

## KVANTITATIVNA GENETSKA VARIJABILNOST PROVENIJENCIJA OBIČNE BUKVE (*Fagus sylvatica* L.) IZ JUGOISTOČNE EUROPE

### QUANTITATIVE GENETIC VARIATION OF EUROPEAN BEECH (*Fagus sylvatica* L.) PROVENANCES FROM THE SOUTHEASTERN EUROPE

Mladen IVANKOVIĆ<sup>\*1</sup>, Maja POPOVIĆ<sup>1</sup>, Ida KATIČIĆ<sup>2</sup>,  
Georg von WUEHLISCH<sup>3</sup>, Saša BOGDAN<sup>2</sup>

**SAŽETAK:** Istraživanja su provedena u testu provenijencija obične bukve, u kojemu je analizirano trinaest provenijencija podrijetlom iz jugoistočne Europe. Visine biljaka izmjerene su sukcesivno nakon prve tri godine rasta u nasadu, dok su fenologija listanja i zimska retencija lišća ocjenjivane skalarno u drugoj i trećoj godini.

Analiza varijance provedena je s namjerom određivanja statističke značajnosti komponenata varijance uzrokovanih efektima provenijencija. REG i CORR procedure provedene su s ciljem analize povezanosti između istraživačkih svojstava, kao i između svojstava provenijencija i klimatskih varijabli njihovih matičnih sastojina.

Rezultati su ukazali na postojanje visoke razine genetske varijabilnosti za sva analizirana svojstva. Utvrđene su visoko statistički značajne razlike između provenijencija, ali su realni podaci za visine, preživljenje i zimsku retenciju lišća bili opterećeni njihovim dobnim razlikama. Korekcijom za aditivni efekt dobnih razlika izgubila se statistička značajnost diferencijacije između provenijencija za visine i preživljenje.

Međupopulacijske razlike između provenijencija za analizirana svojstva testirane su Tukey-Kramer-ovim testom radi utvrđivanja eventualnog geografskog obrasca. Rezultati su pokazali geografsku strukturiranost za visine, preživljenje i zimsku retenciju lišća u smislu postepenih razlika u smjeru istok-zapad. Međutim, naoko klinalna varijabilnost bila je ponajprije uvjetovana dobnim razlikama.

Za svojstvo fenologije listanja nije utvrđena razlika između provenijencija prema geografskoj razdjelbi vrste, već rezultati za ovo svojstvo ukazuju na ekotipski obrazac međupopulacijskih razlika. Utvrđena je statistički značajna povezanost prosječnih vrijednosti provenijencija s Ellenberg-ovim klimatskim kvocjentima (EQ). Provenijencije iz vlažnijih i hladnijih staništa (EQ = 12-16) su kasnije listale. S povećanjem kontinentalnosti staništa, provenijencije su pokazivale trend prosječno ranijeg listanja. Kulminacija takvog trenda bila je kod vrijednosti EQ = 26, nakon čega su provenijencije pokazale obrnuti trend tj. ponovno kasnije listanje.

<sup>\*1</sup> Dr. sc. Mladen Ivanković, Maja Popović, dipl. ing. Hrvatski šumarski institut; Zavod za genetiku, oplemenjivanje šumskog drveća i šumsko sjemenarstvo. Cvjetno naselje 41; 10450 Jastrebarsko. E-mail: mladeni@sumins.hr

<sup>2</sup> Doc. dr. sc. Saša Bogdan, Ida Katičić, dipl. ing. Sveučilište u Zagrebu; Šumarski fakultet; Zavod za šumarsku genetiku, dendrologiju i botaniku; Svetošimunska 25, 10000 Zagreb. E-mail: sasa.bogdan@zg.htnet.hr

<sup>3</sup> Dr. sc. Georg von Wuehlisch Federal Research Institute for Rural Areas, Forestry and Fisheries (vTI), Institute for Forest Genetics, Grosshansdorf, Germany

Za svojstva koja su bila pod utjecajem dobnih razlika nije detektirana genetska diferencijacija, ali je ista utvrđena za svojstva fenologije listanja. S obzirom na to, kao i na slična istraživanja međupopulacijskih razlika za adaptivna svojstva, veća je vjerojatnost da populacije obične bukve na području jugoistočne Europe pokazuju ekotipski obrazac genetske diferencijacije, koji je oblikovan prilagođavanjem na lokalne makroklimatske uvjete.

Može se preporučiti da se kod razdjelbe na sjemenske jedinice i korištenja šumskog reprodukcijskog materijala treba više orijentirati na ekološke, a ne na geografske kriterije.

*Ključne riječi:* test provenijencija, rast, listanje, zimska retencija lišća, ekotipska varijabilnost, makroklimatska prilagodba

## UVOD – Introduction

Obična bukva (*Fagus sylvatica* L.) je najrasprostranjenija, a prema ekološkoj, socijalnoj i ekonomskoj vrijednosti pripada među najznačajnije vrste drveća u Europi. Prirodna struktura bukovih šuma jugoistočne Europe (na prostoru od Grčke na jugu, Mađarske na sjeveru, Slovenije na zapadu i Rumunjske na istoku) većinom je sačuvana, a na navedenom prostoru rasprostranjene su na površini većoj od 9 000 000 ha. Obična bukva je jedina vrsta šumskog drveća u Europi koja od prirode raste na širokom rasponu nadmorskih visina (od 100 m pa sve do 2000 m n.v.). Veliko područje rasprostranjenosti, u horizontalnom i vertikalnom smislu, ukazuje na značajnu plastičnost (prilagodljivost putem modifikacija), ali i na veliku raznovrsnost selekcijskih pritisaka koji su mogli utjecati na oblikovanje strukture genske raznolikosti ove vrste.

Istraživanja razine, obrasca i uzroka genetske varijabilnosti ključna su za očuvanje genskih izvora i oplemenjivanje šumskog drveća. Genetička istraživanja obične bukve započela su osnivanjem prvog pokusnog nasada provenijencija u Njemačkoj 1877. godine, a nešto kasnije u Belgiji, Danskoj, Francuskoj i ostalim europskim zemljama (Vidaković i Krstinić 1985, Kajba 2003). Uočavanje određenih morfoloških, fizioloških i gospodarski važnih značajki pojedinih bukovih provenijencija ima veliku važnost za izbor i priznavanje sjemenskih sastojina i oplemenjivanje obične bukve (Gračan 2003).

S obzirom na kompleksnu topografiju jugoistočne Europe, može se pretpostaviti da je genska raznolikost bukovih populacija u tom području oblikovana divergentnim selekcijskim pritiscima, što je vjerojatno moglo rezultirati genetskom strukturom koja nalikuje slučajnom (ekotipskom) obrascu, odnosno obrascu genske raznolikosti koja nije povezana s geografskim parametrima, već makroklimatskim posebnostima. Dosadašnja istraživanja genetske strukture populacija bukve u jugoistočnoj Europi ukazala su na višu razinu genske raznolikosti u tom području (Paule 1995, Gömöry et al. 1999), prevladavajući ekotipski karakter genetske diferencijacije populacija (Hazler et al. 1997, Gömöry et al. 2007, Ivanković

et al. 2008a, Ivanković et al. 2008b), kao i vjerojatnost glacijalnog pribježišta na području današnje Hrvatske i Slovenije (Magri et al. 2006, Brus 2010). Zbog potencijalno veće ugroženosti od globalnog zatopljanja na južnim rubovima areala, nužna je još veća informiranost o genskoj raznolikosti, posebice adaptivnih svojstava obične bukve u tom dijelu Europe.

Godišnji ciklus rasta i razvoja bukve određen je fotoperiodom, količinom nakupljene efektivne topline i vlažnošću tla. Međutim, fiziološki efektivna toplina i vlažnost tla nisu ravnomjerno raspoređene u području rasprostranjenosti vrste. Zbog toga se može pretpostaviti da ovisno o klimatskim posebnostima, na populacije obične bukve djeluje prirodna selekcija različitih smjerova i intenziteta (Mátyás i dr. 2009).

U kontekstu globalne promjene klime, važno je poznavati kompoziciju i strukturu genske raznolikosti, posebice s obzirom na tzv. adaptivna svojstva kao što su rast, preživljenje i fenologija listanja. Pojava zimske retencije lišća 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 međuvrtnu kompeticiju (Nilsson, 1983, Escudero i Arco, 1987). Samo jedan rad bavi se genetskim uzrocima ove pojave, a to istraživanje obavljeno je na hrastu lužnjaku (Herzog i Krabel, 1996).

