides* Griff et Maubl. na hrastovom pomlatku. Rad. Šumar. Inst. Jastreb., 9: 181-188.

LIU, K., S. V. MUSE, 2005: PowerMarker: Integrated analysis enviroment for genetic marker data. Bioinformatics, 21(9): 2128-2129.

LOISELLE, B.A., V.L. SORK, J. NASON, C. GRAHAM, 1995: Spatial genetic structure of a tropical understory shrub, *Psychotria officinalis* (*Rubiaceae*). American Journal of Botany, 82: 1420-1425.

LOVELESS, M.D., J.L. HAMRICK, 1984: Ecological determinants of genetic structure in plant populations. Annual review of ecology and systematics, 15: 65-95.

MARCOTTE, E.M., M. PELLEGRINI, T.O. YEATES, D. EISENBERG, 1999: A census of protein repeats. Journal of Molecular Biology, 293: 151–160.

MANTEL, N., 1967: The detection of disease clustering and a generalized regression approach. Cancer. Res., 27: 209–220.

MATIĆ, S., 1990: Šume i šumarstvo Hrvatske – jučer, danas, sutra. Glasnik za šumske pokuse, 26: 33–56.

MATIĆ, S., S. ORLIĆ, M., HARAPIN, 1996: Sjeme hrasta lužnjaka kao temeljni uvjet nastanka i opstanka lužnjakovih šuma. U: D. Klepac (ur.), Hrast lužnjak u Hrvatskoj, HAZU i „Hrvatske šume“p.o., Vinkovci – Zagreb. 145-157.

MATTILA, A., A. PAKKANEN, P. VAKKARI, J. RAISIO, 1994: Genetic variation in English oak (*Quercus robur*) in Finland. Silva Fennica, 28(4): 251–256.

MAYER, B., 1996: Hidrološka problematika osobito s gledišta površinskog dijela krovine. U: Klepac, D. (ur.) Hrast lužnjak (*Quercus robur* L.) u Hrvatskoj. HAZU, Centar za znanstveni rad Vinkovci i „Hrvatske šume“ d.o.o. Vinkovci – Zagreb. 62-66.

MELCHIOR, H. 1964: Engler's Syllabus der Pflanzenfamilien. 2. Angiospermen. Gebruder Borntrager. Berlin – Nikolassee.

MERZEAU, D., B. COMPAS, B. THIEBAUT, J. CUGUEN, J. LETOUZEY, 1994: Genetic structure of natural stands of *Fagus sylvatica* L. (beech). Heredity, 72: 269-277.

MINCH, E., A RUIZ-LINARES, D. B. GOLDSTEIN, M. W. FELDMAN, L. L. CAVALLI-SFORZA, 1997: MICROSAT: a computer program for calculating various statistics on Microsatellite Allele Data. Stanford University, CA.

MITCHELL, T. D., P. D. JONES, 2005: An improved method of constructing a database of monthly climate observations and associated high-resolution grids. International Journal of Climatology, 25: 693-712.

MORAN, P.A.P., 1950: Notes on continuous stochastic phenomena. Biometrika, 37: 17-23.

MORAND-PRIEUR, M. E., F. VEDEL, C. RAQUIN, S. BRACHET, D. S IHACHAKR, N. FRASCARIA-LACOSTE, 2002: Maternal inheritance of a chloroplast microsatellite marker in controlled hybrids between *Fraxinus excelsior* and *Fraxinus angustifolia.* Molecular Ecology, 11: 613-617.

NAUTA, M.J., F.J. WEISSING, 1996: Constraints on Allele Size at Microsatellite Loci: Implications for Genetic Differentiation.

NEI, M., 1987: Molecular evolutionary genetics. Columbia University Press, New York.

NEI, M., 1972: Genetic distance between populations. Am. Nat., 106: 283-292.

NEOPHYTOU, C., F.A. ARAVANOPOULOS, S. FINK, A. DOUNAVI, 2010: Detecting interspecific and geographic differentiation patterns in two interfertile oak species (*Quercus petraea* (Matt.) Liebl. and *Q. robur* L.) using small sets of microsatellite markers. Forest Ecology and Management, 259 (10): 2026–2035.

NETWORK 4.5.1.6. (http://www.fluxus-engineering.com/sharenet.htm).

NIEGEL, J.E., 1997: A comparison of alternative strategies for estimating gene flow from genetic markers. Annu. Rev. Ecol. Syst., 28: 105-128.

NILSSON, S.G., 1983: Evolution of leaf abscission times: alternative hypotheses. Oikos, 40(2): 318-319.

NN 11/90: Zakon o šumskom sjemenu i šumskom materijalu. Narodne novine 11/1990.

NN 140/05: Zakon o šumama. Narodne novine 140/2005.

NN 75/09: Zakon o šumskom reprodukcijskom materijalu. Narodne novine 75/2009.

NN 147/11, 96/12, 115/14 i 114/15: Pravilnik o područjima provenijencija svojti šumskog drveća od gospodarskog značaja. Narodne novine 147/2011.

NN 56/13: Zakon o izmjenama i dopunama Zakona o šumskom reprodukcijskom materijalu. Narodne novine 56/2013.

NYBOM, H., 2004: Comparison of different nuclear DNA markers for estimating intraspecific genetic diversity in plants. Molecular Ecology, 13(5): 1143-1155.

OHTA, T., M. KIMURA, 1973: A model of mutation appropriate to estimate the number of electrophoretically detectable alleles in a finite population. Genet. Res., 22: 201-204.

PARRY, M.L., 2007: Climate change 2007-impacts, adaptation and vulnerability: Working group II contribution to the fourth assessment report of the IPCC. Ed. Parry, M. L., (Vol. 4). Cambridge University Press.

PARELLE, J., M. ZAPATER, C. SCOTTI-SAINTAGNE, A. KREMER, Y. JOLIVET, E. DREYER, O. BRENDEL, 2007: Quantitative trait loci of tolerance to waterlogging in a European oak (*Quercus robur* L.): physiological relevance and temporal effect patterns. Plant, Cell and Environment, 30: 422-434.

PERRY, D.J., P. KNOWELS, 1991: Spartial genetic structure whitin three sugar maple (*Acer saccarum* Marsh.) stands. Heredity, 66: 137-142.

