

D. Ballian, M. Konnert, F. Bogunić. 2006. Uspoređivanje molekularno genetičkih svojstava...
Rad. – Šumar. inst. Jastrebar. 41 (1–2): 7–16

Izvorni znanstveni članak
Original scientific paper

Prispjelo - *Received*: 09.11.2005.
Prihvaćeno - *Accepted*: 27.11.2006.

UDK: 630*

Dalibor Ballian¹, Monika Konnert², Faruk Bogunić¹

USPOREĐIVANJE MOLEKULARNO GENETIČKIH SVOJSTAVA SJEMENSKIH PLANTAŽA OBIČNOG BORA (*PINUS SYLVESTRIS* L.) U BOSNI I HERCEGOVINI

COMPARISON OF MOLECULAR AND GENETIC PROPERTIES OF PINE (*PINUS SYLVESTRIS* L.) SEED PLANTATIONS IN BOSNIA AND HERCEGOVINA

SAŽETAK

U radu je analizirana je genetička struktura dvije sjemenske plantaže običnog bora (*Pinus sylvestris* L.) sa 40 klonova (Kozji grm) i 20 klonova (Šamin gaj).

Za analizu su uporabljeni izoenzimski biljezi, ukupno 9 enzimskih sustava, na ukupno 12 gen lokusa. Ukupno 55 alela, u obje klonske sjemenskim plantaže, u multiklonskoj plantaži "Koziji grm" registrirano 45, a u sjemenskoj plantaži "Šamin gaj" 35 alela različitih alela.

Genetička raznolikost procijenjena je srednjim brojem alela po lokusu (A/L). Dobivena je vrijednost od 3,83 za sjemensku plantažu Kozji grm i 2,91 za plantažu Šamin gaj. Srednji broj genotipova po lokusu (G/L) je iznosio 5,16 za sjemensku plantažu Kozji grm i 3,58 za sjemensku plantažu Šamin gaj.

Srednja stvarna heterozigotnost klonova u sjemenskoj plantaži Kozji grm iznosi 0,2833, a u sjemenskoj plantaži Šamin gaj srednja heterozigotnost je 0,3166. Srednja teorijska heterozigotnost za plantažu Kozji grm iznosi 0,3366, a za sjemensku plantažu Šamin gaj 0,3491.

Ključne riječi: obični bor (*Pinus sylvestris* L.) klonska sjemenska plantaža, izoenzim, identifikacija

UVOD

INTRODUCTION

Osnovni cilj sjemenske plantaže je da se osigura da se jednostavno i u vrlo kratkom periodu dobiju dovoljne količine šumskog sjemena najboljih genetičkih

¹ Šumarski fakultet Univerziteta u Sarajevu, Zagrebačka 20, 71000 Sarajevo, Bosna i Hercegovina

² Bayerisches Amt für forstliche Saat und Pflanzenzucht, Teisendorf, Germany

svojstava, na relativno maloj površini, i kojeg je jednostavno i lako sakupiti za razliku od onog u sjemenskoj sastojini. S obzirom da se u sjemenskoj plantaži podiže od klonovima, cijelo potomstvo (ramete) jednog zajedničkog pretka u ovom slučaju plus stabla (ortete), naziva se klonom i ima potpuno identičnu genetičku strukturu (Vidaković i Krstinić, 1985; Silvertown i Doust, 1995).

Tako su prema Eriksonu i Ekbergu (2000) sjemenske plantaže predstavljaju posebne, umjetno podignute višegodišnje nasade za proizvodnju kvalitetnog selekcioniranog sjemena, koje je genetički superiornije od onog proizvedenog u sjemenskim sastojinama. Uvijek se podižu od fenotipski i genotipski najboljih individua, dobivenih kroz cikluse oplemenjivanja, a poznatih kao plus stabla ili elitna stabla. Obično se te selekcionirane individue uzgajaju na većoj ili manjoj površini, udaljenoj i izoliranoj od prirodne sastojine, u cilju sprječavanja kontaminacije stabala genetički slabijim polenom, te proizvodnje genetički poboljšanog sjemena u odnosu na sjemenom proizvedenim iz sjemenskih sastojina. Također to su objekti koji redovnije i obilnije rađaju sjemenom od sjemenskih sastojina.