S obzirom da genska raznolikost obične bukve s područja jugoistočne Europe, posebice za adaptivna svojstva nije dovoljno istražena, svrha je ovoga istraživanja pokušati utvrditi razinu, obrazac i moguće uzroke adaptivne genetske varijabilnosti putem analize odabranih kvantitativnih svojstava u testu provenijencija.

MATERIJAL I METODE – *Material and methods*

Tijekom 2002, 2003. i 2004. godine sabrano je sjeme u dvadeset i jednoj prirodnoj populaciji obične bukve, iz središnje i jugoistočne Europe. Sjeme je dostavljano u rasadnik Instituta za šumarsku genetiku u Grosshansdorf-u (Njemačka), gdje je odmah zasijavano te su uzgojene biljke u rasadniku rasle do 2007. godine. Test provenijencija od uzorkovanih populacija postavljen je u ožujku 2007. godine na lokalitetu Me-

dvednica (N 45°53'5.6"; E 15°55'13.8"). Pokusni nasad postavljen je sukladno potpunom randomiziranom blok dizajnu s tri ponavljanja. Svaka provenijencija zastupljena je s pedeset biljaka u jednom ponavljanju koje su posađene u pravokutne plohe u razmacima 2.0 × 1.0 m. U ovome je radu analizirano samo trinaest provenijencija koje potječu iz jugoistočne Europe (tablica 1).

Tablica 1. Osnovni podaci o analiziranim provenijencijama.  
Table 1 Basic data on studied provenances

Oznaka provenijencije <i>Provenance label</i>	Naziv provenijencije <i>Provenance name</i>	Država <i>Country</i>	Geografska duljina <i>Longitude</i>	Geografska širina <i>Latitude</i>	Nadmorska visina (m) <i>Altitude (m)</i>	Godina sabiranja sjemena <i>Seed collection year</i>
BiH30	Tajan, Žepče	Bosnia and Hezegovina	18° 03'	44° 23'	700	2003
BiH59	Vranica – Bistrica	Bosnia and Hezegovina	17° 49'	43° 33'	750	2004
BiH60	Crni vrh	Bosnia and Hezegovina	17° 59'	44° 33'	500	2004
BiH61	Grmeč, Bastra – Ćorkova	Bosnia and Hezegovina	16° 14'	44° 45'	720	2004
HR24	Sjeverni Dilj Čaglinski	Croatia	18° 01'	45° 17'	350	2003
HR25	Vrani kamen 12a, 15b	Croatia	17° 19'	45° 37'	600	2003
HR26	Opatija – Lovrin kal 22a	Croatia	14° 14'	45° 19'	900	2003
HR27	Vrbovsko - Meletka 36b	Croatia	15° 01'	45° 24'	800	2003
RO63	Alesd, U.P.II / 51A	Romania	22° 15'	47° 11'	490	2004
RO64	Alba-Iulia, U.P.V/154A	Romania	23° 05'	46° 10'	860	2004
SRB66	Avala	Serbia	20° 45'	44° 23'	475	2004
SRB68	Fruška gora	Serbia	19° 55'	45° 10'	370	2004
SRB69	Cer	Serbia	19° 50'	44° 12'	745	2004

Visine biljaka izmjerene su nakon prve, druge i treće sezone rasta u pokusnom nasadu. Faze listanja procjenjivane su na svim biljkama skalarno od 1 do 7 (1 – spavajući pupovi, 2 – bubrenje pupova, 3 – otvaranje pupova, vidljivi vršci listova, 4 – vidljivi mali i potpuno skupljeni listići, 5 – listovi još uvijek djelomično skupljeni, nepotpuno razvijeni, 6 – potpuno vidljivi i razvijeni listovi, ali manje veličine i 7 – potpuno razvi-

jeni listovi u punoj veličini), a zabilježene su četiri puta tijekom dvije sukcesivne godine (30. travnja 2008, 15, 22. i 29. travnja 2009). Zimska retencija lišća (WLR) ocjenjivana je skalarno od 0 do 3 (0 – potpuna odsutnost mrtvog lišća, 1 – prisutan poneki mrtvi list, 2 – umjerena pokrivenost mrtvim lišćem, 3 – mnogo mrtvog lišća), a zabilježena je dvaput (23. travnja 2008. i 29. travnja 2009. godine).

### Korekcija podataka s obzirom na dobne razlike između provenijencija –

#### *Data corrections considering age differences between provenances*

Analize su pokazale da su razlike između provenijencija u srednjim vrijednostima visina, preživljenja i zimske retencije lišća značajno uvjetovane dobnim razlikama između provenijencija (uslijed različitog vremena sabiranja sjemena i početne starosti sadnica u pokusnom nasadu – v. tablicu 1). Provenijencije su se grupirale u dvije klase (sjeme sabrano 2003. i 2004), te je bilo potpuno razvidno da su godinu starije provenijencije

bile značajno više, boljeg preživljenja i sa značajno višim udjelom biljaka s pojavom zimske retencije lišća. Korelacijski koeficijenti između dobi provenijencija i prosječnih vrijednosti za navedena svojstva bili su 0.97, 0.89 i 0.88 (za visine, preživljenje odnosno WLR). Zbog toga su navedena svojstva korigirana za "aditivni efekt dobi", što znači da su aritmetičke sredine provenijencija korigirane s devijacijom pripadajuće dobne klase od ukupne

aritmetičke sredine svih provenijencija  $\bar{x}_p + \frac{\square}{\square}(\bar{x}_D - \bar{x})$  [ $x_p - (x_D - X)$ ; aritmetička sredina provenijencije +/- (aritmetička sredina dobne klase – ukupna aritmetička sredina svih provenijencija)]. Tim postupkom su ukupne aritmetičke sredine (svih provenijencija) ostale iste, ali su aritmetičke sredine pojedinačnih provenijencija korigirane za aditivni efekt dobi. Korekcija je provedena radi usporedbe provenijencija neopterećene utjecajem dobnih razlika. Korigirane vrijednosti provenijencija za svojstva visine, preživljenja i zimske retencije lišća, korištene su u daljnjim statističkim analizama, posebice u korelacij-

skim i regresijskim analizama između svojstava i klimatskih varijabli. Radi usporedbe rezultata, uz analize provedene s korigiranim vrijednostima, sve su statističke analize ujedno provedene i s stvarnim prosječnim vrijednostima.

Za fenologiju listanja nije utvrđen utjecaj dobnih razlika između provenijencija (prosječni korelacijski koeficijent bio je 0.09), stoga su statističke analize za ovo svojstvo provedene s aritmetičkim sredinama izračunatim na temelju izmjera odnosno realnih podataka.

### Statističke analize – Statistical analyses

Sve statističke analize obavljene su uporabom SAS softverskog paketa verzije 8.2. Deskriptivni statistički parametri za istraživana svojstva izračunati su pomoću MEANS procedure. Analize varijanci obavljene su pomoću MIXED procedure s ciljem određivanja statističke značajnosti komponenti varijance uzrokovanih efektima provenijencija, blokova (ponavljanja u pokusnom nasadu) i interakcije provenijencija s blokovima. MIXED procedura provedena je prema sljedećem linearnom modelu (SAS 2000):

$$y_{ijk} = \mu + P_i + B_j + PB_{ij} + e_{ijk};$$

gdje su:  $Y_{ijk}$  - individualna izmjera (ocjena) biljke;  $\mu$  - ukupna sredina;  $P_i$  - fiksni efekt  $i$ -te provenijencije

( $i = 1,2,3...13$ );  $B_j$  - fiksni efekt  $j$ -tog ponavljanja (bloka) ( $j = 1,2,3$ );  $PB_{ij}$  - slučajni efekt interakcije provenijencija s blokovima;  $e_{ijk}$  - ostatak. Svi analizirani efekti smatrani su normalno distribuiranim.