PERIĆ, S., J. GRAČAN, B. DALBELO-BAŠIĆ, 2000: Flushing variability of pedunculate oak (*Quercus robur* L.) in provenance experiment in Croatia. Zagreb. Glas. šum. Pokuse, 37: 395-412.

PERMUTECPSSR: http://www.mybiosoftware.com/permutcpssr-2-0-measures-diversity-differenciation-haploid-population-genetic-data.html

PETIT, R.J., A. KREMER, D.B. WAGNER, 1993: Geographic structure of chloroplast DNA polymorphisms in European oaks. Theoretical and Applied Genetics, 87: 122–128.

PETIT, R.J., E. PINEAU, B. DEMESURE, R. BACILIERI, A. DUCOUSSO, A. KREMER, 1997: Chloroplast DNA footprints of postglacial recolonization by oaks. USA. Population Biology, Proc. Natl. Acad. Sci., 94: 9996-10001.

PETIT, R. J., A. EL MOUSADIK, O. PONS, 1998: Identifying Populations for Conservation on the Basis of Genetic Markers. Conservation Biology, 12(4): 844-855.

PETIT, R. J., S. BREWER, S. BORDACS, K. BURG, R. CHEDDADI, E. COART, J. COTTRELLG, U. M. CSAIKL, B. VAN DAM, J. D. DEANS, S. ESPINEL, S. FINESCHI, R. FINKELDEY, I. GLAZ, P. G. GOICOECHEA, J. S. JENSEN, A. O. KONIG, A. J. LOWE, S. F. MADSEN, G. MATYAS, R. C. MUNRO, F. POPESCU, D. SLADE, H. TABBENER, S.G.M. DE

VRIES, B. ZIEGENHAGEN, J.-L. DE BEAULIEU, A. KREMER, 2002a: Identification of refugia and post-glacial colonisation routes of European white oaks based on chloroplast DNA and fossil pollen evidence. Forest Ecology and Management, 156: 49-74.

PETIT, R. J., I. M. CSAIKL, S. BORDÁCSB, K. BURG, E. COART, J. COTTRELL, B. VAN DAM, J. D. DEANS, S. DUMOLIN-LAPÈGUE, S. FINESCHI, R. FINKELDEY, A. GILLIES, I. GLAZ, P. G. GOICOECHEA, J. S. JENSEN, A. O. KÖNIG, A. J. LOWE, S. F. MADSEN, G. MÁTYÁS, R. C. MUNRO, M. OLALDE, M.-H. PEMONGE, F. POPESCU, D. SLADE, H. TABBENER, D. TAURCHINI, S.G.M. DE VRIES, B. ZIEGENHAGEN, A. KREMER, 2002b: Chloroplast DNA variation in European white oaks: Phylogeography and patterns of diversity based on data from over 2600 populations. Forest Ecology and Management, 156: 5-26.

PETIT, R.J., J. DUMINIL, S. FINESCHI, A. HAMPE, D. SALVINI, G. G. VENDRAMIN, 2005: Comparative organization of chloroplast, mitohondrial and nuclear diversity in plant population. Molecular Ecology, 14: 689-701.

PIRY, S., G. LUIKART, J.M. CORNUET, 1999: BOTTLENECK: A computer programme for detecting recent reductions in the effective population size using allele frequency data. J. Heredity, 89: 502-503.

PONS, O., R.J. PETIT, 1995: Estimation, variance and optimal sampling of gene diversity. I. Haploid locus. Theoretical and Applied Genetics, 90:462–470.

PONS, O., R.J. PETIT, 1996: Measuring and testing genetic differentiation with ordered versus unordered alleles. Genetics, 144: 1237–1245.

POPIJAČ M., M. VREBČEVIĆ, 2000: Primjena GIS-a u razdiobi na šumske sjemenske jedinice. Zagreb. Šumarski list, 7-8: 373-383.

POPOVIĆ, M., M. IVANKOVIĆ, S, BOGDAN, 2014: Varijabilnost visinskog rasta i preživljenja potomstava iz sjemenskih sastojina hrasta lužnjaka (*Quercus robur* L.) u pokusnom nasadu „Jastrebarski lugovi“ – prvi rezultati. Šumarski list, 1–2: 155–165.

PORTH, I., C. SCOTTI-SAINTAGNE, T. BARRENECHE, A. KREMER, K. BURG, 2005: Linkage mapping of osmotic stress induced genes of oak. Tree Genetics & Genomes, 1(1): 31-40.

POWELL, W., M. MORGANTE, C. ANDRE, J.W. MCNICOL, G.C. MACHRAY, J.J. DOYLE, S.V. TINGEY, J.A. RAFALSKI, 1995: Hypervariable microsatellites provide a general source of polymorphic DNA markers for the chloroplast genome. Current Biology, 5(9): 1023–1029.

PRIMMER, C. R., N. SAINO, A. P. MOLLER, H. ELLEGREN, 1998: Unraveling the process of microsatellite evolution through analysis of germ line mutations in barn swallows Hirundo rustica. Mol. Biol. Evol., 15: 1047-1054.

PROVAN, J., N. SORANZO, N. J. WILSON, D. B. GOLDSTEIN, W. POWELL, 1999: A Low Mutation Rate For Chloroplast Microsatellites. Genetics, 153: 943-947.

PROVAN, J., W. POWELL, P. M. HOLLINGSWORTH, 2001: Chloroplast microsatellites: new tools for studies in plant ecology and evolution. TRENDS in Ecology & Evolution, 16(3): 142-147.

PRPIĆ, B., 1996: Propadanje šuma hrasta lužnjaka. U: D. Klepac (ur.), Hrast lužnjak u Hrvatskoj, HAZU i Hrvatske šume p. o. Zagreb, 273-298.

R DEVELOPMENT CORE TEAM 2014: R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna.

RAJORA, O.P., B.P. DANCIK, 1992: Chloroplast DNA inheritance in Populus. Teor. Appl. Genet., 84(3-4): 280-285.

RAUŠ, Đ., 1996: Šumske zajednice i sinekološki uvjeti hrasta lužnjaka. U: Klepac, D. (ur.), Hrast lužnjak u Hrvatskoj. HAZU i Hrvatske šume d.o.o. Vinkovci – Zagreb, 27-54.

RAYMOND, M., F. ROUSSET, 1995: GENEPOP (version 1.2): population genetics software for exact tests and ecumenicism. J. Hered., 86: 248-249.