Prema načinu podizanja sjemenske plantaže mogu biti klasificirani na različite načine. Osnovna podjela je na osnovu podrijetla materijala od kojeg je podignuta sjemenska plantaža, tako imamo generativne i klonske plantaže.

Druga klasifikacija sjemenskih plantaža pretpostavljena je tipom materijala koji je uključen u sjemensku plantažu. To mogu biti klonovi ili generativni materijal dvije vrste, ili među vrsne sjemenske plantaže, klonovi ili generativni materijal iz dvije provenijencije, odnosno među provenijencijske sjemenske plantaže, odnosno klonovi ili generativni materijal mogu voditi podrijetlo od jedne provenijencije, unutar provenijencijske sjemenske plantaže.

Cilj ovog istraživanja je da se ustanovi genetička struktura dva tipa sjemenskih plantaža, plantaže "Kozji grm" koja je multiklonska sa podrijetlom klonova iz više provenijencija, te multiklonske sjemenske plantaže "Šamin gaj" čiji klonovi vode podrijetlom od jedne provenijencije.

Rezultati iz ovog istraživanja mogu poslužiti i kod stvaranja nacionalnog koncepta podizanja sjemenskih plantaže, uz pretpostavku da se poštuju svi principi održanja genetičkog biodiverziteta jedne vrste u nekoj zemlji, te genetičke biosigurnosti. Ovo je jako bitno za područje centralnih Dinarskih planina poznatih po velikoj genetičkoj raznolikosti. Tako bi se neuvažavanjem principa biodiverziteta i genetičke biosigurnosti u uporabi sjemenskog i sadnog materijala narušila vrlo labilna genetička struktura u mnogim populacijama, te bi se dovelo do genetičkih zagađenja autohtonih populacija.

Sjemenska plantaža "Kozji grm"

Klonska sjemenska plantaža običnog bora "Kozji grm" smještena je u neposrednoj blizini Tarčina, oko 25 km zapadno od Sarajeva, na području kojim gazduje JKP Sarajevo šume, Šumarija Hadžići. Plantaža je podignuta od 40 klonova podrijetlom iz pet različitih provenijencija sa područja Bosne i Hercegovine (Gornji Janj 10 klonova, Klekovača 7 klonova, Kaljina Bioštica 16 klonova, Romanija

Glasinac 6 klonova, Igman 1 klon). Svaki od 40 klonova je zastupljen sa 25 kopija, te je prilikom podizanja sjemenske plantaže bilo ukupno 1000 rameta.

Sjemenska plantaža "Šamin gaj"

Klonska sjemenska plantaža običnog bora "Šamin gaj" smještena je u neposrednoj blizini Rakovice, oko 20 km sjeverozapadno od Sarajeva, na području kojim gazduje GD "Sarajevo šume", Šumarija Hadžići. Plantaža je podignuta od 20 klonova podrijetlom iz jedne provenijencije, sa lokaliteta Igman. Svaki od 20 klonova je zastupljen sa 20 kopija, te je prilikom podizanja sjemenske plantaže bilo ukupno 400 rameta.

Uvidom u klimatske podatke za najbližu meteorološku postaju (Stefanović i dr. 1983) može se zaključiti da su uvjeti za povoljno cvjetanje, oprašivanje i dozrijevanje sjemena vrlo dobri za obični bor, a uz primjenu odgovarajućih agrotehničkih mjera prinos sjemena se mogao i povećati.

MATERIJAL I METODA

MATERIALS AND METHODS

Početak ožujka 2003 godine, u sjemenskim plantažama običnog bora sabrane su grančice sa dormantnim pupovima, koje su se rabile za izoenzimske analize.