Razlike između provenijencija za istraživana svojstva analizirane su Tukey-Kramer-ovim testom (u sklopu MIXED procedure), s ciljem određivanja eventualnog geografskog obrasca tj. da li razlike između provenijencija pokazuju geografsku strukturu. REG i CORR procedure (SAS 2000) korištene su za analize povezanosti između istraživanih svojstava, kao i povezanosti aritmetičkih sredina provenijencija s Ellenberg-ovim klimatskim kvocjentima (EQ-ima). EQ-i koriste se kao

Tablica 2. Klimatski parametri matičnih sastojina analiziranih provenijencija (podaci s najbližih meteoroloških stanica).  
Table 2 Climatic variables of the original provenance source stands (taken from the nearest weather stations)

Oznaka provenijencije <i>Provenance label</i>	Srednja godišnja temperatura (°C) <i>Mean annual temperature (°C)</i>	Srednja temperatura vegetacijskog perioda (°C) <i>Vegetation period mean temperature (°C)</i>	Srednja srpanjska temperatura (°C) <i>Mean July temperature (°C)</i>	Srednja godišnja količina oborina (mm) <i>Mean annual Precipitation (mm)</i>	Srednja količina vegetacijskog perioda (mm) <i>Vegetation period mean precipitation (mm)</i>	EQ EQ
BiH30	9.2	15.4	18.9	924.0	492.0	20
BiH59	4.6	9.7	13.5	1159.0	546.0	12
BiH60	10.0	16.2	19.8	906.0	483.0	22
BiH61	8.7	14.6	18.3	1138.0	533.0	16
HR24	9.2	15.4	18.9	829.0	472.0	23
HR25	9.1	15.3	18.9	901.0	523.0	21
HR26	8.9	14.2	18.1	1310.0	632.0	14
HR27	8.7	14.4	18.2	1355.0	637.0	13
RO63	10.3	17.1	20.7	614.0	364.0	34
RO64	8.2	14.5	17.8	698.0	460.0	26
SRB66	11.6	17.9	21.2	693.0	388.0	31
SRB68	10.6	17.2	20.7	661.0	373.0	31
SRB69	9.5	15.4	18.8	847.0	476.0	22
TRIAL site			16.3	1239.6		13



varijable koje opisuju stanišne prilike te se njihovom usporedbom s prosječnim vrijednostima analiziranih svojstava pokušala utvrditi povezanost obrasca genetske varijabilnosti s okolišnim razlikama.

Ellenbergovi kvocijenti izračunati su na temelju izraza:

$$EQ = (T_{\text{srpanj}}/P_{\text{god.}}) \times 1000;$$

gdje su:  $T_{\text{srpanj}}$  – prosječna temperatura srpnja;

$P_{\text{god}}$  – prosječna godišnja količina oborina.

Kvocijenti su izračunati za svaku analiziranu provenijenciju, koristeći klimatske podatke za staništa njihovih pripadajućih matičnih sastojina. Također, EQ je izračunat i za stanište na kojemu se nalazi pokusni nasad (tablica 2).

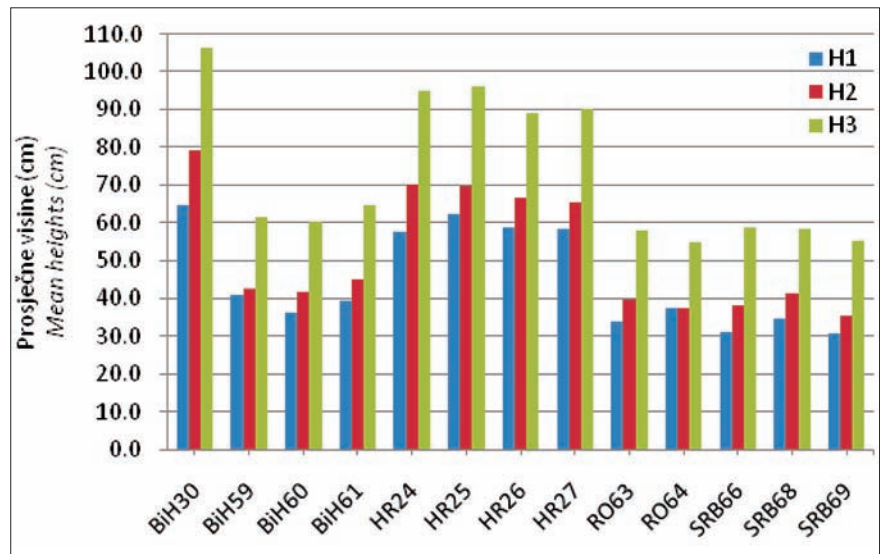
## REZULTATI – Results

### Rast i preživljenje – Growth and survival

Nekorigirane aritmetičke sredine provenijencija za visine biljaka prikazane su na slici 1. Tijekom cijelog analiziranog perioda, prosječno je najviša bila provenijencija BiH30 – “Tajan, Žepče” (64.5, 79.3, odnosno 106.1 cm). Hrvatske provenijencije (HR24, HR25, HR26 and HR27) su je slijedile, dok su ostale provenijencije bile niže rangirane. Provenijencija SRB69 – “Cer” bila je prosječno najniža nakon prvog i drugog vegetacijskog perioda, dok je RO64 (Alb-Iulia) preuzela posljednje mjesto nakon treće godine (54.8 cm).

Razlike između provenijencija za svojstvo visine bile su statistički visoko značajne tijekom analiziranog perioda (tablica 3). Tukey-Kramer-ov test najmanjih signifikantnih razlika između sredina provenijencija otkrio je naoko geografsku strukturiranost, koja je vjerojatnije uvjetovana dobnim razlikama.

Aritmetičke sredine visina provenijencija korigirane za dobnii efekt prikazane su na slici 2. Provenijen-



Slika 1. Prosječne visine provenijencija tijekom prve tri sukcesivne godine u pokusnom nasadu.

Figure 1 Provenance mean heights after first, second and third growing seasons at the trial site

cije podrijetlom iz Bosne i Hercegovine (označene s “BiH”) zauzele su prvo mjesto nakon trećeg vegetacijskog perioda, s korigiranim prosječnim visinama između 74.4 cm (BiH60 – “Crni Vrh”) i 83.8 cm (BiH30 – “Tajan, Žepče”). Hrvatske populacije HR27 – “Vrbovsko-Meletka” i HR26 – “Opatija-Lovrin Kal” istovremeno su bile su na posljednjim rang mjestima s korigiranim prosječnim vrijednostima 67.7 odnosno 66.8 cm. Međutim, suprotno od stvarnih visina, provenijencije se nisu tako izraženo razlikovale u korigiranim prosječnim vrijednostima (usp. slike 1 i 2), a i razlike nisu bile statistički značajne (tablica 3).

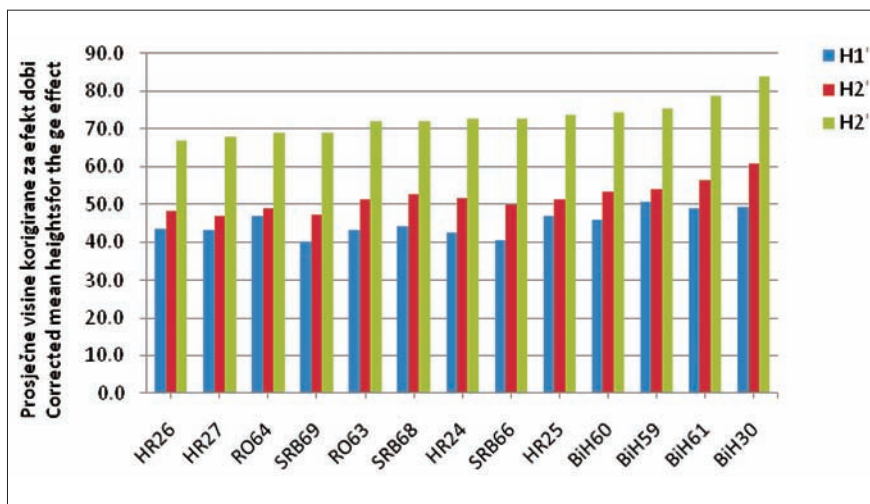
Prosječno preživljenje provenijencija nakon prve i treće godine rasta u pokusnom nasadu prikazano je na slici 3. Ukupno prosječno preživljenje sadnica u nasadu bilo je 90 % i 82 %, nakon prve odnosno

Tablica 3. Rezultati testa statističke značajnosti fiksnog efekta provenijencija, izračunat MIXED procedurom u SAS-u.