RICE, W.R., 1989: Analysing tables of statistical tests. Evolution, 43:223–5.

RITLAND, K., 1996: Estimators for pairwise relatedness and individual inbreeding coefficients. Genet. Res. Camb., 67: 175-185.

ROHLF, F.J., 2000: NTSYS-pc. Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System, version 2.1. Exeter Publications, New York.

ROUSSET, F., 1996: Equilibrium Values of Measures of Population Subdivision for Stepwise Mutation Processes. Genetics, 142: 1357-1362.

ROUSSET, F., 1997: Genetic differentiation and estimation of gene flow from F-statistics under isolation by distance. Genetics, 145: 1219-1228.

ROTH, V., 1999: Neka svojstva sjemena hrasta lužnjaka (*Quercus robur* L.) iz raznih sjemenskih zona i rajona Hrvatske. Jatrebarsko. Rad. Šumar. Inst. 38(2): 195–210.

ROTH, V., 2003: Neki pokazatelji rasta hrasta lužnjaka (*Quercus robur* L.) iz sjemenskih zona i rajona Hrvatske u rasadničkom testu. Jastrebarsko. Rad. Šumar. Inst., 38(2): 195-210.

SAS 9.3, 9.2 (SAS/STAT® software, SAS INSTITUTE).

SAS ENTERPRISE GUIDE ver. 5 2012 (SAS EG, SAS INSTITUTE).

SAINTAGNE, C., C. BODENES, T. BARRENECHE, D. POT, C. PLOMION, A. KREMER, 2004: Distribution of genomic regions differentiating oak species assessed by QTL detection. Heredity, 92: 20-30.

SALVINI, D., M. ANZIDEI, S. FINESCHI, M.E. MALVOLTI, D. TAURCHINI, G.G. VENDRAMIN, 2001: Low genetic differentiation among Italian populations of *Populus tremula* L. (*Salicaceae*) estimated using chloroplast PCR-RFLP and microsatellite markers. Forest Genetic, 8: 81–88.

SAMADI, S., F. ERARD, A. ESTOUP, P. JARNE, 1998: The influence of mutation, selection and reproductive systems on microsatellite variability: a simulation approach. Genetical Research, 71: 213-222.

SCHNEIDER, S., D. ROESSLI, L. EXCOFFIER, 2000: Arlequin: a software for population genetics data analysis, Version 2.000. Geneva: Genetics and Biometry Laboratory, Department of Anthropology, University of Geneva.

SCHUG, M.D., T.F. MACKAY, C.F. AQUADRO, 1997: Low mutation rates of microsatellite loci in *Drosophila melanogaster*. Nature Genet., 15: 99-102.

SCOTTTI-SAINTAGNE, C., C. BODÉNÈS, T. BARRENECHE, E. BERTOCCHI, C. PLOMION, A. KREMER, 2004: Detection of quantitative trait loci controling budburst and height growth in *Q. robur*. Theo. Appl. Genet., 109: 1648-1659.

SELKOE, K.A., R.J. TOONEN, 2006: Microsatellites for ecologists: a practical guide to using and evaluating microsatellite markers. Ecology Letters, 9: 615-629.

SVENNING, J.C. (2003). Deterministic Pliocene–Pleistocene extinctions in the European cool-temperate tree flora. Ecol. Lett., 6: 646–653.

SLADE, D., 1999: Filogenetičko porijeklo i distribucija haplotipova hrasta lužnjaka (*Quercus robur* L.), kitnjaka (*Q. petraea* L.), medunca (*Q. pubescens* L.) i sladuna (*Q. frainetto* L.) u Hrvatskoj. Radovi Šumarskog instituta, Jasrebarsko. 34(2): 121-131.

SLADE, D., 2001: Distribucija haplotipova hrasta lužnjaka (*Quercus robur* L.) u Hrvatskoj. Magistarski rad – PMF. Zagreb. s87.

SLADE, D., Ž. ŠKVORC, D. BALLIAN, J. GRAČAN, D. PAPEŠ, 2007: The Chloroplast DNA Polymorphisms of White Oaks of Section Quercus in The Central Balkans. Silvae genetica, 57(4-5): 227-234.

SLATKIN, M., 1985: Gene flow in natural populations. Annu. Rev. Ecol. Syst., 16: 393-430.

SLATKIN, M., 1995: A measure of population subdivision based on microsatellite allele frequencies. Genetics, 139: 457-462.

SMOUSE, P.E., R. PEAKALL, 1999: Spatial autocorrelation analysis of individual multiallele and multilocus genetic structure. Heredity, 82: 561-573.

SMILAJ, I., 1957: Prostorno uređenje šuma u Hrvatskoj. Šumarski list, 7-8: 246.

SOKAL, R.R., N.L. ODEN, 1978: Spatial autocorrelation in biology. I. Methodology. Biological Journal of the Linnean Society, 10: 199-228.

STEINKELLNER, H., C. LEXER, E. TURETSCHEK, J. GLÖSSL, 1997a: Conservation of $(GA)_n$ microsatellite loci between *Quercus* species. Molecular Ecology, 6: 1189-1194.

STEINKELLNER, H., S. FLUCH, E. TURETSCHEK, C. LEXER, R. STREIFF, A. KREMER, K. BURG J. GLOSSL, 1997b: Identification and characterization of $(GA/CT)_n$ - microsatellite loci from *Quercus petraea*. Plant Molecular Biology, 33: 1093-1096.

STOJKOVIĆ, M., 1991: Varijabilnost i nasljednost listanja hrasta lužnjaka (*Quercus robur* L.). Zagreb. Glas. šum. Pokuse, 27: 227-259.

STREIFF, R., T. LABBE, R. BACILIERI, H. STEINKELLNER, J. GLÖSSL, A. KREMER, 1998: Within-population genetic structure in *Quercus robur* L. and *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. assessed with isozymes and microsatellites. Molecular Ecology, 7: 317-328.

ŠAFAR, J., 1958: Osnovna razdioba područja hrvatske na sjemenarske jedinice. Zagreb. Šumarski list, 10: 329-338.

ŠAFAR, J., 1966: Problem fizioloških, ekoloških i ekonomskih karakteristika kasnog i ranog hrasta lužnjaka. Zagreb. Šumarski list, 90(1-2): 503-515.