U multiklonskoj plantaži "Kozji grm" gdje su klonovi podrijetlom iz više populacija, koja je podignuta od 40 klonova, trenutno je živo 697 rameta, sa kojih su sabrane grančice sa dormantnim pupovima, te su poslužile za genetičko identifikiranje plantaže, kao i izradu karte klonova u plantaži.

Za analizu sjemenske plantaže "Šamin gaj" u kojoj su klonovi podrijetlom iz jedne populacije, sabrano je samo po jedna grančica po klonu jer su pozicije svih klonova poznate.

Genetička analiza se obavila uporabom izoenzimskih markera, a ukupno je rabljeno 9 enzimskih sustava, s 12 gen lokusa, Pgm – A, Idh – A, Sdh – A, Sdh – B, Lap – B, Fest – B, Got – A, Got – B, Got – C, 6-Pgdh – B, Mdh – A, Mdh – C.

Postupci maceracije, pripreme gela, elektroforeze i bojenja gela bili su prilagođeni primijenjenim enzimskim sustavima prema HERTEL (1997), za bijeli bor kako je prikazano u Tablici 1.

Analiza dobivenih rezultata obavljena je uz uporabu jednadžbi koje navodi Borojević K. (1985), a izračunat je prosječan broj alela (A/L), prosječan broj genotipova (G/L), te stvarna (H_s) i teorijska (H_t) heterozigotnost za svaku sjemensku plantažu, te su ti podatci uporabljeni za uspoređivanje genetičke strukture plantaža.

REZULTATI

RESULTS

Ukupno je analizirano 55 alela koliko ih je registrirano u klonskim sjemenskim plantažama, dok je u multiklonskoj plantaži "Kozji grm" registrirano 46 (Tablica 1 i 2), a u sjemenskoj plantaži "Šamin gaj" 35 alela (Tablica 1 i 2).

Tablica 1. Identificirani klonovi iz sjemenskih plantaža "Kozji grm" i "Šamin gaj"
 s pripadajućim genotipovima

Table 1 ???

???

KLON	Fluorescent esterase FEST-B	Leucin amino peptidase LAPB	Phosphoglu- comutase PGMA	Gluta- mat oxa- lacetat transmi- nase GOTA	Gluta- mat oxa- lacetat transmi- nase GOTB	Gluta- mat oxa- lacetat transmi- nase GOTC	6-phosphoglu- comate- dehydro- genase P6	Shiki- mic acid dehidro- genase SDHA	Shiki- mic acid dehidro- genase SDHB	Malat- dehydro- genase MDHA	Malat- dehydro- genase MDHC	Isocitrat dehidro- genase IDHA
Identificirani klonovi iz sjemenske plantaže "Kozji grm" s pripadajućim genotipovima												
1	22	23	33	33	35	24	55	44	22	33	33	22
2	24	34	33	33	55	24	44	44	22	33	35	22
3	24	33	33	33	45	24	33	44	22	33	35	22
4	22	33	33	13	45	24	22	44	22	33	35	22
5	22	33	33	13	33	44	33	66	22	33	15	22
6	23	33	33	11	55	22	22	44	22	33	33	22
7	24	13	33	33	45	44	35	46	22	33	23	22
8	22	33	33	13	55	24	24	44	22	33	55	22
9	22	33	33	33	45	44	33	44	22	33	33	22
10	22	33	23	33	35	44	33	44	22	33	33	22
11	24	33	33	11	55	24	35	44	22	33	35	22
12	24	13	33	33	33	24	33	46	22	33	15	22
13	34	33	33	33	33	55	44	33	44	22	13	33
14	24	33	34	33	55	22	55	44	12	33	35	22
15	22	33	33	33	55	24	33	44	22	33	33	22
16	22	35	23	33	35	24	22	46	22	13	33	22
17	34	33	33	13	45	24	55	44	22	13	33	22
18	22	33	23	13	35	44	37	24	22	33	35	22
19	23	23	33	33	44	44	55	44	22	33	35	22
20	24	33	33	33	55	44	24	46	22	33	35	22
21	22	33	33	33	45	44	33	44	22	33	33	22
22	22	33	33	33	55	44	22	24	22	33	33	22
23	23	34	33	11	23	44	33	44	22	33	33	22
24	22	33	33	33	33	44	33	68	22	33	35	22
25	23	33	33	11	35	24	33	44	12	13	33	22
26	23	33	33	11	45	44	55	44	22	33	35	22
27	22	33	33	33	35	24	35	44	22	33	33	22
28	22	33	24	33	45	44	33	44	22	33	33	22
29	24	33	33	13	45	24	34	44	22	33	33	22
30	24	33	33	13	35	44	35	46	22	33	33	22
31	22	33	23	13	55	44	33	46	22	33	33	22
32	23	33	33	33	55	24	33	46	22	33	33	22
33	24	33	33	33	33	44	36	44	22	33	35	22
34	22	34	33	13	33	22	33	44	22	33	33	22
35	22	33	33	22	45	24	33	47	22	33	35	22
36	12	33	33	23	35	22	33	44	22	33	33	22
37	23	33	33	12	35	24	55	44	22	33	35	22
38	22	33	33	12	35	44	33	44	12	33	33	22
39	24	34	33	22	55	24	35	44	22	33	35	22
40	34	33	33	22	25	24	33	46	24	33	33	22
Broj alela	4	5	3	3	4	3	6	6	3	3	4	1