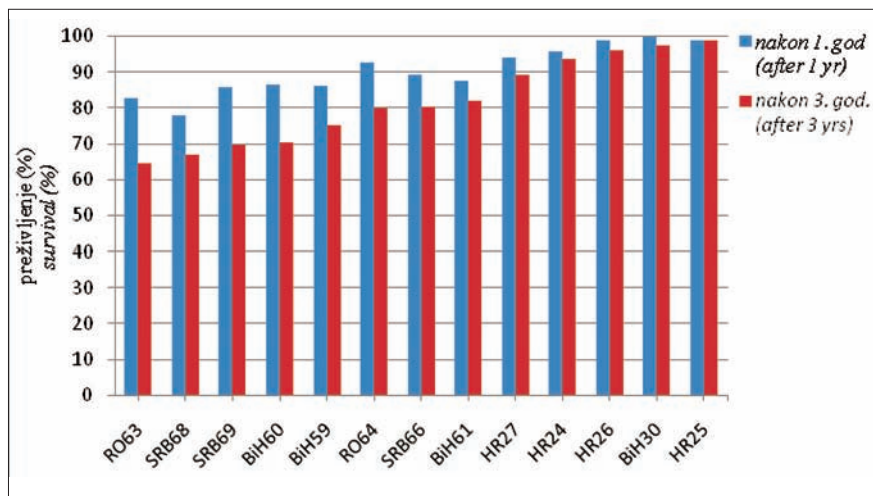
Table 3 Results of the provenance fixed effect given by the MIXED procedure in SAS

Svojstvo Trait	Br. stupnjeva slobode brojnika Num DF	Br. stupnjeva slobode nazivnika Den DF	F vrijednost F Value
H1	12	22.2	25.79***
H2	12	20.9	14.92***
H3	12	21.9	11.96***
H3*	12	21.7	1.99 <sup>ns</sup>
Listanje 29. 4.09. (flushing)	12	20.1	37.65***
WLR	12	22.4	11.76***

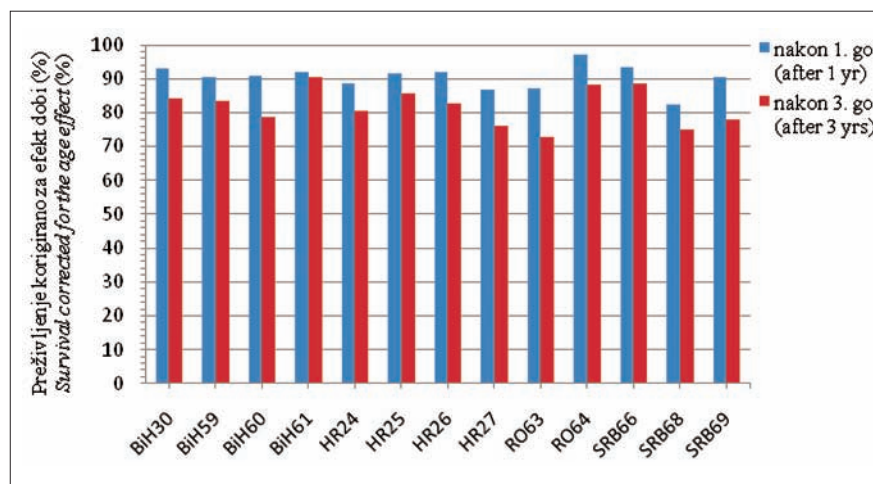
H3\* – visina nakon 3. godine korigirana za efekt dobnih razlika  
WLR – zimska retencija lišća



Slika 2. Prosječne visine provenijencija korigirane za dojni efekt.  
 Figure 2 Provenance mean heights corrected for the age effect



Slika 3. Postotak preživljenja provenijencija nakon 1. i 3. vegetacijskog perioda u pokusnom nasadu.  
 Figure 3 Survival percentage of the provenences after 1<sup>st</sup> and 3<sup>rd</sup> growing seasons at the trial site



Slika 4. Postotak preživljenja provenijencija nakon 1. i 3. vegetacijskog perioda u pokusnom nasadu, korigiran za efekt dobi.  
 Figure 4 Survival percentage of the provenences after 1<sup>st</sup> and 3<sup>rd</sup> growing seasons at the trial site, corrected for the age effect

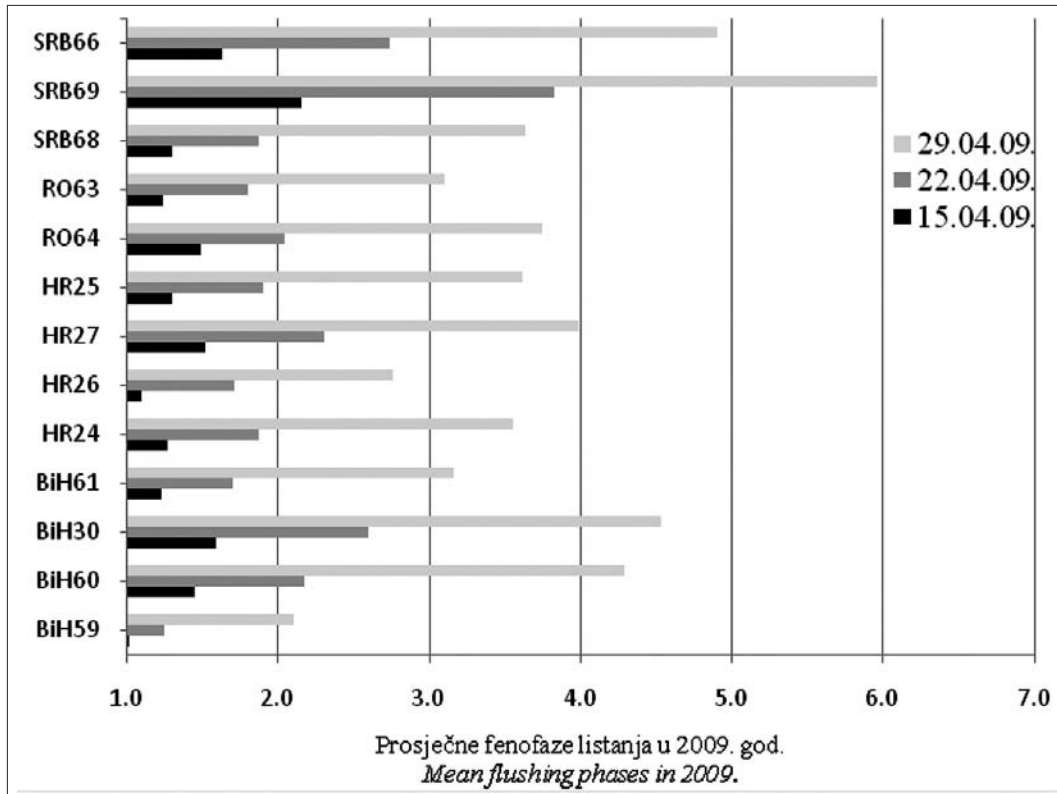
treće godine. Najbolje preživljenje nakon prvog vegetacijskog perioda imala je provenijencija “Tajan, Žepče” – BIH30 (100 %), dok je istovremeno provenijencija SRB68 – “Fruška Gora” imala prosječno najniži postotak preživljenja (78 %). Nakon treće sezone rasta, najviše preživjelih biljaka imala je provenijencija HR25 – “Vrani kamen” (99 %), a najmanje RO63 – “Alesd” (65 %).

Razvidno je da je i kod ovog svojstva dojni efekt imao veliki utjecaj na postotak preživljenja analiziranih provenijencija. Korigirane prosječne vrijednosti preživljenja su u odnosu na stvarne vrijednosti pokazale različito rangiranje provenijencija u dvije promatrane godine, kao i značajno manje razlike između provenijencija (slika 4). Provenijencija RO63 imala je najveći pad postotka korigiranog preživljenja nakon tri sezone rasta u nasadu (14 %), a relativno visokim padom preživljenja pratile su je provenijencije BIH60, SRB69 i HR27 (12, 12 odnosno 11 %). Nasuprot tomu, provenijencije BIH61 i SRB66 imale su najviše korigirane postotke i najmanji pad preživljenja nakon tri analizirane godine u nasadu (2 odnosno 5 %).

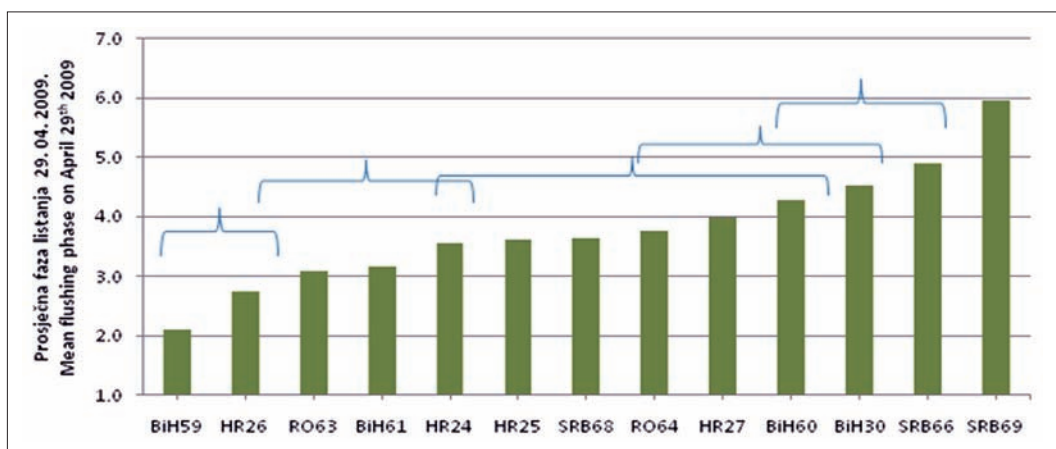
### Listanje – *Flushing*

Razlike u fenologiji listanja između analiziranih provenijencija u 2009. godini prikazane su na slici 5. Razlike u prosječnim vrijednostima bile su prilično izražene, posebice za fenofaze od 29. travnja. Analiza varijance pokazala je visoku statističku značajnost međupopulacijskih razlika (tablica 3). Potrebno je napomenuti da listanje nije bilo pod utjecajem dobnih razlika između provenijencija. Tukey-Kramer-ov test razlika između prosječnih vrijednosti provenijencija pokazao je da se provenijencija SRB 69 – “Cer” statistički značajno