ŠATOVIĆ, Z., H. RUKAVINA, I. KOLAK, 2001: Analiza lokusa za kvantitativna svojstva (QTL) u oplemenjivanju bilja. Zbornik sažetaka 37. Znanstvenog skupa hrvatskih agronoma s međunarodnim sudjelovanjem / Kovačević, Vlado (ed). - Osijek : Poljoprivredni fakultet u Osijeku. p126.

TABERLET, P., L. GIELLY, G. PAUTOU, J. BOUVET, 1991: Universal primers for amplification of three non-coding regions of chloroplast DNA. Plant Molecular Biology, 17(5): 1105-1109.

TAYLOR, J.S., S.P. SANNY, F. BREDEN, 1999: Microsatellite allele size homoplasy in guppy (*Poecilia reticulata*). J. Mol. Evol., 48: 41-55.

THORNE, R. F., 1992: Classification and geograph of the flowering plants. Bot. Rev,. 58(3): 225-348.

TRINAJSTIĆ, I., A. KRSTINIĆ, 1993: Varijablinost hrasta lužnjaka (*Quercus robur* L.). Zagreb. Glas. šum. pokuse., Posebno izdanje 4: 185-194.

TRINAJSTIĆ, I., 1996: Taksonomska problematika hrasta lužnjaka u Hrvatskoj. U: Vidaković, M. (ur.), Oplemenjivanje hrasta lužnjaka u Hrvatskoj. U: Klepac, D. (ur.), Hrast lužnjak u Hrvatskoj. Vinkovci – Zagreb, HAZU i Hrvatske šume d.o.o., 96-101.

TÓTH, G., Z.GÁSPÁRI, J. JURKA, 2000: Microsatellites in different eukaryotic genomes: survey and analysis. Genome Research, 10, 967–981.

VAN OOSTERHOUT, C., W.F. HUTCHINSON, D.P.M. WILLS, P. SHIPLEY, 2004: MICRO-CHECKER: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. Molecular Ecology Notes, 4: 535-538.

VENDRAMIN, G.G., I. SCOTTI, B. ZEIGENHAGEN, 2004: Microsatellite in forest tree species: characteristics, identification and application, U: Molecular genetics and breeding of forest trees, S. Kumar, M. Fladung (ur.), Food products Press, New York, SAD: 359-387.

VIDAKOVIĆ, M., 1996: Generativna produkcija. U: Vidaković, M. (ur.), Oplemenjivanje hrasta lužnjaka u Hrvatskoj. U: Klepac, D. (ur.) Hrast lužnjak (*Quercus robur* L.) u Hrvatskoj. HAZU, Centar za znanstveni rad Vinkovci i ″Hrvatske šume″ d.o.o. Vinkovci – Zagreb, 104-107.

VUKELIĆ, J., S. MIKAC, D. BARIČEVIĆ, D. BAKŠIĆ, R. ROSAVEC, 2008: Šumska staništa i šumske zajednice u Hrvatskoj Nacionalna ekološka mreža. Zagreb, Državni zavod za zaštitu prirode, (priručnik).

VUKELIĆ, J., 2012: Šumska vegetacija Hrvatske. Zagreb, Šumarski fakultet, Sveučilište u Zagrebu, DZZP, (udžbenici i skripta).

WAGNER, D.B., 1992: Nuclear, chloroplast, and mitochondrial DNA polymorphisms as biochemical markers in population genetic analyses of forest trees. New Forests, 6: 373-390.

WANG, T., A. HAMANN, D.L. SPITTLEHOUSE, T.Q. MURDOCK, 2012: CLIMATEWNA - High-resolution spatial climate data for western North America. Journal of Applied Meteorology and Climatology, 51: 16-29.

WANG, T., A. HAMANN, 2012: CLIMATEEU v4.63 - A program to generate annula, seasonal and monthly data for Europe. User Guide.

WEIR, B.S., A. COCKERHAM, 1984: Estimating F-statistics for the analysis of population structure. Evolution, 38: 1358-1370.

WEISING, K., R.C. GARDNER, 1999: A set of conserved PCR primers for the analysis of simple sequence repeat polymorphisms in chloroplast genomes of dicotyledonous angiosperms. Genome, 42(1): 9-19.

WHITE, T.L., W.T. ADAMS, D.B. NEALE, 2007: Forest Genetics. CAB International 2007, UK. p682.

WRIGHT, S., 1931: Evolution in Mendelian populations. Genetics, 16: 97-159.

WRIGHT, S., 1969: Evolution and the Genetics of Natural Populations, vol. 2. The University of Chicago Press, Chicago.

WREN, J.D., E. FORGACS, J.W. FONDON, 2000: Repeat polymorphisms within gene regions: Phenotypic and evolutionary implications. American Journal of Human Genetics, 67: 345–356.

ZANETTO, A., G. ROUSSEL, A. KREMER, 1994: Geographic variation of inter-specific differentiation between *Quercus robur* L. and *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. Forest Genetics, 1: 111-123.

ZOLDOŠ, V., T. LITTVAY, V. BESENDORFER, Z. LORKOVIĆ, D. PAPEŠ, 1995: Primjena citogenetskih i biokemijskih analiza u utvrđivanju stupnja oštećenja šuma hrasta lužnjaka. Jastrebarsko. Rad. Šumar. inst., 29(1): 151-160.

ZOLDOŠ, V., V. BESENDORFER, T. LITTVAY, D. PAPEŠ, 1995a: The common oak (*Quercus robur* L.) as a potential test plant for cytotoxicity monitoring. Period. Biol., 96(4): 490-492.

ZOLDOŠ, V., D. PAPEŠ , S.C. BROWN, O. PANAUD, S. ŠILJAK-YAKOVLEV, 1998: Genome size and base composition of seven *Quercus* species: inter-and intra-population variation. Genome, 41: 162–168.

7. SUMMARY

Genetic diversity (i.e. variability) is the basic part of the biological diversity and represents reaches of the alleles and genes of individuals, populations and species. Higher level of genetic diversity in populations able them higher capacity for adjustment through natural selection, and therefore it is an important part for their survival in a changing environment. Therefore, learn and preserve genetic diversity is extremely important for long-term survival of forest tree species, especially those which are the carriers of ecosystem. Genetic differentiation on the other hand is integrated in genetic diversity and allows us to determinate the populations' genetic reaches.