KLON	Fluorescent esterase FEST-B	Leucin amino peptidase LAPB	Phosphoglucutase PGMA	Glutamat oxalacetat transminase GOTA	Glutamat oxalacetat transminase GOTB	Glutamat oxalacetat transminase GOTC	6-phosphoglucutate dehidrogenase P6	Shikimic acid dehidrogenase SDHA	Shikimic acid dehidrogenase SDHB	Malat dehidrogenase MDHA	Malat dehidrogenase MDHC	Isocitrat dehidrogenase IDHA
Identificirani klonovi iz sjemenske plantaže "Šamin gaj" s pripadajućim genotipovima												
1	22	33	33	33	45	34	33	66	12	33	35	22
2	23	33	23	33	23	34	33	46	12	33	35	22
3	22	33	13	33	55	24	33	46	22	33	35	22
4	33	33	22	33	55	44	34	44	14	33	35	22
5	23	33	33	33	34	24	33	48	22	33	35	33
6	24	33	33	33	35	24	33	44	12	33	33	33
7	24	23	33	33	55	44	55	46	12	33	35	33
8	22	23	33	33	35	45	33	46	12	13	33	33
9	34	33	33	13	35	24	33	46	24	33	33	33
10	24	33	23	33	35	24	33	44	22	33	33	33
11	22	33	33	33	55	44	35	44	12	13	33	22
12	22	33	33	33	55	24	35	44	22	33	35	22
13	24	33	23	33	55	24	33	44	22	33	35	22
14	33	33	34	13	55	44	35	44	22	33	33	22
15	24	33	33	13	34	44	33	66	12	33	33	22
16	34	33	33	13	55	45	33	46	12	33	33	22
17	22	33	33	33	55	34	33	46	12	33	55	22
18	44	33	33	33	35	44	33	46	12	33	33	22
19	24	33	33	33	35	44	35	66	22	33	35	22
20	33	34	34	33	35	44	35	46	22	33	33	22
Broj alela	3	3	4	2	4	4	3	3	3	2	2	2

Radi ocjene genetičke raznolikosti najprije se u istraživanim plantažama izračunava srednji broj alela po lokusu (A/L), te utvrđuju se razlike među njima. U ovom istraživanju dobivena je vrijednost za srednji broj alela po lokusa od 3,83 za sjemensku plantažu Kozji grm i 2,91 za plantažu Šamin gaj. Prema istraživanjima koja je proveo Gregoeius (1980, 1983), na ovo svojstvo utječe broj analiziranih individua, te prije donošenja zaključaka poželjno je konzultirati Tablicu 2.