odvajala od ostalih (slika 6). Ova je provenijencija prolistala značajno ranije od ostalih, te se može uočiti da je 29. travnja prosječno već bila u fenofazi 6 (faza potpuno razvijenih listova ali manje veličine). Ostale provenijencije su se grupirale u pet međusobno povezanih grupa (slika 6). Provenijencije BiH59 – “Vranica-Bistrica” i HR26 – “Opatija-Lovrin kal” mogle bi se okarakterizirati kao kasnolistajuće, jer su na isti dan prosječno bile u fenofazama 2.1 odnosno 2.8 (tj. prosječno su imale nabubrene pupove).



Slika 5. Prosječne fenofaze listanja analiziranih provenijencija u tri dana 2009. godine.  
Figure 5 Provenance mean flushing phases on three days in 2009



Slika 6. Prosječna faza listanja 29. 04. 2009. godine. Vitičastim zagradama označene grupe provenijencija između kojih nije bilo statistički značajnih razlika prema rezultatima Tukey-Kramer-ovog testa.  
Figure 6 Provenance mean flushing phases on April 29<sup>th</sup> 2009. Provenances that were not statistically different are marked with brackets (according to Tukey-Kramer test)

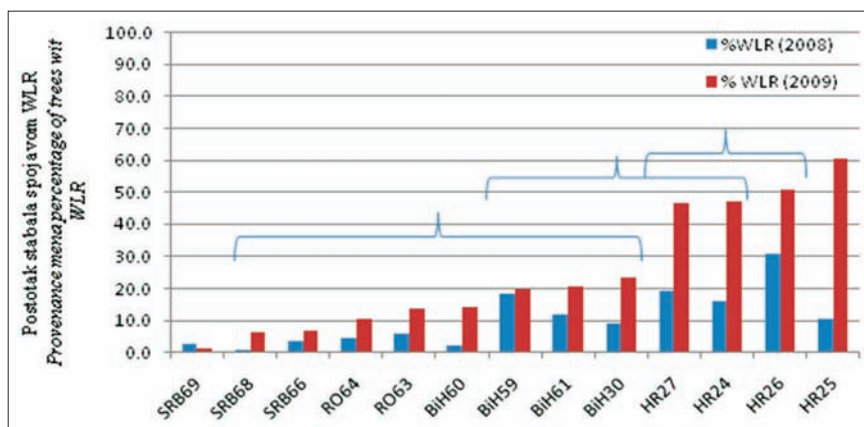


## Zimska retencija lišća (WLR) – Winter leaf retention (WLR)

Postoci stabala unutar provenijencija koje su imale značajniju pojavu zimske retencije lišća (s ocjenama 2 i 3) prikazane su na slici 7. Može se uočiti da su, u odnosu na ostale, hrvatske provenijencije imale značajno veće učešće stabala s pojavom retencije lišća u 2009. godini, koji su se kretali od 46.6 % (HR 27) do 60.3 % (HR 25). Kod provenijencija podrijetlom iz Bosne i Hercegovine ti su postoci bili između 14.3 % (BiH60) i 23.3 % (BiH30), dok su se kod srpskih i rumunjskih provenijencija kretali od 1.0 % - SRB 69 do 13.8 % - RO63. Može se primijetiti da su analizirane provenijencije imale znatan porast stabala s pojavom retencije lišća između 2008. i 2009. godine.

Tako je učešće naraslo od najnižih 1.4 % (provenijencija BiH59) do visokih 49.9 % (HR 25). Jedini izuzetak od ovog trenda porasta učešća bila je provenijencija SRB 69 – “Cer”, kod koje je taj postotak pao za 1.7 %.

Analiza varijance potvrdila je visoku statističku značajnost razlika između provenijencija (tablica 3). Tukey-Kramer-ov test pokazao je tri međusobno povezane grupe provenijencija, te statistički značajno odvajanje provenijencija HR25 i SRB69 (slika 7). Hrvatske su provenijencije činile prvu grupu s najvećim učešćem stabala koje su zadržale mrtvo lišće. Međutim, većina se hrvatskih provenijencija (izuzev HR25) nije statistički značajno razlikovala od BiH provenijencija koje su činile drugu grupu. S druge strane, BiH prove-



Slika 7. Udio stabala s pojavom zimske retencije lišća (WLR) kod analiziranih provenijencija u 2008. i 2009. godini. Vitičastim zagradama označene grupe provenijencija između kojih nije bilo statistički značajnih razlika prema rezultatima Tukey-Kramer-ovog testa.

Figure 7 Provenance mean percentages of trees with winter leaf retention (WLR) in years 2008. and 2009. Provenances that were not statistically different are within brackets (according to Tukey-Kramer test)

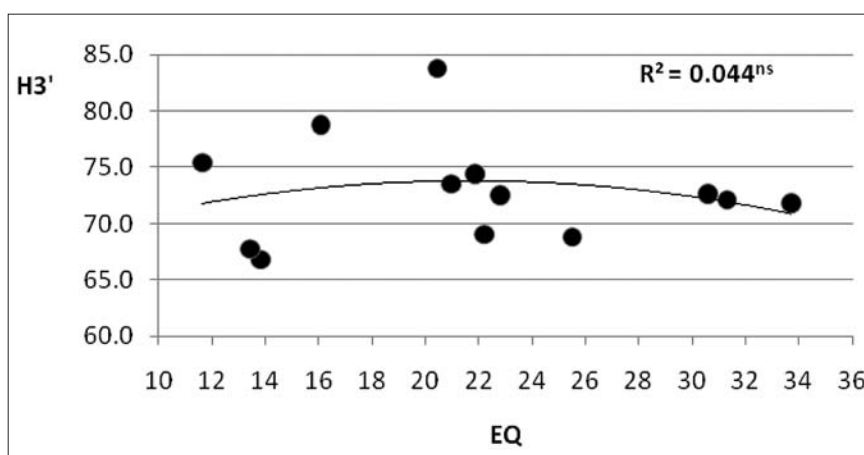
nijencije se nisu statistički značajno odvajale od treće grupe provenijencija podrijetlom iz Srbije i Rumunjske.

Štoviše, korigirane prosječne vrijednosti za ovo svojstvo pokazale su sličnu geografsku strukturiranost (klinalni pad postotka stabala s retencijom lišća od zapada prema istoku), iako manje izraženo i s manjim promjenama u rangiranju. Hrvatske provenijencije su i s dobno korigiranim vrijednostima imale najviše postotke WLR-a, pratile su ih BiH provenijencije s nešto nižim vrijednostima, dok su rumunjske i srpske provenijencije bile nisko rangirane. Uočeni istok-zapad obrazac bio je zanimljiv, iako ne i statistički značajan.

## Korelacije – Correlations

Utvrđene su visoke i statistički značajne pozitivne korelacije između preživljenja, prosječnih visina te zimske retencije lišća i dobi provenijencija (corr = 0.82, 0.89 odnosno 0.88). Očito su godinu starije provenijencije bile u prosjeku više, boljeg preživljenja i s većim postotkom stabala koje su zadržale mrtvo lišće preko zime.

Za prosječne visine, preživljenje i WLR utvrđena je umjerena negativna korelacija s Ellenberg-ovim klimatskim kvocjentima (-0.42, -0.49 odnosno -0.51). Međutim, korelacija i polinomna regresija nisu bile statistički značajne.



Slika 8. Polinomna regresija korigiranih prosječnih visina provenijencija nakon 3. godine u nasadu (H3') i Ellenberg-ovih kvocjentata (EQ) njihovih matičnih sastojina.