Previous studies of morphological and physiological traits of pedunculate oak in Croatia have indicated genetic differentiation of populations as well as high level of intrapopulation genetic diversity. Different authors reported different patterns of pedunculated oak genetic differentiation. Some of them determined the ecotypic pattern of variation based on environmental conditions prevailing in the stands, but others reported geographic differentiation.

Determination of level, pattern and causes of genetic diversity in forest trees species is possible by two methods: 1. the analysis of quantitative phenotypic traits in genetic field trials, and 2. by analysis of DNA markers. The main objective of this study was to determine the level and pattern of genetic diversity of pedunculate oak populations in Croatia using both available methods.

Three genetic field trials (Jastrebarsko, Koška and Vrbanja) were established on different locations with progeny from 16 seed stands and one normal managed stand, representing the distribution range of pedunculated oak in Croatia. Field trials are established according to randomized complete block design with three replications (blocks). In each block are 17 populations' with 20 families per population and 5 individuals per family. Measurements of quantitative phenotypic traits such as height, survival, winter leaf retention, intensity of infection with powdery mildew, intensity of late spring frost damages and phenology were conducted to determinate genetic diversity and differentiation.

Descriptive statistical analysis was conducted whit MEANS procedure in SAS statistical package SAS 9.3. Analyses of variance were conducted with PROC MIXED procedure in SAS based on three different linear models (ANOVA). Linear models included all population at ones, separately for each population and for all three field trials. Statistical

significance was calculated for sources of variability: blocks, populations, family within populations, interaction of blocks with populations and families.

Based on percentage of variance components from ANOVA, heritability (individual (h^2_i) and family (h^2_f)) coefficient of additive genetic variation (CV_A) and parameter of quantitative genetic differentiation (Q_{ST}) were calculated.

Multivariate regression tree analysis (MRT) was used to determine the pattern of genetic differentiation using R statistical software ver. 3.0.3. with MVPART procedure. As predictor variables climatic variables were used of selected seed stands. These predictor variables were calculated based on the climatic data for the reference period from 1981 to 2009 using CLIMATEEU software package ver. 4.63. According to climate variables of seed stand and standardized values of phenotypic traits analyzed populations were grouped into clusters determining pattern of genetic differentiation.

Heritability (individual (h^2_i) and family (h^2_f)) and coefficient of additive genetic variation (CV_A) were low for almost all quantitative traits indicating a low level of intrapopulation genetic variability. However, low additive genetic variation was probably caused by high variance residual in ANOVA. Considering that calculated genetic parameters are not reliable enough for final conclusion about level of intrapopulation genetic variability in populations of pedunculated oak in Croatia.

Component of variance for all traits show high level of statistical significance for effect of population. High Q_{ST} parameter reveals significant differences between populations, which confirm their genetic differentiation probably caused by natural selection. Statistical significance level for interaction effect of populations within blocks indicates a certain level of phenotypic plasticity for analyzed populations. Multivariate regression tree analysis (MRT) was used to determine the pattern of genetic differentiation. The populations were grouped in clusters based on climate variables of their habitats of origin and standardized arithmetic means of the studied quantitative traits in field trial Jastrebarsko. Populations were clustered according to relative humidity and temperature of habitat of origin.

Also an interaction of genotypes with environment was established. Height growth of plants in field trial Jastrebarsko was higher than in other two trials. Survival of populations varied more and most probably depends on climatic conditions in each field trial during the analyzed period. Populations originating from more arid habitat showed higher phenotypic characteristics for survival and height in trials Jastrebarsko and Koška. Populations originating from more humid habitats and also from relatively arid habitats had the higher survival and height in field trial Vrbanja.

Analysis with nuclear microsatellite markers showed a low level of genetic diversity between populations. Populations HR 609 and HR 387 are more diverse form other populations. Three populations (HR: 609, 387 and 577) have high F_{IS} parameter indicating inbreeding.

Analysis of molecular variance (AMOVA) determine high level of intrapopulation diversity, also a statistically significance percentage of variance between populations indicate a neutral genetic differentiation. However, established interpopulation differences were only 1.47 % of overall differences, referring to high migration of genes between populations. Beside the natural gene flow (especially by pollen), the highly plausible is anthropogenic influence by moving of forest reproductive material. Total of 19.6 % of genetic differentiation among populations can be explained with isolation by distance (*IBD*). Relatedness of individuals is lost after 240 km mutual distance.

Analysis with chloroplast microsatellite markers gave high overall diversity of populations. Diversity between populations in AMOVA was statistically highly significant, higher than intrapopulation diversity. Also, 66 haplotypes was determined, origination in three lines: line L2, with highest number of haplotypes extends from east to west, line L1 prevails in western part of distribution range, while line L3 is concentrated in central part of Croatia.

ŽIVOTOPIS

Maja Morić (dj. Popović) rođena je 23. ožujka 1984. godine u Zagrebu. U Zaprešiću pohađa osnovnu školu, a u Zagrebu Opću gimnaziju. Godine 2002. upisuje Šumarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, smjer šumarstvo, gdje je diplomirala 2008. godine među deset najboljih studenata i stekla stručni naziv diplomiranog inženjera šumarstva.

Od rujna 2009. godine zaposlena je u Hrvatskom šumarskom institutu, na radnom mjestu znanstveni novak – asistent u Zavodu za genetiku, oplemenjivanje šumskog drveća i sjemenarstvo.

Akademske godine 2011/2012 upisuje poslijediplomski doktorski studij na Šumarskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu, smjer Uzgajanje šuma i lovno gospodarenje.

Kao znanstveni novak u nekoliko navrata odlazi na znanstveno usavršavanje u inozemstvo. Najprije 2011. godine odlazi u Francusku, INRA Orleans, u sklopu COST AKCIJE FP 0905 "*Biosafety of forest transgenic trees*", te 2013. godine u Njemačku u Šumarski institut Baden-Württemberg (njem. *Forschung für die Praxis - Forstliche Versuchs- und Forschungsanstalt Baden-Württemberg* – FVA), Odjel za fiziologiju bilja Sveučilišta u Freiburgu, te Bavarski ured za sjetvu i sadnju šumskog drveća (njem. *Bayerisches Amt für forstliche Saat- und Pflanzenzucht*) u sklopu DAAD projekta bilateralne suradnje Hrvatska – Njemačka. U listopadu 2016. godine pohađa tečaj na Šumarskom fakultetu, Sveučilišta Transilvanija u Braşovu, Rumunjska, radi unapređenja znanja o molekularnim mikrosatelitnim biljezima i načinima obrade tih podataka. Tijekom akademske godine 2012/2013 usavršava se u području statistike, za kompetentno izvođenje statističkih analiza pohađajući u Sveučilišnom računalnom centru izobrazbu u programskom sustavu SAS ver. 9.