Srednji broj genotipova po lokusu (G/L) služi za prikazivanje raznolikosti unutar istraživanih sjemenskih plantaža. Posebno se treba obratiti pažnja na to da je broj i količina mogućih genotipova (Gm) veći od broja alela. S obzirom na to da je broj realiziranih genotipova u jednoj populaciji stvarno veći od broja alela, to pri ocjeni genotipske raznolikosti u odnosu prema alelnoj raznolikosti imamo mogućnost pojave više pogreški (Gregorius 1980, 1983; Hattemer i dr. 1982, Konnert 1999). U ovom istraživanju prosječan broj genotipova je iznosio 5,16 za sjemensku plantažu Kozji grm i 3,58 za sjemensku plantažu "Šamin gaj".

Vrlo je važno mjerilo genetičke raznolikosti u populaciji heterozigotnost, koja zapravo označava broj heterozigota u populaciji. Prema Borojević (1985), heterozigotnost populacije izračuna se tako da se najprije odredi frekvencija heterozigotnih individua na svakom lokusu, a zatim se izračuna prosjek za sve lokuse. Stvarna heterozigotnost za klonove u sjemenskoj plantaži "Kozji grm" iznosi 0,2833, a naj-

Tablica 2. Relativne frekvencije alela za analizirane lokuse
 Table 2 ???

Lokus/alel	"Koziji grm"	"Šamin gaj"	Lokus/alel	"Koziji grm"	"Šamin gaj"
Pgm –A (n)			Lap –B (n)		
1	0,00	0,03	1	0,03	0,00
2	0,97	0,12	2	0,03	0,05
3	0,03	0,80	3	0,88	0,92
4	0,00	0,05	4	0,05	0,03
			5	0,01	0,00
Idh –B (n)			Fest –B (n)		
1	0,03	0,00	1	0,01	0,00
2	0,01	0,70	2	0,68	0,50
3	0,72	0,30	3	0,13	0,25
5	0,24	0,00	4	0,18	0,25
Mdh –A (n)		48	Got –A (n)		
1	0,00	0,10	1	0,00	0,10
2	0,33	0,00	2	0,06	0,00
3	0,00	0,90	3	0,91	0,90
4	0,66	0,00	4	0,03	0,00
5	0,01	0,00			
Mdh –A (n)			Got –B (n)		
2	0,13	0,95	1	0,26	0,00
3	0,55	0,05	2	0,11	0,03
4	0,09	0,00	3	0,63	0,25
5	0,21	0,00	4	0,00	0,07
6	0,01	0,00	5	0,00	0,65
7	0,01	0,00			
Sdh –A (n)			Got –C (n)		
2	0,03	0,00	2	0,02	0,17
3	0,03	0,00	3	0,29	0,08
4	0,78	0,60	4	0,15	0,70
6	0,14	0,38	5	0,54	0,05
7	0,01	0,02			
8	0,01	0,00	6-Pgdh –B (n)		
Sdh –A (n)			1	0,04	0,00
1	0,04	0,28	2	0,03	0,00
2	0,92	0,67	3	0,93	0,80
4	0,04	0,05	4	0,00	0,03
			5	0,00	0,17

veću heterozigotnost kod klonova pokazuje gen lokus Got-C sa veličinom od 0,5500, dok za gen lokusu Pgm-A nije registrirana.

U sjemenskoj plantaži "Šamin gaj" stvarna heterozigotnost iznosi 0,3166, a najveću je heterozigotnost pokazuju gen lokusi Fest-B sa veličinom 0,6300, dok za gen lokus Mdh-C i Idh-B nije registrirana. Teorijska (očekivana) heterozigotnost ponaša se sukladno stvarnoj, s tim što neki od gen lokusa pokazuju veću heterozigotnost od stvarne, i obrnuto. Srednja teorijska heterozigotnost za plantažu "Kozji grm" iznosi 0,3366, a za sjemensku plantažu "Šamin gaj" 0,3491.