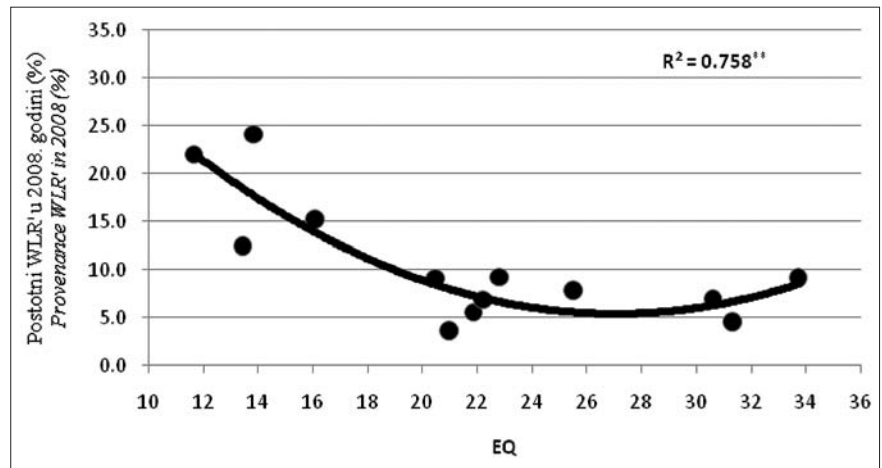
Figure 8 Polynomial regression of the corrected provenance mean heights after 3<sup>rd</sup> year at the trial (H3') and Ellenberg quotients (EQ) of their source stands



Korelacija između dobnog korigiranih prosječnih visina i EQ-a nije bila statistički značajna, a polinomna regresija između tih varijabli bila je slaba (slika 8). Korigirana preživljenja su također bila slabo povezana s klimatskim kvocjentima matičnih sastojina, iako nešto bolje nego visine. Mogao se uočiti slab trend opadanja preživljenja s porastom vrijednosti EQ-a, ali nije bio statistički značajan.

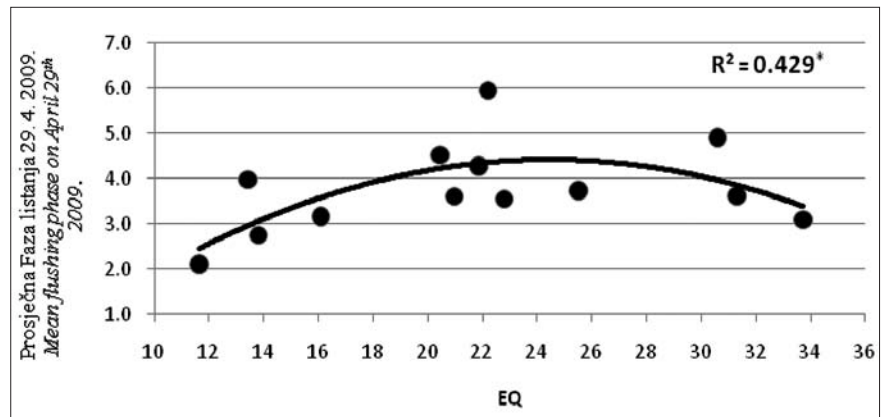
Suprotno visinama i preživljenju, za dobnog korigirane WLR-ove utvrđena je negativna koreliranost s klimatskim kvocjentima (-0.70 i -0.61). Polinomna regresija dobro je izjednačila podatke za ove varijable, a posebice za WLR u 2008. godini (slika 9). Regresijska krivulja za WLR-ove u 2009. godini i EQ-ove dobro je izjednačila podatke ( $R^2=0.616$ ), ali regresijski model nije bio statistički značajan.

Listanje nije bilo korelirano s dobi provenijencija, što znači da je u ovom slučaju utvrđena korelacija s klimatskim kvocjentima vjerojatno pouzdanija (lišena dobnog efekta). Regresijski polinomni model prosječnih vrijednosti fenofaza 29. travnja 2009. i EQ-ova, relativno je dobro povezo varijable i bio je statistički značajan (slika 10). Može se uočiti da provenijencije podrijetlom iz vlažnijih i hladnijih staništa sličnijih staništu pokusnog nasada ( $EQ < 15$ ), pokazuju tendenciju kasnijeg listanja. Provenijencije podrijetlom iz toplijih i suših staništa pokazale su tendenciju ranijeg listanja od  $EQ = 15$  do kulminacije kod  $EQ = 26$ . Konačno, provenijencije iz znatnije kserotermnijih staništa ( $EQ > 26$ ) ponovno su pokazale tendenciju kasnijeg listanja (slika 10).



Slika 9. Polinomna regresija korigiranih postotaka stabala s zimskom retencijom lišća (WLR') u 2008. godini i Ellenberg-ovih kvocjenata (EQ) njihovih matičnih sastojina.

Figure 9 Polynomial regression of the corrected provenance percentages of trees with winter leaf retention in the year 2008 (WLR') and their mother stand Ellenberg quotients (EQ)



Slika 10. Polinomna regresija prosječnih fenofaza provenijencija na dan 29. 04. 2009. i Ellenberg-ovih kvocjenata (EQ) njihovih matičnih sastojina.

Figure 10 Polynomial regression of the provenance mean flushing phases on april 29<sup>th</sup> 2009. and their mother stand Ellenberg quotients (EQ)

Listanje je bilo značajno negativno korelirano s dobnog korigiranim WLR-om (-0.63\*). Najkasnije listajuće provenijencije imale su najviše postotke stabala s zimskom retencijom lišća te je učešće opadalo s ranijim listanjem.

## RASPRAVA – Discussion

### Razina genske raznolikosti – Amount of genetic variation

Rezultati istraživanja ukazali su na postojanje visoke razine genske varijabilnosti za sva analizirana kvantitativna svojstva. Utvrđene su visoko statistički značajne razlike između provenijencija, ali su realni podaci za visine, preživljenje i zimsku retenciju lišća bili opterećeni njihovim dobnim razlikama. Korekcijom navedenih svojstava za aditivni efekt dobnih razlika izgubila se statistička značajnost diferencijacije između provenijencija, što može ukazivati na nisku razinu genske strukturiranosti obične bukve u području jugoistočne

Europe. Međutim, pokusni nasad postavljen je na optimalnom staništu i većina je analiziranih provenijencija dovedena u bolje stanišne uvjete od njihovih matičnih sastojina, što je mogući uzrok naoko niske genske diferencijacije između populacija za ta svojstva. M à t y à s i sur. (2009) pokazali su da se genske razlike u visinskom rastu između populacija bolje detektiraju u stresnijim stanišnim uvjetima, odnosno otežano se detektiraju u povoljnim uvjetima.

Listanje nije bilo opterećeno efektom dobnih razlika, pa se može pretpostaviti da su rezultati dobiveni analizom ovog svojstva pouzdaniji pokazatelj razine genske raznolikosti. Utvrđena je visoka statistička značajnost

### Obrazac genske raznolikosti – *Pattern of genetic variation*

Klinalni obrazac genske diferencijacije populacija obične bukve utvrđen je u nekoliko istraživanja fenologije listanja, kao i enzimskih biljega (von Wuehlich i dr. 1995, Nielsen i Jorgensen 2003, Gömöry i dr. 2007). Ekotipski (slučajni) obrazac međupopulacijske diferencijacije utvrđen je u drugim radovima (Comps i sur. 1991, Paule 1995, Gömöry i sur. 1998, Chmura i Rozkowski 2002, Jazbec i sur. 2007).

U ovom su radu međupopulacijske razlike između provenijencija testirane Tukey-Kramer-ovim testom radi utvrđivanja eventualne geografske strukture (povezanosti genetskih razlika između provenijencija s njihovim geografskim položajem).

Rezultati su ukazali na geografsku strukturiranost za visine, preživljenje i zimsku retenciju lišća u smislu postepenih razlika u smjeru istok-zapad (v. slike 3, 5 i 7). Međutim, naoko klinalna varijabilnost uvjetovana je ponajprije dobnim razlikama, jer se dogodilo da su zapadne provenijencije slučajno bile jednu godinu starije od istočnih (v. tablicu 1). Iz tog se razloga ne može ukazivati na postojanje geografskog obrasca varijabilnosti, tim više, što se takav obrazac izgubio korekcijom visina i preživljenja za dobnii efekt (v. slike 2 i 4).