Kao istraživač sudjeluje na brojnim domaćim i međunarodnim projektima, te aktivno sudjeluje na domaćim i međunarodnim znanstvenim skupovima. U svojstvu autora/koautora objavljuje nekoliko znanstvenih radova.

Članica je Hrvatskog šumarskog društva i Hrvatskog genetičkog društva.

CURICULUM VITAE

Maja Morić (maiden name Popović) was born on 23rd March 1984 in Zagreb. In Zaprešić attend primary school, and in Zagreb Gymnasium. In 2002, she enrolled at the Faculty of Forestry, University of Zagreb, where she graduated in 2008 among the top ten students, obtaining professional title forestry engineer.

Since September 2009, she works in the Croatian Forest Research Institute, as researcher - assistant at the Department of Genetics, Forest Tree Breeding and Seed Husbandry.

In the academic year 2011/2012 enrolled in postgraduate studies at the Faculty of Forestry in Zagreb, Silviculture and Wildlife Management.

As a PhD student on several occasions goes to scientific training abroad. First in 2011 to France, INRA Orleans as part of the COST Action FP 0905 "Biosafety of transgenic forest trees," than in 2013 to Germany at the Forest Research Institute of Baden-Wuerttemberg (germ. *Forschung für die Praxis - Forstliche Versuchs- und Forschungsanstalt Baden-Wuerttemberg - FVA*), Department of plant Physiology at the University of Freiburg, and Bavarian office for sowing and planting of forest trees (germ. *Bayerisches Amt für forstliche Saat- und Pflanzenzucht*) within the DAAD project of bilateral cooperation Croatia - Germany. In October of 2016 she participated in training course 'Molecular phylogeography of forest tree species using newly developed genomic resources (EST-SSRs and SNPs)' at University of Transilvania, Faculty of Forestry Braşov, Romania. During the academic year 2012/2013 she improved her skills in the area of statistics, to competently perform statistical analysis, attending training with software system SAS v 9. at the University computing center in Zagreb.

As a researcher she is involved in numerous national and international projects, and actively participates in national and international conferences. As the author / co-author she published several scientific papers.

She is also a member of the Croatian Forestry Society and the Croatian Genetic Society.

POPIS OBJAVLJENIH DJELA

Znanstveni radovi u drugim časopisima

1. **Popović, M.**, M. Ivanković, S. Bogdan, 2014: Varijabilnost visinskog rasta i preživljenja potomstava iz sjemenskih sastojina hrasta lužnjaka (*Quercus robur* L.) u pokusnom nasadu "Jastrebarski lugovi"– prvi rezultati. Šumarski list: znanstveno-stručno i staleško glasilo Hrvatskoga šumarskog društva. 138 (1-2): 155-165 (članak, znanstveni).

2. Ivanković, M., **M. Popović**, S. Bogdan, 2011: Varijabilnost morfoloških svojstava žireva i visina sadnica hrasta lužnjaka (*Quercus robur* L.) iz sjemenskih sastojina u Hrvatskoj. Šumarski list: znanstveno-stručno i staleško glasilo Hrvatskoga šumarskog društva. Poseban broj (2011): 46-58 (članak, znanstveni).

3. Ivanković, M., **M. Popović**, I. Katičić, G. von Wuehlisch, S. Bogdan, 2011: Kvantitativna genetska varijabilnost provenijencija obične bukve (*Fagus sylvatica* L.) iz jugoistočne Europe. Šumarski list: znanstveno-stručno i staleško glasilo Hrvatskoga šumarskog društva. Poseban broj (2011): 25-37 (članak, znanstveni).

Ostali radovi u drugim časopisima

1. **Popović, M**., M. Ivanković, S. Bogdan, G. Pilate, 2013: Dvadeset godina genetskih modifikacija u šumarstvu. Radovi - Šumarski institut Jastrebarsko. 45(2) 195-210 (pregledni rad).

Sažeci u zbornicima skupova

1. Temunović, M., S. Bogdan, J. Franjić, M. Ivanković, **M. Morić**, A. Hampe, P. Garnier-Géré, 2016: Environmental correlates of SNP variation across *Quercus robur* populations from the species' southern range margin. IUFRO Genomics and Forest Tree Genetics Conference Abstract Book / Christophe, Plomion; Jean-Marc, Gion; Francis, Martin; Antoine, Kremer (ur.). Arcachon: INRA, Bordeaux University, CIRAD, IUFRO, 2016. 59-59 (poster,međunarodna recenzija,sažetak,znanstveni).

2. Ivanković, M., D. Ballian, **M. Popović**, I. Pilaš, S. Bogdan, 2010: The distribution pattern of mitochondrial DNA (mtDNA) of the silver fir (*Abies alba* Mill.) in the part of the Western Balkan. Evoltree Conferencs Forest ecosystem genomics and adaptation: abstracts /

Vincenti B.; Neate P. (ur.). Rome-Madrid: Bioversity International, str. 218-218 (poster,međunarodna recenzija,sažetak,znanstveni).

3. Ivanković, M., **M. Popović**, M. Gradečki- Poštenjak, I. Katičić, G. von Wuhlish, S. Bogdan, 2010: Genetička varijabilnost provenijencija obične bukve iz jugoistočne Europe. Is there Future for Beech - Changes, Impacts and answers / Seletković, Zvonko (ur.). Zagreb: Croatian Forest Research Institute & Hungarian Forest Research Institute, str. 104-106 (međunarodna recenzija,sažetak,znanstveni).