RASPRAVA

DISCUSSION

U ovom istraživanju unaprijed smo bili ograničeni sa brojem analiziranih uzoraka, jer plantaže imaju strogo definirani broj klonova. Tako je predstavljen ukupni broj genotipova koje srećemo u sjemenskoj plantaži, u ovom slučaju uvjetno rečeno populaciju, odnosno broj klonova. Tako je uzorak oslobođen subjektivnosti pri izboru jer su znatno ranije postavljene granice prilikom podizanja plantaže. Ipak za valjanu analizu problem predstavlja različit broj klonova u plantažama, jedna je sa 20, a druga sa 40 klonova, što može ostaviti određenog traga na rezultatu. (Gregorius 1980, 1983), jer su neki od genetičkih parametara pod izravnim utjecajem broj individua u uzorku. Ipak to smo pokušali riješiti uvođenjem određenih parametara, kao što je veličina heterozigotnosti, odnosno prikazivanjem frekvencija svih alela, kao što je prikazano u Tablici 2.

Za razliku od prirodnih populacija sjemenske plantaže su vrlo pogodne za jednostavnu genetičku kontrolu sjemena i sadnog materijala, na temelju genetičke identifikacije klonova u plantaži. Ove kontrole se vrlo brzo i jednostavno mogu obaviti uz pomoć izoenzimske analize, kao i nekih drugih molekularnih metoda.

Proizvedeno sjeme iz sjemenskih plantaža koristi se za podizanje umjetnih nasada običnog bora, a povezano je i sa rješavanjem određenom problematikom. Možda je glavni problem smanjene genetičke varijabilnosti u reprodukcijском materijalu podrijetlom iz plantaža, mali broj klonova. Tako proračuni iz mnogih istraživanja pokazuju da je sadni materijal iz sjemenskih plantaža u mnogim slučajevima opterećen nedovoljnom genetičkom informacijom, odnosno postojanjem velikog broja jedinki nastalih samooplodnjom ili inbridingom, i. gubitkom adaptacijske sposobnosti, zbog sabiranja sjemena s malog broja genotipova. Ovdje moramo osvrnuti i na istraživanje Finkeldey (1993) a koje se odnosi na prirodne šume, a koji predlaže da se broj jedinki potrebnih za održavanje genetičkog potencijala mora temeljiti na vjerojatnosti gubitka rijetkih gena iz populacije, a to u našem slučaju znači da bi plantaža trebala da ima dovoljan broj klonova da u sebi očuva veći dio genofonda (genetičkog izvora), kao i rijetke alele.

Poseban problem predstavlja pojava introgresija stranih alela u nove populacije uporabom sjemena podrijetlom iz udaljenih populacija koje na taj način mogu izgubiti dobar dio svojih adaptacijskih potencijala. Ovo je posebno interesantno za obični bor, čije prirodne populacije obično nastaju od malog broja individua, nakon određenih prirodnih katastrofa, i u sebi sadržavaju specifičnu genetičku strukturu, svojstvenu za pionirske vrste. Tu je u pitanju obično mali broj alela sa visokom heterozigotnošću, i relativno dobrom adaptabilnošću na lokalne uvjete. Ipak ta adaptabilnost kod pionirskih vrsta je ipak vrlo labilna, te se obično gubi kroz prirodnu sukcesiju koja je svojstvena za šume običnog bora, te bilo kakvo unošenje stranih alela kada je u pitanju ova vrsta može da brzo dovede do veoma štetnih procesa u populaciji, kao i njenog brzog propadanja. Tako kod rada sa umjetnim obnavljanje sastojina običnog bora materijalom iz sjemenskih plantaža treba voditi računa o genetičkoj strukturi istog.

Ali ipak ovdje se moramo vratiti na postavljeni zadatak, a to je "što je prikladnije sjeme iz multiklonskih plantaža podignutih od jedne provenijencije ili više provenijencija". Iz dobivenih rezultata je vidljivo da multiklonska sjemenske plantaže od klonova iz više provenijencija u sebi sadržava više alela i da pokazuju veću raznolikost, što je i očekivano, s obzirom da ona prezentira genetičku raznolikost jednog šireg prostora.