Zanimljivo je istaknuti da se klinalni obrazac varijabilnosti kod zimske retencije lišća zadržao i nakon ko-

međupopulacijskih razlika (tablica 3), što potvrđuje visoku razinu genske diferencijacije populacija obične bukve na uzorkovanom području.

rekcije za dobnii efekt. Mogao se uočiti trend opadanja udjela stabala koje zadržavaju mrtvo lišće od zapada prema istoku, iako su razlike između provenijencija bile manje u usporedbi sa stvarnim vrijednostima. Hrvatske su provenijencije imale najviše, bosansko-hercegovačke provenijencije su slijedile, a rumunjske i srpske provenijencije imale su niže učešće stabala s pojavom zimske retencije. Klinalni obrazac genske varijabilnosti uzrokovan je klimatskim gradijentom koji je u korelaciji s geografskim parametrima. Npr. utvrđeni klinalni obrazac sjeverozapad-jugoistok kod fenologije listanja obične bukve (von Wuehlich i sur. 1995) povezan je s postepenim povećanjem kontinentalnosti staništa (aridnosti) od Atlantske obale prema unutrašnjosti kontinenta. U našem slučaju nije jasno koji bi klimatski gradijent bio uzrok klinalnog obrasca za svojstvo zimske retencije lišća u promatranom području.

Za fenologiju listanja nije utvrđena geografska struktura genetskih razlika između provenijencija (slika 6). Vidljivo je da se razlike u prosječnim vrijednostima faza listanja ne mogu povezati s geografskim položajem provenijencija. Dakle, rezultati za ovo svojstvo ukazuju na ekotipski odnosno slučajni obrazac međupopulacijskih razlika.

### Odnos genske varijabilnosti i klimatskih varijabli –

#### *Genetic variation in relation with climatic variables*

Regresijskom analizom uspoređeni su odnosi između prosječnih vrijednosti provenijencija za istraživana svojstva i Ellenberg-ovih klimatskih kvocjenata njihovih matičnih sastojina. Cilj ovih analiza bio je utvrditi povezanost genske varijabilnosti s klimatskim varijablama. Za visine i preživljenje utvrđena je slaba i statistički nesigurnost povezanost s tipovima staništa. Isti rezultati dobiveni su za stvarne i korigirane prosječne vrijednosti. Prethodno je navedeno da su ova svojstva bila pod izraženim utjecajem dobnih razlika, koje su igrom slučaja bile povezane s geografskim položajem provenijencija (zapadne starije od istočnih). To je vjerojatni uzrok dobivene geografske strukture za ova svojstva. Odsutnost povezanosti dobnii korigiranih visina i preživljenja s klimatskim varijablama može se objasniti povoljnim stanišnim uvjetima pokusnog nasada. Måtyàs i sur. (2009) također nisu utvrdili značajnu povezanost prosječnih visina provenijencija s EQ-ma u pokusnom nasadu smještenom u povoljnim stanišnim uvjetima, iako su iste provenijencije u stresnijem okolišu pokazale suprotne rezultate.

S druge strane, za korigirane vrijednosti svojstva zimske retencije lišća utvrđena je statistički značajna povezanost s EQ-ma (slika 9). Potrebno je naglasiti da je za ovo svojstvo utvrđena visoka korelacija sa starošću provenijencija, čak i nakon provedene korekcije za efekt dobnih razlika ( $r = 0.75$ ). Rezultati su ukazali na statistički značajnu diferencijaciju provenijencija koja je pokazala istovremeno geografski i ekotipski obrazac. Naime, utvrđena je postepena (klinalna) diferencijacija populacija u smjeru zapad-istok (učestalost stabala s pojavom zadržavanja mrtvog lišća postepeno je opadala od zapada prema istoku) kao i trend opadanja učešća stabala s retencijom lišća povezan s porastom kontinentalnosti stanišnih uvjeta (v. sliku 9). Treba uzeti u obzir da su igrom slučaja zapadne provenijencije bile starije od istočnih, kao i da je porast EQ-a bio umjereno koreliran s geografskim položajem provenijencija (EQ-i istočnijih provenijencija bili su prosječno viši od zapadnijih). Iz tih razloga, skloniji smo razlike između provenijencija u učešću stabala sa zimskom retencijom lišća pripisati njihovim dobnim razlikama, a ne genetskoj diferencijaciji.

Za svojstvo fenologije listanja utvrđena je statistički značajna povezanost s EQ-ma (slika 10). Provenijencije iz vlažnijih i hladnijih staništa (EQ = 12-16) kasnije su listale. S povećanjem kontinentalnosti staništa, provenijencije su pokazivale trend prosječno ranijeg listanja. Kulminacija takvog trenda bila je kod vrijednosti EQ = 26, nakon čega su provenijencije pokazale obrnuti trend tj. ponovno kasnije listanje.

### ZAKLJUČCI – *Conclusions*

1. Utvrđene su statistički značajne razlike između provenijencija za sva analizirana svojstva, ali su visine, preživljenje i zimska retencija lišća bili pod izraženim utjecajem dobnih razlika između provenijencija.
2. Korekcijom prosječnih visina i preživljenja za aditivni efekt dobi, razlike između provenijencija nisu bile statistički značajne, što bi se moglo protumačiti kao odsutnost genetske diferencijacije populacija bukve u promatranom području za navedena svojstva. Međutim, slična su istraživanja ukazala na otežanu detekciju međupopulacijskih razlika u povoljnim stanišnim uvjetima, pa smatramo da se ne može donositi zaključak o nepostojanju genetske diferencijacije za ova svojstva.
3. Rezultati za svojstvo zimska retencija lišća ukazali su na statistički značajnu diferencijaciju provenijencija koja je pokazala istovremeno geografski i ekotipski obrazac. Međutim, osim visoke korelacije svojstva sa starošću provenijencija, i dob provenijencija bila je u korelaciji s njihovim geografskim položajem i EQ-ima (v. raspravu). Iz tih razloga, skloniji smo razlike između provenijencija u učešću stabala sa zimskom retencijom lišća pripisati njihovim dobnim razlikama, a ne genetskoj diferencijaciji.
4. Za svojstvo fenologije listanja, koja nije bila uvjetovana dobnim razlikama, utvrđena je visoka razina genetske diferencijacije istraživanih populacija. Kod ovog je svojstva utvrđen ekotipski obrazac diferencijacije koji je povezan s klimatskim varijablama (Ellenberg-ovim kvocjentima). S povećanjem kontinentalnosti staništa, provenijencije su pokazivale trend prosječno ranijeg listanja. Kulminacija takvog trenda bila je kod vrijednosti EQ = 26, nakon čega su provenijencije pokazale obrnuti trend tj. ponovno kasnije listanje.
5. Usprikoš tomu, što za svojstva koja su bila pod utjecajem dobnih razlika (visine, preživljenje i zimska retencija lišća) nisu detektirane značajne razlike, vjerojatnije je da populacije obične bukve na analiziranom području pokazuju ekotipski obrazac genetske diferencijacije, koji je oblikovan prilagođavanjem na lokalne makroklimatske uvjete (prvenstveno vlažnost i temperaturu staništa). Ova se pretpostavka temelji na sličnim istraživanjima drugih autora, ali i na vlastitim rezultatima za svojstvo fenologije listanja.
6. Na osnovi dobivenih rezultata, može se preporučiti da kod sjemenske razdjelbe i korištenja šumskog reprodukcijskog materijala obične bukve treba dati veći naglasak na ekološke kriterije.

### ZAHVALA – *Acknowledgments*

Sabiranje i manipulacije sjemenom, te uzgoj i transport sadnica do pokusnog nasada organizirao je Institut za šumarsku genetiku u Grosshansdorf-u (Njemačka), a financiralo je njemačko Ministarstvo prehrane, poljoprivrede i zaštite potrošača.

Prikazani rezultati proizašli su iz znanstvenog projekta (Oplemenjivanje i šumsko sjemenarstvo), provođenog uz potporu Ministarstva znanosti, obrazovanja i športa Republike Hrvatske.

Osnivanje pokusnog nasada i istraživanje provedeno je u sklopu znanstvenoistraživačkog rada voditelja dr. sc. Mladena Ivankovića, kojega je financirala tvrtka Hrvatske šume d.o.o. Zagreb. Zahvaljujemo na financijskoj pomoći, kao i na pomoći brojnih kolega koji su sudjelovali u sabiranju sjemena i uzgoju sadnica. Posebno se zahvaljujemo djelatnicima Šumarije Zagreb koji su pomogli pri osnivanju i održavanju pokusnog nasada.

### LITERATURA – *References*

- Brus, R., 2010: Growing evidence for the existence of glacial refugia of European beech (*Fagus sylvatica* L.) in the south-eastern Alps and north-western Dinaric Alps. *Period. Biol.* 112, 3: 239–246.
- Chmura, D.J., R. Rozkowski, 2002: Variability of beech provenances in spring and autumn phenology. *Silvae Genetica* 51(2–3): 123–127.
- Comps, B., B. Thiebaut, I. Sugar, I. Trinajstić, M. Plazibat, 1991: Genetic variation of the Croatian beech stands (*Fagus sylvatica* L.): spatial differentiation in connection with the environment. *Ann. Sci. For.* 48: 15–28.
- 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.