4. Ivanković, M., T. Littvay, D. Kajba, M. Gradečki-Poštenjak, R. Licht, **M. Popović**, 2009: Usklađivanje zakonodavstva o šumskom reprodukcijskom materijalu sa smjernicom Europske unije 1999/105/EU. „Uloga i značaj šumskog sjemena u obnovi šuma“ 50. godišnjica šumskog sjemenarstva u Republici Hrvatskoj ; "Role and Significance of Forest Seeds in Forest Regeneration - 50th Anniversary of Forest Seed Science and Technology in Croatia" / Ivanković M. (ur.). Zagreb: Croatian Forest Research Institute, Croatian Forests Ltd., Croatian Chamber of Forestry and Wood Technology Engineers, Zagreb, str. 58-59 (sažetak).

5. Littvay, T., M. Gradečki-Poštenjak, M. Ivanković, R. Licht, **M. Popović**, G. Videc, 2009: OECD program za certifikaciju šumskog reprodukcijskog materijala. Znanstveno – stručno savjetovanje s međunarodnim sudjelovanjem „Uloga i značaj šumskog sjemena u obnovi šuma" / Ivanković, Mladen (ur.). Zagreb : Hrvatski šumarski institut, Hrvatske šume d.o.o., Zagreb i Hrvatska komora inženjera šumarstva i drvne tehnologije, str. 62-63 (sažetak).

Neobjavljena sudjelovanja na skupovima

1. **Popović, M.**, 2011: Compilation of information data available on transgenic trees and related biosafety issues. Second Biosafety Workshop - COST Action FP0905: "Biosafety of forest transgenic trees: improving the scientific basis for safe tree development and implementation of EU policy directives". INRA Orleans, France. (predavanje,ppt prezentacija).

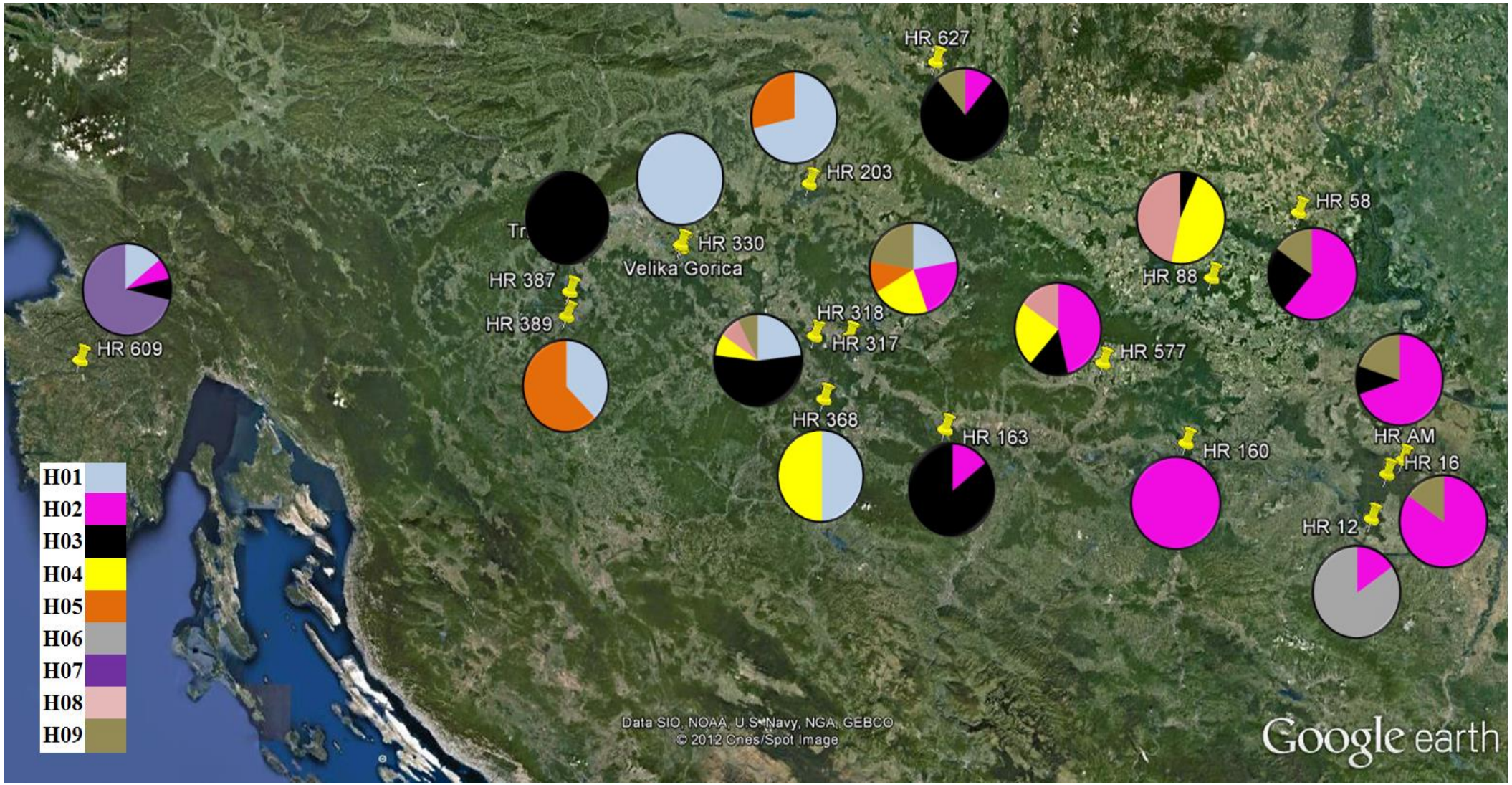
PRILOG I.

Popis i distribucija haplotipova po populacijama, te pripadnost rodoslovnim linijama.