Za razliku od njih multiklonske plantaže od klonova iz jedne provenijencije u sebi čuvaju dobar dio autohtonog genofonda, a to je vidljivo iz dobivenih rezultata, posebno iz Tablice 2. Tako se introdukcijom su proizvedenog selekcioniranog materijala iz takve plantaže u lokalnu autohtonu populaciju neće ugroziti autohtona genetička struktura i njena adaptabilnost. Jedina implikacija može biti u promjeni frekvencija alela kroz kasnija križanja sa prirodnim materijalom, ali će populacija ipak u sebi zadržati autohtone rijetke alele.

U slučaju uporabe sjemena proizvedenog u multiklonskoj sjemenskoj plantaži podignutoj od klonova iz više provenijencija u početku možemo ostvariti određenu dobit kroz nastanak heterozisa, ali imamo i rizik da će se u lokalne populaciju kroz proces introgresije unijeti neki neželjeni aleli. To se obično dešava ako se izvrši introdukcija sadnog materijala u lokalne populacije ili okolinu gdje je nesmetan tok gena. Na taj način mijenjamo strukturu populacija i smanjujemo njihov adaptacijski potencijal, što može dovesti do štetnih posljedica u narednom periodu, kroz nastajanje vrlo labilnih šumskih struktura koje su izložene raznim negativnim djelovanjima patogena i insekta.

Iz analize koja je provedena, ako se zanemare rezultati koji su neka svojstva pod izravnim utjecajem broj individua koje su uzete u istraživanje, razlike su evidentne. Tako su za sjemensku plantažu "Kozji grm" svojstvena potpuno druga kombinacija alela nego u plantaži "Šamin gaj", što se iz korištenih statističkih pokazatelja izravno ne može vidjeti, ali se jasno vidi iz analize alela u Tablici 2. Na temelju tih razlika, a u cilju zaštite autohtonog genofonda, može se preporučiti podizanju manjih plantaža sa klonovima iz lokalnih populacija koje bi zadovoljavale lokalne potrebe za sjemenom, te ne bi predstavljale potencijalnu opasnost za autohtone prirodne populacije. Velike multiklonske plantaže sa klonovima iz više populacija eventualno koristiti za podizanje nasada tamo gdje u široj okolini nema autohtonih populacija običnog bora, da bi izbjegli introgresiju neželjenih alela u prirodne populacije, ili u krajnjem slučaju jednostavno napustiti taj koncept. Inače koncept malih klonskih sjemenskih plantaža sa klonskim materijalom iz lokalnih populacija mogao bi da predstavlja i jedan posebni oblik *Višestrukog sustava oplemenjivanja populacija* (MPBS) (Eriksson i dr. 1993, 1995) ako bi se podizale sa po 50 klonova i subpopulacija od minimalno 20 subpopulacija, te koje bi dobile status arhive *ex situ*.

ZAKLJUČAK

CONCLUSION

Sjemenske plantaže predstavljaju objekte za proizvodnju selekcioniranog šumskog sjemena gdje je vrlo jednostavna kontrola biokemijskim biljezima.

Razlike koje su dobivene na osnovu molekularno genetičke analize ukazuju da su sa motrišta očuvanja genetičkog diverziteta prihvatljivije sjemenske plantaže od klonova iz lokalne autohtone plantaže.

Uporabom sjemena proizvedenog u multiklonskoj sjemenskoj plantaži podignutoj od klonova iz više provenijencija povećavamo rizik da se kroz proces introgresije unesu i neki neželjeni aleli u prirodne populacije.

Veća mreža manjih lokalnih sjemenskih plantaža mogla bi predstavljati i jedan posebni oblik *Višestrukog sustava oplemenjivanja populacija* (MPBS) i konzervacije *ex situ*.