- Escudero, A., J.M. Arco, 1987: Ecological significance of the phenology of leaf abscission. *Oikos* 49: 11–14.
- Gömöry, D., 1999: Genetic differentiation and phylogeny of beech on the Balkan peninsula. *Journal of Evolutionary Biology* 12: 746–754.
- Gömöry, D., L. Paule, J. Vysny, 2007: Patterns of allozyme variation in western Eurasian *Fagus*. *Botanical Journal of the Linnean Society* 154: 165–174.
- Gömöry, D., V. Hynek, L. Paule, 1998: Delineation of seed zones for European beech (*Fagus sylvatica* L.) in the Czech Republic based on isozyme gene markers. *Ann. Sci. For.* 55: 425–436.
- Gračan, J. 2003: Dostignuća na oplemenjivanju obične bukve u Hrvatskoj. U: Obična bukva u Hrvatskoj. Matić, Slavko (ur.). Akademija šumarskih znanosti, Zagreb.
- Hazler, K. B. Comps, I. Šugar, L. Melovski, A. Tashev, J. Gračan 1997: Genetic structure of *Fagus sylvatica* L. populations in Southern Europe. *Silvae Genetica* 46: 229–236.
- Herzog, S., D. Krabel, 1996: Genetic studies on leaf retention in *Quercus robur*. *Silvae Genetica* 45(5–6): 272–276.
- Ivanković, M., S. Bogdan, G. Božič, 2008a: Varijabilnost visinskog rasta obične bukve (*Fagus sylvatica* L.) u testovima provenijencija u Hrvatskoj i Sloveniji. [European beech (*Fagus sylvatica* L.) height growth variability in Croatian and Slovenian provenance trials]. *Šumarski list* 132(11–12): 529–541.
- Ivanković, M., S. Bogdan, T. Littvay, 2008b: Genetic variation of flushing and winter leaf retention in European Beech provenance test in Croatia. In: Kazuhiko, Terazawa ; Palle, Madsen ; Khosro, Sagheb-Talebi (ur.). Proceedings - The 8<sup>th</sup> IUFRO International Beech Symposium organized by IUFRO working party 1.01.07 “Ecology and Silviculture of Beech”. Nanae, Hokkaido, Japan; Hokkaido Rehabili, Kitahiroshima, Hokkaido, Japan, 2008. 28–30.
- Jazbec, A., K. Šegotić, M. Ivanković, H. Marjanović, S. Perić, 2007: Ranking of European beech provenances in Croatia using statistical analysis and analytical hierarchy process. *Forestry* 80(2): 151–162.
- Kajeba, D. 2003: Unutarpopulacijska i međupopulacijska varijabilnost obične bukve. U: Obična bukva u Hrvatskoj. Matić, Slavko (ur.). Akademija šumarskih znanosti, Zagreb.
- Magri, D., G.G. Vendramin, B. Comps, I. Dupanloup, T. Geburek, D. Gömöry, M. Latalowa, T. Litt, L. Paule, J. M. Roure, I. Tantau, W. O. van der Knaap, R. J. Petit, J.-L. de Beaulieu 2006: A new scenario for the Quaternary history of European beech populations: palaeobotanical evidence and genetic consequences. *New Phytologist* 171: 199–221.
- Mátyás, C., G. Božič, D. Gömöry, M. Ivanković, E. Rasztovits, 2009: Transfer analysis of provenance trials reveals macroclimatic adaptation of European beech (*Fagus sylvatica* L.). *Acta. Silv. Lign. Hung.*, 5:47–62.
- Nielsen, CH. N., F.V. Jorgensen, 2003: Phenology and diameter increment in seedlings of European beech (*Fagus sylvatica* L.) as affected by different soil water contents: variation between and within provenances. *Forest Ecology and Management* 174: 233–249.
- Nilsson, S.G., 1983: Evolution of leaf abscission times: alternative hypotheses. *Oikos* 40 (2): 318–319.
- Paule, L., 1995: Gene conservation in European beech (*Fagus sylvatica* L.). *Forest Genetics* 2(3): 161–170.
- SAS 2000. SAS Institute Inc. SAS OnlineDoc<sup>®</sup>, Version 8. <http://v8doc.sas.com/sashtml>
- Teissier du Cros, E., B. Thiebaut, H. Duval, 1988: Variability in beech: budding, height, growth and tree form. *Ann. Sci. For.* 45: 383–398.
- Vidaković, M., A. Krstinić, 1985: Genetika i oplemenjivanje šumskog drveća, Šumarski fakultet, 436–441 Zagreb.
- von Wuehlisch, G., D. Krusche, H.-J. Muhs, 1995: Variation in temperature sum requirement for flushing of beech provenances. *Silvae Genetica* 44(5–6): 343–346.

**SUMMARY:** Since the genetic diversity of European beech (*Fagus sylvatica* L.) in South-East Europe (particularly for adaptive traits) is not well studied, the purpose of this paper is to determine the amount, pattern and possible causes of its adaptive genetic variability, through analysis of selected quantitative traits in a provenance trial.

Research was conducted in a provenance trial in which thirteen provenances were analyzed (Table 1). The heights of all survived plants were measured successively after the first three growing seasons at the trial site, while flushing phenology and winter leaf retention were scored in the second and third year. The preliminary analysis showed that differences between



provenances in the average values of height, survival and winter leaf retention were significantly influenced by age differences between provenances (due to different time of collecting seed and initial age of seedlings in the trial – Table 1), therefore the averages for the listed properties were corrected for “additive age effect”.

Analysis of variance was conducted in order to determine statistical significance of variance components caused by the effects of provenances. REG and CORR procedures were carried out to analyze the relationships between the investigated traits, as well as between the provenance mean values and climatic variables of their source stands (Table 2).

Provenance means of real and age corrected traits are shown in figures 1, 2, 3, 4, 5 and 7. The results indicate high levels of genetic variability for all studied quantitative traits. Statistically significant differences were found between provenances (Table 3), but the real data for height, survival and winter leaf retention were impacted with their age differences. Statistically significant differentiation between provenances for height and survival were lost after the additive age effect correction.

Between provenance differences for the analyzed traits were tested by Tukey-Kramer's test for a possible geographical pattern of genetic structure. Results indicated geographical structure for the height, survival and winter leaf retention in terms of gradual differences in the east-west direction (see Figures 3, 5 and 7). However, apparently clinal variability was primary influenced by age differences. Thus, existence of the variability cannot be confirmed. Moreover, geographical pattern disappeared after the age corrections for provenance mean heights and survival (see Figures 2 and 4).

Regression analysis of the provenance mean values and Ellenberg's climate quotients of their source stands were shown (Figures 8, 9, 10). The aim of this analysis was to determine relationship between genetic variability and climatic variables. Weak and statistically insignificant correlations between height/survival and climate quotients were determined. The same results were obtained using real and age corrected data. These traits were under the strong influence of age differences that have accidentally been associated with the geographic position of provenances (western older than eastern). It was most probably the cause of the obtained geographic structure.

On the other hand, the age corrected values of winter leaf retention were significantly correlated with EQ's. There was gradual (clinal) differentiation of populations in the west-east direction (the frequency of trees with dead leaves retention gradually decreased from west to east) and declining trend of trees with leaves retention associated with an increasing continentality (Figure 9). It should be mentioned that western provenances were older than eastern ones and the increase of EQ's was moderately correlated with geographic position of provenances (EQ's of eastern provenances were on average higher than western). For these reasons, differences between provenances in percentage of trees with winter leaf retention are more likely attributable to their age differences, rather than genetic differentiation.

Geographical structure of genetic differences between provenances was not shown for flushing phenology. Results indicate an ecotypic (random) pattern of interpopulation differences (Figure 6). There was a statistically significant correlation between provenance mean values and Ellenberg's climate quotients (EQ's). Provenances from wetter and cooler habitats (EQ= 12-16) were later flushers. With the increase of continentality, provenances showed a trend of earlier flushing. The peak of this trend was observed at the EQ= 26, after which the provenances showed a reverse trend, i.e. again flushing later (Figure 10).

Despite the fact that differentiation was not detected for traits which were influenced by age differences (height, survival and winter leaf retention), it is more likely that population differentiation in South-East Europe has ecotypic pattern that is shaped by macroclimatic adaptation. This assumption is based on similar studies by other authors (Matyas et al. 2009), but also on our own results for the flushing phenology.

It can be recommended that European beech seed zone delineation and use of its forest reproductive material should be done accordingly to ecological besides the geographic criteria.

**Key words:** provenance trial, growth, flushing, winter leaf retention, ecotypic variation, macroclimatic adaptedness