	Kloroplastni mikrosatelitni biljezi									Populacije (HR)																			
Haplotip	**ccmp06**	**ccmp10**	**cd4**	**cd5**	**dt1**	**dt3**	**dt4**	**kk3**	**kk4**	**609**	**389**	**387**	**330**	**203**	**317**	**368**	**318**	**627**	**163**	**577**	**160**	**88**	**58**	**AM**	**12**	**16**	**Uk.**	**Haplo**	**Linije**
H01	103	112	94	75	81	123	146	98	111	2	6		18	10	3	3	2										44	H01	L1
H02	103	113	95	75	81	123	145	98	110	1							2	1	2	6	1		8	7	2	11	41	H02	L2
H03	103	113	95	75	81	124	145	98	110	1		5			7			7	12	2		1	3	1			39	H03	L2
H04	103	112	97	76	81	123	164	98	110						1	3	2			3		7					16	H04	L3
H05	103	112	94	75	81	122	146	98	111		10			4			1										15	H05	L1
H06	103	113	95	75	81	122	145	98	110																11		11	H06	L2
H07	103	112	94	75	80	123	146	97	111	10																	10	H07	L1
H08	103	112	97	76	81	122	164	98	110						1					2		7					10	H08	L3
H09	103	113	95	75	80	123	145	98	110						1		2	1					2	2		2	10	H09	L2
H10	103	113	95	75	80	124	145	98	110			3			1			1	3								8	H10	L2
H11	103	113	95	75	80	122	145	98	110															1	6		7	H11	L2
H12	104	113	95	75	81	124	145	98	110						1		1	2	2				1				7	H12	L2
H13	103	112	94	75	80	123	146	98	111	1			1	1		3											6	H13	L1
H14	103	113	95	75	80	123	145	97	110						1			3			2						6	H14	L2
H15	103	113	96	75	80	124	145	97	110												6						6	H15	L2
H16	104	112	94	75	81	123	146	98	111				1	3		1							1				6	H16	L1
H17	103	112	94	75	81	123	146	97	111	2		3															5	H17	L1
H18	103	112	97	76	82	123	164	98	110						1	1				3							5	H18	L3
H19	104	113	95	75	81	123	145	98	110								1			1			2			1	5	H19	L2
H20	103	113	95	75	80	124	145	97	110			3									1						4	H20	L2
H21	103	113	95	75	81	123	145	97	110									2						1		1	4	H21	L2
H22	103	113	95	75	80	122	145	97	110															1		2	3	H22	L2
H23	103	113	96	75	80	124	145	98	110									1			2						3	H23	L2
H24	103	113	97	75	80	122	145	97	110															2		1	3	H24	L2
H25	104	112	97	76	81	123	164	98	110							1	1			1							3	H25	L3

	Kloroplastni mikrosatelitni biljezi									Populacije (HR)																			
Haplotip	**ccmp06**	**ccmp10**	**cd4**	**cd5**	**dt1**	**dt3**	**dt4**	**kk3**	**kk4**	**609**	**389**	**387**	**330**	**203**	**317**	**368**	**318**	**627**	**163**	**577**	**160**	**88**	**58**	**AM**	**12**	**16**	**Uk.**	**Haplo**	**Linije**
H26	103	112	94	75	80	122	146	98	111		2																2	H26	L1
H27	103	112	97	76	82	122	164	98	110							1						1					2	H27	L3
H28	103	113	95	75	81	122	145	97	110															1		1	2	H28	L2
H29	103	113	95	75	81	124	145	97	110			2															2	H29	L2
H30	103	113	97	75	80	123	145	97	110						2												2	H30	L2
H31	104	112	97	76	82	122	164	98	110													2					2	H31	L3
H32	104	112	97	76	82	123	164	98	110							1	1										2	H32	L3
H33	102	113	95	75	79	123	145	96	110															1			1	H33	L2
H34	103	105	95	77	81	124	144	97	110									1									1	H34	L2
H35	103	106	95	78	80	125	145	98	110															1			1	H35	L2
H36	103	112	94	75	81	122	146	98	110							1											1	H36	L1
H37	103	112	94	76	81	122	164	98	110													1					1	H37	L3
H38	103	112	94	76	81	123	164	98	110											1							1	H38	L3
H39	103	112	94	76	82	122	164	98	110											1							1	H39	L3
H40	103	112	95	75	81	123	146	98	111					1													1	H40	L1
H41	103	112	97	76	81	122	164	97	110						1												1	H41	L3
H42	103	113	92	75	81	122	145	98	110																1		1	H42	L2
H43	103	113	94	75	80	124	145	98	110			1															1	H43	L2
H44	103	113	94	75	81	124	145	98	110			1															1	H44	L2
H45	103	113	95	75	80	125	145	97	110												1						1	H45	L2
H46	103	113	95	75	81	123	149	98	109														1				1	H46	L2
H47	103	113	95	75	81	125	145	98	110														1				1	H47	L2
H48	103	113	96	75	79	124	145	98	110												1						1	H48	L2
H49	103	113	96	75	81	123	145	98	110												1						1	H49	L2
H50	103	113	96	75	81	124	145	98	110														1				1	H50	L2
H51	103	113	97	75	80	122	145	98	110																	1	1	H51	L2
H52	103	114	95	75	81	124	145	97	110			1															1	H52	L2
H53	104	112	94	75	81	122	146	98	111		1																1	H53	L1

	Kloroplastni mikrosatelitni biljezi									Populacije (HR)																			
Haplotip	**ccmp06**	**ccmp10**	**cd4**	**cd5**	**dt1**	**dt3**	**dt4**	**kk3**	**kk4**	**609**	**389**	**387**	**330**	**203**	**317**	**368**	**318**	**627**	**163**	**577**	**160**	**88**	**58**	**AM**	**12**	**16**	**Uk.**	**Haplo**	**Linije**
H54	104	112	97	76	81	122	164	98	110													1					1	H54	L3
H55	104	112	97	76	81	123	164	98	112								1										1	H55	L3
H56	104	112	97	76	81	123	165	98	110							1											1	H56	L3
H57	104	113	95	75	80	124	145	98	110								1										1	H57	L2
H58	104	113	95	75	81	124	145	98	111										1								1	H58	L2
H59	105	113	96	75	80	124	145	98	110												1						1	H59	L2
H60	106	112	94	75	82	123	146	103	111	1																	1	H60	L1
H61	106	113	95	75	81	123	145	97	110												1						1	H61	L2
H62	106	113	95	75	81	123	145	98	110			1															1	H62	L2
H63	106	113	96	75	82	124	145	98	110												1						1	H63	L2
H64	107	112	94	75	81	123	146	101	111							1											1	H64	L1
H65	107	112	97	76	81	123	164	98	110							1											1	H65	L3
H66	109	113	96	75	81	122	145	97	110															1			1	H66	L2
Ukupno									Ind	18	19	20	20	19	20	18	15	19	20	20	18	20	20	19	20	20	325		
									Hap	7	4	9	3	5	11	12	11	9	5	9	11	7	9	11	4	8			

PRILOG II.

Distribucija devet najfrekventnijih haplotipova (H01 – H09) po populacijama.