LITERATURA

REFERENCES

- Borojević, K. 1985. Geni i populacija, Novi Sad, str. 545.
- Eriksson, G., Namkoong, G., Roberds, J.H. 1993. Dynamic gene conservation for uncertain futures. *Forest. Ecol. Manage.* 62:15-37.
- Eriksson, G., Namkoong, G., Roberds, J.H. 1995. Dynamic conservation of forest tree gene resources. FAO, 23, Rome, Italy.
- Eriksson, G., Ekberg, I. 2000. An introduction to Forest Genetics. Uppsala, str.166.
- Finkeldey, R. 1993. Die Bedeutung allelischer Profile für die Konservierung genetischer Ressourcen bei Waldbäumen, Göttingen, Forstgenet. Ber., 14: str. 176.
- Gregorius, H. R. 1980. The probability of losing an allele when diploid genotypes are sampled, *Evolution Theory*, 6: 143-162.
- Gregorius, H. R. 1983. Klonanzahl in Samenplantagen und genetische Vielfalt. Arbeitstagung Forum Genetik Wald Forstwirtschaft, Göttingen, 58-62.
- Hattemer, H. H., Gregorius, H. R., Ziehe, M., Müller – Starck, G. 1982. Klonanzahl forstlicher Samenplantagen und genetische Vielfalt, *Allgemeine Forst und Jagdzeitung*, 153 : 183-191.
- Hertel, H. 1997. Biochemisch-genetische Untersuchungen bei Kifer (*Pinus sylvestris* L.) – Anleitung zur Trennmethode und Auswertung der Zymogramme. Mitteilungen der Bundesforschungsanstalt für Forst – und Holzwirtschaft Hamburg, Nr. 186.
- Konnert, M. 1999. Herkunftsüberprüfung mit biochemisch-genetischen Methoden; *Der Weihnachtsbaum*, No 5, pp 4-9, Gudensberg
- Silvertown, J. W., Doust, J. L. 1995. Introduction to plant population biology, Blackwell Science, Reprinted 1995, str 210.
- Stefanović, V., Beus, V., Burlica, Č., Dizdarević, H., Vukorep, I. 1983. Ekološko-vegetacijska rejonizacija Bosne i Hercegovine, Sarajevo, 1983, Šumarski fakultet, Posebna izdanja br. 17.: 23-27.
- Vidaković, M., Krstinić, A. 1985. Genetika i oplemenjivanje šumskog drveća, Sveučilište u Zagrebu, str. 503.

COMPARISON OF MOLECULAR AND GENETIC PROPERTIES
OF PINE (*Pinus sylvestris* L.) SEED PLANTATIONS
IN BOSNIA AND HERCEGOVINA

Summary

*The paper analyses the genetic structure of the pine (*Pinus sylvestris* L.) clones in the multiclone seed plantations of Kozji Grm (KG) and Šamin Gaj (ŠG). The clones in both seed plantations originate from natural populations of common pine in Bosnia and Hercegovina; KG (40 clones): Gornji Janj – 10 clones, Klekovača 7, Kaljina Bioštica 16, Romanija Glasinac 6, Igman 1, while the ŠG plantation contains 20 clones from one population (Igman).*

The genetic structure was analysed using 9 enzyme systems upon altogether 12 gene loci. Altogether 55 different alleles were observed: in KG plantation 45 alleles were seen, while in ŠG plantation there were 35 alleles. To estimate the genetic diversity, the mean number of alleles per locus (A/L) was calculated: it is 3.83 for KG, and 2.91 for ŠG, while the mean number of genotypes per locus (G/L) was 5.16 for KG and 3.58 for ŠG. The results confirm the assumption that the number of possible classes with genotypes is higher than with alleles. The differences are the most conspicuous if the differences are observed in the occurrence of the individual alleles and the allele frequencies.

The mean real hetero-zygote property of the clones in KG plantation is 0.2833, while the same value in ŠG is 0.3166. The mean theoretical hetero/zygote property of KG plantation is 0.3366, and of ŠG plantation it is 0.3491. The present differences show a deviation of the real status from the status of genetic balance according to the Hardy/Weinberg law. The results show that the use of the seed produced in the multiclone seed plantation, which originates from the clones from different provenances, may increase the risk of introducing undesired alleles into the natural population. A more acceptable solution would therefore be the seed plantations from the clones of a single population, and the use of their seed for the regeneration of this population.

*Key words: common pine (*Pinus sylvestris* L.), clone, plantation, iso-enzymes, and identification*